



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE- CCBS
GRUPO DE PSICOBIOLOGIA**

Leonardo Abdelnur Petrilli

**ENVOLVIMENTO DA NEUROTRANSMISSÃO ENDOCANABINÓIDE NA
EMPATIA RELACIONADA A NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS QUE
CONVIVERAM COM COESPECÍFICO EM DOR CRÔNICA**

São Carlos

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE- CCBS
GRUPO DE PSICOBIOLOGIA**

Leonardo Abdelnur Petrilli

**ENVOLVIMENTO DA NEUROTRANSMISSÃO ENDOCANABINÓIDE NA
EMPATIA RELACIONADA A NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS QUE
CONVIVERAM COM COESPECÍFICO EM DOR CRÔNICA**

Monografia apresentada ao curso de graduação de Ciências Biológicas na Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador Acadêmico: Prof. Dr. Cleo Alcantara Costa Leite

Orientadora Científica: Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza

Coorientação Científica: Ms. Lígia Renata Rodrigues Tavares

São Carlos

2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Valéria e Vicente, e a minha irmã Rafaela, por sempre me incentivarem e me apoiarem ao longo dessa trajetória acadêmica, me dando orientações, suporte, amor e força para seguir sempre adiante. Obrigado por serem vocês.

Aos meus amigos Matheus, Brian, Seneme, Janderson, Davi e Jhonas, que tornaram esta jornada mais divertida. Obrigado pelas horas de conversa, discussões, estudos e risadas. Não me vejo sendo que eu sou sem a presença de vocês.

À minha namorada Gabriely, pelo companheirismo, pelos conselhos, por todas as horas de suporte e carinho e por estar sempre fazendo eu ser a melhor versão de mim. Sou eternamente grato por tudo.

À minha orientadora Profa. Dra. Azair, pela oportunidade em que me deu para trabalhar com neurociência, pelos ensinamentos e confiança. Muito obrigado por tornar este projeto possível.

À Ms. Lígia Tavares (Liginha), pelo imensurável suporte que me deu durante este período no LPA. Os seus ensinamentos, orientações e amizade foram de extrema importância para o meu desenvolvimento e para a realização deste projeto. Sou infinitamente grato por tudo.

Ao Prof. Dr. Cléo, pela cordialidade, pelo interesse em meu projeto, pelos ensinamentos e pela orientação. Muito obrigado por tudo.

A todo o pessoal do LPA, amigos de laboratório que contribuíram muito para o meu aprendizado e que sempre estavam dispostos a me orientar e ajudar. Um abraço mais do que especial para a Isabela, Giovana, Luiz, Lara, Paulo, Cecilia e Gustavo, muito obrigado por tudo.

Ao Prof. Dr. Marcos Hortes e ao Prof. Dr. Francisco Guimarães pela atenção e a disponibilidade em fornecer o canabidiol utilizado neste projeto. Sou muito grato por terem tornado este projeto possível.

Aos camundongos que foram utilizados neste projeto. Sem eles nada disso seria possível e o avanço da neurociência não seria o mesmo.

Às mulheres que trabalham com a limpeza do laboratório. Obrigado por manterem o nosso espaço de trabalho limpo, vocês fazem parte disso.

A todos os professores e colegas que tive ao longo da graduação, a convivência com vocês foi repleta de aprendizados, risadas e amadurecimento, muito obrigado.

EPÍGRAFE

“Persistência é a irmã gêmea da excelência. Uma é a mãe da qualidade, a outra é a mãe do tempo”

Marabel Morgan

RESUMO

A empatia se caracteriza pelo compartilhamento de emoções entre indivíduos, permitindo prever e entender suas ações e sentimentos, sendo uma condição essencial para a sobrevivência da espécie. As respostas empáticas podem ser avaliadas por meio de modelos animais, em que se observam alterações decorrentes do convívio com um par em dor crônica. Alterações de comportamento devido a essa convivência, e possíveis intervenções farmacológicas podem ser empregadas na redução de tais respostas prejudiciais ao sujeito. Este estudo propôs analisar, mediante o protocolo da empatia em roedores, se a neurotransmissão endocanabinóide contribui para a atenuação de comportamentos relacionados a ansiedade e a percepção dolorosa, por meio da administração sistêmica de canabidiol. Camundongos machos Suíço-albinos foram alojados em pares por um período de 28 dias; no 14º dia, um deles passou pelo procedimento cirúrgico de constrição do nervo ciático (NC) ou não (Sham), voltando ao convívio com os animais observadores dos coespecíficos constritos (CNC) ou Sham (CS), por mais 14 dias. No 28º dia de convivência, no experimento 1, o animal observador CNC ou CS, recebeu injeção sistêmica (s.c.) de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg), e após 30 minutos foram submetidos ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção [ácido acético 0,6% intraperitoneal (i.p.)]. No experimento 2, procedimento semelhante ao experimento 1, exceto que o animal observador CNC ou CS, recebeu o tratamento com veículo ou canabidiol e após 30 minutos foram submetidos ao labirinto em cruz elevado (LCE) para avaliação dos comportamentos relacionados a ansiedade. A análise de variância (ANOVA) de dois fatores (convívio x tratamento) seguido pelo *post hoc* de Duncan revelou que o convívio com coespecífico constrito, induziu o aumento da nocicepção e comportamentos do tipo ansiogênico nos camundongos avaliados nos experimentos 1 e 2, respectivamente, demonstrando a influência que o convívio com o coespecífico em dor crônica gera no observador (CNC). No experimento 1, o canabidiol (10,0 e 30,0 mg/kg) produziu efeito antinociceptivo nos animais observadores CNC, que conviveram com coespecífico constrito, quando comparado com os observadores CNC/veículo. No experimento 2, o canabidiol (1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) produziu aumento na porcentagem de entrada nos braços abertos do LCE e redução nos comportamentos de avaliação de risco, e a dose de 30,0 mg/kg produziu aumento no tempo gasto nos braços abertos. Concluímos que o convívio com coespecífico em dor crônica altera o estado emocional do observador e do próprio coespecífico, produzindo hipernocicepção e aumento de ansiedade. O canabidiol reverte estas respostas comportamentais nos observadores CNC, sugerindo a

participação do sistema endocanabinóide na modulação da resposta da empatia pela nocicepção.

Palavras-chave: Empatia, nocicepção, ansiedade, canabidiol, camundongos.

ABSTRACT

Empathy is known as a sharing of emotions between individuals that allows to predict and understand their motivations, actions and feelings, crucial conditions in social life and emotional experience. Research about empathic responses can be performed through animal models, in which observe changes arising from living with a conspecific in chronic pain. These analyzes suggest changes in behavior due to this exposure, and possible pharmacological interventions can be employed to reduce such harmful responses to the subject. This study proposed to analyze, according to the empathy protocol in rodents, if the endocannabinoid neurotransmission contributed on the emission of behaviors related to anxiety and the painful perception, by the systemic administration of cannabidiol (phytocannabinoid). Male albino Swiss mice were housed in pairs for 28 days; on the 14th day, one of them got through a surgical procedure of chronic nerve constriction (NC) or not (SHAM). On the 28th day of cohabited, part of the animals were tested in the elevated plus maze (EPM) to assess anxiety; others were submitted to the abdominal writhing test to assess pain sensitivity. To carry out the experiments, the animals that cohabited with their conspecific CS or CNC received systemic administration of cannabidiol and were exposed to behavioral tests. In the first experiment, the observer mice was administered with subcutaneous (s.c.) injection of vehicle or cannabidiol (0.3, 1.0, 10.0 and 30.0 mg/kg⁻¹), and after 30 minutes was submitted to an intraperitoneal (i.p.) injection of acetic acid (0.6%) and exposed to the writhing test. In the second experiment, the observer animal was submitted to systemic injection of vehicle or cannabidiol (0.3, 1.0, 10.0 and 30.0 mg/kg⁻¹) and exposed to the EPM test to assess anxiety behaviours. The two ways variance analysis (cohabited x treatment) ANOVA, followed by Duncan's post hoc, has revealed that the cohabited with a conspecific in chronic pain induced an increase in behaviors related to nociception and anxiety, demonstrating the influence that cohabited with a pair in chronic pain has on the observer. In the first experiment, cannabidiol at doses of 10,0 and 30,0 mg/kg has produced antinociceptive effect in the animals that lived with an CNC conspecific, what was featured by a reduction in the numbers of writhes, when compared to the CNC/vehicle conspecific. In the second experiment, cannabidiol (1.0, 10.0 and 30.0 mg/kg) produced an increase in the percentage of entry into the open arms of the EPM and reduction in risk assessment behaviors, and the dose of 30.0 mg/kg produce a significant increase in the time spent in open arms, suggesting anxiolytic effect in animals that cohabited with NC conspecifics. The observed results in the present study suggest that cohabited with a conspecific

in chronic pain changes the observer's emotional state; and suggest that cannabidiol may reverse the nociceptive and anxiety effects induced by cohabited with a pair in chronic pain.

Keywords: Empathy. Nociception. Anxiety. Canabidiol. Mice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplificação ativação córtex somatossensorial.....	15
Figura 2 – Exemplificação neurotransmissão endocanabinóide.....	22
Figura 3 – Exemplificação receptores CB1 e CB2.....	24
Figura 4 – Labirinto em cruz elevado (LCE).....	30
Figura 5 – Delineamento experimental experimento 1.....	33
Figura 6 – Delineamento experimental experimento 2.....	34
Figura 7 – Efeitos da injeção sistêmica de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) no teste de contorções abdominais induzidos pelo ácido acético (0,6%, 10 ml/kg) em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.....	37
Figura 8 – Efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos avaliados sobre a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do labirinto.....	38
Figura 9 - Efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos avaliados sobre as entradas nos braços fechados do LCE.....	39
Figura 10 - Efeitos da injeção sistêmica de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) na modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em estado de dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de entradas nos braços abertos do LCE.....	41
Figura 11 - Efeitos da injeção sistêmica de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) na modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos do LCE.....	42
Figura 12 - Efeitos da injeção sistêmica de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) na modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de entradas nos braços fechados do LCE.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Grupos experimentais experimento 1.....	33
Tabela 2 - Grupos experimentais experimento 2.....	35
Tabela 3 - Latência de retirada da pata direita no teste da placa quente.....	36
Tabela 4 - Efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos expostos ao LCE.....	39
Tabela 5 - Efeitos da injeção de veículo ou canabidiol sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

CBD - Canabidiol

CNC – Animal observador do animal com constrição no nervo ciático

CS – Animal observador do animal sem constrição do nervo ciático

EBA – Entrada nos braços abertos

EBF – Entrada nos braços fechados

EPM – Erro padrão da média

GABA – Ácido gama-amino-butírico

i.p. - Intraperitoneal

i.m. - Intramuscular

LCE – Labirinto em cruz elevado

Mg/kg – Miligramas/quilogramas

NC – Animal com constrição do nervo ciático

SAP – Esticar (Stretched attend postures)

SHAM – Grupo sem constrição do nervo ciático

SNC – Sistema nervoso central

TBA – Tempo nos braços abertos

TC – Tempo gasto no centro

SUMÁRIO

EPÍGRAFE	3
RESUMO	4
1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Empatia.....	13
1.2 Empatia e Ansiedade	15
1.3 Empatia e Dor.....	16
1.4 Neurotransmissão endocanabinóide.....	19
2. JUSTIFICATIVA	25
3. OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo geral	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
4. MATERIAL E MÉTODO	27
4.1 Sujeitos	27
4.2 Droga	27
4.3 Constrição Crônica do Nervo Ciático	27
4.4 Teste da placa quente	28
4.5 Labirinto em cruz elevado (LCE)	29
4.6 Teste para avaliação da nocicepção	30
4.7 Análise comportamental	30
4.8 Delineamento Experimental	30
EXPERIMENTO 1.....	31
EXPERIMENTO 2.....	32
4.9 Análise estatística	34
5. RESULTADOS	35
5.1 Placa quente: Mensuração da eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos a contração do nervo ciático.....	36

5.2	Tratamento sistêmico com canabidiol atenua a hipernocicepção em camundongos expostos ao teste de contorção abdominal após convívio com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica	37
5.3	Avaliação dos comportamentos relacionados à ansiedade induzida pela dor crônica em camundongos expostos ao LCE.....	38
5.4	Avaliação dos efeitos do tratamento sistêmico com canabidiol sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com um coespecífico em estado de dor crônica em camundongos expostos ao LCE.....	38
6.	DISCUSSÃO	44
7.	CONCLUSÃO	50
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	ANEXO 1.....	58

1. INTRODUÇÃO

1.1 Empatia

O interesse pelo estudo da empatia decorre da crescente preocupação em compreender as interações sociais no mundo atual (DAVIS, 1980; LANGFORD et al., 2006; PANKSEPP et al., 2011; BARTAL et al., 2011; ZACKI e OCHSNER, 2012). **Sob o aspecto evolutivo, é fundamental que um indivíduo consiga identificar as emoções daqueles que estão ao seu redor, com o intuito de contribuir para a sobrevivência da espécie e favorecer comportamentos apropriados de fuga do predador e reprodução, tal capacidade está associada a um complexo repertório de respostas descrito como empatia (PLUTCHIK, 1992; LANGFORD et al., 2006; HADJISTAVROPOULOS et al., 2011; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015).**

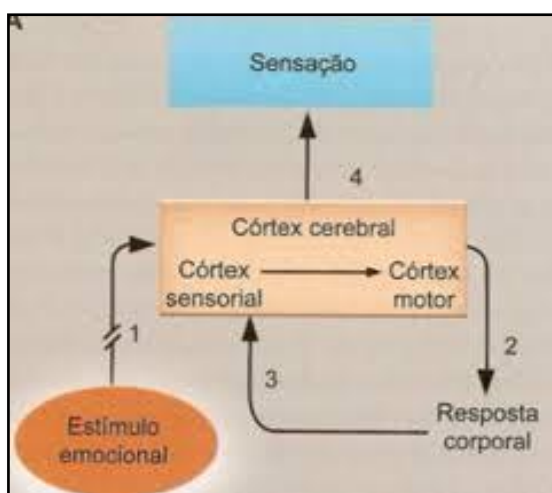
Por essa razão, a empatia se caracteriza como uma condição crucial na vivência emocional e relação social, possibilitando que humanos, bem como outras espécies, sejam capazes de perceber os estados afetivos uns dos outros (GONZALEZ–LIENCRES et al., 2014). De acordo com Singer (2006), esse compartilhamento de emoções uns com os outros permite prever e entender suas motivações, ações e sentimentos. O estado empático se inicia a partir da observação ou imaginação de um **gesto emocional** em um indivíduo, sendo que essa percepção ativa o mesmo substrato neural no indivíduo observador, o que pode gerar uma experiência emocional semelhante, sem a necessidade de contato ou processo associativo/cognitivo (PRESTON, WAAL, 2002; SHAMAY-TSOORY, 2011; BERNHARDT; SINGER, 2012).

Estudos evidenciaram que um indivíduo possui as mesmas áreas ativadas ao observar um determinado estado motor ou emocional de outro indivíduo semelhante (PRESTON, 2006; MOYA–ALBIOL et al., 2010). Estas ações observativas do estado emocional estariam associadas a respostas somáticas e autonômicas efetivas, que seriam características do modelo de empatia de percepção-ação (PRESTON e DE WAAL, 2002; MOYA–ALBIOL et al., 2010). Neste sentido, recentes trabalhos demonstrando quais os possíveis mecanismos encefálicos da empatia sugerem hipóteses sobre o porquê da percepção de si mesmo e dos outros estarem associadas. Através deste modelo, a empatia pode ser descrita como a percepção de um estado emocional no qual o sujeito passa a sentir uma experiência semelhante daquele que observa (PRESTON e DE WALL, 2002; GALLESE et al., 2004).

