

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

ANNA PAULA MARÇAL DE MELO

**TRATAMENTO COM CANABIDIOL ATENUA EFEITOS COMPULSIVO E
ANSIOGÊNICO PROMOVIDOS PELO CONSUMO DE DIETA RICA EM
CARBOIDRATO EM CAMUNDONGOS BALB/C**

**BELO HORIZONTE
2020**

ANNA PAULA MARÇAL DE MELO

TRATAMENTO COM CANABIDIOL ATENUA EFEITOS COMPULSIVO E
ANSIOGÊNICO PROMOVIDOS PELO CONSUMO DE DIETA RICA EM
CARBOIDRATO EM CAMUNDONGOS BALB/C

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a Daniele Cristina de Aguiar

BELO HORIZONTE
2020

043

Melo, Anna Paula Marçal de.

Tratamento com canabidiol atenua efeitos compulsivo e ansiogênico promovidos pelo consumo de dieta rica em carboidrato em camundongos Balb/C [manuscrito] / Anna Paula Marçal De Melo. - 2020.

57 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa. Dra Daniele Cristina de Aguiar.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Farmacologia. 2. Obesidade. 3. Inflamação. 4. Ansiedade. 5. Canabidiol. 6. Transtorno da Compulsão Alimentar. I. Aguiar, Daniele Cristina de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 615

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado N° 526 DE ANNA PAULA MARÇAL DE MELO

Às 09:00 horas do dia 30 do mês de abril de 2020, de maneira virtual, realizou-se a sessão pública para a defesa da Dissertação de Anna Paula Marçal de Melo. A presidência da sessão coube à Profa. Dra. Daniele Cristina de Aguiar, orientadora. Inicialmente, a presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: Prof. Dr. Rodrigo Cunha Alvim de Menezes, DECBI/UFOP, Dra. Renata Cristina Mendes Ferreira, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, e Profa. Dra. Daniele Cristina de Aguiar, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, orientadora. Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua **Dissertação de Mestrado**, intitulada: "TRATAMENTO COM CANABIDIOL ATENUA EFEITOS COMPULSIVO E ANSIOGÊNICO PROMOVIDOS PELO CONSUMO DE DIETA RICA EM CARBOIDRATO EM CAMUNDONGOS BALB/C". Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar **Aprovada** a Dissertação de Mestrado. O resultado final foi comunicado publicamente a candidata pela presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 30 de abril de 2020.

Assinatura dos membros da banca examinadora:

* De acordo com as Normas Gerais de Pós-Graduação da UFMG o grau de Mestre só será concedido ao aluno que entregar ao Colegiado de Curso, no prazo máximo de 60 dias, a versão final da dissertação, em conformidade com as indicações da Comissão Examinadora. Após a entrega da versão final com a documentação exigida para emissão de diploma, a secretaria emitirá certificado de conclusão do mestrado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter caminhado comigo durante toda essa jornada, por ter me sustentado e me encorajado nos momentos mais difíceis. Agradeço por todo amor e cuidado, com certeza, sem Ele eu não teria chegado até aqui.

À minha mãe por todo amor, apoio, incentivo, e por sempre se dedicar tanto a me ajudar. Agradeço ao meu querido pai, que mesmo não estando mais aqui, deixou um grande exemplo de perseverança e amor. Agradeço também aos meus irmãos Gabriel, Eduardo e Thaís, pela amizade, pelas boas risadas e, às vezes, pela paciência.

À minha orientadora professora Dr^a Daniele Aguiar, por ter me dado a oportunidade de trabalhar em um grupo de pesquisa tão incrível. Obrigada por todos ensinamentos, por todas conversas necessárias, pela paciência, pelas discussões de artigos e por todo incentivo.

Ao Prof. Dr. Fabrício Moreira, pelos conselhos, ensinamentos e excelentes discussões científicas e políticas.

À Júlia Gomes por todo acolhimento, ensinamento, confiança e por toda paciência e incentivo.

Aos amigos e colegas de trabalho do melhor grupo de pesquisa que eu poderia conhecer. Agradeço imensamente à Nícia, minha parceira de trabalho, por toda ajuda, paciência, discussões, ideias e risadas. Agradeço à Rayssa, Laila, Lia, Dayane, Juliana e Aline por me inspirarem tanto como cientista. Obrigada pelas incansáveis e produtivas discussões científicas e pessoais, vocês me acrescentam muito. Obrigada por torna meus dias mais leves e divertidos!

Aos professores do Neurofar Dr. Antônio Carlos, Dr^a Luciene Vieira e Dr. Helton Reis pela colaboração.

À minha amiga Maria Carolina agradeço pela parceria desde a época da graduação, pelos ensinamentos e encorajamento.

Ao meu namorado e amigo Bruno Otávio, agradeço pelo companheirismo, paciência, dedicação, incentivo, por acreditar tanto em mim, pelas ótimas risadas e claro, por tanto amor. Agradeço também à sua família, por ter me acolhido com tanto amor e carinho e por terem feito minha caminhada mais leve e divertida. Agradeço à Lorena por me motivar e por ser uma grande inspiração.

Agradeço à minha querida amiga Rebeca, por todos conselhos, orações, lanches da tarde e por se demonstrar uma pessoa tão amorosa e especial.

Agradeço as minhas amigas Marília, Rayani e Rayssa por compartilharem tantos momentos incríveis, conversas construtivas, muito aprendizado e, principalmente, muito amor.

A todos os professores das matérias cursadas, por contribuírem na minha formação científica.

Ao Rinaldo por tanta dedicação em cuidar dos animais e por sempre demonstrar boa vontade em ajudar.

Aos funcionários da pós-graduação e do Departamento de Farmacologia.

E, por fim, às agências de fomento CAPES, CNPQ e FAPESP (2017/24304-0) pelo auxílio financeiro.

Resumo

A obesidade e suas comorbidades representam um grande problema de saúde pública mundial. O aumento do consumo de alimentos ultraprocessados, os quais apresentam baixa capacidade de saciedade e alto desequilíbrio energético, está intimamente relacionado ao desenvolvimento de obesidade. Em indivíduos obesos, o tecido adiposo branco apresenta características de um estado inflamatório de baixa intensidade o qual é associado não apenas à obesidade, mas também às comorbidades como, diabetes tipo 2, síndrome metabólica e transtornos de psiquiátricos. O desequilíbrio de mediadores inflamatórios sistêmicos está associado ao desenvolvimento de comportamentos relacionados a ansiedade e a compulsão. Nesse sentido, o canabidiol (CBD), principal fitocanabinóide não psicoativo presente na planta *Cannabis sativa*, que possui ação anti-inflamatória e ansiolítica, emerge como uma droga com grande potencial terapêutico. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o tratamento agudo ou sub-crônico com canabidiol seria capaz de atenuar as alterações comportamentais de ansiedade e compulsão observadas após consumo crônico da dieta rica em carboidrato (HC). Camundongos Balb/C receberam dieta controle ou HC durante 12 semanas, a qual é composta de 40% de leite condensado, 40% de dieta padrão, 12% de açúcar refinado e 8% de água. Após esse período os animais foram divididos em grupos de tratamento: veículo e CBD (10 e 30mg/Kg), administrados pela via intraperitoneal, posteriormente submetidos aos testes comportamentais de enterrar esferas e alimentação inibida pela novidade. O consumo crônico da dieta HC promoveu comportamento tipo-compulsivo e tipo-ansioso, tais comportamentos foram atenuados após o tratamento com CBD na dose de 30 mg/Kg. Em conjunto, os dados do presente trabalho corroboram os efeitos nocivos do consumo da dieta HC nos comportamentos de compulsão e ansiedade, e o potencial terapêutico do CBD. Porém, os mecanismos responsáveis pelo CBD precisam ser esclarecidos.

Palavras-chave: obesidade, inflamação, ansiedade, compulsão, canabidiol

ABSTRACT

Obesity and its comorbidities represent a significant problem in the public health of the worldwide. The increase in consumption of processed foods, with low satiety capacity and high energy imbalance, is closely related to the development of obesity. In obese people, the white adipose tissue has characteristics of a low-intensity inflammatory state, which could be associated with the development of obesity and its comorbidities, such as type 2 diabetes, metabolic syndrome. Moreover, peripheral inflammation is associated with the development of anxiety and compulsion disorders. In this sense, cannabidiol (CBD), the primary non-psychoactive phytocannabinoid present in the *Cannabis sativa* plant, emerges as a potential therapeutic drug for the treatment of psychiatric diseases. In this study, we verified whether acute or subchronic treatment with CBD would be able to attenuate the anxiety-like and compulsive-like behaviors observed after chronic consumption of a carbohydrate-rich (HC) diet in mice. Balb/C mice received a control or HC diet for 12 weeks. The HC diet consisted of 40% condensed milk, 40% standard diet, 12% refined sugar, and 8% water. After this diet period, the animals were divided into two groups: vehicle and CBD and, had their behavior evaluated in the Marble Burying test (MB) and Novel Suppressing Feeding test (NSF). The chronic consumption of the HC diet induced an anxiogenic-like behavior in the NSF test and a compulsive-like behavior in the MB test. The pre-treatment with CBD (30 mg/kg) attenuated such effects. Our data reinforced the deleterious effects induced by chronic consumption of the HC diet in the compulsive and anxious behaviors and the potential of the CBD as a potential drug treatment. However, the mechanisms responsible for CBD effects need to be clarified.

Key words: Obesity, inflammation, anxiety, compulsion, cannabidiol

LISTA DE ABREVIATURAS

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro

CB1 - Receptor canabinoide tipo 1

CB2 - Receptor canabinoide tipo 2

CBD - Canabidiol

CPF - Córtex pré-frontal

HC - Rica em carboidrato

HPA - Hipotálamo-hipófise-adrenal

I.P - Intraperitoneal

IL-10 - Interleucina-10

IL-13 -Interleucina-13

IL-1 β -Interleucina-1 β

IL-4 - Interleucina-4

IL-5 - Interleucina-5

IMAO -Inibidor da monoaminoxidase

IMC - Índice de massa corpórea

ISRS - Inibidor seletivo da recaptção da serotonina

LPS - Lipopolisacarídeo bacteriano

PCR - Proteína C Reativa

PPAR -Receptores ativado por proliferadores de peroxissomo

SNC - Sistema nervoso central

TNF α -Fator de necrose tumoral α

TOC - Transtorno obsessivo compulsivo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do tecido adiposo sem obesidade e com obesidade.	14
Figura 2. Esquema representativo dos grupos experimentais	25
Figura 3. Delineamento experimental: consumo crônico de dieta e tratamento agudo com Canabidiol.	25
Figura 4. Delineamento experimental: consumo crônico de dieta e tratamento sub-crônico com Canabidiol.....	26
Figura 5. Teste de Enterrar Esferas.....	27
Figura 6. Teste de Alimentação Inibida Pela Novidade.....	27
Figura 7. Ganho de massa corporal ao longo de 12 semanas de dieta em animais tratados agudamente com CBD.....	29
Figura 8. Ganho de massa corporal ao longo de 12 semanas de dieta em animais tratados cronicamente com CBD.	30
Figura 9. Consumo alimentar médio diário (g) no decorrer de 12 semanas experimentais.....	30
Figura 10. Índice de adiposidade após consumo de 12 semanas de dieta padrão (controle) ou rica em carboidrato (HC).	31
Figura 11. Índice de adiposidade em animais tratados cronicamente com CBD após 12 semanas de dieta controle ou rica em carboidrato (HC).	31
Figura 12. Efeito do Canabidiol no teste de enterrar esferas doses de 1, 10 e 30mg/Kg.	33
Figura 13. Efeito do Canabidiol (10 mg/Kg) no teste de enterrar esferas após consumo crônico de dieta HC.	34

Figura 14. Efeito do Canabidiol agudo (30 mg/Kg) sobre o número de esferas enterradas no teste de Marble Burying.34

Figura 15. Efeito do tratamento sub-crônico (7 dias) com Canabidiol (30 mg/Kg) no teste de Marble Burying em animais alimentados cronicamente por dieta controle ou HC.35

Figura 16. Efeito do pré-tratamento com Canabidiol (30 mg/Kg) sobre a latência do primeiro episódio para alimentação no modelo de Hipofagia Induzida pela Novidade, em animais alimentados cronicamente por dieta controle ou HC.. ..37

Figura 17. Consumo alimentar após o teste de Hipofagia Induzida pela Novidade.37

Figura 18. Efeito do tratamento subcrônico (7 dias) com Canabidiol (30 mg/Kg) sobre a latência do primeiro episódio para alimentação no modelo de Hipofagia Induzida Pela Novidade, em animais alimentados cronicamente por dieta controle ou HC.38

Figura 19. Consumo alimentar após o teste o tratamento sub-crônico com CBD no teste de Hipofagia Induzida pela Novidade.....38

SUMÁRIO

1 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
1.1 Obesidade	11
1.2 Tecido adiposo e modelos animais de obesidade	12
1.3 Inflamação e alterações comportamentais	15
1.4 Transtorno de ansiedade, transtorno obsessivo compulsivo e Canabidiol	17
2.0 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Animais	23
4.2 Dieta Experimental.....	23
4.3 Drogas	24
4.4 Delineamento Experimental	24
4.5 Adiposidade e Consumo alimentar	26
4.6 Testes Comportamentais	26
4.6.1 Teste de enterrar esferas	26
4.6.2 Teste de Alimentação Inibida pela Novidade	27
4.7 Análises Estatísticas	28
5. RESULTADOS.....	29
5.1 Peso corporal, consumo alimentar e adiposidade	29
5.2 Teste de enterrar esferas	31
5.3 Teste de Alimentação Inibida pela Novidade	36
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO	47
8. REFERÊNCIAS	48

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Obesidade

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade e o sobrepeso são definidos como acúmulo excessivo ou anormal de tecido adiposo corporal que apresenta risco à saúde (WHO 2018).

