

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

ANNA CAROLINA TAVARES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DOS EFEITOS DE DIFERENTES DOSAGENS DE CANABIGEROL
(CBG) EM CRISES EPILÉPTICAS: Avaliação do Comportamento Animal e
Impacto na Morfologia e Mortalidade Neuronal**

Belo Horizonte

2025

ANNA CAROLINA TAVARES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DOS EFEITOS DE DIFERENTES DOSAGENS DE CANABIGEROL
(CBG) EM CRISES EPILÉPTICAS: Avaliação do Comportamento Animal e
Impacto na Morfologia e Mortalidade Neuronal**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientador: Dr. Victor Rodrigues Santos

Coorientador: Dr. Fabrício de Araújo Moreira

Belo Horizonte

2025

043

Oliveira, Anna Carolina Tavares de.

Análise dos efeitos de diferentes dosagens de canabigerol (CBG) em crises epiléticas: avaliação do comportamento animal e impacto na morfologia e mortalidade neuronal [manuscrito] / Anna Carolina Tavares de Oliveira. – 2025. 91 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Dr. Victor Rodrigues Santos. Coorientador: Dr. Fabrício de Araújo Moreira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Epilepsia. 3. Canabinoides. 4. Neuroproteção. 5. Estado Epiléptico. 6. Hipocampo. I. Santos, Victor Rodrigues. II. Moreira, Fabrício de Araújo. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ICB - COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA ALUNA
ANNA CAROLINA TAVARES DE OLIVEIRA

Realizou-se, no dia 22 de agosto de 2025, às 13:30 horas, Sala Nello Rangel - K3-163 (ICB - UFMG), da Universidade Federal de Minas Gerais, a 262ª defesa de dissertação, intitulada Análise dos Efeitos de Diferentes Dosagens de Canabigerol (CBG) em Crises Epilépticas: Avaliação do Comportamento Animal e Impacto na Morfologia e Mortalidade Neuronal., apresentada por ANNA CAROLINA TAVARES DE OLIVEIRA, número de registro 2023687157, graduada no curso de GESTAO AMBIENTAL, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Victor Rodrigues Santos - Orientador (UFMG), Prof. Fabricio de Araújo Moreira - Coorientador (UFMG), Prof. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira (UFMG), Profa. Maria Elisa Calcagnotto (UFRGS).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 22 de agosto de 2025.

Renata Angélica França Mendes - Secretária

Assinatura dos membros da banca examinadora:

Prof. Victor Rodrigues Santos (Doutor)

Prof. Fabricio de Araujo Moreira (Doutor)

Prof. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira (Doutor)

Profa. Maria Elisa Calcagnotto (Doutora)



Documento assinado eletronicamente por **Maria Elisa Calcagnotto, Usuário Externo**, em 22/08/2025, às 16:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Victor Rodrigues Santos, Professor(a)**, em 23/08/2025, às 08:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabricio de Araujo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 10/09/2025, às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Carlos Pinheiro de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 01/10/2025, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Angelica Franca Mendes, Secretária Executiva**, em 02/10/2025, às 14:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4467887** e o código CRC **CFA78148**.

AGRADECIMENTOS

Ninguém constrói um sonho sozinho. Cada conquista é feita de muitas mãos, vozes e corações que se entrelaçam para nos sustentar quando pensamos em parar e para nos impulsionar quando encontramos coragem para seguir. Esta dissertação é de cada pessoa que, direta ou indiretamente, fez parte desta caminhada, desde as primeiras crises induzidas no modelo de PTZ até os últimos cortes histológicos aos 45 do segundo tempo.

Ao **Gustavo Paulista**, meu lar e meu porto seguro. Obrigada por estar ao meu lado em todos os mares, na calmaria e na tempestade. Por acreditar em mim mesmo quando minhas eu mesma não acreditava, por me ouvir falar incansavelmente sobre os experimentos, principalmente os que deram errados, e por comemorar comigo cada pequeno resultado. Obrigada por entender meus silêncios quando as coisas não saíam como eu esperava, por respeitar meus momentos de isolamento quando a escrita parecia não fluir, e por me lembrar que uma pausa não é sinal de fraqueza, mas de cuidado. Por ter paciência com as minhas longas jornadas no laboratório, pelos jantares atrasados, pelas viagens adiadas e pelos fins de semana trocados por experimento. Por cada mensagem de incentivo no meio do dia, cada abraço na hora certa e cada palavra que me fez acreditar que eu estava no caminho certo, mesmo quando tudo parecia difícil. Você esteve presente desde as primeiras ideias, acompanhou meus tropeços e celebrou comigo cada conquista. Este trabalho também é seu, fruto do amor, do apoio e da força que você sempre me deu, mesmo quando eu não sabia pedir. Você é o abraço onde tudo faz sentido, e a prova viva de que o amor também é ciência: ele sustenta, cura e transforma.

Aos meus pais, **Sônia e Paulo**, que são o alicerce sobre o qual construí meus passos. Obrigada por me ensinarem que perseverança e honestidade valem mais que qualquer atalho, e que a verdadeira riqueza está em manter o coração íntegro. Cada capítulo desta dissertação, carrega o reflexo do amor e da dedicação de vocês.

Ao meu irmão **Pedro**, por ser uma presença constante e insubstituível na minha vida. Obrigada por me arrancar sorrisos mesmo nos dias mais pesados, por me lembrar que há leveza e humor em tudo, e por me apoiar de forma silenciosa, mas sempre presente.

À minha vó **Judite** e ao meu tio **Nivair**, que sempre torceram por mim e vibraram a cada conquista, mesmo as mais simples. Obrigada pelas palavras de

incentivo, pela fé depositada em mim e por me lembrarem, com carinho e orgulho, das minhas raízes. Vocês são parte da força que me sustenta.

Aos meus amigos que são parte de quem eu sou: **Amanda**, por ser incrível e, mesmo com a distância, nunca ter deixado de estar presente. Olhar para nossa trajetória desde quando tínhamos 12 anos até nos vermos pesquisadoras é, no mínimo, impressionante. Sinceramente, eu não imaginava que chegaríamos tão longe, juntas. **Herick e Victor**, meus irmãos de outras mães, que conheci na Biologia mas que parecem fazer parte da minha vida há décadas. A cumplicidade entre nós é algo raro: a gente se entende no olhar, sabe rir das mesmas coisas (mesmo as mais absurdas) e encontra conforto na presença um do outro, mesmo no silêncio. O carinho, a amizade e a energia (mesmo que tóxica) que vocês me dão não cabem em palavras - mas cabem, e muito, no meu coração. **Gabs**, minha musa inspiradora, a pessoa que mais batalha e que, mesmo enfrentando seus próprios desafios, sempre encontra tempo e energia para me apoiar. Você me inspira não apenas pelo que conquista, mas pela forma como enfrenta a vida: com coragem, determinação, inteligência e um coração enorme. **Cristian**, por ser tão especial e presente. Obrigada pelas conversas que me fizeram enxergar novas perspectivas, pelo incentivo constante, e pela amizade. Você é uma parte importante da minha vida, e sou grata por ter cruzado seu caminho. E aos cônjuges que viraram amigos: **Sergin**, obrigada pela amizade genuína, pelas risadas que aliviaram momentos tensos e pelos papos sérios que, quando necessários, me ajudaram a colocar os pés no chão. **Juan**, só de aguentar o Victor você já merece um agradecimento, mas vai além disso: obrigada pela leveza, pelo bom humor e por sempre somar com sua presença tranquila. **Gabi**, por ser tão querida, acolhedora e divertida, tornando qualquer encontro mais especial e deixando tudo mais leve. Vocês três não só acompanharam os meus amigos, mas se tornaram meus amigos também, e isso é um presente que a vida me deu sem que eu esperasse. Aos amigos que, mesmo não sendo citados aqui pelo nome, fazem parte de quem eu sou. Alguns estiveram presentes nos bastidores, outros fizeram parte de capítulos mais antigos, mas todos deixaram marcas que carrego comigo. Cada conversa, cada encontro, cada memória compartilhada ajudou a me manter firme e a lembrar que a vida é muito maior do que qualquer meta ou prazo. Mesmo que hoje nossos caminhos sigam direções diferentes, minha gratidão permanece.

Ao meu orientador, **Victor**, por ter acreditado em mim desde o início, mesmo quando eu ainda estava aprendendo a encontrar minha voz como pesquisadora

(spoiler: ainda estou na busca). Obrigada por me receber no laboratório com abertura e confiança, por me desafiar a pensar além do óbvio, por me ensinar que ciência se faz com rigor, mas também com paciência e sensibilidade. Por compreender que por trás de cada experimento há uma pessoa, e que cuidar da parte humana é tão importante quanto cuidar da metodologia. Pelas orientações, pelas discussões, pelos puxões de orelha, e pelas perguntas que pareciam simples, mas que sempre abriam portas para novos pontos de vista. Obrigada por me permitir autonomia para explorar minhas ideias e, ao mesmo tempo, oferecer o direcionamento necessário para que elas se tornassem resultados. Por estar presente nos momentos críticos: desde um protocolo que insistia em não funcionar (RIP camundonginho da estereotáxica) até as análises finais (RIP montagem das lâminas do Fluorojade) que definiriam os rumos desta dissertação. Sua orientação não foi apenas técnica, mas também formativa. Levo comigo não só o aprendizado científico, mas também a ética, o cuidado e a dedicação que você demonstrou em cada etapa. E, acima de tudo, levo a amizade que construímos. Onde quer que eu esteja, sempre estarei com você, carregando no coração o respeito, a gratidão e o carinho por tudo que vivemos nesta jornada, afinal você não é um orientador medíocre.

Ao meu coorientador, **Fabício**, obrigada pela disponibilidade, pelo apoio e pelas contribuições valiosas ao longo desta jornada. Sua visão crítica e suas sugestões trouxeram novas perspectivas à pesquisa. Agradeço por ter acompanhado este trabalho, por ter acreditado no seu potencial e por disponibilizar o CBG que deu início ao projeto piloto.

À minha pequena grande família do laboratório: **Lillian**, com quem realizei meu primeiro experimento de PTZ e também a última histologia desta jornada (aos 45 do segundo tempo). Obrigada por estar presente em tantas etapas e, mais que isso, por ter se tornado uma amiga para a vida. **Giovanna**, sem você o modelo de PILO simplesmente não teria existido. Obrigada por insistir quando tudo parecia dar errado, e por me mostrar que persistir vale a pena. **Rúbia**, por ser a alma do laboratório, sempre trazendo energia, organização, inteligência, rigor e calor humano para o dia a dia. O tanto que aprendi contigo não está escrito, levo para a vida. **Matheus**, por ser a pessoa mais inteligente que eu conheço e, ainda assim (não sei como), dividir o mesmo neurônio que eu: o da falta de noção e das piadinhas em momentos errados. **Elisa**, parte oficial do laboratório e parte essencial da minha jornada. Obrigada por cada café compartilhado, por cada conselho que clareou meus pensamentos, por

cada sugestão que melhorou meus experimentos e por simplesmente estar ali para dividir o tempo. **Matheus Melo**, por estar ao meu lado mesmo quando eu não queria companhia, por incentivar meus sonhos e suavizar minhas tristezas. **Julia e Rafa**, que mesmo um pouco distantes no dia a dia, seguem fazendo parte desta história e das memórias que guardo com carinho. Obrigada a todos no laboratório: por compartilharem bancadas, protocolos, risadas e até frustrações (mais frequentes que gostaríamos). Obrigada por cada ajuda, cada conversa de corredor, cada piada que quebrou a tensão de um dia difícil.

Às parcerias que floresceram, especialmente na **NEUROFAR** e no **LNP**, por me ensinarem que ciência boa se faz com colaboração e troca. Trabalhar com vocês me ensinou novas técnicas, reforçou meu senso crítico e mostrou que, mesmo quando cada um está em seu próprio projeto, existe uma rede “invisível” que nos sustenta e nos fortalece.

Aos **professores e à coordenação do Programa de Neurociências**, por serem guardiões de um espaço que desafia e acolhe, e por manterem vivo o espírito de aprender e ensinar. Em especial à **Grace**, que é um dos meus maiores exemplos de força e determinação - seja como mulher, seja como pesquisadora ou coordenadora. Ter acompanhado seu trabalho, seja no NNC ou à frente da Neuro, me mostrou que é possível ser referência técnica e, ao mesmo tempo, inspiração pessoal.

Aos membros da banca examinadora, **Profª Dra. Maria Elisa Calgagnotto e Prof. Dr. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira**, meu sincero agradecimento por aceitarem o convite e dedicarem tempo e atenção à leitura desta dissertação. A experiência, o conhecimento e a sensibilidade científica de vocês são um privilégio para mim. Suas observações e contribuições, vindas de olhares complementares e experientes, não apenas enriquecem este trabalho, mas também ampliam minha visão como pesquisadora. É uma honra contar com a presença e a colaboração de profissionais que admiro e respeito profundamente.

E a todos que cruzaram meu caminho, oferecendo uma palavra, um gesto ou simplesmente um sorriso no momento certo: vocês são parte invisível, mas essencial, desta conquista. Esta dissertação carrega muito mais do que dados, tabelas e figuras. Carrega histórias, abraços, olhares e silêncios que me sustentaram. Porque, assim como nas sinapses, nenhum impulso sozinho constrói um pensamento – e nenhuma conquista nasce sem as conexões que a sustentam.

RESUMO

A epilepsia é uma condição neurológica multifatorial, marcada por hiperexcitabilidade neuronal e crises espontâneas recorrentes, frequentemente associadas a alterações cognitivas, emocionais e morfofuncionais de longo prazo. Frente à limitação terapêutica dos fármacos atuais, sobretudo em casos refratários, cresce o interesse por compostos com ação multimodal. Este estudo investigou os efeitos do canabigerol (CBG), um fitocanabinoide não psicoativo, sobre parâmetros comportamentais e histológicos em modelos experimentais de crises induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) e pilocarpina (PILO) em camundongos adultos. Foram analisadas latência para início das crises, progressão, gravidade, mortalidade e padrão comportamental, além de marcadores de dano neuronal agudo (Fluoro-Jade C), citoarquitetura neuronal (Nissl) e reatividade astrocitária (GFAP) no hipocampo. Os resultados demonstraram que o CBG, na dose de 100 mg/kg, aumentou o limiar para as crises epiléticas, reduziu a incidência de crises graves e de mortes, e preservou a integridade morfológica das regiões hipocâmpais CA1, CA3 e giro denteado. Evidenciou-se também redução da gliose, preservação da barreira hematoencefálica e menor neurodegeneração aguda, sugerindo ação neuroprotetora e anti-inflamatória. A ação do CBG foi dose-dependente, mais eficaz na PILO, e envolveu modulação do microambiente neural, da resposta glial e da plasticidade sináptica. Tais dados apontam o CBG como um composto multifuncional promissor, com potencial relevante para o manejo de epilepsias refratárias e para a prevenção de sequelas estruturais.

Palavras-chave: epilepsia, canabigerol, neuroproteção, *status epilepticus*, hipocampo.

ABSTRACT

Epilepsy is a multifactorial neurological condition characterized by neuronal hyperexcitability and recurrent spontaneous seizures, often accompanied by long-term cognitive, emotional, and morphological impairments. Due to the limited efficacy of current pharmacological treatments—especially in refractory cases—there is growing interest in compounds with multimodal activity. This study investigated the effects of cannabigerol (CBG), a non-psychoactive phytocannabinoid, on behavioral and histological parameters in experimental seizure models induced by pentylenetetrazol (PTZ) and pilocarpine (PILO) in adult mice. Latency to seizure onset, progression, severity, mortality, and behavioral patterns were analyzed, along with hippocampal markers of acute neuronal injury (Fluoro-Jade C), cytoarchitecture (Nissl), and astrocytic reactivity (GFAP). Results showed that CBG 100 mg/kg significantly increased seizure threshold, reduced the occurrence of severe seizures and mortality, and preserved the structural integrity of hippocampal CA1, CA3, and dentate gyrus regions. Moreover, decreased gliosis, preserved blood-brain barrier integrity, and reduced neuronal degeneration supported the compound's anti-inflammatory and neuroprotective effects. CBG displayed a dose-dependent profile, being more effective in the PILO model, and its action appears to involve modulation of glial response, neural microenvironment, and synaptic plasticity. These findings position CBG as a promising multifunctional agent with potential for the treatment of refractory epilepsy and the prevention of long-term neurological sequelae.

Keywords: epilepsy, cannabigerol, neuroprotection, *status epilepticus*, hippocampus.

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pentilenotretazol (PTZ).</i>	37
<i>Figura 2 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pilocarpina (Teste de Padronização I - Administração Intrahipocampal)</i>	39
<i>Figura 3 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pilocarpina (PILO - I).</i>	43
<i>Figura 4 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pilocarpina (PILO - II).</i>	44
<i>Figura 5 - Distribuição do peso corporal (g) de camundongos machos e fêmeas nos diferentes grupos experimentais no modelo de indução por PTZ (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).</i>	48
<i>Figura 6 - Ocorrência de crises (%) em camundongos machos e fêmeas submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos diferentes grupos experimentais (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).</i>	49
<i>Figura 7 - Latência para o início das crises (s) em camundongos machos e fêmeas submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos diferentes grupos experimentais (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).</i>	50
<i>Figura 8 - Duração das crises (s) em camundongos machos e fêmeas submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos diferentes grupos experimentais (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).</i>	51
<i>Figura 9 - Distribuição percentual dos diferentes tipos de crises observadas em fêmeas submetidas ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	52
<i>Figura 10 - Frequência (%) dos diferentes tipos de crises comportamentais observadas em fêmeas submetidas ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	54
<i>Figura 11 - Distribuição percentual dos diferentes tipos de crises observadas em machos submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	56
<i>Figura 12 - Frequência (%) dos diferentes tipos de crises comportamentais observadas em machos submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	58
<i>Figura 13 - Distribuição do peso corporal (g) de camundongos nos diferentes grupos experimentais no modelo de indução por PILO (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).</i>	60
<i>Figura 14 - Latência I (tempo para o início das crises, em segundos) em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	61
<i>Figura 15 - Latência II (tempo para o início do SE, em segundos) em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	62
<i>Figura 16 - Distribuição dos estágios de início do SE em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, conforme a escala de Racine, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	63
<i>Figura 17 - Tempo até a ocorrência da crise mais forte (em segundos) em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	64
<i>Figura 18 - Distribuição dos estágios comportamentais mais graves atingidos durante o SE, segundo a escala de Racine, em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	65
<i>Figura 19 - Taxa de mortalidade (%) durante o período de observação em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	66
<i>Figura 20 - Imunofluorescência para GFAP no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	67
<i>Figura 21 - Histologia de Nissl no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	68
<i>Figura 22 - Histologia de Fluoro-Jade C no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.</i>	69

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1 - Distribuição dos animais por grupo experimental e sexo (PTZ).</i> -----	36
<i>Tabela 2 - Teste de Padronização II - Distribuição de animais por dose de PILO (mg/kg).</i> -----	40
<i>Tabela 3 - Teste de Padronização III - Distribuição de animais por dose de PILO (mg/kg).</i> -----	41
<i>Tabela 4 - Comparativo entre os protocolos experimentais com pilocarpina (PILO – I e PILO – II).</i> ---	42
<i>Tabela 5 - Síntese comparativa dos efeitos do CBG nos modelos de epilepsia induzida por PTZ e PILO</i> -----	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-Arachidonoil Glicerol
Δ^9 -THC	Delta-9 Tetrahydrocannabinol
°C	Grau Celsius
μ g	Micrograma
μ L	Microlitro
μ m	Micrômetro
a.C.	Antes de Cristo
BSA	Albumina Sérica Bovina
B-SCOP	Butil-escopolamina
CA1	<i>Cornu Ammonis</i> , sub-região 1
CA3	<i>Cornu Ammonis</i> , sub-região 3
Ca ²⁺	Íon Cálcio
CB1	Receptor Canabinoide 1
CB2	Receptor Canabinoide 2
CBD	Canabidiol
CBG	Canabigerol
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CO ₂	Dióxido de carbono
DAEs	Drogas Antiepilépticas
DMOR-ICB	Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas

d.C.	Depois de Cristo
ELT	Epilepsia do Lobo Temporal
FJC	FluoroJade C
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GFAP	Proteína Fibrilar Glial Ácida
h	horas
Iba1	Molécula Adaptadora de Ligação ao Cálcio Ionizado 1
ICLAS	International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS)
IL-1 β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
ILAE	Liga Internacional Contra a Epilepsia
i.p.	Via de Administração Intraperitoneal
i.m.	Via de Administração Intramuscular
Kg	Quilograma
LASA	Laboratory Animal Science Association
LTP	potenciação de longa duração
MACs	Medicamentos Anticrise
Mg ²⁺	Íon Magnésio
mg	Miligrama
ml	Mililitro
min	Minutos
M-SCOP	Metil-escopolamina

PBS	Tampão Fosfato Salino
PFA	Paraformaldeído
pH	Potencial Hidrogeniônico
PILO	Pilocarpina
PTZ	Pentilenotetrazol
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
SBNeC	Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento
SCOP	Butilbrometo de Escopolamina
SE	<i>Status Epilepticus</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
THC	Tetrahydrocannabinol
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1. Introdução	20
1.1. Epilepsia	20
1.1.1. Etiologia	20
1.1.2. Classificação	21
1.1.3. Epilepsia do Lobo Temporal (ELT)	22
1.1.4. Tratamento e farmacoresistência	23
1.2. Canabinoides	24
1.2.1. Uso histórico	24
1.2.2. Sistema Endocanabinoide	25
1.2.3. Uso em Doenças Neurológicas	26
1.3. Modelos Experimentais em Epilepsia	28
2. Justificativa	31
3. Hipóteses	32
4. Objetivos	33
4.1. Objetivos Específicos	33
4.1.1. Toxicidade dos Canabinoides sobre o cérebro:	33
4.1.2. Efeito anticonvulsivante do CBG	33
4.1.3. Influência do sexo biológico	34
5. Materiais e Métodos	35
5.1. Indução de Crises Convulsivas por Pentilenotetrazol (PTZ)	36
5.1.1. Padronização PTZ	36
5.1.2. Delineamento Experimental PTZ	36
5.2. Indução de Crises Convulsivas por Pilocarpina (PILO)	37
5.2.1. Padronização PILO	37
5.2.1.1. Teste de Padronização I - Administração Intrahipocampal	38
5.2.1.2. Teste de Padronização II - Administração Sistêmica com Escopolamina	39
5.2.1.3. Teste de Padronização III – Administração Sistêmica com Escopolamina (Troca de Formulação).	40
5.2.2. Delineamento Experimental PILO	41
5.2.2.1. PILO – I (referente ao Teste de Padronização II)	42
5.2.2.2. PILO – II (referente ao Teste de Padronização III)	43
5.2.3. Perfusão	44
5.2.4. Pós-Fixação dos Encéfalos	44
5.2.5. Cortes Cerebrais	45
5.2.6. Ensaio Histoquímicos	45
5.2.6.1. Nissl	45
5.2.6.2. FluoroJade C	45
5.2.7. Ensaio Imunohistoquímico - GFAP	45
5.2.8. Visualização, Aquisição de Imagens e Análise das Histologias	46
5.2.9. Análises Estatísticas	46
5.2.10. Drogas	46
6. Resultados	48
6.1. Indução de Crises por PTZ	48
6.1.1. Peso corporal	48
6.1.2 Ocorrência de crises	49

6.1.2	Latência para o início das crises	50
6.1.3	Duração das crises	51
6.1.4	Perfil e distribuição dos tipos de crise	52
6.1.4.1	Fêmeas	52
6.2.2	Latência I – Tempo para o início da primeira crise	61
6.2.3	Latência II – Tempo para o início do SE	62
6.2.4	Estágio de início do SE	63
6.2.5	Tempo até a crise mais forte	64
6.2.6	Estágio da crise mais forte	65
6.2.7	Taxa de mortalidade	66
6.3	Avaliação morfológica do hipocampo	66
6.3.1	Reatividade astrocitária – GFAP	67
6.3.2	Integridade e organização celular – Coloração de Nissl	68
6.3.3	Degeneração neuronal aguda – Fluoro-Jade C	69
7	Discussão	70
7.1	Abordagem multimodelo: vantagens e limitações	70
7.2	Efeitos sobre limiar convulsivo, tempo de progressão e intensidade	71
7.3	Modulação da severidade comportamental e impacto na sobrevida	74
7.4	Achados morfológicos: preservação estrutural e neuroproteção hipocampal	76
8.	Conclusão	82
9.	Referências Bibliográficas	83
10.	Anexos	91

1. Introdução

1.1. Epilepsia

1.1.1. Etiologia

A condição médica da epilepsia é tão antiga quanto a própria humanidade. O registro mais antigo de uma crise epiléptica remonta a cerca de 2000 a.C., descrito em um texto escrito em acadiano na antiga Mesopotâmia. O autor descreveu um paciente com sintomas semelhantes aos de uma crise epilética: “seu pescoço vira para a esquerda, suas mãos e pés estão tensos e seus olhos estão bem abertos, e de sua boca flui espuma sem que ele tenha qualquer consciência” (Laulan, 1954). O episódio foi interpretado como resultado de uma força sobrenatural, sendo denominado *antasubbû*, ou “a mão do pecado”, atribuída ao deus da Lua (Laulan, 1954; Magiorkinis *et al.*, 2010).