Nesse contexto, Keysers e colaboradores (2004) registraram a ativação do córtex somatossensorial quando os sujeitos recebiam um estímulo e quando presenciavam o estímulo

feito no outro (Figura 1). Isso indica que quando observado, um estímulo motor emocional ou perceptivo criado por um indivíduo pode ativar os mesmos processos e estruturas neurais no espectador, resultando no desenvolvimento da mesma ação ou emoção (MOYA-ALBIOL et al., 2010). Com isso, pode-se sugerir que **a empatia é consequência de múltiplos processos cerebrais e sensoriais, envolvendo desde estruturas mais basais do tronco encefálico até centros corticais mais desenvolvidos sob a perspectiva evolutiva (LANGFORD et al., 2006), tais como o córtex somatossensorial primário e secundário, a ínsula e o tálamo, e centros subcorticais como substância cinzenta periaquedutal, amígdala e bulbo rostral ventromedial (BORNHOVD et al., 2002; NEUGEBAUER et al., 2009; BUSHNELL et al., 2013).**

Figura 1: Exemplificação ativação córtex somatossensorial



Fonte: nnc.ufmg.br/hp/neuromed/aulas_pdf/emoções (2020)

Presume-se que os seres humanos possuem dominância em processos competitivos em relação a outras espécies devido a sua capacidade interpessoal de ajudar e entender o próximo, em função de serem menos fortes, mais lentos e menores do que muitas outras espécies (ZAKI e OCHSNER, 2012). Em vista disso, a capacidade de compreender o próprio estado emocional, e também o de outros indivíduos, torna-se fundamental para a formação de sociedades, preservação do equilíbrio emocional e de fortes ligações sociais, além de ser valioso para a sobrevivência (OCHSNER et al., 2004; LANGFORD et al, 2006; SHAMAY-TSOORY, 2011).

Da mesma forma que em humanos, animais apresentam comportamentos relacionados aos seus comuns. Estudos recentes têm demonstrado que camundongos e ratos emitem respostas emocionais a partir da observação de seu coespecífico (PRESTON; DE WAAL, 2002; LANGFORD et al., 2006; HADJISTAVROPOULOS et al., 2011; BARTAL et al., 2014;

PELARIN et al., 2013; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; CARMONA et al., 2016; ZANIBONI et al., 2018; CARNEIRO DE OLIVEIRA et al., 2017; TAVARES et al., 2019). Nesse sentido, evidências demonstram que esses animais possuem os pré-requisitos necessários para expressar empatia emocional, pois são seres sociais capazes de aprender com os outros e agir de acordo com os estímulos emocionais de seus coespecíficos (LANGFORD et al., 2006; PANKSEPP et al., 2011).

1.2 Empatia e Ansiedade

Estudos demonstraram que comportamentos relacionados à ansiedade podem ser evidenciados por meio de protocolos de convivência, sendo possível observar que o componente emocional existente entre os animais pode influenciar nestes comportamentos (BARTAL, et al., 2016).

Assim sendo, da mesma maneira que respostas associadas a empatia, modelos animais semelhantes vêm sendo usados para o estudo de reações de defesa como a ansiedade. Tais modelos possuem o objetivo de exibir um contexto ambiental para avaliar respostas aversivas ou desconfortantes ocasionadas pela exposição a um ambiente novo e possivelmente perigoso (CRUZ e LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012) e são firmados nas respostas inatas dos animais quando expostos a situações e/ou estímulos aversivos (FILE et al., 1990; LISTER, 1990; PELLOW e CHOPIN et al., 1985).

Essas respostas podem ser analisadas em roedores quando expostos a ambientes abertos, segundo consta em estudos de Blanchard e Blanchard (1988) e McNaughton e Corr (2004), exemplificando um estado parecido da ansiedade presente nos seres humanos. A exemplo disso, um modelo animal bastante utilizado a mais de 30 anos é o labirinto em cruz elevado (LCE), revelando ser um exemplo de teste aplicado para o estudo de comportamentos associados a ansiedade, possuindo validade para camundongos e ratos (PELLOW et al., 1985; LISTER, 1987).

Nesse sentido, evidências obtidas por nosso grupo de pesquisa indicaram que o convívio com a dor crônica de seu parceiro de caixa-moradia (coespecífico) é capaz de aumentar respostas relacionadas à ansiedade em camundongos expostos ao LCE (BAPTISTA-DE-SOUZA, et al., 2015; CARMONA, et al., 2016; CEZAR et al., 2019). Além disso, outro estudo encontrou aumento de comportamentos relacionados à ansiedade em animais avaliados no LCE após o convívio com um coespecífico inoculado por um tumor (TOMIYOSHI et al., 2009).

A ansiedade é uma emoção fundamental, imprescindível dentro do repertório afetivo humano (STEIN e BOUWER, 1997). As raízes biológicas da ansiedade advêm das reações de defesa dos indivíduos na presença de contextos ameaçadores ou que representem perigo a sobrevivência, à integridade física e ao bem-estar, possibilitando comportamentos adequados diante de estímulos ameaçadores (BLANCHARD; GRIEBEL; BLANCHARD, 2001; GRAEFF e ZANGROSSI, 2002; GRAY e MCNAUGAHTON, 2000). A partir de situações de ameaça incerta ou potencial são desencadeadas as reações de defesa caracterizadas por aumento da frequência respiratória, aceleração do batimento cardíaco, necessidade de micção ou defecação, provocando um estado emocional desconfortante (BRANDÃO, 2004; DELUCIA, 2014). Além dessas mudanças, outras respostas fisiológicas podem auxiliar o indivíduo a enfrentar contextos ameaçadores como aumento da atenção e da esquivia, estimulação de processos mnemônicos, ou ainda, aumento de comportamentos de confronto (HETEM e GRAEFF, 2003; JOELS e PU et al., 2006; LeDOUX et al., 2009).

Ao contrário do medo que surge com base em situações nas quais existe um perigo real e perceptível, a ansiedade manifesta-se em contextos nos quais encontra-se um perigo em potencial ou incerto (BLANCHARD; BLANCHARD; RODGERS, 1990; GRAEFF, 1989). A imaginação de um cenário no qual exista risco futuro acaba desenvolvendo respostas preventivas e de avaliação de risco, assim sendo o estímulo aversivo atenta o organismo para uma provável situação estressora (BRANDÃO, 2004; DELUCIA, 2014).

Sob a ótica evolutiva, a ansiedade possibilita a adaptação dos indivíduos a uma série de estímulos externos e internos que são prejudiciais, tornando-a uma resposta fundamental do organismo. Entretanto, a partir do momento em que o nível de estimulação for incompatível as necessidades reais do contexto enfrentado, essa resposta torna-se patológica, caracterizando-se como uma solução imprópria a um determinado estímulo (BRANDÃO, 2004; DELUCIA, 2014).

1.3 Empatia e Dor

Diversos autores descrevem que a dor é um processo complexo, o que dificulta compreendê-la e defini-la, sobretudo devido a seu caráter subjetivo, multidimensional e emocional (BASBAUM e FIELDS, 1984; PLOGHAUS et al., 2003; MOGIL, 2015). Sob esse aspecto, a dor possui caráter subjetivo e multifatorial, sendo que sua percepção se difere de acordo com cada indivíduo (WALL, et al., 1991). Esse aspecto multifatorial possibilita a

ativação de componentes sensoriais, emocionais, cognitivos e perceptivos na experiência da dor, para possível identificação e localização dos estímulos (BASBAUM e FIELDS, 1984; PLOGHAUS et al, 2003). A identificação do estímulo ou situação nociva acarreta funções de alerta ao indivíduo, e por resultado, a autopreservação, já que estimula respostas defensivas conforme à situação, caracterizando o alto valor adaptativo deste processo (BASBAUM e FIELDS, 1984; MELZACK et al., 1991; PLOGHAUS et al, 2003).

A compreensão e o processamento de um estímulo doloroso são advindos de uma série de elementos perceptivos, sensoriais e afetivo-emocionais (PLOGHAUS et al., 2003), podendo assim, descrever o fenômeno doloroso como uma experiência subjetiva e multidimensional (NEUGEBAUER et al., 2009). Propõe-se que a dor apresente elementos e singularidades ligados a experiência da dor, nos quais podem ser evidenciados os componentes sensorial-discriminativo e afetivo-motivacional. A aptidão em identificar a origem, a escala temporal e a veemência dos danos existentes e iminentes ao tecido estão relacionados ao componente sensorial-discriminativo, enquanto as implicações da vivência da dor em emoções e respostas comportamentais, vide o aumento do modo de vigília e luta ou fuga, no intuito de preservar a sobrevivência, remete-se ao componente afetivo-motivacional (BASBAUM et al., 2009).

Segundo Woolf e Mannion (1999), entre as classes de dor, a dor aguda é descrita como uma reação protetora ao organismo, em função de alarmar o indivíduo sobre uma lesão iminente ou real dos tecidos, resultando na manifestação de respostas reflexas e comportamentais ordenadas, prezando em manter a lesão residual o mais controlado possível. Todavia, no momento em que a dor permanece ou se repete por tempo insistente, passa a não ostentar mais vantagens biológicas, causando sofrimento e sendo classificada como dor crônica, a qual é ocasionada por impulsos de pequena magnitude produzidos por atividade neural anormal (WOOLF e MANNION, 1999; MELZACK et al., 1999; VANDERAH, 2007).

Trabalhos recentes foram feitos no intuito de explicar a profunda relação entre os mecanismos fisiológicos e emocionais encontrados nos diversos tipos de dor, por meio do uso de roedores como modelos para o entendimento das questões multidimensionais da dor, visto que os distúrbios crônicos da dor demonstram não possuir causa óbvia nociva e podem ser seriamente influenciados por questões sociais e ambientais (SMITH et al., 2016).

De acordo com Lovallo, (2015), neurocientistas vem apresentando em seus estudos, no intuito de compreender os aspectos emocionais e comportamentais do controle da dor, que a mesma não depende necessariamente do grau de lesão. Diferente disso, o carácter da dor e a sua intensidade também podem ser instigados por vivências anteriores, memórias relacionadas

a ela, e a habilidade de entender as suas causas e consequências (BLUCK et al., 2013). Com isso, a intensidade de atenção e a ansiedade induzem ao processo da dor, ocasionando maior sensação dolorosa para algum estímulo de mesmo grau de intensidade. (MELZACK e CASEY, 2013), corroborando a ideia de que **o componente afetivo da dor afeta e provê caráter emocional e afetivo a estímulos dolorosos (ROME e ROME, 2000; VOGT, 2005).**

Comportamentos relacionados a empatia igualmente foram investigados a partir de testes nociceptivos. Pesquisas demonstraram que a observação de um coespecífico durante um período álgico pode alterar respostas nociceptivas no observador de acordo com os comportamentos apresentados pelo observado, assim, camundongos se tornam mais sensíveis à dor quando observam um camundongo familiar em sofrimento (LANGFORD et al., 2006; 2011).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa desenvolveu estudos relacionados à percepção dolorosa. As investigações utilizaram um protocolo de convivência de camundongos por 14 dias com um coespecífico submetido a dor crônica que foi induzida pela constrição do nervo ciático. Os resultados revelaram que esse convívio pode aumentar a resposta nociceptiva nos coespecíficos submetidos ao teste de contorções abdominais (PELARIN et al., 2013; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; ZANIBONI et al., 2018; FERRARI e CANTO-DE-SOUZA, 2016; TAVARES et al., 2019).

Investigações a respeito das neurotransmissões que desempenham um papel na modulação da nocicepção e da ansiedade foram estudadas por nosso grupo de pesquisa. Canto-de-Souza et al. (2002), Baptista-de-Souza et al. (2018, 2020) e Tavares et al. (2018) demonstraram o envolvimento da serotonina na modulação da resposta nociceptiva quando o animal está sob influência de emoções, como no confinamento ao braço aberto do labirinto em cruz elevado (LCE) ou no teste da derrota social.

Em relação a empatia pela nocicepção, recentes achados do nosso grupo demonstraram que o convívio com coespecífico em dor crônica promoveu aumento da expressão dos receptores de serotonina 5-HT₃ nos núcleos basolaterais e centrais do complexo amigdalóide, além de demonstrarem que o ondansetron (antagonista dos receptores 5-HT₃) sistêmico e intra-amígdala atenuou a hipernocicepção induzida pelo convívio (FERRARI e CANTO-DE-SOUZA, 2016; TAVARES et al., 2019).

Evidências da neurotransmissão GABAérgica verificaram o papel do midazolam (agonista dos receptores do ácido gama-amino-butírico - GABA_A) na modulação social da nocicepção, e observaram que o convívio com um coespecífico em condição de dor crônica foi

suficiente para produzir sensibilização da nocicepção no animal observador, visto que este efeito foi caracterizado pelo aumento do número de contorções abdominais, induzidas por ácido acético, indicando hipernocicepção e concluíram que o envolvimento da modulação GABAérgica foi evidenciado pela diminuição da nocicepção em camundongos quando tratados sistemicamente com midazolam (2,0 mg/kg, s.c.) (ZANIBONI et al., 2018). O mesmo fármaco midazolam quando administrado intra-córtex insular não reverteu a hipernocicepção, entretanto quando administrado intra-amígdala atenuou a hipernocicepção no mesmo protocolo de empatia utilizado neste estudo (ZANIBONI et al., 2018; TAVARES et al., 2019).

A partir destes achados demonstrando o envolvimento da neurotransmissão serotoninérgica e GABAérgica no protocolo de empatia pela nocicepção, é relevante investigar se outras neurotransmissões envolvidas com a nocicepção podem ser eficazes para o tratamento da dor crônica e também eficazes em observadores de pacientes com dor crônica, que relatam aumento de dor e ansiedade pelo simples fato de observar um familiar em sofrimento ou através do cuidado paliativo (DEL CASTILLO et al., 2008).

1.4 Neurotransmissão endocanabinóide

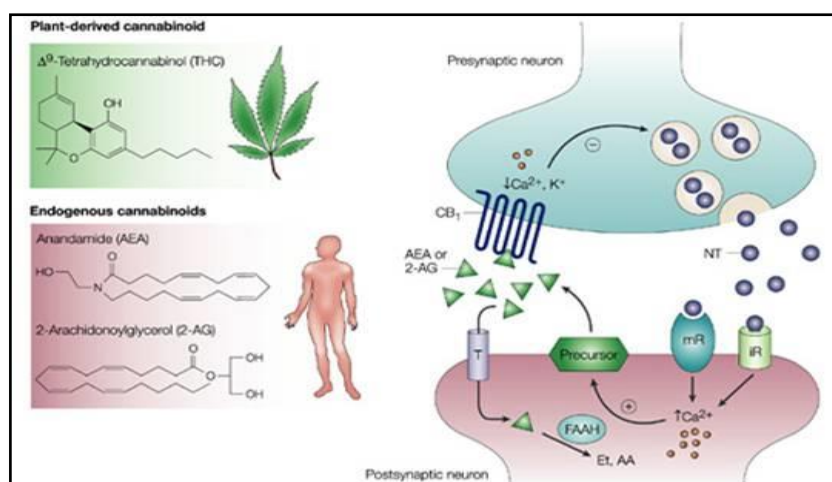
Mediadores centrais envolvidos na neurobiologia das emoções são cada vez mais estudados, refletindo-se em um crescente número de publicações. Entretanto, a descoberta de novos substratos e receptores vem destacando-se nos últimos anos, sendo alvo de trabalhos para a elucidação de suas participações em processos neurobiológicos. Neste sentido, dentre os neurotransmissores que desempenham um papel na modulação da ansiedade e mostram-se relacionados com a mediação nociceptiva e com os comportamentos defensivos, a neurotransmissão endocanabinóide, destaca-se por ser um neurotransmissor abundante no sistema nervoso central (SNC) (MORENA et al., 2016).

Estudos tem demonstrado o envolvimento da neurotransmissão endocanabinóide na modulação de respostas comportamentais e fisiológicas, tais como, movimento, memória e aprendizado, cognição, temperatura corporal, dor entre outros (HILL, MATTHEW e MCEWEN, 2010; MORENA et al., 2016). O termo endocanabinóide refere-se ao conjunto de ligantes endógenos dos receptores ativados pelo Δ^9 -tetrahydrocannabinol o composto responsável pela maioria dos efeitos induzidos pela planta *Cannabis sativa* (conhecida popularmente como maconha) (HOWLETT, et al., 2002). Os primeiros endocanabinóides

identificados foram o araquidonil etanolamida, também conhecido como anandamida (DEVANE et al., 1992), e o 2-araquidonil glicerol (2-AG) (MECHOULAM et al., 1995).