O índice de Massa Corpórea (IMC) é o parâmetro mais utilizado para classificar o sobrepeso e a obesidade. Ele é calculado a partir do peso (em quilogramas) dividido pelo quadrado da altura (em metros). Um indivíduo é considerado com sobrepeso se $IMC \geq 25$, e obeso quando possui $IMC \geq 30$, (WHO 2018). O IMC não é considerado o índice ideal, pois exclui fatores importantes, como, diferentes níveis de adiposidade do organismo de acordo com a idade, níveis de atividade física e sexo. Assim, é importante a inclusão de outras medidas em tal classificação, por exemplo, a circunferência da cintura que se correlaciona com a presença da gordura visceral (ABESO 2016).

A prevalência mundial de obesidade quase triplicou a partir da década de 80, não só em adultos como também em crianças e adolescentes de 5 a 19 anos, atingindo valores alarmantes de 18% (WHO 2018). Especificamente no Brasil, dados de 2018 mostram que aproximadamente 55,7% da população brasileira estava acima do peso e 19,8% eram obesas (VIGITEL 2018). Atualmente, a maior parte da população vive em países onde a obesidade e sobrepeso apresentam maior índice de mortalidade em relação ao baixo peso (WHO 2018). Assim, a obesidade torna-se um grande problema de saúde pública, principalmente por estar associada a doenças que reduzem a expectativa de vida como doenças cardíacas, diabetes tipo 2, resistência à insulina, aterosclerose e síndrome metabólica (Ouchi et al. 2011). Além dos impactos imediatos e duradouros na saúde física, o excesso de peso afeta a vida social e emocional do indivíduo, comprometendo a qualidade de vida e favorecendo o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, como ansiedade e depressão (Mansur, Brietzke, McIntyre 2015, Pereira-Miranda et al. 2017).

Dentre os fatores envolvidos no desenvolvimento da obesidade, destaca-se o estilo de vida contemporâneo o qual é associado ao sedentarismo, e contribui significativamente para o ganho de peso (Scheers, Philippaerts, Lefevre 2012). Acrescenta-se o consumo exacerbado de alimentos processados e ultraprocessados, os quais apresentam baixa capacidade de saciedade e favorecem o desequilíbrio energético, promovendo o acúmulo acentuado de gordura (Kilpi et al. 2014). De fato, dados epidemiológicos mostraram que, no ocidente, o alto consumo de alimentos ricos em gordura e carboidratos refinados aumentaram a prevalência de obesidade e diabetes tipo 2 (Sturt 2011) e, ainda, esses alimentos palatáveis são frequentemente consumidos mesmo após as necessidades energéticas terem sido atingidas (Volkow, Wise, Baler 2017). Uma possível explicação é que esses alimentos ativam o sistema de recompensa neural evocando sensação de prazer e aumentando a motivação para busca e consumo destes alimentos (Avena, Rada, Hoebel 2008).

O sistema de recompensa é fundamental na regulação dos comportamentos motivados relacionados ao prazer como alimentação, interação social e outros comportamentos que são cruciais para homeostase e sobrevivência (Ross, Peselow 2009, Ferrario et al. 2016). O consumo de dietas palatáveis induz a liberação de dopamina, principal neurotransmissor participante da sinalização do sistema de recompensa, no Núcleo accumbens (Norgren, Hajnal, Mungarndee 2006). Além da ativação desse sistema, o consumo excessivo de sacarose prejudica ativação de regiões cerebrais relacionadas à saciedade, contribuindo para o aumento da ingestão alimentar, resultando no aumento de peso corporal (Page et al. 2013).

1.2 Tecido adiposo e modelos animais de obesidade

O tecido adiposo é constituído principalmente por adipócitos, apesar de outros tipos celulares contribuírem para seu funcionamento e crescimento, incluindo linfócitos, macrófagos predominantemente anti-inflamatórios, fibroblastos, células vasculares e pré-adipócitos (Ouchi et al. 2011). O tecido adiposo, localizado nos tecidos visceral e subcutâneo, é responsável pelo isolamento térmico, proteção mecânica, armazenamento de energia e regulação da homeostase energética (Steppan et al. 2001). Além disso, esse tecido está

relacionado à função endócrina, pois ele produz e secreta diversas proteínas chamadas adipocinas (Aguilar-Valles et al. 2015).

No tecido adiposo de indivíduos magros, são produzidos preferencialmente adipocinas anti-inflamatórias, como adiponectina, interleucina (IL) 4 (IL-4), IL-5 e IL13 (Kang et al. 2008, Dai et al. 2017). Adicionalmente, os macrófagos M2 presentes no tecido magro apresentam-se em um fenótipo alternativamente ativado, regulando positivamente a produção de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 (Dai et al. 2017). A adiponectina se destaca como uma importante adipocina, por promover ações antiobesogênicas e antidiabéticas. Ainda, a adiponectina é capaz de reduzir a gliconeogênese no fígado, promover o aumento da captação e utilização da glicose e diminuir a resistência à insulina (Yamauchi et al. 2003). Além disso, atua no hipotálamo reduzindo a ingesta alimentar, e conseqüentemente, reduzindo o peso corporal (Coope et al. 2008). Outra importante adipocina é a leptina, produzida a partir dos adipócitos apresenta sua principal ação no hipotálamo promovendo a saciedade e o gasto energético e, como consequência, promove a redução da ingesta alimentar (Kershaw and Flier 2004).

No tecido adiposo de indivíduos obesos ocorrem modificações em sua constituição, estabelecendo um estado inflamatório de baixo grau, como demonstrado na figura 1 (Ouchi et al. 2011). Com a expansão do tecido adiposo, ocorre um processo de hipertrofia e/ou hiperplasia dos adipócitos em resposta ao aumento de depósito de triglicerídeos. A hipertrofia do tecido adiposo pode levar a uma diminuição do fluxo sanguíneo, induzindo hipóxia e podendo resultar em necrose dos adipócitos (Giordano et al. 2013). Nesse sentido, ocorre o recrutamento e o acúmulo de macrófagos classificados como M1 no tecido adiposo, onde são produzidas grandes quantidades de fatores pró-inflamatórios como a IL-1 β , fator de necrose tumoral (TNF), leptina e IL-6 (Weisberg et al. 2003). Além dessas alterações citadas, ocorre uma redução na produção de adiponectina resultando numa conseqüente diminuição da resposta anti-inflamatória e da captação de glicose (Hotta et al. 2000).

De fato, animais alimentados cronicamente por uma dieta rica em lipídeo ou carboidrato desenvolvem obesidade, representado pelo acúmulo de tecido adiposo branco abdominal e também distúrbios metabólicos que se relacionam a essa condição (Sampey et al. 2011). Diferentemente da dieta com alto teor de gordura, a dieta rica em carboidrato (HC) induz obesidade sem necessariamente promover alterações no peso corporal, por se tratar de uma dieta isocalórica em relação a dieta padrão, sendo possível observar um aumento rápido e sustentado da adiposidade associado a inflamação desse tecido (Oliveira, 2013). Esses dados suportam a hipótese de que o aumento do consumo de carboidratos refinados é uma das causas do aumento da obesidade. Desse modo, essas dietas são empregadas como modelos experimentais de obesidade e sobrepeso por favorecerem uma condição inflamatória de baixo grau e expansão do tecido adiposo, conforme observado em humanos (Lutz, Woods 2012).

1.3 Inflamação e alterações comportamentais

A inflamação é uma resposta adaptativa frente a um estímulo nocivo ou alguma injúria tecidual (Medzhitov 2008). Em indivíduos obesos, além de ocorrer processos inflamatórios que favorecem doenças metabólicas associadas a essa condição (Ham et al. 2013), dados da literatura mostram relação entre o aumento da obesidade e a ocorrência de patologias relacionadas ao sistema nervoso central (SNC) como acidente vascular cerebral (AVC), Doença de Alzheimer, demência e transtornos psiquiátricos, como ansiedade e depressão (Pereira-Miranda et al. 2017). De fato, sugere-se que indivíduos obesos apresentam maior predisposição a desenvolver depressão e ansiedade em relação a população com peso normal (Bruce-Keller, Keller, Morrison 2009).

Propõe-se que a inflamação relacionada a obesidade seja um dos responsáveis pelo desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos. De fato, a inflamação periférica se associa a ansiedade, em indivíduos depressivos é possível observar níveis elevados de marcadores pró-inflamatórios como proteína C reativa (PCR), IL-6 e TNF- α (Mansur et al. 2015). Além disso, a redução da inflamação em resposta a perda de peso está relacionada com a diminuição da ansiedade (Capuron, Lasselín, Castanon 2017). Adicionalmente, o uso crônico de citocinas como o Interferon alfa no tratamento de câncer e

doenças infecciosas, incluindo hepatite C, resultam em sintomas depressivos em até 50% dos pacientes (Dantzer, Kelley 2007).

Em modelos animais, sugere-se que dietas com alto teor de sacarose e/ou lipídeos induzem alterações comportamentais, como ansiedade e depressão (Vinuesa et al. 2016). No modelo de enterrar esferas, animais alimentados por uma dieta rica em lipídeos aumentaram o número de esferas enterradas, sugerindo um comportamento do tipo-compulsivo nesse teste (Krishna et al. 2015, White et al. 2016). Em outro estudo, verificou-se que camundongos obesos apresentavam comportamento tipo ansioso e que esse comportamento foi acompanhado pelo aumento de citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF no hipocampo (Fourrier et al. 2019).

De fato, evidências crescentes apontam que a inflamação resultante da expansão do tecido adiposo não se limita apenas a periferia (Thaler et al. 2012). Dados do nosso grupo mostraram que o consumo crônico de dieta rica em carboidrato (HC) induz comportamento do tipo-ansioso após estresse (Santos et al. 2018) e comportamento do tipo-compulsão (Gomes et al. 2018). E ainda, tais alterações foram associados a uma expansão do tecido adiposo abdominal dos animais e a um processo inflamatório em regiões responsáveis pelo controle da ansiedade, como córtex pré-frontal e hipocampo (Gomes et al. 2020). Outro trabalho demonstrou que a exposição prolongada a uma dieta rica em lipídeos e o consequente desenvolvimento da obesidade são capazes de provocar uma inflamação hipotalâmica. A inflamação nessa região do cérebro pode ser tanto uma consequência como um fator de risco para obesidade, pois pode ocorrer uma desregulação dos sinais de feedback metabólicos levando ao ganho de peso (Thaler et al. 2012). Além disso, respostas imunológicas intensas contribuem para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos associados a obesidade, como ansiedade e depressão (Dantzer, Kelley 2007).

Fourrier e colaboradores (2019), utilizando um modelo genético de obesidade, observaram que animais db/db apresentaram comportamento tipo ansioso acompanhado pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias em estruturas relacionadas a regulação emocional, como hipocampo. Nesse contexto, o tratamento com o anti-inflamatório Ibuprofeno e restrição crônica alimentar melhoraram o comportamento ansioso e ainda reduziram os níveis elevados de TNF- α no hipocampo desses animais (Fourrier et al. 2019).

O mecanismo pelo qual a inflamação relacionada a obesidade esteja induzindo alterações comportamentais ainda precisa ser melhor estabelecido, entretanto, sugere-se que inflamação relacionada a obesidade é capaz de modular vias neurais, tendo como consequência alterações comportamentais (Yang et al. 2016). Nesse sentido, as citocinas pró-inflamatórias liberadas periféricamente promovem a produção de citocinas cerebrais e ainda atuam nas vias relacionadas a regulação emocional incluindo plasticidade neural, função neuroendócrina e metabolismo de neurotransmissores, destacado pela redução da sinalização dopaminérgica e serotoninérgica e aumento da neurotransmissão glutamatérgica (Miller et al. 2013). Embora existam essas evidências, o papel específico do processo inflamatório nos transtornos psiquiátricos ainda precisa ser esclarecido

1.4 Transtorno de ansiedade, transtorno obsessivo compulsivo e Canabidiol

O transtorno de ansiedade e o transtorno obsessivo compulsivo são classificados em diferentes categorias no Manual Diagnóstico e Estatístico de transtornos mentais (DSM-5 2013). No entanto, ambos transtornos podem compartilhar comorbidades comuns (Peris et al. 2017), fatores de risco e responder a tratamentos farmacológicos e psicológicos semelhantes (Rosa-Alcazar et al. 2020).

Os transtornos de ansiedade são os transtornos mentais mais prevalentes em todo o mundo (Strachan, Hyett, McEvoy 2020). Segundo a OMS, o Brasil é o país que possui a maior prevalência dos transtornos de ansiedade (9,3% da população brasileira) (OMS 2017). A ansiedade constitui um componente crucial frente a situações perigosas que ameaçam perturbar a homeostase (DSM-5 2013), sendo um componente necessário para a sobrevivência humana devido a sua função de antecipar o perigo e organizar o comportamento de defesa apropriado, agindo de forma adaptativa em resposta às alterações do meio ambiente (Mineka, Ohman 2002). No entanto, em situações patológicas, a ansiedade apresenta-se de maneira excessiva em relação ao seu estímulo, ou persistindo após retirada do mesmo, ou ainda podendo ocorrer na ausência de ameaças ou sem motivo aparente, comprometendo de forma significativa a qualidade de vida do indivíduo (Holmes et al. 2001).

O transtorno obsessivo compulsivo (TOC) é uma condição neuropsiquiátrica que afeta de 2 a 3% da população, e tem como principais características a obsessão e a compulsão (Nardo et al. 2014). O primeiro se baseia em pensamentos, imagens e impulsos para executar uma determinada tarefa que constantemente são perturbadoras e provocam ansiedade. A segunda consiste na execução de movimentos motores repetitivos com objetivo de reduzir a ansiedade gerada pela obsessão (Drubach 2015).

Os fármacos mais utilizados para o tratamento da ansiedade são os benzodiazepínicos e os antidepressivos. Os benzodiazepínicos atuam na ativação do sítio benzodiazepínico no receptor GABA_A (ácido gama-aminobutírico) (Haefely, Kulcsar and Mohler 1975). Seus efeitos adversos mais destacados são perda da memória, hostilidade, sonolência, além de tolerabilidade e abuso (Stewart 2005). Os antidepressivos são classificados de acordo com seu mecanismo de ação, podendo-se destacar os inibidores da monoaminoxidase (IMAO), inibidores não seletivos da recaptção das monoaminas, inibidores seletivos da recaptção de noradrenalina (ISRNA) e/ou serotonina (ISRS) (Bezchibnyk-Butler, Jeffries 1999).