Registros semelhantes foram encontrados em civilizações egípcia, babilônica e grega, frequentemente relacionados a aspectos espirituais ou religiosos (Magiorkinis *et al.*, 2010). A concepção da epilepsia como fenômeno divino começou a ser questionada com o “pai da medicina”, Hipócrates, que, em sua obra *On the Sacred Disease*, argumentou que a epilepsia não era mais sagrada do que outras enfermidades e possuía causas naturais (Littré, 1849).

A compreensão da epilepsia como uma condição neurológica vinculada a disfunções cerebrais teve início apenas no final do século XIX. O neurologista John Hughlings Jackson esteve entre os pioneiros a propor uma explicação biológica para as crises epiléticas, descrevendo-as como uma “descarga neural ocasional, excessiva e desorganizada” (Hogan & English, 2012; Lerner & Swash, 2024). Jackson também introduziu a ideia de que as manifestações clínicas variáveis das crises epiléticas estavam relacionadas à ativação anormal de regiões cerebrais específicas, afetadas por essas descargas disfuncionais (Hogan & English, 2012).

Atualmente, a Liga Internacional Contra a Epilepsia (*International League Against Epilepsy - ILAE*) define epilepsia como uma doença cerebral caracterizada por uma predisposição duradoura à geração de crises epiléticas e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais que a acompanham (Fisher *et al.*, 2014). Estima-se que a epilepsia afete entre 1% e 2% da população mundial, cerca de 70 milhões de pessoas (Asadi-Pooya *et al.*, 2023; Falco-Walter, 2020). No Brasil,

um estudo realizado em uma população semiurbana identificou uma taxa de prevalência de 7,8 por 1.000 habitantes, com uma leve predominância para o sexo masculino (Lima *et al.*, 2020; Siqueira *et al.*, 2016).

A frequência desta situação globalmente é variável devido a questões metodológicas ou diminuição das crises, sendo influenciada, inclusive, pela economia dos países (Beghi & Hesdorffer, 2014; Falco-Walter, 2020; Lima *et al.*, 2020). Cerca de 80% das pessoas com epilepsia vivem em países de baixa e média renda, dificultando o acesso aos profissionais de saúde, além de maior exposição a fatores de risco como lacuna no tratamento, infecções e lesões cerebrais traumáticas que aumentam a mortalidade precoce (Beghi & Hesdorffer, 2014; Lima *et al.*, 2020; Thijs *et al.*, 2019).

1.1.2. Classificação

As crises epiléticas são definidas como “ocorrências transitórias de sinais e/ou sintomas resultantes de atividade neuronal excessiva ou síncrona no cérebro”, podendo se manifestar de forma convulsiva ou não (Fisher *et al.*, 2014). Essas descargas anormais de neurônios afetam a excitabilidade cortical e, dependendo de sua origem e propagação, podem comprometer diferentes funções neurológicas. Quando há uma predisposição duradoura do cérebro para gerar crises espontâneas e recorrentes, associada a consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais, define-se a condição clínica como epilepsia (Fisher *et al.*, 2014).

As crises epiléticas podem ser classificadas conforme sua etiologia, sendo consideradas idiopáticas (ou primárias) quando de origem genética, ou adquiridas (ou secundárias) quando resultam de distúrbios ou insultos cerebrais específicos, como infecções, traumas cranioencefálicos, eventos hipóxicos ou outras lesões estruturais (Asadi-Pooya *et al.*, 2023; Falco-Walter, 2020).

As crises podem ser de início focal, generalizado ou desconhecido. As crises focais são subdivididas conforme o nível de consciência (preservada ou prejudicada) e pelas manifestações motoras ou não motoras predominantes (Fisher *et al.*, 2017). As crises generalizadas também podem apresentar manifestações motoras ou não motoras, sendo as últimas denominadas ausências (Thijs *et al.*, 2019). O *status epilepticus* (SE) corresponde a uma atividade neuronal excessiva, anormal e sustentada, com duração prolongada, que compromete a função cerebral de forma

significativa e associa-se a elevada morbidade e impacto funcional, sobretudo em contextos refratários ao tratamento (Asadi-Pooya *et al.*, 2023). As crises de início desconhecido podem ter características que ainda podem ser classificadas, um cenário comum inclui alguém que apresenta convulsões sem evidência clínica de início focal ou generalizado (Thijs *et al.*, 2019). Todos os classificadores são opcionais e dependem do nível de detalhe disponível.

1.1.3. Epilepsia do Lobo Temporal (ELT)

A epilepsia do lobo temporal (ELT) representa a forma mais comum de epilepsia focal e corresponde a aproximadamente um terço dos casos (Henning *et al.*, 2023). Ainda de acordo com os autores, pode ser subdividida em ELT mesial e neocortical ou lateral. Os pacientes geralmente apresentam crises focais com comprometimento da consciência, acompanhadas de automatismos, alterações linguísticas e posturas distônicas (Vinti *et al.*, 2021). Dentre esses, entre 30% e 40% são refratários aos tratamentos disponíveis (Abarrategui *et al.*, 2021; Henning *et al.*, 2023). A ELT também está fortemente associada a *déficits* cognitivos e alterações psiquiátricas persistentes (Vinti *et al.*, 2021).

O subtipo mesial da ELT é particularmente associado à esclerose hipocampal, que envolve perda neuronal, gliose astrocitária e reorganização sináptica (Houser, 2024). O hipocampo, estrutura localizada na região medial do lobo temporal, é fundamental para funções como a memória episódica, aprendizado associativo, navegação espacial e regulação emocional (Opitz, 2014; Slotnick, 2022). Essa região apresenta características únicas, como alta plasticidade sináptica e grande densidade de receptores glutamatérgicos e GABAérgicos, tornando-a especialmente vulnerável a insultos excitotóxicos (Opitz, 2014; Vetkas *et al.*, 2022)

A disfunção hipocampal na ELT envolve uma série de alterações estruturais e funcionais. Há perda seletiva de interneurônios GABAérgicos nas sub-regiões CA1, CA3 e no hilo do giro denteado, o que compromete a inibição sináptica e favorece a hiperexcitabilidade neuronal (Huberfeld *et al.*, 2015; X. Li *et al.*, 2021). Além disso, ocorrem alterações nas propriedades dos canais iônicos, como o aumento da expressão de canais de sódio e cálcio, e a disfunção de canais de potássio, contribuindo para o disparo neuronal anormal (Banerjee & Jirsa, 2024; Menezes *et al.*, 2020).

A presença de inflamação crônica no hipocampo é outro aspecto central. A ativação persistente de astrócitos e micróglias libera citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , que modulam a atividade sináptica e promovem ruptura da barreira hematoencefálica, facilitando a entrada de fatores pró-convulsivantes no tecido cerebral (Vezzani *et al.*, 2019; Villasana-Salazar & Vezzani, 2023). Essa inflamação sustentada agrava a neurodegeneração e contribui para a manutenção do estado epiléptico crônico.

Além dos danos estruturais, há alterações nas vias de plasticidade sináptica, como a potenciação de longa duração (LTP) e a depressão de longa duração (LTD). Na ELT, observa-se comprometimento na indução de LTP, o que prejudica os processos de codificação e consolidação de memórias, explicando em parte os déficits cognitivos frequentemente observados nesses pacientes (Bin Ibrahim *et al.*, 2022; Slotnick, 2022).

As conexões do hipocampo com áreas corticais como o córtex pré-frontal e com a amígdala também são afetadas, contribuindo para as comorbidades emocionais e psiquiátricas associadas à ELT, como depressão, ansiedade e distúrbios de regulação emocional (Asadi-Pooya *et al.*, 2023; Huberfeld *et al.*, 2015; Slotnick, 2022).

1.1.4. Tratamento e farmacorresistência

As epilepsias frequentemente coexistem com comorbidades, incluindo déficits cognitivos, distúrbios de memória, depressão, ansiedade, enxaqueca e alterações do sono (Asadi-Pooya *et al.*, 2023). O tratamento padrão baseia-se no uso de medicamentos anticrise (MACs), cujo objetivo é mitigar ou prevenir as crises (Falco-Walter, 2020; Klein *et al.*, 2024). São frequentemente administradas por via oral por um longo período para prevenir a recorrência de crises (Hakami, 2021; Kanner & Bicchi, 2022; Klein *et al.*, 2024). Ao planejar uma abordagem terapêutica, o uso de um único medicamento (monoterapia) é preferido devido a menos efeitos adversos (Hakami, 2021; Kanner & Bicchi, 2022). É provável que a remissão das crises também reduza a morbidade e diminua o risco de mortalidade prematura associada a crises contínuas (Kanner & Bicchi, 2022).

Apesar da disponibilidade de MACs, o controle total das crises não é alcançado em todos os pacientes. Cerca de 30% destes não respondem adequadamente, caracterizando-se como casos farmacorresistentes, que necessitam de politerapia,

dosagens altas, aumentando os efeitos adversos (Giuliano *et al.*, 2024; Kanner & Bicchi, 2022).

Pacientes que desenvolvem resistência aos tratamentos farmacológicos possuem aumento no risco de morte súbita, além de outras formas de mortalidade relacionadas à epilepsia, bem como comprometimentos psicossociais, cognitivos e comportamentais (Kanner & Bicchi, 2022; Sheng *et al.*, 2018). Terapias com várias drogas ou em altas doses causam maiores efeitos adversos colaterais (Sheng *et al.*, 2018). Finalmente, os MACs disponíveis em sua grande maioria apresentam pouca eficácia em reverter ou prevenir os eventos plásticos ocorridos na epileptogênese, indicando a necessidade da busca por novas drogas que sejam mais seguras e eficazes no controle e progressão das crises epiléticas (Giuliano *et al.*, 2024; Hakami, 2021).

1.2. Canabinoides

1.2.1. Uso histórico

A planta *Cannabis sativa* L. tem sido utilizada ao longo de milênios tanto de forma recreativa quanto medicinal em diversas culturas ao redor do mundo. A cerca de 12.000 anos, após o último período glacial, as sementes de *Cannabis sp* acompanharam a migração de povos nômades e as trocas comerciais; estudos paleobotânicos atestam que a *Cannabis sp* estava presente há cerca de 11.700 anos na Ásia Central, fornecendo fibras para cordas e redes, alimento e sementes para óleo (Pisanti & Bifulco, 2019).

Refletindo a longa associação entre *Cannabis sp* e humanos, alguns mitos na Índia atribuem a cannabis ao surgimento, como um ingrediente divino, o deus Shiva supostamente favorecia a cannabis, sendo usada para reduzir dores, náuseas e ansiedade, melhorar o apetite e o sono, relaxar os músculos e produzir uma sensação de euforia (Hasan, 2023; Pisanti & Bifulco, 2019).

O uso medicinal da *Cannabis sativa* é descrito desde a Antiguidade. No Papiro de Ebers, escrito no Egito por volta de 1500 a.C., há menções ao uso tópico da planta para o tratamento de processos inflamatórios. Registros ainda mais antigos, encontrados em tábuas de argila da Mesopotâmia, sugerem que a planta já era

utilizada com fins terapêuticos, possivelmente para tratar sintomas semelhantes aos da depressão moderna (Pisanti & Bifulco, 2019).

Durante o Império Romano, o uso da cannabis com propósitos medicinais foi relatado por autores como Plínio, o Velho, Dioscórides e Galeno. Na obra *Naturalis Historia*, de Plínio (c. 23–79 d.C.), considerada uma das mais antigas enciclopédias do mundo greco-romano, o autor descreve, no Livro 19, o cultivo do cânhamo para a produção de cordas e redes (Dunn, 2019; Hasan, 2023). Já no Livro 20, há referências aos usos medicinais da planta, com distinção entre uma variedade domesticada e outra selvagem, encontrada em florestas (Dunn, 2019). Segundo Plínio, uma decocção das raízes de cannabis em água apresentava propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, sendo indicada para aliviar artrite, gota e enfermidades semelhantes (Dunn, 2019; Hasan, 2023).

A disseminação global da cannabis chegou ao fim quando a planta chegou à África e, finalmente, à América. A Espanha introduziu o cultivo de cânhamo no Chile na primeira década após a *Conquista* (Pisanti & Bifulco, 2019). Louis Hébert, um boticário em Paris, é considerado o primeiro colono a cultivar cânhamo em 1606 na Acádia (hoje, Nova Escócia) (Hasan, 2023; Pisanti & Bifulco, 2019).

1.2.2. Sistema Endocanabinoide

Nas últimas décadas, os principais constituintes químicos da Cannabis spp. (fitocanabinoides) estão sendo isolados e sintetizados, os quais podemos destacar dois principais compostos encontrados em maior quantidade e com atividade no sistema nervoso central (Doyle & Harvey, 2020). O delta-9 Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), substância com efeito psicotrópico mais abundante na Cannabis spp., foi isolado em 1964 e sintetizado em 1971 (Gaoni & Mechoulam, 1971), já o canabidiol (CBD), isolado em 1940 e sintetizado em 1963 (Mechoulam & Parker, 2013), é o segundo fitocanabinoide mais prevalente, mas sem atividade psicoativa.

Após a descrição dos fitocanabinoides, veio a descrição do sistema de receptores canabinoides CB1 e CB2 acoplados à proteína G inibitória (Howlett, 1985) e seus ligantes endógenos *N*-arachidonoil etanolamida (Anandamida) (Devane *et al.*, 1992) e 2-arachidonoil glicerol (2-AG) (Mechoulam *et al.*, 1995) que contribuíram para melhor entender os possíveis mecanismos envolvidos na atividade psicoativas dos canabinóides. Os receptores CB1 estão distribuídos primariamente nos terminais

axonais dos neurônios do córtex, hipocampo, amígdala, tálamo, hipotálamo, tronco cerebral e cerebelo (Al-Zoubi *et al.*, 2019; Shen *et al.*, 2025). Já os receptores CB2 são encontrados principalmente no sistema imune e outros tecidos periféricos e parecem atuar em processos proliferativos e respostas inflamatórias (Komorowska-Müller & Schmöle, 2020; Naikoo *et al.*, 2024).

1.2.3. Uso em Doenças Neurológicas

Substâncias derivadas da *Cannabis* spp. estão sendo propostas para o uso no tratamento de diversas doenças neurológicas como ansiedade, depressão e epilepsia, embora os mecanismos envolvidos ainda não sejam totalmente elucidados (Amin & Ali, 2019; Glenny, 2024; Legare *et al.*, 2022). O Δ^9 -THC, potente agonista dos receptores CB1, foi o primeiro fitocanabinoide demonstrar capacidade de afetar atividade epileptiforme, diminuindo neurotransmissão glutamatérgica em neurônios hipocampais sob condições de baixa concentração de Mg^{2+} (Ng & Keshock, 2025).

Embora o Δ^9 -THC seja o principal composto psicoativo encontrado na *Cannabis* spp., outros canabinoides contribuem para as propriedades medicinais da planta. O CBD apresenta promissor para uso terapêutico clínico devido suas propriedades não-psicotrópicas, baixa toxicidade e alta tolerabilidade em humanos e outras espécies (Legare *et al.*, 2022; Meissner & Cascella, 2025; Moazen-Zadeh *et al.*, 2024). Seu efeito nas epilepsias foi primeiramente demonstrado por Izquierdo e colaboradores (Izquierdo *et al.*, 1973), que mostraram efeito anticrises do CBD em modelo de estimulação elétrica cerebral em camundongos.

Mais recentemente, o CBD tem sido demonstrado exercer papel anticonvulsivante e antiepileptiforme em modelos *in vitro*, através da diminuição da amplitude e duração de potenciais epileptiformes locais (Moreira *et al.*, 2024; von Wrede *et al.*, 2021). Estudos com camundongos tratados com CBD também demonstraram sua eficácia em reduzir tanto a severidade quanto a letalidade das crises induzidas pelo Pentilenotetrazol (PTZ), sem que houvesse aumento na latência para o surgimento das crises (Arzimanoglou *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2023).

Finalmente, utilizando modelo de indução de crises por Pilocarpina (PILO), Jones e colaboradores em (Jones *et al.*, 2012a), encontraram modesta atividade anticonvulsivante do CBD e pouco efeito na mortalidade e severidade do SE. No mesmo trabalho, entretanto, utilizando agora o modelo da penicilina, o tratamento com

CBD demonstrou forte efeito anticonvulsivante e significativamente reduziu a mortalidade e número de crises tônico-clônicas (Jones *et al.*, 2012a).

Os mecanismos pelos quais o CBD exerce seu papel anticonvulsivante não são completamente elucidados, embora alguns trabalhos sugerem possíveis mecanismos intracelulares. O CBD exerce dinâmico controle sobre os níveis de cálcio intracelular, alterando assim a excitabilidade neuronal (Huestis *et al.*, 2019; Moazen-Zadeh *et al.*, 2024). Em condições fisiológicas o CBD aumenta os níveis citoplasmáticos de Ca^{2+} , entretanto em condições de alta excitabilidade o CBD induz a redução dos níveis intracelulares de Ca^{2+} , reduzindo a excitotoxicidade causada pelo cálcio (Moazen-Zadeh *et al.*, 2024).

Administração de CBD exerce papel modulatório nos endocanabinoides, que previnem a neurotoxicidade produzida pelas crises epiléticas, que por sua vez, aumentam liberação de canabinoides endógenos envolvidos em processos neuroprotetores (Arzimanoglou *et al.*, 2020; Kosenkov *et al.*, 2024). Outro possível mecanismo de ação é através da redução do estresse oxidativo (Bhunja *et al.*, 2022) diminuição da gliose e da neuroinflamação em modelo animal de isquemia e reperfusão (Huestis *et al.*, 2019). Embora sejam bastante limitados, estudos com CBD sintético e extratos da Cannabis spp., em combinação ou não com Δ^9 -THC, tem demonstrado provável papel anticonvulsivante em humanos (Stasiłowicz-Krzemień *et al.*, 2024).

O canabigerol (CBG) é um dos fitocanabinoides que interage com o sistema endocanabinoide do corpo humano. Pesquisas iniciais sugerem que o CBG pode possuir propriedades anticonvulsivantes, o que implica que ele pode reduzir a frequência e a intensidade das convulsões (S. Li *et al.*, 2024; Nachnani *et al.*, 2021). Estudos em modelos animais demonstraram que o CBG pode modular a atividade neural e exercer efeitos neuroprotetores (S. Li *et al.*, 2024; Weerts *et al.*, 2024). Além disso, estudos pré-clínicos indicam que o CBG possui atividade anti-inflamatória, inibindo a produção de mediadores inflamatórios e reduzindo a resposta inflamatória em células do sistema imunológico (Calapai *et al.*, 2022; Jastrząb *et al.*, 2022),

Outra propriedade do CBG é sua interação com os receptores de serotonina 5-HT_{1A}, que estão envolvidos na regulação do humor e da ansiedade (Calapai *et al.*, 2022; Echeverry *et al.*, 2021). Estudos indicam que o CBG pode ter efeitos ansiolíticos e antidepressivos (Jastrząb *et al.*, 2022; Nachnani *et al.*, 2021), o que pode ser benéfico para pessoas com epilepsia, que muitas vezes enfrentam distúrbios de

humor e ansiedade como parte da condição. No entanto, é importante destacar que os estudos sobre o CBG e seus efeitos específicos na epilepsia ainda estão em estágios preliminares. São necessárias pesquisas adicionais, incluindo ensaios clínicos em larga escala, para compreender completamente os mecanismos de ação do CBG e estabelecer sua eficácia e segurança como uma opção terapêutica para a epilepsia.

1.3. Modelos Experimentais em Epilepsia

Modelos experimentais de epilepsia são ferramentas fundamentais para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na epileptogênese, bem como para o desenvolvimento e a avaliação de novas estratégias terapêuticas. Eles permitem a investigação controlada dos eventos celulares e moleculares associados à geração e propagação das crises epiléticas, além de possibilitar a triagem de compostos com potencial anticonvulsivante, neuroprotetor ou antiepiléptogênico, como os canabinoides (Löscher & Stafstrom, 2023; Löscher & White, 2023).

A escolha do modelo depende do objetivo do estudo e do tipo de epilepsia a ser investigado. Para a ELT os modelos mais utilizados são os químicos e elétricos, capazes de mimetizar a sequência de eventos que leva da lesão inicial ao desenvolvimento de um estado epilético crônico, com crises recorrentes e alterações histopatológicas típicas do hipocampo (Löscher & White, 2023).

A validade preditiva, face e construtiva são critérios essenciais para a seleção de modelos animais. Modelos como os induzidos por pilocarpina e ácido caínico apresentam boa validade construtiva, pois mimetizam os mecanismos biológicos centrais da ELT (Lévesque *et al.*, 2021a; Rusina *et al.*, 2021). A validade refere-se à semelhança fenotípica com a doença humana, incluindo a presença de crises espontâneas, alterações comportamentais e neuropatológicas. Já a validade preditiva está relacionada à capacidade do modelo de responder a tratamentos eficazes em humanos (Lévesque *et al.*, 2021a; Rusina *et al.*, 2021). Nesse contexto, a testagem de canabinoides nesses modelos permite não apenas a investigação de sua eficácia, mas também o esclarecimento de seus mecanismos, contribuindo para validar seu uso terapêutico.

Modelos experimentais têm sido amplamente utilizados para o estudo de biomarcadores epilépticos, como alterações na expressão de receptores de glutamato e GABA, canais iônicos e proteínas inflamatórias (Löscher & White, 2023). Esses modelos também são essenciais para investigar os efeitos de terapias, como os canabinoides, que têm demonstrado capacidade de modular vias neuroinflamatórias, reduzir a excitabilidade neuronal e restaurar a homeostase sináptica em diferentes contextos epilépticos (Löscher & Stafstrom, 2023).

Entre os modelos experimentais de epilepsia, destaca-se o induzido por pentilenotetrazol (PTZ), um antagonista não competitivo dos receptores GABA_A capaz de induzir tanto crises agudas quanto o processo de epileptogênese. A administração de doses limiáres (60–100 mg/kg) desencadeia convulsões generalizadas, incluindo mioclônias, clônus e extensão tônica, podendo culminar em óbito (Dhir, 2012). Em nível molecular, o PTZ reduz o tônus inibitório cerebral, aumenta a excitabilidade via receptores AMPA, e NMDA, e favorece o influxo excessivo de Na⁺ e Ca²⁺, desencadeando despolarização anormal, estresse oxidativo, neuroinflamação e apoptose neuronal (Monteiro et al., 2024). Tais alterações repercutem principalmente no hipocampo e córtex, regiões críticas para a plasticidade e vulneráveis ao dano excitotóxico, envolvendo ainda a ativação microglial, a perda de transportadores astrocitários de glutamato e a modulação de vias pró-inflamatórias (Monteiro et al., 2024). Assim, o modelo PTZ é amplamente aceito por sua simplicidade, reprodutibilidade e baixo custo, além de permitir o estudo da epileptogênese e da farmacorresistência, pois reproduz características de crises convulsivas e permite testar efeito terapêutico de novos compostos anticonvulsivantes (Dhir, 2012; Erum et al., 2019; Lu et al., 2023; Monteiro et al., 2024).

Outro modelo amplamente utilizado é a indução por pilocarpina (PILO), um agonista colinérgico muscarínico que reproduz características da ELT. A administração sistêmica de PILO em altas doses (300–380 mg/kg) provoca a ativação exacerbada de receptores muscarínicos M1, desencadeando um desequilíbrio colinérgico-glutamatergico que culmina em *status epilepticus* (SE) prolongado (Lévesque et al., 2021a). Em nível celular e molecular, a hiperativação colinérgica induz excesso de liberação de glutamato e influxo de Ca²⁺, o que promove excitotoxicidade, estresse oxidativo, morte neuronal seletiva em regiões do

hipocampo (CA1, CA3 e giro denteado) (Castro *et al.*, 2011b; Meier *et al.*, 2024). Além disso, o modelo está associado à perda de interneurônios GABAérgicos, reorganização sináptica com brotamento de fibras musgosas, neuroinflamação e alterações gliais, sobretudo astrocitose e microgliose reativas (Lévesque *et al.*, 2021b; Meier *et al.*, 2024). Assim, o modelo de PLO permite investigar mecanismos relevantes para investigação de potenciais estratégias terapêuticas, com destaque para aquelas voltadas à preservação e recuperação da integridade funcional do hipocampo.

Além disso, em modelos de epilepsia, a investigação da plasticidade sináptica anormal, quebras da barreira hematoencefálica, modulação glial e alterações na matriz extracelular tem sido favorecida por esses modelos, permitindo o avanço na compreensão da epileptogênese e na busca por intervenções mais eficazes (Löscher & White, 2023). Com o crescente interesse científico e clínico nos fitocanabinoides, esses modelos tornam-se ainda mais relevantes para a avaliação do potencial terapêutico de compostos como o CBG, cujos efeitos neuroprotetores e anticonvulsivantes começam a ser descritos na literatura científica recente.