Os endocanabinóides agem como mensageiros retrógrados, ou seja, os endocanabinóides atuam “sob demanda”, modulando a atividade dos neurônios pré-sinápticos após a ativação pós-sináptica. O estímulo começa no neurônio pós-sináptico e a excitação neuronal leva à despolarização e ao influxo de íons cálcio que estimulam várias fosfolipases, iniciando assim a síntese dos endocanabinóides (Figura 2). Esses são liberados na fenda sináptica e se difundem livremente para estimular os receptores CB1 nos terminais pré-sinápticos neuronais.

Figura 2: Neurotransmissão endocanabinóide



Fonte: cienciasecognição.org/neuroemdebate/?p=4365 (2020)

Os endocanabinóides interagem com diversos neurotransmissores e neuromoduladores, como serotonina, dopamina, glutamato e GABA. Vários dos efeitos farmacológicos podem ser explicados tendo como base estas interações. Dessa forma, o sistema canabinóide tem sido associado à neurobiologia de diversas condições neuropsiquiátricas (MOREIRA, AGUIAR e GUIMARÃES, 2006). Alguns estudos demonstraram que os agonistas CB₁ induzem efeitos ansiolíticos, embora também existam resultados de efeitos ansiogênicos, induzidos pela ativação destes receptores. Outra recente proposta é a de que os endocanabinóides destacam-se como mediadores da extinção de memórias condicionadas a eventos aversivos, sendo aplicado para o tratamento de depressão e transtorno de estresse pós-traumático (MARSICANO et al, 2002).

A principal substância psicoativa da Cannabis é o delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC). O canabidiol (CBD) é um outro composto encontrado com abundância, constituindo cerca de 40% das substâncias ativas da planta, esses dois componentes apresentam efeitos farmacológicos diferentes e opostos (SCHIER et al., 2012), sendo que o CBD atua como ansiolítico e o Δ 9-THC como ansiogênico (KARNIOL; CARLINI, 1973).

O CBD foi isolado pela primeira vez em meados de 1940 (ADAMS R; HUNT M; CLARK JH, 1940), entretanto, a sua estrutura química só foi explicada na década de 60 por Raphael Mechoulam e colaboradores (MECHOULAM e HASHISH, 1963). O grupo de pesquisa de Mechoulam, foi por anos, responsável por definir a estrutura e os atributos estereoquímicos dos principais canabinóides presentes da *Cannabis sativa*, inclusive o CBD, incentivando pesquisas envolvendo a ação farmacológica desses compostos.

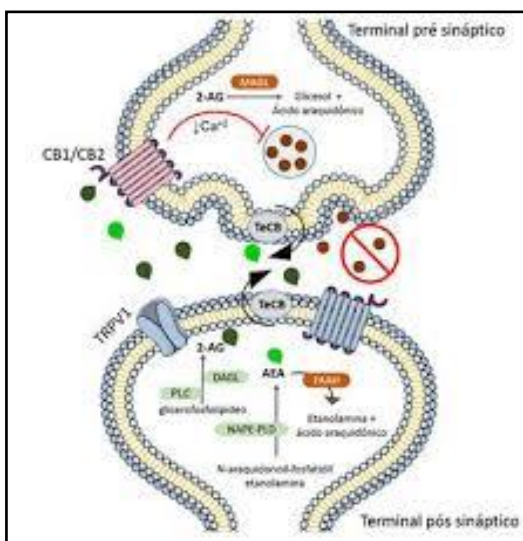
Após investigações a respeito do CBD, observou-se que por ser o principal componente não psicoativo encontrado na Cannabis, o mesmo possui potencial de minimizar alguns efeitos do Δ 9-THC, como intoxicação, sedação e taquicardia (PEDRAZZI et al., 2014), tornando-se alvo de estudos em função de sua ação ansiolítica. Os efeitos ansiolíticos do CBD podem não ser mediados por receptores GABAérgicos, mas sim pela interação com receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} (CRIPPA, ZUARDI, HALLAK, 2010), atuando como agonistas nestes receptores (GOMES et al., 2012).

Durante a década de 90, a descoberta dos receptores CB₁, encontrados no sistema nervoso central (MATSUDA et al., 1990), e do CB₂ (MUNRO et al., 1993), a princípio localizados fora do SNC ocasionou um avanço significativo no entendimento dos efeitos da *Cannabis sativa* (Figura 3). A evidenciação destes receptores culminou em novas questões, como por exemplo se outros canabinóides não psicotrópicos, tendo como exemplo o canabidiol, um fitocannabinóide poderia se ligar a receptores específicos.

Os receptores CB₁ encontram-se majoritariamente na região pré-sináptica no SNC, podendo ser detectados em larga escala no bulbo olfatório, cerebelo e hipocampo. Entretanto, estão pouco expressos no tálamo e em órgãos e tecidos periféricos (RUSSO et al., 2005). Foi demonstrado que os receptores CB₁ localizam-se em regiões relacionadas à aprendizagem, ao controle motor, memória, funções cognitivas e respostas emocionais, sendo ainda os responsáveis por boa parte dos efeitos psicotrópicos dos canabinóides (GUINDON e HOHMANN, 2009). Já os receptores CB₂, são encontrados especialmente no sistema imunológico, entretanto, sua presença é observada em áreas particulares do SNC como, por exemplo, na micróglia e em regiões pós-sinápticas (SAGAR et al., 2009). Estudos atuais

demonstram que os receptores CB₂ podem ser expressos inclusive em células neurais associadas com a percepção/modulação da dor (ELMES et al., 2004). Nos modelos animais para avaliação de dor, vide a ligação do nervo espinal e lesão por constrição crônica do nervo ciático, foi demonstrado que o agonismo seletivo de receptores CB₂ exerceu papel antinociceptivo (NACKLEY et al., 2003).

Figura 3: Receptores CB1 e CB2



Fonte: VITTALLE – Revista de Ciências da Saúde, 29(1), 54-63 (2020)

Estudos prévios envolvendo o uso do canabidiol mostraram que a administração oral de CBD em pessoas saudáveis diminuiu os efeitos ansiogênicos do Δ^9 -THC e não demonstrou envolver nenhuma interação farmacocinética (ZUARDI et al, 1982). Já em estudos com animais, o CBD obteve efeitos similares a outras drogas ansiolíticas em diferentes aspectos, incluindo na resposta emocional condicionada, no teste de conflito de Vogel e no teste do LCE (ZUARDI, 2008). Em estudos com humanos, os efeitos ansiolíticos do CBD foram elucidados em estudos envolvendo o teste de simulação de falar em público (ZUARDI et al., 1993). Através do uso de neuroimagens observou-se em voluntários que o CBD possui propriedades ansiolíticas e que estes efeitos podem ser associados por sua ação em áreas límbicas do cérebro (FUSAR-POLI et al, 2009a; CRIPPA et al, 2004), nas quais são caracterizadas por estruturas relacionadas às emoções (COSENZA, 1990), tais como o hipotálamo, a amígdala, os núcleos da base, área pré-frontal, cerebelo e septo (PERGHER et al, 2006).

Apesar das evidências demonstrando o envolvimento do CBD como ansiolítico, pode-se dizer que esta neurotransmissão ainda é complexa. Muitos aspectos ainda precisam ser

elucidados, pois todos os estudos mencionados acima ressaltam o seu papel ansiolítico no sujeito que está com o comportamento do tipo ansioso e não no sujeito que está observando ou convivendo com o sujeito com aumento da ansiedade ou então com dor crônica.

Em relação aos possíveis mecanismos de ação, cita-se que o CBD atua no bloqueio da recaptação ou hidrólise enzimática da anandamida (agonista endógeno de endocanabinóide), facilitando a sinalização dos endocanabinóides (MECHOULAM, HANUS, 2002). Além disso, o CBD também demonstra poder aumentar a sinalização feita pela adenosina em função da inibição da sua recaptação (CARRIER et al., 2006).

Em relação à participação da neurotransmissão endocanabinóide na modulação nociceptiva, sugere-se que diferentes sistemas defensivos estão envolvidos com esta neurotransmissão. Sendo assim, o controle da dor, tem fundamental importância em termos de relevância fisiológica e constitui o alvo de abordagens terapêuticas relevantes (FIELDS, 2004). Pesquisas em modelos animais sugerem que os canabinóides produzem efeitos analgésicos em sítio periférico, bem como espinal e supra-espinal (DI MARZO, 1998; PIOMELLI, 2005).

Estudos comportamentais pré-clínicos usando diferentes tipos de estímulos nocivos, como térmicos, mecânicos e químicos, demonstraram que, efetivamente os endocanabinóides induziram a antinocicepção (WALKER, 2005, WALKER, HOHMANN; 2005). A potência e eficácia dos canabinóides em produzir antinocicepção é comparada à da morfina (BLOOM et al., 1977); entretanto em altas doses podem induzir profundos déficits motores, incluindo imobilidade cataléptica (MARTIN et al., 1991). As limitações dessas abordagens incluem a incapacidade de localizar os sítios de ação e a incapacidade de identificar quais endocanabinóides estão envolvidos na modulação da dor (HOHMANN e SUPLITA, 2006).

Deste modo, apesar das evidências da presença de mecanismos endocanabinóides e de sua ativação durante situações aversivas, em uma ampla busca na literatura nós não encontramos nenhum estudo que tenha investigado a participação da neurotransmissão endocanabinóide nas respostas fisiológicas desencadeadas pela convivência com o coespecífico em quadro de dor crônica. Neste sentido, diante das evidências descritas acima, é possível que o fitocanabinóide canabidiol, através da modulação do sistema endocanabinóide possam reverter a hipernocicepção e os comportamentos do tipo ansiogênicos desencadeados pelo convívio com um parceiro em dor crônica. O modelo animal utilizado representa a influência do componente emocional presente na nocicepção, semelhante ao que pode ser observado em pacientes com dor crônica. Assim nossa hipótese é que o sistema endocanabinóide represente uma estratégia eficaz para atenuar a hipernocicepção e o aumento da ansiedade induzida pelo

convívio com um coespecífico sujeito à constrição do nervo ciático, um modelo de dor neuropática.

2. JUSTIFICATIVA

Os estudos da linha de pesquisa sobre a empatia podem contribuir para o entendimento de possíveis alterações presentes em cuidadores de pacientes com doenças crônicas, e serem utilizados como indicativos de estratégias farmacológicas que poderão vir a ser utilizadas no alívio destes sintomas. Com isso, após os fundamentos mencionados acima, a atual proposta enfoca um componente novo nos estudos da empatia, que consiste na investigação da participação da neurotransmissão endocanabinóide na modulação da empatia para dor.

Com isso, o número de indivíduos que apresentam dores crônicas é classificado como alto no mundo e a efetividade dos tratamentos ainda é baixa (JORDAN; MOGIL, 2006; BUSHNELL et al., 2013). Além disso, evidências demonstram que estes indivíduos sofrem mais pelas consequências relacionadas à emoção e cognição do que pela dor em si (PLOGHAUS et al., 2003). A respeito da empatia nenhum estudo investigou o efeito da administração de canabidiol em camundongos submetidos ao convívio com coespecífico em dor crônica.

Diante disso, este trabalho tem grande relevância para o entendimento da vulnerabilidade de indivíduos que convivem com pessoas expostas a situações de dor.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar se o sistema endocanabinóide modula comportamentos relacionados à nocicepção e a ansiedade, induzidos pelo modelo de empatia pela nocicepção em camundongos.

3.2 Objetivos específicos

- Experimento 1. Avaliar o efeito da administração sistêmica de canabidiol nas doses de 0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/Kg (s.c.) na modulação da nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.
- Experimento 2. Avaliar o efeito da administração sistêmica de canabidiol nas doses de 0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/Kg (s.c.) na modulação da ansiedade induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Sujeitos

Foram utilizados 352 camundongos machos (30-50g), da linhagem suíço-albino com três semanas de idade, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. Estes animais foram alojados em duplas em caixas viveiro (30 x 19 x 13cm, 2 animais por caixa), mantidos em condições controladas de temperatura (24 ± 1 °C), e luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, luzes acesas às 7:00 horas e apagadas às 19:00 horas), com livre acesso ao alimento e água, exceto durante as breves sessões de teste. Todos os procedimentos envolvendo o uso de animais neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar (CEUA n° 3305221018).

4.2 Droga

Canabidiol (CBD) 2-[(1R,6R)-6-isopropenyl-3-methylcyclohex-2-en-1-yl]-5-pentylbenzene-1,3-diol, PM: 314,464 g/mol (THC Pharm, Alemanha), nas doses de 0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/Kg diluído em solução veículo (98% salina e 2% Tween 80) sistêmico.

As doses utilizadas foram selecionadas de acordo com estudos prévios (GENARO et al., 2017; ZANELATI et al., 2010; DEIANA et al., 2012).

4.3 Constrição Crônica do Nervo Ciático

Para reproduzir o modelo de dor crônica, foi utilizado o método proposto por Bennet e Xie (1998), e posteriormente modificado para uso com camundongos (SOMMER; SCHAFERS, 1998). Após anestesia com cetamina e xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg, i.p., respectivamente), os animais foram submetidos ao procedimento que consiste na secção da fáscia entre o glúteo e bíceps femural e a exposição do nervo ciático direito próximo a sua trifurcação. O tecido ao redor do nervo foi cuidadosamente cortado a uma distância de aproximadamente 8 mm e, posteriormente, a compressão do nervo foi realizada por meio de três ligaduras com fio estéril, não inflamatório e não absorvível, mononylon 6.0 (constrição do nervo ciático, NC). O outro grupo foi submetido a um procedimento similar, não havendo a constrição do nervo (Sham).

Ao final da cirurgia, os animais receberam injeções do antibiótico ceftriaxona (4 mg/kg, i.m.) (STEPANOVIC-PETROVIC et al., 2014), para evitar possíveis infecções decorrentes da cirurgia. Os comportamentos relacionados à nocicepção aumentam ao longo dos dias e o pico é atingido no 14º dia após a constrição (NITANDA et al, 2005). Como parâmetro de medida de nocicepção crônica, foi utilizado o teste da placa quente, proposto por Bennet e Xie (1998).

Os animais que são submetidos a constrição crônica do nervo ciático demonstram sinais comportamentais interpretados como dor espontânea, incluindo lambar e mancar da pata traseira ipsilateral, além de evitar colocar peso no lado lesionado. Estudos demonstram que dois dias após a cirurgia de constrição, os camundongos mostram sinais de alodinia mecânica, térmica e hiperalgesia térmica na pata lesionada (BENNETT e XIE, 1988).

4.4 Teste da placa quente

O teste da placa quente (Hot Plate) avaliou o tempo em que os animais ficaram sobre uma superfície metálica aquecida (52°C) (LIU et al., 2002), até reagirem ao estímulo térmico advindo da placa, demonstrando comportamento de levantar ou lambar as patas.

Este teste foi utilizado para medir a efetividade da cirurgia de constrição do nervo ciático. A latência da retirada da pata traseira direita após a submissão a chapa com calor de 52°C foi medida (LIU et al., 2002). Para evitar lesões nas patas, o tempo máximo em que o animal permaneceu submetido a placa foi de 30 segundos (KURAISHI et al., 1983).

Figura 4: Placa quente



Fonte: O próprio autor (2020)

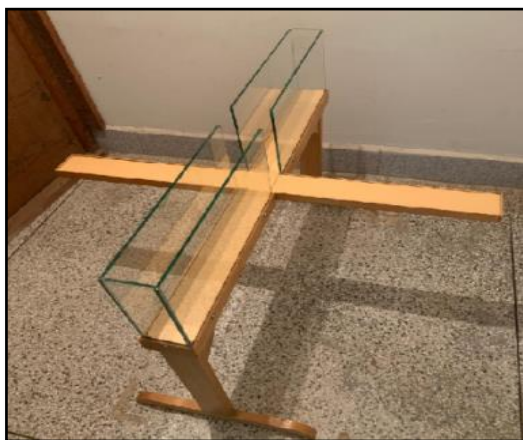
4.5 Labirinto em cruz elevado (LCE)

O aparato experimental consiste em dois braços abertos (30 x 5 x 0,25 cm) unidos ortogonalmente a dois braços fechados com paredes transparentes (30 x 5 x 15 cm), elevados a 38,5 cm do solo por um suporte de madeira (LISTER, 1987), (Figura 4). Os experimentos foram gravados através de uma câmera conectada a um computador localizado na sala adjacente a sala de testes, e foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz. A análise dos parâmetros comportamentais foi realizada diante das observações das gravações, acompanhada do uso de um software de análise etológica X-Plo-Rat 3.0 (GARCIA et al., 2005).