Para o tratamento do transtorno obsessivo compulsivo, além da psicoterapia, se destacam o uso de antidepressivos ISRS e tricíclicos (Greist et al. 2003, Nardo et al. 2014), evidenciando a possível participação da neurotransmissão serotoninérgica na fisiopatologia desse transtorno (Stein 2000). No entanto, 40 a 60% dos pacientes permanecem refratários ao tratamento, destacando a necessidade de novas propostas farmacológicas (Drubach 2015).

É importante ressaltar que a farmacoterapia empregada nesses transtornos apresentam um nível de adesão insatisfatório aos pacientes. Portanto, o desenvolvimento de novos fármacos é de muita importância. Nesse contexto, o canabidiol (CBD), principal fitocanabinóide presente na planta *Cannabis sativa*, emerge como uma droga de grande potencial terapêutico para o tratamento de doenças psiquiátricas e neurológicas (Blessing et al. 2015, Campos et al. 2017). O CBD atua sobre o sistema endocanabinoide, que possui importantes funções no SNC (Lu, Mackie 2016), além de ser um sistema que atua como modulador inibitório das respostas neurais e comportamentais frente a estímulos estressantes (Viveros et al. 2007). O sistema endocanabinoide é

constituído pelos receptores metabotrópicos canabinoides do tipo 1 (CB1) e do tipo 2 (CB2), seus ligantes endógenos (por exemplo, Anandamida e 2-aracdonilglicerol), e as enzimas relacionadas a sua síntese e inativação (D. M. Lambert, 2005, Moreira, F 2009). Regiões do cérebro que estão diretamente envolvidas na regulação emocional expressam uma alta concentração de receptores CB1, presente principalmente em neurônios, enquanto os receptores CB2 são expressos abundantemente em células imunológicas e, em menores concentrações em neurônios (Viveros et al. 2007).

O CBD representa um dos fitocannabinóides com a mais vasta gama de possíveis ações terapêuticas, incluindo efeitos ansiolíticos, neuroprotetores, anti-inflamatórios, antidepressivos e anticomulsivos (Campos et al. 2017). Estudos de neuroimagem demonstraram que o CBD atua em estruturas cerebrais relacionadas a neurobiologia dos transtornos psiquiátricos, visto que uma única dose de CBD oral foi capaz de reduzir a ansiedade em voluntários saudáveis (Crippa et al. 2004). O receptor CB1 está envolvido no efeito ansiolítico do CBD (Gray et al. 2015). De fato, a redução da sinalização de CB1 está associada aos efeitos ansiogênicos do hormônio liberador de corticotrofina na amígdala (Gray et al. 2015). Um outro estudo demonstrou que, animais submetidos a estresse crônico apresentaram aumento da proliferação de células hipocâmpais, e redução da ansiedade após administração crônica de CBD. Tais efeitos foram associados com a facilitação da sinalização dos endocannabinóides via receptores CB1 (Campos et al. 2013). Os efeitos farmacológicos do CBD relacionados ao transtorno obsessivo compulsivo também foram demonstrados em modelos animais, como o teste de enterrar esferas (Casarotto et al. 2010).

Outros mecanismos farmacológicos parecem participar dos efeitos do CBD como a potencialização indireta da transmissão endocanabinoide através da inibição da FAAH, enzima responsável pela hidrólise da anandamida, consequentemente aumentando a disponibilidade desse endocannabinóide na fenda sináptica. O CBD também pode promover a ativação do receptor serotoninérgico 5HT_{1A} (Lee et al. 2017). Nesse sentido, demonstrou-se que o tratamento local na substância cinzenta periaquedutal dorsolateral (dIPAG) com WAY1000635, um antagonista do receptor 5HT_{1A}, foi capaz de prevenir os efeitos ansiolíticos promovidos pelo CBD nessa região. Ainda, o efeito ansiolítico do CBD foi semelhante a outros agonistas 5HT_{1A} administrados nessa mesma

região (Campos and Guimaraes 2008). Por fim, verificou-se a participação do 5HT1A nos efeitos ansiolíticos do CBD em estrutura cerebral como o núcleo leito da estria terminal (BNST) (Gomes, Resstel, Guimaraes 2011).

Outro mecanismo proposto para o CBD envolve sua ação anti-inflamatória. Um estudo pré-clínico, utilizando camundongos não obesos diabéticos, demonstrou que o tratamento com CBD reduziu a incidência de diabetes nesses animais, e ainda reduziu os níveis de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α (Weiss et al. 2006). Sugere-se que a ativação indireta do receptor CB2 pelo CBD pode melhorar os efeitos anti-inflamatórios, visto que a ativação desse receptor reduziu os níveis de TNF- α e, além disso, o efeito anti-inflamatório do CBD foi atenuado por um antagonista seletivo CB2 (Petrosino et al. 2018).

Como mencionado anteriormente, os comportamentos de ansiedade e compulsão observados após o consumo de dieta HC foram associados a um processo inflamatório em regiões encefálicas responsáveis pelo controle da ansiedade (Gomes et al. 2020). Assim, devido a sua potencial ação anti-inflamatória e suas propriedades ansiolíticas e anti-compulsivas, ressalta-se a relevância de verificar se o CBD também é capaz de inibir as respostas comportamentais promovidas pelo consumo de dieta HC, evidenciando o potencial desse composto como possível alvo terapêutico para o tratamento de transtornos de ansiedade e compulsão.

2.0 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública devido a sua associação à diversas comorbidades, como doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e os transtornos psiquiátricos como, transtornos de ansiedade e transtorno compulsivo. De fato, dados epidemiológicos demonstram que a prevalência de depressão e ansiedade em indivíduos obesos é maior do que na população em geral. Além disso, a exposição a eventos estressores e o aumento no consumo de alimentos altamente calóricos constituem fatores chaves para o aumento de obesos na população mundial. Porém, até o momento, a compreensão da relação entre dieta alimentar e o desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos ainda precisam ser esclarecidos, evidenciando a importância de estudos que visam investigar tal associação ou ainda novas estratégias farmacológicas para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento desses transtornos. Nesse sentido, dados da literatura indicam os efeitos do canabidiol na melhora dos sintomas ansiosos e possui ação anti-inflamatória, emergindo como potencial terapêutico para as comorbidades psiquiátricas associadas à obesidade.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Verificar a hipótese de que o canabidiol atenuará os comportamentos de ansiedade e compulsão observados após o consumo crônico da dieta HC.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar se o tratamento agudo com CBD irá atenuar os efeitos comportamentais de compulsão e ansiedade após consumo crônico da dieta HC.
- Verificar se o tratamento sub-crônico com CBD irá atenuar os efeitos comportamentais de compulsão e ansiedade após consumo crônico da dieta HC.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem *Balb/C*, com idade de 6-7 semanas, provenientes do Centro de Bioterismo (CEBIO) do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Os animais foram alojados em uma sala mantida a $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com ciclo claro-escuro de 12 horas, água e ração *ad libitum*. Este projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal da UFMG (CETEA/UFMG), protocolo número 242/2019.

4.2 Dieta Experimental

A dieta experimental utilizada foi uma dieta rica em carboidrato (dieta HC), isocalórica, composta por: 40% de leite condensado, 8% de açúcar refinado, 12% de água e 40% de uma dieta comercial para roedores (NUVILAB®). Os macronutrientes presentes na dieta estão indicadas no quadro A. Para o preparo da dieta HC foi utilizado o pó da ração comercial (NUVILAB®), misturando-se ao leite condensado (Nestle®), açúcar refinado e água, até formar uma massa homogênea. Em seguida, foram moldados os *Pellets* de ração manualmente e armazenados em -20°C até sua utilização.

Macronutrientes	Dieta Controle (%)	Dieta HC (%)
Proteína	31,1	20
Gordura	3,1	5,8
Carboidrato	65,8	74,2
Sacarose	-	30,0
Kcal/g	4,0	4,4

Quadro A: Quadro demonstrando as proporções de macronutrientes presentes nas dietas controle e rica em carboidrato. (Oliveira, 2013)

4.3 Drogas

Nesse estudo foi utilizado Canabidiol (98% CBD; 2% THC), agonista parcial com baixa afinidade para receptor CB1 e CB2 e inibidor da enzima amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) (Campos, 2012), doado pelo Professor Dr. Francisco Silveira Guimarães, da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto (FMRP). As escolhas das doses utilizadas neste trabalho foram baseadas a partir de dados prévios da literatura (Moraes, 2018). Inicialmente realizamos uma curva dose resposta em animais controles no teste de Enterrar Esferas, nas doses de 1, 10 e 30mg/Kg. A partir desses resultados as doses utilizadas nos experimentos agudos foram de 10 e 30mg/Kg e no tratamento subcrônico a dose de 30 mg/Kg. O Canabidiol foi diluído em Tween 80 a 5% e solução salina (NaCl 0,9%). O veículo era constituído de Tween 80 a 5% e solução salina (NaCl 0,9%) e foi administrado aos animais do grupo controle. As soluções foram preparadas diariamente e administradas aos animais pela via intraperitoneal (i.p) em um volume de 0,1ml/10g de peso corporal.

4.4 Delineamento Experimental

Conforme demonstrado na figura 2, inicialmente os animais foram separados em dois grupos: 1) dieta controle; 2) dieta HC. Os animais foram mantidos em suas respectivas dietas experimentais pelo período de 12 semanas. Posteriormente, os grupos dieta controle e dieta HC foram subdivididos em mais dois grupos onde receberam tratamento agudo e subcrônico de veículo ou CBD.

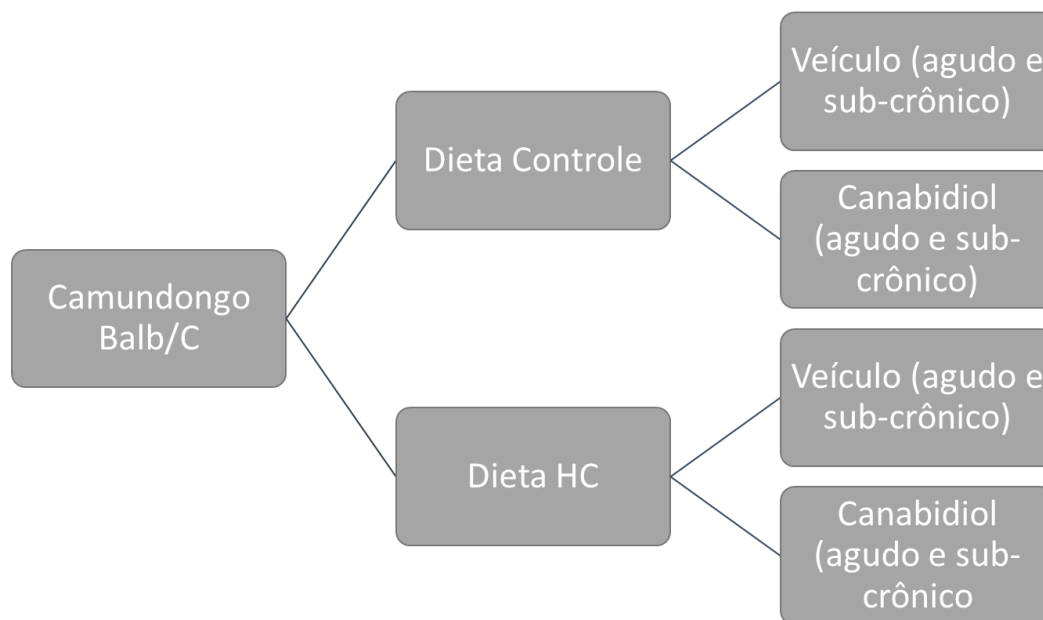


Figura 2. Esquema representativo dos grupos experimentais

No tratamento agudo administraram-se as soluções meia hora antes dos testes comportamentais. O tratamento subcrônico iniciou-se na 11ª semana e durou 8 dias, sendo a última injeção administrada 30 min antes dos testes comportamentais.

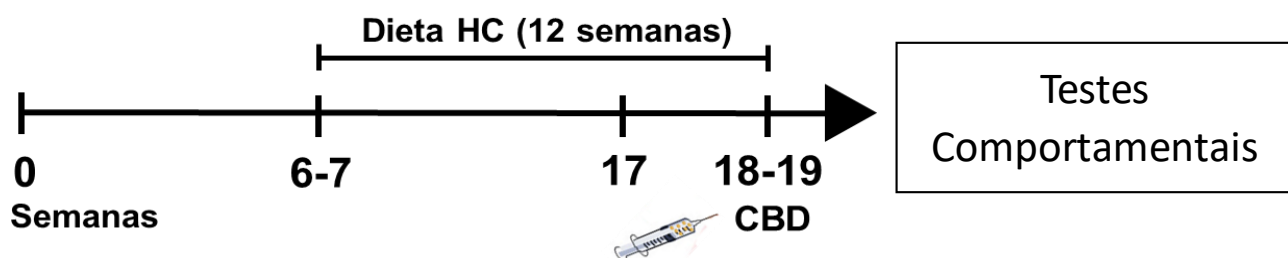


Figura 3. Delineamento experimental: consumo crônico de dieta e tratamento agudo com Canabidiol.

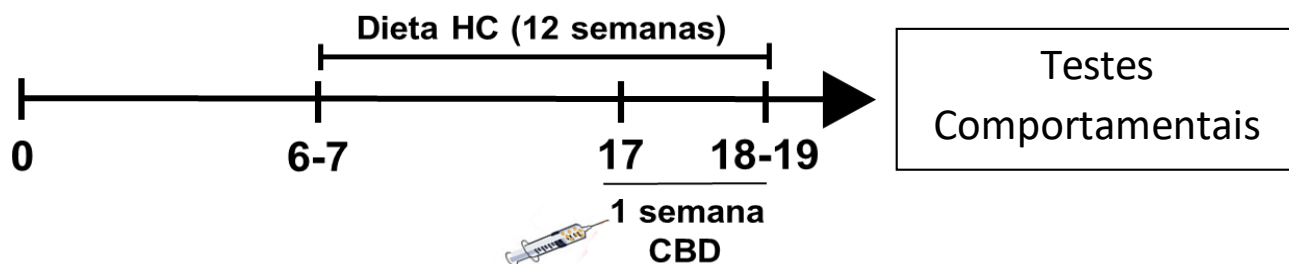


Figura 4. Delineamento experimental: consumo crônico de dieta e tratamento sub-crônico com Canabidiol

4.5 Peso, adiposidade e consumo alimentar

O controle do peso e ingesta alimentar foram avaliados semanalmente, e apresentados nos resultados pela média de cada caixa. A adiposidade foi calculada pela relação entre o peso do tecido adiposo visceral, constituído pelos tecidos adiposos mesentérico (TAM), epididimal (TAE) e retroperitoneal (TAR), e pelo peso do animal ao final dos testes comportamentais, dessa forma, obtendo o índice de adiposidade (IA), como demonstrado na fórmula abaixo.

$$IA (\%) = \frac{TAE + TAM + TAR}{\text{Peso do animal (g)}} \times 100$$

4.6 Testes Comportamentais

Os animais foram transportados em suas próprias gaiolas até a sala onde os testes de comportamento foram realizados uma hora antes do início de cada comportamento para adaptação ao ambiente experimental.

4.6.1 Teste de enterrar esferas

Os animais foram colocados individualmente em uma gaiola de policarbonato (30 x 40 x 12cm) contendo 5 cm de serragem durante cinco minutos para habituação. Em seguida, os animais foram retirados da caixa e receberam as respectivas injeções i.p de Canabidiol (10 mg/Kg ou 30 mg/Kg) ou veículo. Após trinta minutos, esses animais foram reexpostos à mesma caixa contendo 25 esferas de vidro uniformemente espaçadas (1,5 cm de diâmetro), onde ficaram por mais trinta minutos. O número de esferas enterradas foi contabilizado por um investigador cego ao final do teste. A esfera foi considerada

enterrada quando, pelo menos, dois terços da sua área estava sob a serragem (Deacon 2006).

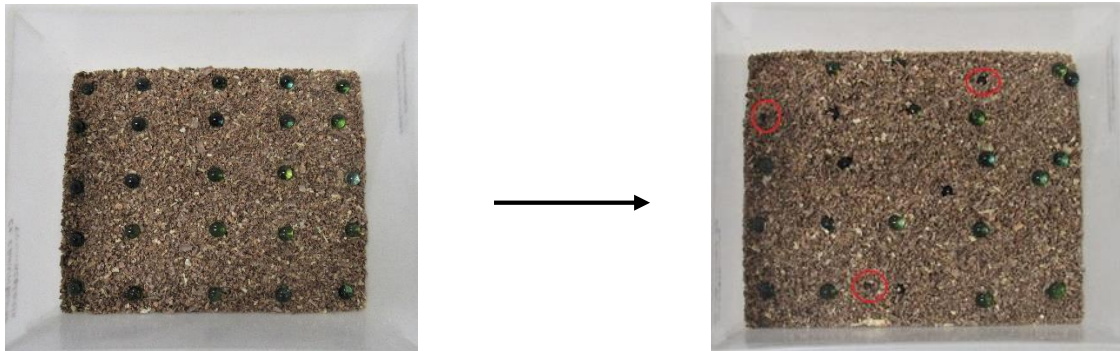


Figura 5. Teste Marble Burying. Em A, caixa de policarbonato contendo 25 esferas de vidro distribuídas uniformemente. Em B, após 30 minutos de teste, verificação do número de esferas enterradas, representadas pelos círculos.

4.6.2 Teste de Alimentação Inibida pela Novidade

Os animais foram privados de alimentos 24 horas antes do teste. Meia hora antes de serem submetidos ao teste os animais receberam as respectivas injeções i.p de Canabidiol (10 mg/Kg ou 30 mg/Kg) ou Veículo. Após esse tempo, os animais foram expostos individualmente a um ambiente escuro e colocados em uma caixa contendo uma placa de petri, localizado centralmente, com um *pellet* de ração (controle ou HC, de acordo com o grupo experimental) iluminado por um foco de luz. A latência para o animal dar a primeira mordida no *pellet* de ração foi contabilizada utilizando um cronômetro, em seguida, foi medido o consumo desses animais durante 5 minutos em uma caixa contendo *pellets* de ração controle ou HC, pesadas anteriormente (Gomes et al. 2020).



Figura 6. Teste de Alimentação Inibida pela Novidade.

Caixa de policarbonato situada em um ambiente escuro, com uma placa de Petri localizada no centro da caixa contendo um Pellet de ração iluminado por um foco de luz.

4.7 Análises Estatísticas

Inicialmente foi realizado o teste Kolmogorov Smirnov para verificar se os dados seguiam a distribuição normal. Para análise dos dados e obtenção dos gráficos referentes aos experimentos comportamentais foi utilizado o software GrandPad Prisma Software®, versão 5.0 para Windows. Os experimentos comportamentais foram analisados através da análise de variância de duas vias seguida pelo teste Bonferroni. Para análise dos parâmetros de peso, ingesta alimentar e índice de adiposidade foi utilizado o teste t de Student, sendo a significância estatística estabelecida como $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Peso corporal, consumo alimentar e adiposidade

Observamos que o peso dos animais não diferiu entre os grupos durante o período da dieta. O tratamento com CBD não modificou o peso dos animais tanto no tratamento agudo (Figura 7, $t_{(24)} = 0,33$, $p > 0,05$, Teste t de Student), quanto no tratamento sub-crônico (figura 8, fator tratamento $F_{(3,32)} = 2,75$; $p > 0,05$; fator tempo $F_{(1,32)} = 0,08$; $p > 0,05$; interação tratamento x tempo $F_{(3,32)} = 0,003$; $p > 0,05$. ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). Também não foi verificado diferença no consumo alimentar entre os grupos (figura 9, $t_{(11)} = 0,28$; $p = 0,77$, Teste t de Student). Entretanto, observamos que a dieta HC promoveu aumento da adiposidade dos animais em relação ao grupo dieta controle tanto nos animais que receberam tratamento agudo (figura 10, $t_{(86)} = 4,46$; $p < 0,05$, Teste t de Student,) e sub-crônico com CBD (figura 11, fator dieta $F_{(1,40)} = 27$; $p < 0,05$; fator fármaco $F_{(1,40)} = 1,94$; $p > 0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,40)} = 0,23$; $p > 0,05$. ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

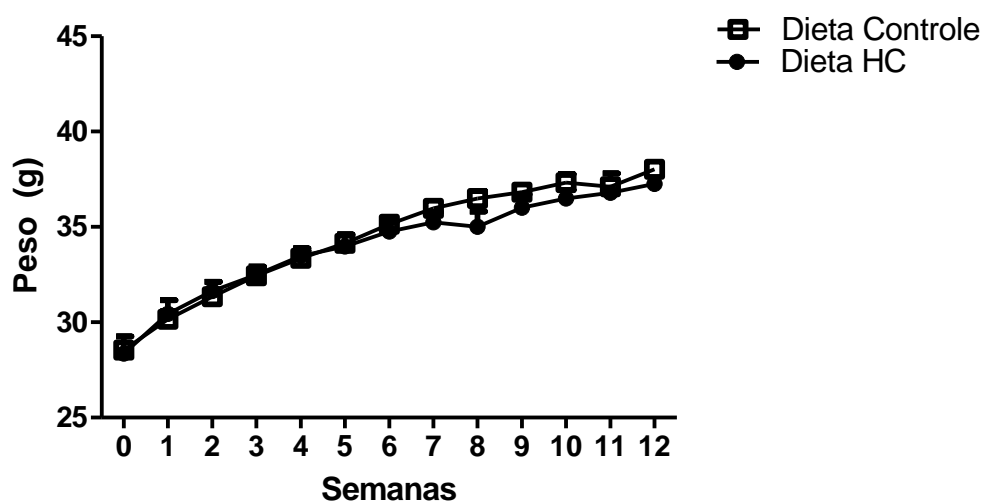


Figura 7. Ganho de massa corporal ao longo de 12 semanas de tratamento em animais que receberam dieta controle e dieta HC, e posteriormente tratados agudamente com CBD e veículo. Os pontos representam a média \pm E.P.M. do peso dos animais ao longo das 12 semanas $n=7$ caixas/grupo (Student t test não pareado).

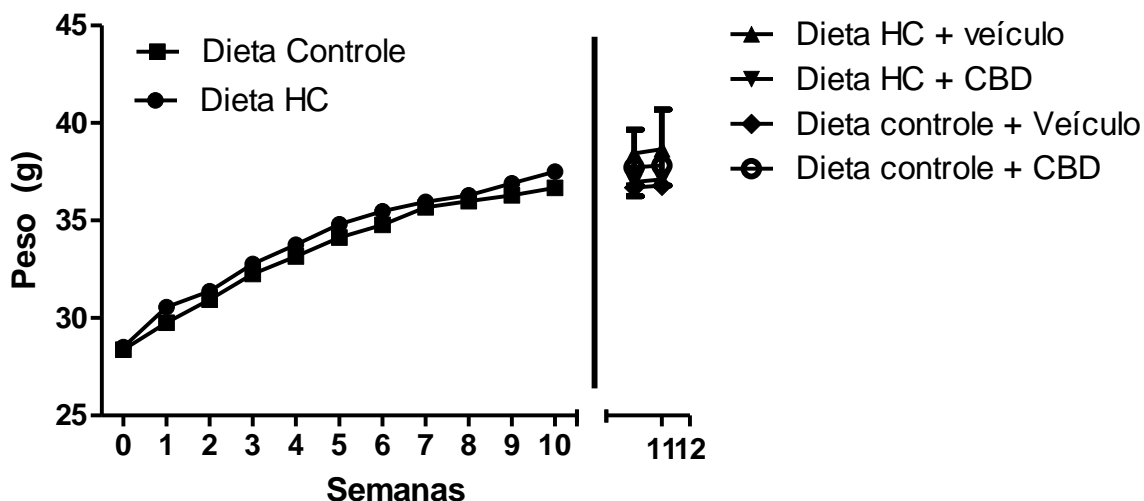


Figura 8. Ganho de massa corporal ao longo de 12 semanas de dieta em animais tratados com CBD sub-crônico.

Os pontos representam a média $n=8$ /caixa/grupo de 0 a 10 semanas e $n=4$ /caixa/grupo de 11 a 12 semanas (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). Os dados foram expressos pela média do peso dos animais da caixa (5 caixas por grupo (Dieta Controle e Dieta HC – de 0 a 10 semanas) e (5 caixas por grupo (Dieta controle + Veículo, Dieta Controle + CBD, Dieta HC + Veículo, Dieta HC + CBD – de 11 a 12 semanas).

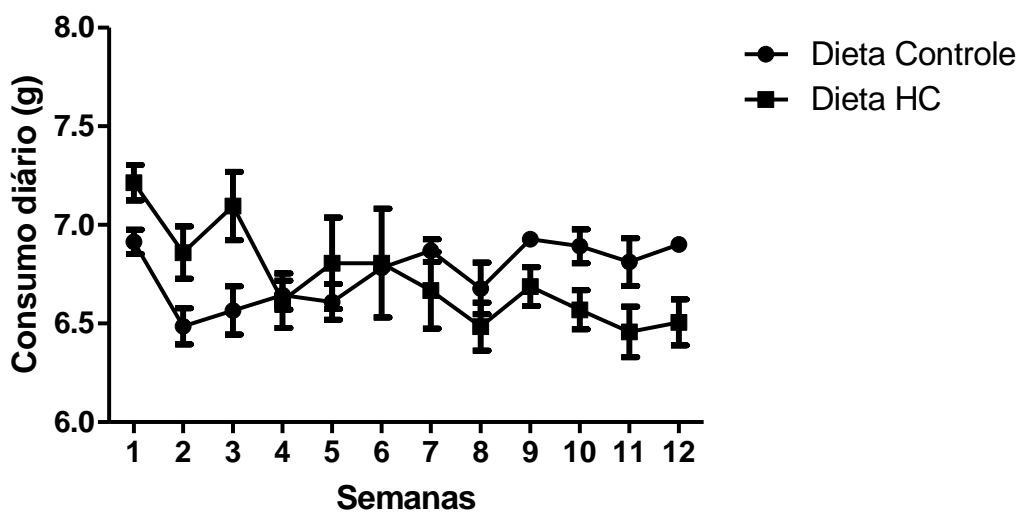


Figura 9. Consumo alimentar médio diário (g) no decorrer de 12 semanas experimentais. As barras representam a média + E.P.M. $n=7-8$ /grupo/caixa (Teste t de Student).

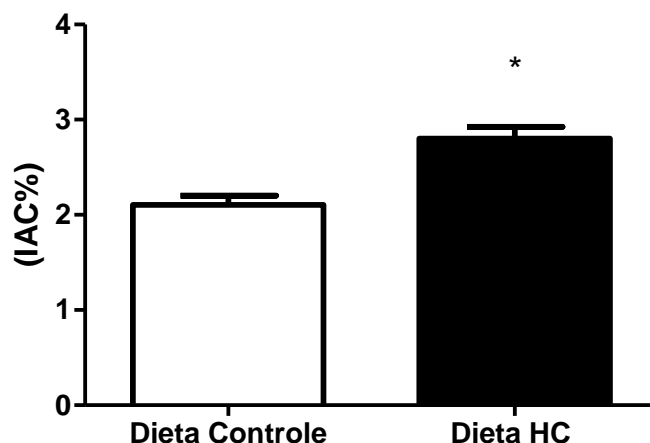


Figura 10. Índice de adiposidade após 12 semanas de dieta padrão ou rica em carboidrato (HC) dos animais que receberam o tratamento com CBD agudamente. As barras representam a média + E.P.M, * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta controle $n=44$ /grupo/caixa (Teste T de Student não pareado).

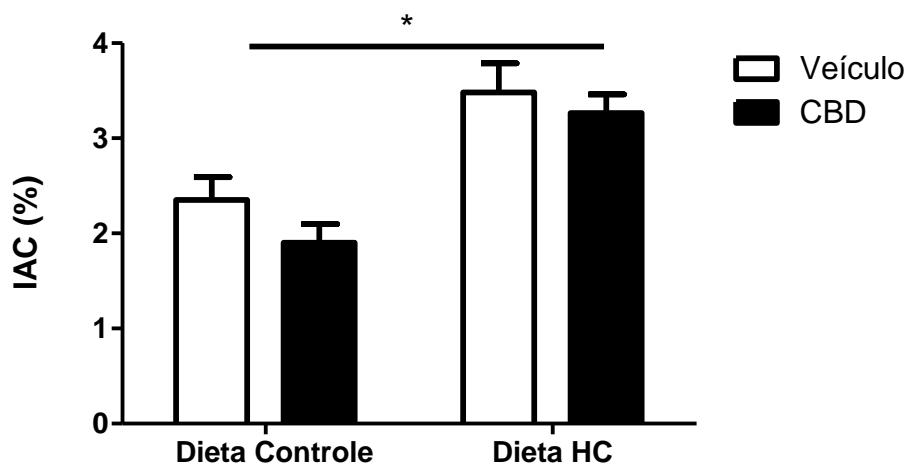


Figura 11. Índice de adiposidade em animais tratados com CBD sub-crônico após 12 semanas de dieta padrão ou rica em carboidrato (HC).

As barras representam a média +E.P.M, * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta controle $n=11$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni)

5.2 Teste de enterrar esferas

Inicialmente, com o objetivo de determinar qual dose de Canabidiol seria utilizada, avaliou-se o efeito das doses de 1, 10 e 30 mg/Kg (Moraes, 2018) no

teste de enterrar esferas em animais que não foram tratados com dieta. Verificou-se que, nenhuma das doses testadas modificou o comportamento dos animais nesse teste (figura 12, $F_{(3,27)}= 1.78$; $p>0,05$, ANOVA de uma via). A partir desses dados, optou-se por utilizar a dose de 10mg/Kg nos experimentos subsequentes.

Nos animais alimentados com a dieta HC observamos um comportamento do tipo compulsivo, pois os animais enterraram um número maior de esferas em relação ao grupo dieta controle (figura 13, fator dieta $F_{(1,25)}=4.86$; $p<0,05$; fator fármaco $F_{(1,25)}=0,26$; $p>0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,25)}= 0,26$; $p>0,05$. ANOVA de duas vias seguida Bonferroni). O pré-tratamento com CBD na dose de 10 mg/Kg não foi capaz de reverter o efeito induzido pela dieta nesse teste (Figura 13).

Assim, optamos por aumentar a dose do CBD para 30mg/Kg. Nesse experimento, novamente observamos o comportamento do tipo compulsão nos animais que receberam a dieta HC (figura 14, fator dieta $F_{(1,25)}= 4,02$; $p<0,05$; fator fármaco $F_{(1,25)}=0,66$; $p>0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,25)}= 3,813$; $p>0,05$; ANOVA de duas vias seguida Bonferroni). O pré-tratamento com CBD na dose de 30 mg/Kg atenuou o comportamento do tipo compulsivo dos animais, pois não observamos diferença entre os animais do grupo veículo dieta controle não dos animais CBD dieta HC (Bonferroni, $p>0,05$, Figura 14).

No tratamento sub-crônico, a dose de 30 mg/Kg de CBD foi capaz de prevenir o efeito induzido pelo consumo de dieta HC no teste de enterrar esferas (figura 15, fator dieta $F_{(1,24)}= 4,975$; $p<0,05$; fator fármaco $F_{(1,24)} =5,858$; $p<0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,24)} = 5,408$; $p<0,05$; ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

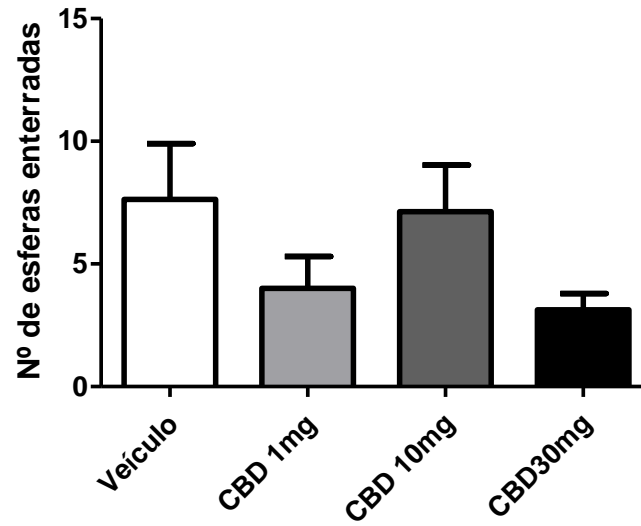


Figura 12. Efeito do Canabidiol no teste de Enterrar Esferas doses de 1, 10 e 30mg/Kg. As barras representam a média \pm E.P.M. do número de esferas enterradas, $p > 0,05$ em relação ao grupo salina, $n=7/8$ por grupo (ANOVA de uma via seguida de Tukeys).

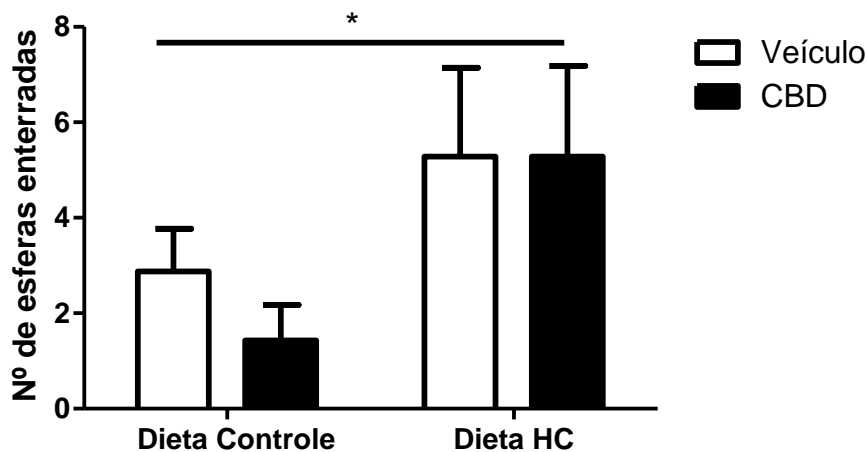


Figura 13. Efeito do Canabidiol (10 mg/Kg) no teste de Enterrar Esferas após consumo crônico de dieta controle ou dieta HC. As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas, * $p < 0,05$ em relação ao grupo salina + dieta controle, $n = 7-8$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

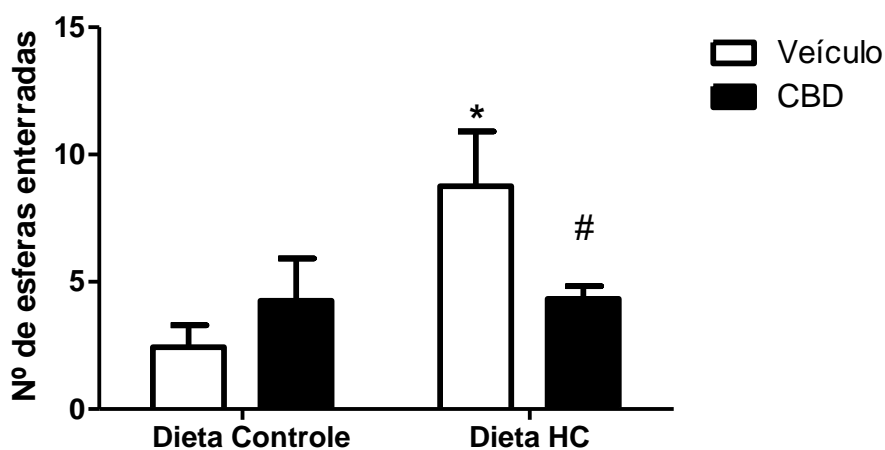


Figura 14. Efeito do Canabidiol agudo (30 mg/Kg) no teste de Enterrar Esferas após consumo crônico de dieta controle ou dieta HC. As barras representam a média ± E.P.M. do número de esferas enterradas, * $p < 0,05$ em relação ao grupo salina + dieta controle, # $p < 0,05$ relação ao grupo salina + dieta HC, $n = 7-8$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

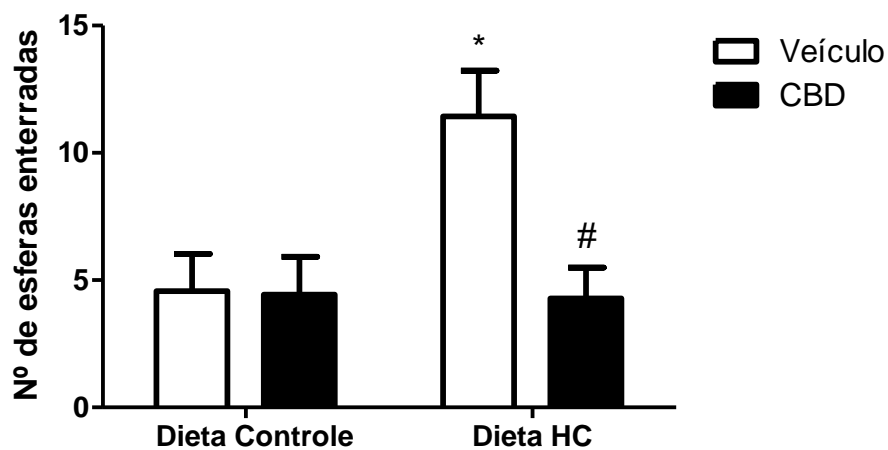


Figura 15. Efeito do tratamento sub-crônico com Canabidiol (30 mg/Kg) no teste de Enterrar Esferas após consumo crônico de dieta controle ou dieta HC. As barras representam a média \pm E.P.M. do número de esferas enterradas, * $p < 0,05$ em relação ao grupo salina + dieta controle; # $p < 0,05$ em relação ao grupo salina + dieta HC, $n = 8/\text{grupo}$ (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

5.3 Teste de Alimentação Inibida pela Novidade

No modelo de Alimentação Inibida pela Novidade, observou-se que, os animais alimentados cronicamente pela dieta HC apresentaram maior latência para alimentar-se em relação ao grupo dieta controle. O pré-tratamento com Canabidiol (30 mg/Kg) não preveniu o efeito induzido pelo consumo da dieta HC (figura 16, fator dieta $F_{(1,43)} = 4,37$; $p < 0,05$; fator fármaco $F_{(1,43)} = 0,014$; $p > 0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,43)} = 0,82$; $p > 0,05$. ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). O consumo alimentar medido durante 5 minutos após o teste, foi maior nos animais que receberam dieta HC comparada aos animais do grupo dieta controle, independentemente do tratamento recebido (figura 17, fator dieta $F_{(1,44)} = 61,55$; $p < 0,05$; fator fármaco $F_{(1,44)} = 0,38$; $p > 0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,44)} = 0,001$; $p > 0,05$, ANOVA de duas vias seguido de Bonferroni).

No tratamento sub-crônico com Canabidiol, observamos que a dose de 30 mg/Kg foi capaz de reduzir o efeito induzido pelo consumo da dieta HC na latência para se alimentar (figura 18, fator dieta $F_{(1,24)} = 4,98$; $p < 0,05$; fator fármaco $F_{(1,24)} = 5,86$; $p < 0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,24)} = 5,408$; $p < 0,05$; ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). O consumo alimentar medido durante 5 minutos após o teste com tratamento sub-crônico, foi maior nos animais que receberam dieta HC em relação ao grupo controle (figura 19, fator dieta $F_{(1,44)} = 92,29$; $p < 0,05$; fator fármaco $F_{(1,44)} = 0,06$; $p > 0,05$; interação dieta x fármaco $F_{(1,44)} = 0,55$; $p > 0,05$. ANOVA de duas vias seguido de Bonferroni).

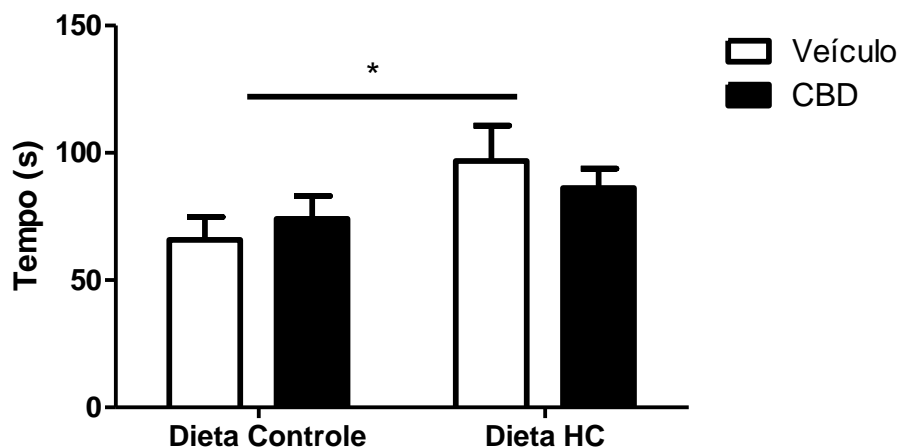


Figura 16. Efeito do pré-tratamento com Canabidiol (30 mg/Kg) sobre a latência do primeiro episódio para alimentação no teste de Alimentação Inibida pela Novidade, após consumo crônico de dieta controle ou dieta HC. As barras representam a média + E.P.M do tempo de latência em segundos * $p < 0,05$ em relação ao grupo veículo + dieta controle, $n = 12$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

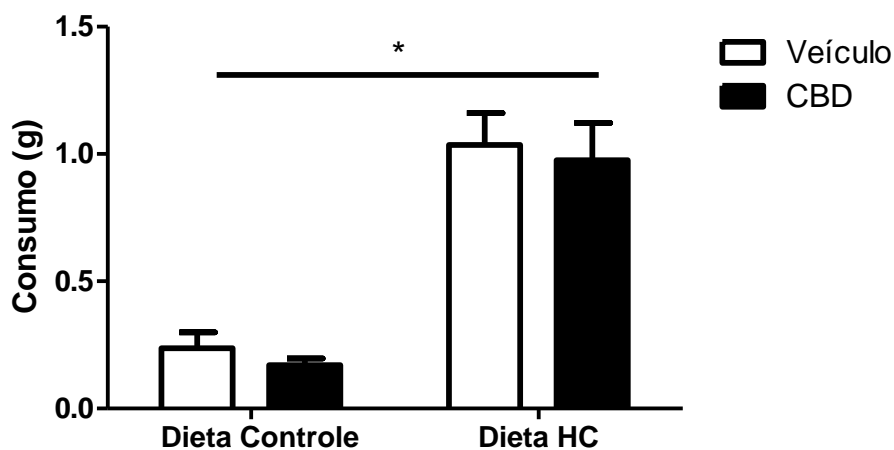


Figura 17. Consumo alimentar (g) após o teste de Alimentação Inibida pela Novidade. As barras representam a média \pm E.P.M do consumo em g. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta controle, $n = 11-12$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

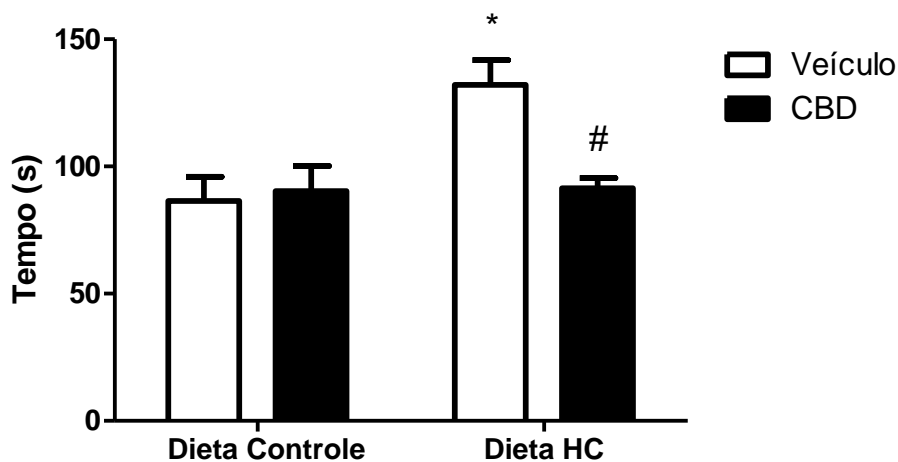


Figura 18. Efeito do tratamento sub-crônico com Canabidiol (30 mg/Kg) sobre a latência do primeiro episódio para alimentação no modelo de Alimentação Inibida Pela Novidade, após consumo crônico de dieta controle ou dieta HC. As barras representam a média \pm E.P.M do tempo de latência em segundos. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle, # $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta HC veículo. $n = 11/12$ grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

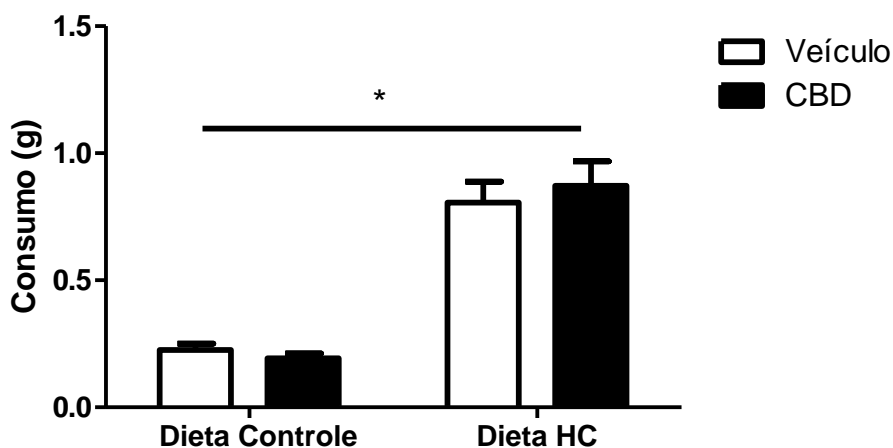


Figura 19: Consumo alimentar (g) dos animais após o teste de Alimentação Inibida pela Novidade. As barras representam a média \pm E.P.M do consumo em g dos animais alimentados cronicamente com dieta controle e dieta HC e pertencentes ao grupo veículo e CBD. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta controle, $n = 11/12$ grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, demonstramos que o consumo crônico de dieta HC foi capaz de aumentar o índice de adiposidade sem alterar o peso corporal. Esses dados corroboram estudos anteriores que mostraram que a dieta HC induz obesidade caracterizada pela expansão rápida e sustentada da adiposidade corporal (Oliveira et al. 2013). Além disso, não houve diferença no consumo alimentar em comparação a dieta controle, como previamente observado por (Gomes et al. 2018). Uma possível explicação pela qual a dieta HC induz obesidade é o fato dessa dieta apresentar alto índice glicêmico, promovendo o aumento nos níveis de insulina pós-prandiais, favorecendo o aumento de fatores de transcrição e de enzimas envolvidas na lipogênese e armazenamento de gorduras (Oliveira et al. 2013).

Evidências sugerem que a obesidade está relacionada ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, como ansiedade e compulsão (Baker et al. 2017). Nesse sentido, o emprego de dietas experimentais é utilizado para a compreensão da fisiopatologia dessa condição e suas comorbidades. Nesse trabalho, confirmamos dados prévios do nosso grupo ao observar o comportamento do tipo compulsivo após consumo crônico da dieta HC (Gomes et al. 2018). Além disso, dados da literatura também demonstraram comportamento tipo-compulsivo no teste de enterrar esferas em camundongos fêmeas após consumo de dieta rica lipídeo (Krishna et al. 2015). O modelo de enterrar esferas é constantemente utilizado para investigar seleção de fármacos que possuam potencial efeito anti-compulsivo (Umathe et al. 2009).

Verificamos também que o consumo da dieta HC induziu comportamento do tipo ansioso em animais submetidos ao teste de alimentação inibida pela novidade, através do aumento da latência para se alimentar. Nossos dados corroboram outros trabalhos da literatura, que demonstraram que uma dieta rica em gordura induz comportamento tipo ansioso em roedores (Dutheil et al. 2016), e após o consumo da dieta HC (Gomes et al. 2020, Santos et al. 2018). O modelo de alimentação inibida pela novidade é preditivo para ansiedade devido a ação ansiolítica de várias drogas testadas com efeito de reduzir a latência para se alimentar (Bodnoff et al. 1988). A diferença observada entre os grupos no

consumo alimentar durante cinco minutos após o teste foi atribuída a uma diferença nas texturas das dietas utilizadas.

Indivíduos obesos apresentam alta prevalência de distúrbios psiquiátricos como ansiedade e depressão, no entanto, os mecanismos envolvidos nessa relação bidirecional entre obesidade e distúrbios mentais ainda não estão completamente elucidados (Jaremka and Pacanowski 2019). Evidências sugerem que a inflamação desempenhe importante participação na relação entre a obesidade e transtornos psiquiátricos, uma vez que a inflamação representa um componente comum nessas patologias (Canello and Clement 2006). Alguns mecanismos são associados à inflamação consequente da obesidade. O tecido adiposo branco parece desencadear, predominantemente, o processo inflamatório na obesidade, evidenciado pelo aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias. A expansão dos adipócitos, como observado na obesidade, promove o recrutamento de macrófagos que induzem a produção de citocinas pró-inflamatórias causando uma inflamação crônica de baixo grau (Sanchez, Guerin and Fonken 2019). Além disso, as citocinas liberadas em decorrência da expansão do tecido adiposo podem facilitar o aumento da permeabilidade intestinal e a ruptura da mucosa, possibilitando a passagem de lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) do lúmen para a corrente sanguínea, provocando uma inflamação sistêmica de baixa intensidade (Bilski et al. 2019). Estudos anteriores demonstraram que a dieta HC é capaz de alterar a produção de citocinas inflamatórias, sugerindo que seu consumo está relacionado a um efeito inflamatório (Ferreira et al. 2011, Oliveira et al. 2013). Estudos pré-clínicos já demonstraram níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias em camundongos obesos acompanhados por alterações comportamentais e ainda, observou-se que o tratamento com drogas anti-inflamatórias levou a melhora desse comportamento (Fourrier, 2019).

Como mencionado anteriormente, a inflamação relacionada a obesidade parece não se limitar apenas à periferia, visto que estudos clínicos e pré-clínicos já demonstraram alterações nos níveis de citocinas pró-inflamatórias em estruturas cerebrais responsáveis pelo comportamento (Thaler et al. 2012). E ainda, em animais alimentados cronicamente com a dieta HC, observou-se aumento de citocinas pró-inflamatórias como TNF α e IL-6 nos tecidos adiposos e intestinal (Oliveira et al. 2013). Embora no presente trabalho não tenha ocorrido

a dosagem de citocinas periféricas e centrais, baseado em trabalhos anteriores e pelo nosso próprio grupo de pesquisa (Oliveira et al. 2013, Gomes et al. 2020), é possível sugerir que as citocinas inflamatórias produzidas a partir do tecido adiposo dos animais alimentados cronicamente pela dieta HC, afetem o funcionamento de estruturas cerebrais responsáveis pelo comportamento de ansiedade e compulsão.

As citocinas inflamatórias produzidas periféricamente podem acessar o cérebro via diferentes mecanismos, sendo estes, através de regiões incompletas da barreira hematoencefálica permitindo, dessa forma, a passagem de citocinas. Além disso, é importante ressaltar que durante processos inflamatórios como meningite, ocorre o aumento da permeabilidade dessa barreira (Miller et al. 2013). Outro caminho pelo qual as citocinas atingem o SNC é através do estímulo das fibras nervosas do nervo vago que transmite informações para o cérebro através da ativação do núcleo do trato solitário e da área postrema (Pavlov, Tracey 2012). Ainda, as citocinas presentes no cérebro ativam e estimulam a micróglia a produzir proteína-1 quimioatrativa de monócitos (MCP1) responsável pelo recrutamento de monócitos e facilitando as respostas inflamatórias (D'Mello, Le, Swain 2009).

A partir desse momento, diferentes vias de sinalização inflamatórias são ativadas, por exemplo, estimulando a indolamina 2,3-dioxigenase (IDO), enzima que degrada o triptofano, um aminoácido precursor da serotonina (Kim, Jeon 2018). A degradação do triptofano além de diminuir a síntese de serotonina também leva ao aumento de quinurenina, o principal metabólito do triptofano. A quinurenina pode ser convertida em ácido quinolínico na micróglia, levando a liberação de glutamato, principal neurotransmissor excitatório do SNC, através da ativação de receptores NMDA e indução do estresse oxidativo, resultando em neurotoxicidade e possível desenvolvimento de transtornos cognitivos (Leff-Gelman et al. 2016). Adicionalmente, estudos já demonstraram a desregulação glutamatérgica envolvidas nos mecanismos neurológicos associados a transtornos psiquiátricos como ansiedade e depressão (Marquez et al. 2017).

Outro mecanismo proposto nas alterações comportamentais induzidas por mediadores inflamatórios, inclui a hiperativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), que é observada em indivíduos com depressão e, consequente aumento nas concentrações circulante de cortisol. Nesse sentido, animais

alimentados por uma dieta hiperlipídica observou-se um aumento nos níveis de corticosterona e maior susceptibilidade ao estresse (Legendre, Harris 2006). Ainda, indivíduos obesos são mais sensíveis ao estresse (Brydon, 2011) e conseqüentemente apresentam maior predisposição ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (Garipey, Nitka and Schmitz 2010, Wiltink et al. 2013).

A exacerbação de citocinas encefálicas reduz a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), neurotrofina que desempenha importante função na sobrevivência, diferenciação e crescimento de neurônios, além de participar de mecanismos relacionados a plasticidade neuronal contribuindo para o aprendizado e memória (Hashimoto 2010). Um estudo demonstrou que a administração intraperitoneal de LPS ou IL-1 β reduziu a expressão de BDNF no hipocampo de ratos bem como em outras estruturas envolvidas no comportamento de ansiedade e depressão como o CPF (Zhang, Yao, Hashimoto 2016). A diminuição da expressão dessa neurotrofina está relacionada a apoptose neuronal e conseqüente facilitação no desenvolvimento de transtornos psiquiátricos como depressão e ansiedade (Hashimoto 2010).

Além dos mecanismos já mencionados, as citocinas representam importante função na ativação microglial. A micróglia é uma célula residente do sistema imune inato cerebral e representa 10% de todas as células cerebrais (Gomes et al. 2015). As células microgliais são sensíveis a insultos e em condições fisiológicas apresentam função fagocítica e de poda sináptica, além de produzirem neurotrofinas (Aguzzi, Barres, Bennett 2013). No entanto, durante o processo inflamatório as células microgliais podem ser ativadas de maneira exacerbada o que pode induzir alterações na sua morfologia, resultando numa conformação no estado ameboide, e também na sua função, pois passam a produzir citocinas pró-inflamatórias aumentando ainda mais o processo inflamatório podendo resultar em apoptose neuronal (Chunchai, Chattipakorn, Chattipakorn 2018). A ativação excessiva dessas células é associada ao desenvolvimento de doenças neurológicas. Dados do nosso grupo de pesquisa demonstraram que animais apresentaram um aumento na ativação de células microgliais após o consumo crônico de dieta rica em carboidrato, e essas alterações foram associadas a alterações comportamentais como ansiedade e compulsão (Gomes et al. 2020, Gomes et al. 2018). Além disso, trabalhos já demonstraram que o consumo de dietas hiperlipídicas, que levam a um estado

inflamatório, aumentaram o número de células microgлияis em estruturas cerebrais importantes na ansiedade como amígdala, hipotálamo, hipocampo e CPF (Tay et al. 2017). Portanto, a inibição desses processos inflamatórios mediados pela micrógлия pode resultar em efeitos neuroprotetores.

De acordo com nossos resultados de alterações comportamentais induzidas pelo consumo crônico de dieta HC e também através de dados da literatura, propomos que o CBD atenuaria os comportamentos tipo ansioso e compulsivo observados, uma vez que esse fitocanabinóide possui ações anti-inflamatórias, ansiolíticas e anti-compulsivas. Com base nas avaliações comportamentais realizadas no presente trabalho, observamos que o tratamento agudo com CBD foi capaz de atenuar o comportamento tipo compulsivo no modelo de enterrar esferas, entretanto, esse efeito não foi observado no modelo de alimentação inibida pela novidade. Em contrapartida, o tratamento sub-crônico com CBD apresentou efeito em ambos modelos, representado pela redução no número de esferas enterradas e pela menor latência para se alimentar.

Alguns trabalhos da literatura já demonstraram as propriedades agudas do tipo anti-compulsiva e ansiolítica do CBD em animais (Blessing et al. 2015). Moreira e colaboradores demonstraram que uma única dose de CBD foi capaz de induzir um efeito ansiolítico em ratos no teste de Vogel (Moreira, Aguiar and Guimaraes 2006). Em um trabalho utilizando modelo de TOC induzido pelo agonista serotoninérgico não seletivo MCPP, demonstrou-se que o tratamento agudo com uma dose sub-efetiva de CBD foi capaz de bloquear o efeito induzido pelo MCPP através da redução do número de esferas enterradas (Nardo et al. 2014). Tais dados corroboram nosso trabalho, onde demonstramos que o tratamento agudo com CBD apresentou um efeito moderado em reduzir o comportamento do tipo compulsivo induzido pela dieta HC. De forma contrária, o tratamento agudo com CBD não foi capaz de atenuar o comportamento tipo-ansioso no modelo de alimentação inibida pela novidade. Nesse modelo os animais são submetidos ao estresse de privação alimentar por 24h. O estresse agudo e crônico é capaz de alterar várias funções cerebrais constituindo um fator chave no desenvolvimento da ansiedade (Santos et al. 2018). Além disso, indivíduos obesos apresentam maior responsividade ao estresse e, conseqüentemente, são mais susceptíveis a desenvolver transtornos

psiquiátricos. De forma semelhante, Moraes e colaboradores demonstraram que uma única dose de CBD não foi capaz de induzir o efeito tipo antidepressivo em animais diabéticos no modelo do nado forçado (Moraes, 2018).

Como já descrito anteriormente, o estado de obesidade está intimamente relacionado à neuroinflamação, hiperatividade do eixo HPA, redução de BDNF e também diminuição de monoaminas que são importantes na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos. Portanto, considerando todas essas ações das citocinas sobre o cérebro somadas ao estresse por privação alimentar, é possível sugerir que uma única dose de CBD não seja suficiente para regular tais prejuízos promovidos pela obesidade e que seja necessária uma ação mais prolongada para que os efeitos do CBD possam influenciar o comportamento no modelo de alimentação inibida pela novidade. Em concordância com tal hipótese, observamos que apenas o tratamento sub-crônico foi capaz de induzir um efeito tipo ansiolítico em animais alimentados com a dieta HC. De forma similar, no trabalho de Moraes e colaboradores, a dose subcrônica de CBD foi capaz de atenuar o tempo de imobilidade e aumentar a frequência de natação no modelo do nado forçado em ratos diabéticos. Tal efeito do CBD foi atribuído a uma melhora na função monoaminérgica (Moraes, 2018).

O CBD, possui uma pletera de alvos farmacológicos no SNC e ao longo dos últimos anos houve um grande aumento no interesse por esse composto e por seus potenciais efeitos terapêuticos. Dentre seus efeitos terapêuticos destaca-se suas propriedades anti-inflamatórias. Outros trabalhos também demonstraram o efeito do tratamento repetido do CBD sobre o comportamento, como o trabalho de Gomes e colaboradores, utilizando um modelo de esquizofrenia induzida pelo antagonista NMDA, MK-801, demonstraram que o tratamento crônico com CBD atenuou ou reverteu a alteração comportamental do tipo esquizofrênica no modelo de reconhecimento de objeto e interação social, além de reduzir as alterações na expressão dos marcadores gliais como astrócitos e micróglia, por uma possível ação anti-inflamatória (Gomes et al. 2015).

Em um modelo de neuroinflamação relacionada a doença de Alzheimer, onde os camundongos foram inoculados com peptídeo A β , o tratamento crônico com CBD reduziu a neuroinflamação e promoveu neurogenese hipocampal através da sua interação com receptores ativado por proliferadores de

peroxissomo (PPAR). O PPAR γ é uma das três isoformas pertencentes a superfamília de receptores de hormônios nucleares PPAR, no cérebro eles se localizam em neurônios e em células gliais e estão relacionados com o controle de expressão de genes relacionados às respostas anti-inflamatórias (Sonego et al. 2018). O agonismo de receptores PPAR γ tem sido proposto como um possível alvo terapêutico anti-inflamatório do CBD (Esposito et al. 2011). Adicionalmente, outro modelo de neuroinflamação relacionado à doença de Alzheimer demonstrou que o tratamento repetido com CBD durante sete dias reduziu a expressão de várias citocinas inflamatórias da glia, que são importantes participantes do processo inflamatório incluindo IL-1 β e óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Esposito et al. 2007). Portanto, devido aos seus múltiplos mecanismos o CBD pode representar uma nova abordagem para o tratamento de distúrbios neuropsiquiátricos.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados reforçam o comportamento tipo compulsivo e ansioso induzido pelo consumo crônico da dieta rica em carboidrato. O tratamento agudo com CBD atenuou apenas o comportamento tipo-compulsivo no modelo de enterrar esferas, entretanto, o tratamento sub-crônico atenuou o comportamento tipo-compulsivo e tipo-ansioso induzidos pelo consumo da dieta, sugerindo que o CBD possa contribuir para a farmacoterapia dos transtornos psiquiátricos, especificamente, ansiedade e compulsão de pacientes obesos. Mais estudos precisam ser realizados afim de confirmar tal hipótese e investigar os mecanismos envolvidos em tais efeitos.

8. REFERÊNCIAS

ABESO. 2016. ABESO.

Aguilar-Valles, A., W. Inoue, C. Rummel & G. N. Luheshi (2015) Obesity, adipokines and neuroinflammation. *Neuropharmacology*, 96, 124-34.

Aguzzi, A., B. A. Barres & M. L. Bennett (2013) Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? *Science*, 339, 156-61.

Avena, N. M., P. Rada & B. G. Hoebel (2008) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neurosci Biobehav Rev*, 32, 20-39.

Baker, K. D., A. Loughman, S. J. Spencer & A. C. Reichelt (2017) The impact of obesity and hypercaloric diet consumption on anxiety and emotional behavior across the lifespan. *Neurosci Biobehav Rev*, 83, 173-182.

Bilski, J., A. Mazur-Bialy, D. Wojcik, M. Surmiak, M. Magierowski, Z. Sliwowski, R. Pajdo, S. Kwiecien, A. Danielak, A. Ptak-Belowska & T. Brzozowski (2019) Role of Obesity, Mesenteric Adipose Tissue, and Adipokines in Inflammatory Bowel Diseases. *Biomolecules*, 9.

Blessing, E. M., M. M. Steenkamp, J. Manzanares & C. R. zMarmar. 2015. Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety Disorders. In *Neurotherapeutics*, 825-36.

Bodnoff, S. R., B. Suranyi-Cadotte, D. H. Aitken, R. Quirion & M. J. Meaney (1988) The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. *Psychopharmacology (Berl)*, 95, 298-302.

Bruce-Keller, A. J., J. N. Keller & C. D. Morrison (2009) Obesity and Vulnerability of the CNS. *Biochim Biophys Acta*, 1792, 395-400.

Campos, A. C., M. V. Fogaca, F. F. Scarante, S. R. L. Joca, A. J. Sales, F. V. Gomes, A. B. Sonego, N. S. Rodrigues, I. Galve-Roperh & F. S. Guimaraes (2017) Plastic and Neuroprotective Mechanisms Involved in the Therapeutic Effects of Cannabidiol in Psychiatric Disorders. *Front Pharmacol*, 8, 269.

Campos, A. C. & F. S. Guimaraes (2008) Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 199, 223-30.

Campos, A. C., Z. Ortega, J. Palazuelos, M. V. Fogaca, D. C. Aguiar, J. Diaz-Alonso, S. Ortega-Gutierrez, H. Vazquez-Villa, F. A. Moreira, M. Guzman, I. Galve-Roperh & F. S. Guimaraes (2013) The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. *Int J Neuropsychopharmacol*, 16, 1407-19.

- Canello, R. & K. Clement (2006) Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *Bjog*, 113, 1141-7.
- Capuron, L., J. Lasselin & N. Castanon (2017) Role of Adiposity-Driven Inflammation in Depressive Morbidity. *Neuropsychopharmacology*, 42, 115-128.
- Casarotto, P. C., F. V. Gomes, L. B. Resstel & F. S. Guimaraes (2010) Cannabidiol inhibitory effect on marble-burying behaviour: involvement of CB1 receptors. *Behav Pharmacol*, 21, 353-8.
- Chunchai, T., N. Chattipakorn & S. C. Chattipakorn (2018) The possible factors affecting microglial activation in cases of obesity with cognitive dysfunction. *Metab Brain Dis*, 33, 615-635.
- Coope, A., M. Milanski, E. P. Araujo, M. Tambascia, M. J. Saad, B. Geloneze & L. A. Velloso (2008) AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. *FEBS Lett*, 582, 1471-6.
- Crippa, J. A., A. W. Zuardi, G. E. Garrido, L. Wichert-Ana, R. Guarnieri, L. Ferrari, P. M. Azevedo-Marques, J. E. Hallak, P. K. McGuire & G. Filho Busatto (2004) Effects of cannabidiol (CBD) on regional cerebral blood flow. *Neuropsychopharmacology*, 29, 417-26.
- D'Mello, C., T. Le & M. G. Swain (2009) Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor α signaling during peripheral organ inflammation. *J Neurosci*, 29, 2089-102.
- Dai, L., P. Bhargava, K. J. Stanya, R. K. Alexander, Y. H. Liou, D. Jacobi, N. H. Knudsen, A. Hyde, M. R. Gangl, S. Liu & C. H. Lee (2017) Macrophage alternative activation confers protection against lipotoxicity-induced cell death. *Mol Metab*, 6, 1186-1197.
- Dantzer, R. & K. W. Kelley (2007) Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun*, 21, 153-60.
- Deacon, R. M. (2006) Digging and marble burying in mice: simple methods for in vivo identification of biological impacts. *Nat Protoc*, 1, 122-4.
- Drubach, D. A. (2015) Obsessive-compulsive disorder. *Continuum (Minneap Minn)*, 21, 783-8.
- DSM-5. 2013. DSM-5.
- Dutheil, S., K. T. Ota, E. S. Wohleb, K. Rasmussen & R. S. Duman (2016) High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology*, 41, 1874-87.
- Esposito, G., C. Scuderi, C. Savani, L. Steardo, D. De Filippis, P. Cottone, T. Iuvone & V. Cuomo. 2007. Cannabidiol in vivo blunts β -amyloid induced

neuroinflammation by suppressing IL-1 β and iNOS expression. In *Br J Pharmacol*, 1272-9.

Esposito, G., C. Scuderi, M. Valenza, G. I. Togna, V. Latina, D. De Filippis, M. Cipriano, M. R. Carratu, T. Iuvone & L. Steardo (2011) Cannabidiol reduces Abeta-induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPARgamma involvement. *PLoS One*, 6, e28668.

Ferrario, C. R., G. Labouebe, S. Liu, E. H. Nieh, V. H. Routh, S. Xu & E. C. O'Connor (2016) Homeostasis Meets Motivation in the Battle to Control Food Intake. *J Neurosci*, 36, 11469-11481.

Ferreira, A. V., E. G. Mario, L. C. Porto, S. P. Andrade & L. M. Botion (2011) High-carbohydrate diet selectively induces tumor necrosis factor-alpha production in mice liver. *Inflammation*, 34, 139-45.

Fourrier, C., C. Bosch-Bouju, R. Boursereau, J. Sauvart, A. Aubert, L. Capuron, G. Ferreira, S. Laye & N. Castanon (2019) Brain tumor necrosis factor-alpha mediates anxiety-like behavior in a mouse model of severe obesity. *Brain Behav Immun*, 77, 25-36.

Gariepy, G., D. Nitka & N. Schmitz (2010) The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)*, 34, 407-19.

Giordano, A., I. Murano, E. Mondini, J. Perugini, A. Smorlesi, I. Severi, R. Barazzoni, P. E. Scherer & S. Cinti (2013) Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J Lipid Res*, 54, 2423-36.

Gomes, F. V., R. Llorente, E. A. Del Bel, M. P. Viveros, M. Lopez-Gallardo & F. S. Guimaraes (2015) Decreased glial reactivity could be involved in the antipsychotic-like effect of cannabidiol. *Schizophr Res*, 164, 155-63.

Gomes, F. V., L. B. Resstel & F. S. Guimaraes (2011) The anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis are mediated by 5-HT1A receptors. *Psychopharmacology (Berl)*, 213, 465-73.

Gomes, J. A. S., M. C. Oliveira, P. H. Gobira, G. C. Silva, A. P. Marcal, G. F. Gomes, C. Z. Ferrari, V. S. Lemos, A. C. P. Oliveira, L. B. Vieira, A. V. M. Ferreira & D. C. Aguiar (2018) A high-refined carbohydrate diet facilitates compulsive-like behavior in mice through the nitric oxide pathway. *Nitric Oxide*, 80, 61-69.

Gomes, J. A. S., J. F. Silva, A. P. Marcal, G. C. Silva, G. F. Gomes, A. C. P. de Oliveira, V. L. Soares, M. C. Oliveira, A. V. M. Ferreira & D. C. Aguiar (2020) High-refined carbohydrate diet consumption induces neuroinflammation and anxiety-like behavior in mice. *J Nutr Biochem*, 77, 108317.

Gray, J. M., H. A. Vecchiarelli, M. Morena, T. T. Lee, D. J. Hermanson, A. B. Kim, R. J. McLaughlin, K. I. Hassan, C. Kuhne, C. T. Wotjak, J. M. Deussing, S. Patel & M. N. Hill (2015) Corticotropin-releasing hormone drives anandamide hydrolysis in the amygdala to promote anxiety. *J Neurosci*, 35, 3879-92.