2. Justificativa

São escassas as evidências corroborando a existência de fármacos antiepiléptogênicos, cuja finalidade é evitar ou mitigar a progressão de alterações estruturais derivadas de insultos iniciais, que, por sua vez, desencadeiam o surgimento de crises epiléticas espontâneas, bem como o declínio cognitivo e de memória frequentemente observado em indivíduos portadores de epilepsia (Kanner e Bicchi, 2022). A eficácia dos medicamentos anticrise reside em sua capacidade de reduzir ou suprimir as crises convulsivas apenas em uma faixa entre 60% e 70% dos casos (Hakami, 2021; Asadi-Pooya *et al.*, 2023). Vale destacar que a pesquisa na esfera da epilepsia tem perseverado na busca incessante por abordagens terapêuticas que minimizem os efeitos colaterais, ao passo que maximizem a efetividade no controle das crises (Kanner e Bicchi, 2022).

Recentes investigações têm elucidado o potencial anticonvulsivante e neuroprotetor dos canabinoides, tal como o canabigerol (CBG), em modelos experimentais de crises epiléticas em animais adultos. Embora o uso de compostos canabinoides tenha se difundido para o tratamento de diversas afecções neurológicas, o conhecimento sobre os efeitos cerebrais e sua influência neurofisiológica permanece limitado (Calapai *et al.*, 2022). É importante ressaltar que grande parte dos indivíduos que recorrem ao uso de compostos canabinoides, incluindo CBG, são aqueles que apresentam epilepsia refratária aos tratamentos farmacológicos convencionais (Calapai *et al.*, 2022). A consolidação dos canabinoides como agentes terapêuticos requer uma análise aprofundada de questões cruciais, como o mecanismo de ação, especialmente do CBG, no controle de crises epiléticas e os efeitos associados ao tratamento isolado com CBG.

3. Hipóteses

- ✓ O CBG possui potencial neuroprotetor e pode mitigar os efeitos adversos causados pela exposição a medicamentos anticrise, resultando em uma redução significativa de alterações cerebrais deletérias.
- ✓ O tratamento com CBG será eficaz como agente anticonvulsivante, promovendo a supressão das crises epiléticas em modelo animal de PTZ (camundongos), sugerindo seu potencial terapêutico no controle e progressão das crises.
- ✓ A administração de CBG aumentará a latência para o início das crises epiléticas em modelo animal, reforçando sua ação anticonvulsivante e seu valor como abordagem terapêutica eficaz.
- ✓ A administração de CBG será capaz de reduzir as alterações histopatológicas associadas à morte neuronal.

4. Objetivos

Investigar de forma abrangente os efeitos do tratamento agudo com canabigerol (CBG) no cérebro de camundongos, tanto em condições fisiológicas quanto em modelos de crises epiléticas.

- ✓ Avaliar os possíveis efeitos toxicológicos do tratamento agudo com CBG sobre os neurônios.
- ✓ Avaliar os efeitos do tratamento agudo com CBG no processo de morte neuronal no cérebro de camundongos.
- ✓ Investigar a ação terapêutica do CBG sobre crises epiléticas em modelo animal.

4.1. Objetivos Específicos

4.1.1. Toxicidade dos Canabinoides sobre o cérebro:

- ✓ Estudar o padrão de neurodegeneração, processos necróticos e apoptóticos no hipocampo 24 horas após o tratamento agudo (dose única) com CBG em camundongos.
- ✓ Estudar o efeito neuroprotetor do CBG sobre a morte neuronal induzida pela ação crises convulsivas no cérebro de camundongos.
- ✓ Analisar a expressão de marcadores inflamatórios associados à morte celular, resposta glial e neuroproteção em cérebros de camundongos tratados com CBG.

4.1.2. Efeito anticonvulsivante do CBG

- ✓ Determinar o efeito anticonvulsivante do CBG em modelo experimental induzido por Pentilenotetrazol (PTZ).
- ✓ Determinar o efeito anticonvulsivante do CBG em modelo experimental induzido por Pilocarpina (PILO).
- ✓ Avaliar o efeito neuroprotetor do CBG no processo de morte neuronal associada a crises epiléticas.

4.1.3. Influência do sexo biológico

- ✓ Investigar possíveis diferenças nos efeitos do tratamento com CBG entre camundongos machos e fêmeas, considerando os desfechos comportamentais e histológicos.

5. Materiais e Métodos

É amplamente documentado na literatura que o tratamento com medicamentos anticrise (MACs) no cérebro pode aumentar o número de mortes neuronais, potencialmente causando efeitos adversos a curto e longo prazo. Portanto, é crucial determinar se o tratamento com canabigerol (CBG) produz efeitos semelhantes aos de outros MACs no cérebro. Para elucidar o perfil de tratamento com CBG, os protocolos experimentais foram divididos em dois modelos distintos de indução de crises: (i) indução aguda por Pentilenotetrazol (PTZ) com análise durante 15 minutos e (ii) indução de *Status Epilepticus* (SE) por Pilocarpina (PILO), com posterior análise em 24 horas. Ambos os protocolos passaram por etapas de padronização prévias à experimentação principal.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo n.º 42/2024, conforme descrito no Anexo I. Ao todo, foram utilizados 279 camundongos C57BL/6, de ambos os sexos e com idade entre 8 e 10 semanas, sendo 156 destinados à padronização dos protocolos e 123 ao delineamento experimental. Os animais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e mantidos no Biotério do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas (DMOR - ICB).

Os camundongos foram alojados em caixas de polipropileno (30 x 20 x 13 cm), forradas com maravalha, com no máximo cinco animais por caixa, sob temperatura controlada (21 °C) e ciclo claro-escuro de 12 horas (claro das 7h às 19h). Tiveram acesso livre à água e à ração, bem como enriquecimento ambiental com iglus plásticos. Todos os experimentos foram realizados no período da manhã, entre 9h e 12h, para reduzir possíveis variações comportamentais circadianas. Esforços rigorosos foram empregados para minimizar o sofrimento dos animais.

Os procedimentos seguiram as normas da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (SBNeC) e da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), além das diretrizes internacionais como *Laboratory Animal Science Association* (LASA) e *International Council for Laboratory Animal Science* (ICLAS).

5.1. Indução de Crises Convulsivas por Pentilenotetrazol (PTZ)

5.1.1. Padronização PTZ

Antes do experimento principal, foi realizada uma fase de padronização com 27 camundongos machos adultos. Essa etapa visou definir a melhor combinação de doses e via de administração de PTZ e CBG, além do método de registro comportamental. Foram testadas as seguintes doses:

- 8 CBG: 10, 30 e 100 mg/kg (administração intraperitoneal - i.p.);
- 9 PTZ: 60 e 100 mg/kg (i.p.);

O software ANY-maze® foi inicialmente utilizado para gravação e análise do comportamento convulsivo, mas não apresentou vantagens significativas. Assim, optou-se pelo uso de uma câmera Logitech® C925e FULL HD, acoplada a um computador por apresentar praticidade e boa qualidade de imagem para os registros em todas etapas seguintes. A dose de PTZ definida para a indução das crises foi 60 mg/kg, uma vez que a dose de 100 mg/kg apresentou alta taxa de letalidade.

5.1.2. Delineamento Experimental PTZ

Utilizamos nessa etapa 92 camundongos adultos (50 machos e 42 fêmeas), alocados em quatro grupos experimentais: um grupo controle com solução veículo (salina 0,9%) e três grupos de tratamento com diferentes doses de CBG nas doses de 10 mg/kg, 30 mg/kg e 100 mg/kg. Todos os tratamentos foram administrados via i.p. Na tabela 1, há a discriminação da quantidade de animais por grupo e sexo.

Tabela 1 - Distribuição dos animais por grupo experimental e sexo (PTZ).

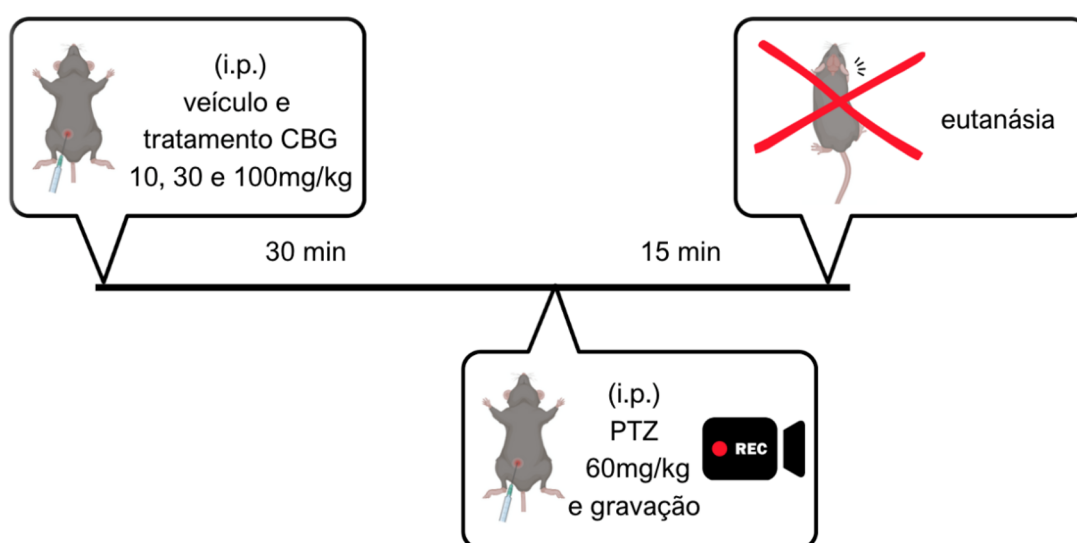
Grupo	Machos	Fêmeas
Controle	11	10
CBG 10 mg/kg	11	11
CBG 30 mg/kg	14	11
CBG 100 mg/kg	14	10
TOTAL	50	42

Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

Após a administração do CBG (ou solução veículo), foi respeitado um intervalo preventivo de 30 minutos para permitir a absorção do tratamento. Em seguida, todos os animais receberam PTZ (60 mg/kg, i.p.) para indução das crises. O comportamento de cada animal foi monitorado e gravado por 15 minutos, a análise da intensidade e progressão das crises seguiu a escala de severidade proposta por Erum *et al.* (ver Anexo II).

Imediatamente após a conclusão do teste comportamental, os animais foram eutanasiados em câmara de dióxido de carbono (CO₂), conforme recomendações éticas. Na figura 1 podemos observar o desenho experimental da indução de crises convulsivas PTZ.

Figura 1 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pentilenotretazol (PTZ).



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2. Indução de Crises Convulsivas por Pilocarpina (PILO)

5.2.1. Padronização PILO

Antes do experimento principal, foi conduzida uma fase de padronização com 129 camundongos adultos (machos e fêmeas) para estabelecer os parâmetros ideais

de indução do *SE* com PILO. O objetivo foi definir a melhor combinação de doses e vias de administração da pilocarpina, escopolamina (SCOP) e CBG. A SCOP foi utilizada com a finalidade de minimizar os efeitos colaterais periféricos da PILO.

Foram testadas as seguintes doses:

- 10 SCOP: 1mg/kg (i.p.);
- 11 CBG: 10, 30 e 100 mg/kg (i.p.);
- 12 PILO:
 - 2,4 µg/µL (via intrahipocampal);
 - 250 a 480 mg/kg (i.p.);

5.2.1.1. Teste de Padronização I - Administração Intrahipocampal

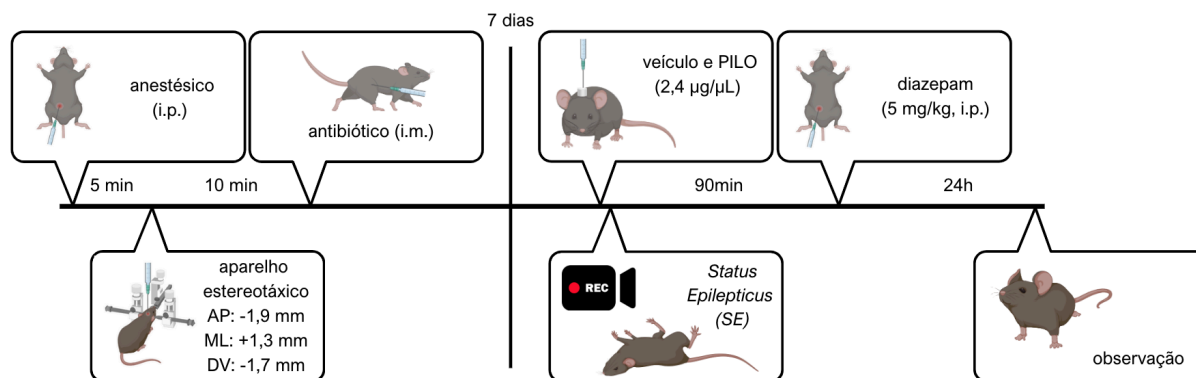
Inicialmente, buscou-se avaliar a indução de *Status Epilepticus (SE)* através da administração de PILO diretamente no hipocampo. Foram utilizados 12 camundongos adultos, sendo 6 de cada sexo. Os animais foram anestesiados via i.p. com combinações de xilazina e ketamina (2% e 8%, respectivamente) para adequação da profundidade anestésica. Para anestesia local, foi utilizado Cloridrato de Lidocaína 2%, contendo Epinefrina na proporção de 1:100.000 como vasoconstritor.

Após a indução da anestesia, os animais foram tricotomizados na região da cabeça e fixados pelo meato acústico e focinho no aparelho estereotáxico. O crânio foi nivelado entre o bregma e o lambda. Cânulas de aço inoxidável foram implantadas no hipocampo dorsal direito com base nas coordenadas: AP: -1,9 mm; ML: +1,3 mm; DV: -1,7 mm (Paxinos e Watson, 2007). As cânulas foram fixadas com parafuso de ancoragem e acrílico autopolimerizável. Uma dose profilática de pentabiótico (0,1 mL/100g) foi administrada por via intramuscular (i.m.) após a cirurgia. Animais foram mantidos em observação em tapete aquecido e ao apresentarem melhora, retornaram para o Biotério DMOR-ICB para recuperação, durante sete dias.

Após recuperação, os animais receberam via cânula uma dose veículo (salina 0,9%) ou PILO (2,4 µg/µL) (Castro *et al.*, 2011b). O comportamento foi gravado imediatamente após a administração de PILO, por um período de 90 minutos, foi utilizada a câmera Logitech® C925e FULL HD acoplada a um computador. A avaliação da latência até o início da crise e a classificação da severidade foi realizada

de acordo com a escala de Racine (anexo III). Após os 90 minutos de SE, uma injeção de Diazepam (5 mg/kg) foi aplicada via i.p. para interromper a crise. Os animais permaneceram em observação por até cinco horas, e uma injeção adicional de Diazepam foi administrada, se necessário.

Figura 2 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pilocarpina (Teste de Padronização I - Administração Intrahipocampal)



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2.1.2. Teste de Padronização II - Administração Sistêmica com Escopolamina

Dado o elevado índice de mortalidade na via intrahipocampal (cerca de 85%), optou-se por administração sistêmica de PILO (via i.p.), precedida da administração de metil-escopolamina (M-SCOP, 1 mg/kg, i.p.) para reduzir os efeitos colaterais periféricos. Neste momento, foram utilizados 53 camundongos adultos (25 machos e 28 fêmeas). Como existem muitas variações deste protocolo na literatura, houve a necessidade de padronizar a dose de PILO que promovesse a indução eficaz do SE, minimizando ao máximo a mortalidade dos animais. Foram testadas as seguintes doses de PILO: 250, 300, 330, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 420, 450 e 480 mg/kg.

Os animais receberam, por via i.p. solução veículo (salina 0,9%) e M-SCOP 1 mg/kg. Após um intervalo de 30 minutos para permitir a absorção do tratamento, foi administrada PILO (i.p.) nas referidas dosagens acima. As demais etapas seguiram o mesmo protocolo descrito no Teste de Padronização I: o comportamento dos animais foi monitorado e gravado por 90 minutos, avaliando-se a latência para início das crises e a severidade das mesmas, sendo considerada apenas a pontuação mais alta na

escala de Racine, dado o caráter contínuo do SE. Ao final dos 90 minutos, foi administrado Diazepam (5 mg/kg, i.p.) para interrupção das crises, com possibilidade de reaplicação caso necessário. A Tabela 2 apresenta a distribuição dos animais de acordo com as doses de PILO (mg/kg) testadas.

Tabela 2 - Teste de Padronização II - Distribuição de animais por dose de PILO (mg/kg).

Dose PILO (mg/kg)	Machos	Fêmeas
250	1	2
300	1	2
330	1	2
350	3	3
360	2	1
370	1	1
380	5	2
390	1	1
400	7	3
420	2	6
450	1	3
480	0	2
Total	25	28

Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2.1.3. Teste de Padronização III – Administração Sistêmica com Escopolamina (Troca de Formulação).

Devido ao desabastecimento da M-SCOP, foi necessária a substituição por butil-escopolamina (B-SCOP). Embora a dose tenha sido mantida em 1 mg/kg (i.p.), observou-se menor eficácia na atenuação dos efeitos periféricos da PILO. Deste modo, houve a demanda de uma nova etapa de padronização para determinar a melhor combinação de dose e minimizar a mortalidade dos animais durante a indução do SE. Foram utilizados 64 camundongos adultos (36 machos e 28 fêmeas) nas diferentes dosagens de PILO: 420, 400, 380, 375, 370, 350, 330, 325 e 320 mg/kg. O

protocolo foi o mesmo do Teste de Padronização II. A Tabela 3 apresenta a distribuição dos animais de acordo com as doses de PILO (mg/kg) testadas:

Tabela 3 - Teste de Padronização III - Distribuição de animais por dose de PILO (mg/kg).

Dose PILO (mg/kg)	Machos	Fêmeas
420	6	6
400	0	6
380	3	10
375	0	5
370	3	1
350	9	0
330	6	0
325	4	0
320	5	0
Total	36	28

Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2.2. Delineamento Experimental PILO

Após a conclusão dos testes de padronização, foi possível estabelecer as doses mais adequadas de PILO para a indução e manutenção de SE, levando em consideração a menor taxa de mortalidade possível. Com base nesses dados, teve início a fase experimental propriamente dita.

Todos os animais utilizados receberam escopolamina (M-SCOP ou B-SCOP, 1 mg/kg, i.p.) para reduzir os efeitos colaterais periféricos da PILO, e, em seguida, foram tratados com canabigerol (CBG – 10, 30 ou 100 mg/kg, i.p.) ou solução veículo (salina 0,9%). Após um intervalo de 30 minutos para absorção, foi administrada PILO (i.p.), nas doses previamente determinadas nos testes de padronização.

Para fins de organização e clareza, o delineamento experimental foi dividido em dois protocolos distintos, conforme a escopolamina:

Tabela 4 - Comparativo entre os protocolos experimentais com pilocarpina (PILO – I e PILO – II).

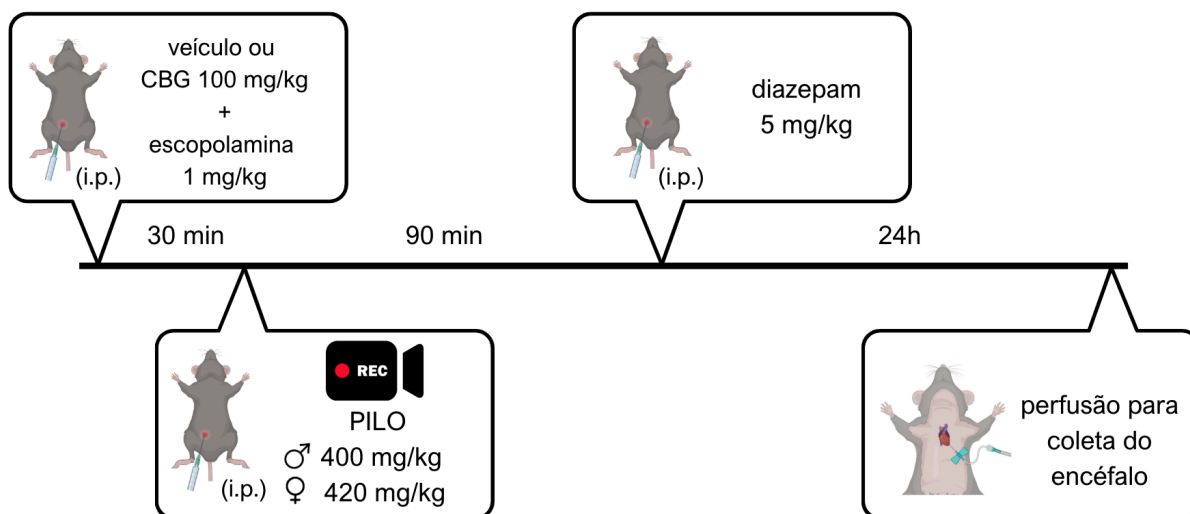
Item	PILO – I	PILO – II
Fase de padronização	Teste de Padronização II	Teste de Padronização III
Escopolamina	M-SCOP (1 mg/kg)	B-SCOP (1mg/kg)
Doses de PILO utilizadas	400 mg/kg (machos)	320 mg/kg (machos)
	420 mg/kg (fêmeas)	375 mg/kg (fêmeas)
Via de administração	Todas as substâncias i.p.	Todas as substâncias i.p.
Doses de CBG	100 mg/kg	10, 30 e 100 mg/kg
Observação	Início da fase experimental	Continuação com novo fornecedor

Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2.2.1. PILO – I (referente ao Teste de Padronização II)

Este protocolo foi conduzido com a M-SCOP. Com base nos resultados da padronização, definiram-se as doses de PILO como 400 mg/kg para camundongos machos e 420 mg/kg para fêmeas. A fase experimental teve início com a administração de CBG na dose de 100 mg/kg (i.p.) em 10 camundongos machos adultos. O CBG e a M-SCOP foram administrados simultaneamente, sendo aplicados em lados opostos do abdômen (CBG à esquerda e SCOP à direita) para minimizar possíveis desconfortos. As demais etapas seguiram o procedimento descrito no Teste de Padronização II. O delineamento experimental correspondente ao protocolo PILO – I está ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pilocarpina (PILO - I).

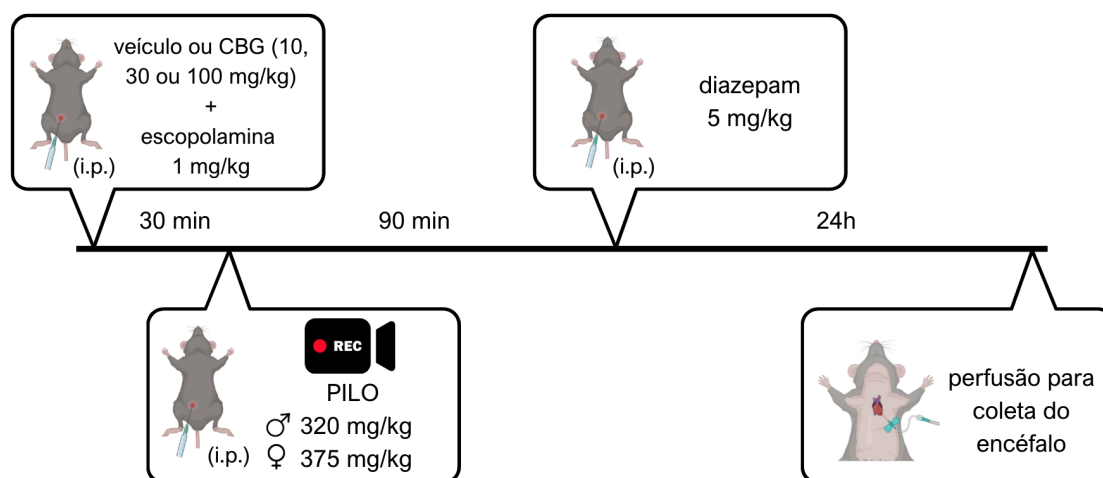


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2.2.2. PILO – II (referente ao Teste de Padronização III)

Devido ao desabastecimento da M-SCOP, este protocolo foi conduzido com a B-SCOP. Com essa formulação, as doses de PILO que apresentaram melhor resposta dose/mortalidade foram de 320 mg/kg para machos e 375 mg/kg para fêmeas. A partir disso, foi realizada a administração de CBG nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/kg (i.p.) em 48 camundongos machos. Assim como no protocolo anterior, as administrações de CBG e B-SCOP foram administrados simultaneamente, em lados opostos. O restante do protocolo permaneceu inalterado. Na figura 4, é possível observar o delineamento experimental correspondente ao protocolo PILO – II.

Figura 4 - Desenho experimental da indução de crises convulsivas por Pilocarpina (PILO - II).



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

5.2.3. Perfusão

Independentemente do delineamento experimental adotado com a PILO, todos os animais foram submetidos à perfusão para posterior coleta dos encéfalos. A janela temporal para a perfusão foi de 24 horas após a indução do SE, com o objetivo de capturar alterações morfológicas e celulares associadas ao tratamento nesse período crítico.