Para análise comportamental foram avaliadas: a frequência total de entradas nos braços abertos e fechados (a entrada em um braço é definida pelo cruzamento com todas as quatro patas para dentro do braço), a porcentagem de entrada nos braços abertos $[(\text{aberto}/\text{total}) \times 100]$ e de tempo gasto no braço aberto; os tempos de permanência nos braços fechados e na parte central do labirinto $[(\text{tempo}/300) \times 100]$ (LISTER, 1987).

Outros parâmetros comportamentais foram avaliados: as frequências de mergulhar (movimento exploratório com a cabeça/ombros para fora dos braços abertos) e esticar (stretched attend - SAP: postura exploratória caracterizada pelo corpo do animal estendido para frente, depois retrai à posição original sem locomoção efetiva, resposta associada à avaliação de risco). Os braços fechados e o centro são áreas consideradas protegidas e braços abertos áreas desprotegidas do labirinto (CRUZ et al., 1994; RODGERS e JOHNSON, 1995).

Figura 4: Labirinto em Cruz Elevado (LCE)



Fonte: O próprio autor (2020)

4.6 Teste para avaliação da nocicepção

O teste de contorções abdominais foi utilizado para avaliação da nocicepção. Conforme descrito por Vander Wende e Margolin (1956), foram observadas “severas contrações da musculatura abdominal, acompanhada por contorções que se estendem por todo o corpo e para os membros traseiros”. As contorções abdominais foram induzidas por injeção intraperitoneal (i.p.) de ácido acético a 0,6% (10 ml/kg) (VANDER WENDE; MARGOLIN, 1956; NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; LANGFORD et al., 2006).

Após a injeção do ácido, o animal permaneceu na caixa com o coespecífico até o início das contorções abdominais (máximo 5 minutos), e em seguida foi transportado para a sala de testes na caixa com o parceiro com dor crônica ou sham. O teste de contorções foi filmado por uma câmera acoplada a um computador durante 5 minutos, sendo que os sujeitos que não contorceram no período de 5 minutos antes do teste foram excluídos do estudo.

4.7 Análise comportamental

Todos os experimentos foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz e foram gravados por meio de um sistema de câmera conectada a um computador localizado na sala adjacente a sala de testes. A avaliação dos parâmetros comportamentais foi realizada a partir da observação das gravações, acompanhada do uso de um software de análise etológica X-Plo-Rat 3.0 (GARCIA et al., 2005).

4.8 Procedimentos

Os animais foram alojados em pares nas caixas-viveiro 21 dias pós-nascimento (fase de desmame), formando dois grupos:

Constricção Nervo Ciático (NC) - Após 14 dias de convivência, um dos animais de cada par foi submetido à constricção do nervo ciático, conforme procedimento descrito no item 4.3.

Sham - Após 14 dias de convivência, um dos animais de cada par foi submetido a procedimento cirúrgico semelhante ao de constricção do nervo ciático, apenas com exposição do nervo, sem constricção do mesmo.

Os grupos formados acima foram submetidos aos seguintes experimentos:

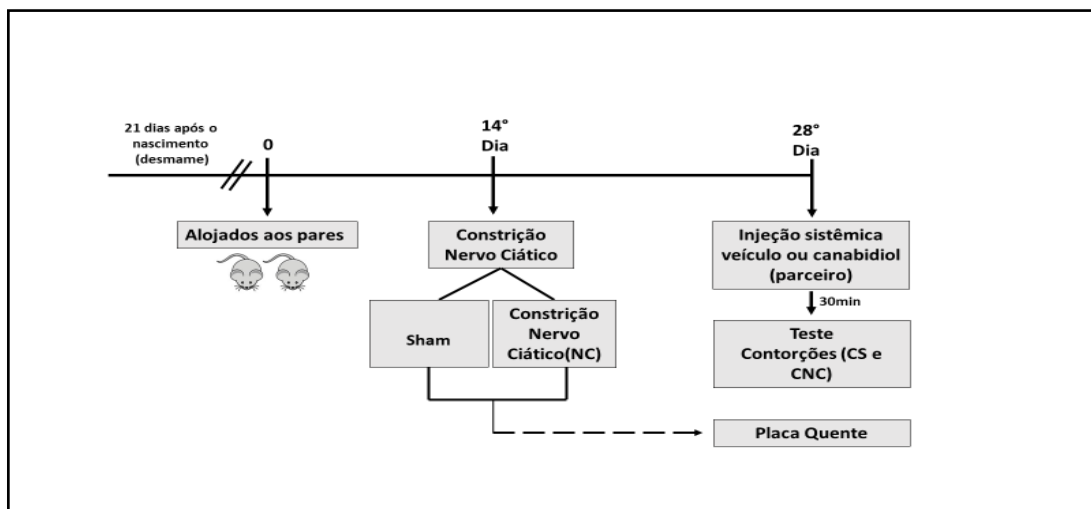
Experimento 1. Avaliar o efeito da administração sistêmica de canabidiol nas doses de 0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/Kg (s.c.) na modulação da nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

Aos 21 dias pós-nascimento (desmame) os animais foram alojados em pares nas caixas viveiro e mantidos no biotério de experimentação do laboratório de psicologia da aprendizagem (LPA). No 14º dia, um dos animais da dupla foi submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (NC) ou não (Sham) e retornou à caixa moradia. No 28º dia de convívio, os observadores, ou seja, os animais que conviveram com camundongos com constrição no nervo ciático (CNC) ou sem constrição do nervo (CS) receberam administração de veículo ou canabidiol (CBD: 0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/kg, s.c. e após 30 minutos, receberam uma injeção de ácido acético 0,6% (i.p., estímulo nociceptivo), e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção por 5 minutos. O teste de avaliação das contorções abdominais foi realizado nos camundongos CS ou CNC, na mesma caixa de convívio com o coespecífico em dor crônica (NC) ou não (Sham), até o início das contorções e a sessão de teste foi filmada por uma câmera acoplada a um computador instalado na sala adjacente a sala de teste.

Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Abaixo, na figura 5, observamos o delineamento experimental do experimento 1 e na tabela 1 observamos os grupos experimentais formados.

Figura 5: Delineamento do experimento 1



Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela 1: Grupos formados no experimento 1

Tratamento (mg/kg, s.c.)	Constrição nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos (NC)	CS	CNC
Veículo	n= 09	n= 08	n= 09	n= 08
Canabidiol 0,3	n= 08	n= 10	n= 08	n= 10
Canabidiol 1,0	n= 09	n= 08	n= 09	n= 08
Canabidiol 10	n= 09	n= 09	n= 09	n= 09
Canabidiol 30	n= 08	n= 09	n= 08	n= 09
TOTAL:	n= 43	n= 44	n= 43	n= 44

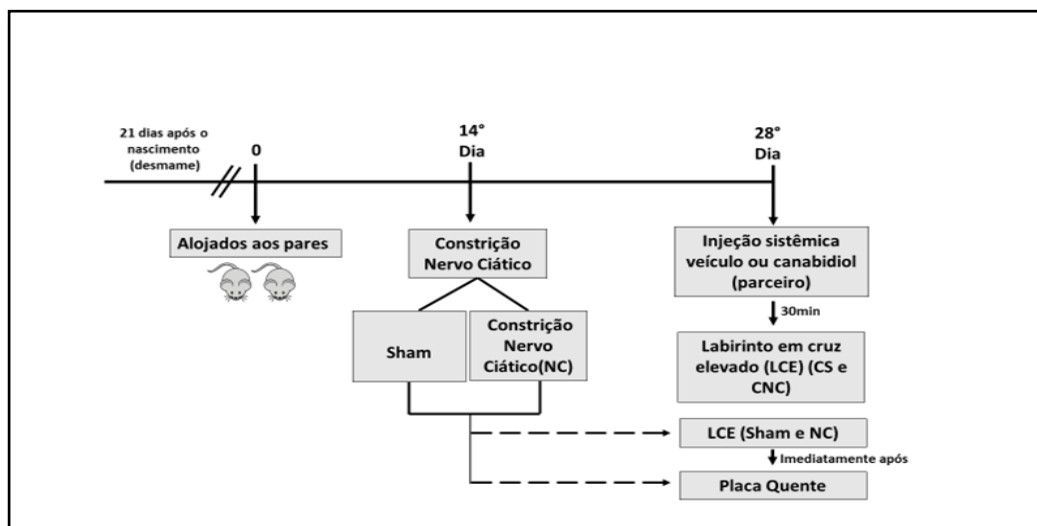
Os números representam o total de camundongos que foram utilizados por tratamento. NC: camundongos com constrição no nervo ciático; Sham: camundongo sem constrição do nervo ciático; CNC: observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS: observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

Experimento 2. Avaliar o efeito da administração sistêmica de canabidiol nas doses de 0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/Kg (s.c.) na modulação da ansiedade induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O protocolo do experimento 2 foi semelhante ao experimento 1, exceto que no 28º dia de convívio, os observadores (CNC), ou seja, os animais que conviveram com camundongos com constrição no nervo ciático (NC), ou sem constrição do nervo (CS) receberam administração de veículo ou CBD (0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/kg, s.c.) e após 30 minutos foram submetidos individualmente ao LCE para avaliação dos índices de ansiedade durante 5

minutos. Ao final do teste de exposição ao labirinto dos animais CS e CNC, os animais Sham e NC, foram expostos ao LCE e na sequência foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico (Figura 6).

Figura 6: Delineamento do experimento 2



Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela 2: Grupos formados no experimento 2

Tratamento (mg/kg, s.c.)	Construção nervo ciático		Labirinto em cruz elevado (observadores)	
	Sham	Constritos (NC)	CS	CNC
Veículo	n= 09	n= 09	n= 09	n= 09
Canabidiol 0,3	n= 08	n= 07	n= 08	n= 07
Canabidiol 1,0	n= 11	n= 10	n= 11	n= 10
Canabidiol 10	n= 09	n= 08	n= 09	n= 08
Canabidiol 30	n= 09	n= 09	n= 09	n= 09
TOTAL:	n= 46	n= 43	n= 46	n= 43

Os números representam o total de camundongos que foram utilizados por tratamento. Os dados representam a média \pm erro padrão da média (M+EPM) (n= 7-11/grupo). NC: camundongos com constrição no nervo ciático; Sham: camundongo sem constrição do nervo ciático; CNC: observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS: observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

4.9 Análise estatística

Os resultados dos experimentos 1 e 2 foram analisados pela ANOVA de duas vias (convívio x tratamento). Para casos de significância, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Duncan. Os resultados dos grupos Sham e NC submetidos aos testes do labirinto e placa quente foram analisados pelo teste *t* de Student.

Os valores de P menores ou iguais a 0,05 foram considerados como significativos.

5. RESULTADOS

5.1 Placa quente: Mensuração da eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos a constrição do nervo ciático

Para avaliar a eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos à constrição do nervo ciático realizamos o teste da placa quente. Para este procedimento foram utilizados no experimento 1 (43 animais sham e 44 animais constritos), totalizando 87 animais, e para o experimento 2 (46 animais sham e 43 animais constritos), totalizando 89 animais. O teste t de Student revelou diminuição da latência de retirada da pata traseira direita ao estímulo térmico nos animais constritos em cada experimento: Experimento 1 [$t_{(85)} = 10,75$, $p < 0,05$], Experimento 2 [$t_{(87)} = 12,90$, $p < 0,05$], comparados aos animais sham, confirmando a hipernocicepção induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático (Tabela 3).

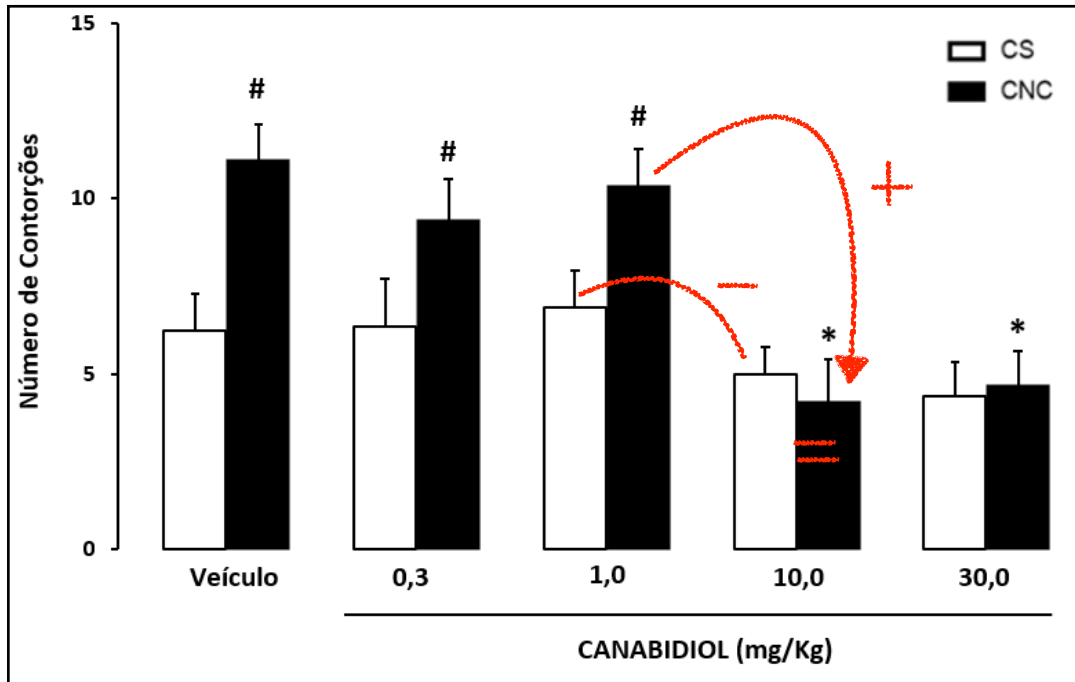
Tabela 3: Latência de retirada da pata traseira direita nos animais Sham e NC avaliados no teste de placa quente no 28º dia. Os dados representam a média \pm erro padrão da média (M \pm EPM) (n= 7-11/grupo). * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (Sham). NC= camundongos com constrição no nervo ciático.

Grupos experimentais	Latência de retirada da pata (s)	
	Sham	NC
Experimento 1	18,07 \pm 0,93	8,98 \pm 0,70*
Experimento 2	19,52 \pm 0,58	10,39 \pm 0,40*

5.2 Experimento 1: Efeito do tratamento sistêmico com canabidiol (0,3, 1,0, 10 e 30 mg/Kg, s.c.) na modulação da nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de dois fatores (convívio x tratamento) mostrou efeitos significativos para o fator convívio [$F_{1,77} = 11,45$; $p < 0,05$], tratamento [$F_{4,77} = 8,62$; $p < 0,05$] e para interação entre convívio e tratamento [$F_{4,77} = 2,66$; $p < 0,05$]. O teste de Duncan revelou aumento no número de contorções nos animais que conviveram com os coespecíficos CNC (CNC-veículo), quando comparados com animais que conviveram com os coespecíficos sham (Sham-veículo). O teste post hoc também revelou que as doses mais altas de canabidiol (10 e 30 mg) diminuiram o número de contorções em animais que conviveram com o coespecífico constrito em comparação com o respectivo grupo CNC/veículo (Figura 7).

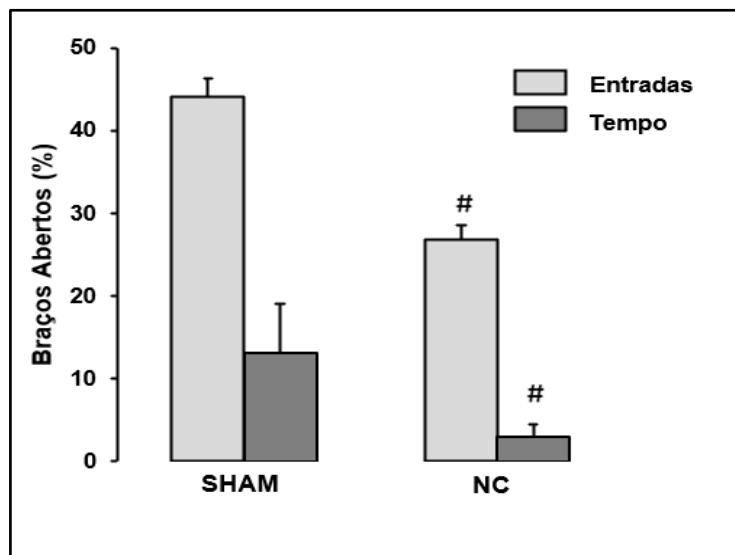
Figura 7: Efeitos da injeção sistêmica de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10 e 30 mg/Kg, s.c) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (NC) ou não (Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n=7-11). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. *P<0,05 comparado ao CNC/veículo. CNC: observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS: observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.