Greist, J. H., B. Bandelow, E. Hollander, D. Marazziti, S. A. Montgomery, D. J. Nutt, A. Okasha, R. P. Swinson & J. Zohar (2003) WCA recommendations for the long-term treatment of obsessive-compulsive disorder in adults. *CNS Spectr*, 8, 7-16.

Haefely, W., A. Kulcsar & H. Mohler (1975) Possible involvement of GABA in the central actions of benzodiazepines. *Psychopharmacol Bull*, 11, 58-9.

Ham, M., J. W. Lee, A. H. Choi, H. Jang, G. Choi, J. Park, C. Kozuka, D. D. Sears, H. Masuzaki & J. B. Kim. 2013. Macrophage Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Stimulates Proinflammatory Responses with Oxidative Stress. In *Mol Cell Biol*, 2425-35.

Hashimoto, K. (2010) Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions. *Psychiatry Clin Neurosci*, 64, 341-57.

Hiles, S. A., D. Révész, F. Lamers, E. Giltay & B. Penninx. 2016. BIDIRECTIONAL PROSPECTIVE ASSOCIATIONS OF METABOLIC SYNDROME COMPONENTS WITH DEPRESSION, ANXIETY, AND ANTIDEPRESSANT USE. In *Depress Anxiety*, 754-64.

Holmes, A., T. R. Hollon, T. C. Gleason, Z. Liu, J. Dreiling, D. R. Sibley & J. N. Crawley (2001) Behavioral characterization of dopamine D5 receptor null mutant mice. *Behav Neurosci*, 115, 1129-44.

Hotta, K., T. Funahashi, Y. Arita, M. Takahashi, M. Matsuda, Y. Okamoto, H. Iwahashi, H. Kuriyama, N. Ouchi, K. Maeda, M. Nishida, S. Kihara, N. Sakai, T. Nakajima, K. Hasegawa, M. Muraguchi, Y. Ohmoto, T. Nakamura, S. Yamashita, T. Hanafusa & Y. Matsuzawa (2000) Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 1595-9.

Jaremka, L. M. & C. R. Pacanowski (2019) Social anxiety symptoms moderate the link between obesity and metabolic function. *Psychoneuroendocrinology*, 110, 104425.

Kang, K., S. M. Reilly, V. Karabacak, M. R. Gangl, K. Fitzgerald, B. Hatano & C. H. Lee (2008) Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPARdelta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity. *Cell Metab*, 7, 485-95.

Kershaw, E. E. & J. S. Flier (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 2548-56.

Kilpi, F., L. Webber, A. Musaigner, A. Aitsi-Selmi, T. Marsh, K. Rtveldze, K. McPherson & M. Brown (2014) Alarming predictions for obesity and non-communicable diseases in the Middle East. *Public Health Nutr*, 17, 1078-86.

- Kim, Y. K. & S. W. Jeon (2018) Neuroinflammation and the Immune-Kynurenine Pathway in Anxiety Disorders. *Curr Neuropharmacol*, 16, 574-582.
- Krishna, S., M. M. Keralapurath, Z. Lin, J. J. Wagner, C. B. de La Serre, D. A. Harn & N. M. Filipov (2015) Neurochemical and electrophysiological deficits in the ventral hippocampus and selective behavioral alterations caused by high-fat diet in female C57BL/6 mice. *Neuroscience*, 297, 170-81.
- Lee, J. L. C., L. J. Bertoglio, F. S. Guimarães & C. W. Stevenson. 2017. Cannabidiol regulation of emotion and emotional memory processing: relevance for treating anxiety-related and substance abuse disorders. In *Br J Pharmacol*, 3242-56.
- Leff-Gelman, P., I. Mancilla-Herrera, M. Flores-Ramos, C. Cruz-Fuentes, J. P. Reyes-Grajeda, P. Garcia-Cuetara Mdel, M. D. Bugnot-Perez & D. E. Pulido-Ascencio (2016) The Immune System and the Role of Inflammation in Perinatal Depression. *Neurosci Bull*, 32, 398-420.
- Legendre, A. & R. B. Harris (2006) Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 291, R1288-1294.
- Lu, H. C. & K. Mackie (2016) An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. *Biol Psychiatry*, 79, 516-25.
- Lutz, T. A. & S. C. Woods (2012) Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*, Chapter 5, Unit5.61.
- Mansur, R. B., E. Brietzke & R. S. McIntyre (2015) Is there a "metabolic-mood syndrome"? A review of the relationship between obesity and mood disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, 52, 89-104.
- Marquez, J., J. A. Campos-Sandoval, A. Penalver, J. M. Mates, J. A. Segura, E. Blanco, F. J. Alonso & F. R. de Fonseca (2017) Glutamate and Brain Glutaminases in Drug Addiction. *Neurochem Res*, 42, 846-857.
- Medzhitov, R. (2008) Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454, 428-35.
- Miller, A. H., E. Haroon, C. L. Raison & J. C. Felger (2013) Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety*, 30, 297-306.
- Mineka, S. & A. Ohman (2002) Phobias and preparedness: the selective, automatic, and encapsulated nature of fear. *Biol Psychiatry*, 52, 927-37.
- Moreira, F. A., D. C. Aguiar & F. S. Guimaraes (2006) Anxiolytic-like effect of cannabidiol in the rat Vogel conflict test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30, 1466-71.

Nardo, M., P. C. Casarotto, F. V. Gomes & F. S. Guimaraes (2014) Cannabidiol reverses the mCPP-induced increase in marble-burying behavior. *Fundam Clin Pharmacol*, 28, 544-50.

Norgren, R., A. Hajnal & S. Mungarndee (2006) Gustatory Reward and the Nucleus Accumbens. *Physiol Behav*, 89, 531-5.

Oliveira, M. C., Z. Menezes-Garcia, M. C. Henriques, F. M. Soriani, V. Pinho, A. M. Faria, A. F. Santiago, D. C. Cara, D. G. Souza, M. M. Teixeira & A. V. Ferreira (2013) Acute and sustained inflammation and metabolic dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. *Obesity (Silver Spring)*, 21, E396-406.

Ouchi, N., J. L. Parker, J. J. Lugus & K. Walsh (2011) Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*, 11, 85-97.

Page, K. A., O. Chan, J. Arora, R. Belfort-Deaguiar, J. Dzuira, B. Roehmholdt, G. W. Cline, S. Naik, R. Sinha, R. T. Constable & R. S. Sherwin (2013) Effects of fructose vs glucose on regional cerebral blood flow in brain regions involved with appetite and reward pathways. *Jama*, 309, 63-70.

Pavlov, V. A. & K. J. Tracey (2012) The vagus nerve and the inflammatory reflex-linking immunity and metabolism. *Nat Rev Endocrinol*, 8, 743-54.

Pereira-Miranda, E., P. R. F. Costa, V. A. O. Queiroz, M. Pereira-Santos & M. L. P. Santana (2017) Overweight and Obesity Associated with Higher Depression Prevalence in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Coll Nutr*, 36, 223-233.

Peris, T. S., M. Rozenman, R. L. Bergman, S. Chang, J. O'Neill & J. Piacentini (2017) Developmental and clinical predictors of comorbidity for youth with obsessive compulsive disorder. *J Psychiatr Res*, 93, 72-78.

Petrosino, S., R. Verde, M. Vaia, M. Allara, T. Iuvone & V. Di Marzo (2018) Anti-inflammatory Properties of Cannabidiol, a Nonpsychotropic Cannabinoid, in Experimental Allergic Contact Dermatitis. *J Pharmacol Exp Ther*, 365, 652-663.

Rosa-Alcazar, A., P. J. Olivares-Olivares, I. C. Martinez-Esparza, J. L. Parada-Navas, A. I. Rosa-Alcazar & J. Olivares-Rodriguez (2020) Cognitive flexibility and response inhibition in patients with Obsessive-Compulsive Disorder and Generalized Anxiety Disorder. *Int J Clin Health Psychol*, 20, 20-28.

Ross, S. & E. Peselow (2009) The neurobiology of addictive disorders. *Clin Neuropharmacol*, 32, 269-76.

Sampey, B. P., A. M. Vanhoose, H. M. Winfield, A. J. Freerman, M. J. Muehlbauer, P. T. Fueger, C. B. Newgard & L. Makowski (2011) Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*, 19, 1109-17.

Sanchez, K., S. P. Guerin & L. K. Fonken (2019) Anxiety in obesity: Is neuroinflammation the critical link? *Brain Behav Immun*, 78, 7-8.

Santos, C. J., A. V. M. Ferreira, A. L. Oliveira, M. C. Oliveira, J. S. Gomes & D. C. Aguiar (2018) Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutr Neurosci*, 21, 33-39.

Scheers, T., R. Philippaerts & J. Lefevre (2012) Patterns of physical activity and sedentary behavior in normal-weight, overweight and obese adults, as measured with a portable armband device and an electronic diary. *Clin Nutr*, 31, 756-64.

Sonego, A. B., D. S. Prado, G. T. Vale, J. E. Sepulveda-Diaz, T. M. Cunha, C. R. Tirapelli, E. A. Del Bel, R. Raisman-Vozari & F. S. Guimaraes (2018) Cannabidiol prevents haloperidol-induced vacuos chewing movements and inflammatory changes in mice via PPARgamma receptors. *Brain Behav Immun*, 74, 241-251.

Stein, D. J. (2000) Advances in the neurobiology of obsessive-compulsive disorder. Implications for conceptualizing putative obsessive-compulsive and spectrum disorders. *Psychiatr Clin North Am*, 23, 545-62.

Steppan, C. M., S. T. Bailey, S. Bhat, E. J. Brown, R. R. Banerjee, C. M. Wright, H. R. Patel, R. S. Ahima & M. A. Lazar (2001) The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 409, 307-12.

Stewart, S. A. (2005) The effects of benzodiazepines on cognition. *J Clin Psychiatry*, 66 Suppl 2, 9-13.

Strachan, L. P., M. P. Hyett & P. M. McEvoy (2020) Imagery Rescripting for Anxiety Disorders and Obsessive-Compulsive Disorder: Recent Advances and Future Directions. *Curr Psychiatry Rep*, 22, 17.

Sturt, J. (2011) Higher consumption of sugar-sweetened beverages is associated with increased risk of developing type 2 diabetes or metabolic syndrome. *Evid Based Nurs*, 14, 35.

Tay, T. L., J. C. Savage, C. W. Hui, K. Bisht & M. E. Tremblay (2017) Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition. *J Physiol*, 595, 1929-1945.

Thaler, J. P., C. X. Yi, E. A. Schur, S. J. Guyenet, B. H. Hwang, M. O. Dietrich, X. Zhao, D. A. Sarruf, V. Izgur, K. R. Maravilla, H. T. Nguyen, J. D. Fischer, M. E. Matsen, B. E. Wisse, G. J. Morton, T. L. Horvath, D. G. Baskin, M. H. Tschoop & M. W. Schwartz (2012) Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest*, 122, 153-62.

Umathe, S. N., P. S. Bhutada, N. S. Jain, Y. R. Mundhada, S. S. Borkar & B. Dhumal (2009) Role of nitric oxide in obsessive-compulsive behavior and its involvement in the anti-compulsive effect of paroxetine in mice. *Nitric Oxide*, 21, 140-7.

VIGITEL. 2018. VIGITEL.

Vinuesa, A., C. Pomilio, M. Menafra, M. M. Bonaventura, L. Garay, M. F. Mercogliano, R. Schillaci, V. Lux Lantos, F. Brites, J. Beauquis & F. Saravia (2016) Juvenile exposure to a high fat diet promotes behavioral and limbic alterations in the absence of obesity. *Psychoneuroendocrinology*, 72, 22-33.

Viveros, M. P., E. M. Marco, R. Llorente & M. López-Gallardo (2007) Endocannabinoid System and Synaptic Plasticity: Implications for Emotional Responses. *Neural Plast*, 2007.

Volkow, N. D., R. A. Wise & R. Baler (2017) The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nat Rev Neurosci*, 18, 741-752.

Wang, B., P. C. Chandrasekera & J. J. Pippin (2014) Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rev*, 10, 131-45.

Weisberg, S. P., D. McCann, M. Desai, M. Rosenbaum, R. L. Leibel & A. W. Ferrante, Jr. (2003) Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*, 112, 1796-808.

Weiss, L., M. Zeira, S. Reich, M. Har-Noy, R. Mechoulam, S. Slavin & R. Gallily (2006) Cannabidiol lowers incidence of diabetes in non-obese diabetic mice. *Autoimmunity*, 39, 143-51.

White, K. A., S. R. Hutton, J. M. Weimer & P. A. Sheridan (2016) Diet-induced obesity prolongs neuroinflammation and recruits CCR2(+) monocytes to the brain following herpes simplex virus (HSV)-1 latency in mice. *Brain Behav Immun*, 57, 68-78.

WHO (2018) Obesity and overweight.

Wiltink, J., M. Michal, P. S. Wild, I. Zwiener, M. Blettner, T. Munzel, A. Schulz, Y. Kirschner & M. E. Beutel (2013) Associations between depression and different measures of obesity (BMI, WC, WHtR, WHR). *BMC Psychiatry*, 13, 223.

Yamauchi, T., J. Kamon, Y. Ito, A. Tsuchida, T. Yokomizo, S. Kita, T. Sugiyama, M. Miyagishi, K. Hara, M. Tsunoda, K. Murakami, T. Ohteki, S. Uchida, S. Takekawa, H. Waki, N. H. Tsuno, Y. Shibata, Y. Terauchi, P. Froguel, K. Tobe, S. Koyasu, K. Taira, T. Kitamura, T. Shimizu, R. Nagai & T. Kadowaki (2003) Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 423, 762-9.

Yang, L., M. Wang, Y. Y. Guo, T. Sun, Y. J. Li, Q. Yang, K. Zhang, S. B. Liu, M. G. Zhao & Y. M. Wu (2016) Systemic inflammation induces anxiety disorder through CXCL12/CXCR4 pathway. *Brain Behav Immun*, 56, 352-62.

Zhang, J., W. Yao & K. Hashimoto. 2016. Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)-TrkB Signaling in Inflammation-related Depression and Potential Therapeutic Targets. In *Curr Neuropharmacol*, 721-31.