A perfusão dos animais foi realizada de forma transcardíaca, utilizando uma bomba de perfusão Masterflex®, com velocidade controlada. Foi utilizado um volume total de 100 mL de tampão PBS (contendo hidróxido de sódio 0.39%, fosfato de sódio monobásico monohidratado 1.66% e cloreto de cálcio 0.002%), seguido por 300 mL de paraformaldeído (PFA, pH= 7,4) 4% em PBS. As soluções escolhidas visaram garantir a adequada fixação e preservação dos tecidos para análises histoquímicas, imunohistoquímicas e imunofluorescência.

5.2.4. Pós-Fixação dos Encéfalos

Após a perfusão, os cérebros foram imersos em PFA 4% a 4 °C durante a noite (*overnight*) para pós-fixação. Em seguida, foram transferidos para solução tampão PBS e armazenados entre 2 e 7 dias em geladeira (4 °C), período em que foram seccionados.

5.2.5. Cortes Cerebrais

Os encéfalos foram cortados em secções de 40 µm em Micrótomo de Lâmina Vibratória (Leica VT1000 S), imersos em PBS. Os cortes foram distribuídos em lâminas gelatinizadas (gelatina 0,5% + sulfato de cromo-alumínio 0,05%) ou em lâminas polarizadas. Todo o hipocampo foi coletado, com cerca de 4 a 5 cortes por lâmina, totalizando aproximadamente 8 lâminas por animal. As lâminas foram armazenadas em freezer a -20 °C.

5.2.6. Ensaio Histoquímicos

5.2.6.1. Nissl

A coloração de Nissl foi empregada para avaliação da integridade tecidual e densidade neuronal. As lâminas foram reidratadas, imersas por 1 minuto em solução de acetato de violeta de cresila 0,25%, lavadas em água corrente por 10 minutos, desidratadas, diafanizadas e montadas com lamínulas utilizando Entellan® (Mikroskopie) como meio de montagem.

5.2.6.2. FluoroJade C

O FluoroJade C (FJC) foi utilizado para identificação de neurodegeneração após o SE, conforme protocolo de Schmued *et al.* (1997). As lâminas passaram por banhos sequenciais em etanol absoluto (3 minutos), etanol 70% (1 minuto), água destilada (1 minuto), permanganato de potássio (15 minutos com agitação), três lavagens em água destilada, incubação em FJC por 30 minutos com agitação, seguidas de novas lavagens, secagem, imersão em xilol e montagem com Entellan®. A padronização do método no laboratório seguiu (Castro *et al.*, 2011b).

5.2.7. Ensaio Imunohistoquímico - GFAP

O ensaio imunohistoquímico de GFAP foi realizado de acordo com protocolos já estabelecidos em nosso laboratório (Castro *et al.*, 2011a; Furtado *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2011; Tilelli *et al.*, 2005). O GFAP é um marcador de astrócitos ativado presentes em processos inflamatórios. As lâminas foram lavadas três vezes (3–5

minutos) em PBS 10 mM, incubadas com glicina 0,1 M por 5 minutos, lavadas novamente em PBS, permeabilizadas com PBS-Triton X-100 0,1% (3 lavagens), e bloqueadas por 2 horas em BSA 3% (fração V, Sigma). Em seguida, foram incubadas overnight a 4 °C com anticorpo primário diluído em BSA. No segundo dia, as lâminas foram lavadas (8 lavagens em PBS, 3–5 minutos cada), incubadas com anticorpo secundário (2 horas) e novamente lavadas (6x). A montagem foi feita com Entellan® e lamínulas.

5.2.8. Visualização, Aquisição de Imagens e Análise das Histologias

As lâminas foram analisadas por microscopia de fluorescência e de luz. As imagens foram adquiridas com equipamentos disponíveis no laboratório, permitindo comparação entre grupos e posterior quantificação de marcadores celulares.

5.2.9. Análises Estatísticas

Foram utilizados, no mínimo, 10 animais por grupo experimental, número estimado para permitir a detecção de efeitos biologicamente relevantes com significância estatística. Foi utilizado o Software GraphPadPrism 8 para analisar os dados. A normalidade foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Dallal-Wilkinson-Lillie, e as comparações entre grupos foram feitas por ANOVA unidirecional com correção de Holm-Sidak para múltiplas comparações. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), com $p < 0,05$ como critério de significância.

5.2.10. Drogas

1. Canabigerol (CBG): diluído em solução veículo contendo 2% de Tween 80 (Mallinckrodt Chemical OR), imediatamente antes da injeção. Concentrações de 3, 30 e 100 mg/kg, doses essas já utilizadas em outros modelos experimentais de crises (Jones *et al.*, 2010, 2012b). O CBG utilizado foi gentilmente doado pelos professores Dr. Fabrício de Araújo Moreira do Departamento de Farmacologia – ICB/UFMG e Dr. Jose Alexandre de Souza

Crippa do Departamento de Neurociências - USP, ambos colaboradores desse presente estudo;

2. Cloridrato de Lidocaína 2% contendo Epinefrina 1:100,000 (Astra): anestésico local combinado com vasoconstritor;
3. Metil-escopolamina (M-SCOP, Sigma- Aldrich): 1mg/kg
4. Butil-escopolamina (B-SCOP, Hipolabor): 1mg/kg
5. Diazepam (Roche): preparado na dose de 5 mg/kg, aplicado i.p.;
6. Ketamina (Agener Ind. E Com. LTDA): i.p. 1,0 mg/kg;
7. Pilocarpina (PILO, Sigma-Aldrich): administrada através da cânula inserida durante a cirurgia esterotáxica, na concentração de 2.4 µg/µL;
8. Pentabiótico veterinário (Fort Dodge): preparado na dose de 0,1 mL/100g de peso corporal durante a cirurgia estereotáxica;
9. Petilenotetrazol (PTZ, Sigma-Aldrich): diluído em solução salina e injetado i.p. na concentração de 60 mg/kg (Huizenga *et al.*, 2017); e
10. Xilazina (Bayer AS): i.p. 0,7 mg/kg; combinado com Ketamina.

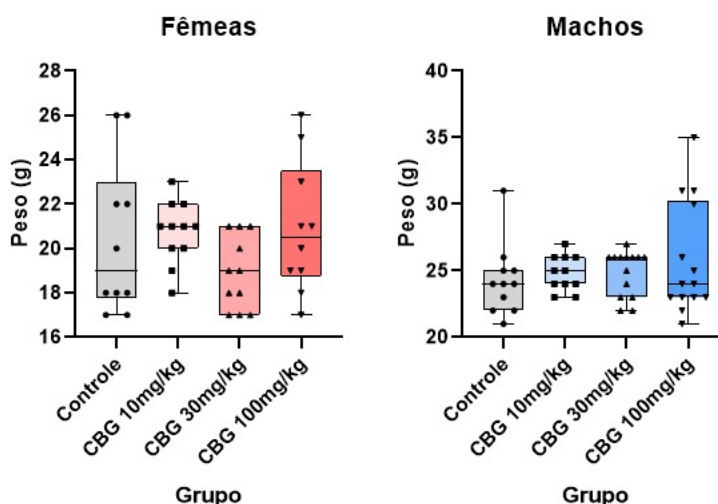
6. Resultados

6.1. Indução de Crises por PTZ

Após a etapa de padronização e a definição dos grupos experimentais, foram conduzidas as análises comportamentais visando avaliar o efeito do tratamento agudo com canabigerol (CBG) em diferentes doses (10, 30 e 100 mg/kg) sobre a suscetibilidade e o perfil das crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos machos e fêmeas adultos.

6.1.1. Peso corporal

Figura 5 - Distribuição do peso corporal (g) de camundongos machos e fêmeas nos diferentes grupos experimentais no modelo de indução por PTZ (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).



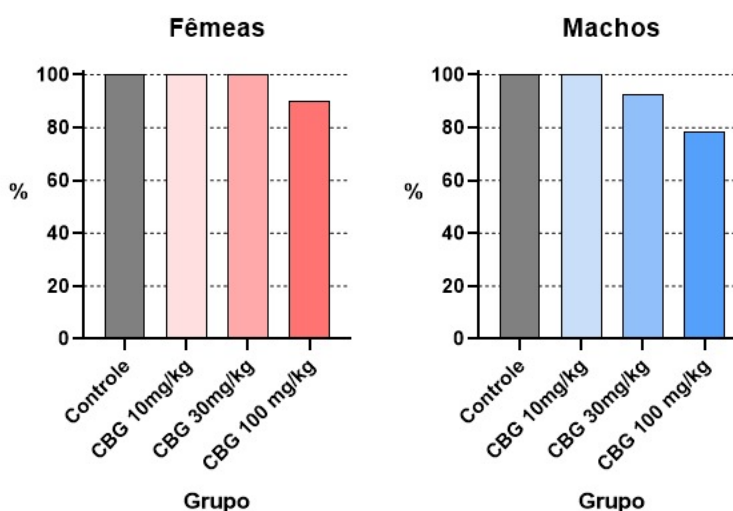
Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A avaliação do peso corporal foi realizada imediatamente antes da administração dos tratamentos. Nos camundongos fêmeas, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais, com valores medianos variando entre 19g e 21g, tanto no grupo controle (solução salina) quanto nos grupos tratados com CBG nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg. De modo semelhante, os camundongos machos também apresentaram distribuição de peso homogênea entre os grupos, com médias situadas entre 23g e 26g, sendo notada maior dispersão no

grupo tratado com 100 mg/kg de CBG, o qual apresentou alguns valores extremos, sem, contudo, alterar de forma significativa a média do grupo.

6.1.2 Ocorrência de crises

Figura 6 - Ocorrência de crises (%) em camundongos machos e fêmeas submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos diferentes grupos experimentais (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).

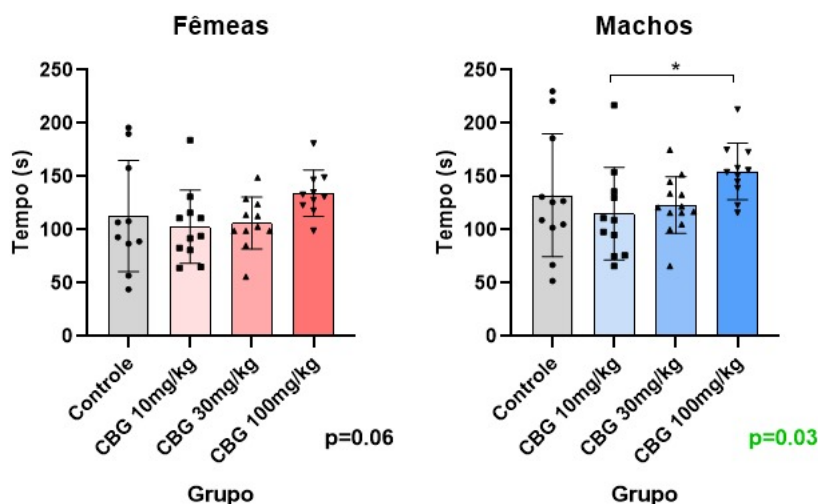


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A maior parte dos animais de ambos os sexos apresentou crises convulsivas durante o período de observação comportamental (15 minutos após a administração de PTZ). Em fêmeas, houve a ocorrência de crises em todos animais dos grupos Controle, CBG 10mg/kg e 30mg/kg. Já no grupo GBG 100mg/kg foi observada uma discreta redução no número de animais que apresentaram crises epiléticas. Entre os machos, os grupos controle, CBG 10 mg/kg e CBG 30 mg/kg apresentaram incidência de crises acima de 90%, enquanto no grupo CBG 100 mg/kg, cerca de 80% dos animais tiveram crises.

6.1.2 Latência para o início das crises

Figura 7 - Latência para o início das crises (s) em camundongos machos e fêmeas submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos diferentes grupos experimentais (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).

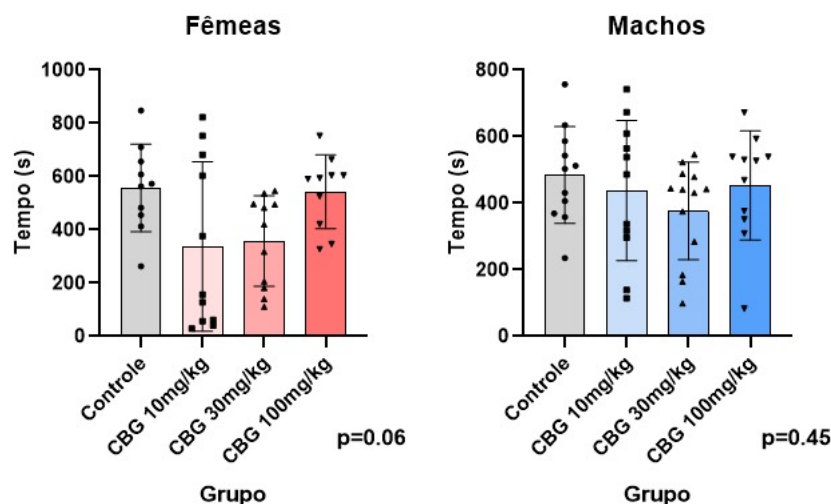


Legenda: *Kruskall-Wallis test*. * $p < 0,05$. Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A latência para o início das crises, expressa em segundos (s), apresentou variação entre os diferentes grupos experimentais. Entre as fêmeas, o grupo controle apresentou média de 113 segundos (± 44 –196 s), valor semelhante aos observados nos grupos CBG 10 mg/kg (média de 103 segundos; ± 64 –184 s) e CBG 30 mg/kg (média de 106 segundos; ± 56 –149 s). O grupo tratado com CBG 100 mg/kg, por sua vez, apresentou média aumentada, atingindo 134 segundos (± 99 –181 s). Nos machos, observou-se uma tendência de aumento da latência nos grupos tratados com CBG, sendo mais evidente no grupo CBG 100 mg/kg, que apresentou média de 155 segundos (± 116 –213 s), em comparação ao controle (133 segundos; ± 52 –230 s). A análise estatística evidenciou diferença significativa entre os machos ($p < 0,05$), especialmente comparando os grupos CBG 10 mg/kg e CBG 100 mg/kg.

6.1.3 Duração das crises

Figura 8 - Duração das crises (s) em camundongos machos e fêmeas submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos diferentes grupos experimentais (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).



Legenda: *Kruskal-Wallis test*. Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A duração total das crises, registrada em segundos, apresentou ampla dispersão entre os indivíduos e não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais. Vale destacar que essa variabilidade pode estar relacionada ao número de mortes observadas: em casos em que os animais morreram durante o experimento, a duração da crise foi naturalmente menor, já que esses indivíduos não completaram os 15 minutos de observação previstos.

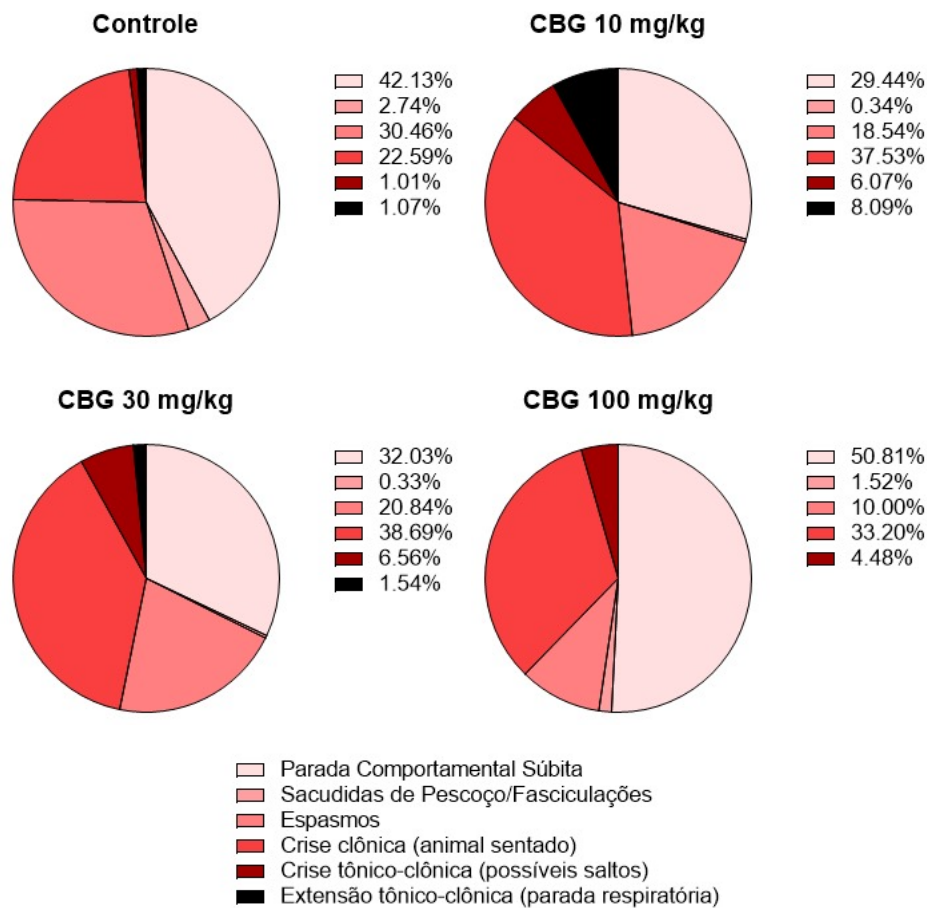
Nas fêmeas, o grupo controle apresentou média de duração de 557 segundos (± 263 –848 s), enquanto os grupos CBG 10 mg/kg e CBG 30 mg/kg exibiram médias reduzidas, de 337 segundos (± 29 –823 s) e 357 segundos (± 111 –546 s), respectivamente. O grupo CBG 100 mg/kg apresentou média semelhante à do controle, com 543 segundos (± 327 –753 s). Nos machos, a menor média de duração foi observada no grupo CBG 30 mg/kg (377 segundos; ± 99 –546 s), enquanto os demais grupos apresentaram médias variando entre 438 e 485 segundos, sem diferenças relevantes do ponto de vista estatístico.

6.1.4 Perfil e distribuição dos tipos de crise

A distribuição dos diferentes tipos de crise observados foi analisada de acordo com a classificação de Erum *et al.* (anexo II), considerando tanto a frequência relativa quanto a porcentagem de animais acometidos por cada manifestação.

6.1.4.1 Fêmeas

Figura 9 - Distribuição percentual dos diferentes tipos de crises observadas em fêmeas submetidas ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A distribuição dos diferentes tipos de crises em fêmeas submetidas ao modelo de indução por PTZ evidencia um perfil dinâmico de manifestações comportamentais frente ao tratamento com CBG. No grupo controle, predominou a parada comportamental súbita (42,13%), seguida por espasmos (30,46%) e crise clônica em

animal sentado (22,59%), enquanto eventos mais graves como sacudidas de pescoço/fasciculações (2,74%), crise tônico-clônica (1,01%) e extensão tônico-clônica (1,07%) apresentaram baixa frequência.

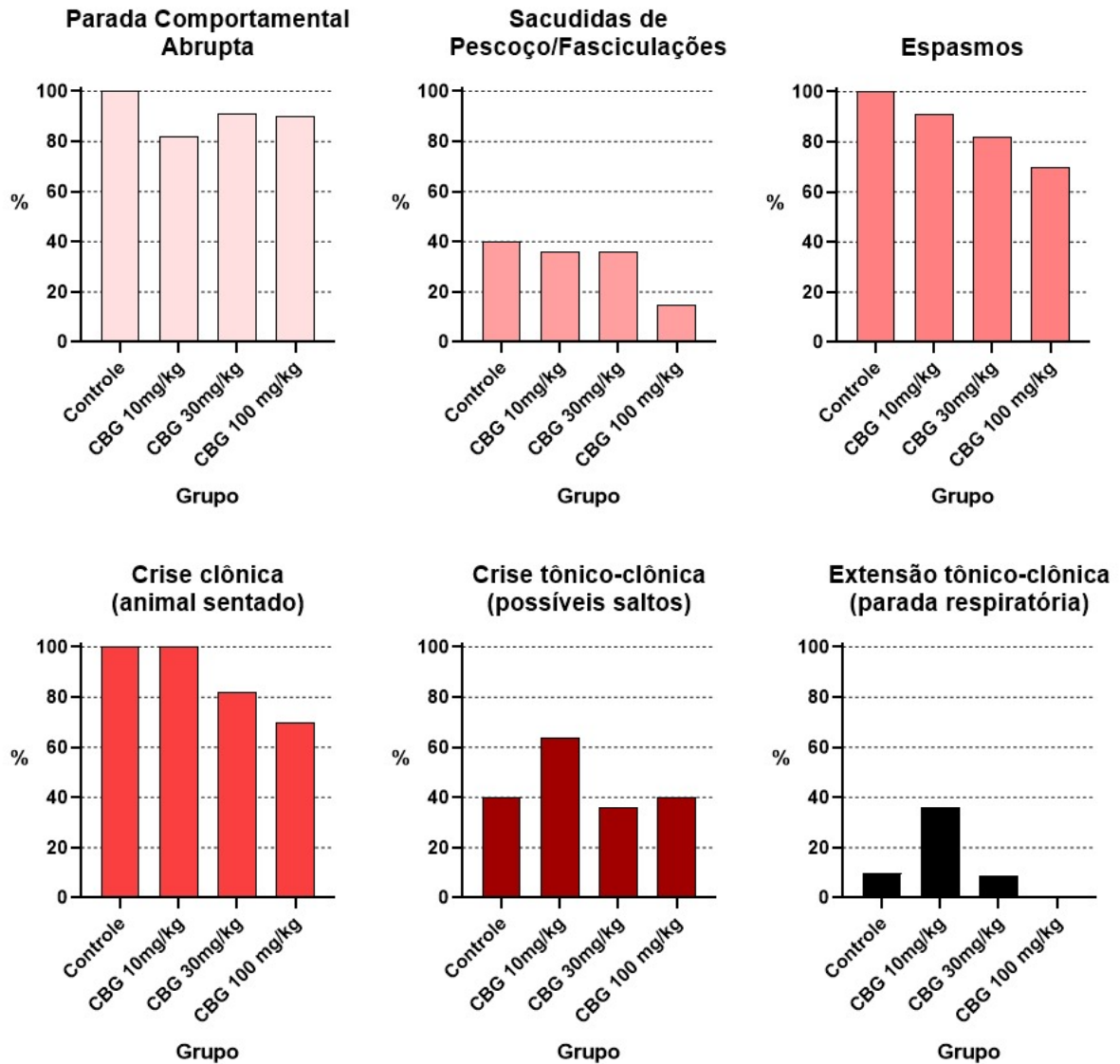
Com a administração de CBG 10 mg/kg, observou-se um aumento expressivo na frequência relativa de crise clônica (37,53%) e uma redução dos episódios de parada comportamental súbita (29,44%) e espasmos (18,54%). Simultaneamente, houve elevação das crises tônico-clônicas (6,07%) e extensão tônico-clônica (8,09%), indicando que, nesta dose, o CBG pode favorecer o surgimento de manifestações motoras mais complexas em detrimento das formas iniciais e intermediárias.

No grupo CBG 30 mg/kg, a crise clônica manteve-se como manifestação predominante (38,69%), acompanhada de parada comportamental súbita (32,03%) e espasmos (20,84%). Apesar do leve aumento das crises tônico-clônicas (6,56%) e pequena prevalência de extensão tônico-clônica (1,54%), o perfil geral manteve-se relativamente estável, com predominância de manifestações intermediárias e baixa incidência de eventos graves.

A administração de CBG 100 mg/kg, por sua vez, promoveu um novo rearranjo no padrão das crises: houve predomínio de parada comportamental súbita (50,81%), expressiva redução dos espasmos (10,00%) e manutenção de crise clônica em patamar elevado (33,20%). Nesse grupo, observou-se redução de manifestações graves, com crise tônico-clônica em 4,48% dos episódios e ausência de extensão tônico-clônica.

Em síntese, os dados sugerem que, em fêmeas, doses intermediárias de CBG (10 e 30 mg/kg) podem favorecer o deslocamento das manifestações para padrões motores mais complexos, enquanto a dose mais alta (100 mg/kg) tende a restabelecer o predomínio de manifestações menos graves, reduzindo a frequência relativa de espasmos e eventos críticos. Assim, o perfil de crises revela-se fortemente modulado pelo tratamento, de forma dose-dependente, apontando para uma possível ação seletiva do CBG sobre a gravidade e a expressão comportamental das crises epiléticas.

Figura 10 - Frequência (%) dos diferentes tipos de crises comportamentais observadas em fêmeas submetidas ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

Nas fêmeas submetidas ao modelo de indução por PTZ, a parada comportamental abrupta foi observada em todos animais no grupo controle, e manteve-se elevada nos grupos CBG 30 mg/kg e CBG 100 mg/kg (acima de 90%), apenas o grupo CBG 10 mg/kg teve discreta redução dos animais apresentando este tipo de comportamento, com 82%. As sacudidas de pescoço/fasciculações foram observadas em aproximadamente 40% das fêmeas do grupo controle, CBG 10 mg/kg e 30 mg/kg, reduzindo abruptamente no grupo tratado com CBG 100 mg/kg (15%).

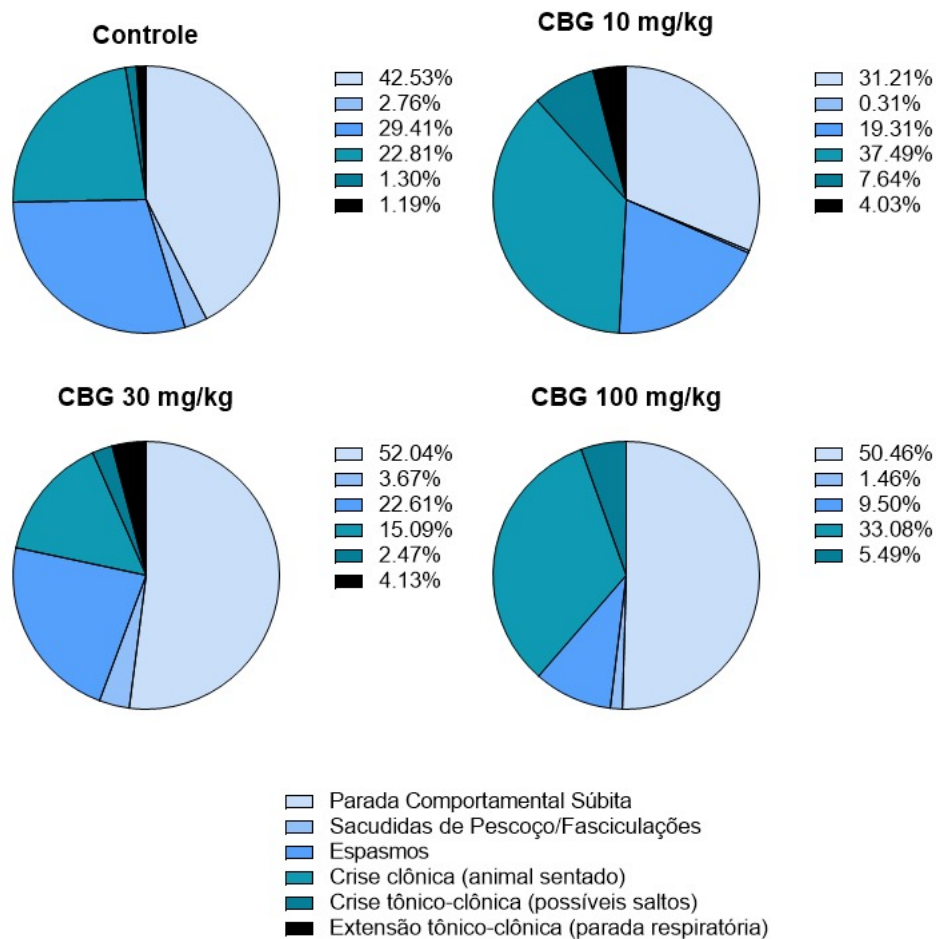
Os espasmos ocorreram em todas as fêmeas do grupo controle e diminuiu progressivamente nos demais grupos: 91% no CBG 10 mg/kg, 83% no CBG 30 mg/kg e 70% no grupo CBG 100 mg/kg. O comportamento da crise clônica (com o animal sentado) foi apresentado por todos animais dos grupos controle e CBG 10 mg/kg, enquanto no CBG 30 mg/kg caiu para cerca de 80% e 70% no grupo CBG 100 mg/kg.

As crises tônico-clônicas (com possíveis saltos) oscilaram por volta 40% entre os grupos controle, CBG 30 mg/kg e CBG 100 mg/kg, sendo mais frequentes nos animais do grupo CBG 10 mg/kg (64%). Por fim, a extensão tônico-clônica (com parada respiratória, levando à morte) foi pouco frequente nos grupos controle e CBG 30 mg/kg com morte de 10% dos animais, houve um sobre sobressalto no grupo CBG 10 mg/kg chegando à quase 40% de mortes, enquanto no grupo CBG 100 mg/kg não foi registrada nenhuma morte.

Em síntese, observou-se que o tratamento com CBG, especialmente na dose de 100 mg/kg, promoveu leve redução nas manifestações motoras mais graves (crise clônica, espasmos e extensão tônico-clônica), enquanto os comportamentos iniciais e intermediários, como parada comportamental abrupta e espasmos, permaneceram prevalentes em todos os grupos.

6.1.4.2. Machos

Figura 11 - Distribuição percentual dos diferentes tipos de crises observadas em machos submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A análise da distribuição percentual dos diferentes tipos de crises em machos submetidos ao modelo de PTZ revela mudanças no perfil comportamental a depender da dose de CBG administrada. No grupo controle, predominaram as manifestações menos graves, com destaque para a parada comportamental súbita (42,53%) e espasmos (29,41%), enquanto eventos motores mais complexos, como crise clônica (22,81%), crise tônico-clônica (1,30%) e extensão tônico-clônica (1,19%), foram pouco frequentes.

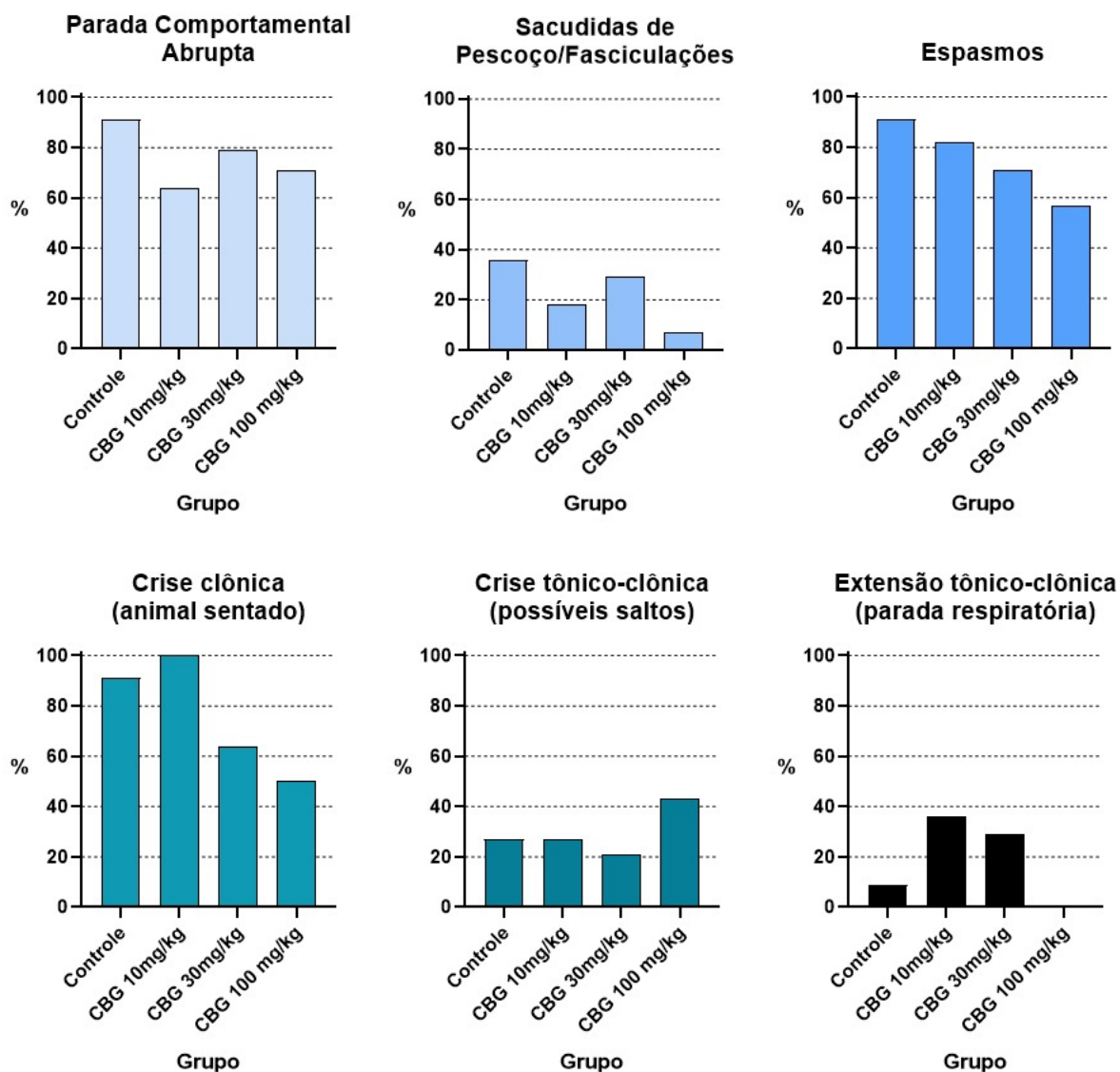
Com a administração de CBG 10 mg/kg, observa-se um deslocamento do padrão das crises, com redução das manifestações iniciais (parada comportamental súbita caiu para 31,21% e espasmos para 19,31%) e aumento da prevalência de crises clônicas (37,49%), além de elevação relativa das formas mais graves, como crise tônico-clônica (7,64%) e extensão tônico-clônica (4,03%). Esse perfil sugere que, nesta dose, o CBG pode modular a expressão clínica das crises, reduzindo episódios mais leves, mas com aumento proporcional de eventos motores mais complexos.

No grupo tratado com CBG 30 mg/kg, houve aumento expressivo da parada comportamental súbita (52,04%), tornando-se o tipo de crise mais prevalente, enquanto a frequência de crise clônica diminuiu para 15,09%. Espasmos (22,61%) mantiveram-se em patamar intermediário, e as manifestações mais graves permaneceram pouco prevalentes (crise tônico-clônica 2,47% e extensão tônico-clônica 4,13%). Este resultado sugere um possível efeito de estabilização, com predomínio de manifestações comportamentais menos graves.

Com CBG 100 mg/kg, o perfil de crises mostrou predomínio de parada comportamental súbita (50,46%) e crise clônica (33,08%), acompanhados por marcante redução de espasmos (9,50%) e sacudidas de pescoço/fasciculações (1,46%). Embora a frequência de crises tônico-clônicas (5,49%) seja superior ao grupo controle, não foram registradas extensões tônico-clônicas nesse grupo, sugerindo um possível efeito protetor parcial contra as formas mais graves de crise.

De maneira geral, observa-se que o CBG promove alterações na distribuição dos tipos de crise, com redução consistente dos espasmos e das sacudidas de pescoço/fasciculações em doses mais altas, além de predomínio dos eventos menos graves (parada comportamental súbita e crise clônica) nos grupos tratados com 30 e 100 mg/kg. Por outro lado, há uma tendência de aumento relativo de manifestações tônico-clônicas em doses intermediárias, mas esse padrão não se mantém nas doses mais altas, indicando que o perfil dose-dependente do CBG pode modular tanto a gravidade quanto a frequência dos diferentes tipos de crise.

Figura 12 - Frequência (%) dos diferentes tipos de crises comportamentais observadas em machos submetidos ao modelo de indução por PTZ, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

Nos machos submetidos ao modelo de indução por PTZ, a parada comportamental abrupta foi a manifestação mais prevalente no grupo controle (90%), mantendo alta frequência no grupo CBG 30 mg/kg (aproximadamente 80%). Enquanto reduzindo-se para cerca de 60% no grupo CBG 10 mg/kg e 70% no grupo CBG 100 mg/kg. As sacudidas de pescoço e fasciculações foram pouco frequentes como um todo, cerca de 40% dos animais do grupo controle apresentou este comportamento,

caindo para 30% no grupo CBG 30 mg/kg, 20% no grupo CBG 10 mg/kg e para menos de 10% no grupo CBG 100 mg/kg.

Os espasmos, assim como nas fêmeas, foram observados em quase 90% dos animais dos grupos controle, caindo para pouco mais de 80% em CBG 10 mg/kg, 70% no grupo CBG 30 mg/kg e pouco menos de 60% no grupo CBG 100 mg/kg. Nas crises clônicas (animal sentado) todos animais na dose de CBG 10 mg/kg apresentaram este comportamento, a alta prevalência também esteve presente no grupo controle com 92%, já o grupo CBG 30 mg/kg apresentou pouco mais de 60% enquanto apenas metade dos animais na dose de CBG 100 mg/kg tiveram crises clônicas.

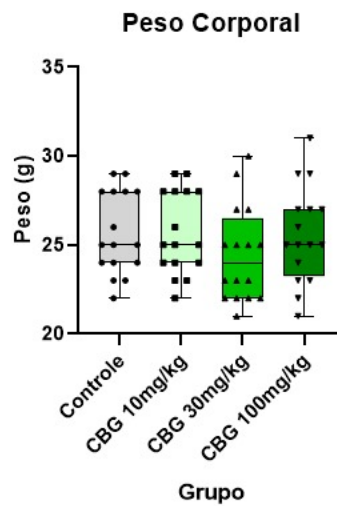
As crises tônico-clônicas (com possíveis saltos) ocorreram em torno de 30% dos animais nos grupos controle e CBG 10 mg/kg, 20% no grupo CBG 30 mg/kg, com aumento para 43% no grupo CBG 100 mg/kg. Já a extensão tônico-clônica (com parada respiratória, levando à morte do animal) foi pouco frequente no grupo controle (cerca de 10%), mas apresentou aumento para quase 40% nos grupos CBG 10 mg/kg e 30% no grupo 30 mg/kg, não sendo observada mortes no de animais no grupo CBG 100 mg/kg (cerca de 10%).

Esses dados indicam que o tratamento com CBG, especialmente na dose de 100 mg/kg, promoveu redução das manifestações leves e intermediárias, como parada comportamental abrupta, sacudidas de pescoço e espasmos, enquanto crises de maior gravidade, como crises tônico-clônicas, apresentaram aumento relativo, ainda que sua prevalência absoluta permaneça inferior às manifestações menos graves. Ao passo que a dose de CBG 10 mg/kg mostrou resultados piores, incluindo crises clônicas e mais mortes.

6.2 Indução de Crises por PILO

6.2.1 Peso corporal

Figura 13 - Distribuição do peso corporal (g) de camundongos nos diferentes grupos experimentais no modelo de indução por PILO (Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg).

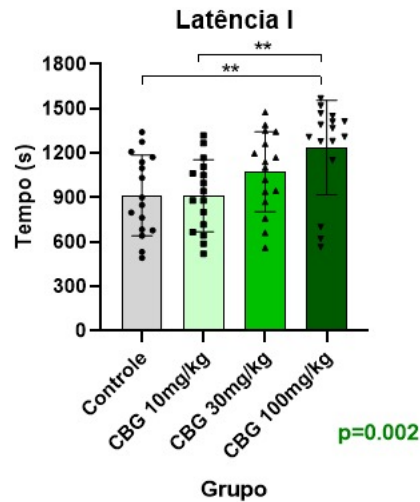


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A avaliação do peso corporal, realizada antes dos procedimentos experimentais, revelou homogeneidade entre os grupos. Os animais do grupo controle apresentaram pesos médios de entre 25g, sem diferenças significativas em relação aos grupos tratados com CBG nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg. A variação observada é atribuída à variabilidade biológica natural dos animais, sem impacto relevante sobre os demais desfechos experimentais.

6.2.2 Latência I – Tempo para o início da primeira crise

Figura 14 - Latência I (tempo para o início das crises, em segundos) em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



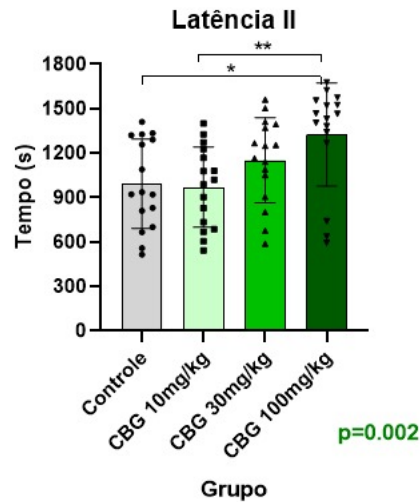
Legenda: *Kruskall-Wallis test*. ** $p < 0,01$. Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A latência para o início das crises revelou diferenças entre os grupos avaliados. O grupo controle apresentou média de 900 segundos (± 492 –1342 s) para o surgimento dos primeiros comportamentos convulsivos, valor semelhante ao observado no grupo CBG 10 mg/kg (± 521 –1319 s). Os animais tratados com CBG 30 mg/kg apresentaram discreto aumento na latência, com média de 1075 segundos (± 561 –1477 s). No grupo CBG 100 mg/kg, esse efeito foi ainda mais pronunciado, com latência média de 1238 segundos (± 566 –1568 s) para o início das crises.

A análise estatística confirmou uma tendência de aumento dose-dependente da latência, com diferença significativa principalmente para o grupo tratado com 100 mg/kg de CBG ($p < 0,01$). Esses resultados sugerem que o tratamento com CBG, especialmente na dose mais alta, pode promover elevação do limiar convulsivo, retardando o início das crises no modelo induzido por PILO.

6.2.3 Latência II – Tempo para o início do SE

Figura 15 - Latência II (tempo para o início do SE, em segundos) em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.

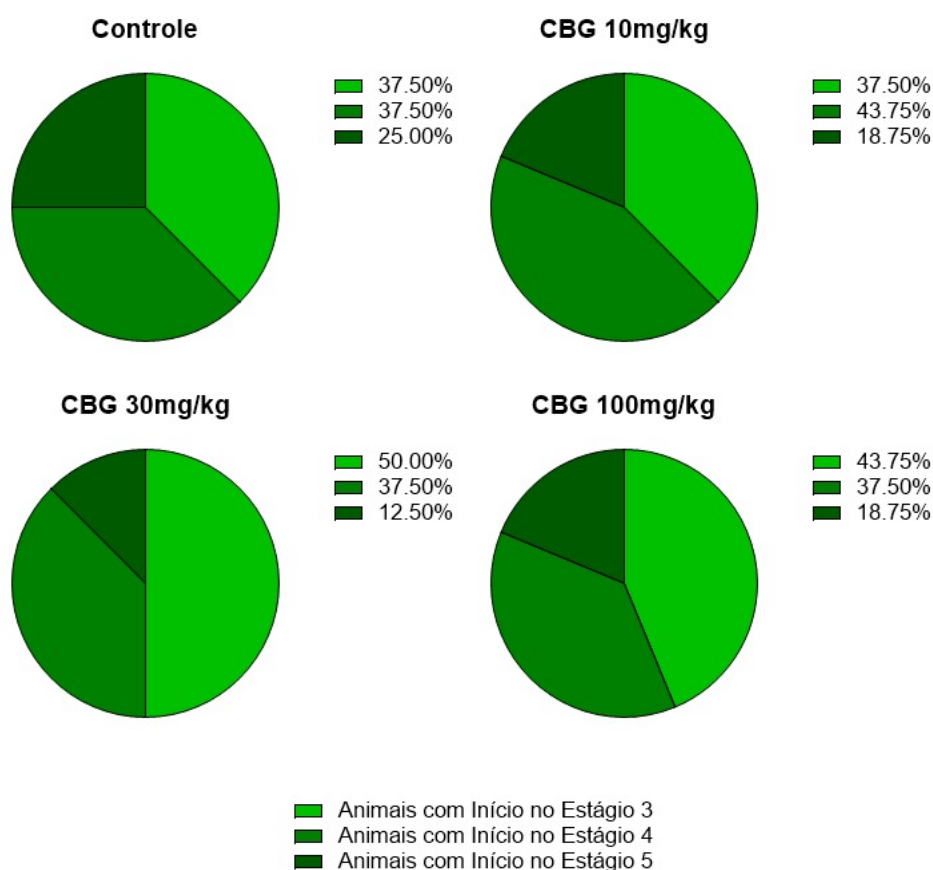


Legenda: *Kruskal-Wallis test*. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A latência para o desenvolvimento do SE também foi aumentada nos grupos tratados com CBG. O grupo controle apresentou média de 993 segundos, assim como o CBG 10 mg/kg (± 515 –1411 e ± 544 –970 s, respectivamente). O grupo tratado com CBG 30 mg/kg apresentou média aumentada de 1152 segundos (± 588 –1560 s), enquanto no grupo CBG 100 mg/kg a latência foi ainda maior, atingindo 1325 segundos (± 594 –1678 s). Assim, o tratamento com CBG, especialmente nas doses mais altas, retardou significativamente o início do SE induzido por PILO.

6.2.4 Estágio de início do SE

Figura 16 - Distribuição dos estágios de início do SE em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, conforme a escala de Racine, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.

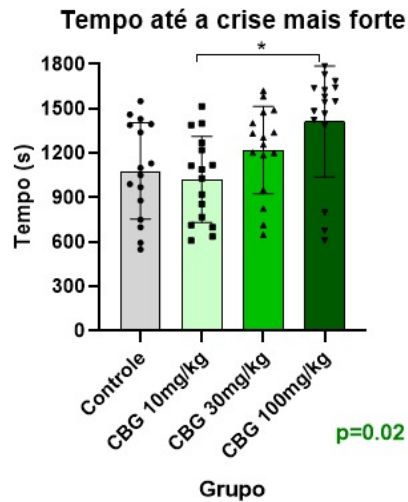


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

No grupo controle, a maioria dos animais desenvolveu o SE em estágios elevados da escala de Racine: 37,5% dos animais iniciaram o SE em estágio 4, 37,5% em estágio 5 e 25% em estágio 3. No grupo CBG 10 mg/kg, a distribuição foi semelhante ao controle, com leve predomínio de estágios 4 e 5. O grupo 30 mg/kg apresentou aumento na proporção de animais que iniciaram o SE em estágio 3 (50%), com redução dos estágios mais graves. No grupo 100 mg/kg, 44% dos animais iniciaram em estágio 3, 37% em estágio 4 e apenas 19% em estágio 5. Os dados sugerem que o CBG em doses mais altas favorecem o início do SE em estágios comportamentais menos graves.

6.2.5 Tempo até a crise mais forte

Figura 17 - Tempo até a ocorrência da crise mais forte (em segundos) em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.

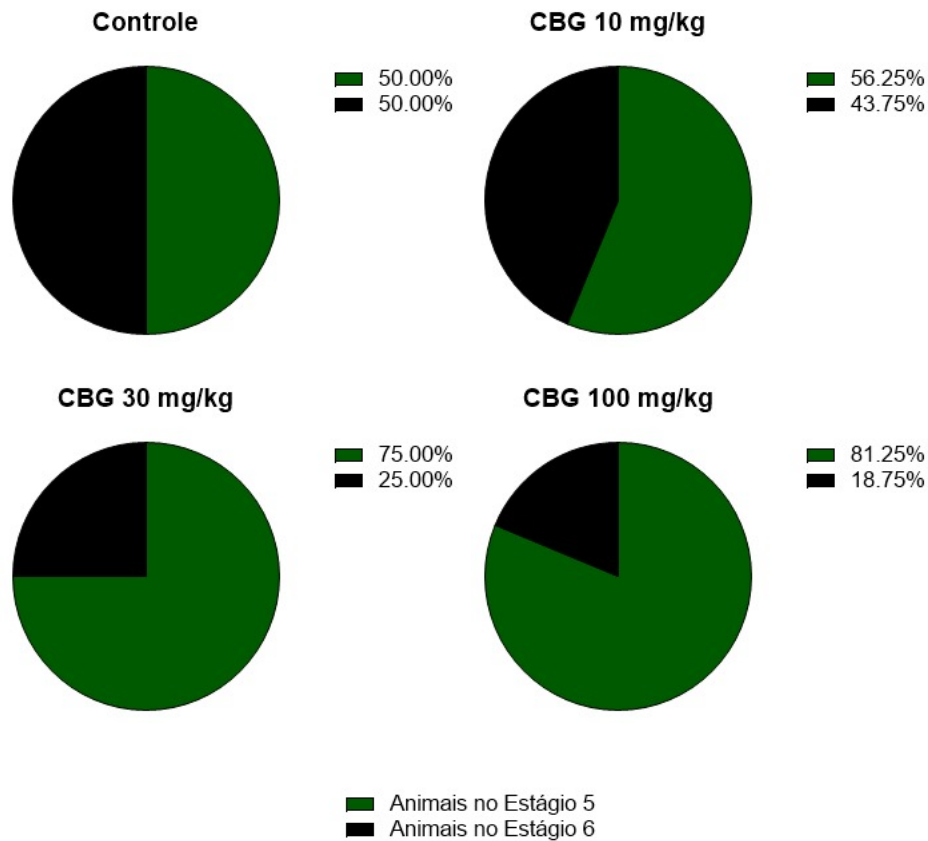


Legenda: *Kruskall-Wallis test*. * $p < 0,05$. Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

O tempo decorrido até a manifestação da crise mais forte apresentou tendência crescente conforme o aumento da dose de CBG. O grupo controle atingiu a crise mais forte em média de 1080 segundos (± 550 –1550 s). No grupo CBG 10 mg/kg, a média foi de 1022 segundos (± 610 –1515 s). O grupo tratado com CBG 30 mg/kg apresentou média de 1221 segundos (± 649 –1619 s), enquanto o grupo CBG 100 mg/kg exibiu aumento mais expressivo, com média de 1414 segundos (± 610 –1786 s). Esses dados indicam que o tratamento com CBG, principalmente na dose mais elevada, retardou significativamente a progressão para as manifestações epilépticas mais graves no modelo de indução por PILO.

6.2.6 Estágio da crise mais forte

Figura 18 - Distribuição dos estágios comportamentais mais graves atingidos durante o SE, segundo a escala de Racine, em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.

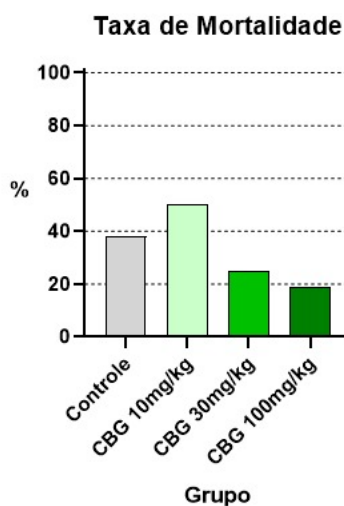


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

Em relação ao estágio comportamental mais grave atingido durante o SE, o grupo controle apresentou distribuição igual entre os animais: 50% atingiram o estágio 5 e 50% chegaram ao estágio 6. O grupo tratado com CBG 10 mg/kg apresentou proporção semelhante, com 56,25% dos animais limitados ao estágio 5 e 43,75% progredindo até o estágio 6. Nos grupos tratados com doses mais altas de CBG, observou-se um predomínio de animais restritos ao estágio 5: 75% no grupo CBG 30 mg/kg e 81,25% no grupo CBG 100 mg/kg, enquanto apenas 25% e 18,75% dos animais, respectivamente, atingiram o estágio 6. Esses resultados sugerem que o tratamento com CBG, especialmente nas doses mais elevadas, contribui para limitar a progressão do SE para manifestações comportamentais mais graves, apontando para um possível efeito protetor do composto em modelos experimentais de epilepsia.

6.2.7 Taxa de mortalidade

Figura 19 – Taxa de mortalidade (%) durante o período de observação em camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

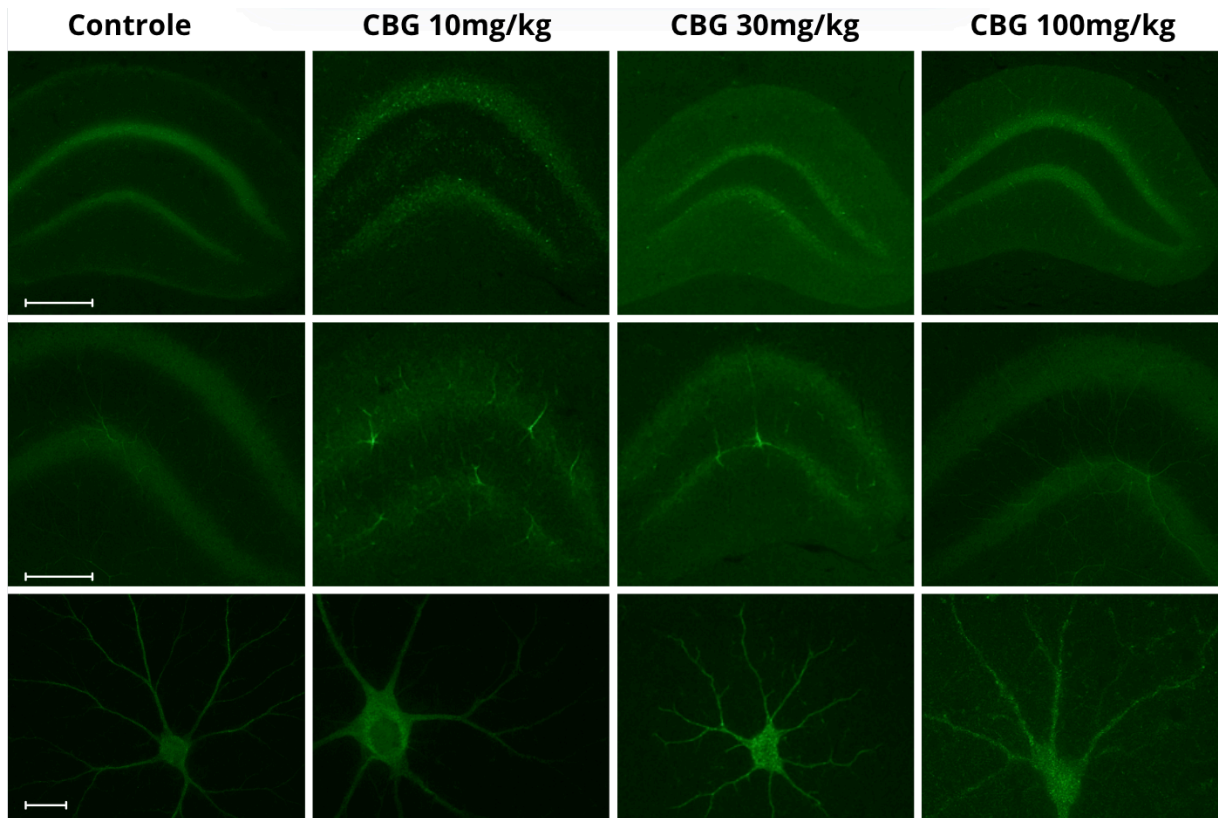
A taxa de mortalidade durante o período de observação foi de 38% no grupo controle. Com o tratamento com CBG 10 mg/kg, essa taxa aumentou para 49%, sugerindo possível toxicidade ou menor proteção conferida pela dose baixa. Em contrapartida, nos grupos tratados com CBG 30 mg/kg e 100 mg/kg, houve redução expressiva da mortalidade, para 24% e 19%, respectivamente. Esses resultados indicam um possível o efeito protetor das doses mais altas de CBG na prevenção de mortes relacionadas ao *SE* induzido por PILO.

6.3 Avaliação morfológica do hipocampo

A avaliação histológica do hipocampo foi realizada 24 horas após a indução de crises convulsivas por PILO e o tratamento com CBG, utilizando imunofluorescência para GFAP, histoquímicas de Nissl e Fluoro-Jade C (FJC). Os principais achados estão sumarizados nas Figuras 20, 21 e 22.

6.3.1 Reatividade astrocitária – GFAP

Figura 20 - Imunofluorescência para GFAP no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.

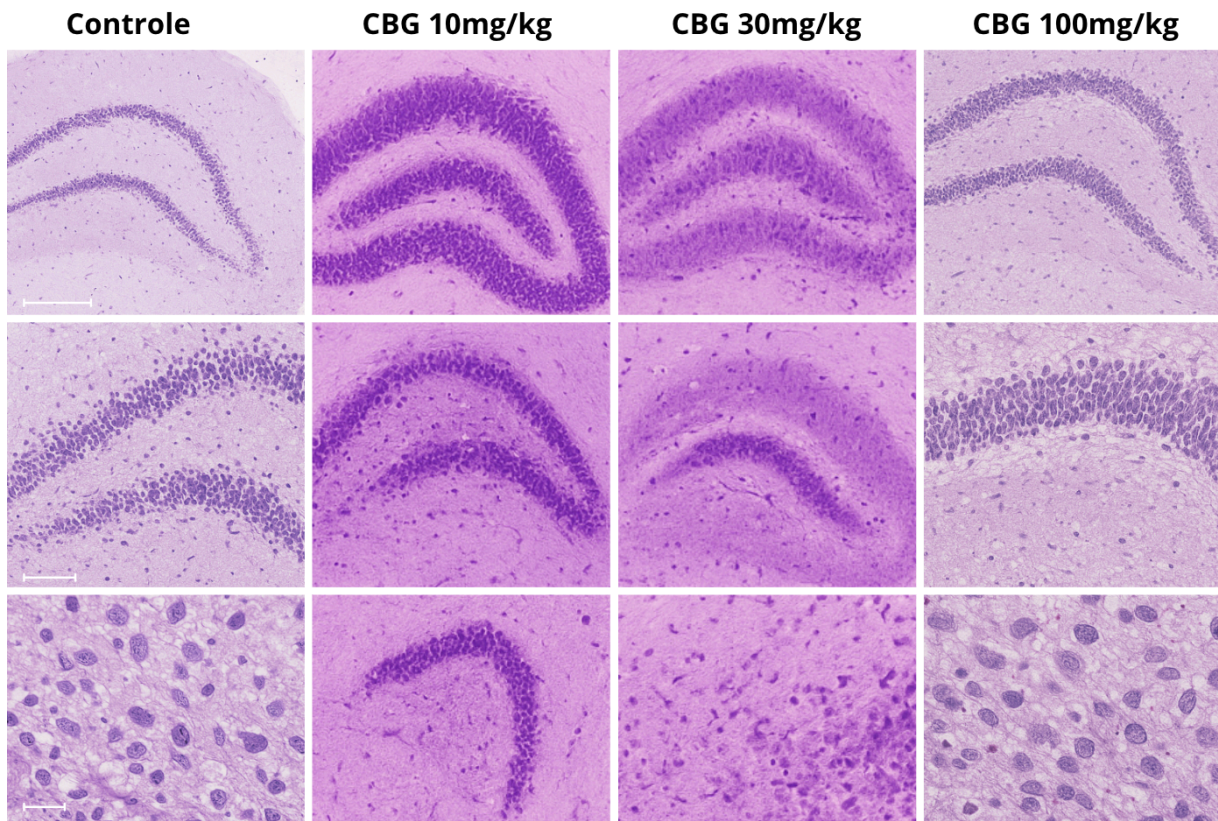


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

Na imunofluorescência para GFAP, o grupo controle apresentou marcação basal, com astrócitos distribuídos de maneira homogênea e morfologia típica ao longo das regiões CA1, CA3 e giro denteado do hipocampo (coluna Controle). No grupo tratado com CBG 10 mg/kg, observou-se aumento da intensidade de marcação, com presença de astrócitos hipertrofiados e prolongamentos mais espessados, indicando resposta astrocítica reativa. O grupo CBG 30 mg/kg apresentou padrão intermediário, com reatividade aumentada em relação ao controle, porém menos intensa do que no grupo CBG 10 mg/kg. No grupo tratado com CBG 100 mg/kg, a marcação foi semelhante ao grupo controle, com astrócitos apresentando morfologia preservada e baixa reatividade.

6.3.2 Integridade e organização celular – Coloração de Nissl

Figura 21 - Histologia de Nissl no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.

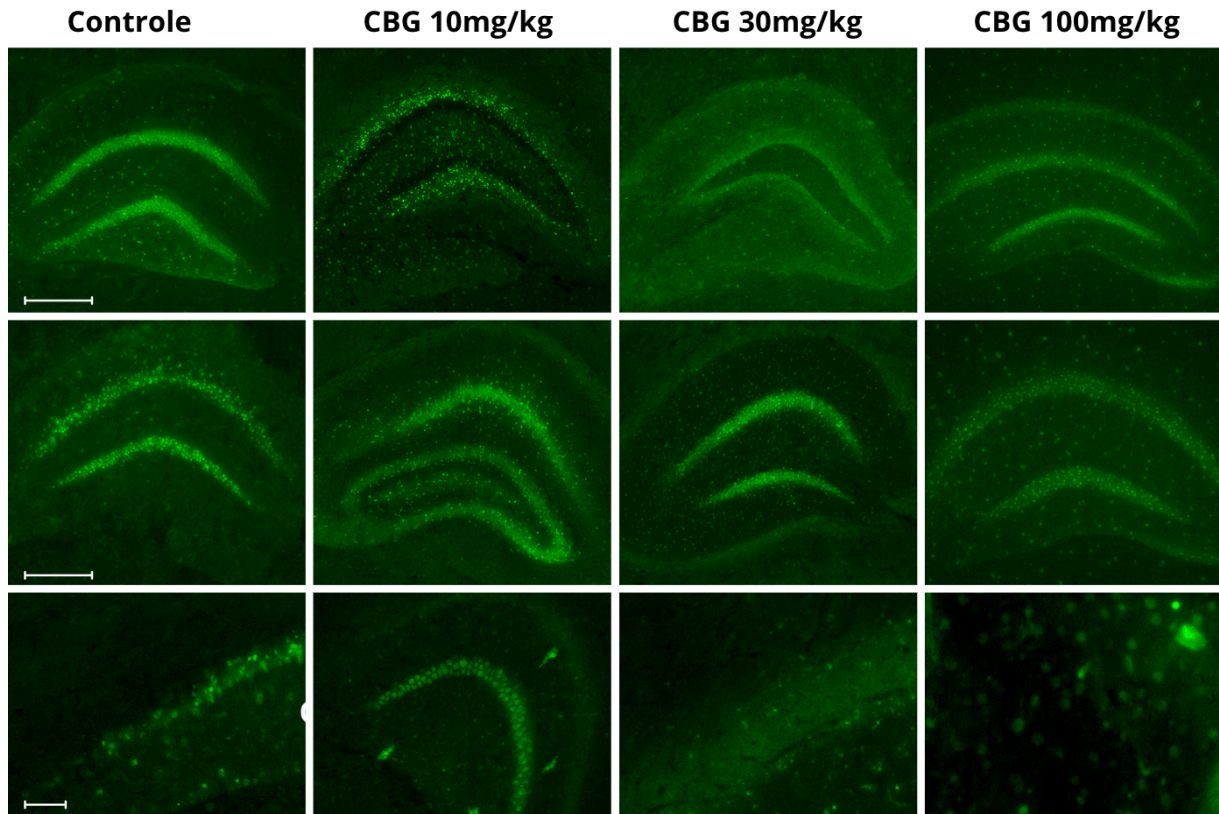


Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A análise da coloração de Nissl mostrou, no grupo controle, camadas celulares bem organizadas e densidade neuronal preservada nas diferentes regiões hipocâmpais (coluna Controle). Nos animais tratados com CBG 10 mg/kg, observou-se discreta desorganização da arquitetura celular, com diminuição da densidade neuronal e presença de células picnóticas (condensação intensa da cromatina no núcleo durante a morte celular). O grupo CBG 30 mg/kg apresentou padrão intermediário, com algumas áreas de rarefação e leve desorganização, porém mantendo a integridade das camadas celulares. Já o grupo tratado com CBG 100 mg/kg apresentou morfologia semelhante ao controle, com organização e densidade celular preservadas, sugerindo menor perda neuronal.

6.3.3 Degeneração neuronal aguda – Fluoro-Jade C

Figura 22 - Histologia de Fluoro-Jade C no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de indução por PILO, nos grupos Controle, CBG 10, 30 e 100 mg/kg.



Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

A marcação por Fluoro-Jade C mostrou baixa incidência de degeneração neuronal no grupo controle, com poucos sinais de fluorescência distribuídos de maneira esparsa no hipocampo (coluna Controle). No grupo tratado com CBG 10 mg/kg, observou-se aumento expressivo da marcação, com presença de múltiplos pontos de fluorescência principalmente nas regiões do giro dentado e CA1, indicando maior ocorrência de neurodegeneração. O grupo CBG 30 mg/kg apresentou padrão intermediário, com marcação positiva menos intensa e mais dispersa em relação ao grupo CBG 10 mg/kg. O grupo tratado com CBG 100 mg/kg apresentou baixa intensidade de marcação, semelhante ao controle, sugerindo menor extensão de dano neuronal agudo.

7 Discussão

7.1 Abordagem multimodelo: vantagens e limitações

A epilepsia é uma condição multifacetada, com manifestações e fisiopatologias heterogêneas, o que exige abordagens experimentais que capturem sua complexidade. A utilização combinada dos modelos de indução de crises, como pentilenotetrazol (PTZ) e pilocarpina (PILO), é uma das formas mais completas de analisar o potencial de novos compostos conferindo uma perspectiva abrangente em relação à diferentes estágios e mecanismos fisiopatológicos das epilepsias (García Morales *et al.*, 2020). O PTZ, ao antagonizar receptores GABA_A, desencadeia crises agudas por perda abrupta da inibição sináptica; já a pilocarpina, ao hiperativar receptores muscarínicos do subtipo M1, induz *status epilepticus* (SE) prolongado por via colinérgica-glutamatérgica, refletindo um insulto neurotóxico mais duradouro e difuso (Meier *et al.*, 2024; Singh *et al.*, 2021). Os resultados do tratamento com CBG, observados em ambos os modelos utilizados neste estudo, oferecem contribuições relevantes para a literatura emergente sobre canabinoides não-psicoativos, sugerindo um espectro de ação que abrange desde o aumento do limiar convulsivo até a proteção morfofuncional hipocampal.

Esta abordagem é importante porque o sucesso terapêutico em um único modelo pode não se traduzir em eficácia. O modelo de PTZ é clássico para testagem de novas drogas anticonvulsivantes, ao se basear na indução de crises por antagonismo do receptor GABA_A, reproduzindo o desequilíbrio excitação/inibição que caracteriza muitas epilepsias generalizadas. Contudo, apresenta limitações quanto à sua validade preditiva para epilepsia do lobo temporal e outras formas refratárias, pois não gera dano estrutural significativo nem simula a evolução crônica da doença (Singh *et al.*, 2021). Por outro lado, a PILO, ao ativar receptores muscarínicos M1, desencadeia SE prolongado, mimetizando com mais fidelidade as alterações estruturais, comportamentais e cognitivas da epilepsia humana, em especial aquelas associadas a dano hipocampal (Lévesque *et al.*, 2021a; Meier *et al.*, 2024).

O presente estudo, ao sugerir que o CBG foi capaz de proteger os animais nos modelos PTZ e PILO, pode ser útil em diferentes tipos e estágios de epilepsia já que esta integração amplia a abrangência experimental, indicando um espectro mais

amplo de eficácia. Além disso, o uso de camundongos machos e fêmeas possibilita avaliar possíveis influências hormonais e genéticas na resposta ao tratamento, alinhando-se à tendência atual da pesquisa translacional, que busca maior representatividade e relevância clínica

No entanto, cada modelo apresenta limitações que devem ser reconhecidas na interpretação dos dados. O PTZ não reproduz a neurodegeneração nem a neuroinflamação de longo prazo; a PILO, embora translacionalmente mais relevante, apresenta alta letalidade e variabilidade interindividual, fatores que dificultam a generalização dos resultados. O desenho experimental adotado no presente trabalho, ao combinar esses dois cenários, tenta minimizar as limitações e fornecer uma visão mais abrangente dos efeitos do CBG, especialmente no que tange ao hipocampo, estrutura central na fisiopatologia e na epileptogênese.

Além disso, a integração de dados comportamentais, histológicos e imunohistoquímicos permite avaliar de forma mais refinada não apenas o controle de crises, mas também a prevenção de danos estruturais e cognitivos de longo prazo. Isso é fundamental, já que a epilepsia é reconhecida atualmente como uma “doença de circuitos”, e não apenas de eventos paroxísticos, exigindo abordagens terapêuticas que vão além da simples supressão de crises (Abarrategui *et al.*, 2021; Asadi-Pooya *et al.*, 2023).

7.2 Efeitos sobre limiar convulsivo, tempo de progressão e intensidade

Os resultados sugerem que o CBG, nas doses intermediária e alta, elevou significativamente o limiar convulsivo e retardou a progressão das crises nos modelos de PILO. Animais tratados com 30 e 100 mg/kg apresentaram maiores latências para o início da primeira crise e para o estabelecimento do *SE*, resultado que se destaca na comparação com controles e com o grupo de CBG em dose baixa, onde não houve proteção. A comparação entre modelos reforça a especificidade desse efeito: enquanto no PTZ o aumento de latência foi discreto, (e mais pronunciado especialmente nos machos), na PILO a resposta foi expressiva e dose-dependente.

Este perfil sugere que o CBG exerce ação moduladora discreta sobre circuitos excitadores e inibitórios, sendo capaz de elevar a resistência do tecido neural ao insulto epileptogênico. Estudos recentes demonstram que o CBG, embora estruturalmente parecido com o THC e CBD, não apresenta afinidade significativa pelos receptores CB1 e CB2 na mesma magnitude, mas modula diversos alvos, como canais de cálcio, canais de sódio dependentes de voltagem, canais TRPV1 e TRPA1, além de influenciar indiretamente receptores serotoninérgicos 5-HT1A (Calapai *et al.*, 2022; S. Li *et al.*, 2024; Weerts *et al.*, 2024). Essa multimodalidade confere ao CBG o potencial de estabilizar o potencial de membrana, reduzir a liberação de neurotransmissores excitatórios (glutamato), aumentar a inibição GABAérgica e diminuir a excitabilidade global dos circuitos hipocampais.

O perfil dose-dependente observado no estudo está alinhado com a literatura, que aponta para o clássico perfil “U-invertido” dos canabinoides: doses subótimas podem não ser eficazes, enquanto doses muito altas podem até aumentar a vulnerabilidade neuronal, especialmente em tecidos previamente lesados ou hiperexcitáveis (Amin & Ali, 2019; Calapai *et al.*, 2022; Glenny, 2024; Huestis *et al.*, 2019; Lacerda *et al.*, 2025; Moreira *et al.*, 2024). Além disso, este perfil é típico de fármacos que atuam em múltiplos sistemas neurotransmissores, sugerindo que, para além de um simples agonista ou antagonista, o CBG exerce modulação sobre redes neuronais e gliais envolvidas no disparo ictal (Lacerda *et al.*, 2025; S. Li *et al.*, 2024).

A literatura indica que a eficácia dos canabinoides em elevar o limiar convulsivo decorre da ação sinérgica sobre canais de cálcio, sódio e receptores CB1 e TRPV1, culminando na estabilização do potencial de membrana e redução da liberação de neurotransmissores excitatórios (Calapai *et al.*, 2022; S. Li *et al.*, 2024). Os resultados ajudam a expandir esses achados ao evidenciar também um efeito seletivo sobre o estágio de início do SE: animais tratados com doses mais altas de CBG iniciaram o SE em estágios comportamentais mais leves (Racine 3), sugerindo menor envolvimento de circuitos subcorticais e tálamo-hipotalâmicos nas fases iniciais.

A análise comparativa entre sexos revelou que os machos tratados com CBG 100 mg/kg apresentaram um aumento mais pronunciado da latência para início das crises no modelo de PTZ, enquanto nas fêmeas as respostas foram mais homogêneas. Esse dado corrobora com estudos que mostram diferenças na

expressão de receptores canabinoides, canais iônicos e modulação hormonal entre machos e fêmeas, indicando que os hormônios sexuais podem amplificar ou amortecer os efeitos farmacológicos do CBG, como já descrito para outros fitocannabinoides (Giuliano *et al.*, 2024; Lacerda *et al.*, 2025). Isso ressalta a importância da inclusão de ambos os sexos em estudos pré-clínicos.

Essa soma de efeitos diminui a excitabilidade dos neurônios piramidais e granulares do hipocampo, retarda o início da hiperatividade paroxística e aumenta a resistência à instalação do *SE*. Esse mecanismo é compatível com achados prévios de ação dose-dependente de fitocannabinoides em modelos de *SE*, sendo particularmente relevante na PILO, onde a excitotoxicidade é extrema (Izquierdo *et al.*, 1973; Jones *et al.*, 2010, 2012b; Stone *et al.*, 2021).

O aumento do limiar convulsivo ajuda não só a prevenir o *SE* agudo, mas também a proteger os circuitos do hipocampo, que dificilmente voltam a funcionar normalmente após serem danificados por uma sobrecarga de glutamato e cálcio. O giro denteado, conhecido por ser a “porta de entrada” da atividade epileptiforme, se beneficia diretamente dessa proteção, pois consegue manter sua função de filtrar sinais excitatórios e evitar que a região CA3 entre em sincronização anormal (Bernasconi *et al.*, 2003; Bin Ibrahim *et al.*, 2022; Lang *et al.*, 2024). Além disso, há evidências de que a modulação pelo sistema canabinoide pode reduzir a ativação de áreas do hipocampo com alto potencial epileptogênico (“*hot spots*”), impedindo que outras regiões sejam recrutadas para o circuito das crises (Amin & Ali, 2019; Calapai *et al.*, 2022; Stasiłowicz-Krzemień *et al.*, 2024).

Por outro lado, a ausência de efeito protetor em doses baixas, e até aumento de mortalidade, reforça que o CBG tem uma janela terapêutica restrita, dependente do contexto experimental e da intensidade. (Huestis *et al.*, 2019; Nachnani *et al.*, 2021) discutem esse perfil, observando que doses subótimas podem desorganizar ainda mais circuitos já vulneráveis, possivelmente por atuação desequilibrada em receptores e canais, ou até por facilitar a liberação de neurotransmissores excitatórios em redes parcialmente lesadas. Isso tem implicações diretas para a aplicação do CBG, sugerindo a necessidade de protocolos e monitoramentos bem estruturados.

7.3 Modulação da severidade comportamental e impacto na sobrevivência

A ação do CBG não se limitou ao aumento do limiar, mas alterou a progressão e a gravidade das crises. A prevalência de crises graves (tônico-clônicas generalizadas e extensão tônico-clônica) foi menor nos grupos tratados com CBG 30 e 100 mg/kg. Em dose mais elevada, não foram observadas crises de extensão tônico-clônica, nem nas fêmeas, nem nos machos, sugerindo um efeito limítrofe do composto sobre a progressão para estágios críticos do “*seizure spread*”, ou seja, na limitação da propagação das descargas epilépticas do hipocampo para outras regiões cerebrais (Gleichgerrcht *et al.*, 2021; Huff & Murr, 2025).

A literatura destaca que a intensidade e a duração das crises generalizadas são os principais determinantes de dano hipocampal e risco de morte súbita relacionada à epilepsia (SUDEP) (Asadi-Pooya *et al.*, 2023; Lang *et al.*, 2024; Whitney *et al.*, 2023). Os resultados corroboram com relatos de que a ativação do sistema endocanabinoide — seja por ligantes endógenos ou exógenos, como o CBG — tem papel fundamental em limitar a propagação das descargas epileptiformes e modular a excitabilidade dos circuitos motores e límbicos durante as crises (Calapai *et al.*, 2022; Huff & Murr, 2025; Kanner & Bicchi, 2022).

O tempo até a manifestação da crise mais severa foi maior, e o padrão comportamental global apontou para crises menos violentas, mais curtas e com menor comprometimento motor. Esse achado é coerente com estudos que apontam o papel do sistema endocanabinoide na contenção do recrutamento de áreas motoras durante crises generalizadas (Kosenkov *et al.*, 2024). Esse perfil é altamente desejável, uma vez que crises graves estão associadas não apenas a maior risco de mortalidade, mas também a lesões estruturais mais extensas e prejuízos cognitivos duradouros.

A diminuição da mortalidade é outro resultado relevante: em modelos de SE, a morte dos animais está diretamente ligada à intensidade e à duração da hiperexcitabilidade e ao grau de envolvimento hipocampal. A redução da mortalidade para 12% no grupo CBG 100 mg/kg (vs. 31% no controle) sugere proteção oferecida pelo CBG e possível interferência em processos sistemicamente letais do SE, como redução da inflamação sistêmica, proteção da barreira hematoencefálica e preservação das funções autonômicas críticas.

No contexto experimental, a alta letalidade no modelo de PILO tem sido atribuída não apenas à duração das crises, mas à extensão do comprometimento

hipocampal, à disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e à perda de controle autonômico sobre respiração e função cardiovascular (Lévesque *et al.*, 2021a; Meier *et al.*, 2024) A literatura reconhece que poucos fármacos testados em modelos de SE apresentam redução consistente de mortalidade, efeito geralmente restrito a compostos que, além de anticonvulsivantes, possuem propriedades neuroprotetoras e/ou anti-inflamatórias (Hakami, 2021; Lévesque *et al.*, 2021a; Nachnani *et al.*, 2021; Villasana-Salazar & Vezzani, 2023; Zhao *et al.*, 2020). O efeito do CBG, portanto, pode decorrer tanto da contenção do insulto glutamatérgico e da excitotoxicidade quanto da proteção de circuitos reguladores centrais e periféricos.

Neste sentido, de acordo com a literatura, o CBG pode atuar sobre a redução da gravidade e da letalidade das crises através de múltiplos mecanismos:

- preservação da inibição GABAérgica: prevenção da perda de interneurônios inibitórios, em especial no giro denteado, protegendo o “gatekeeper” funcional das descargas epileptiformes (Echeverry *et al.*, 2021; S. Li *et al.*, 2024);
- redução da neuroinflamação: inibição da liberação de citocinas pró-inflamatórias por astrócitos e micróglia, limitando o dano secundário e a escalada do SE (Calapai *et al.*, 2022; Echeverry *et al.*, 2021);
- modulação da excitabilidade autonômica: proteção de centros autônomos críticos para manutenção da respiração e do ritmo cardíaco durante crises prolongadas (S. Li *et al.*, 2024; Stone *et al.*, 2021); e
- redução de dano oxidativo: ativação de vias antioxidantes (Nrf2), diminuindo a produção de espécies reativas de oxigênio, associadas à morte celular pós- crise (S. Li *et al.*, 2024; Stone *et al.*, 2021).

A literatura aponta, ainda, que o controle eficaz da gravidade das crises está relacionado à manutenção das funções cognitivas, emocionais e comportamentais dos animais após SE. Crises graves, mesmo que pontuais, podem desencadear cascatas de morte neuronal, neuroinflamação e desorganização de redes, levando à instalação de epilepsia crônica, prejuízo de memória e alterações de humor (Houser, 2024; Meier *et al.*, 2024; Slotnick, 2022; Thom, 2014). Ao limitar essas manifestações, o CBG pode oferecer não apenas benefício imediato, mas potencial protetor contra consequências neuropsiquiátricas de longo prazo.

7.4 Achados morfológicos: preservação estrutural e neuroproteção hipocampal

A análise histológica ajuda a sustentar a hipótese da ação neuroprotetora do CBG, em especial sobre o hipocampo. No grupo controle e CBG 10 mg/kg, houve marcação Fluoro-Jade C nas regiões CA1, CA3 e giro denteado, indicando morte neuronal aguda. A coloração de Nissl revelou rarefação e desorganização das camadas celulares, típicas do dano pós-*SE*, e a marcação GFAP demonstrou astrocitose reativa, especialmente no giro denteado. Esse perfil é clássico em modelos de *SE*, sinalizando perda funcional, reorganização sináptica aberrante e risco de epileptogênese crônica (Castro *et al.*, 2011b; Lévesque *et al.*, 2021a; Meier *et al.*, 2024; Santos *et al.*, 2011). Esses dados ajudam a sustentar o perfil multifacetado do CBG, contribuindo para o posicionamento como potencial neuroprotetor em contextos de excitotoxicidade aguda.

Em modelos de *SE* induzido por PILO, espera-se a instalação rápida e massiva de morte neuronal aguda, especialmente em regiões como CA1, CA3 e giro denteado do hipocampo (Castro *et al.*, 2011b; Meier *et al.*, 2024). O aumento significativo da marcação por Fluoro-Jade C (FJC) nos grupos controle e CBG 10 mg/kg corrobora com isso, principalmente nas regiões do giro denteado e CA1, evidenciando a ocorrência de morte neuronal aguda após o *SE* induzido pela PILO. Essa marcação é indicativa de neurônios em degeneração irreversível, independentemente do mecanismo de morte celular, que compromete a integridade funcional do circuito hipocampal e predispõe ao desenvolvimento de epilepsia crônica e prejuízos cognitivos (Castro *et al.*, 2011b; Meier *et al.*, 2024).

A predominância do dano em CA1 e giro denteado reflete a arquitetura funcional do hipocampo: CA1 apresenta alta densidade de receptores NMDA e expressão de canais de cálcio, tornando-o vulnerável à cascata de influxo de cálcio, liberação de radicais livres e falência energética mitocondrial (Drysdale *et al.*, 2006; Lang *et al.*, 2024). O giro denteado, por sua vez, é essencial para filtrar sinais excitatórios vindos do córtex entorrinal, e sua perda compromete a porta de entrada de informações para o hipocampo (Lang *et al.*, 2024).

Nos grupos tratados com CBG 30 e 100 mg/kg, a intensidade e extensão da marcação foram menores, sugerindo efeito protetor direto contra a excitotoxicidade

induzida por excesso de glutamato e influxo descontrolado de cálcio. Tal redução sugere que o CBG pode ter exercido ação neuroprotetora multifatorial:

- modulação negativa dos canais de cálcio, impedindo o influxo exacerbado de cálcio que ativa caspases, limitando assim a morte neuronal programada (Calapai *et al.*, 2022; Stone *et al.*, 2021);
- ativação da via Nrf2, levando ao aumento de enzimas antioxidantes, que neutralizam espécies reativas de oxigênio, protegendo organelas e DNA contra o dano oxidativo pós-SE (Calapai *et al.*, 2022; Kearsey *et al.*, 2023); e
- inibição indireta dos receptores TRPV1 e TRPA1, reduzindo a liberação adicional de glutamato e o ciclo vicioso de excitotoxicidade (Albano, 2019; S. Li *et al.*, 2024).

O resultado morfológico dessa proteção é uma redução significativa de neurônios degenerados, o que preserva a integridade das redes hipocâmpais, reduz o risco de epileptogênese crônica e favorece a manutenção das funções cognitivas. Além disso, a distribuição da neurodegeneração observada, predominando em CA1 e giro denteado, reforça a vulnerabilidade dessas regiões ao insulto epiléptico e ressalta a importância de estratégias terapêuticas que protejam especialmente os circuitos de entrada e processamento inicial do hipocampo, como já sugerido por (Bernasconi *et al.*, 2003; Lang *et al.*, 2024; Thom, 2014).

A histologia de Nissl permite análise da organização das camadas celulares, densidade neuronal e presença de células em morte ativa (picnose). Em modelos de SE, é esperado que haja rarefação e desorganização principalmente nas camadas granulares do giro denteado e nas piramidais de CA1 e CA3, decorrentes de morte celular e reorganização sináptica patológica (Lang *et al.*, 2024). Nos grupos controle e CBG 10 mg/kg, a coloração mostrou discreta rarefação celular (diminuição da densidade de corpos celulares nas camadas principais), desorganização arquitetural (perda do alinhamento típico, comprometendo a transmissão sináptica) e células picnóticas (núcleos encolhidos, intensamente basofílicos, marcando apoptose/necrose). Esses achados morfológicos refletem a perda funcional do circuito hipocâmpal. Animais com essa configuração apresentam déficits persistentes de memória, dificuldade de aprendizagem e maior suscetibilidade a estados ansioso-

depressivos, como demonstrado em estudos longitudinais (Gage, 2025; Lang *et al.*, 2024).

No grupo CBG 30 mg/kg, observou-se padrão intermediário, com alguma rarefação, mas manutenção geral da arquitetura, enquanto no grupo CBG 100 mg/kg, a morfologia foi praticamente indistinguível do controle, sugerindo que o CBG, mantém a plasticidade e viabilidade do “scaffold” sináptico, crucial para a capacidade de neurogênese e para a reversibilidade funcional pós-insulto (Stone *et al.*, 2021). (Gage, 2025) reforça que a manutenção das camadas granulares do giro denteado está fortemente correlacionada à preservação cognitiva e à menor incidência de sintomas neuropsiquiátricos após crises.

A gliose reativa, identificada pela expressão aumentada de GFAP, é uma resposta clássica ao dano agudo no sistema nervoso central. Embora desempenhe inicialmente papel neuroprotetor (isolando o foco de lesão, promovendo reparo tecidual), a hiperativação crônica dos astrócitos contribui para o estabelecimento de um microambiente pró-epileptogênico, com liberação exacerbada de glutamato, ATP, citocinas inflamatórias e metaloproteinases (Blagburn-Blanco *et al.*, 2022; Foresti *et al.*, 2011; Stone *et al.*, 2021).

De acordo com os resultados, é possível observar um aumento da expressão de GFAP no grupo CBG 10 mg/kg sobretudo no giro denteado, com astrócitos hipertrofiados e ramificações espessadas, sinais de astrocitose reativa mal-adaptativa. Isso é um marcador de perpetuação do dano, pois a gliose crônica contribui para reorganização sináptica aberrante, cicatriz glial e favorece o estabelecimento de epileptogênese (Blagburn-Blanco *et al.*, 2022; Foresti *et al.*, 2011).

O grupo CBG 30 mg/kg exibiu reatividade intermediária, e o grupo CBG 100 mg/kg apresentou padrão similar ao controle, indicando controle efetivo da gliose e, por consequência, do processo inflamatório secundário. O CBG pode exercer esse efeito ao regular a atividade das vias de sinalização de NF- κ B e Nrf2, inibir a liberação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β), e preservar a expressão de proteínas de junção das células endoteliais, fundamentais para integridade da barreira hematoencefálica (Calapai *et al.*, 2022; Stone *et al.*, 2021). A literatura mostra que a diminuição da gliose reativa está associada a menor propensão à epileptogênese e

melhor prognóstico funcional (Banerjee & Jirsa, 2024; Blagburn-Blanco *et al.*, 2022; Foresti *et al.*, 2011).

A barreira hematoencefálica (BHE) é formada por células endoteliais, astrócitos, pericitos e matriz extracelular. Após SE, ocorre ruptura da BHE por quebra das proteínas de junção oclusiva, ativação de MMPs que degradam matriz extracelular e aumento de moléculas de adesão que facilitam infiltração de leucócitos (Stone *et al.*, 2021; Vezzani *et al.*, 2019). O comprometimento da BHE perpetua o ciclo inflamatório: células imunes, proteínas séricas e mediadores tóxicos entram no SNC, agravando a lesão e impedindo a recuperação neural (Stone *et al.*, 2021).

O CBG, ao reduzir a gliose reativa e limitar a ativação de vias pró-inflamatórias, preserva a integridade das proteínas de junção e reduz a expressão de MMPs e moléculas de adesão, evitando a ruptura da BHE (Stone *et al.*, 2021; Vezzani *et al.*, 2019; Villasana-Salazar & Vezzani, 2023). Isso reduz o influxo inflamatório secundário e a perpetuação do dano.

A recuperação funcional pós-SE depende não só da contenção do dano, mas da restauração da plasticidade sináptica e da neurogênese. BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) e GDNF (fator neurotrófico derivado da glia) são críticos para sobrevivência de células progenitoras neurais, crescimento de novos prolongamentos axonais e dendríticos, estabilização de sinapses e reversão de redes hiperexcitáveis (Gage, 2025; Lévesque *et al.*, 2021b; Valdeolivas *et al.*, 2015). O CBG, ao controlar a inflamação e promover microambiente homeostático, favorece a síntese e liberação desses fatores tróficos, potencializando a capacidade regenerativa do giro denteado e a reversibilidade das consequências cognitivas da epilepsia.

A convergência de menor neurodegeneração (Fluoro-Jade C), preservação estrutural (Nissl) e controle da gliose (GFAP) nos grupos tratados com CBG em doses mais altas (como o CBG 100mg/kg), sugere ação neuroprotetora, com potencial para limitar a cascata de eventos que culmina na epileptogênese e nos déficits cognitivo-comportamentais crônicos. Estudos com seguimento longitudinal demonstram que a integridade das camadas celulares, especialmente no giro denteado, está associada à manutenção de memória, aprendizado e regulação emocional, enquanto a

astrogliopatia crônica é preditora de recorrência de crises e transtornos psiquiátricos pós-SE (Gage, 2025; Lang *et al.*, 2024).

7.5 Implicações funcionais, cognitivas e potenciais terapêuticos do CBG

Os resultados comportamentais e histológicos deste estudo são indicativos de que o CBG é capaz de promover não apenas controle sintomático das crises, mas também proteção estrutural e funcional do hipocampo. O aumento do limiar convulsivo, a limitação da progressão para estágios graves, a redução da mortalidade e a preservação das camadas celulares e do microambiente hipocampal apontam para benefícios duradouros, com potencial de impactar positivamente a cognição, a memória e o comportamento dos animais sobreviventes.

O presente estudo avaliou apenas o período agudo pós-SE (24h), deixando em aberto questões como a persistência da neuroproteção, o impacto sobre o desempenho cognitivo, a capacidade de prevenir epileptogênese e a reversibilidade de alterações comportamentais a longo prazo. Investigações futuras devem incorporar testes comportamentais (memória, ansiedade, depressão), registros eletrofisiológicos prolongados e análises morfofuncionais do hipocampo em períodos crônicos, para elucidar completamente o potencial do CBG.

Por fim, cabe destacar que o perfil multifacetado do CBG, com efeitos anticonvulsivantes, neuroprotetores, anti-inflamatórios e pró-plasticidade — o posiciona como um candidato bem promissor para novas terapias em epilepsias refratárias, especialmente aquelas associadas a dano hipocampal. Contudo, a individualização de protocolos, o monitoramento de efeitos paradoxais e a avaliação do impacto a longo prazo permanecem desafios essenciais para sua aplicação clínica segura e eficaz.

Tabela 5 - Síntese comparativa dos efeitos do CBG nos modelos de epilepsia induzida por PTZ e PILO

Aspecto	Modelo PTZ	Modelo PILO	Efeito do CBG
Alvo farmacológico	Antagonista GABA _A	Agonista muscarínico (M1); secundário glutamatérgico	Modulação de canais CB1/CB2, TRPV1, cálcio/sódio, sistemas múltiplos
Circuitos ativados	Cortical, tálamo, hipocampo	Hipocampo, córtex, amígdala, via límbica	Redução do “ <i>seizure spread</i> ”, menor recrutamento de redes patológicas
Padrão de crise	Crises agudas, rápidas, tônico-clônicas, ausência	<i>Status epilepticus</i> prolongado, crises focais e generalizadas	Aumento do limiar convulsivo, atraso e mitigação da gravidade das crises
Progressão comportamental	Rápida, alta letalidade, SUDEP	Lenta, crônica, dano hipocampal, recorrência	Predomínio de manifestações leves, menor frequência de estágios altos
Plasticidade/Lesão	Perda de interneurônios GABAérgicos, dano difuso	Degeneração CA1/CA3/dentado, gliose, neurodegeneração	Possível estímulo à plasticidade, redução de lesão
Impacto na mortalidade	Alta, especialmente em doses elevadas de PTZ	Alta em SE não tratado	Redução significativa nas doses de CBG 100 mg/kg
Pontos de divergência	Variação do efeito com dose; janela terapêutica estreita	Possível menor efeito do CBG em SE muito severo ou crônico	Dose baixa pode não ser eficaz ou até pró-convulsivante;

Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

8. Conclusão

O presente estudo demonstrou que o canabigerol (CBG) parece exercer efeitos benéficos significativos em modelos experimentais distintos de epilepsia, modulando tanto os parâmetros comportamentais quanto histológicos relacionados à indução de crises convulsivas. A utilização combinada dos modelos de PTZ e PILO permitiu avaliar a ação do CBG em diferentes fases e mecanismos da epileptogênese, revelando sua capacidade de aumentar o limiar convulsivo, retardar a progressão das crises, reduzir a gravidade dos eventos ictais e preservar a morfologia hipocampal.

As doses intermediária e alta de CBG (30 e 100 mg/kg) apresentaram maior eficácia, com destaque para a redução da mortalidade, a menor incidência de crises graves, a contenção da neurodegeneração aguda e a modulação favorável da resposta glial. Esses achados são compatíveis com a hipótese de que o CBG atua em múltiplos níveis do sistema nervoso central, incluindo a regulação da excitabilidade neuronal, da inflamação, da integridade da barreira hematoencefálica e da plasticidade sináptica.

Embora os experimentos tenham se concentrado na fase aguda pós-*status epilepticus*, os resultados obtidos apontam para um potencial do CBG como agente neuroprotetor e sutilmente anticonvulsivante, com possível aplicação em casos de epilepsia refratária. As observações de resposta diferencial entre sexos, bem como a dependência dose-resposta, reforçam a necessidade de abordagens individualizadas e da padronização de protocolos para futuras investigações.

Em perspectiva, a continuidade dos estudos com CBG deve contemplar modelos crônicos, avaliações funcionais e comportamentais de longo prazo, além da exploração de suas vias moleculares de ação. Dada sua multifuncionalidade e perfil não-psicoativo, o CBG surge como uma promissora alternativa terapêutica no cenário da epilepsia, especialmente nas formas de difícil controle, com potencial de impactar não apenas a supressão das crises, mas também a qualidade de vida dos pacientes.

9. Referências Bibliográficas

- Abarrategui, B., Mai, R., Sartori, I., Francione, S., Pelliccia, V., Cossu, M., & Tassi, L. (2021). Temporal lobe epilepsy: A never-ending story. *Epilepsy & Behavior: E&B*, 122, 108122. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108122>
- Albano, V. (2019, janeiro 30). *CBD and the Endocannabinoid System*. Physicians Lab. <https://physicianslab.com/cbd-and-the-endocannabinoid-system/>
- Al-Zoubi, R., Morales, P., & Reggio, P. H. (2019). Structural Insights into CB1 Receptor Biased Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 1837. <https://doi.org/10.3390/ijms20081837>
- Amin, M. R., & Ali, D. W. (2019). Pharmacology of Medical Cannabis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1162, 151–165. https://doi.org/10.1007/978-3-030-21737-2_8
- Arzimanoglou, A., U, B., Jh, C., A, G.-N., L, L., Cj, L., N, S., R, N., Ea, T., O, G., & None, T. C. I. E. P. (2020). Epilepsy and cannabidiol: A guide to treatment. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*, 22(1). <https://doi.org/10.1684/epd.2020.1141>
- Asadi-Pooya, A. A., Brigo, F., Lattanzi, S., & Blumcke, I. (2023). Adult epilepsy. *Lancet (London, England)*, 402(10399), 412–424. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01048-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01048-6)
- Banerjee, S., & Jirsa, V. (2024). A review of epileptic markers: From ion channels, astrocytes, synaptic imbalance to whole brain network dynamics. *Exploration of Neuroscience*, 3(5), Artigo 5. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00060>
- Beghi, E., & Hesdorffer, D. (2014). Prevalence of epilepsy—An unknown quantity. *Epilepsia*, 55(7), 963–967. <https://doi.org/10.1111/epi.12579>
- Bernasconi, N., Bernasconi, A., Caramanos, Z., Antel, S. B., Andermann, F., & Arnold, D. L. (2003). Mesial temporal damage in temporal lobe epilepsy: A volumetric MRI study of the hippocampus, amygdala and parahippocampal region. *Brain: A Journal of Neurology*, 126(Pt 2), 462–469. <https://doi.org/10.1093/brain/awg034>
- Bhunja, S., Kolishetti, N., Arias, A. Y., Vashist, A., & Nair, M. (2022). Cannabidiol for neurodegenerative disorders: A comprehensive review. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 989717. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.989717>
- Bin Ibrahim, M. Z., Benoy, A., & Sajikumar, S. (2022). Long-term plasticity in the hippocampus: Maintaining within and “tagging” between synapses. *The FEBS Journal*, 289(8), 2176–2201. <https://doi.org/10.1111/febs.16065>
- Blagburn-Blanco, S. V., Chappell, M. S., De Biase, L. M., & DeNardo, L. A. (2022). Synapse-specific roles for microglia in development: New horizons in the prefrontal cortex. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15, 965756. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.965756>
- Calapai, F., Cardia, L., Esposito, E., Ammendolia, I., Mondello, C., Lo Giudice, R., Gangemi, S., Calapai, G., & Mannucci, C. (2022). Pharmacological Aspects and Biological Effects of Cannabigerol and Its Synthetic Derivatives. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2022, 3336516. <https://doi.org/10.1155/2022/3336516>
- Castro, O. W., Furtado, M. a., Tilelli, C. Q., Fernandes, a., Pajolla, G. P., & Garcia-Cairasco,

N. (2011a). Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats. *Brain Research*, 1374, 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.12.012>

Castro, O. W., Furtado, M. A., Tilelli, C. Q., Fernandes, A., Pajolla, G. P., & Garcia-Cairasco, N. (2011b). Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats. *Brain Research*, 1374, 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.12.012>

Devane, W. A., Breuer, A., Sheskin, T., Järbe, T. U., Eisen, M. S., & Mechoulam, R. (1992). A novel probe for the cannabinoid receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 35(11), 2065–2069. <https://doi.org/10.1021/jm00089a018>

Dhir, A. (2012). Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols in Neuroscience*, Chapter 9, Unit9.37. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0937s58>

Doyle, A., & Harvey, J. (2020). Cannabis and Epilepsy. *Journal of Dual Diagnosis*, 16(1), 75–82. <https://doi.org/10.1080/15504263.2019.1645372>

Drysdale, A. J., Ryan, D., Pertwee, R. G., & Platt, B. (2006). Cannabidiol-induced intracellular Ca²⁺ elevations in hippocampal cells. *Neuropharmacology*, 50(5), 621–631. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.11.008>

Dunn, D. (2019). *The Shadow of Vesuvius: A Life of Pliny*. Liveright Publishing.

Echeverry, C., Prunell, G., Narbondo, C., de Medina, V. S., Nadal, X., Reyes-Parada, M., & Scorza, C. (2021). A Comparative In Vitro Study of the Neuroprotective Effect Induced by Cannabidiol, Cannabigerol, and Their Respective Acid Forms: Relevance of the 5-HT_{1A} Receptors. *Neurotoxicity Research*, 39(2), 335–348. <https://doi.org/10.1007/s12640-020-00277-y>

Erum, J. V., Dam, D. V., & Deyn, P. P. D. (2019). PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy & Behavior*, 95, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.02.029>

Falco-Walter, J. (2020). Epilepsy-Definition, Classification, Pathophysiology, and Epidemiology. *Seminars in Neurology*, 40(6), 617–623. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1718719>

Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel Jr, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. i., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475–482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>

Fisher, R. S., Cross, J. H., D'Souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., Schulze-Bonhage, A., Somerville, E., Sperling, M., Yacubian, E. M., & Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 58(4), 531–542. <https://doi.org/10.1111/epi.13671>

Foresti, M. L., Arisi, G. M., & Shapiro, L. A. (2011). Role of glia in epilepsy-associated neuropathology, neuroinflammation and neurogenesis. *Brain Research Reviews*, 66(1–2),

115–122. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.09.002>

Furtado, M. A., Castro, O. W., Del Vecchio, F., de Oliveira, J. A. C., & Garcia-Cairasco, N. (2011). Study of spontaneous recurrent seizures and morphological alterations after status epilepticus induced by intrahippocampal injection of pilocarpine. *Epilepsy & Behavior: E&B*, *20*(2), 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2010.11.024>

Gage, F. H. (2025). Adult Neurogenesis in the Human Dentate Gyrus. *Hippocampus*, *35*(1), e23655. <https://doi.org/10.1002/hipo.23655>

Gaoni, Y., & Mechoulam, R. (1971). The isolation and structure of delta-1-tetrahydrocannabinol and other neutral cannabinoids from hashish. *Journal of the American Chemical Society*, *93*(1), 217–224. <https://doi.org/10.1021/ja00730a036>

García Morales, I., Fernández Alonso, C., Behzadi Koochani, N., Serratosa Fernández, J. M., Gil-Nagel Rein, A., Toledo, M., González, F. J., & Santamarina Pérez, E. (2020). Emergency management of epileptic seizures: A consensus statement. *Emergencias: Revista De La Sociedad Espanola De Medicina De Emergencias*, *32*(5), 353–362.

Giuliano, L., Durante, V., Battaglia, G., Gasparini, S., Zambrelli, E., Ermio, C., La Neve, A., Mostacci, B., & Epilepsy, Gender Commission of the LICE (Italian chapter of the ILAE). (2024). Sex Differences in Adverse Effects of Antiseizure Medications in Adults with Epilepsy: A Systematic Review. *CNS Drugs*. <https://doi.org/10.1007/s40263-024-01088-x>

Gleichgerricht, E., Greenblatt, A. S., Kellermann, T. S., Rowland, N., Vandergrift, W. A., Edwards, J., Davis, K. A., & Bonilha, L. (2021). Patterns of seizure spread in temporal lobe epilepsy are associated with distinct white matter tracts. *Epilepsy Research*, *171*, 106571. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2021.106571>

Glenny, L. (2024). Medical cannabis. *International Journal of Palliative Nursing*, *30*(6), 263. <https://doi.org/10.12968/ijpn.2024.30.6.263>

Hakami, T. (2021). Neuropharmacology of Antiseizure Drugs. *Neuropsychopharmacology Reports*, *41*(3), 336–351. <https://doi.org/10.1002/npr2.12196>

Hasan, K. M. (2023). Cannabis Unveiled: An Exploration of Marijuana's History, Active Compounds, Effects, Benefits, and Risks on Human Health. *Substance Abuse: Research and Treatment*, *17*, 11782218231182553. <https://doi.org/10.1177/11782218231182553>

Henning, O., Heuser, K., Larsen, V. S., Kyte, E. B., Kostov, H., Marthinsen, P. B., Egge, A., Alfstad, K. Å., & Nakken, K. O. (2023). Temporal lobe epilepsy. *Tidsskrift for Den Norske Laegeforening: Tidsskrift for Praktisk Medicin, Ny Raekke*, *143*(2). <https://doi.org/10.4045/tidsskr.22.0369>

Hogan, R. E., & English, E. A. (2012). Epilepsy and brain function: Common ideas of Hughlings-Jackson and Wilder Penfield. *Epilepsy & Behavior: E&B*, *24*(3), 311–313. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.04.124>

Houser, C. R. (2024). Hippocampal Sclerosis in Temporal Lobe Epilepsy: New Views and Challenges. Em J. L. Noebels, M. Avoli, M. A. Rogawski, A. Vezzani, & A. V. Delgado-Escueta (Orgs.), *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* (5th ed). Oxford University Press. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK609875/>

Howlett, A. C. (1985). Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Biochemistry of the response in neuroblastoma cell membranes. *Molecular Pharmacology*, *27*(4), 429–436.

- Huberfeld, G., Blauwblomme, T., & Miles, R. (2015). Hippocampus and epilepsy: Findings from human tissues. *Revue Neurologique*, 171(3), 236–251. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2015.01.563>
- Huestis, M. A., Solimini, R., Pichini, S., Pacifici, R., Carlier, J., & Busardò, F. P. (2019). Cannabidiol Adverse Effects and Toxicity. *Current Neuropharmacology*, 17(10), 974–989. <https://doi.org/10.2174/1570159X17666190603171901>
- Huff, J. S., & Murr, N. I. (2025). Seizure. Em *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430765/>
- Huizenga, M. N., Wicker, E., Beck, V. C., & Forcelli, P. A. (2017). Anticonvulsant effect of cannabinoid receptor agonists in models of seizures in developing rats. *Epilepsia*, 58(9), 1593–1602. <https://doi.org/10.1111/epi.13842>
- Izquierdo, I., Orsingher, O. A., & Berardi, A. C. (1973). Effect of cannabidiol and of other cannabis sativa compounds on hippocampal seizure discharges. *Psychopharmacologia*, 28(1), 95–102. <https://doi.org/10.1007/BF00413961>
- Jastrzab, A., Jarocka-Karpowicz, I., & Skrzydlewska, E. (2022). The Origin and Biomedical Relevance of Cannabigerol. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7929. <https://doi.org/10.3390/ijms23147929>
- Jones, N. A., Glyn, S. E., Akiyama, S., Hill, T. D. M., Hill, A. J., Weston, S. E., Burnett, M. D. A., Yamasaki, Y., Stephens, G. J., Whalley, B. J., & Williams, C. M. (2012a). Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. *Seizure*, 21(5), 344–352. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2012.03.001>
- Jones, N. A., Glyn, S. E., Akiyama, S., Hill, T. D. M., Hill, A. J., Weston, S. E., Burnett, M. D. A., Yamasaki, Y., Stephens, G. J., Whalley, B. J., & Williams, C. M. (2012b). Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. *Seizure: European Journal of Epilepsy*, 21(5), 344–352. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2012.03.001>
- Jones, N. A., Hill, A. J., Smith, I., Bevan, S. A., Williams, C. M., Whalley, B. J., & Stephens, G. J. (2010). Cannabidiol Displays Antiepileptiform and Antiseizure Properties In Vitro and In Vivo □. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.159145>.
- Kanner, A. M., & Bicchi, M. M. (2022). Antiseizure Medications for Adults With Epilepsy: A Review. *JAMA*, 327(13), 1269–1281. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.3880>
- Kearsey, L. J., Yan, C., Prandi, N., Toogood, H. S., Takano, E., & Scrutton, N. S. (2023). Biosynthesis of cannabigerol and cannabigerolic acid: The gateways to further cannabinoid production. *Synthetic Biology (Oxford, England)*, 8(1), ysad010. <https://doi.org/10.1093/synbio/ysad010>
- Klein, P., Kaminski, R. M., Koepp, M., & Löscher, W. (2024). New epilepsy therapies in development. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 23(9), 682–708. <https://doi.org/10.1038/s41573-024-00981-w>
- Komorowska-Müller, J. A., & Schmöle, A.-C. (2020). CB2 Receptor in Microglia: The Guardian of Self-Control. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 19. <https://doi.org/10.3390/ijms22010019>
- Kosenkov, A. M., Mal'tseva, V. N., Maiorov, S. A., & Gaidin, S. G. (2024). The role of the

endocannabinoid system in the pathogenesis and treatment of epilepsy. *Reviews in the Neurosciences*. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2024-0114>

Lacerda, M., Carona, A., Castanheira, S., Falcão, A., Bicker, J., & Fortuna, A. (2025). Pharmacokinetics of Non-Psychotropic Phytocannabinoids. *Pharmaceutics*, *17*(2), 236. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020236>

Lang, M., Colby, S., Ashby-Padial, C., Bapna, M., Jaimes, C., Rincon, S. P., & Buch, K. (2024). An imaging review of the hippocampus and its common pathologies. *Journal of Neuroimaging: Official Journal of the American Society of Neuroimaging*, *34*(1), 5–25. <https://doi.org/10.1111/jon.13165>

Larner, A. J., & Swash, M. (2024). Hughlings Jackson's Second Thoughts on Mental States in Epilepsy. *Neurology*, *103*(10), e209959. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000209959>
Laulan, R. (1954). [An Akkadian treatise on medical diagnostics and prognostics]. *La Presse Medicale*, *62*(67), 1399.

Legare, C. A., Raup-Konsavage, W. M., & Vrana, K. E. (2022). Therapeutic Potential of Cannabis, Cannabidiol, and Cannabinoid-Based Pharmaceuticals. *Pharmacology*, *107*(3–4), 131–149. <https://doi.org/10.1159/000521683>

Lévesque, M., Biagini, G., de Curtis, M., Gnatkovsky, V., Pitsch, J., Wang, S., & Avoli, M. (2021a). The pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy: Over one decade later, with more rodent species and new investigative approaches. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *130*, 274–291. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.08.020>

Lévesque, M., Biagini, G., de Curtis, M., Gnatkovsky, V., Pitsch, J., Wang, S., & Avoli, M. (2021b). The pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy: Over one decade later, with more rodent species and new investigative approaches. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *130*, 274–291. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.08.020>

Li, S., Li, W., Malhi, N. K., Huang, J., Li, Q., Zhou, Z., Wang, R., Peng, J., Yin, T., & Wang, H. (2024). Cannabigerol (CBG): A Comprehensive Review of Its Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *29*(22), 5471. <https://doi.org/10.3390/molecules29225471>

Li, X., Yang, C., Shi, Y., Guan, L., Li, H., Li, S., Li, Y., Zhang, Y., & Lin, J. (2021). Abnormal neuronal damage and inflammation in the hippocampus of kainic acid-induced epilepsy mice. *Cell Biochemistry and Function*, *39*(6), 791–801. <https://doi.org/10.1002/cbf.3651>

Lima, L. J., Filho, F. J. F., Medeiros, M. de O., Nunes, G. O., & Farias, M. do C. A. D. (2020). EPIDEMIOLOGIA DA EPILEPSIA: DISTRIBUIÇÃO BRASILEIRA E GLOBAL. *Revista Interdisciplinar Encontro das Ciências*, *3*(2), 1368–1377.

Littré, E. (1849). *Oeuvres complètes d'Hippocrate*. J. B. Baillière. <https://books.google.com.br/books?id=MmkFAAAAQAAJ>

Löscher, W., & Stafstrom, C. E. (2023). Epilepsy and its neurobehavioral comorbidities: Insights gained from animal models. *Epilepsia*, *64*(1), 54–91. <https://doi.org/10.1111/epi.17433>

Löscher, W., & White, H. S. (2023). Animal Models of Drug-Resistant Epilepsy as Tools for Deciphering the Cellular and Molecular Mechanisms of Pharmacoresistance and Discovering More Effective Treatments. *Cells*, *12*(9), 1233. <https://doi.org/10.3390/cells12091233>

Lu, H., Wang, Q., Jiang, X., Zhao, Y., He, M., & Wei, M. (2023). The Potential Mechanism of

Cannabidiol (CBD) Treatment of Epilepsy in Pentetrazol (PTZ) Kindling Mice Uncovered by Multi-Omics Analysis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(6), 2805. <https://doi.org/10.3390/molecules28062805>

Magiorkinis, E., Sidiropoulou, K., & Diamantis, A. (2010). Hallmarks in the history of epilepsy: Epilepsy in antiquity. *Epilepsy & Behavior*, 17(1), 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.10.023>

Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N. E., Schatz, A. R., Gopher, A., Almog, S., Martin, B. R., & Compton, D. R. (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*, 50(1), 83–90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00109-d](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-d)

Mechoulam, R., & Parker, L. A. (2013). The endocannabinoid system and the brain. *Annual Review of Psychology*, 64, 21–47. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143739>

Meier, L., Bruginski, E., Marafiga, J. R., Caus, L. B., Pasquetti, M. V., Calcagnotto, M. E., & Campos, F. R. (2024). Hippocampal metabolic profile during epileptogenesis in the pilocarpine model of epilepsy. *Biomedical Chromatography: BMC*, 38(4), e5820. <https://doi.org/10.1002/bmc.5820>

Meissner, H., & Cascella, M. (2025). Cannabidiol (CBD) in Clinical Care. Em *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556048/>

Menezes, L. F. S., Sabiá Júnior, E. F., Tibery, D. V., Carneiro, L. D. A., & Schwartz, E. F. (2020). Epilepsy-Related Voltage-Gated Sodium Channelopathies: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1276. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01276>

Moazen-Zadeh, E., Chisholm, A., Bachi, K., & Hurd, Y. L. (2024). Pharmacokinetics of Cannabidiol: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 9(4), 939–966. <https://doi.org/10.1089/can.2023.0025>

Monteiro, Á. B., Alves, A. F., Ribeiro Portela, A. C., Oliveira Pires, H. F., Pessoa de Melo, M., Medeiros Vilar Barbosa, N. M., & Bezerra Felipe, C. F. (2024). Pentylentetrazole: A review. *Neurochemistry International*, 180, 105841. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2024.105841>

Moreira, F. A., de Oliveira, A. C. P., Santos, V. R., & Moraes, M. F. D. (2024). Cannabidiol and epilepsy. *International Review of Neurobiology*, 177, 135–147. <https://doi.org/10.1016/bs.irm.2024.03.009>

Nachnani, R., Raup-Konsavage, W. M., & Vrana, K. E. (2021). The Pharmacological Case for Cannabigerol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 376(2), 204–212. <https://doi.org/10.1124/jpet.120.000340>

Naikoo, R. A., Painuli, R., Akhter, Z., & Singh, P. P. (2024). Cannabinoid receptor 2 (CB2) modulators: A patent review (2016-2024). *Bioorganic Chemistry*, 153, 107775. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107775>

Ng, T., & Keshock, M. C. (2025). Tetrahydrocannabinol (THC). Em *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563174/>

Opitz, B. (2014). Memory function and the hippocampus. *Frontiers of Neurology and Neuroscience*, 34, 51–59. <https://doi.org/10.1159/000356422>

Pisanti, S., & Bifulco, M. (2019). Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen.

Journal of Cellular Physiology, 234(6), 8342–8351. <https://doi.org/10.1002/jcp.27725>

Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32(3), 281–294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)

Rusina, E., Bernard, C., & Williamson, A. (2021). The Kainic Acid Models of Temporal Lobe Epilepsy. *eNeuro*, 8(2), ENEURO.0337-20.2021. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0337-20.2021>

Santos, V. R., Castro, D. E., Pun, R. K. Y. K., Hester, M. S., Murphy, B. L., Loepke, A. W., Garcia, N., Danzer, S. C., de Castro, O. W., & Garcia-Cairasco, N. (2011). Contributions of mature granule cells to structural plasticity in temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 197, 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.034>

Shen, S.-Y., Wu, C., Yang, Z.-Q., Wang, K.-X., Shao, Z.-H., & Yan, W. (2025). Advances in cannabinoid receptors pharmacology: From receptor structural insights to ligand discovery. *Acta Pharmacologica Sinica*, 46(6), 1495–1510. <https://doi.org/10.1038/s41401-024-01472-9>

Sheng, J., Liu, S., Qin, H., Li, B., & Zhang, X. (2018). Drug-Resistant Epilepsy and Surgery. *Current Neuropharmacology*, 16(1), 17–28. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170504123316>

Singh, T., Mishra, A., & Goel, R. K. (2021). PTZ kindling model for epileptogenesis, refractory epilepsy, and associated comorbidities: Relevance and reliability. *Metabolic Brain Disease*, 36(7), 1573–1590. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00823-3>

Siqueira, H. H., Dalbem, J. S., Alvarenga, R. M. P., Andraus, M. E. C., & Preux, P. M. (2016). PREVALENCE OF EPILEPSY IN A BRAZILIAN SEMIURBAN REGION: AN EPIDEMIOLOGICAL STUDY. *Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria*, 20(2), Artigo 2. <https://www.revneuropsiq.com.br/rbnp/article/view/141>

Slotnick, S. D. (2022). The hippocampus and long-term memory. *Cognitive Neuroscience*, 13(3–4), 113–114. <https://doi.org/10.1080/17588928.2022.2128736>

Stasiłowicz-Krzemień, A., Nogalska, W., Maszewska, Z., Maleszka, M., Dobroń, M., Szary, A., Kępa, A., Żarowski, M., Hojan, K., Lukowicz, M., & Cielecka-Piontek, J. (2024). The Use of Compounds Derived from Cannabis sativa in the Treatment of Epilepsy, Painful Conditions, and Neuropsychiatric and Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5749. <https://doi.org/10.3390/ijms25115749>

Stone, N. L., England, T. J., & O'Sullivan, S. E. (2021). Protective Effects of Cannabidivarin and Cannabigerol on Cells of the Blood-Brain Barrier Under Ischemic Conditions. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 6(4), 315–326. <https://doi.org/10.1089/can.2020.0159>

Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J., & Sander, J. W. (2019). Epilepsy in adults. *Lancet (London, England)*, 393(10172), 689–701. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32596-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32596-0)

Thom, M. (2014). Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 40(5), 520–543. <https://doi.org/10.1111/nan.12150>

Tilelli, C. Q., Del Vecchio, F., Fernandes, A., & Garcia-Cairasco, N. (2005). Different types of status epilepticus lead to different levels of brain damage in rats. *Epilepsy & behavior: E&B*, 7(3), 401–410. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2005.06.013>

- Valdeolivas, S., Navarrete, C., Cantarero, I., Bellido, M. L., Muñoz, E., & Sagredo, O. (2015). Neuroprotective properties of cannabigerol in Huntington's disease: Studies in R6/2 mice and 3-nitropropionate-lesioned mice. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, *12*(1), 185–199. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0304-z>
- Vetkas, A., Fomenko, A., Germann, J., Sarica, C., Iorio-Morin, C., Samuel, N., Yamamoto, K., Milano, V., Cheyuo, C., Zemmar, A., Elias, G., Boutet, A., Loh, A., Santyr, B., Gwun, D., Tasserie, J., Kalia, S. K., & Lozano, A. M. (2022). Deep brain stimulation targets in epilepsy: Systematic review and meta-analysis of anterior and centromedian thalamic nuclei and hippocampus. *Epilepsia*, *63*(3), 513–524. <https://doi.org/10.1111/epi.17157>
- Vezzani, A., Balosso, S., & Ravizza, T. (2019). Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. *Nature Reviews. Neurology*, *15*(8), 459–472. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0217-x>
- Villasana-Salazar, B., & Vezzani, A. (2023). Neuroinflammation microenvironment sharpens seizure circuit. *Neurobiology of Disease*, *178*, 106027. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106027>
- Vinti, V., Dell'Isola, G. B., Tascini, G., Mencaroni, E., Cara, G. D., Striano, P., & Verrotti, A. (2021). Temporal Lobe Epilepsy and Psychiatric Comorbidity. *Frontiers in Neurology*, *12*, 775781. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.775781>
- von Wrede, R., Helmstaedter, C., & Surges, R. (2021). Cannabidiol in the Treatment of Epilepsy. *Clinical Drug Investigation*, *41*(3), 211–220. <https://doi.org/10.1007/s40261-021-01003-y>
- Weerts, E. M., Jenkins, B. W., Kuang, R. Y., Hausker, A., & Moore, C. F. (2024). Orally administered Cannabigerol (CBG) in rats: Cannabimimetic actions, anxiety-like behavior, and inflammation-induced pain. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *245*, 173883. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2024.173883>
- Whitney, R., Jones, K. C., Sharma, S., & RamachandranNair, R. (2023). SUDEP counseling: Where do we stand? *Epilepsia*, *64*(6), 1424–1431. <https://doi.org/10.1111/epi.17617>
- Zhao, X.-F., Liao, Y., Alam, M. M., Mathur, R., Feustel, P., Mazurkiewicz, J. E., Adamo, M. A., Zhu, X. C., & Huang, Y. (2020). Microglial mTOR is Neuronal Protective and Antiepileptogenic in the Pilocarpine Model of Temporal Lobe Epilepsy. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *40*(40), 7593–7608. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2754-19.2020>

10. Anexos

ANEXO I – Cômite de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

COMPROVANTE

Comprovamos o recebimento da solicitação de uso de animais para o projeto intitulado "Efeitos de diferentes dosagens do Canabigerol (CBG) durante crises epilépticas: análise de comportamento animal e da morfologia e mortalidade neuronal.", protocolo do CEUA: 42/2024 sob a responsabilidade de Victor Rodrigues Santos que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino).

Belo Horizonte, 28/02/2024.

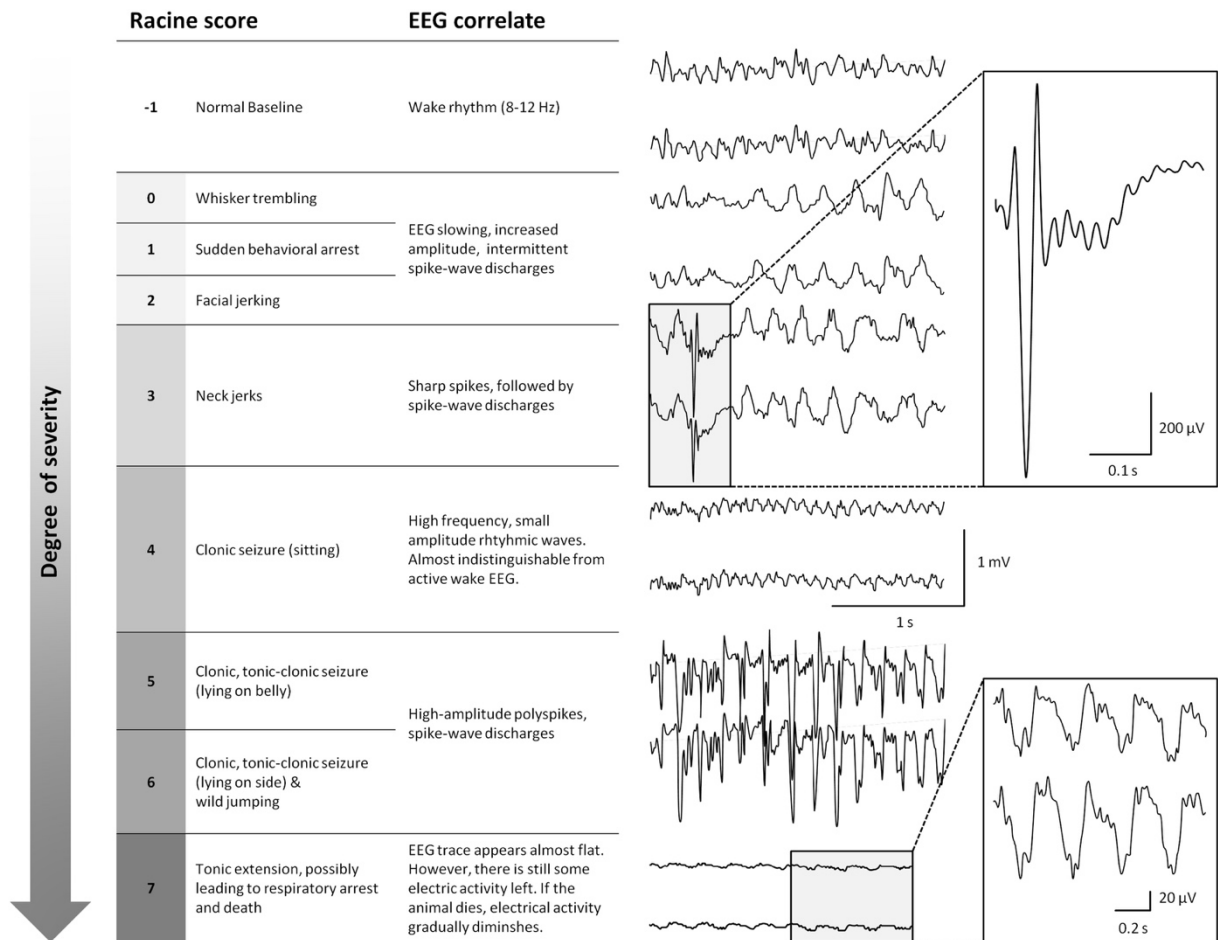
Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br

ANEXO 2 – Escala Erum *et al.*, 2019



ANEXO 3 – Escala Racine, 1972

TABLE 9.3 Scoring System for Focal Seizures With Secondary Generalization III: Kainic Acid-Pilocarpine-Induced Seizures

Seizure Stage	Behavioral Expression	Righting Reflex	Structures Involved
1	Staring with mouth clonus	Preserved	Limbic structures
2	Automatisms (WDS, scratching ^a)		
3	Unilateral forelimb clonus		Other forebrain regions (neocortex, thalamus, basal ganglia)
4	Bilateral forelimb clonus		
5	Bilateral forelimb clonus with rearing and falling		
6 ^a	Tonic-clonic seizure	Lost	Brainstem

^aStages more occurring in developing animals rather than in adults.