5.3 Experimento 2: Avaliação dos comportamentos relacionados à ansiedade induzida pela dor crônica em camundongos constritos ou Sham expostos ao LCE.

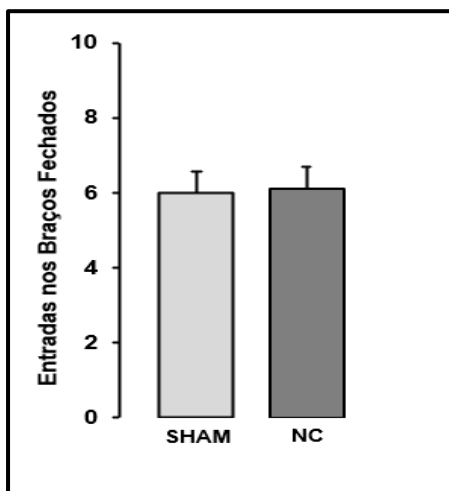
A Figura 8 demonstra o efeito da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos expostos ao LCE. O Teste t de Student mostrou diminuição da %EBA ($t_{18} = 4,96$; $p < 0,05$) e %TBA ($t_{18} = 9,87$; $p < 0,05$), nos animais constritos comparados ao animais Sham.

Figura 8. Efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos avaliados sobre a porcentagem de entradas e tempo gasto do LCE. As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) (n= 10). #P<0,05 comparado ao respectivo Sham. NC: camundongo com constrição do nervo ciático; Sham: camundongo sem constrição do nervo ciático.



A Figura 9 demonstra o efeito da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos expostos ao LCE. O Teste t de Student revelou ausência de efeito significativo para as entradas nos braços fechados (EBF) ($t_{18} = -0,12$; $p > 0,05$) nos animais CNC comparados ao grupo Sham, demonstrando que a dor crônica não alterou a locomoção nos animais constritos.

Figura 9: Efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos avaliados sobre as entradas nos braços fechados do LCE. As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) (n= 10). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. #P<0,05 comparado ao CNC/salina. NC: camundongo com constrição do nervo ciático; Sham: camundongo sem constrição do nervo ciático.



A Tabela 04 mostra os efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos expostos ao LCE. O teste t demonstrou aumento significativo para a porcentagem de tempo gasto no centro ($t_{18} = -3,60$; $p < 0,05$), porcentagem de mergulhos protegidos ($t_{18} = -7,96$; $p < 0,05$), total de SAP ($t_{18} = -6,41$; $p < 0,05$) e porcentagem de SAP protegido ($t_{18} = -7,36$; $p < 0,05$); e ausência de efeito significativo para o total de mergulhos ($t_{18} = -1,44$; $p > 0,05$) nos animais constritos comparados aos animais Sham.

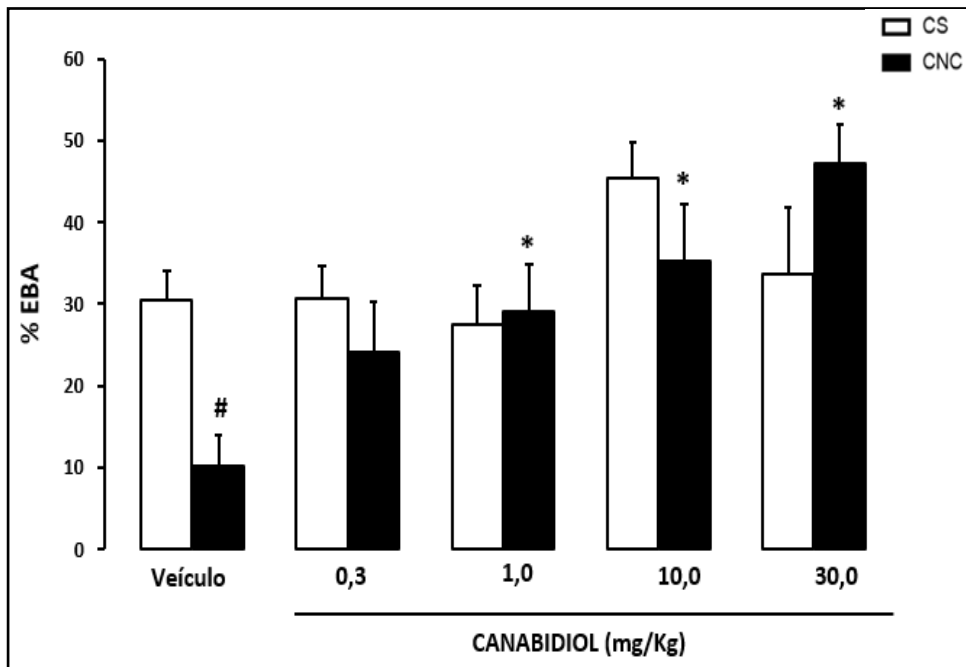
Tabela 04: Efeitos da dor crônica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático em camundongos expostos ao LCE. Os dados representam a média \pm erro padrão da média (M+EPM) (n= 10). # $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (Sham). NC= camundongos com constrição no nervo ciático.

Comportamento	Condição	
	SHAM	NC
Tempo no centro (%)	47,90 \pm 3,28	64,10 \pm 3,07 [#]
Total mergulhos	18,30 \pm 1,85	22,50 \pm 2,23
Mergulho protegido (%)	52,66 \pm 5,15	96,39 \pm 1,89 [#]
Total SAP	38,70 \pm 1,78	54,30 \pm 1,65 [#]
SAP protegido (%)	72,98 \pm 3,07	97,46 \pm 1,28 [#]

5.4 Experimento 2. Efeito do tratamento com veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10 e 30 mg/Kg, s.c.) na modulação da ansiedade em camundongos, induzida após o convívio com o coespecífico submetido à condição de dor crônica.

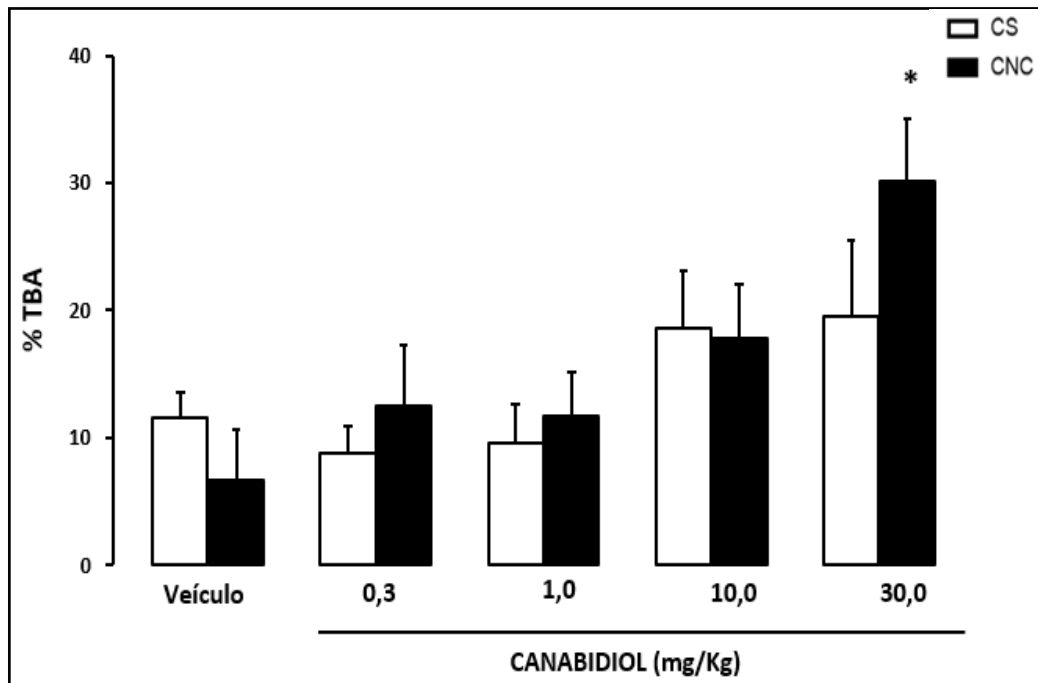
A Figura 10 mostra os efeitos do veículo e do canabidiol (0,3, 1,0, 10 e 30 mg/Kg) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em estado de dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de entradas nos braços abertos (%EBA) do LCE. A ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou para porcentagem de entrada nos braços abertos (%EBA) efeito significativo para o tratamento ($F_{4,79} = 5,20$; $p < 0,05$) e para interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 2,80$; $p < 0,05$), e ausência de efeitos significativos para o convívio ($F_{1,79} = 1,61$; $p > 0,05$). Análises posteriores feitas pelo teste de Duncan revelaram que os animais que conviveram com os parceiros NC e receberam veículo apresentaram diminuição na %EBA quando comparados ao respectivo CS. O teste post hoc também revelou que as doses de 1,0, 10 e 30 mg/kg de canabidiol aumentaram a %EBA nos animais que conviveram com o coespecífico CNC quando comparados ao respectivo CS/veículo. Nenhuma das doses de canabidiol interferiu com a porcentagem de entrada nos braços abertos do LCE nos animais que conviveram com coespecíficos Sham (Figura 10).

Figura 10: Efeito do tratamento com veículo e canabidiol (0,3, 1,0, 10 e 30 mg/Kg, s.c.) na modulação da ansiedade após o convívio com o coespecífico submetido à condição de dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de entradas nos braços abertos (%EBA) do LCE. As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média \pm EPM (n= 7-11). #p<0,05 comparado ao respectivo CS, *p<0,05 comparado com respectivo CNC/veículo.



A Figura 11 mostra os efeitos do veículo e canabidiol (0,3, 1,0, 10 ou 30 mg/Kg) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em estado de dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (%TBA) do LCE. A ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou para a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos efeito significativo para o tratamento ($F_{4,79} = 5,46$; $p < 0,05$), e ausência de efeitos significativos para o convívio ($F_{1,79} = 0,69$; $p > 0,05$) e para a interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 1,01$; $p > 0,05$). O teste de Duncan foi realizado mesmo com a ausência de interação entre convívio e tratamento, para verificar as principais diferenças entre os grupos e revelou que a dose de 30,0 mg/kg foi a única que aumentou a %TBA nos animais que conviveram com coespecífico NC quando comparados ao respectivo CS/veículo (Figura 11).

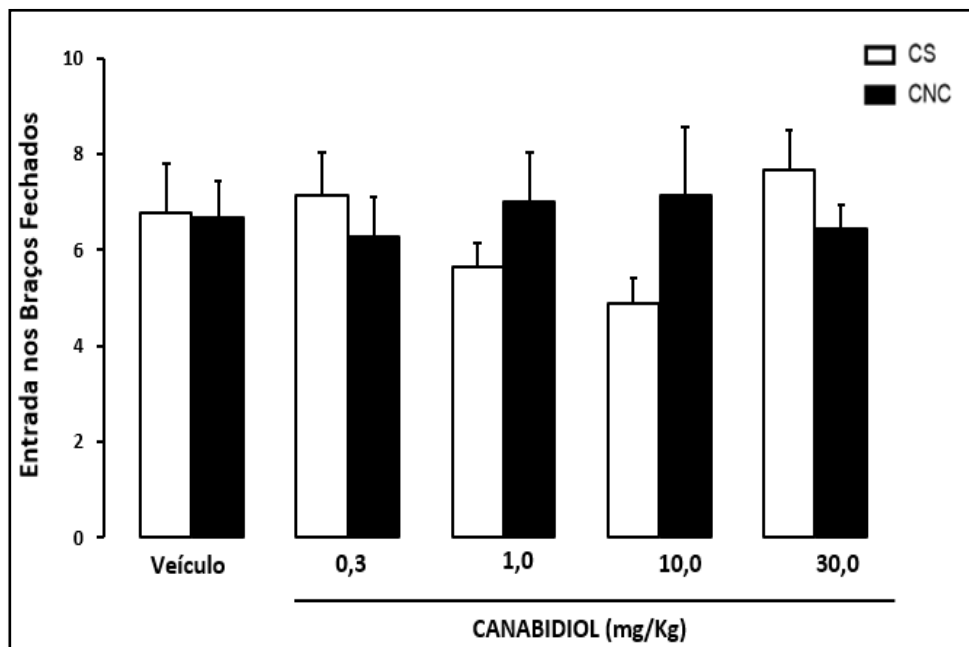
Figura 11: Efeito do tratamento com veículo e canabidiol (0,3, 1,0, 10 e 30 mg/Kg, s.c.) na modulação da ansiedade após o convívio com o coespecífico submetido à condição de dor crônica em camundongos avaliados sobre a porcentagem de tempo gasto nos abertos (%TBA) do LCE. As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média \pm EPM (n= 7-11). #p<0,05 comparado ao respectivo CS, *p<0,05 comparado com respectivo CNC-veículo.



A Figura 12 mostra os efeitos do veículo e canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 ou 30,0) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos avaliados sobre a entrada nos braços fechados (EBF) do LCE.

A ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) revelou que para as entradas nos braços fechados, medida de atividade locomotora, não ocorreu efeito significativo para o convívio ($F_{1,79} = 0,27$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{4,79} = 0,44$; $p > 0,05$) e interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 1,43$; $p > 0,05$).

Figura 12: Efeitos do tratamento com veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) na modulação da ansiedade induzida após o convívio com o coespecífico submetido à dor crônica em camundongos avaliados sobre a entrada nos braços fechados do LCE. As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média \pm EPM (n= 7-11). #p<0,05 comparado ao respectivo CS, *p<0,05 comparado com respectivo CNC-veículo.



A Tabela 5 mostra os efeitos da injeção de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 ou 30,0 mg/kg), sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE.

A ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou efeito significativo para as medidas espaço temporais [% mergulhos protegidos: tratamento ($F_{4,79} = 4,23$; $p < 0,05$); Total SAP: convívio ($F_{1,79} = 4,39$; $p < 0,05$) e interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 2,60$; $p < 0,05$); % SAP protegido: tratamento ($F_{4,79} = 3,18$; $p < 0,05$)]. No entanto, a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeitos significativos para as medidas espaço temporais [% tempo no centro: convívio ($F_{1,79} = 0,02$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{4,79} = 2,34$; $p > 0,05$) e interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 1,21$; $p > 0,05$); total de mergulhos: convívio ($F_{1,79} = 1,70$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{4,79} = 0,34$; $p > 0,05$) e interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 0,78$; $p > 0,05$); % mergulhos protegidos: convívio ($F_{1,79} = 0,14$; $p > 0,05$) e interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 1,00$; $p > 0,05$); Total SAP: tratamento ($F_{4,79} = 0,26$; $p > 0,05$); % SAP protegido: convívio ($F_{1,79} = 1,08$; $p > 0,05$) e interação entre convívio e tratamento ($F_{4,79} = 1,57$; $p > 0,05$). O teste de Duncan revelou aumento do total de mergulhos, total de SAP e da porcentagem de SAP protegido, nos animais CNC/veículo que conviveram com os coespecíficos NC, quando comparados com animais CS/veículo que conviveram com os coespecíficos sham. Comparações posteriores utilizando o teste de Duncan também revelaram que as duas doses de

canabidiol (10 e 30mg/Kg) diminuíram as porcentagens de mergulho e SAP protegido nos animais que conviveram com o parceiro CNC, quando comparados ao respectivo CNC/veículo. Todas as doses de canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) apresentaram diminuição no total de esticar quando comparados aos respectivos CNC/veículo. O post hoc também demonstrou que o canabidiol na dose de 1,0 mg/Kg aumentou o tempo gasto no centro do LCE nos animais que conviveram com o parceiro CNC, quando comparados ao respectivo CNC/veículo.

Tabela 5: Efeitos da injeção de veículo ou canabidiol (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/kg) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE (n=7-11). Os dados representam média e \pm erro padrão da média (n= 7-11). #p<0,05 comparado com respectivo coespecífico controle (CS); *p<0,05 comparado com respectivo grupo CNC-veículo. Total SAP: Total de esticar, %SAP protegido: porcentagem de esticar protegido.

Comportamento	Tratamento (mg/Kg, s.c.)									
	Veículo		Canabidiol 0,3		Canabidiol 1,0		Canabidiol 10		Canabidiol 30	
	CS	CNC	CS	CNC	CS	CNC	CS	CNC	CS	CNC
Tempo no centro (%)	40,21 \pm 5,41	32,17 \pm 6,13	45,85 \pm 7,08	43,90 \pm 5,40	43,19 \pm 6,45	53,88 \pm 6,92*	42,91 \pm 5,85	33,50 \pm 5,08	29,20 \pm 7,06	36,60 \pm 5,76
Total de mergulhos	16,11 \pm 2,25	23,60 \pm 2,89	17,63 \pm 1,38	18,43 \pm 1,60	16,55 \pm 2,09	18,00 \pm 2,08	19,00 \pm 4,27	19,30 \pm 2,57	18,30 \pm 1,90	18,60 \pm 1,71
Mergulho protegido (%)	74,36 \pm 6,21	81,80 \pm 7,30#	75,84 \pm 6,06	78,20 \pm 7,38	78,17 \pm 5,87	82,03 \pm 5,11	61,94 \pm 7,94	57,80 \pm 10,24*	68,20 \pm 8,68	49,90 \pm 7,15*
Total SAP	14,33 \pm 0,99	24,44 \pm 2,48#	17,75 \pm 2,62	17,19 \pm 1,29*	16,91 \pm 2,07	18,90 \pm 1,63*	17,44 \pm 1,40	19,10 \pm 1,81*	18,40 \pm 2,19	17,90 \pm 1,75*
SAP protegido (%)	77,51 \pm 4,39	92,80 \pm 3,71#	73,19 \pm 3,25	80,15 \pm 6,62	82,13 \pm 4,50	84,97 \pm 4,27	69,32 \pm 6,53	70,60 \pm 7,15*	79,02 \pm 5,43	69,50 \pm 4,43*

6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos da administração sistêmica de canabidiol na modulação da nociceção e ansiedade induzida pelo modelo de empatia pela nociceção em camundongos. Os resultados demonstraram que a convivência com animal submetido à constrição do nervo ciático produziu hipernociceção no teste de contorções abdominais e aumento de comportamentos relacionados à ansiedade no LCE. Além disso, demonstramos que o tratamento com CBD (10 e 30 mg/kg) reverteu a hipernociceção induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica (experimento 1). Além da atenuação da nociceção, o tratamento sistêmico com CBD (1,0, 10 e 30 mg/kg) aumentou a porcentagem de entradas e de tempo gasto (30 mg/kg) nos braços abertos do LCE e diminuiu os comportamentos de avaliação de risco, demonstrando o efeito ansiolítico deste composto. Nenhuma das doses de CBD interferiu na atividade locomotora, representada pela frequência de entradas nos braços fechados do labirinto.

Com o objetivo de verificar a efetividade da cirurgia de constrição do nervo ciático (modelo animal para produção de dor crônica), os animais constritos e sham foram avaliados no teste de placa quente. Os resultados demonstraram diminuição na latência de retirada da pata direita nos animais com o nervo constrito (KURASHI et al., 1983), confirmando a efetividade do procedimento cirúrgico nos experimentos 1 e 2 e corroborando com outros estudos da literatura que utilizaram o mesmo modelo de dor crônica (BENNETT e XIE, 1988; SOMMER e SCHAFERS, 1998; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015).

Diversos estudos vêm constatando presença da modulação social da nociceção não apenas em humanos, mas também em camundongos (LANGFORD et al., 2006; 2011; MARTIN e MOGIL, 2014; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; MARTIN et al., 2015). Além disso, estudos prévios demonstram que roedores apresentam resposta empática diante de estados afetivos de coespecíficos, como mudanças na resposta de percepção da nociceção em camundongos que estão observando um coespecífico em sofrimento (LANGFORD et al., 2006; LANGFORD et al., 2011; MARTIN et al., 2015). No mesmo sentido, evidências do nosso grupo de pesquisa demonstraram que ocorre aumento da sensibilidade a nociceção em camundongos que foram submetidos ao protocolo de convívio com um par em dor crônica e posteriormente foram submetidos ao teste de contorções abdominais (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; ZANIBONI et al., 2018; TAVARES et al., 2019) e aumento de comportamentos associados a ansiedade no mesmo modelo, porém os animais foram submetidos ao LCE (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; CARMONA et al., 2016).

Portanto, os resultados obtidos nos experimentos 1 e 2 deste trabalho confirmam que o convívio com coespecífico em dor crônica induz ao aumento de comportamentos relacionados a nocicepção e a ansiedade (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; CARMONA et al., 2016; TAVARES et al., 2019).

A empatia pela nocicepção, ou seja, o contágio emocional entre a dupla depende principalmente da familiaridade estabelecida entre os animais (SMITH et al., 2016). E sabe-se que este convívio entre animais que estão alojados por algumas semanas na mesma caixa que coespecíficos submetidos a constrição do nervo ciático desencadeia respostas aumentadas de nocicepção no teste de contorções induzido por ácido acético (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015).

Alguns autores tem demonstrado que situações estressantes como a dor crônica, podem modular a nocicepção atenuando-a ou acentuando-a (COSTA et al., 2005; TRAMULLAS, 2012). No intuito de saber se o convívio com o parceiro em estresse crônico de contenção poderia alterar respostas nociceptivas em coespecíficos, o nosso grupo de pesquisa demonstrou que o convívio induz comportamento do tipo ansiogênico avaliado no LCE, hipernocicepção no teste de contorções e alterações no comportamento defensivo avaliados em camundongos submetidos ao protocolo de 14 dias de estresse crônico. Desta forma, não é só o convívio com a dor crônica que desencadeia aumento de nocicepção e de ansiedade, o convívio com o coespecífico em situação de estresse de contenção, também altera a nocicepção e a ansiedade (CARNEIRO-DE-OLIVEIRA et al., 2017; SILVEIRA et al., 2019).

Dentro desse contexto, pesquisas têm buscado identificar alterações nos mecanismos neurobiológicos da empatia em roedores. Entretanto, ainda são poucas as evidências sobre quais neurotransmissões e estruturas encefálicas estão envolvidas com a empatia relacionada a nocicepção em camundongos.

Sob esse aspecto, novos fármacos potencialmente analgésicos que não causem efeitos colaterais e que possuam efetividade expressiva tem sido alvo de pesquisadores (SEIC, 2013). Dentre os vários neurotransmissores e respectivos receptores com importantes implicações em estados emocionais e que desempenham um papel na mediação nociceptiva e da ansiedade, o sistema endocanabinóide destaca-se como um novo sistema de neuromodulação central e periférica, em função de seus receptores CB₁ e CB₂, além de seus derivados serem comparados as ações analgésicas de opioides.

Estudos sugerem que o canabidiol apresente atividades ansiolíticas, analgésicas, anti-inflamatórias e também anticonvulsivas expressivas sem o efeito do THC, responsável pelo efeito psicoativo (COSTA et al., 2007). Outros estudos demonstraram que o efeito do

canabidiol pode estar associado com o aumento das sensações de bem estar (VENDEROVA et al., 2004), efeitos antidepressivos (SAITO et al., 2010; ZANELATI et al., 2010), antipsicóticos (ZUARDI et al., 1991; 1995) e sedativos (CHAGAS et al., 2013; 2014; MONTI, 1997). Além disso, pesquisas descrevem sobre as ações analgésicas dos canabinóides em patologias humanas, como por exemplo, a dor advinda da quimioterapia, diabetes, fibromialgia e esclerose múltipla (LYNCH e WARE, 2015; WHITING et al., 2015). Recentemente foram demonstrados efeitos positivos relacionados a qualidade de vida, como melhoria no sono do paciente e diminuição na intensidade da dor em pacientes que foram tratados com canabidiol (NUGENT et al., 2017). Diante disso, os canabinóides mostram-se como uma alternativa viável e satisfatória para o tratamento da dor crônica, apesar de não ser considerado um fármaco de primeira escolha na clínica (VIGIL et al., 2018).

Considerando as evidências acima sobre o papel analgésico dos canabinóides, os nossos resultados do experimento 1 demonstraram que o tratamento sistêmico com canabidiol (10,0 e 30,0 mg/kg) atenuou a hipernocicepção induzida no observador (CNC) pelo convívio com o coespecífico constrito (NC), comparado com o respectivo grupo CNC/veículo. Evidência do efeito antinociceptivo dose-dependente da administração sistêmica de CBD foi demonstrado anteriormente em um modelo de dor crônica de osteoartrite através da diminuição do limiar de retirada no teste de Von Frey (PHILPOTT et a., 2017).

Com isso, os dados obtidos no presente estudo corroboram com outros estudos clínicos (WADE et al., 2003; RYZ et al., 2017) e pré-clínicos (COSTA et al., 2007; WARD et al., 2014) que evidenciaram o potencial do canabidiol para tratar condições relacionadas a dor. Além disso, corrobora também com outro estudo recente feito pelo nosso grupo de pesquisa que demonstrou que a administração intra-amígdala de canabidiol reverte a hipernocicepção induzida pelo convívio com coespecífico constrito (TAVARES et al., 2020).

Considerando que a reversão da hipernocicepção desencadeada pela administração de CBD ocorreu apenas nos animais observadores CNC que conviveram com o coespecífico com constrição do nervo ciático, os resultados demonstram que a neurotransmissão endocanabinóide não está apenas envolvida na modulação sensorial da nocicepção, mas também modulando o aspecto emocional presente no modelo de empatia utilizado neste estudo.

A respeito da influência do convívio na modulação das emoções, Tomiyoshi e colaboradores (2009) demonstraram que o convívio com um coespecífico inoculado por um tipo de tumor, acentuou comportamentos relacionados à ansiedade avaliados no LCE. Assim como, evidências do nosso grupo de estudo observou aumento de comportamentos do tipo

ansio gênico avaliados no LCE, no entanto, em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à um protocolo de estresse crônico (CARNEIRO-DE-OLIVEIRA et al., 2017).

Os efeitos da dor crônica nos comportamentos relacionados à ansiedade foram descritos na literatura (GERRITS et al., 2012; SIMONS et al., 2014), demonstrando o aumento de comportamentos relacionados à ansiedade em roedores submetidos a constrição do nervo ciático (YALCIN et al., 2014; CARMONA et al., 2016). Assim, com o objetivo de verificar essas respostas no nosso estudo, os animais constrictos foram expostos ao LCE. Os animais com constrição do nervo ciático apresentaram diminuição de entradas e tempo gasto nos braços abertos do labirinto e aumento de comportamentos de avaliação de risco (tempo no centro, porcentagem de mergulho protegido, total de SAP e porcentagem de SAP protegidos) (CRUZ et al., 1994; RODGERS e JOHNSON, 1995), sugerindo efeito ansio gênico desencadeado pela dor crônica. Sendo assim, os nossos resultados sugerem que além do convívio com a dor crônica, os animais observadores (parceiros) também estão expostos ao convívio com um parceiro ansioso. Resultado semelhante foi observado em camundongos expostos ao mesmo modelo de empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica e foram avaliados no LCE (CARMONA et al., 2016). Esses resultados contribuem para fortalecer a hipótese sobre a influência de estados emocionais nos comportamentos de roedores (BARTAL et al., 2016).

Considerando os achados acima e a relação da literatura acerca dos efeitos do canabidiol na modulação da ansiedade consideramos realizar o experimento 2, e verificar se o tratamento sistêmico com canabidiol reverteria o aumento dos comportamentos relacionados com a ansiedade no modelo de empatia pela nocicepção. Os resultados do experimento 2 demonstraram que tratamento com canabidiol nas doses de 1,0, 10,0 e 30,0 mg/Kg, produziu aumento da porcentagem de entradas nos braços abertos (%EBA) do LCE, sendo que a dose de 30,0 mg/Kg apresentou um aumento robusto no aumento do tempo gasto nos braços abertos (%TBA) quando comparados com o respectivo grupo CNC/veículo. Além disso, todas as doses de CBD (0,3, 1,0, 10,0 e 30,0 mg/Kg) diminuíram o total de SAP, caracterizando o efeito ansiolítico do CBD. As doses de 10 e 30mg/Kg de CBD também atenuaram a porcentagem de mergulhos e SAP protegidos. Nenhuma das 4 doses de CBD alterou a atividade locomotora dos animais, verificada pela frequência de entradas nos braços fechados.

Vários estudos da literatura demonstraram que roedores quando são expostos ao LCE apresentam diminuição das entradas e tempo gasto nos braços abertos e aumento de comportamentos de avaliação de risco, caracterizando aumento das respostas associadas com

a ansiedade (LISTER, 1987; RODGERS et al., 1997; RODGERS e JOHNSON et al., 1995; CAROBREZ e BERTOGLIO, 2005; CRUZ et al., 1994).

Diante destas evidências, pode-se propor que os resultados obtidos sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com par em estado de dor crônica podem estar relacionados ao estado emocional do coespecífico constricto, uma vez que através dos mecanismos de percepção-ação, o observador passa a vivenciar um estado emocional semelhante daquele que observa (PRESTON e DE WAAL, 2002; MOYA-ALBIOL et al., 2010). Neste sentido, o presente resultado contribui para fortalecer a hipótese sobre a influência de estados emocionais nos comportamentos de roedores (BARTAL, et al 2016) pois, o convívio com animal submetido à constrição do nervo ciático acentuou os comportamentos relacionados à ansiedade sugerindo dessa forma o valor que o convívio com a dor e a ansiedade desencadeiam no parceiro.

Nesse contexto, é encontrado na literatura a participação da sinalização endocanabinóide em atenuar comportamentos defensivos e que o canabidiol pode apresentar atividade ansiolítica, sendo que diversos estudos demonstraram que os efeitos do delta-9-THC são antagonizados pelo CBD (KARNIOL e CARLINI, 1973). Além disso, outro estudo observou que a administração de CBD diminuiu comportamentos relacionados com a ansiedade em roedores expostos ao LCE e ao teste de resposta emocional condicionada (GUIMARÃES et al., 1990; 1994; ZUARDI E KARNIOL, 1983; SCHIER et al., 2012). Com isso, as evidências demonstram que o CBD possa apresentar efeitos ansiolíticos, e apesar do seu mecanismo de ação ainda não estar totalmente elucidado, sugerindo que estudos complementares devem ser realizados para tentar esclarecer as possíveis atuações do CBD (CRIPPA et al., 2010; ZUARDI, 2008).

Considerando as devidas proporções nas diferenças entre as metodologias empregadas, os resultados obtidos no presente estudo corroboram com os resultados apresentados de outros estudos que também observaram o aumento da exploração dos braços abertos do LCE e a diminuição de respostas de avaliação de risco após tratamento com fármacos de potencial ansiolítico (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; CARMONA et al., 2016). Além disso, os resultados observados corroboram com outros estudos que demonstram os efeitos ansiolíticos do CBD, sugerindo o potencial efeito deste fármaco na redução de comportamentos relacionados com a ansiedade (ZUARDI et al., 1993; CRIPPA et al., 2010).

No entanto, nenhum estudo havia investigado o papel do sistema endocanabinóide na modulação da ansiedade induzida pelo modelo de empatia para nocicepção. Diante dos resultados apresentados neste estudo, pode-se observar que o tratamento com CBD produziu

efeito ansiolítico em camundongos avaliados no LCE, indicando que a sinalização canabinóide é essencial para a atenuação de comportamentos ansiosos induzidos por contágio emocional, avaliados por meio da convivência com o coespecífico submetido à dor crônica.

De maneira geral, este estudo sugere que há envolvimento do sistema endocanabinóide no processo de modulação social da nociceção e da ansiedade. Os efeitos de reversão da nociceção observados nesse estudo provavelmente se devem a ação do canabidiol na amígdala. A hipótese encontra apoio no estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa onde a administração intra-amígdala de canabidiol reverteu a hipernociceção induzida pelo convívio com coespecífico constrito (TAVARES et al., 2020). No entanto, outras estruturas e neurotransmissões podem estar envolvidas neste processo, necessitando de investigações futuras.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que o convívio com coespecíficos em dor crônica produziu hipernocicepção e aumento das respostas relacionadas a ansiedade nos parceiros quando submetidos ao teste de contorções abdominais e LCE, respectivamente. Sugerimos que, os estados emocionais podem influenciar os comportamentos de camundongos e modular a resposta da nocicepção e da ansiedade através do convívio com coespecífico em dor crônica.

Demonstramos também que o tratamento sistêmico com canabidiol reverteu a hipernocicepção e o aumento dos comportamentos do tipo ansiogênicos em camundongos que conviveram com coespecíficos em dor crônica.

Este estudo contribui para demonstrar o envolvimento da neurotransmissão endocanabinóide na modulação da resposta nociceptiva e emocional induzida pelo convívio com o coespecífico com dor crônica em camundongos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R., HUNT, M., and CLARK, J. H. Structure of cannabidiol, a product isolated from the marihuana extract of Minnesota wild hemp. **Journal of the American Chemical Society**, v. 62, p. 196-200. 1940.

ARIZZI, M.N; CERVONEA, K.M; ABERMANA, J.E; BETZA, A; LIUB, Q; LINB, S; MAKRIYANNISB, A; SALAMONEA, J.D. Behavioral effects of inhibition of cannabinoid metabolism: The amidase inhibitor AM374 enhances the suppression of lever pressing produced by exogenously administered anandamide. **Life Sci.**, v.74, p. 1001–1011, 2004.

ATTAL, N; FERMANIAN, C; FERMANIAN, J; LANTERI-MINET, M; ALCHAAR, H., BOUHASSIRA, D. Neuropathic pain: are there distinct subtypes depending on the etiology or anatomical lesion? **Pain**, p. 343-53, 2008.

BAPTISTA, D.; BUSSADORI, K.M.; NUNES-DE-SOUZA, R.L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Blockade of fear-induced antinociception with intra-amygdala in fusion of midazolam: influence of prior test experience. **Brain Res.**v. 1294, p. 29-37, 2009.

BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; NUNCIATO, A.C.; FACHINI, G.; PEREIRA, B.C.; ZANIBONI, C.R.; CANTO-DE-SOUZA, A. Anxiogenic-like effects and hypernociception on cagemate induced by cohabitated with mice under neuropathic pain. **Behav Pharmacol**, v. 26, nº 7, p. 664-672, 2015.

BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; PELARIN, V.; CANTO-DE-SOUZA, L.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Interplay between 5-HT_{2C} and 5-HT_{1A} receptors in the dorsal periaqueductal gray in the modulation of fear-induced antinociception in mice. **Neuropharmacology**, 1v. 40, p. 100-106, 2018.

BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; TAVARES, L. R. R.; FURUYA-DA-CUNHA, E. M.; CARNEIRO DE OLIVEIRA, P. E.; CANTO-DE-SOUZA, L.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Chronic Fluoxetine Impairs the Effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} Receptors Activation in the PAG and Amygdala on Antinociception Induced by Aversive Situation in Mice. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 260, 2020.

BARBALHO, C.A., NUNES-DE-SOUZA, R.L., CANTO-DE-SOUZA, A. Similar anxiolytic-like effects following intra-amygdala infusions of benzodiazepine receptor agonist and antagonist: evidence for the release of an endogenous benzodiazepine inverse agonist in mice exposed to elevated-plus-maze test. **Brain research.**, v. 1267, p. 65-76, 2009.

BARTAL, I. B; DECETY, J; MASON, P. Empathy and pro-social behavior in rats. **Science**, v. 334, p.1427-143, 2011.

BARTAL, I.B; RODGERS, D.A; SARRIA, M.S.B; MASON, P. Pro-social behavior in rats is modulated by social experience. **eLife**. v.3, 2014.

- BARTAL IB, SHAN H, MOLASKY N, MURRAY T, WILLIAMS J, DECETY J, MASON P. Pro-Social Behavior In Rats Requires An Affective Motivation. **Front. Psychol.** p. 044180, 2016.
- BASBAUM, A. I.; FIELDS, H. L. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. **Annual Rev. Neurosci.**, v. 7, p. 309-338, 1984.
- BENNETT, G. J.; XIE, Y. K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v. 33, n. 1, p. 87-107, 1988.
- BERNHARDT, B. C.; SINGER, T. The neural basis of empathy. **Annu Rev Neurosci**, v. 35, p. 1-23, 2012.
- BERGAMASCHI, M., COSTA QUEIROZ, R., ZUARDI, A., & CRIPPA, A. S. Safety and side effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent. **Current drug safety**, v. 6, p. 237-249. 2011.
- BLANCHARD, D. C.; GRIEBEL, G.; BLANCHARD, R. J. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 25, p. 205-18, 2001.
- BLOOM, F., BATTENBERG, E., ROSSIER, J., LING, N., LEPPALUOTO, J., VARGO, T. M., & GUILLEMIN, R. Endorphins are located in the intermediate and anterior lobes of the pituitary gland, not in the neurohypophysis. **Life Sciences**, v. 20, p. 43-47.1997.
- BORNHOVD, K.; QUANTE, M.; GLAUCHE, V.; BROMM, B.; WEILLER, C.; BUCHEL, C. Painful stimuli evoke different stimulus-response functions in the amygdala, prefrontal, insula and somatosensory cortex: a single-trial fMRI study. **Brain**, v. 125, p. 1326-36, jun 2002.
- BUSHNELL, M. C.; CEKO, M.; LOW, L. A. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. **Nat rev neurosci**, v. 14, n. 7, p. 502-11, 2013.
- CANTO-DE-SOUZA, A.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; RODGERS, R. John. Anxiolytic-like effect of WAY-100635 microinfusions into the median (but not dorsal) raphe nucleus in mice exposed to the plus-maze: influence of prior test experience. **Brain research**, v. 928, n. 1-2, p. 50-59, 2002.
- CARRIER, EJ, S Patel, and CJ Hillard. Endocannabinoids in neuroimmunology and stress. **Curr drug targets CNS Neurol Disord** 4, v. 6, p. 657-665, 2005
- CARMONA, I.M.; BAPTISTA-DE- SOUZA, D.; A. CANTO-DE-SOUZA. Anxiogenic-like behaviors induced by living with a conspecific in neuropathic pain condition are attenuated by systemic injection of midazolam in mice, J. **Pain**, v. 17, p. S58-S59, 2016.
- CAROBREZ, A.P.; BERTOGLIO, L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, p. 1193–1205, 2005.

CHAGAS, M. H. N., CRIPPA, J. A. S., ZUARDI, A. W., HALLAK, J. E., MACHADO-DE-SOUZA, J. P., HIROTSU, C., ANDERSEN, M. L. Effects of acute systemic administration of cannabidiol on sleep-wake cycle in rats. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, p. 312-316, 2013.

COSENZA, R.M. Fundamentos de neuroanatomia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1990

COSTA, A., SMERALDI, A., TASSORELLI, C., GRECO, R., NAPPI, G. Effects of acute and chronic restraint stress on nitroglycerin-induced hyperalgesia in rats. **Neuroscience letters**, v. 383, p.7-11, 2005.

CRIPPA J.A.; ZUARDI A.W., HALLAK J.E. Cannabis sativa: the plant that can induce unwanted effects and treat them. **Rev Bras Psiquiatr**. v.32, p.51-52, 2010.

CRUZ, A. P. M.; FREI, F.; GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacol Bioch Behav**, v. 49, p.171-176, 1994.

DAVIS, M. The role of the amygdala in fear-potentiated startle: implications for animal models of anxiety, **Trends Pharmacol Sci**, v.13, p.35-41, 1992.

DEIANA, S., WATANABE, A., YAMASAKI, Y., AMADA, N., ARTHUR, M., FLEMING, S., ... & PLATT, B. Plasma and brain pharmacokinetic profile of cannabidiol (CBD), cannabidivarin (CBDV), Δ 9-tetrahydrocannabivarin (THCV) and cannabigerol (CBG) in rats and mice following oral and intraperitoneal administration and CBD action on obsessive-compulsive behaviour. **Psychopharmacology**, v. 219, p. 859-873, 2012.

DE OLIVEIRA, P. C.; ZANIBONI, C. R.; CARMONA, I. M.; FONSECA, A. R.; CANTO-DE-SOUZA, A. Preliminary behavioral assessment of cagemates living with conspecifics submitted to chronic restraint stress in mice. **Neuroscience letters**, v. 657, p. 204-210, 2017.

DEL CASTILLO, O. I. A. R., MORALES-VIGIL, T., VÁZQUEZ-PINEDA, F., SÁNCHEZ-ROMÁN, S., RAMOS-DEL RÍO, B., GUEVARA-LÓPEZ, U. Burden, Anxiety and Depression in Patient's Caregivers with 485 Chronic Pain and in Palliative Care. **Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, v. 46, n. 5, p. 485-494, 2008.

DELUCIA, R (Org). Farmacologia integrada. **Clube dos Autores, São Paulo, 5º edição compacta**, 2014.

DEVANE, W. A., HANUS, L., BREUER, A., PERTWEE, R. G., STEVENSON, L. A., GRIFFIN, G., ... & MECHOULAM, R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, v. 258, p. 1946-1949, 1992.

DI MARZO, V., MELCK, D., BISOGNO, T., DE PETROCELLIS, L. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. **Trends in neurosciences**, v. 21, 521-528, 1998.

- ELMES, G. W., WARDLA, W, J. C., SCHÖNROGGE, K., THOMAS, J. A., and CLARKE, R. T. Food stress causes differential survival of socially parasitic caterpillars of *Maculinea rebeli* integrated in colonies of host and non-host *Myrmica species*. **Entomol. Exp. Appl.** 2004.
- FERRARI P.D; CANTO-DE-SOUZA, A. Role of 5-HT₃ receptors in the modulation of nociceptive response in mice subjected to the model of empathy for pain. 2016. In: Buenos Aires. **2nd FALAN congress**.
- FIELDS H. State-dependent opioid control of pain. **Nat Rev Neurosci.** V. p. 565-575, 2004.
- FILE, S. E; MABBUTT, P. S; HITCHCOTT, P. K. Characterisation of the phenomenon of "one-trial tolerance" to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze. **Psychopharmacol (Berl)**, v. 102, p. 98-101, 1990.
- GALLESE, V; KEYSERS, C; RIZZOLATTI, G. A Unifying View Of The Basis Of Social Cognition. **Trends Cogn Sci**, v. 8, p. 396-403. 2004.
- GARCIA, A.M.; CARDENAS F.P., MORATO, S. Effect of different illumination levels on rat behaviour in the elevated plus-maze. **Physiol Behav**, v. 85, p. 265-270, 2005.
- GENARO, K., FABRIS, D., ARANTES, A. L., ZUARDI, A. W., CRIPPA, J. A., & PRADO, W. A. Cannabidiol is a potential therapeutic for the affective-motivational dimension of incision pain in rats. *Frontiers in pharmacology*, v. 8, p. 391, 2017.
- GERRITS, M.M; VOGELZANGS, N; VAN OPPEN, P; VAN MARWIJK H.W; VAN DER HORST H; PENNINX B.W. Impact of pain on the course of depressive and anxiety disorders. **Pain**, v.153, p.429-436, 2012.
- GOMES, F. V., REIS, D. G., ALVES, F. H., CORRÊA, F. M., GUIMARÃES, F. S., & RESSTEL, L. B. Cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis reduces the expression of contextual fear conditioning via 5-HT_{1A} receptors. *Journal of psychopharmacology*, v. 26, p. 104-113, 2012.
- GONZALEZ-LIENCRES, C.; JUCKEL, G.; BRÜNE, M.; Emotional contagion in mice: The role familiarity. **Behav Brain Res**, v. 203, p. 16-21, 2014.
- GRAEFF, F. G.; ZANGROSSI, H. Animal models of anxiety disorders. In: D'HAENEN, H.DEN BOER, J. A., et al (Ed.). **Biological Psychiatry**..v. 19, p.880-889, 2002.
- GRAY, J. A.; MCNAUGAHTON, N. The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system. 2 ed. London: **Oxford University Press**, 2000.
- GUIMARÃES, F. S., CHIARETTI, T. M., GRAEFF, F. G., ZUARDI, A. W. Antianxiety effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v. 100, n. 4, p. 558-559, 1990.

GUIMARÃES, F. S., MECOULAM, R., BREUER, A. Anxiolytic effect of cannabidiol derivatives in the elevated plus-maze. **General pharmacology**, v. 25, n. 1, p. 161-164, 1994.

HAANPÄÄ, M; BACKONJA, M; BENNETT, M; BOUHASSIRA, D; CRUCCU, G; HANSSON, T. et al. Assessment of Neuropathic Pain in Primary Care. **Am J Med**, v.122, p. 13–21, 2009.

HADJISTAVROPOULOS, T; CRAIG, K.D; DUCK, S; CANO, A; GOUBERT, L; JACKSON, P.L; RAINVILLE, P; SULLIVAN, M.J; WILLIAMS, A.C; VERVOOT, T; FITZGERALD, T.D. A biopsychosocial formulation of pain communication. **Psychol bull.** v. 137 p. 910-39, 2011.

HALLAK, J. E., DURSUN, S. M., BOSI, D. C., DE MACEDO, L. R. H., MACHADO-DE-SOUZA, J. P., ABRÃO, J., ... & ZUARDI, A. W. The interplay of cannabinoid and NMDA glutamate receptor systems in humans: preliminary evidence of interactive effects of cannabidiol and ketamine in healthy human subjects. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, p. 198-202.2011.

HETEM, L. A. B., GRAEFF, F.G. (Ed.) Transtornos de ansiedade. São Paulo: **Editora Atheneu**, p. 191-205, 2003.

HILL, M. N.; MCEWEN, Bruce S. Involvement of the endocannabinoid system in the neurobehavioural effects of stress and glucocorticoids. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 34, n. 5, p. 791-797, 2010.

HOHMANN, A. G., SUPLITA, R. L., BOLTON, N. M., NEELY, M. H., FEGLEY, D., MANGIERI, R., DURANTI, A. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. **Nature**, v. 435, p. 1108-1112. 2005.

HOHMANN, A. G.; SUPLITA, Richard L. Endocannabinoid mechanisms of pain modulation. **The AAPS journal**, v. 8, n. 4, p. 693-708, 2006.

HOWLETT, A. C., BARTH, F., BONNER, T. I., C, G., CASELLAS, P., DEVANE, W. A., MECOULAM, R. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. **Pharmacological reviews**, v. 54, p. 161-202, 2002.

JOËLS, M., PU, Z., WIEGERT, O., OITZL, M. S., & KRUGERS, H. J. (2006). Learning under stress: how does it work?. *Trends in cognitive sciences*, 10(4), 152-158.

JORDAN, E. G.; MOGIL, J. S. Mice, pain, and empathy. **Science**, v. 314, p. 253, 2006.

KARNIOL, I.G; CARLINI, E.A. Pharmacological interaction between cannabidiol and delta – 9 – tetrahydrocannabinol. **Psychopharmacologia**, v.33, p. 53-70, 1973.

LANGFORD, D. J; CRAGER, S. E; SHEHZAD, Z; SMITH,S. B; SOTOCINAL, S. G; LEVENSTADT, J. S; CHANDA, M. L; LEVITIN, D. J; MOGIL, J. S. Social modulation of pain as evidence for empathy in mice. **Science**, v. 312, 2006.

LANGFORD, D. J.; TUTTLE, A. H.; BRISCOE, C.; HARVEY-LEWIS, C.; BARAN, I.; GLEESON, P.; FISCHER, D. B.; BUONORA, M.; STERNBERG, W. F.; MOGIL, J. S. Varying perceived social threat modulates pain behavior in male mice. **J Pain**, v. 12, n. 1, p. 125-32, 2011.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacol**, v. 92, p.180-185, 1987.

LYNCH M.E, WARE M.A. Cannabinoids for the Treatment of Chronic Non-Cancer Pain: An Updated Systematic Review of Randomized Controlled Trials. **J Neuroimmune Pharmacol**. V. 10p. 293-301, 2015.

MARSICANO, G., WOTJAK, C. T., AZAD, S. C., BISOGNO, T., RAMMES, G., CASCIO, M. G., DI MARZO, V. The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. **Nature**, v. 418, p. 530-534. 2002.

MARTIN, B. R., COMPTON, D. R., THOMAS, B. F., PRESCOTT, W. R., LITTLE, P. J., RAZDAN, R. K., MECHOULAM, R. Behavioral, biochemical, and molecular modeling evaluations of cannabinoid analogs. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 40, p. 471-478. 1991.

MARTIN, L. J., HATHAWAY, G., ISBESTER, K., MIRALI, S., ACLAND, E. L., NIEDERSTRASSER, N., STERNBERG, W. F. Reducing social stress elicits emotional contagion of pain in mouse and human strangers. **Curr Biol**, v. 25, p. 326-332, 2015

MCNAUGHTON. N; CORR. P, G. A two-dimensional neurophysiology of defense: Fear/Anxiety and Defensive Distance. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 28, p. 285-305, 2004.

LIGUMSKY, M. O. S. H. E., KAMINSKY, N. E., SCHATZ, A. R., COMPTON, D. R., PERTWEE, R. G., GRIFFIN, G. R. A. E. M. E., ... & VOGEL, Z. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut that binds to cannabinoid receptors. **Biochem. Pharmacol**, v. 50, p. 83-90. 1995.

MECHOULAM R; HANUS L. Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: chemical aspects. **Chemistry and Physics of Lipids**. v. 121, p.35-43, 2002.

MECHOULAM R, SHVO Y. HASHISH. I. The structure of cannabidiol. **Tetrahedron**.v. 19p. 2073-2078, 1963.

MELZACK, R. From the gate to the neuromatrix. **Pain.**, v. 6, p. S121-6, 1999.

MELZACK R., CASEY K.L. Sensory, motivational, and central control determinants of pain: a new conceptual model, in the skin senses. Kenshalo D (Ed.). Thomas: **Springfield**, p. 423 – 443 1968.

MOGIL J.S. Social modulation of and by pain in humans and rodents. **Pain**, v.156, p. 3541, 2015.

- MONTI JM. Hypnoticlike effects of cannabidiol in the rat. **Psychopharmacology** (Berl) v. 55, p. 263–265, 1977.
- MOREIRA F.A., AGUIAR D.C., GUIMARÃES F.S. Anxiolytic-like effects of cannabidiol in the rat Vogel conflict test. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry*. v. 30, supl.8, p.1466-1471, 2006.
- MORENA, M., PATEL, S., BAINS, J. S., & HILL, M. N. Neurobiological interactions between stress and the endocannabinoid system. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, p. 80-102. 2016.
- MOYA-ALBIOL, L.; HERRERO, N.; BERNAL, MC. Bases neuronales de la empatia. **Rev.neurol**, v.50, p. 89-100, 2010.
- MUNRO S, THOMAS, K.L., ABU-SHAAR, M.. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, p. 61-65, 1993.
- NACKLEY, AG. Selective activation of cannabinoid CB₂ receptors suppresses spinal fos protein expression and pain behavior in a rat model of inflammation. **Neuroscience**, v. 119 p. 747–757, 2003.
- NEUGEBAUER, J.M., AMACK, J.D., PETERSON, A.G., BISGROVE, B.W., and YOST, H.J. FGF signalling during embryo development regulates cilia length in diverse epithelia. **Nature**, v. 458, p. 651-654. 2009
- NEUGEBAUER, V.; GALHARDO, V.; MAIONE, S.; MACKKEY, S. C. forebrain pain mechanisms. **Brain Res Dev**, v. 60, n. 1, p. 226-42, Apr 2009.
- NITANDA, A., YASUNAMI, N., TOKUMO, K., FUJII, H., HIRAI, T., & NISHIO, H. Contribution of the peripheral 5-HT_{2A} receptor to mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. **Neurochemistry international**, v. 47, p. 394-400. 2005.
- NUGENT, S. M. The Effects of Cannabis Among Adults with Chronic Pain and an Overview of General Harms. **Annals of Internal Medicine, American College of Physicians**, v. 167, n. 5, p. 319-331, 2017.
- NUNES-DE-SOUZA, R.L.; CANTO-DE-SOUZA, A.; FORNARI, R.V.; COSTA, M.; PELÁ, I.R.; GRAEFF, F.G. Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra- amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. **Psychopharmacol**, v. 150, p. 300-310, 2000.
- OCHSNER K. N., & GROSS, J. J. Thinking makes it so: A social cognitive neuroscience approach to emotion regulation. In R. F. Baumeister & K. D. Vohs (Eds.), **Handbook of self-regulation: Research, theory, and applications**, p. 229–255, 2004.
- PANKSEPP, J.B; LAHVIS, G.P. Rodent empathy and affective neuroscience. **Neurosci Behav Rev**, v. 35, n. 9, p. 1864-1875, 2011.

PEDRAZZI, J. F. C., PEREIRA, A. C. D. C. I., GOMES, F. V., DEL BEL, E. **Perfil antipsicótico do canabidiol. Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 47, p. 112-119, 2014

PELARIN, V.; BAPTISTA, D.; CANTO DE SOUZA, A. Empatia em Camundongos: A Lesão da Amígdala com Cloreto de Cobalto (CoCl₂) Reverte a Antinocicepção Induzida pelo Convívio de Camundongos aos Pares. In: **XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento**, Belo Horizonte. XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento. 2013.

PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S. E., BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, v. 14, p. 149-167. 1985.

PERGHER, G.K., GRASSI, O.R., DE ÁVILA, L.M. Memória, emoção e humor. **Ver Psiquiatr RS**. 2006;1(28): 61-8.

PERTWEE RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. **Br J Pharmacol**, v.153, p. 199-215, 2008.

PHILPOTT, HOLLY T.; O'BRIEN, MELISSA; MCDOUGALL, JASON J. Attenuation of early phase inflammation by cannabidiol prevents pain and nerve damage in rat osteoarthritis. **Pain**, v. 158, n. 12, p. 2442, 2017.

PIOMELLI, D. The endocannabinoid system: a drug discovery perspective. **Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)**, v. 6, n. 7, p. 672-679, 2005.

PLOGHAUS, A.; BECERRA, L.; BORRAS, C.; BORSOOK, D. Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. **Trends cogn sci**, v. 7, n. 5, p. 197-200, 2003.

PLUTCHIK, R. Bases evolucionistas de la empatia. **La empatia y su desarrollo**, p. 49-57, 1992.

PRESTON, S. D.; DE-WAAL, F. B. M. Empathy: its ultimate and proximate bases. **Behav Brain Sci**, v.25, p. 1-20. 2002.

PRESTON, S. D. A perception-action model for empathy. **Empathy in mental illness**, p. 428-447, 2007.

RHUDY, J.L.; MEAGHER, M.W. Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds. **Pain**, v.84, n°1, p.65-75, 2000.

RODGERS, R.J.; JOHNSON, N.J.T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacol Biochem Behav**, v.52, p.297-303, 1995b.

- RODGERS, R.J; CAO, J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Braz J Med Biol Res**, v. 30, p. 289-304, 1997.
- RODRIGUES, S. M.; LEDOUX, J.E. The influence of stress hormones on fear circuitry. **Annu Rev Neurosci**, v. 32, p. 289-313, 2009.
- ROESKA, K., CECI, A., TREEDE, R. D., & DOODS, H. Effect of high trait anxiety on mechanical hypersensitivity in male rats. **Neuroscience letters**, v. 464, p. 160-164, **2009**.
- RUSSO E, GUY, G.W — A tail of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **Med Hypotheses**, v. 66, p. 234-246.2006.
- RYZ, N. R., REMILLARD, D. J., & RUSSO, E. B. Cannabis roots: a traditional therapy with future potential for treating inflammation and pain. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 2, p. 210-216, 2017.
- SAITO, V. M.; WOTJAK, C. T.; MOREIRA, F. A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão? **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v.32, p. 1, 2010.
- SAGAR, S. S., BUSCH, B. K., & JOWETT, S. Success and failure, fear of failure, and coping responses of adolescent academy football players. **Journal of Applied Sport Psychology**, v. 22, p. 213-230, 2010.
- SCHIER, A. R. D. M., RIBEIRO, N. P. D. O., SILVA, A. C. D. O., HALLAK, J. E. C., CRIPPA, J. A. S., NARDI, A. E., ZUARDI, A. W. Canabidiol, um componente da Cannabis sativa, como um ansiolítico. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 34, p. 104-110. **2012**.
- SHAMAY-TSOORY S.G. The neural bases for empathy. **Neuroscientist**, v.17, p.18-24, 2011.
- SIMONS, L.E; ELMAN, I; BORSOOK, D; Psychological processing in chronic pain: A neural systems approach. **Neurosci Biobehav Rev**, v.39 p. 61-78, 2014.
- SINGER, T.; SEYMOUR, B.; O DOHERTY, J.; KAUBE, H.; DOLAN, R. J.; FRITH, C.D. Empathy for pain involves the affective but not sensory components of pain. **Science**, v.303, p.1157-1162, 2004.
- SINGER, T. The neuronal basis and ontogeny of empathy and mind reading: Review of literature and implications for future research. **Neurosci Biobehav Rev**, v.30, p. 855 – 863, 2006.
- SMITH, A.M, FRIED, P.A, HOGAN, M.J — Effects of prenatal marijuana on response inhibition: an MRI study of young adults. **Neurotoxicol Teratol**,v. 26, p. 533-542. 2004.

SOMMER, C.; SCHAFERS, M. Painful mononeuropathy in C57BL/Wld mice with delayed wallerian degeneration: differential effects of cytokine production and nerve regeneration on thermal and mechanical hypersensitivity. **Brain Res**, v. 784, n. 1-2, p. 154-62, 1998.

STEIN, D. J.; BOUWER, C. A neuro-evolutionary approach to the anxiety disorders. **J Anxiety Disord**, v. 11, n°4, p. 409-29, 1997.

STEPANOVIC-PETROVIC, R. M.; MICOV, A. M.; TOMIC, M. A.; KOVACEVIC, J. M.; BOSKOVIC, B. D. Antihyperalgesic/antinociceptive effects of ceftriaxone and its synergistic interactions with different analgesics in inflammatory pain in rodents. **Anesthesiology**, v.120, n. 3, p. 737-50, 2014.

TAVARES, L.R; BAPTISTA-DE-SOUZA, D; CANTO-DE-SOUZA, A. Social modulation of pain: Effect of 5-HT₃ receptor antagonism of the amygdaloid complex on hypernociception induced in mice by living with a conspecific in neuropathic pain condition. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento**. Araraquara. São Paulo. 2017.

TAVARES, L. R. R.; BAPTISTA-DE-SOUZA, D; CANTO-DE-SOUZA, A. Activation of 5-HT_{2C} (but not 5-HT_{1A}) receptors in the amygdala enhances fear-induced antinociception: Blockade with local 5-HT_{2C} antagonist or systemic fluoxetine. **Neuropharmacology**, v. 135, p. 376-385, 2018.

TOMIYOSHI, M. Y.; SAKAI, M.; BALEEIRO, R. B.; STANKEVICIUS, D.; MASSOCO, C.O.; PALERMO-NETO, J.; BARBUTO, J.A.M. Cohabitation with a B16F10 melanoma-bearer cagemate influences behavior and dendritic cell phenotype in mice. **Brain Behav Immun**, v.23, p. 558–567, 2009.

TRAMULLAS, M., DINAN, T.G. AND CRYAN, J.F. Chronic psychosocial stress induces visceral hyperalgesia in mice. **Stress**, v.15, p.281-292, 2012.

VANDER WENDE, C.; MARGOLIN, S. Analgesic tests based upon experimentally induced acute abdominal pain in rats. **Fed Proc**. p. 494, 1956.

VENDEROVA, KATERINA & Růžička, Evžen & Vorisek, Viktor & MD, PhD. Survey on Cannabis use in Parkinson's disease: Subjective improvement of motor symptoms. **Movement Disorders**, v. 19, p. 1102 –1106, 2004.

VIGIL, J. M.; STITH, S. S; REEVE, A. P. Accuracy of Patient Opioid Use Reporting at the Time of Medical Cannabis License Renewal. **Pain Research and Management**, p. 1-4, jan 2018.

VOGT, B.A. Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. **Nat Rev Neurosci**. v. 6, p. 533-44, 2005.

WADE, T.J., DIMARIA, C. Weight Halo Effects: Individual Differences in Perceived Life Success as a Function of Women's Race and Weight. **Sex Roles**, v. 48, p. 461–465, 2003.

WALKER, J. M.; HOHMANN, A. G. Cannabinoid mechanisms of pain suppression. In: **Cannabinoids**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 509-554, 2005.

WALL, P. D.; MELZACK, R.; MCGRATH, P. **Textbook of pain**. **Canadian Psychology**, v.32(1), p. 92-93, 1991. WARD R. J., ZUCCA F. A., DUYN J. H., CRICHTON R. R., ZECCA L. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. **Lancet Neurol**, v. 13, p. 1045–1060, 2014.

WHITING, P. F., WOLFF, R. F., DESHPANDE, S., DI NISIO, M., DUFFY, S., HERNANDEZ, A. V., SCHMIDLKOFER, S. Cannabinoids for medical use: a systematic review and meta-analysis. *Jama*, v. 313, p. 2456-2473., 2015.

YALCIN, I.; BARTHAS, F.; BARROT, M. Emotional consequences of neuropathic pain: insight from preclinical studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 47, p. 154-164, 2014.

ZANIBONI, C. R.; PELARIN, V.; BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; CANTO-DE-SOUZA, A. Empathy for pain: insula inactivation and systemic treatment with midazolam reverses the hyperalgesia induced by cohabitation with a pair in chronic pain condition. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 12, p. 278, 2018.

ZAKI, J.; OCHSNER, K. N. The neuroscience of empathy: progress, pitfalls and promise. **Nat Neurosci**, v. 15, p. 675-80, 2012.

ZANELATI, T. V., BIOJONE, C., MOREIRA, F. A., GUIMARÃES, F. S., & JOCA, S. R. L. Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT1A receptors. **British journal of pharmacology**, v.159, p. 122-128, 2010.

ZUARDI, A.W.; KARNIOL, I.G. Changes in the conditioned emotional response of rats induced by 9-THC, CBD and mixture of the two cannabinoids. **Arq Biol Technol**. v. 26, p.391-397. 1982.

ZUARDI, A. W.; RODRIGUES, J.A; CUNHA, J.M. Effects of cannabidiol in animal models predictive of antipsychotic activity. **Psychopharmacology**. v.104, n. 2, p. 260-4. 1991.

ZUARDI, A. W., RODRIGUES, J. A., & CUNHA, J. M. Effects of cannabidiol in animal models predictive of antipsychotic activity. **Psychopharmacology**, v. 104, p. 260-264. 1991.

ZUARDI, A.W. Canabidiol: de um canabinóide inativo a uma droga com amplo espectro de ação. **Revista Brasileira Psiquiatria**, v.30, n.3, p. 271-280, 2008.

ANEXO 1

Pró Reitoria
Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS DO CANABIDIOL EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO MODELO DE EMPATIA PARA DOR", protocolada sob o CEUA nº 3305221018 (ID 001046), sob a responsabilidade de **Lígia Renata Rodrigues Tavares e equipe; Azair Liane Matos do Canto de Souza; Leonardo Abdelnur Petrilli; Isabela Miranda Carmona; Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira; Lara Maria Silveira** - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 06/11/2018.

We certify that the proposal "Effects of cannabidiol in mice exposed to empathy for pain model", utilizing 560 Heterogenics mice (560 males), protocol number CEUA 3305221018 (ID 001046), under the responsibility of **Lígia Renata Rodrigues Tavares and team; Azair Liane Matos do Canto de Souza; Leonardo Abdelnur Petrilli; Isabela Miranda Carmona; Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira; Lara Maria Silveira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 11/06/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **11/2018** a **12/2019** Área: **Ciências Fisiológicas**

Origem: **Biotério Central da UFSCar**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **3 a 5 semanas**

N: **560**

Linhagem: **Swiss Albino**

Peso: **14 a 45 g**

Local do experimento: **Laboratório de Psicologia e Aprendizagem da UFSCar**

São Carlos, 24 de maio de 2020

Prof. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos