



UNIVERSIDADE  
CATÓLICA  
PORTUGUESA



**Ispas**

Instituto Universitário  
de Ciências Psicológicas,  
Sociais e da Vida

# Alterações nos padrões de sono/vigília induzidos por manipulação farmacológica do sistema endocanabinóide: Uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos.

**CAIO CÉSAR ARAÚJO JÚNIOR**

**28237**

Orientadora de Dissertação:

**Prof. Doutora Maria Vânia Rocha da Silva Nunes**

Professor de Seminário de Dissertação:

**Prof. Doutora Maria Vânia Rocha da Silva Nunes**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de:  
**MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS COGNITIVAS E COMPORTAMENTAIS**

**2022**

Dissertação de Mestrado realizada sob orientação de Prof.  
Doutora Maria Vânia Rocha da Silva Nunes, apresentada  
no ISPA – Instituto Universitário para a obtenção de grau  
de Mestre na especialidade de NEUROCIÊNCIAS

## **Agradecimentos**

Quem vê? Quem pensa? Todos sabemos que não são os olhos que veem e nem são os neurónios que pensam. Existe algo por trás destes fenómenos. O que é esse algo? Agradando a gregos e troianos, eis o mistério da fé, e da ciência.

O dia em que conseguirmos responder a essas questões será a chave para a compreensão do momento em que a física e a química deram o salto para a biologia, dando início à vida e a todo seu percurso evolutivo que culminou com o surgimento da consciência.

Posso dizer assim que a minha religião é a ciência, no sentido de que acredito que através do entendimento de todos os fenómenos naturais conheceremos Deus.

Aos 16 anos de idade li um livro de Aldous Huxley intitulado “As portas da percepção”. Nesse livro o autor narra sua experiência com o peyote. Tal leitura me marcou de tal forma que foi capaz de direcionar toda a minha carreira. Fiquei impressionado com o poder de uma planta de alterar a maneira de como percebemos o mundo ao nosso redor.

A essa altura passei a me direcionar dentro da medicina para a psiquiatria, tentando entender de que forma agem os psicotrópicos e com a sensação de que as plantas como o peyote poderiam me fazer compreender a mente humana em todas suas dimensões e disfunções.

Em 1991, um ano após ter conhecido Aldous Huxley, conhecia a Larissa, minha primeira namorada, pessoa cheia de luz e que tem o dom de fazer as coisas acontecerem, e através dela, esse meu velho sonho de estudar as plantas professoras começou a se realizar com esse mestrado. Vim para Portugal por esse motivo e no Brasil deixei meu pai, que me deu todo o suporte necessário para vir, e que mesmo se sacrificando, cuidando de minha mãe sozinho com um carinho exemplar, tenho certeza que ficou orgulhoso do seu filho. Ao chegar aqui conheci a professora Maria Vânia, que além de ser orientadora de mestrado e doutoramento é uma orientadora de vida. Também conheci outros professores que talvez nem saibam de minha admiração por eles, como O Professor João Maroco, que me despertou interesse para a estatística, área tão importante para a ciência.

Muitas pessoas abriram meus caminhos, como a Doutora Maria da Luz e o Professor Luís Capelas.

Finalmente agradeço ao meu novo amor, Anja, que devolveu colorido à minha vida.

Pela natureza com suas plantas mágicas, por Aldous Huxley, pelos meus pais, pela Larissa, pelos Professores Maria Vânia, João Maroco e Luís Capelas, pela Doutora Maria da Luz e pela minha Anja tenho profundo respeito, admiração e gratidão.

## Resumo

O sistema endocanabinóide pertence a uma rede neuromodulatória que participa da regulação de diversas funções biológicas, inclusive o sono. Essa modulação é feita principalmente através de sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas, que representam os neurotransmissores excitatórios e inibitórios mais abundantes no cérebro, porém os mecanismos desse controle sobre o ciclo sono-vigília ainda não estão claramente estabelecidos.

Para sintetizar e analisar a informação disponível relativa aos efeitos da manipulação farmacológica do sistema endocanabinóide, nos padrões de sono-vigília realizámos uma revisão sistemática da literatura em estudos pré-clínicos.

Através de uma busca exaustiva nas bases de dados Pubmed, Cochrane library, PsycInfo, Web Of Science e Scopus, esta revisão sistemática identificou 29 artigos, que avaliam a participação dos elementos do sistema endocanabinóide na regulação do ciclo sono-vigília através da manipulação farmacológica desse sistema. A medição dos efeitos em todos os artigos foi avaliada através de EEG/EMG em ratos.

Os resultados mostram que a estimulação dos recetores CB1 se relaciona com a promoção do sono REM e NREM, e que o seu bloqueio promove vigília. A anandamida, o seu ligante endógeno, promove tanto sono REM como NREM, sendo que pelo menos parte desse efeito é mediado pelo controle colinérgico no caso da geração do sono REM e pelo aumento dos níveis de adenosina na geração de sono NREM. O 2-AG, outro ligante endógeno, também possui efeito na promoção de sono, podendo apresentar efeito bifásico, no sentido de que doses menores promovem o sono e doses maiores promovem vigília. O Transportador de anandamida, quando bloqueado, demonstra promover o sono por aumentar a disponibilidade desta molécula.

Já a inibição das enzimas do sistema, nomeadamente, a *fatty acid amid hydrolase* (FAAH), enzima responsável pela finalização da sinalização endocanabinóide através da metabolização da anandamida, ao contrário do que é de se esperar, aumentam a vigília, pois a inativação dessa enzima, além de aumentar os níveis de anandamida, promove também em maior proporção, o acúmulo de outros substratos que possuem efeitos estimulantes como palmitoiletanolamida e oleoiletanolamida. A inibição da monoacilglicerol lípase (MAGL) promove sono pelo aumento da disponibilidade de 2-AG.

Finalmente, a oleamida demonstrou ser um potente inibidor de sono.

**Palavras – chave:** Sistema endocanabinóide, ciclo sono-vigília, manipulação farmacológica

## **Abstract**

The endocannabinoid system belongs to a neuromodulatory network that participates in the regulation of several biological functions, including sleep. This modulation is done mainly in glutamatergic and GABAergic synapses, which represent the most abundant excitatory and inhibitory neurotransmitters in the brain, but the mechanisms of this control over the sleep-wake cycle are not yet established.

This systematic review identified 29 articles, through an exhaustive search in the Pubmed, Cochrane library, PsycInfo, Web of Science and Scopus databases, which try to evaluate the participation of the elements of the endocannabinoid system through its pharmacological manipulation and measurement of the effects on sleep/wake through EEG/EMG in rats.

The results show that the stimulation of CB1 receptors is related to the promotion of REM and NREM sleep, and its blockade promotes wakefulness. Anandamide promotes sleep, with at least part of this effect being mediated by cholinergic control in generating REM sleep and through increased adenosine levels in generating NREM sleep. 2-AG also has an effect on sleep generation, and may have a biphasic effect. The Anandamide transporter, when blocked, has also been shown to promote sleep by increasing the availability of anandamide.

On the other hand, the inhibition of the enzymatic system, fat acid amid hydrolase (FAAH), contrary to what is expected, increases wakefulness, since the inactivation of this enzyme, in addition to increasing anandamide levels, also promotes the accumulation of from other substrates that have stimulant effects such as palmitoylethanolamide and oleoylethanolamide. Inhibition of monoacylglycerol lipase (MAGL) promotes sleep by increasing the availability of 2-AG.

## **Keywords**

Endocannabinoid System, Wake-sleep cycle, Pharmacological manipulation

## Índice

<b>Introdução</b> .....	1
<b>1. O sistema endocanabinóide</b> .....	1
<b>2. O ciclo sono-vigília</b> .....	6
<b>Neurobiologia da vigília</b> .....	7
<b>Neurobiologia do Sono</b> .....	7
<b>Neurobiologia do sono NREM</b> .....	9
<b>Neurobiologia do sono REM</b> .....	9
<b>Processos que governam o sono: Processo circadiano e processo homeostático</b> .....	10
<b>3. Sistema endocanabinóide e sono</b> .....	13
<b>4. Metodologia</b> .....	17
<b>4.1 Condição ou domínio sendo estudado</b> .....	17
<b>4.2 Critérios de inclusão</b> .....	17
<b>4.3 Critérios de exclusão</b> .....	18
<b>4.4 Resultados</b> .....	24
<b>4.3 Seleção de artigos</b> .....	25
<b>4.5 Estratégia para Extração e síntese dos dados</b> .....	25
<b>5. Observações preliminares e descrição dos estudos</b> .....	27
<b>6. Discussão</b> .....	39
<b>6.1 Agonistas e antagonistas CB1</b> .....	41
<b>6.1.1 Anandamida (AEA)</b> .....	41
<b>6.1.2 Manipulações envolvendo 2AG</b> .....	46
<b>6.1.3 Agonistas sintéticos de recetores CB1</b> .....	48
<b>6.1.4 Antagonistas de recetores CB1</b> .....	48
<b>6.2 Modulações enzimáticas do sistema endocanabinóide</b> .....	49

6.2.1. Manipulações envolvendo a Fat Acid Amid Hidrolase (FAAH).....	49
6.2.2 Manipulações envolvendo a monoacilglicerol lípase (MAGL).....	51
6.3 Manipulações farmacológicas envolvendo Oleamida .....	51
6.4 Manipulações envolvendo o transportador de membrana de Anandamida .....	52
6.5 Manipulação do sistema endocanabinóide através da administração de cannabis e fitocanabinóides.....	53
6.5.1. Canabidiol.....	54
6.5.2 Ácido metil ester canabidiólico (HU-580) .....	55
7. Conclusão .....	55
Bibliografia .....	59

## **Lista de tabelas**

Tabela 1: descritores da intervenção

Tabela 2: descritores de *outcomes*

Fluxograma 1: Fluxograma PRISMA

Tabela 3: Risco de enviesamento dos estudos

Tabela 4: Caracterização dos Artigos

Tabela 5: Intervenção, resultados e resultados adicionais

## **Lista de abreviaturas**

2AG- 2- araquidonilglicerol  
5-HT- serotonina  
5HT2Cr -receptores de serotonina tipo 2c  
AA-ácido aracdônico  
AA-5HT- N- Arachydonil srotonina  
AD- adenosina  
AEA- anandamida  
AGE- 2-araquidonoil-gliceril éter  
AMT- transportador de anandamida  
ATP- adenosina trifosfato  
CB1- receptores canabinóides tipo 1  
CB2- receptores canabinóides tipo 2  
CBD- cannabidiol  
CBN- cannabinol  
DA- dopamina  
DAG- diacilglicerol  
DAGL- diacilglicerol lipase  
DRN- núcleo da rafe dorsal  
EC-endocannabinóides  
ECCoG- eletrocorticograma  
EEG-eletroencefalograma  
EMG- eletromiograma  
EP- epinefrina  
EP- intra entopeduncular  
FAAH- *fat acid amid hidrolase*  
GABA- ácido gama amino butírico  
HU-580- ácido metil éster canabidiólico  
ICV- intracerebroventricular  
IH- intra- hipotalâmica  
IP- intraperitoneal

LC- locus coeruleus  
LDT- núcleo laterodorsal tegmental  
LH- hipotálamo lateral  
LTD- depressão de longo termo  
LTP- potenciação de longo termo  
MAGL- monoacilglicerol lipase  
MCH- hormônio concentrador de melatonina  
mGluR1- recetores metabotrópicos glutamatérgicos tipo 1  
mGluR5- recetores metabotrópicos glutamatérgicos tipo 5  
MNPO- área pré-óptica mediana  
MPOA- área pré-ótica medial  
N1- estágio NREM 1  
N2- estágio NREM 2  
N3- estágio NREM 3  
NAAA- ácido hidrolisante de N-aciletanolamina amidase  
NADA- N-araquidonoil-dopamina  
NAEs- N-aciletanolamidas  
NE- norepinefrina  
NK- *non killer*  
NMDA- N metil D aspartato  
NREM-non rapid eyes movement  
ODA- cis-9-10-octadecenoamida  
OEA- oleoetiletanolamida  
OLE- oleamida  
PAR 1- receptor ativado por protease 1  
PEA- palmitoiletanolamida  
PIP2- fosfatidil inositol difosfato  
PLCb- fosfolipase C beta  
PPTg- núcleo tegmental pedúnculo pontino  
PVA- núcleo talâmico paraventricular  
REM- rapid eyes movement  
SCN- núcleo supraquiasmático  
SN- substância nigra

SWS- sono de ondas lentas

THC- delta-9 tetrahydrocannabinol

THCV- delta9 tetrahydrocannabivarina

TMN- núcleo tuberomamilar

TRPV1- *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1*

VLPO- área pré-óptica ventrolateral

VTA- área tegmental ventral

W-vigília

## Introdução

Sabe-se que o sistema endocanabinóide participa do controle de funções biológicas essenciais como alimentação, aprendizagem e sono. A sua relação com o ciclo sono-vigília tem sido bastante estudada, coincidindo com o maior interesse do uso de canabinóides pelas suas propriedades soporíferas, porém o entendimento a respeito do tema ainda se encontra numa fase inicial sendo importante a melhor compreensão da função de cada elemento do sistema na regulação dos estados de sono e vigília, tendo sido esse o objetivo dessa revisão.

### 1. O sistema endocanabinóide

O sistema endocanabinóide é uma rede neuromoduladora complexa que participa da regulação de funções biológicas essenciais como a reprodução, a alimentação o comportamento sexual e o sono. Este sistema é composto pelos receptores canabinóides 1 (CB1) e 2 (CB2) e seus ligantes endógenos, dentre eles a anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG). Além desses componentes, o transportador de anandamida (AMT) exerce uma importante função dentro do sistema ao promover a recaptação da anandamida para o interior da membrana neuronal. No que se refere às enzimas, a monoacilglicerol lípase (MAGL) é responsável pela degradação de 2-AG e a *fatty acid amid hidrolase* (FAAH) é responsável pela degradação da anandamida (Di Marzo, 2009)

Os recetores de canabinóides estão amplamente presentes em diversos tecidos e órgãos (Di Marzo, 2009). Os recetores CB1 encontram-se em regiões do SNC como o hipocampo, córtex de associação, núcleos da base e cerebelo, (estando estas estruturas associadas às propriedades farmacológicas e psicotrópicas do  $\Delta^9$ -THC e de outros canabinóides). Os recetores CB1 distribuem-se também em nervos periféricos, no aparelho reprodutivo, gastrointestinal e pulmonar, na medula óssea, no coração, no músculo liso e endotélio vascular. Já os recetores canabinóides CB2 encontram-se em abundância no sistema imunitário, particularmente nas amígdalas, baço, macrófagos e linfócitos B e NK, mas também a nível cerebral em baixas quantidades. Além dos recetores CB1 e CB2, os endocanabinóides também podem se ligar a outros recetores como o *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1* (TRPV1), relacionado com processos anti-inflamatórios (Piomelli, 2003)

Conjuntamente, tais recetores estão envolvidos em funções que se relacionam com desenvolvimento neuronal, ações anti-inflamatórias, função do aparelho cardiovascular, respiratório, reprodutor e endócrino, aprendizagem, alimentação, sono, formação e metabolismo ósseo, no metabolismo energético, bem como funções celulares tais como proliferação celular (Di Marzo, 2009) (S. Munro, K.L. Thomas, M. Abu-Shaar 1993).

A Anandamida (AEA) foi o primeiro endocanabinóide a ser isolado. Esta substância é formada através da síntese do ácido araquidónico com a etanolamina, tendo sido batizada da anandamida pelos seus descobridores por significar alegria em Sânscrito (Mechoulam et al., 1998). A anandamida apresenta características estruturais semelhante à dos eicosanóides, família de compostos que derivam do ácido araquidônico, assim como as prostaglandinas, leucotrienos e lipoxigenases, mediadores da inflamação e da dor, com variadas funções na comunicação neuronal. O outro importante endocanabinóide é o 2-AG, o qual faz parte de diversas vias do metabolismo lipídico, sendo formado a partir do fosfatidilinositol (PI) ou do ácido fosfatídico através da ação da diacilglicerol lípase (DAGL) (Piomelli, 2003).

Além da anandamida e 2-AG, existem outros possíveis endocanabinóides, o 2-araquidonoil-gliceril éter (AGE), Oaraquidonoil-etanolamina (virodhamina), N-araquidonoil-dopamina (NADA) (Piomelli, 2003) e a oleamida, derivada de oleoilglicina (cis-9-10-octadecenoamida, ODA). A oleamida não tem alta afinidade por receptores CB1 e CB2 e o seu mecanismo de ação também não é bem conhecido. Exibe, contudo, ações canabinomiméticas as quais podem ser, pelo menos em parte, explicadas pela capacidade em potenciar fortemente a eficácia de ligação da anandamida aos recetores CB1, pondo-se a hipótese de ser um modulador alostérico positivo dos recetores CB1. Por estes motivos e pela sua importante relação com o sono a oleamida foi também considerada nesse estudo (Lambert DM, Di Marzo V, 1999).

Outras moléculas como o 2- palmitoilglicerol e 2-linoleoilglicerol, oleoiletanolamida (OEA) e palmitoiletanolamida (PEA), apesar de possuírem estrutura química similares, pertencem à família dos N-aciletanolamidas (NAEs). Essas moléculas utilizam outras vias que não as canabinérgicas para exercerem seus efeitos, todavia, podem influenciar as ações dos endocanabinóides. Tanto OEA quanto PEA são sintetizados pelo mesmo tipo de enzimas que sintetizam a anandamida. A FAAH hidrolisa principalmente OEA enquanto a N-aciletanolamina amidase (NAAA) hidrolisa PEA (Piomelli, 2003). Pelo fato de serem metabolizados por vias eventualmente coincidentes e poderem competir por enzimas nos seus processos de inativação, essas moléculas de ácidos graxos podem influenciar na

disponibilidade dos endocanabinóides para ligação e ativação dos recetores, como exemplo, a oleamida, que potencializa fortemente a eficácia de ligação da anandamida aos recetores CB1, ou então, a inibição da FAAH por algum inibidor específico pode causar aumento tanto nos níveis de anandamida como os de PEA e OEA (Piomelli, 2003)

No que respeita aos mecanismos de finalização da sinalização por endocanabinóides, dois processos atuam em conjunto, um transporte para o interior da célula, promovido pelo transportador de anandamida (AMT) e sua posterior degradação enzimática pela FAAH (Piomelli, 2003; Mechoulam et al., 1998). No cérebro de rato, esta enzima encontra-se expressa em elevadas concentrações nos corpos celulares e dendrites neuronais de células do hipocampo, tálamo, neocórtex e cerebelo e está presente nos terminais axónicos que contêm CB1 o que é indicativo que esta participa na inativação da anandamida produzida a nível neuronal (Piomelli, 2003; Di Marzo e De Petrocellis, 2012). A FAAH promove a clivagem de anandamida em ácido araquidónico e etanolamina, mas reconhece também uma série de amidas e substratos ésteres, sem qualquer relação com os canabinóides (incluindo o fator de saciedade OEA e o mediador de inflamação PEA), com controle mais modesto das suas concentrações, razão pela qual a sua designação passou de hidrolase de anandamida a hidrolase de ácidos graxos. No caso do 2-AG, a enzima responsável por sua metabolização é a monoacilglicerol lípase (MAGL) (Piomelli, 2003; Mechoulam et al., 1998; Di Marzo e De Petrocellis, 2012).

Os endocanabinóides fazem parte do sistema de sinalização retrógrada, e dentro desses, é o mais bem caracterizado, podendo-se neles reconhecer as características básicas de mensageiros retrógrados lipofílicos (Chevaleyre et al., 2006).

Diversos mensageiros químicos já foram identificados em sinalização retrógrada e existem alguns critérios para a definição de um mensageiro retrógrado. Em primeiro lugar, o aparato apropriado para sintetizar e libertar o mensageiro retrógrado deve estar localizado no terminal pós-sináptico. Além disso, alterações da síntese e/ou liberação do mensageiro do neurónio pós-sináptico devem alterar a sinalização retrógrada. Outro quesito é que os alvos apropriados para o mensageiro retrógrado devem estar localizados no botão pré-sináptico e alterações desses alvos devem eliminar a sinalização retrógrada. Finalmente, a exposição do botão pré-sináptico ao mensageiro deve ser suficiente para realizar a sinalização retrógrada (Chevaleyre et al., 2006).

Os recetores CB1 são acoplados à proteína Gi/o, e seu principal efeito é a inibição da produção de AMP cíclico e/ou a redução da abertura de canais de cálcio pré-sinápticos,

geralmente controlando a liberação de glutamato e GABA, respectivamente os dois neurotransmissores excitatórios e inibitórios mais abundantes do SNC.

A ativação de sinapses glutamatérgicas tem dois aspectos importantes. Na sua primeira fase eleva o cálcio dendrítico, despolarizando a célula e abrindo canais de cálcio dependentes da voltagem. Num segundo momento, o glutamato ativa recetores metabotrópicos acoplados a proteína G (mGluR1 e mGluR5). Esses dois fenômenos em conjunto ativam a fosfolipase C beta (PLC $\beta$ ), e o lipídio PIP2 é convertido em DAG, que por sua vez é convertido no endocanabinóide 2-AG por DAG lípase (Chevalleyre et al 2006). A liberação de endocanabinóides é desencadeada pelo aumento da concentração de cálcio intracelular nos neurónios pós-sinápticos a partir do momento que esta concentração atinge determinado nível. Além disso, os mecanismos celulares de produção e liberação de endocanabinóides são sensíveis à ativação prolongada e coincidente de recetores Glu1 e Glu5 em sinapses glutamatérgicas, e nessa situação de ativação a concentração de cálcio intracelular local necessária para desencadear a liberação de endocanabinóides diminui, aumentando dessa forma a modulação neuronal (Batchelor e Garthwaite, 1997). Na maioria dos casos, ambas as atividades no neurônio pós-sináptico, ou seja, a elevação do cálcio e ativação simultânea de receptores mGlu1 / 5 são necessárias para a liberação de endocanabinóides. Existe um sensor de cálcio que responde sinergicamente ao aumento de cálcio e ativação de receptores mGlu1 / 5. Quando todos esses mecanismos são ativados simultaneamente, a liberação de endocanabinóides participa da ativação de plasticidade de curto prazo (Brenowitz e Regehr, 2005), e como será descrito adiante, a plasticidade neuronal pode estar envolvida nos mecanismos que controlam a alternância entre sono e vigília. Estas descobertas representam o primeiro exemplo de plasticidade de curto prazo e a expressão generalizada de recetores CB1 no SNC sugere que os endocanabinóides podem participar de formação de formação de plasticidade em sinapses por todo o cérebro (Brenowitz e Regehr, 2005).

Ao fornecer aos neurónios pós-sinápticos a capacidade de controlar seu próprio *input*, a sinalização retrógrada permite uma forma de controle diferenciada de atividade neural de um determinado circuito (Malenka e Bear, 2004). Tais mecanismos permitem que as células pós-sinápticas ajustem a força de seus *inputs* sinápticos, a fim de manter a excitabilidade numa faixa apropriada, atuando como uma rede que modula outros moduladores, dentre os quais aqueles que participam da regulação do sono, por exemplo ao atuar na modulação da acetilcolina. (Turrigiano, 2007). Outro exemplo da regulação do sono através desses sistemas de controle glutamatérgico dá-se no núcleo dorsal da rafe, onde a supressão da ativação glutamatérgica por

endocanabinóides, culminando com a modulação serotoninérgica sugere que o mecanismo de regulação canabinérgico podem apresentar um importante papel no controlo do sono e da vigília (Haj-Dahmane e Shen, 2005).

Diversos outros mecanismos de controle através de mensageiros retrógrados já foram identificados. Várias outras funções que podem estar associadas ao sono e vigília já foram descritas com relação ao papel dos mensageiros retrógrados, por exemplo, o controle homeostático do sono pode estar relacionado com mecanismos de plasticidade sináptica e muitos sistemas de sinalização retrógrada estão envolvidos na força de transmissão sináptica associada a mudanças na plasticidade. A sinalização dependente de receptores glutamatérgicos NMDA está envolvida em muitas formas de plasticidade associativa de longo prazo (Malenka e Bear, 2004). Os endocanabinóides também medeiam a plasticidade de longo prazo em muitas sinapses e isto é ilustrado no córtex, onde os endocanabinóides contribuem para plasticidade em sinapses excitatórias nas células piramidais das camadas 2 e 3 (Bender et al., 2006). Estudos farmacológicos revelam que, juntos, endocanabinóides e receptores NMDA contribuem para a formação de depressão de longo prazo (LTD) e potenciação de longo termo (LTP), que são formas de plasticidade neuronal que significam respectivamente, redução e aumento da força sináptica, porém os mecanismos através dos quais estes fenómenos acontecem ainda não estão totalmente elucidados e podem funcionar de formas diferentes dependendo de cada rede neuronal específica. Por exemplo, fatores que controlam a libertação de endocanabinóides em diferentes sinapses exibem especializações que fornecem etapas adicionais para indução de plasticidade, sendo que em alguns casos, os aumentos de endocanabinóides isoladamente não são suficientes para induzir plasticidade sináptica, como é o caso de recetores corticais onde endocanabinóides pós-sinápticos induzem LTP associadamente à ativação de fibras dopaminérgicas próximas (Cachope et al., 2007).

A supressão seletiva da atividade de populações de interneurónios, seja como consequência da expressão seletiva de recetores CB1 ou por libertação de endocanabinóides, pode fornecer um meio de reduzir a inibição, alterando o equilíbrio de excitação e inibição, e permitindo *inputs* excitatórios para ativar efetivamente uma população de determinados neurónios. O aprimoramento desses estudos através de abordagens genéticas, seleção e eliminação ativa de recetores CB1 em terminais pré-sinápticos de tipos de células fornecem um meio de interromper seletivamente a sinalização endocanabinóide retrógrada dependente nessas sinapses, o que pode ser extremamente útil para o estudo da relação entre o papel dos sistemas

de mensageiros retrógrados dentro de diversos sistemas fisiológicos, incluindo o ciclo sono-vigília (Marsicano et al., 2003).

Para uma melhor compreensão da relação entre sistema endocanabinóide e sono serão descritas a seguir as bases biológicas do ciclo sono-vigília.

## **2. O ciclo sono-vigília**

O ciclo sono-vigília é um processo fisiológico que permite a alternância regular entre um estado de atividade e um estado de repouso, o sono, durante o qual o indivíduo se desconecta parcialmente do ambiente externo, o que parece ser essencial para a recuperação psicológica e física, consolidação da memória, modulação emocional, desempenho e aprendizagem, dentre outras funções fisiológicas (Siegel, 2005).

O sono pode ser basicamente dividido em duas fases principais: O sono REM (*rapid eyes movement*), caracterizado por intensa atividade cerebral e durante o qual se observam períodos de movimentação rápida dos olhos, períodos esses que coincidem com intensa atividade onírica; e o sono NREM, caracterizado por lentificação e sincronização progressiva das ondas elétricas cerebrais, sendo dividido em 3 fases, N1, N2 e N3, de acordo com o grau de lentificação da atividade elétrica. Durante o sono NREM, neurónios no córtex e tálamo disparam de forma característica, oscilando a cada segundo ou mais entre um estado de hiperpolarização da membrana e baixa atividade neuronal, gerando lentificação e sincronismo da atividade elétrica cortical (Steriade et al. 2001; Chauvette et al. 2011). Uma das consequências desse perfil de disparo é um padrão de estabilidade dos neurónios talâmicos e corticais durante o sono NREM, o que dificulta que a informação sensorial recebida pelo tálamo seja retransmitida ao córtex desconectando o indivíduo do ambiente (Dleini et al. 2015). Essa condição associa o sono de ondas lentas ao sono profundo, já que quanto maior a sincronicidade e mais lentas forem as ondas, maior será a intensidade de um estímulo necessário para causar o despertar (Ermis et al. 2010).

Cada uma dessas fases são caracterizadas por diferentes aspectos fisiológicos, comportamentais, atributos neuroquímicos e eletrofisiológicos. Estruturas cerebrais, incluindo o tronco cerebral, o prosencéfalo basal, tálamo e hipotálamo, através de suas conexões e mediadores químicos, regulam, estabilizam e promovem a alternância entre os estados de vigília, sono NREM e sono REM. Tais mecanismos de controle são determinados a nível genético, biológico e celular. Além disso, fatores externos, como a luz, interagem com

mecanismos internos, como o marca passo biológico, o que permite manter o ciclo sono – vigília ritmado, mantendo seu compasso em torno de 24h, adequando-se às condições oferecidas pelo ambiente (Priyattam et al 2017).

## **Neurobiologia da vigília**

O tronco cerebral é a estrutura chave para a compreensão da vigília, no qual se localizam grupos neuronais ou núcleos, que constituem os sistemas modulatórios de projeção difusa, podendo ser denominadas conjuntamente por sistema ativador reticular ascendente. Este sistema é composto por neurónios colinérgicos do núcleo laterodorsal tegmental (LDT) e núcleo tegmental pedunculopontino (PPT); neurónios noradrenérgicos do locus coeruleus (LC); neurónios serotoninérgicos dos núcleos da rafe e neurónios dopaminérgicos da área tegmental ventral (VTA), substancia nigra (SN) e projeções cinza periaquedutal. Essas substâncias estimulam o córtex direta e indiretamente através do tálamo, hipotálamo e prosencéfalo basal (Jang S and Kwon H, 2015). Além do tronco cerebral, o hipotálamo possui importantes vias que promovem a excitação. Primeiramente os neurónios produtores de orexina, localizados no hipotálamo lateral, que estimulam os neurónios noradrenérgicos do Locus Coeruleus (LC) e os neurónios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe (RDN), promovendo vigília e inibição do sono REM. O núcleo tuberomamilar (TMN), localizado no hipotálamo posterior, promove estimulação direta do córtex através da histamina e indireta através da estimulação de neurónios colinérgicos do tronco cerebral. O prosencéfalo basal está envolvido na promoção da atividade cortical. Nessa estrutura localizam-se grupos de núcleos colinérgicos, os núcleos do septo medial e o núcleo basal de *meynert*. Tais núcleos estabelecem conexões com hipotálamo, tronco cerebral, hipocampo e córtex. Além da acetilcolina, o glutamato e o GABA são dois outros neurotransmissores importantes no prosencéfalo basal. O Glutamato, o mais abundante neurotransmissor excitatório, medeia aproximadamente 75% do tônus excitatórias sobre o sistema nervoso central. Os níveis de glutamato em várias áreas cerebrais são os mais elevados durante a excitação em estados de vigília e sono REM (Watson C et al 2020).

## **Neurobiologia do Sono**

No hipotálamo se encontram duas regiões envolvidas na promoção do sono, a área pré-óptica ventrolateral (VLPO) e a área pré-óptica mediana (MNPO), as quais contém neurónios

que estabelecem conexões inibitórias com as áreas de promoção da excitação. Esses neurónios são ativados principalmente durante NREM e REM (Gaus S. et al 2002).

O GABA, o principal neurotransmissor inibitório, é responsável em promover sono / vigília, dependendo de sua localização e levando em consideração a interação complexa entre outros neurotransmissores, como acetilcolina e sistemas adrenérgicos. Outros neuromediadores como adenosina e várias citocinas estão envolvidas na geração de sono. O sistema de ativação reticular ascendente é inibido pelo VLPO através da neuromediação de GABA e galanina (Oh J. et al 2019).

O Hipotálamo tem papel relevante no que diz respeito ao ritmo do ciclo sono/vigília, sendo o núcleo supraquiasmático responsável pelo controle dos ritmos circadianos fisiológicos, possuindo várias interações com o cérebro e glândula pineal, produtora de melatonina, hormona que exerce importante papel na manutenção da alternância rítmica entre os estados de sono e vigília (Moore, 2007).

O tálamo é outra estrutura considerada importante na regulação do sono pois possui função de retransmissão dos inputs sensoriais glutamatérgicos para o córtex, tendo o papel de regular o aumento ou a redução da passagem desses impulsos (Coulon P et al, 2012)).

Os astrócitos também estão envolvidos na regulação do sono através da eliminação e distribuição de lípidos, glicose e outros nutrientes, sendo que as células da glia se tornam mais ativas durante o sono de ondas lentas do que na vigília (Jessen et al, 2015). Além disso as células da glia também removem o lactato cerebral que se acumula durante a vigília, representando a primeira evidência direta de que uma função do sono (em particular o sono NREM) é eliminar do cérebro os resíduos que se acumularam durante a vigília (Lundgaard et al, 2017). As células da glia exibem diferenças morfológicas na fenda sináptica durante o sono e a vigília. Os processos astrocíticos estão mais próximos da fenda sináptica durante o sono, podendo representar um mecanismo relacionado com depuração de substâncias e metabólitos. Através da técnica de optogenética, foi demonstrado pela primeira vez que outras células que não apenas os neurónios influenciam o sono. A estimulação optogenética dos astrócitos no hipotálamo posterior aumenta significativamente o sono NREM e REM (Pelluru, D. et al 2016).

O mecanismo através do qual os astrócitos facilitam o sono ainda não está estabelecido, mas estas células são uma fonte importante de ATP, que é convertida em adenosina extracelular e que inibe a transmissão sináptica por meio dos recetores de adenosina A1. Parece que estimulação optogenética de astrócitos afeta o sono via ATP e adenosina (Gourine, et al 2010).

A inclusão da glia e a estreita associação entre astrócitos, neurónios e vasos sanguíneos em todo o cérebro começam a tornar possível explicar alguns processos homeostáticos do sono do sono e o sono uni-hemisférico. Por exemplo, uma molécula promotora de sono, como a adenosina, pode se acumular localmente e, devido à estreita associação entre glia, neurónios e vasculatura, a carga homeostática também pode se dissipar em nível local, dependendo do nível de clearance de adenosina promovido pelas células da glia (Krueger, e Wisor, 2011).

### **Neurobiologia do sono NREM**

As principais áreas do cérebro que são capazes de gerar o sono NREM são regiões hipotalâmicas, sendo elas a área ventrolateral pré-óptica (VLPO) e área medial pré-óptica (MNPO). Os neurónios contidos por essas regiões são ativados principalmente durante o sono NREM, sendo quase inativo durante vigília. Outras regiões do cérebro que geram sono NREM através da neuromodulação GABAérgica são regiões do prosencéfalo basal (McCarley R 2007).

Durante o sono NREM, neurónios no córtex e tálamo disparam de forma característica, oscilando a cada segundo ou mais entre um estado de hiperpolarização da membrana e silêncio neuronal, gerando lentificação e sincronismo da atividade elétrica cortical (Steriade et al. 2001; Chauvette et al. 2011). Uma das consequências desse perfil de disparo é um padrão de estabilidade dos neurónios talâmicos e corticais durante o sono NREM, o que dificulta que a informação sensorial recebida pelo tálamo seja retransmitida ao córtex desconectando o indivíduo do ambiente (Dleini et al. 2015). Essa condição associa o sono de ondas lentas ao sono profundo, já que quanto maior a sincronicidade e mais lentas forem as ondas, maior será a intensidade de um estímulo necessário para causar o despertar (Ernis et al. 2010).

### **Neurobiologia do sono REM**

O sono de movimento rápido dos olhos (REM) é gerado e mantido pela interação de uma variedade de sistemas de neurotransmissores no tronco cerebral, prosencéfalo e hipotálamo. Foi postulado que neurónios colinérgicos desempenham um papel na iniciação do sono REM e no controle da atonia motora. Dentro desses, circuitos neuronais do núcleo pontino encontram-se ativos e regulam o sono REM e suas características definidoras, como paralisia muscular e ativação cortical (McCarley R 2007).

## **Processos que governam o sono: Processo circadiano e processo homeostático**

Dois processos distintos atuam no controle do sono e da vigília, o processo circadiano, ou processo C e o processo homeostático, ou processo S. Esses dois processos são determinados por mecanismos independentes, mas que de forma paralela e sincronizada fazem o controle do ciclo sono-vigília, promovendo o sono no momento em que tais processos entram em convergência (Scharf et al., 2008).

O fator homeostático está relacionado com o aumento da propensão de sono desencadeada pela fadiga relacionada ao tempo de vigília (Scharf et al., 2008). Após um longo período de vigília, a pressão para sono de ondas lentas também aumenta, e os possíveis mecanismos que determinam o processo homeostático do sono podem refletir a ocorrência de substratos metabólicos que refletem acúmulos de substâncias geradas durante os processos de vigília no cérebro (Feinberg et al. 1978), ou que estaria relacionado ao nível de um composto endógeno do sono que é eliminado ou inativado durante o sono (Borbély et al. 1981). Foi sugerido que o sono de ondas lentas, em última análise, reflete o esgotamento progressivo de glicogénio durante a vigília, que desencadeia a acumulação de adenosina no córtex cerebral e o subsequente desencadeamento de hiperpolarização dos neurónios corticais e propensão ao sono (Benington e Heller 1995). Há evidências de que a acumulação de adenosina no prosencéfalo basal e outras regiões do cérebro são pelo menos um dos mecanismos pelos quais o cérebro monitoriza a duração da vigília (Scharf et al. 2008).

Após o início da noite, iniciam-se os ciclos de sono, que se caracterizam pela alternância entre os estágios de sono com duração em torno de 1,5 horas cada ciclo, perfazendo em média cinco ciclos por noite. Tal alternância entre os estágios inicia-se pelo N1, posteriormente N2 até o N3, dando finalmente lugar ao REM e novamente retornando ao N1, sendo que na primeira metade da noite a duração dos períodos de N3, ou sono de ondas lentas é maior que a duração dos períodos de REM, fenómeno que se inverte na segunda metade da noite. Essa maior concentração de sono N3 na primeira metade da noite pode estar diretamente relacionada aos processos homeostáticos do sono, que induz a um aumento de pressão de sono NREM na medida em que a vigília se prolonga, e em seguida começa a se dissipar ao longo da ocorrência do sono de ondas lentas, dando lugar ao sono REM. É provável que vários grupos neuronais possam transmitir o sinal de sono homeostático que é crucial para controlar necessidade de sono através de diferentes sinais, garantindo flexibilidade do sistema (Oh J. et al 2019).

Outra hipótese sugere que o que está sendo acumulado durante a vigília e reduzido durante o sono não é realmente uma molécula, mas a força sináptica geral de muitos circuitos

neurônais, os quais aumentam durante a vigília por causa da aprendizagem e precisam ser restaurados durante o sono para evitar o alto custo da plasticidade e do aumento da necessidade de energia utilizada pelas células, saturando a capacidade de aprender (Tononi e Cirelli 2014). De acordo com essa visão, o sono de ondas lentas aumenta após vigília prolongada principalmente porque os neurônios são mais fortemente conectados uns aos outros durante a vigília, culminando por disparar em alta sincronia no início do sono (Vyazovskiy et al. 2009). O aumento na quantidade de ondas lentas após uma longa vigília também pode resultar de um número maior de neurônios simultaneamente recrutados para a oscilação lenta, consistente com o fato de que ondas lentas são maiores e mais globais. Ao longo do sono, a quantidade de ondas lentas diminui porque a normalização sináptica leva a conexões mais fracas (Tononi e Cirelli 2014). Simulações de computador também mostraram que, no decurso do sono, o declínio progressivo na amplitude e o aumento da frequência das ondas podem ser explicadas por um aumento gradual de tónus neuromoduladores excitatórios, tornando os neurônios menos estáveis (Feinberg et al. 1978).

De qualquer forma esses mecanismos discutidos acima que poderiam explicar o aumento de sono de ondas lentas após a vigília prolongada, como acumulação de adenosina, aumento da força sináptica e diminuição do tónus excitatório não são mutuamente exclusivos e podem contribuir simultaneamente ao processo homeostático, já que as alterações na plasticidade neuronal muitas vezes estão relacionadas com interações entre neuromoduladores como acetilcolina e noradrenalina. Acrescenta-se a isso que a alternância entre sono NREM para o REM depende da expressão de células que libertam acetilcolina, e o retorno para o sono NREM depende da libertação de noradrenalina e serotonina (Deboer 2015).

O outro processo que regula o ciclo sono-vigília é o processo circadiano. Esse sistema depende da interação entre fatores ambientais e fatores internos para manter o seu ajuste. O relógio biológico (fator interno) que controla esse ritmo encontra-se no núcleo supraquiasmático, no hipotálamo, acima do terceiro ventrículo. O núcleo supra quiasmático exerce controle sobre a glândula pineal na libertação de melatonina, hormona responsável pela ciclagem circadiana do ciclo sono-vigília. Além disso, o núcleo supra quiasmático estabelece ligações com a hipófise, participando da formação de um outro importante eixo hormonal, o hipotálamo-hipófise-supra-renal, o qual é fundamental importância no controle de diversos sistemas, como produção de cortisol e outros processos biológicos do corpo que também flutuam no decorrer dos ritmos diários, como a temperatura corporal, a pressão sanguínea, produção de urina, níveis de hormonais, crescimento de pelos, taxas metabólicas e controle das

funções autónomas. Os seres humanos possuem um ciclo de sono-vigília com duração de um pouco mais de 24 horas, e esse pequeno desajuste é permanentemente reajustado por sinais externos, ou *zeitgebers*, do alemão, aquilo que impõe o tempo, mantendo a pontualidade do marcador. O núcleo supraquiasmático recebe inervação direta da retina, cuja função é sincronizar os ritmos circadianos através da luz, que se caracteriza por ser o principal *zeitgeber*. Existem outros *zeitgebers* secundários, como variações de temperatura, humidade e sons, que podem cooperar no ajuste do relógio biológico. Em livre curso, isto é, na ausência de *zeitgebers*, os ciclos tendem a se atrasar a cada dia, já que o dia do relógio biológico natural tem duração um pouco maior do que o dia de rotação da terra (Priyattam J. et al 2017).

Em relação à arquitetura do sono, o sono REM parece sofrer mais influência do processo circadiano, não havendo nenhum marcador estabelecido da homeostase do sono REM. Em contraste, o sono de ondas lentas que caracteriza o terceiro estágio do sono NREM, é um marcador sensível da intensidade e necessidade de sono, e é determinado pelo processo homeostático. No que tange à duração dos episódios de sono NREM e de sono REM, é determinada pelo ritmo circadiano, enquanto a intensidade de sono NREM é determinada pelo processo homeostático. Independente de sua intensidade, o processo circadiano determina a duração do sono NREM, sinalizando o seu término em cada período e dando início do sono REM (Yasenkov e Deboer 2012).

Ainda com relação à interação do processo S versus processo C, é importante ressaltar o papel da melatonina no equilíbrio dessa relação. De forma simplificada, as 24 horas do dia são divididas entre 16 horas de vigília e 8 horas de sono. Durante essas 16 horas de vigília é importante que as funções neurocomportamentais sejam mantidas. Essa manutenção ocorre porque o marca-passo circadiano se opõe ao aumento da pressão de sono desencadeada pelos processos homeostáticos durante o decorrer do dia. Ao anoitecer, após o aumento noturno da melatonina, os processos circadianos e homeostáticos, enfim, entram em convergência, havendo aumento máximo da pressão de sono, coincidindo com os níveis máximos de melatonina, havendo diminuições marcantes na função neurocomportamental e geração do início do sono (Dijk e Czeisler, 1994). Dessa forma, quando chega a hora habitual de dormir e os dois processos estão na mesma direção, ocorre acentuado aumento da sonolência e seus correlatos eletrofisiológicos. Paralelamente a toda a cascata de alterações fisiológicas características do período de sono também é iniciada. A elevação dos níveis de melatonina endógena noturna parece ser o protagonista desse processo de sincronização (Kräuchi et al, 1999).

### 3. Sistema endocanabinóide e sono

A pesquisa científica sobre o sistema endocanabinóide sofreu um atraso com relação a outros sistemas de neurotransmissores, como por exemplo o sistema de opióides endógenos que, similarmente se seguiu à purificação do ópio extraído da seiva da papoula. No caso da cannabis, esta possui um constituinte ativo que está presente em um extrato oleoso e que por muito tempo não houve tecnologia apropriada que permitisse sua purificação e extração de suas substâncias ativas. Os avanços só se tornaram possíveis após o isolamento do delta-9 tetrahydrocannabinol (THC), o principal componente ativo da planta, tendo sido realizada em 1973, sendo que a maioria dos outros fitocannabinóides foram isolados da planta logo em seguida e suas estruturas foram elucidadas. Dentre eles encontram-se o canabidiol (CBD), canabinol (CBN) e  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarina ( $\Delta^9$ -THCV), o ácido canabidiólico e o  $\Delta^8$ -THC (Mechoulam, 1998).

Apesar do foco da maioria dos estudos se direcionar para o THC, a cannabis possui centenas de fitocannabinóides e é difícil afirmar que apenas o THC é o responsável pelo aumento do sono NREM. Já foi determinado que alguns desses compostos podem ter um efeito sinérgico. De facto, Carlini et al (1974), com base em estudos em animais e humanos, determinaram que os extratos de Cannabis produziam efeitos duas ou quatro vezes maiores do que o esperado pelo seu teor de THC (Carlini et al., 1974). Este efeito sinérgico foi descrito como efeito *entourage* (Mechoulam e Ben-Shabat, 1999). De facto, os terpenos presentes na Cannabis demonstraram induzir efeitos sedativos. Por exemplo, terpenos como  $\alpha$ -pinene, mirceno e fitol, exercem seu efeito atuando no sítio de ligação dos benzodiazepínicos aos receptores GABA A, enquanto outros como limonene parecem atuar nos recetores A2 de adenosina; ambos os locais de ação têm sido relacionados à regulação do sono. Consequentemente, novos estudos são necessários para elucidar a importância relativa do THC e dos terpenos no efeito promotor do sono NREM (Mondino A., 2019)

A compreensão do sistema endocanabinóide no ciclo circadiano está a evoluir gradualmente (Pava MJ et al 2016). Tanto os endocanabinóides como os NAEs apresentam ritmicidade circadiana, tendo sido sugerido que os endocanabinóides regulam ou estão sob a regulação do ciclo. Neste contexto, foram identificadas em roedores variações espontâneas dos receptores CB1 ao longo do ciclo claro-escuro, revelando que a expressão desse recetor é maior às 13h e menor às 1h. Os recetores CB2 não parecem sofrer flutuações diurnas. Em relação aos

ligantes, anandamida e 2-AG também apresentam flutuações diurnas no hipocampo, ponte, hipotálamo, córtex pré-frontal, corpo estriado, núcleo accumbens e LCR, embora em direções opostas. Enquanto os níveis de anandamida são maiores durante o período claro, os de 2-AG são maiores durante a fase escura do ciclo. A atividade de FAAH, MAGL, enzimas que hidrolisam AEA, ODA e 2-AG, e DAGL que sintetiza 2-AG, também flutua ao longo do dia. Essas alterações podem depender de flutuações na expressão dos genes codificadores dessas moléculas ao longo do ciclo claro-escuro. Por exemplo, as flutuações do mRNA dos receptores CB1 tem seu pico mais alto às 21h, sugerindo um atraso entre a expressão do mRNA e a síntese proteica de cerca de 16 horas. mRNA de receptores CB2 não foram detetadas flutuações. Além disso, AEA, PEA e 2-AG foram detetados na glândula pineal de ratos wistar e receptores CB1 foram encontrados no núcleo supra quiasmático (SCN) de hamsters, regiões estas sabidamente relacionadas com o ciclo circadiano. Outro achado importante foi que a administração sistêmica de CP55940 (um agonista CB1) interferiu na geração do avanço de fase induzido pela luz nesses animais. Em humanos, variação de 2-AG diurna também foi descrita, sendo que os picos ocorrem durante o dia, em torno das 13h e a concentração mínima ocorre durante a madrugada, às 2h (Prospero-Garcia et al, 2016).

A inibição farmacológica da MAGL, que gera um aumento nas concentrações de 2-AG no cérebro, promove efeitos de indução de sono em ratos, incluindo aumentos no sono REM e NREM (Wyatt RM et al 2020). A anandamida está associada com a promoção de sono. O seu aumento provocado pela inibição farmacológica da FAAH, a enzima responsável pela sua degradação, aumenta a quantidade de sono de ondas lentas (estágio N3 do sono NREM) (D'Souza et al 2019). Além disso, murganhos sem a *fatty acid amide hidrolase* (FAAH), a enzima predominantemente responsável pela degradação da anandamida, exibe maior quantidade de sono (S. Huitron-Resendiz et al 2004).

Dados pré-clínicos mostram que a anandamida exerce o aumento do sono de ondas lentas possivelmente através de aumento nas concentrações extracelulares de adenosina (Murillo-Rodriguez et al 2003), e que os efeitos da promoção de sono da anandamida são bloqueados pela co-administração de um agonista inverso dos receptores CB1, o rimonabanto, indicando um mecanismo específico relacionado a CB1 e anandamida na geração de sono (Murillo-Rodriguez et al, 2001).

O transportador de membrana de anandamida (AMT) exibe um papel nas funções neurobiológicas através da modulação da anandamida (Gertsch, 2015). A evidência disponível

indica que injeções de bloqueador de AMT conhecido como VDM-11 promovem sono em ratos (Murillo-Rodriguez et al., 2008, 2013).

O hipocampo é uma das estruturas com altas concentrações de CB1, e a modulação dos endocanabinóides parece ser crucial para a sua atividade, além disso, há evidências substanciais da atividade hipocampal durante o sono, sendo o principal sinal dessa atividade é o ritmo teta. Além disso, esta evidência indica que processamentos de informações relacionados com a memória ocorrem durante o sono. Estes dados sugerem uma relação entre a atividade hipocampal e o sono, as quais precisam ser melhor definidas (Brankack et al, 2009).

Os dados disponíveis sugerem que o sistema endocanabinóide contribui para o controle do sono. No entanto, o papel dos seus componentes na regulação da homeostase do sono é por vezes contraditório e mal compreendido. A anandamida, apesar de se ter demonstrado o seu papel na indução de sono, o seu aumento através da inibição da FAAH em alguns estudos predispôs à vigília. Outro exemplo é a falta de explicação do motivo pelo qual o 2-AG pode ter efeito indutor de sono em doses mais baixas e tal efeito desaparecer em concentrações maiores (Pérez Morales, 2013). A complexidade da rede neurobiológica que regula o ciclo sono-vigília, incluindo componentes neuroanatómicos, neuroquímicos e moleculares representa um grande desafio para os investigadores. Paralelamente, uma complicação adicional à essa compreensão tem sido apontada justamente devido a fatores circadianos e homeostáticos, que são processos paralelos e influenciam os processos do sono de forma conjunta (Borbely et al., 2016).

Assim, a presente revisão tem o objetivo de rever de modo sistemático o papel de cada elemento do sistema endocanabinóide na regulação do ciclo sono-vigília através da manipulação farmacológica desse sistema e a medição dos parâmetros de sono através de EEG/EMG.

Os modelos animais figuram como uma boa opção para o objetivo deste estudo, pois ratos se apresentam em grande disponibilidade e possuem semelhança com seres humanos em termos de neurocircuitos e neuroquímica do sono. Além disso, os roedores são passíveis de registo de sinais de eletroencefalograma por meio de elétrodos minimamente invasivos colocados através do crânio num procedimento cirúrgico relativamente simples. Esses sinais de EEG fornecem dados fortes e constantes para quantificação da atividade cortical, incluindo vigília, sono de ondas lentas e sono REM.

Existem, porém, algumas observações importantes a serem consideradas nesses estudos que utilizam roedores para elucidar os mecanismos neurobiológicos dos fenômenos do sono. Murganhos e ratos tem o seu ciclo de sono polifásico com episódios mais curtos e mais frequentes de SWS e REM, em comparação com humanos que normalmente apresentam sono monofásico com períodos de sono mais consolidados (Campbell e Tobler, 1984).

Além disso, ratos passam mais tempo dormindo (12–15 h) do que humanos (7–8 h) por dia. Os ratos também são mais ativos à noite, enquanto os humanos são quase estritamente diurnos. Apesar das diferenças no tempo e na arquitetura do sono, as aparentes semelhanças com o sono humano tornaram o uso de modelos animais fundamentais para aprofundar a compreensão da neurobiologia do sono e muitos avanços importantes nos tratamentos para patologias do sono, incluindo insônia (Wisor et al., 2009), apneia do sono (Yamauchi et al., 2010), além do papel dos neurônios orexígenos na narcolepsia (Chemelli et al., 1999), podem ser atribuídos a pesquisas pré-clínicas usando murganhos e ratos.

Através da observação dos efeitos das drogas que atuam mediante os principais componentes do sistema endocanabinóide sobre o sono, incluindo os recetores, os ligantes internos e as enzimas, além do transportador de anandamida, pode-se dar mais um passo na compreensão do papel desse sistema no controle do sono-vigília. Para a realização desse trabalho foi formulada a seguinte pergunta: Quais são os efeitos observados no ciclo sono/vigília através da manipulação farmacológica do sistema endocanabinóide em estudos animais?

A revisão tem o objetivo de rever de modo sistemático o papel de cada componente do sistema endocanabinóide através de sua manipulação farmacológica e da medida dos efeitos no sono através de EEG/EMG. As drogas utilizadas são os fitocanabinóides naturais como THC e CBD; agentes sintéticos agonistas e antagonistas de recetores CB1; ligantes endógenos de recetores CB1 como anandamida e 2-AG, Inibidores enzimáticos da FAAH, da MAGL e da DAGL1, inibidores de recaptção de anandamida como VDM-11, agonista PAR1, além de outros compostos como a oleamida, considerada nesse trabalho pelo fato de possuir estrutura química estruturalmente relacionada à anandamida e por, no mínimo, interagir com o sistema endocanabinóide, além de seu relevante efeito sobre o sono. Outras drogas como N-Arachydonil srotonina (AA-5HT), um inibidor da FAAH e bloqueador de recetores vanilóides também foram utilizadas. Tais drogas são administradas por diversas vias diferentes, tanto sistemicamente, através de injeções intraperitoniais, como localmente, por injeções em regiões cerebrais específicas, na tentativa de elucidar os mecanismos através dos quais atuam.

## **4. Metodologia**

A revisão sistemática de literatura foi conduzida de acordo com o manual proposto pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (PRISMA) (Page et al., 2020).

### **4.1 Condição ou domínio sendo estudado**

O sistema endocanabinóide é composto por recetores CB1, presentes no sistema nervoso central, e CB2, encontrados principalmente nos tecidos do sistema imunológico. Os ligantes internos incluem os derivados lipídicos anandamida (AEA) e ácido araquidonilglicerol (2-AG). Outro componente importante do sistema é o AMT, o transportador de membrana putativo da anandamida. O sistema endocanabinóide desempenha um papel na neuromodulação de vários grupos neuronais, incluindo a regulação de várias funções fisiológicas, como o ciclo sono-vigília.

Formulação dos critérios de inclusão e exclusão dos artigos seguindo os componentes do acrônimo PICO, definidos conforme o seguinte:

**População a ser estudada:** Ratos (todas espécies e sexo)

**Intervenção:** Para este estudo foram considerados todos os tipos de intervenção farmacológica sobre o sistema endocanabinóide em modelos animais (ratos).

**Controle:** Placebo (tratado com veículo)

**Outcomes resultados:** Medidas de sono/vigília através de EEG/EMG, dentre elas: Tempo total de sono, tempo total de vigília, tempo total ou percentagem de sono REM, tempo total ou percentagem de sono NREM, latência do sono, latência de sono REM e latência de sono NREM.

**Resultados adicionais:** Outras medidas, como os níveis de neurotransmissores foram registadas.

### **4.2 Critérios de inclusão**

- 1- Estudos feitos com ratos (qualquer espécie e sexo)
- 2- Intervenção realizada pela administração de agentes farmacológicos que interajam com o sistema endocanabinóide em qualquer dose, via de administração e horários
- 3- Controle com animais tratados com veículo e/ou sham
- 4- Resultados que avaliam os padrões de alterações do sono / vigília analisados por EEG / EMG

### 4.3 Critérios de exclusão

- 1-Artigos não primários (artigos de revisão / capítulos de livros)
- 2-Modelos de distúrbios do sono

Os bancos de dados utilizados para esta revisão incluem PubMed, SCOPUS, PsyInfo, Web of Science e Cochrane Library. Além disso, serão incluídos literatura cinzenta que interessa estudar.

Os descritores utilizados para a construção da equação de pesquisa foram os seguintes:

- 1) População:

Não foi utilizado nenhum termo por motivo de restrição no número de artigos encontrados caso introduzido qualquer termo na população

- 2) Intervenção:

PubMed Termos Mesh	Scopus (Não possui termos mesh)	Web of Science Não possui termos mesh)	Cochrane Termos mesh	PsyInfo
cannabinoids			Cannabinoids	cannabinoids
Cannabis			Cannabis	cannabis
dronabinol			Dronabinol	cannabidiol
endocannabinoids			Endocannabinoids	tetrahydrocannabinol
rimonabant			Cannabidiol	Rimonabant
Hashish			Rimonabant	Hashish

			Hashish	Marijuana
		<b>Descritores</b>		
<b>PubMed</b>	Scopus	Web of science	Cochrane	PsyInfo
<b>cannabinoids</b>	Cannabinoids	cannabinoids	cannabinoids	cannabinoids
<b>Cannabis</b>	Cannabis	cannabis	Cannabis	cannabis
<b>dronabinol</b>	Dronabinol	dronabinol	dronabinol	dronabinol
<b>endocannabinoids</b>	endocannabinoids	endocannabinoids	endocannabinoids	endocannabinoids
<b>anandamide</b>	Anandamide	anandamide	anandamide	anandamide
<b>2Arachidonoylglycerol</b>	2Arachidonoylglycerol	2Arachidonoylglycerol	2Arachidonoylglycerol	2Arachidonoylglycerol
<b>2 AG</b>	2 AG	2 AG	2 AG	2 AG
<b>URB602</b>	URB602	URB602	URB602	URB602
<b>Oleamide</b>	Oleamide	Oleamide	Oleamide	Oleamide
<b>CB1 agonists</b>	CB1 agonists	CB1 agonists	CB1 agonists	CB1 agonists
<b>FAAH inhibitor</b>	FAAH inhibitor	FAAH inhibitor	FAAH inhibitor	FAAH inhibitor
<b>MAGL inhibitor</b>	MAGL inhibitor	MAGL inhibitor	MAGL inhibitor	MAGL inhibitor
<b>Tetrahydrocannabinol</b>	Tetrahydrocannabinol	Tetrahydrocannabinol	Tetrahydrocannabinol	Tetrahydrocannabinol
<b>THC</b>	THC	THC	THC	THC
<b>cannabidiol</b>	Cannabidiol	cannabidiol	cannabidiol	cannabidiol
<b>CBD</b>	CBD	CBD	CBD	CBD
<b>Synthetic cannabinoids</b>	Synthetic cannabinoids	Synthetic cannabinoids	Synthetic cannabinoids	Synthetic cannabinoids
<b>Nabilone</b>	Nabilone	nabilone	Nabilone	nabilone
<b>Sativex</b>	Sativex	sativex	Sativex	sativex

<b>nabiximols</b>	Nabiximols	nabiximols	Nabiximols	nabiximols
<b>Marinol</b>	Marinol	marinol	Marinol	marinol
<b>Endocannabinoid system</b>	Endocannabinoid system	Endocannabinoid system	Endocannabinoid system	Endocannabinoid system
<b>rimonabant</b>	Rimonabant	rimonabant	rimonabant	rimonabant
<b>SR141716</b>	SR141716	SR141716	SR141716	SR141716
<b>Marijuana</b>	Marijuana	Marijuana	Marijuana	Marijuana

Tabela 1: Descritores para Intervenção

3) Comparador:

Não utilizado pelo mesmo motivo da população.

4) Outcomes:

PubMed	SCOPUS	Web of Science	Cochrane	PsyInfo
		termos	Mesh	sleep
Sleep			Sleep	Rem sleep
Sleep, REM			Sleep, REM	sleep deprivation
Sleep Stages			Sleep Stages	Sleep, slow-wave
Sleep deprivation			Sleep deprivation	Sleep latency
Sleep, slow-wave			Sleep, slow-wave	wakefulness
Sleep latency			Sleep latency	sleepness
polysomnography			wakefulness	polysomnography
Electroencephalography				Sleep onset

				Theta rythm
				Electroencephalograph delta rythm
				Electrical activity
				Sleep-wake cycle
				NREM sleep
	<b>Descritores</b>			
Sleep	Sleep	sleep	Sleep	Sleep
Wake	Wake	wake	Wake	Wake
Rapid eyes movement	Rapid eyes movement	Rapid eyes movement	Rapid eyes movement	Rapid eyes movement
NREM stage	NREM stage	NREM stage	NREM stage	NREM stage
Non-Rapid eyes movement	Non Rapid eyes movement	Non-Rapid eyes movement	Non-Rapid eyes movement	Non-Rapid eyes movement
wakefulness	Wakefulness	wakefulness	wakefulness	wakefulness
Polysomnography	Polysomnography	Polysomnography	Polysomnography	Polysomnography
Theta rythm	Theta rhythm	Theta rythm	Theta rhythm	Theta rhythm
Electroencephalo*	Electroencephalo *	Electroencephalo *	Electroencephalo *	Electroencephalo*
EEG	EEG	EEG	EEG	EEG
Electroencephalogr am	Electroencephalog ram	Electroencephalog ram	Electroencephalog ram	Electroencephalogram
Delta rythm	Delta rhythm	Delta rythm	Delta rythm	Delta rhythm
Electrical activity	Electrical activity	Electrical activity	Electrical activity	Electrical activity
Sleep-wake cycle	Sleep-wake cycle	Sleep-wake cycle	Sleep-wake cycle	Sleep-wake cycle

Tabela 2: Descritores para *outcomes*

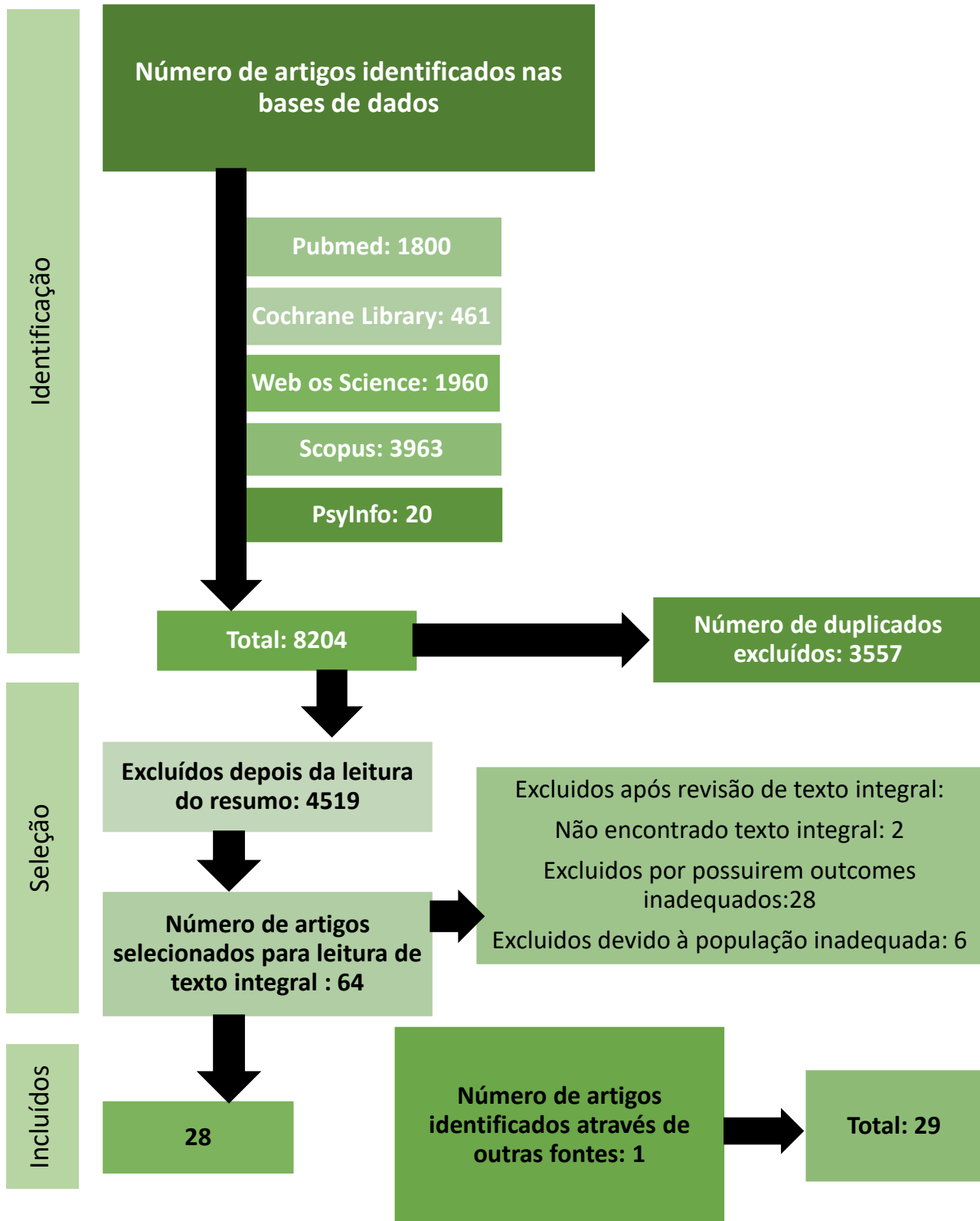


A seguir foi feita a adaptação dessa a equação para as fórmulas para pesquisa nas outras bases de dados consideradas (Anexo 1).

#### 4.4 Resultados

Após todas as equações montadas e as buscas realizadas chegamos aos seguintes resultados:

Fluxograma: PRISMA



Fluxograma 1: Fluxograma PRISMA

### 4.3 Seleção de artigos

Foi realizada então a eliminação de artigos duplicados na plataforma RAYYAN

Total duplicado: 3553

Posteriormente, foi realizada por dois revisores independentes, a primeira fase de seleção. Os casos em discordância foram resolvidos por reunião de conciliação.

Dos 4647 artigos restantes foi feita eliminação pelo título e *abstract*, resultando em 64 artigos para seleção através de leitura de texto integral. O texto integral de 2 artigos não foi encontrado.

Após a realização desta etapa 28 artigos foram incluídos, mais 1 artigo encontrado de outras fontes, resultando em 29 artigos no total para fazerem parte da revisão.

### 4.5 Estratégia para Extração e síntese dos dados

Dois revisores independentes extraíram os dados de textos e tabelas.

Os dados extraídos dos estudos incluíram o autor, o ano, o país, o tipo de estudo, número de indivíduos, espécie e peso, duração da intervenção, agente farmacológico, via de administração, dose, efeitos sobre o sono e vigília e tempo e horário de registro.

Foram também, quando possível extraídos os valores do *P value*, estatística do teste e médias com erro padrão da média para cada resultado de interesse.

Após a extração dos dados e a avaliação da qualidade dos estudos e do risco de viés, os dados foram resumidos em tabelas que incluem as principais descobertas de cada estudo. As tabelas também resumem a avaliação do risco de viés.

A Colaboração Cochrane desenvolveu uma ferramenta *Risk of Bias (RoB)* para estabelecer consistência e evitar discrepâncias na avaliação da qualidade metodológica dos RCTs. Um procedimento semelhante no campo da experimentação animal foi elaborado através de uma ferramenta para estudos de intervenção animal (ferramenta *RoB SYRCLE*). Essa ferramenta é baseada na ferramenta *Cochrane RoB* e foi ajustada para aspectos de viés que desempenham um papel específico em estudos de intervenção em animais, a fim de aumentar a transparência e aplicabilidade (Hooijmans, et al, 2014).

Todos os itens da ferramenta podem ser justificados do ponto de vista teórico, mas nem todos os itens foram validados por pesquisas empíricas, e embora a validação seja importante,

não é esperado fornecer evidências empíricas para todos os itens desta ferramenta num futuro próximo, pois isso exigiria grandes estudos comparativos, os quais não estão sendo realizados ou programados. Essa ferramenta compreende 10 domínios cobrindo seis tipos de vieses: geração de sequência, características da linha de base, ocultação de alocação, alojamento aleatório, cegamento do pesquisador, avaliação de resultados aleatórios, cegamento do avaliador de resultados, dados de resultados incompletos, relatório seletivo de resultados e "outras fontes de viés". Dados sobre o tempo e/ou fases do ciclo claro/escuro também foram extraídos como um indicador adicional da qualidade do estudo.

Foi realizada uma síntese narrativa dos achados dos estudos incluídos, estruturados em torno do tipo de intervenção (tipo de droga utilizada, via de administração e dosagem) e dos resultados.

As variáveis de interesse são tempo total de sono, tempo total de vigília, percentagem de sono REM e NREM, latência do sono e latência do sono REM.

Caso os estudos usem o mesmo tipo de intervenção e comparador, com a mesma medida de resultado, será realizada uma meta-análise de efeitos aleatórios, utilizando diferenças de médias em um segundo momento do estudo.

Foi realizada uma síntese narrativa formal após a extração dos dados e a avaliação do risco de viés, tendo sido os dados resumidos em tabelas que incluem os principais resultados de cada estudo. As tabelas também resumem a avaliação do risco de viés.

É importante ressaltar que revisões sistemáticas (RSs) de estudos experimentais em animais ainda não são uma prática comum, mas o esforço em se conduzir tais RSs tem aumentado constantemente. Os estudos de intervenção em animais diferem dos ensaios clínicos randomizados (RCTs) em muitos aspectos e a metodologia para RS de ensaios clínicos precisa ser adaptada e otimizada para estudos de intervenção em animais.

Usar a literatura experimental existente em animais também é um desafio porque a qualidade atual dos relatórios de estudos em animais é pouco satisfatória; muitos detalhes sobre as condições de alocação ou a avaliação dos resultados muitas vezes não são relatados. No entanto, a ideia da publicação desta ferramenta (*SYRCLE*) é necessária para aumentar a conscientização sobre a importância de melhorar a qualidade dos estudos com animais e somar à experiência prática dos autores que usam essa ferramenta (Hooijmans, et al, 2014).

As primeiras experiências com esta ferramenta foram positivas, e os utilizadores consideraram a ferramenta *RoB SYRCLE* muito útil. A variabilidade inter examinador Kappa, que é a estatística utilizada para avaliar a discrepância entre avaliadores, variam entre 0,6 e 19.

Os usuários também indicaram que tiveram que julgar muitos itens como “risco de viés pouco claro”, tendo em vista que detalhes experimentais sobre materiais e métodos em investigação em animais é muito pobre (Hooijmans, et al, 2014).

O que se espera, portanto, é que o uso desta ferramenta tenha um papel de consciencializar os investigadores e melhorar a qualidade do relato de detalhes experimentais essenciais em estudos com animais.

A ampla adoção e implementação desta ferramenta facilitará e melhorará a avaliação crítica de evidências de estudos em animais. Isso pode, posteriormente, aumentar a eficiência de traduzir os resultados da pesquisa com animais na prática clínica. Além disso, essa ferramenta deve ser testada por autores de RSs de estudos de intervenção animal para testar sua aplicabilidade e validade na prática (Hooijmans, et al, 2014), conforme tabela.

Tabela 3: Risco de enviesamento dos estudos (ANEXO 2)

De acordo com o comentário acima, não é surpresa que os estudos revistos, possuam problemas de enviesamento, o que não invalida e nem desvaloriza a revisão, mas aponta para a necessidade de aperfeiçoamento metodológico dos estudos pré-clínicos

## **5. Observações preliminares e descrição dos estudos**

Todos os estudos são controlados e utilizam substâncias químicas sintéticas (agonistas e antagonistas CB1, inibidores de enzimas, inibidores de transportador de anandamida, agonista PAR1) ou naturais (CBD, flores de cannabis, anandamida, 2AG e Oleanida), que atuam farmacologicamente no sistema endocanabinóide.

Tais substâncias ainda podem ter a característica de serem específicas ou atuar em dois ou mais alvos, e nesse último caso a análise do papel de cada componente sobre o ciclo sono-vigília torna-se mais complexa, seguindo as tabelas de caracterização dos artigos e de resultados da intervenção.

Número	Revista	Autor	País	Ano	Sujeitos
1	Brain Research	Murillo-Rodriguez	México	1998	Wistar male rats n=18
2	Neuropharmacology and neurotoxicology	Eric Murillo-Rodriguez	México	2001	Wistar male rats n=80 280-320g n=80
3	Sleep	Eric Murillo-Rodriguez	México	2003	male F344 rats n = 6
4	Pharmacology, Biochemistry and Behavior	Mónica Méndez-Díaz	México	2013	Wistar male rats (250-350 g) n=80
5	Pharmacology, Biochemistry and Behavior	Herrera-Solis	México	2010	male wistar rats, (250–280 g) n=102
6	Neuroscience Letters	Rueda-Orozzoco	México	2010	Male Wistar rats (280–320 g) n=25
7	Pharmacology, Biochemistry and Behavior	Marcel Pérez-Morales	México	2013	male wistar rats n=72
8	NeuroReport	Marcel Perez-Morales	México	2012	wistar rats n=40
9	Sleep disorders	Anushka V. Goonawardena	UK	2011	male Lister-Hooded rats (250-300g) n=16
10	Physiology & behavior	Puskar	Índia	2021	male wistar rats n=21
11	Life sciences	Santucci	França	1996	male sprague-dawley rats n=96

12	Neuropharmacology	Laszlo Tothfalusi	Hungria e UK	2019	Wistar rats n = 6
13	BMCneurosci	Bogáthy	Hungria	2019	wistar rats n=6
14	European journal of Pharmacology	Murillo-Rodríguez	México	2007	male wistar rats (250–300 g) n=130
15	PLoS ONE	Murillo-Rodríguez	México	2011	male wistar rats (250–300 g) n=120
16	Frontiers in Molecular Neuroscience	Murillo-Rodríguez	México	2017	wistars rats (250- 300g) n=50
17	The of journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics	Ryan M. Wyatt	USA	2020	male sprague- dawley rats (350- 450 g) n=15
18	NeuroReport	Mendelson	USA	1999	male sprague dawley rats(225±250 g) n=5
19	Neuroreport	Mendelson	EUA	1999	sprague-dawley rats 250g n=7
20	Experimental Neurology	Salvador Huitron- Resendiz	EUA	2001	sprague dawley rats N=16
21	Arch Pharmacol	Jing-Yu Yang	China	2003	male wistar rats (250-350 g) n=60
22	Neuroscience	Murillo-Rodríguez	México	2008	wistar rats (250-300g) n=24
23	Physiology & Behavior	Murillo -Rodriguez	México	2013	wistar rats n=48

24	Pharmacology, Biochemistry and Behavior	Alejandra Mondino	México	2019	male wistar rats (270–300 g) n=12
25	Psychopharmacology	Jaime M. Monti	Brasil	1970	male wistar rats (250-300 g)
26	Life Sciences	Murillo-Rodríguez	México	2011	wistar rats n=35
27	Neuroscience	Murillo-Rodríguez	México	2008	male wistar; (250 g–300 g) n=48
28	Brain Research bulletin	Murillo Rodriguez	México	2020	male wistar rats (250–300 g; N = 24
29	FEBS Letter	Murillo-Rodríguez	México	2006	male wistar rats (250–300 g) n=50

Tabela 4: Tabela de Caracterização de Artigos

Número	Intervenção	Resultados	Resultados adicionais
1	Administração (adm) intracerebroventricular (ICV) conforme o seguinte: 1- 5%, 5 µl, veículo (Veh) 2- Anandamida (AEA) (3.6 mnol) 3- Ácido aracdônico(AA), (3.6 mnol). Tempo de gravação 08:00 to 12:00	(AEA): aumento de sono de ondas lentas (SWS) e redução da vigília (W). A.A: aumento da W e redução de SWS. Aumento da latência do sono (LS) e Latência do REM (LR) não alterada	
2	Experiência 1: Adm ICV, conforme o seguinte: 1- Veh I 2- AEA (1.25 mcg/5mcl) 3- SR141716A (3 mcg/5 mcl)	AEA ICV reduziu W e aumentou tempo de NREM e REM. SR141716A isoladamente não altera significativamente os padrões de	

	<p>3- SR141716A (3 mcg/2.5ml) 15 min antes de AEA (1.25 mcg/2.5 ml).</p> <p>Experiência 2: Adm via núcleo tegmental pedúnculo pontino (PPTg) das mesmas substâncias e nas mesmas doses da experiência 1</p> <p>Experiência 3: Adm no PPTg conforme o seguinte:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- U73122 (9.2 mcg/5 mcl)</li> <li>2- U73122 (9.2 mcg/2.5 ml + AEA (1.25 mcg/ 2.5 mcl) após 15 min</li> <li>3- U73122 (9.2mcg/mcl)</li> <li>4- U73122 (9.2 mcg/0.5 microl) + ANA (1.25 mg/0.5 mcl) no PPTg.</li> </ol> <p>Adm na área medial pré-ótica (MPOA):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- veículo</li> <li>2- AEA (1.25 mcg/1mcl).</li> </ol>	<p>sono/vigília, entretanto quando é administrado 15 minutos antes da AEA bloqueou todos os efeitos produzidos pela AEA.</p> <p>Efeitos produzidos por AEA no PPTg é qualitativamente semelhante aos no ICV e o tamanho do efeito maior.</p> <p>SR141716A não induziu alterações quando administrado no PPTg, entretanto bloqueou as alterações causadas pela administração de AEA.</p> <p>U73122: A administração prévia desse composto previne as ações da AEA aplicados ICV e reduz NREM quando aplicado no PPTg</p> <p>Esse composto aplicado isoladamente não altera arquitetura do sono.</p> <p>AEA administrada no MPOA não modificou os padrões de sono vigília.</p>	
3	<p>Adm intraperitoneal (IP) da seguinte forma:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Veh</li> <li>2- AEA (10 mg/kg)</li> <li>3- SR141716A (1mg/kg) +,AEA (10mg/kg)</li> </ol> <p>gravação (7:00 AM - 12:00)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) AEA: Redução na vigília e aumento no SWS e Tempo total de às custas de SWS, Sem alterações de REM.</li> <li>2) SR141716A: aumento de W com redução no SWS</li> <li>3) SR141716A + AEA: abolição de aumento de SWS causado por AEA isolado</li> </ol>	<p>Aumento dos níveis de adenosina após aplicação de anandamida e redução dos níveis de adenosina após aplicação de SR141617A</p>
4	<p>Adm Entopeduncular conforme o seguinte:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- veh</li> <li>2- AEA (0.5 µg/0.5 µl)</li> <li>3- AM251 (1 µg/0.5 µl )</li> </ol>	<p>AEA aumentou REM e aumentou NREM</p> <p>AM251 aumentou o tempo em W, reduziu NREM e reduziu REM</p>	

		AM251 reduziu REM	
5	<p>Experiência 1</p> <p>Adm aguda:</p> <p>7 grupos (n=6 por grupo) foram administrados via ICV da seguinte forma:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Controle</li> <li>2- AEA (1 µg/5 µl)</li> <li>3- AEA2 (2 µg/5 µl)</li> <li>4- AEA4 (4 µg/5 µl)</li> <li>5- Oleamida(OLE) (6 µg/5 µl)</li> <li>6- OLE12 (12 µg/5 µl)</li> <li>7- OLE25(25 µg/5 µl).</li> </ol> <p>Polissonografia por 24h</p> <p>Experiência 2:</p> <p>Administração sub crónica e retirada:</p> <p>3 grupos foram administrados (n=6 por grupo) da seguinte forma por 15 dias sendo retirado no décimo quinto dia</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Controle</li> <li>2- AEA2 (2 µg/5 µl),</li> <li>3- OLE (25 µg/5 µl)</li> </ol> <p>Polissonografia por 24h</p> <p>No Décimo sexto dia as Drogas foram retiradas, administrado veículo e nova gravação por 24h para identificar sinais de abstinência.</p> <p>Experiência 3:</p> <p>Bloqueio de AEA e OLE por AM 251 agudo</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Controle</li> <li>2- AM251+AEA</li> <li>3- AM251+OLE</li> </ol> <p>Experiência 4:</p> <p>Bloqueio de AEA e OLE sub crónico:</p> <p>AEA e OLE durante 15 dias (n=6 por grupo) exatamente como descrito para a experiência 2 e no dia 15 AM25 foi administrado conforme o seguinte:</p>	<p>Adm aguda: AEA aumenta significativamente REM; Redução da vigília não significativa.</p> <p>OLE aumentou significativamente REM</p> <p>Adm subcrónica:</p> <p>AEA e OLE aumentam REM de forma significativa durante após a administração sub crónica. Nenhuma mudança foi documentada após a retirada das drogas</p> <p>AM251 bloqueou os efeitos sobre o REM induzidos por AEA e OLE agudamente e sub cronicamente</p>	

	<ul style="list-style-type: none"> <li>1- controle</li> <li>2- AM251+AEA</li> <li>3- AM251+OLE</li> </ul>		
6	<p>Adm Intra hipocampal conforme o seguinte:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>1- AEA 0.5 µ,g</li> <li>2- AEA1.0 µ,g</li> <li>3- AEA 4.0microg</li> <li>4- AEA1.0 µ,g +AM251 3.2 µ,g</li> <li>5- veículo</li> </ul> <p>Gravação por 4 horas nas fases clara e escura</p>	<p>Aumento de sono REM na fase escura induzido por AEA, mas não na fase clara.</p> <p>Bloqueio do aumento do REM por AM251</p>	
7	<p>Administração intra-hipocampal bilateral conforme o seguinte:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>1- veh</li> <li>2- 2-AG (0.01, 0.1 or 1 µg)</li> <li>3- AM251 (1.4 µg)</li> <li>4- AM251+ 2-AG</li> </ul> <p>Gravação por 24 horas</p>	<p>1) fase escura</p> <p>2-AG (0.01 µg) aumentou tempo de REM e frequência de episódios REM.</p> <p>As doses mais altas de 1 AG não induziram mudanças</p> <p>Não houve efeito sobre o sono do AM251 isolado na fase escura AM251 (1.4 µg) preveniu o aumento de REM induzido por 2-Ag , também preveniu o aumento nos episódios REM</p> <p>2) Fase clara</p> <p>2.1 2-AG não induziu mudanças significativas</p> <p>AM251 fase clara aumentou a vigília e reduziu REM</p> <p>AM251 + 2-AG (0.01 µg), aumentou W e reduziu SWS e REM</p>	
8	<p>Administração bilateral no hipotálamo lateral cobforme o seguinte:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>1- Veh</li> <li>2- S1820 (10 ou 100 ng)</li> <li>3- AM251 (1.4 microg)</li> <li>4- AM251 (1,4microg) 15 min antes de S1820 (10 ng)</li> </ul> <p>Gravação por 12 horas</p>	<p>S1820 (10ng) aumentou REM, reduziu o tempo total de W, reduziu a latência tanto para SWS quanto para REM.</p> <p>AM251 aumentou a latência de SWS e de REM SWS e REMS, mas não alterou a quantidade total de REM.</p>	

		<p>AM251 aumentou significativamente a vigília W, com redução significativa de SWS</p> <p>AM251 administrado 15 min antes de 10 ng de S1820 aumentou significativamente a vigília e reduziu significativamente SWS</p> <p>O aumento de REM induzido pela ativação de PAR1 foi bloqueado pela ativação do agonista inverso CB1R AM251</p> <p>100 ng de S1820 produziu um aumento significativo na vigília W e reduziu SWS</p>	
9	<p>Adm IP conforme o seguinte:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Veh</li> <li>2- WIN55, 212-2 (1.0 mg/kg)</li> <li>3- AM-251 (2.0 mg/kg)</li> <li>4- WIN-2 (1.0 mg/kg) + AM251 (2.0 mg/kg)</li> </ol> <p>Gravação por 6 horas a partir das 12h</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. WIN-2 aumentou NREM e reduziu vigília</li> <li>2. AM51 sozinho não apresentou efeito significativo</li> <li>3. As reduções induzidas por WIN-2 na vigília foram evitadas pela co-administração de AM251</li> <li>4. Não houve diferença significativa no sono REM apesar de alguma redução com AM51</li> <li>5. WIN-2 não afetou a latência do sono, mas AM251+ Win aumentou a latência do REM e reduziu a latência do NREM</li> </ol>	
10	<p>Adm intra septo medial conforme o seguinte:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Grupo 1 (n=6) 0,7mcg/5mcl Win 55,212 (CB1 agonista)</li> <li>2) Grupo 2 (n=6) 0,7mcg/mcl LY 320,135 (CB1 antagonista)</li> <li>3) Grupo 3(n=5) Veh</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1- Win 55,212 aumentou tempo total de sono (TST) , Reduziu SWS , Aumentou REM</li> <li>2- LY 320,135 reduziu TST, reduziu SWS , Reduziu REM</li> </ol>	
11	<p>Adm IP conforme o seguinte:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- grupos testes SR 141716 (0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg)</li> <li>2- Grupo controle( 5 ml/kg Veh) .</li> </ol> <p>Gravação por 4 horas. 10h às 14h, 15 minutos após a aplicação</p>	<p>SR 141716A (0.1, 0.3, 1, 3, e 10 mg/kg I.P. aumentou W de forma dose-dependente, com redução de SWS e REM.</p> <p>Aumento da LR.</p>	

12	<p>Adm IP conforme o seguinte:</p> <p>1 – veh</p> <p>2 – 5 mg/kg AM-251</p> <p>3 -10 mg/kg AM-251</p> <p>Gravação por 3 horas a partir das 10h</p>	<p>AM-251 aumentou o tempo total de W às custas de redução de REM e NREM com efeito dose dependente.</p> <p>Não houve alteração na latência do REM a despeito da redução do tempo total de REM</p>	
13	<p>Adm IP conforme o seguinte:</p> <p>1- veh+veh</p> <p>2- veh+AM251 5mg/kg,</p> <p>3- veh+AM 10mg/kg,</p> <p>4- SB 1mg/kg+veh,</p> <p>5- SB 1mg/kg+AM D5,</p> <p>6- SB1mg/kg+AM10.</p>	<p>1) SB-242084 e AM-251 possuem efeitos aditivos na promoção de vigília.</p>	
14	<p>Adm ICV durante período claro e escuro conforme o seguinte:</p> <p>1- Veh</p> <p>2- 2- URB597 (10, 20 µg/5 µl)</p> <p>3- oleoylethanolamida (OEA) (10, 20 µg/5 µl)</p> <p>4- Palmitoylethanolamida (PEA) (10, 20 µg/5 µl) às 07:00 h e às 19:00 h.</p> <p>4 horas de gravação</p>	<p>URB597 no período claro aumentou de forma dose-dependente o tempo de vigília; redução dose-dependente em SWS; redução do REM</p> <p>URB597 (10 µg/5 µl) injetado no período escuro não modificou os padrões de sono/vigília.</p> <p>OEA e PEA aumentaram W e reduziram REM e NREM.</p>	
15	<p>Administração no Hipotálamo lateral (LH) e núcleo dorsal da rafe (DRN) conforme o seguinte:</p> <p>1- VEH (n = 8),</p> <p>2- shan (n=8)</p> <p>3- URB597(10, 20, or 30 mg/1 mL</p> <p>4- (n = 8),OEA (n = 8) PEA (n = 8). (10, 20, 30 mg/ 1ml</p> <p>injetados no LH e DRN às 7h da manhã</p> <p>4 horas de gravação</p>	<p>1)URB597 (10, 20, e 30 mg/1 mL) aumentou W e reduziu SWS e REM; efeito dose-dependente</p> <p>2)URB597 (10, 20, e 30 mg/ 1 mL no núcleo dorsal da rafe: aumentou W e reduziu SWS e REMS</p> <p>3) . OEA e PEA aumentou W reduziu SWS e REM</p>	
16	<p>Adm IP conforme o seguinte:</p> <p>1- Shan</p> <p>2- VEH</p> <p>3- AA-5-HT (5, 10, 20 mg/Kg,</p> <p>4- CBD( canabidiol) ou MOD(modafinil) 30mg/KG</p>	<p>Sem efeito da AA5-HT no período claro</p> <p>Com efeito no período escuro: redução de W e aumento de SWS e REMS</p> <p>AA5-HT bloqueou as propriedades estimulantes de CBD e MOD</p>	

	5- AA-5HT 5, 10 e 20 mg/kg+ 30mg/kg CBD ou 30 mg/kg MOD Gravação por 4h durante período claro e escuro		
17	Adm IP, conforme o seguinte: Grupo 1) JNJ-42226314(3mg/kg) Grupo 2) JNJ 42226314 (30 mg/kg) Grupo 3) veh Gravação por 10horas iniciada às 8h	30 mg/kg de JNJ-42226314 aumentou significativamente o tempo total de vigília de forma dose dependente Enquanto reduziu de forma dose dependente o sono NREM. O Sono REM foi quase totalmente abolido na dose de 30 mg/kg e moderadamente reduzido na dose de 3 mg/kg Houve aumento da latência do NREM e REM, mais pronunciado em 30 mg/kg para ambos	
18	Admi ICV conforme o seguinte 1- OLE(2.8 e 5.6 µ,g ) 2- veh Gravações por 2 horas, das 10h às 12h	Latência do sono (LS) reduziu significativamente em ambas as doses de OLE sem efeito dose-dependente Sem alterações significativas no tempo total de REM, NREM e tendência ao aumento no TTS	
19	Adm ICV conforme o seguinte: 1- veh 2- OLE 2,8 µ,g 3- SR141716A 3 µ,g 4- 2+3 Gravação por 8 horas	OLE reduziu a LS SR141716 isolado não alterou os parâmetros de sono SR141716A bloqueou efeito da OLE sobre a LS	
20	Adm IP:  1-Oleamida 2.5 µ,g 10mg µ,g 20mg µ,g  2-Veh  4 horas de gravação fase escura	1) 2.5 µ,g de OLE não produziu alterações nos padrões de sono 2) 10 µ,g de OLE causou aumento do TST comparado com veículo 3) 20 µ,g de OLE causou aumento significativo no SWS assim como uma redução no REM e aumentou a latência do REM	
21	Administração IP conforme o seguinte: 1- OLE 25, 50, 100 and 200 mg/kg	1) OLE (50, 100 ou 200 mg/kg) aumentou significativamente o tempo total de SWS	

	<p>2- Fenfluramina (1 ou 3 mg/kg) 10 min antes da injeção de oleamida</p> <p>3- fluoxetina ( 1 O ou 20 mg/kg) 1 O min antes da administração de OLE</p> <p>4- Buspirona (4 ou 8 mg/kg)</p> <p>5- 8-OH-DPAT (0.1 ou 0.5 mg/) aplicado subcutâneo (SC) 1 O min antes da administração de OLE .</p>	<p>reduziu a LS e W, sem efeito no REM. O efeito máximo foi com a dose de 100 mg /kg sem grandes diferenças entre 100 e 200.</p> <p>2) Fluoxetina e fenfluramina significativamente reduziram o tempo total de SWS. REM Praticamente foi abolido com fluoxetina, mas não com fenfluramina.</p> <p>3) Tratamento prévio como fluoxetina ou fenfluramina preveniram aumento em SWS de forma dose dependente.</p> <p>4) Buspirona (4 e 8 mg/kg, s.c.) ou 8-OH-DPAT (0.1 e 0.5 mg/kg, s.c.) não tiveram efeitos significativos no sono quando administrados isoladamente. Entretanto produziram redução no SWS em combinação com OLE</p>	
22	<p>Experiência1:</p> <p>Adm ICV nos períodos claro e escuro conforme o seguinte:</p> <p>1- Veh</p> <p>2- VDM-11 (10<math>\mu</math>,g)</p> <p>Experiência 2:</p> <p>1- VDM-11 (10<math>\mu</math>,g)</p> <p>2- VDM11 (20<math>\mu</math>,g)</p> <p>Experiência 3:</p> <p>1- SR141716A (10 mcg + VDM-(20<math>\mu</math>,g)</p> <p>2- SR141716A1 10 <math>\mu</math>,g + veh</p> <p>3- SR151617A 10 <math>\mu</math>,g + VDM11 10 <math>\mu</math>,g</p>	<p>Experiência 1:</p> <p>VDM-11 em período escuro: VDM-11 (10 g/5 L) reduziu o tempo em vigília; aumentou SWS. Aumentou sono REM</p> <p>2) VDM-11 (10 <math>\mu</math>,g/5 <math>\mu</math>,L) vs. VDM-11 (20 <math>\mu</math>,g/5 <math>\mu</math>,L)</p> <p>Redução da vigília, aumento SWS</p> <p>Redução REM</p> <p>3) SR141716A (10 g/ 5 L) + VDM-11 (20 g/5 L) Bloqueou os efeitos causados pela administração de VDM-11</p>	
23	<p>Infusão no núcleo talâmico paraventricular conforme o seguinte:</p> <p>1- CSF ( solução idêntica ao líquido céfaloaraquidiano) (n=6)</p> <p>2- CSF + VEH (n = 6)</p> <p>3- OMDM-2 (10, 20 ou 30 <math>\mu</math>g; n = 6 cada dose)</p> <p>4- 40 VDM-11 (10, 20</p>	<p>OMDM-2-(10, 20 ou 30 <math>\mu</math>g) causou redução dose-dependente na W e aumento de SWS e de REM</p> <p>VDM-11 (10, 20 ou 30 <math>\mu</math>g) reduziu W e aumentou SWS</p>	

	ou 30 µg; n = 6 cada dose). Gravação por 4 horas no período lights off		
24	1- Veículo 2- SHAN 3- 40mg , 80 e 200 mg de cannabis vaporizada Polissonografia por 6 horas nas fases clara e escura	40mg e 80 mg não afetou parâmetros do sono 200 mg aumentou o sono NREM, apenas durante a fase escura.	
25	1- experimentos agudos: CBD 20 e 40 mg/kg IP  2- experimentos crônicos: CBD 40 mg/kg IP por 15 dias. Gravações por 5 horas a partir das 12h	CBD reduziu significativamente a latência do SWS mas a latência do REM e o número de períodos REM não foram modificados. Além disso, 40 mg/kg de CBD diminuíram significativamente W e aumentaram o SWS sendo que o maior aumento de SWS ocorreu durante as primeiras 3 h. Os valores de tempo REM não diferem dos de controle. Esses valores das diferentes variáveis correspondentes aos registros obtidos após a administração crônica do CBD não diferiram significativamente do controle	
26	Adm no hipotálamo lateral (HL) conforme o seguinte: 1. VEH (CSF; n = 7) 2. CBD (1,5 mcg, 3mcg or 4,5 mcg; n = 7 cada dose) 3. Sham, n = 7 Tempo de gravação: 4 horas	CBD aumentou tempo total de vigília e reduziu SWS e REMS Efeito dose-dependente	Aumento dos níveis extracelulares de dopamina no núcleo accumbens após administração do CBD
27	1- Veh 2- CBD (10 microg/1ml) 3- CBD (20 microg/1 ml) 4- (sham, n =6) Via HL e DNR	1) HL: CBD induziu aumento dose dependente no tempo total W e reduziu SWS e REM . 2) DNR: CBD aumentou tempo total de vigília de forma dose-dependente, reduziu SWS e REM.	
28	Adm IP conforme o seguinte: 1- Veh (n = 8)	3) HU-580 1 ou 100 µg /Kg, aumentou vigília, reduziu SWS e não alterou REM	aumento de dopamina e

	2- HU-580 (0.1, 1.0 ou 100 µg/Kg; n = 8 por dose) 4 horas de gravação período claro		serotonina no accumbens e adenosina e acetilcolina no prosencéfalo basal.
29	Adm ICV conforme o seguinte: 1- CBD (10 µ,g) 2- AEA (10 µ,g ) + CBD (10µ,g) 3- veh  Tempo de gravação: 4 horas nos períodos claro e escuro	CBD no período claro aumentou W CBD reduziu sono REM Não alterou SWS  CBD no período escuro não modificou os padrões de sono/vigília W, SWS e REM AEA aplicado 15 min antes do CBD não modificou os efeitos do CBD	ativação de c-fos no núcleo dorsal da rafe e no Hipotálamo lateral Aumento dos níveis de serotonina, noradrenalina e dopamina após aplicação do CBD

Tabela 5: Intervenção e resultados

Legenda: AA (ácido aracdônico); AA5-HT (N-arachiidonoyl- Serotonina); ADM (administração); AM251(bloqueador de recetores CB1); CBD (canabidiol); DRN (núcleo dorsal da rafe); HU580 (ácido canabidiólico); IP (intraperitoneal); JNJ-42226314 (inibidor da MAGL); LH (hipotálamo lateral); LR (latência do sono REM); LS (latência do sono); LY 320,135 (antagonista de recetores CB1); MOD (modafinil); MPOA (área medial pré ótica); OEA (oleoylethanolamida); OLE (oleamida); PEA (palmitoylethanolamida); PPTg ( núcleo tegmental pedunculo pontino); S1820 ( agonista PAR1); SB-242084( bloqueador de recetores 5HT2C); SR141716A ( bloqueador de recetores CB1); SWS ( sono de ondas lentas; U73122 ( inibidor da fosfolipase C); URB597(inibidos da FAAH); Veh ( veículo); WIN 212-2( agonista de receptores CB1);

## 6. Discussão

Para uma compreensão do significado desse conjunto de artigos é importante observar se as gravações de sono são feitas e registadas no período claro, durante o qual os ratos têm maior propensão natural a adormecer, ou se, ao contrário, foi realizada no período escuro,

momento de maior atividade dos animais. Isso permite caracterizar as diferentes ações dos endocanabinóides nos diferentes momentos do dia, possibilitando estabelecer a relação dos elementos do sistema com as fases do ciclo circadiano.

Os estudos também utilizam diferentes vias de administração na tentativa de elucidar o mecanismo através do qual o sistema endocanabinóide participa nessa regulação. Alguns estudos, por exemplo, utilizam administração no hipotálamo lateral, uma área responsável pela vigília, outros na área medial pré-ótica, relacionada por sua vez com o sono.

Para a interpretação dos resultados é importante levar-se em consideração a variação circadiana da anandamida e do 2-AG, assim como a variação circadiana da expressão de receptores CB1.

A diversidade dos estudos explica-se pelo fato do conhecimento a respeito do assunto ainda estar em fase inicial, sendo necessárias diversas formas de manipulação do sistema na tentativa de maiores esclarecimentos dos mecanismos que estão envolvidos na relação entre sistema endocanabinóide e sono.

Por outro lado, essa diversidade de metodologias dificulta uma comparação direta entre os estudos e conseqüentemente a realização de meta – análise, já que homogeneidade entre os estudos é uma das condições para isso.

A maioria dos estudos utilizou agonistas de recetores CB1 como anandamida, 7 estudos (1,2,3,4,5,6 e 29), 2-AG, 1 estudo (7), WIN 55212, agonista sintético de CB1, 2 estudos (9 e 10), antagonistas CB1 sintéticos como o SR141716A, 3 estudos (3, 11 e 19), AM 251, 8 estudos (4,5,6,7,8,9,12 e 13), LY 320,212; 1 estudo (10) e oleamida, um possível endocanabinóide, 5 estudos (5,18,19,20,21). Em muitos estudos mais de um agente foi utilizado, ou para testar o bloqueio de agonistas por antagonistas de CB1, confirmando dessa forma se as ações das drogas se devem por sua ligação com recetores CB1 ou se possíveis outros mecanismos podem estar associados. Além dessas substâncias foram utilizados bloqueadores de FAAH como o URB597, 2 estudos (14 e 15), o bloqueador de MAGL JNJ42226314; 1 estudo (17), os inibidores de recaptção de anandamida VDM-11, 2 estudos (22 e 23) e OMDM-2, um estudo (23), além de fitocanabinóides como THC, 1 estudo (24), CBD, 4 estudos (25,26,27,29) e o ácido canabidiólico sintético HU580, 1 estudo (28). Também foi utilizado o agonista PAR1 S1820 (promotor de liberação de 2-AG), 1 estudo (8), o inibidor da fosfolipase C, U73122; 1 estudo (2) e o N-arachidonoyl-Serotonina (AA-5HT), agente que promove o bloqueio de FAAH juntamente com o bloqueio de recetores vanilóides.

Alguns autores também utilizaram outras substâncias como fluoxetina, fenfluramina, buspirona e OH-DPAT, todos agentes serotoninérgicos (estudo 8), e em outro estudo (16), o modafinil foi utilizado. O bloqueador de recetores 5HT2 (SB242084) também foi utilizado no estudo 13. De maneira geral, estas substâncias foram utilizadas ou para avaliar possíveis interações de endocanabinóides, especialmente a oleamida, com o sistema serotoninérgico ou para testar bloqueio de indução de sono utilizando o psicoestimulante modafinil.

Com relação às vias de administração, a maioria dos estudos (3,9,11,12,13,16,17,20,21,25 e 28) utiliza a via IP a fim de avaliar os efeitos sistêmicos das substâncias. A via ICV também é utilizada em alguns estudos (1,2,5,14,18,19,22 e 29) a fim de eliminar o efeito da barreira hematoencefálica. Também são utilizadas administrações diretamente em áreas específicas relacionadas com ao ciclo sono-vigília, como núcleo tegmental pedunculopontino (2), hipotálamo lateral (27), núcleo dorsal da rafe (15,27), hipocampo (6,7), septo medial (10), área medial pré-ótica (2), núcleo accumbens (4) e núcleo talâmico paraventricular (23), na tentativa de observar o efeito das substâncias em regiões específicas e fazer possíveis correlações dos mecanismos modulatórios do sistema endocanabinóide sobre o ciclo sono-vigília. Em alguns estudos são utilizadas a mesma substância por vias de administração diferentes.

Outro aspeto importante dos estudos é a tentativa de relacionar os efeitos das substâncias em fases diferentes do ciclo (clara e escura), estabelecendo uma relação do sistema endocanabinóide com o ritmo circadiano.

## **6.1 Agonistas e antagonistas CB1**

### **6.1.1 Anandamida (AEA)**

A Anandamida é um dos ligantes endógenos do sistema endocanabinóide e atua como agonista parcial dos recetores CB1. Sete estudos utilizaram anandamida (1,2,3,4,5,6 e 29), sendo que um deles utilizou pela via ICV (estudo 1), outro pelas vias ICV intra PPTg, e intra MPOA (2), um por via IP (3), três por via ICV exclusivamente (1,5 e 29), um por via

Entopeduncular, região mais conhecida por núcleo accumbens (4) e um por via intrahipocampal (6).

Os resultados indicam que a anandamida sistêmica aumenta notavelmente o sono de ondas lentas e o sono de movimento rápido dos olhos às custas da vigília. Em contraste, o ácido aracônico, precursor metabólico da anandamida, aumenta a vigília e reduz o sono de ondas lentas, (estudo 1), (Murillo-Rodriguez et al, 1998).

Complementando esses resultados a anandamida administrada via ICV ou via PPTg também aumenta o SWS e REM, porém esse efeito não ocorreu quando a anandamida é administrada na MPOA (estudo 2) (Murillo-Rodriguez, 2001).

Esses resultados demonstram que há um efeito do local de administração que, pelo menos em parte, está associado ao facto da ação da anandamida se dever ao seu controle de neurónios colinérgicos, tendo em vista o fato de que o PPTg está implicado na vigília e geração de REM através de transmissão colinérgica, além disso, esses neurónios fornecem uma inervação para o tálamo, incluindo o núcleo reticular, um local que tem sido proposto como gerador de sono de ondas lentas.

Não houve ação sobre o sono quando a anandamida é injetada diretamente na área medial pré-ótica (MPOA), a qual não possui inervação colinérgica, fortalecendo a ideia de que a ação da anandamida se dá através de controle de impulsos colinérgicos (Murillo-Rodriguez, 2001).

Noutro estudo (3) o mesmo autor demonstra que outro substrato neuroquímico, nomeadamente a adenosina, também está de alguma forma sob controle dos endocanabinóides, e que através dessa molécula, também pelo menos em parte, a anandamida exerce os seus efeitos promotores de sono. Neste estudo a via de utilização usada foi a sistêmica visando observar os efeitos generalizados do endocanabinóide. Para isso o sono foi registado após administração intraperitoneal de anandamida. Além disso, uma hora após as injeções, foram coletadas amostras de microdiálise do prosencéfalo basal e tais amostras foram analisadas por cromatografia líquida para analisar os níveis de adenosina (Murillo-Rodriguez, 2003).

Houve um aumento significativo na quantidade de sono de ondas lentas e a anandamida aumentou os níveis de adenosina no prosencéfalo basal em comparação com os controles, com os níveis de pico sendo atingidos na terceira hora após a administração. A indução do sono e o aumento da adenosina foram bloqueadas pelo antagonista do recetor CB1, SR141716A, podendo-se observar que a anandamida aumentou a quantidade de sono através do aumento de

adenosina e que esses efeitos são mediados por recetores CB1, já que o seu bloqueio preveniu os efeitos da anandamida (Murillo-Rodriguez et al, 2003).

De acordo com os estudos discutidos acima, a ação da anandamida é mediada pelo menos em parte pela acetilcolina e pela adenosina, porém não está determinado como é que esse controle é feito. Uma possibilidade é que as células colinérgicas do PPTg sejam estimuladas através do bloqueio da inibição gabaérgica desses neurônios através da anandamida, promovendo o sono REM e que a estimulação de recetores CB1 de alguma forma também não explicada, aumente a quantidade de sono NREM através da promoção do aumento de adenosina, neuromediador relacionado com aumento da pressão de sono dentro do processo homeostático do controle do ciclo sono-vigília. Estudos com administração direta de anandamida no prosencéfalo basal precisam ser realizados para que se permita fazer uma melhor caracterização desse fenómeno.

O que se sabe é que o sistema endocanabinóide influencia diversos sistemas de neurotransmissores moduladores do sono através do controle do sistema glutamatérgico e gabaérgico, no fim dessa via modulatória, culmina exercendo seus efeitos. Dentro dessa perspectiva, independente dos mecanismos específicos envolvidos, o que é conhecido até ao momento atual, é que a anandamida causa o aumento da adenosina e o aumento dos disparos colinérgicos, promovendo respetivamente aumento de sono NREM e REM.

Outro estudo (6) adotou uma outra abordagem para avaliar os efeitos da anandamida no ciclo claro e escuro (Rueda-Orozco et al, 2010). Para isso a anandamida foi administrada via intra-hipocampal, sabendo-se que o hipocampo é uma região produtora de anandamida e é um local com grande densidade de recetores CB1. Os dados indicaram que a administração de anandamida diretamente no hipocampo aumenta o sono REM de maneira dose-dependente durante a fase escura, mas não durante a fase clara do ciclo. Este efeito foi específico para o hipocampo, uma vez que as administrações de anandamida no córtex circundante não provocaram qualquer alteração no sono. Além disso, o aumento de REM foi bloqueado pelo antagonista CB1 AM251. Esses resultados apoiam a ideia de uma relação direta entre a atividade hipocampal e o sistema endocanabinóide, e a relação deste com o ciclo circadiano, sugerindo assim que a atividade do hipocampo está implicada na modulação do sono REM, e que esta modulação está, pelo menos em parte sob controle do sistema endocanabinóide, e que não apenas o sono modula a atividade do hipocampo, mas também o hipocampo participa da modulação do sono e como sabemos, o hipocampo projeta para os núcleos envolvidos no ciclo sono/vigília, como os núcleos tuberomamilares e a área pré-ótica.

Um achado interessante é que as administrações da AEA foram eficazes apenas durante a fase escura do ciclo, um momento em que os ratos naturalmente têm menos probabilidade de entrar em sono REM. Este achado aumenta a evidência do efeito promotor de sono da anandamida, já que ela foi capaz de induzir o sono em um momento que o sono é menos provável de acontecer. Outro aspecto importante desses achados é o fato da anandamida exógena atuar na fase escura e não apresentar efeito durante a fase clara, o que pode ser explicado pelo fato de que neste momento a expressão de CB1 já é naturalmente aumentada devido à sua flutuação circadiana, e assim sendo, promove o sono REM espontâneo nos animais, e consequentemente a anandamida extra fornecida não foi capaz de causar efeito adicional sobre o sono. Estes achados reforçam as relações entre o sistema endocanabinóide e o ritmo circadiano. Além disso, outra possível conclusão é a de que os endocanabinóides são capazes de induzir REM numa situação naturalmente desfavorável, podendo induzir sono por exemplo em situações de insônia, o que exigirá estudos específicos para tal avaliação (Rueda-Orozco et al, 2010).

Outro estudo (4) utilizou a administração entopeduncular (núcleo accumbens) de anandamida para fornecer informações sobre o papel dos gânglios da base na regulação do sono, visto que essa região está envolvida no controle sono/vigília através do sistema colinérgico e partindo da observação da grande densidade de recetores CB1 no estriado. No estudo, a atividade cerebral dos ratos foi registrada por EEG por 24 h imediatamente após uma única administração intra núcleo entopeduncular de anandamida.

Os resultados mostram que AEA aumenta a quantidade de sono NREM, demonstrando que a ativação do CB1 nessa região é importante para induzir o sono, enquanto o seu bloqueio promove vigília (Méndez-Díaz et al, 2013).

Um estudo (5) com o propósito de demonstrar a ausência de tolerância na administração subcrônica de anandamida e oleamida, os autores administraram esses compostos por via ICV aguda e por 15 dias. No estudo o ciclo sono-vigília de ratos foi avaliado por 24 h, sob o efeito de uma administração aguda ou subcrônica de endocanabinóides e durante a retirada súbita dos mesmos. AM251, um antagonista do recetor CB1 foi utilizado para bloquear os efeitos dos endocanabinóides

Os dois endocanabinóides induzem o sono quando administrados de forma aguda via recetor CB1, já que o aumento do sono foi prevenido pela utilização do antagonista CB1 AM 251. Os resultados também indicaram que a administração aguda e subcrônica de endocanabinóides aumenta a quantidade de sono REM. Durante a retirada dessas substâncias

os ratos não apresentam a expressão de uma síndrome semelhante à abstinência. O AM251 foi eficaz para prevenir o aumento de REM causado pela administração aguda e subcrônica destas substâncias, sugerindo que esse efeito é mediado pelo receptor CB1. Esses dados apoiam os estudos anteriores na ideia do papel dos endocanabinóides na regulação do sono REM (Herrera-Solis A. Et al, 2010).

Sumarizando os efeitos da anandamida, a sua administração resulta em promoção de sono REM e NREM (Murillo-Rodriguez et al., 1998, 2001, 2003). No que se refere à sua ação promotora de REM, tal efeito se deve em parte por sua ação em neurónios colinérgicos no núcleo tegmental pedunculopontino (Murillo-Rodriguez et al., 2001). Além disso, o hipocampo, através de neurónios colinérgicos também demonstrou estar envolvido nesses efeitos (Rueda-Orozzoco et al, 2010). Por sua vez, o aumento de sono NREM provocado pela anandamida deve-se também, pelo menos em parte, ao aumento dos níveis de adenosina no prosencéfalo basal (Murillo-rodriguez, 2001). Outra estrutura envolvida na geração de sono NREM pela anandamida é o núcleo accumbens, local onde a ativação de CB1 se mostrou relevante para a promoção de sono de ondas lentas (Méndez-Díaz M. et al, 2013).

Em relação ao desenvolvimento de tolerância, esse efeito não foi observado através da administração subcrônica de anandamida, aumentando a quantidade de sono REM, sem sinais de abstinência após sua retirada. (Herrera-Solis, 2010)

### **6.1.2 Manipulações envolvendo 2-AG**

Dois estudos (7 e 8) avaliaram os efeitos sobre o ciclo sono-vigília do 2-araquidonoilglicerol diretamente no hipotálamo lateral, uma área responsável pela vigília e pela geração de sono REM. Em ambos estudos foi demonstrado aumento desse tipo de sono. Um estudo utilizou a administração direta de 2-AG (7) (Rueda-Orozzoco, 2010) e o outro estudo (8), (Perez-Morales et al 2012), avaliou as ações do 2-AG através da administração hipotalâmica de um agonista dos recetores ativados por protease 1 (PAR 1), o S1820. Tal estimulação termina por promover liberação de 2-AG, que por sua vez faz a sinalização retrógrada através de recetores CB1, atuando dessa forma como um agonista indireto de CB1.

Nos dois estudos foram utilizadas doses diferentes tanto do 2-AG como do S1820, sendo que as doses mais baixas, causaram aumento de sono REM e as doses mais altas não causaram efeito sobre o sono (7) e aumentaram vigília (8), o que sugere um efeito bifásico do 2-AG. Além disso, foram utilizados bloqueadores CB1 para a avaliação da reversão dos efeitos do 2AG

sobre o sono, apoiando a ideia do envolvimento destes recetores na ação desta substância. De forma adicional foram realizadas análises de imunofluorescência para detetar c-Fos como marcador de ativação neural em neurónios orexina e hormona concentrador de melatonina (MCH).

O hipotálamo lateral é uma região produtora de duas hormonas que possuem efeito na regulação do sono, a hipocretina, sabidamente relacionado com a promoção de vigília através da estimulação de neurónios histaminérgicos e a hormona concentrador de melatonina (MCH), a qual é envolvida na geração de sono REM. Os resultados indicaram que o 2-AG em doses baixas aumenta o sono REM através da ativação de recetores CB1, e aumenta a expressão de c-Fos em neurónios MCH. Esses resultados sugerem que a ativação endocanabinóide do CB1 no hipotálamo lateral estimula os neurónios produtores de hormônio concentrador de melatonina, sendo este um mecanismo pelo qual o REM é desencadeado. Por outro lado, doses altas mostraram efeitos opostos sobre o sono (promoção de vigília). Uma possibilidade para explicar este fenómeno é que no hipotálamo lateral, além de neurónios que liberam hormona concentrador de melatonina (MCH), que facilitam o sono REM, encontram-se também neurónios hipocretinérgicos/orexinérgicos que facilitam a vigília. É possível especular que a sinalização retrógrada por 2-AG nessa região em baixas doses atuaria inibindo o controle GABAérgico dos neurónios MCHérgicos, e assim estimular o sono REM, e em doses mais altas passaria a inibir também o controle dos neurónios hipocretinérgicos, de forma que o tónus excitatório superasse o tónus inibitório, ao ativar subconjuntos específicos de moléculas orexígenas hipotalâmicas, como o neuropeptídeo Y, e conseqüentemente promover um efeito ativador da vigília.

Finalmente, a ativação de PAR1 demonstrou promover mecanismos de sinalização via liberação de 2-AG, porém são necessários mais estudos para determinar até que ponto e quais são os mecanismos específicos de como a ativação de PAR1 modula conjuntos distintos de neurónios no hipotálamo lateral, como os neurónios hipocretinérgicos e MCHérgicos, bem como outros neurónios dentro do hipotálamo dependendo da dose utilizada.

### **6.1.3 Agonistas Sintéticos de Recetores CB1**

Um estudo (9) utilizou Agonista WIN55,212-2 e o Antagonista/Agonista inverso AM251 isolados ou em conjunto através da via intraperitoneal. WIN55,212-2 aumentou a

quantidade total de sono NREM e a duração de cada ciclo NREM, esse efeito não foi prevenido pelo AM251. No entanto, o WIN55.212-2 também reduziu a frequência geral do EEG especialmente nas bandas de frequência teta e alfa durante a vigília e o sono NREM, e esse efeito foi revertido por AM251. O antagonista/agonista inverso não causou alterações do sono por si só e aumentou moderadamente bandas de frequência alfa e beta durante o sono NREM quando administrado isoladamente (Goonawardena et al 2011).

Não se explica a falta de bloqueio das ações do WIN pelo agonista inverso CB1, mas é possível que a droga interaja com outros recetores (não canabinérgicos) que regulem o sono ou que características próprias da droga como alta afinidade pelo recetor podem explicar o fenómeno. Outra questão importante é o fato do WIN ser um agonista total de recetores CB1, diferentemente da anandamida que é um agonista parcial, o que hipoteticamente poderia promover um efeito que não fosse capaz de ser bloqueado pelo antagonista AM251 (Gowardena, 2011).

Outro estudo (10) realizado por Anushkar 2020, utilizou WIN 55.212-2 e o antagonista do recetor CB1 LY isoladamente, administrado no septo medial, região envolvida na geração de sono REM. A microinjeção de agonista do recetor CB1 aumentou o tempo total de sono através do aumento da percentagem de sono de movimento rápido dos olhos e redução do sono de ondas lentas.

A diferença entre os resultados de Gowardena e Anushkar que utilizaram a mesma droga (WIN 55.212-2) pode-se dever às diferentes vias de administração, intraperitoneal e intra septo medial respectivamente. O septo medial está ligado ao hipocampo e às áreas geradoras de sono como formação reticular pontina e mesencefálica através de neurónios colinérgicos, e como já vimos, essas áreas estão relacionadas à geração de sono REM, o que explica o aumento de sono REM e redução de NREM quando aplicado especificamente no septo medial e o aumento de NREM quando administrado sistemicamente, estando estes resultados de acordo com Murillo-Rodriguez, 2001(3), que também utilizou agonista CB1 (anandamida) por administração sistêmica e observou aumento de sono NREM.

Em um outro estudo (10), Puskar demonstrou a influência do controle endocanabinóide sobre o ciclo sono vigília utilizando também o agonista Win 55,212. Foi utilizada a via de administração intra septo medial, o que refletiu aumento do sono REM. Dessa forma foi proposto pelo autor que a aplicação do agonista CB1 na dose de 0,7 µg/0,5µl no septo medial estimula liberação de acetilcolina hipocampal para aumentar a atividade teta durante sono, refletindo em aumento da duração do REM e aumento da potência teta durante o sono. Os

resultados do estudo sugerem que o sistema endocanabinóide modulam a geração do ritmo teta pelos neurónios do hipocampo através do controle colinérgico septal, produzindo evidência para a modulação do sono por endocanabinóides através do septo medial, presente na junção do sistema límbico e regulador do ciclo sono-vigília nas áreas pontinas e reticulares, destacando a importância dos endocanabinóides nesse sistema, o que também está de acordo com os resultados de Rueda-Orozco, 2010(6), que também apontam para um controle do sistema colinérgico hipocampal pelo sistema endocanabinóide.

Considerados em conjunto, os estudos com agonistas de receptores CB1, apesar de terem sido realizados com substâncias, dose e vias de administração diferentes apontam para o efeito de promoção de sono quando esses receptores são ativados. Não é possível determinar até ao momento se a ativação específica de CB1 em determinadas regiões cerebrais causaria aumento da vigília, já que o agonista CB1, 2-AG mostrou possuir efeito bifásico, no sentido de que doses baixas promoveram sono e doses altas induziram vigília. Não é possível determinar se todos os agonistas CB1 teriam esse efeito bifásico ou se é uma característica apenas do 2-AG, sendo necessários mais estudos para tal definição. Também é importante a realização de estudos desenhados para a avaliação de ativação de receptores CB1 em regiões específicas como o hipotálamo posterior, no sentido de definir se a ativação específica desses receptores é capaz de promover vigília, confirmando o mecanismo proposto para o efeito bifásico do 2-AG descrito acima.

#### **6.1.4 Antagonistas de receptores CB1**

De forma geral os estudos utilizando bloqueadores de receptores CB1 foram realizados juntamente com os estudos que avaliaram agonistas descritos acima, com exceção de Santucci, (1996) e Laszlo Tothfalusi (2019), (11 e 12), que avaliaram respectivamente SR141617A 0.1, 0.3, 1 e 10mg/kg IP e AM251 5 e 10 mg IP.

O primeiro artigo demonstrou que SR 141716A (0.1, 0.3, 1, 3 e 10 mg/kg I.P) aumentou o tempo de vigília de forma dose-dependente, com redução sono NREM e REM, além do aumento da latência do REM.

O segundo demonstrou que AM-251 aumentou o tempo total de vigília às custas de redução de REM e NREM com efeito dose dependente.

Goonawardena et al não confirmou esses achados em ratos com a aplicação de AM-251, mas de modo geral os estudos concordam que os bloqueadores de CB1 modulam o sono no sentido de aumento da vigília e redução de sono REM e NREM.

Outro artigo (13) utilizou um antagonista do recetor 5-HT<sub>2C</sub> (1,0 mg/kg), o SB-242084, seguido por uma injeção com AM-251 (5,0 ou 10,0 mg/kg, IP) 10 min depois. EEG, EMG e atividade motora foram analisados para as 2 h subsequentes. Tanto o SB-242084 quanto o AM-251 aumentaram o tempo gasto em vigília ativa, enquanto diminuíram o tempo gasto nos estágios não REM e REM nas primeiras 2 h da fase passiva. Em combinação os resultados sugerem que o bloqueio do recetor 5-HT<sub>2C</sub> seguido pelo bloqueio do CB1 recetores provocam efeitos aditivos no sentido de aumento do tempo em vigília (Bogáthy et al, 2019).

## **6.2 Modulações enzimáticas do sistema endocanabinóide**

### **6.2.1. Manipulações envolvendo a Fat Acid Amid Hidrolase (FAAH)**

Os dois estudos de Murillo- Rodriguez (2007 e 2011), (14 e 15), envolvendo a inibição da FAAH tiveram resultados concordantes e complementares, apesar das vias de administração utilizadas terem sido diferentes. Num estudo (14) foi realizada administração via ICV de soluções contendo URB597, um potente bloqueador da FAAH, oleoiletanolamida (OEA) e palmitoiletanolamida (PEA) (10, 20 ug/5 ml) separadamente durante a fase clara. Esse estudo demonstrou que o URB597 aumenta a vigília e reduz o sono REM de forma dose-dependente somente na fase clara, assim como a OEA e O PEA também aumentam o tempo de vigília e reduzem o tempo de sono REM de forma dose dependente e apenas na fase clara (Murillo-Rodriguez, 2007). O outro estudo (15) também examinou os efeitos sobre o sono do URB597, oleoiletanolamida ou palmitoiletanolamida injetados em áreas cerebrais relacionadas à vigília, como o hipotálamo lateral (LH) ou núcleos dorsais da rafe (DRN), tendo sido demonstrado que a administração dos compostos (10, 20, 30 mg/1 ml, cada) em LH ou DRN durante a fase clara aumentou vigília e diminuiu sono de ondas lentas e REM, bem como aumentou os níveis extracelulares de DA, que também foi avaliado no estudo, concluindo que URB597, OEA ou PEA promovem a vigília e aumentaram a DA quando injetados em LH ou DRN. A promoção de vigília, efeitos desses compostos, podem estar ligados ao aumento dos níveis de DA (Murillo-Rodriguez et al, 2011).

PEA e OEA são moléculas com estruturas químicas semelhantes à anandamida, apesar de pertencerem a outra família, da qual fazem parte os leucotrienos. Tais substâncias, apesar de análogas à anandamida não são consideradas endocanabinóides pois suas vias de ação são diversas das canabinérgicas, porém possuem bastante importância por interagirem com o sistema endocanabinóide. Por possuírem estruturas semelhantes também são reconhecidos e metabolizados pela mesma enzima que degrada a anandamida, a FAAH. Este fato explica os resultados aparentemente inexplicáveis, ou seja, o aumento da vigília e redução de sono de ondas lentas de forma dose dependente, o que a princípio seria inesperado, já que a inibição dessa enzima provocaria uma maior concentração de anandamida e conseqüentemente geraria sono.

O facto crucial é que tanto a OEA quanto o PEA regulam o sono no sentido de estimular a vigília. Esses resultados sugerem que o mecanismo pelo qual o bloqueio da FAAH promove seus efeitos estimulantes seria através da indução de um aumento em maior quantidade de PEA e de OEA em relação a AEA, o que resultaria na preponderância dos efeitos estimulantes daquelas moléculas em detrimento dos efeitos sedativos da AEA, culminando com um efeito final excitatório.

Além disso, em comparação com os controles, houve aumento da imunoreactividade de c-Fos no hipotálamo e no núcleo dorsal da rafe, havendo também uma correlação com a administração dessas substâncias e o aumento dos níveis de dopamina extracelular (Murillo-Rodriguez et al, 2007, 2011)

Outro bloqueador da FAAH, a N-araquidonoil-serotonina (AA-5-HT) foi investigado em outro estudo (16) utilizando doses variadas (5, 10 ou 20 mg/Kg, I.P.) administrada na fase clara e escura do ciclo sono-vigília dos ratos.

Os resultados não demonstraram mudanças estatísticas nos padrões de sono na fase clara. No entanto, tratamento farmacológico semelhante dado aos animais no início da fase escura diminuiu vigília e aumentou sono de ondas lentas e REM.

Além disso, a maior dose de AA-5-HT diminuiu a disponibilidade de neurotransmissores relacionados com a vigília de neurotransmissores, como dopamina, noradrenalina, adrenalina e serotonina, enquanto os níveis de adenosina foram aumentados.

As propriedades indutoras do sono de AA-5-HT foram confirmadas desde que este composto bloqueou o aumento da vigília causado por estimulantes como o canabidiol. Esse efeito na modulação do sono em sentido oposto aos dos outros inibidores da FAAH pode-se dever ao seu mecanismo de ação duplo, que também envolve o bloqueio de recetores vanilóides.

possível (Murillo- Rodriguez, 2017). É possível se colocar também como hipótese a ação do AA-5-HT em outros recetores, incluindo os CB1, já que ele preveniu os efeitos estimulantes do CBD, cujo um dos mecanismos de ação é a modulação alostérica negativa destes recetores.

### **6.2.2 Manipulações envolvendo a monoacilglicerol lípase (MAGL)**

No estudo 17, o efeito da inibição da MAGL através da administração de seu inibidor JZL1184 IP foi avaliado. A administração IP deste composto aumentou o tempo em vigília e suprimiu o sono REM. A magnitude dos efeitos dependia da fase em que era administrado, demonstrando a interação com o ritmo circadiano. Esses dados apoiam, em parte, o papel do 2-AG na promoção da vigília, já que em outros estudos (7 e 8) foi demonstrado seu efeito bifásico. Outros estudos com diferentes doses e potencia de inibição da MAGL devem ser realizados na tentativa de confirmar tais efeitos ou elucidar mecanismos de ação adicionais do composto, que não apenas o de aumento da disponibilidade de 2-AG (Ryan M. Wyatt, 2020). Um estudo que demonstrasse que baixas doses de JZL1184 promovem sono seria importante para a elaboração do conhecimento a respeito das ações tanto do 2-AG como do JZL1184.

Sumarizando o papel das enzimas do sistema endocanabinóide sobre a regulação do ciclo sono-vigília, os estudos demonstram que a inibição da FAAH promove a vigília através da acumulação em maior proporção de substâncias estimulantes como OEA e PEA em relação ao aumento de anandamida. Por outro lado, quando a inibição dessa enzima se combina com a estimulação de recetores vanilóides o resultado sobre o sono é oposto.

Já a inibição da MAGL promoveu vigília através da acumulação de 2-AG, carecendo de estudos que avaliem inibições mais fracas de MAGL.

### **6.3 Manipulações farmacológicas envolvendo Oleamida**

Conforme discutido anteriormente, a oleamida é uma molécula cujo mecanismo de ação ainda não é bem esclarecido, não tendo sido chegado à uma definição consensual a respeito dela pertencer ou não ao sistema endocanabinóide.

Cinco estudos (5, 18, 19, 20 e 21) utilizaram a oleamida. 2 destes estudos (18 e 19) foram realizados por Mendelson, nos quais avaliou os efeitos da oleamida administrada por via intraventricular e demonstrou que essa substância é um potente indutor de sono, sendo seu efeito comparável ao dos benzodiazepínicos. Não houve alterações nos outros parâmetros de sono como aumento de tempo de sono de ondas lentas ou sono REM e houve uma tendência não significativa ao aumento do tempo total de sono. Num dos estudos (19) ficou demonstrado que o bloqueador de CB1 SR141716A bloqueou os efeitos de redução de latência do sono induzidos pela oleamida e que o bloqueio isolado não causa efeitos sobre o sono, o que sugere envolvimento dos recetores CB1 na ação dessa substância, fortalecendo a ideia de que a oleamida atua através de vias canabinérgicas sendo assim considerada um endocanabinóide.

Outro estudo (20) foi conduzido também através da administração sistêmica de oleamida nas doses de 10 e 20 mg/kg em ratos e os resultados demonstraram aumento do sono de ondas lentas (Huitrón-Reséndiz S. et al, 2001)

Um estudo (21) foi realizado para avaliar o efeito da oleamida por via intraperitoneal e subcutânea. Nesse estudo, Jing-Yu Yang demonstrou que a oleamida induziu um aumento dependente da dose no sono de ondas lentas, uma diminuição na vigília e na latência do sono, mas não teve efeito no sono REM. O aumento de sono de ondas lentas induzido por oleamida foi prevenido por inibidores de recaptção de 5-HT, como fluoxetina ou feenfluramina e por agonistas de recetores 5-HT1A como buspirona, fato que fornece alguma evidência de que o sistema serotoninérgico pode estar envolvido no aumento de sono induzido pela oleamida.

De forma geral a oleamida mostrou ser um potente indutor de sono, havendo diferença nos estudos com relação à sua capacidade de aumentar outros parâmetros de sono como tempo total de sono e aumento de sono de ondas lentas. Essas diferenças podem dever-se pelas diferentes vias de administração utilizadas nos estudos.

Complementarmente outro estudo também demonstrou a possibilidade das ações da oleamida estarem em parte relacionadas com o sistema serotoninérgico (Bogáthy et al., 2019).

Através desses estudos, conjuntamente, observa-se que a oleamida atua em parte pelo sistema endocanabinóide e em parte pelo sistema serotoninérgico como um potente indutor de sono.

#### **6.4 Manipulações envolvendo o transportador de membrana de Anandamida**

Os dois estudos (22 e 23) envolvendo bloqueio da recaptação de anandamida foram realizados por Murillo-Rodriguez. Um deles utilizou o agente VDM 11 via ICV (22). O VDM-11 no início da fase clara, reduz a vigília e aumenta o sono. O antagonista do recetor canabinóide CB1, SR141716A, reverte parcialmente os efeitos do VDM-11 no sono. Adicionalmente, VDM-11 aumenta a expressão de c-Fos (Murillo-Rodriguez et al, 2008). No outro estudo (23), os efeitos na arquitetura do sono de 2 inibidores da recaptação de anandamida, o OMDM-2 ou N-(4-hidroxi-2-metilfenil) e VDM-11, administrados por injeções no núcleo talâmico paraventricular (PVA) foram testados. Além disso foram dosadas concentrações de dopamina após administração desses compostos.

Os resultados mostraram que ambos os compostos aumentam o tempo de sono em detrimento da vigília e que a infusão de compostos reduziu os níveis extracelulares de dopamina coletada do núcleo accumbens.

Os resultados a respeito dos inibidores de recaptação de anandamida demonstram seu papel na modulação no sentido de promoção de sono.

O autor também demonstrou que os níveis extracelulares de dopamina, norepinefrina (, epinefrina e serotonina reduzem após a administração do VDM-11 (Murillo-Rodriguez et al, 2012, 2016).

Esses dados sugerem que a anandamida, além de modular o sono através da modulação da acetilcolina e adenosina, como discutido acima, também o faz através da modulação de dopamina, norepinefrina, epinefrina, e serotonina, todos esses importantes moduladores do sono.

## **6.5 Manipulação do sistema endocanabinóide através da administração de cannabis e fitocanabinóides**

### **6.5.1 Cannabis**

Um estudo (24) avaliou os efeitos das flores de Cannabis vaporizadas no ciclo sono-vigília.

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do THC, um agonista parcial de recetores CB1, obtido através das flores da cannabis. Para atingir este objetivo a autora utilizou o THC através da vaporização das flores. De acordo com o estudo, a vaporização foi eficaz no fornecimento de THC em diferentes doses aos animais, tendo atingido a concentração sanguínea máxima de 6,7 ng/ml. Essa dosagem é considerada baixa, pois existem estudos que utilizaram concentração

sanguínea de THC de até 150 ng/ml, que podem ser obtidos após procedimentos semelhantes de vaporização utilizando um maior tempo de administração e maior quantidade de material vegetal. No entanto, o THC demonstrou produzir efeito promotor do sono mesmo com baixas doses, e na concordância com achados anteriores a respeito dos agonistas de recetores CB1, foi demonstrado que em ratos, 200 mg de Cannabis produziram uma redução na vigília durante o tempo total de registo e aumentaram o tempo gasto em sono NREM durante a primeira hora de registo.

O facto de doses baixas já produzirem efeitos na promoção de sono é um indicador útil pois minimizaria potenciais efeitos colaterais psíquicos e comportamentais na utilização clínica da substância (Alejandra Mondino, 2019).

### **6.5.2. Canabidiol**

O primeiro estudo realizado com CBD por Monti, 1970 (25) demonstrou que o CBD reduziu significativamente a latência do SWS, mas a latência do REM e o número de períodos REM não foram modificados. Além disso, 40 mg/kg de CBD diminuíram significativamente a vigília e aumentaram o sono de ondas lentas. Não houve alteração de sono REM .

Dois outros estudos com CBD foram conduzidos por Murillo-Rodriguez (27 e 29). Um deles (27) demonstrou que o CBD administrado 10 ou 20 mcg durante a fase clara diretamente no hipotálamo lateral ou núcleos dorsais da rafe, que são áreas cerebrais indutoras de vigília, ocorre diminuição do sono de ondas lentas e sono REM e aumento da vigília, sugerindo que esse composto possui propriedades estimulantes através da ativação de neurónios no hipotálamo lateral e núcleos dorsais da rafe (Murillo-Rodriguez et al, 2006). O outro estudo (29) foi realizado pelo mesmo autor para determinar os efeitos do CBD no sono através da administração intracerebroventricular (ICV) de CBD na dose de 10 mcg no início das fases ativa e passiva. Durante a fase passiva aumentou a vigília e diminuiu o sono REM. Não foram observadas alterações no sono durante a fase ativa. Adicionalmente houve aumento de c-Fos em áreas cerebrais relacionadas à vigília, como hipotálamo e núcleo dorsal da rafe, e além disso houve aumento nos níveis extracelulares de dopamina dentro do núcleo accumbens induzido pelo CBD. O estudo também testou se a anandamida bloqueava os efeitos indutores de vigília do CBD através da administração de anandamida (10 mcg via icv) 15 minutos antes da

administração de CBD (10 mcg via icv). Os resultados mostraram que as propriedades de despertar do CBD não foram bloqueadas pela anandamida (Murillo-Rodriguez et al, 2006).

O quarto estudo (25) com CBD foi realizado para testar seu efeito utilizado nas doses de 2,5mg/kg, 10 e 40mg/Kg administrados via intraperitoneal. Os resultados mostraram que durante o período claro de teste, a percentagem total de sono aumentou significativamente nos grupos tratados com 10 e 40 mg/kg de CBD em comparação com placebo. A latência do sono REM aumentou no grupo injetado com CBD 40 mg/kg e diminuiu significativamente com a dose de 10 mg/kg. Houve aumento do tempo de sono de ondas lentas não significativo estatisticamente no grupo tratado com CBD 40 mg/kg (Chagas M. et al, 2013).

A diferença oposta dos resultados, ou seja, o efeito promotor de vigília nos estudos de Murillo-Rodriguez (27 e 29) e promotor de sono nos estudos 25 e 26, de (Monti, 1971) e (Chagas, 2013), respetivamente, pode-se dever às diferentes vias de administração utilizadas. Além disso, nos estudos em que o CBD promoveu sono, as doses utilizadas foram dosadas em miligramas e nos estudos em que demonstrou efeito estimulante as doses são em microgramas, ou seja, trata-se de doses mil vezes maiores, o que sugere um possível efeito bifásico do CBD no sentido de que doses baixas causariam promoção de vigília e doses altas promoção de sono.

### **6.5.2 Ácido metil ester canabidiólico (HU-580)**

O HU-580 é uma substância sintética derivada do ácido canabidiólico e que é metabolizada em canabidiol e por esse motivo esse estudo (28) está sendo discutido no mesmo grupo dos artigos sobre CBD. Nas doses (0,1, 1,0 ou 100 microg/Kg, IP) aumenta o tempo de vigília e diminui a duração do sono de ondas lentas, sem alterações no sono REM. Como resultados adicionais houve aumento dos níveis extracelulares de dopamina, serotonina no accumbens e de adenosina no prosencéfalo basal (Murillo-Rodriguez et al, 2020).

Sumarizando o efeito do CBD, as divergências entre os estudos sugerem diferenças de metodologias ou as próprias características farmacodinâmicas do CBD, com mecanismos múltiplos de ação e que parece ter efeito bifásico sobre o ciclo sono-vigília, no sentido de que baixas doses possuem efeitos estimulantes e doses da ordem de 1000 vezes superiores possuem efeitos sedativos.

## **7. Conclusão**

Os resultados dos estudos apontam para um papel do sistema endocanabinóide no sentido de controle do ciclo sono-vigília através da modulação dos moduladores do sono, como dopamina, serotonina, acetilcolina, adenosina, noradrenalina, dentre outros. O mecanismo exato dessa modulação ainda não é explicável, mas o que se sabe é que o controle glutamatérgico e GABAérgico pelo sistema endocanabinóide acaba por modular aqueles neurotransmissores.

Ao contrário de quase todos os outros sistemas de neurotransmissores (exceto o sistema de opióides endógenos), o sistema endocanabinóide possui mais de um ligante endógeno e uma possível explicação para isso é possibilitar uma maior flexibilidade ao sistema, visto que possui função modulatória fina sobre uma função essencial da vida, como o ciclo sono-vigília.

Outra observação importante é que os efeitos das substâncias dependem da fase do ciclo circadiano, fenómeno que decorre da variação dos componentes do sistema endocanabinóide ao longo das 24 horas do dia. Um exemplo é a falta do efeito promotor de sono da anandamida quando administrada no período claro, momento em que os animais já estão naturalmente propensos ao sono, e que existe uma maior expressão de receptores CB1 e de anandamida naturais, e nesta situação, um fornecimento extra de anandamida não provoca efeitos adicionais sobre o sono. Ao contrário, seus efeitos promotores de sono são notáveis quando ela é administrada na fase escura, momento em que os animais estão predispostos à vigília. Tal observação nos leva a conclusão de que os elementos do sistema endocanabinóide são controlados pelo ritmo circadiano, ou ao contrário, que o ritmo circadiano possa ser controlado pelos elementos do sistema.

Os componentes do sistema endocanabinóide modulam o sono no seguinte sentido:

A estimulação de receptores CB1 atua no sentido de promoção de sono e seu bloqueio na promoção da vigília. Porém não está bem explicado se em determinadas populações neuronais a estimulação desses receptores pode levar a efeito de promoção de vigília.

No que diz respeito aos ligantes endógenos, a anandamida atua como agente promotor de sono. Relativamente ao 2-AG, esse efeito pode depender da concentração desse agente, apresentando assim um efeito bifásico, no sentido de que doses mais baixas promovem o sono, e doses mais altas promovem vigília. Este fenómeno pode ser hipoteticamente explicado pelo fato de que doses menores atuam em regiões promotoras de sono, e que doses mais altas também atuariam em regiões promotoras da vigília, e que estes efeitos se sobrepõem aos promotores de sono.

O transportador de anandamida faz parte da cadeia de término da sinalização endocanabinóide, assim, quando bloqueado, aumenta a disponibilidade de anandamida, permitindo que ela exerça seus efeitos em maior grau de magnitude, promovendo sono.

A oleamida atua como potente indutor de sono e atua em parte através das vias serotoninérgicas e em parte por vias canabinérgicas, não desencadeando sintomas de abstinência após interrupção de uso sub crônico.

Os bloqueadores específicos da FAAH, apesar de aumentarem a disponibilidade de anandamida, aumentam também a disponibilidade de outras moléculas promotoras de vigília, como PEA e OEA, que são também seus substratos, e dessa forma possuem efeito promotor de vigília. Quando o estímulo de receptores vanilóides se associa ao bloqueio da FAAH o efeito passa a ser sedativo. No que diz respeito à inibição da MAGL, a modulação é feita no sentido da promoção de vigília através do acúmulo de 2-AG.

Em relação aos canabinóides naturais, as flores secas da cannabis ricas em THC funcionam como agentes promotores de sono mesmo em doses baixas, atuando como agonista parcial de recetores CB1, já o CBD em 3 estudos mostrou ter efeitos estimulantes e em 2 apresentou efeitos promotores de sono. Os estudos são difíceis de serem comparados em virtude de diferentes doses e vias de administração utilizadas nos estudos, porém uma hipótese é que possua efeitos bifásicos no sentido de que doses baixas causam promoção de vigília e doses altas promoção de sono.

Finalizando, os resultados dos estudos indicam que o sistema endocanabinóide participa no controle do ciclo sono-vigília, promovendo um “ajuste fino” do ciclo, já que parece fazer a modulação dos moduladores do sono, como dopamina, noradrenalina, serotonina, acetilcolina, adenosina, através do controle da sinalização GABAérgica e glutamatérgica, além de possuir grande flexibilidade através de ampla gama de possibilidades de sinalização como a existência de no mínimo 2 ligantes internos e interação com outros sistemas de recetores.

Devem ser realizados estudos adicionais, principalmente levando-se em consideração uma maior observação principalmente no que diz respeito à randomização e cegamento dos estudos, quesitos estes, que pela sua pouca observância nos estudos desta revisão, acabaram prejudicando a qualidade dos trabalhos. A relação entre sistema endocanabinóide e ritmo circadiano é outra área que necessita de maior clarificação. A realização de estudos que possibilitem uma melhor caracterização da curva dose-resposta dos agentes que interajam com o sistema endocanabinóide, a fim de alargar o conhecimento a respeito do comportamento destas substâncias disponibilizará dados mais robustos sobre o tema, garantindo futuros estudos

translacionais e avaliações de potenciais utilidades clínicas de agentes farmacológicos que atuam no sistema endocanabinóide.

## Bibliografia

- Achermann, P., & Borbély, A. A. (2003). Mathematical models of sleep regulation. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 8, s683–s693. <https://doi.org/10.2741/1064>
- Airaksinen, M. S., Alanen, S., Szabat, E., Visser, T. J., & Panula, P. (1992). Multiple neurotransmitters in the tuberomammillary nucleus: comparison of rat, mouse, and guinea pig. *The Journal of comparative neurology*, 323(1), 103–116. <https://doi.org/10.1002/cne.903230109>.
- Ameri, A., Wilhelm, A., & Simmet, T. (1999). Effects of the endogenous cannabinoid, anandamide, on neuronal activity in rat hippocampal slices. *British journal of pharmacology*, 126(8), 1831–1839. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702478>.
- Anderson, A. L., & Thomason, M. E. (2013). Functional plasticity before the cradle: a review of neural functional imaging in the human fetus. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 37(9 Pt B), 2220–2232. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.03.013>.
- Anderson, K. N., & Bradley, A. J. (2013). Sleep disturbance in mental health problems and neurodegenerative disease. *Nature and science of sleep*, 5, 61–75. <https://doi.org/10.2147/NSS.S34842>.
- Andrade, K. C., Spoormaker, V. I., Dresler, M., Wehrle, R., Holsboer, F., Sämann, P. G., & Czisch, M. (2011). Sleep spindles and hippocampal functional connectivity in human NREM sleep. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(28), 10331–10339. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5660-10.2011>.
- Aricò, D., Drago, V., Foster, P. S., Heilman, K. M., Williamson, J., & Ferri, R. (2010). Effects of NREM sleep instability on cognitive processing. *Sleep medicine*, 11(8), 791–798. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2010.02.009>.
- Armitage R. (2007). Sleep and circadian rhythms in mood disorders. *Acta psychiatrica Scandinavica. Supplementum*, (433), 104–115. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2007.00968.x>.
- Arnedt, J.T., Conroy, D.A., & Brower, K.J. (2007). Treatment Options for Sleep Disturbances During Alcohol Recovery. *Journal of Addictive Diseases*, 26, 41 - 54.
- Basile, A. S., Hanus, L., & Mendelson, W. B. (1999). Characterization of the hypnotic properties of oleamide. *Neuroreport*, 10(5), 947–951. <https://doi.org/10.1097/00001756-199904060-00010>.
- Batchelor, A., Garthwaite, J. Frequency detection and temporally dispersed synaptic signal association through a metabotropic glutamate receptor pathway. *Nature* 385, 74–77 (1997). <https://doi.org/10.1038/385074a0>.
- Beierlein, M., Fioravante, D., and Regehr, W.G. (2007). Differential expression of posttetanic potentiation and retrograde signaling mediate target-dependent short-term synaptic plasticity. *Neuron* 54, 949–959.

- Bellesi, M., deVivo, L., Tononi, G. and Cirelli, C. (2015) Effects of Sleep and Wake on Astrocytes: Clues from Molecular and Ultrastructural Studies. *BMC Biology*, 13, 66. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0176-7>.
- Bellesi, M., Tononi, G., Cirelli, C., & Serra, P. A. (2016). Region-Specific Dissociation between Cortical Noradrenaline Levels and the Sleep/Wake Cycle. *Sleep*, 39(1), 143–154. <https://doi.org/10.5665/sleep.5336>.
- Bender, V. A., Bender, K. J., Brasier, D. J., & Feldman, D. E. (2006). Two coincidence detectors for spike timing-dependent plasticity in somatosensory cortex. *Journal of Neuroscience*, 26(16), 4166–4177. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0176-06.2006>.
- Benedetti, F., & Colombo, C. (2011). Sleep deprivation in mood disorders. *Neuropsychobiology*, 64(3), 141–151. <https://doi.org/10.1159/000328947>.
- Benington, J. H., & Heller, H. C. (1995). Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep. *Progress in neurobiology*, 45(4), 347–360. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(94\)00057-o](https://doi.org/10.1016/0301-0082(94)00057-o).
- Bergmann, T. O., Mölle, M., Diedrichs, J., Born, J., & Siebner, H. R. (2012). Sleep spindle-related reactivation of category-specific cortical regions after learning face-scene associations. *NeuroImage*, 59(3), 2733–2742. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.10.036>.
- Berntson, G. G., Shafi, R., & Sarter, M. (2002). Specific contributions of the basal forebrain corticopetal cholinergic system to electroencephalographic activity and sleep/waking behaviour. *European Journal of Neuroscience*, 16(12), 2453–2461. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02310.x>.
- Blake, H.H., & Gerard, R.W. (1937). Brain Potentials During Sleep. *American Journal of Physiology*, 119, 692-703.
- Bogáthy, E., Papp, N., Tóthfalusi, L., Vas, S., & Bagdy, G. (2019). Additive effect of 5-HT<sub>2C</sub> and CB1 receptor blockade on the regulation of sleep–wake cycle. *BMC neuroscience*, 20(1), 1-8.
- Bogáthy, E., Papp, N., Vas, S., Bagdy, G., & Tóthfalusi, L. (2019). AM-251, A Cannabinoid Antagonist, Modifies the Dynamics of Sleep-Wake Cycles in Rats. *Frontiers in pharmacology*, 10, 831. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00831>.
- Boissard, R., Gervasoni, D., Schmidt, M.H., Barbagli, B., Fort, P.E., & Luppi, P. (2002). The rat ponto-medullary network responsible for paradoxical sleep onset and maintenance: a combined microinjection and functional neuroanatomical study. *European Journal of Neuroscience*, 16.
- Borbély, A. A., Baumann, F., Brandeis, D., Strauch, I., & Lehmann, D. (1981). Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 51(5), 483–495. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(81\)90225-x](https://doi.org/10.1016/0013-4694(81)90225-x).
- Borbély, A. A., Daan, S., Wirz-Justice, A., & Deboer, T. (2016). The two-process model of sleep regulation: a reappraisal. *Journal of sleep research*, 25(2), 131–143. <https://doi.org/10.1111/jsr.12371>.
- Born J. (2010). Slow-wave sleep and the consolidation of long-term memory. *The world journal of biological psychiatry: the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 11 Suppl 1, 16–21. <https://doi.org/10.3109/15622971003637637>.

- Brankack, J., B. Platt, G. Riedel (2009). Sleep and hippocampus: do we search for the right things? *Progress in Neuropsychopharmacology Biological Psychiatry* 33, 806–812.
- Brenneisen, R., Egli, A., Elshly, M. A., Henn, V., & Spiess, Y. (1996). The effect of orally and rectally administered delta 9-tetrahydrocannabinol on spasticity: a pilot study with 2 patients. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 34(10), 446–452.
- Brenowitz, S. D., & Regehr, W. G. (2005). Associative short-term synaptic plasticity mediated by endocannabinoids. *Neuron*, 45(3), 419–431. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.12.045>.
- Brower, K. J., & Perron, B. E. (2010). Sleep disturbance as a universal risk factor for relapse in addictions to psychoactive substances. *Medical hypotheses*, 74(5), 928–933. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.10.020>
- Bruni O, Ferri R, Novelli L, Finotti E, Terribili M, Troianiello M, et al. (2009). Slow EEG amplitude oscillations during NREM sleep and reading disabilities in children with dyslexia. *Developmental Neuropsychology* 34(5):539–551 <https://doi.org/10.1080/87565640903133418>.
- Bruni, O., Ferri, R., Vittori, E., Novelli, L., Vignati, M., Porfirio, M.C., Aricò, D., Bernabei, P., & Curatolo, P. (2007). Sleep architecture and NREM alterations in children and adolescents with Asperger syndrome. *Sleep*, 30 11, 1577-85.
- Bustamante G. O. (2006) Monitorização polissonográfica - Aspectos gerais. *Medicina (Ribeirão Preto)* 39 (2): 169-184.
- Cachope, R., Mackie, K., Triller, A., O'Brien, J., & Pereda, A.E. (2007). Potentiation of Electrical and Chemical Synaptic Transmission Mediated by Endocannabinoids. *Neuron*, 56, 1034-1047.
- Campbell, S. S., & Tobler, I. (1984). Animal sleep: a review of sleep duration across phylogeny. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 8(3), 269–300. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(84\)90054-x](https://doi.org/10.1016/0149-7634(84)90054-x)
- Canessa N, Ferini-Strambi L. (2011). Sleep-disordered breathing and cognitive decline in older adults. *JAMA*, 306(6):654–510. [1001/jama.2011.1124](https://doi.org/10.1001/jama.2011.1124).
- Carley D., farabi S. (2016). Physiology of Sleep. *Diabetes Spectr* 29: 5-9.
- Cartwright R., Baehr E., Kirkby J., Pandi-Perumal S R., Kabat J. (2003). REM sleep reduction, mood regulation and remission in untreated depression. *PsychiatryResearch*.121.:159-167.
- Chauvette S, Crochet S, Volgushev M, Timofeev I. (2011). Properties of slow oscillation during slow-wave sleep and anesthesia in cats. *J Neurosci* 31: 14998–15008.
- Chemelli, R. M., Willie, J. T., Sinton, C. M., Elmquist, J. K., Scammell, T., Lee, C., et al. (1999). Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98, 437–451.
- Chevalyere, V., Takahashi, K. A., & Castillo, P. E. (2006). Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annual review of neuroscience*, 29, 37–76. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112834>.

- Chokroverty, S. (2010). Overview of sleep and sleep disorders. *Indian Journal of Medicine*, 131,126–140.
- Chuhma N, Choi WY, Mingote S, Rayport S. (2009). Dopamine neuron glutamate cotransmission: frequency-dependent modulation in the mesoventromedial projection. *Neuroscience*, 164,1068–83.
- Clemens Z, Fabo D, Halasz P. (2005). Overnight verbal memory retention correlates with the number of sleep spindles. *Neuroscience*, 132, 529–3510.1016/j.neuroscience.2005.01.011
- Clemens Z, Mölle M, Eross L, Jakus R, Rásonyi G, Halász P, et al. (2011) Fine-tuned coupling between human parahippocampal ripples and sleep spindles. *European Journal of Neuroscience*, 33,511–2010.1111/j.1460-9568.2010.07505x.
- Comella, C., Tanner, C.M., & Ristanovic, R.K. (1993). Polysomnographic sleep measures in Parkinson's disease patients with treatment-induced hallucinations. *Annals of Neurology*, 34.
- Coulon, P., Budde, T., & Pape, H. (2011). The sleep relay—the role of the thalamus in central and decentral sleep regulation. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 463, 53-71.
- Crain, S. M., & Shen, K. F. (1996). Modulatory effects of Gs-coupled excitatory opioid receptor functions on opioid analgesia, tolerance, and dependence. *Neurochemical research*, 21(11), 1347–1351. <https://doi.org/10.1007/BF02532375>.
- Davidson R. J. (2002). Anxiety and affective style: role of prefrontal cortex and amygdala. *Biological psychiatry*, 51(1), 68–80. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(01\)01328-2](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01328-2).
- Deboer T. (2015). Behavioral and electrophysiological correlates of sleep and sleep homeostasis. *Current topics in behavioral neurosciences*, 25, 1–24. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2013\\_248](https://doi.org/10.1007/7854_2013_248).
- Di Marzo, V., Bifulco, M., & De Petrocellis, L. (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature reviews. Drug discovery*, 3(9), 771–784. <https://doi.org/10.1038/nrd1495>.
- Diekelmann, S., Wilhelm, I., & Born, J. (2009). The whats and whens of sleep-dependent memory consolidation. *Sleep medicine reviews*, 13(5), 309–321. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2008.08.002>
- Dijk, D., Czeisler, C. (1994). Paradoxical timing of the circadian rhythm of sleep propensity serves to consolidate sleep and wakefulness in humans. *Neurosciences Letters*, 166, 63– 68.
- Dolcos, F., LaBar, K. S., & Cabeza, R. (2005). Remembering one year later: role of the amygdala and the medial temporal lobe memory system in retrieving emotional memories. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(7), 2626–2631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409848102>.
- Dresler, M., Kluge, M., Genzel, L., Schüssler, P., & Steiger, A. (2010). Impaired off-line memory consolidation in depression. *European Neuropsychopharmacology*, 20, 553-561.

- D'Souza, D. C., Cortes-Briones, J., Creatura, G., Bluez, G., Thurnauer, H., Deaso, E., Bielen, K., Surti, T., Radhakrishnan, R., Gupta, A., Gupta, S., Cahill, J., Sherif, M. A., Makriyannis, A., Morgan, P. T., Ranganathan, M., & Skosnik, P. D. (2019). Efficacy and safety of a fatty acid amide hydrolase inhibitor (PF-04457845) in the treatment of cannabis withdrawal and dependence in men: a double-blind, placebo-controlled, parallel group, phase 2a single-site randomised controlled trial. *The lancet. Psychiatry*, 6(1), 35–45. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(18\)30427-9](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(18)30427-9).
- Egertová, M., & Elphick, M. R. (2000). Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. *The Journal of comparative neurology*, 422(2), 159–171. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(20000626\)422:2<159:aid-cnel>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(20000626)422:2<159:aid-cnel>3.0.co;2-1)
- Ernis, U., Krakow, K., & Voss, U. (2010). Arousal thresholds during human tonic and phasic REM sleep. *Journal of sleep research*, 19(3), 400–406. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2010.00831.x>.
- Etkin A. (2010). Functional neuroanatomy of anxiety: a neural circuit perspective. *Current topics in behavioral neurosciences*, 2, 251–277. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2009\\_5](https://doi.org/10.1007/7854_2009_5).
- Etkin, A., & Wager, T. D. (2007). Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *The American journal of psychiatry*, 164(10), 1476–1488. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.07030504>.
- Fantini, M. L., Farini, E., Ortelli, P., Zucconi, M., Manconi, M., Cappa, S., & Ferini-Strambi, L. (2011). Longitudinal study of cognitive function in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Sleep*, 34(5), 619–625.
- Feinberg I, March JD, Fein G, Floyd TC, Walker JM, Price L. (1978). Period and amplitude analysis of 0.5–3c/sec activity in NREM sleep of young adults. *Electroencephalography Clinical Neurophysiology*, 44, 202–213.
- Ferini-Strambi L, Ortelli P, Castronovo V, Cappa S. (2004). Increased periodic arousal fluctuations during non-REM sleep are associated to superior memory. *Brain Research Bull*, 63, 439–4210.1016/j.brainresbull.2004.01.012.
- Fernandes, C., Rocha, N.B., Rocha, S., Herrera-Solís, A., Salas-Pacheco, J.M., García-García, F., Murillo-Rodríguez, E., Yuan, T., Machado, S., & Arias-Carrión, O. (2015). Detrimental role of prolonged sleep deprivation on adult neurogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9.
- Ferrari, L. L., Agostinelli, L. J., Krashes, M. J., Lowell, B. B., Scammell, T. E., & Arrigoni, E. (2016). Dynorphin inhibits basal forebrain cholinergic neurons by pre- and postsynaptic mechanisms. *The Journal of physiology*, 594(4), 1069–1085. <https://doi.org/10.1113/JP271657>.
- Ferri R, Drago V, Aricò D, Bruni O, Remington RW, Stamatakis K, et al. (2010). The effects of experimental sleep fragmentation on cognitive processing. *Sleep Medicine*, 11(4), 378–8510.1016/j.sleep.2010.01.006
- Ficca G, Salzarulo P. (2004). What in sleep is for memory. *Sleep Medicine*, 5,225–3010.1016/j.sleep.2004.01.018.

- Filipek, S., Palczewski, K., Trzaskowski, B., Modzelewska, A., and Latek, D. (2012). G protein-coupled receptors—recent advances. *Acta biochimica Polonica*, 59(4), 515–529.
- Fogel SM, Smith CT, Cote KA. (2007). Dissociable learning-dependent changes in REM and non-REM sleep in declarative and procedural memory systems. *Behavior Brain Researc*, 180:48–6110.1016/j.bbr.2007.02.037.
- Földy, C., Lee, S. Y., Szabadics, J., Neu, A., & Soltesz, I. (2007). Cell type-specific gating of perisomatic inhibition by cholecystikinin. *Nature neuroscience*, 10(9), 1128–1130. <https://doi.org/10.1038/nn1952>
- Frank M., Cantera R. (2014). Sleep, clocks, and synaptic plasticity. *Trends of Neuroscience*, 37: 491-501.
- Freund F., Katona, I. and Piomelli, D. (2003). Role of endogenous cannabi noids in synaptic signaling. *Physiology Reviews*, 83, 1017–1066.
- Friedman, D., & Sirven, J. I. (2017). Historical perspective on the medical use of cannabis for epilepsy: ancient times to the 1980s. *Epilepsy & Behavior*, 70, 298-301.
- Fucke, T., Suchanek, D., Nawrot, M. P., Seamari, Y., Heck, D. H., Aertsen, A., and Boucsein, C. (2011). Stereotypic spatio-temporal activity patterns during slow-wave activity in the neocortex. *Journal of Neurophysiology*, 106, 3035–3044.
- Gaus S., Strecker R., Tate B., Parker R and Saper C. (2002). Ventrolateral preoptic nucleus contains sleep-active, galaninergic neurons in multiple mammalian species. *Neuroscience*, 115: 285-94.
- Genzel L, Dresler M, Wehrle R, Grözinger M, Steiger A. (2009). Slow wave sleep and REM sleep awakenings do not affect sleep dependent memory consolidation. *Sleep*, 32(3):302–10.
- Gillespie D., Kim G, Kandler K. (2005). Inhibitory synapses in the developing auditory system are glutamatergic. *Natural Neuroscience*, 8:332–8.
- Goonawardena, A. V., Plano, A., Robinson, L., Platt, B., Hampson, R. E., & Riedel, G. (2011). A Pilot Study into the Effects of the CB1 Cannabinoid Receptor Agonist WIN55,212-2 or the Antagonist/Inverse Agonist AM251 on Sleep in Rats. *Sleep disorders*, 2011, 178469. <https://doi.org/10.1155/2011/178469>
- Gourine, A. V., Kasymov, V., Marina, N., Tang, F., Figueiredo, M. F., Lane, S. & Kasparov, S. (2010). Astrocytes control breathing through pH-dependent release of ATP. *Science*, 329(5991), 571-575.
- Guimarães G. (2010). Diagnóstico polissonográfico. *Pulmão*, 19(3-4):88-92.
- Gulia, K. K., Mallick, H. N., and Kumar, V. M. (2005). Ambient temperature related sleep changes in rats neonatally treated with capsaicin. *Physiology Behavior*, 85, 414–418.
- Guzan-marín r, suntsova n, bashir t, nienhuis r, szymusiak r, mcginty D. (2008). Rapid eye movement sleep deprivation contributes to reduction of neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of the adult rat. *Sleep* 31,167-175.

- Hanlon EC, Tasali E, Leproult R, Stuhr KL, Doncheck E, De Wit H, et al. (2016). Restriction enhances the daily rhythm of circulating levels of endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Sleep*, 39(3), 653-64.
- Harvey AG, Murray G, Chandler RA, Soehner A. (2011) Sleep disturbance as transdiagnostic: consideration of neurobiological mechanisms. *Clinical Psychology Reviews*, 31, 225–35.
- Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Tsubokawa, H., Ogata, H., Emoto, K., Maejima, T., Araishi, K., Shin, H. S., & Kano, M. (2005). Phospholipase C $\beta$  serves as a coincidence detector through its Ca<sup>2+</sup> dependency for triggering retrograde endocannabinoid signal. *Neuron*, 45(2), 257–268. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.01.004>
- Hasler G., Buysse J., Klaghofer R., Gamma A., Ajdacic V., Eich D., Rössler W., Angst J. (2004). The association between short sleep duration and obesity in young adults: a 13-year prospective study. *Sleep*, 27, 661-666.
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(5), 1932–1936. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932>.
- Herrera-Solís, A., Vásquez, K. G., & Prospéro-García, O. (2010). Acute and subchronic administration of anandamide or oleamide increases REM sleep in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 95(1), 106-112.
- Hirshkowitz M. (2016). Polysomnography Challenges. *Sleep Medical Clinic*, 11(4), 403-411
- Huber R., Ghilardi M., Massimini M. & Tononi G. (2004). Local sleep and learning. *Nature*, 430, 78–81. [10.1038/nature02663](https://doi.org/10.1038/nature02663)
- Huitrón-Reséndiz S., Gombart, L., Cravatt, B. F., & Henriksen, S. J. (2001). Effect of oleamide on sleep and its relationship to blood pressure, body temperature, and locomotor activity in rats. *Experimental neurology*, 172(1), 235-243.
- Huitron-Resendiz S., Sanchez-Alavez M., Wills, B., Cravatt, B. & Henriksen, S.J. (2004). Characterization of the sleep–wake patterns in mice lacking fatty acid amide hydrolase, *Sleep* 27, 857–865.
- Imeri L & Opp Mr. (2009) How (and why) the immune system makes us sleep. *Nature Reviews of Neuroscience*, 10, 199-210.
- Jackson, A. & Wever, R. (1976). Human circadian rhythms: a multioscillatory system. *Federation proceedings*, 35(12), 2326-2332.
- Jackson, F., & Bolger, D. (2014). The neurophysiological bases of EEG and EEG measurement: a review for the rest of us. *Psychophysiology*, 51(11), 1061–1071. <https://doi.org/10.1111/psyp.12283>.
- Jang, S. & Kwon H. (2015). The ascending reticular activating system from pontine reticular formation to the hypothalamus in the human brain: A diffusion tensor imaging study. *Neuroscience*, 290, 58-61.

- Jenkins A., Dallenbach K. (1924). Obliviscence during sleep and waking. *American journal of Psychology*, 35, 605–1210.2307/1414040
- Jessen, N. A., Munk, A. S. F., Lundgaard, I., & Nedergaard, M. (2015). The glymphatic system: a beginner's guide. *Neurochemical research*, 40(12), 2583-2599.
- Jewett K., Taishi P., Sengupta P., Roy S, Davis Cj, Krueger J. (2015) Tumor necrosis factor enhances the sleep-like state and electrical stimulation induces a wake-like state in co-cultures of neurons and glia. *European Journal of Neuroscience*, 42, 2078-2090.
- Jouvet M. (1998). Paradoxical sleep as a programming system. *Journal of Sleep Research*, 7 Suppl 1: 1-5.
- Jung C., Melanson E., Frydendall E., Perreault L., Eckel R., Wright K. (2011). Energy expenditure during sleep, sleep deprivation and sleep following sleep deprivation in adult humans. *Journal of Physiology*, 589, 235-244.
- Kilduff T., Cauli B., Gerashchenko D. (2011). Activation of cortical interneurons during sleep: an anatomical link to homeostatic sleep regulation? *Trends of Neuroscience*, 34,10–19.
- Kräuchi K., Cajochen C., Werth E., Wirz-Justice A. (1999). Warm feet promote the rapid onset of sleep. *Nature* 1999; 401, 36– 37.
- Kreibich A., Reyes B., Curtis A., Ecke L., Chavkin C., Van Bockstaele E., et al. (2008). Presynaptic inhibition of diverse afferents to the locus ceruleus by kappa-opiate receptors: a novel mechanism for regulating the central norepinephrine system. *Journal of Neuroscience*, 28, 6516–25.
- Kroeger D., Ferrari L., Petit G., Mahoney C., Fuller P., Arrigoni E. et al. (2017). Cholinergic, glutamatergic, and gabaergic neurons of the pedunculopontine tegmental nucleus have distinct effects on sleep/wake behavior in mice. *Journal of Neuroscience*, 37, 1352–61.
- Krueger, J. M., & Wisor, J. P. (2011). Local use-dependent sleep. *Current topics in medicinal chemistry*, 11(19), 2390.
- Kukko-Lukjanov, T. K., & Panula, P. (2003). Subcellular distribution of histamine, GABA and galanin in tuberomamillary neurons in vitro. *Journal of chemical neuroanatomy*, 25(4), 279–292. [https://doi.org/10.1016/s0891-0618\(03\)00043-7](https://doi.org/10.1016/s0891-0618(03)00043-7)
- Kutlu, A., İşeri, P., Selekler, M., Benbir, G., Karadeniz, D. (2013). Cyclic alternating pattern analysis in REM sleep behavior disorder. *Sleep Breath*, 17, 209–1510.1007/s11325-012-0675-5.
- Lambert, D. M., & Di Marzo, V. (1999). The palmitoylethanolamide and oleamide enigmas: Are these two fatty acid amides cannabimimetic? *Current medicinal chemistry*, 6(8), 757–773.
- Lu, X. R., Ong, W. Y., & Mackie, K. (1999). A light and electron microscopic study of the CB1 cannabinoid receptor in monkey basal forebrain. *Journal of neurocytology*, 28(12), 1045–1051. <https://doi.org/10.1023/a:1007052507911>

- Lundgaard, I., Lu, M. L., Yang, E., Peng, W., Mestre, H., Hitomi, E. & Nedergaard, M. (2017). Glymphatic clearance controls state-dependent changes in brain lactate concentration. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 37(6), 2112-2124.
- Lundius E., Sanchez-Alavez M., Ghochani Y., Klaus J., Tabarean V. (2010). Histamine influences body temperature by acting at H1 and H3 receptors on distinct populations of preoptic neurons. *Journal of Neuroscience*, 30, 4369–81.
- Luppi, P. H., Gervasoni, D., Verret, L., Goutagny, R., Peyron, C., Salvert, D., Leger, L., & Fort, P. (2006). Paradoxical (REM) sleep genesis: the switch from an aminergic-cholinergic to a GABAergic-glutamatergic hypothesis. *Journal of physiology, Paris*, 100(5-6), 271–283. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2007.05.006>.
- Luppi, P. H., Peyron, C., & Fort, P. (2017). Not a single but multiple populations of GABAergic neurons control sleep. *Sleep medicine reviews*, 32, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2016.03.002>.
- Lyamin, O. I., Manger, P. R., Ridgway, S. H., Mukhametov, L. M., and Siegel, J. M. (2008). Cetacean sleep: an unusual form of mammalian sleep. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 32, 1451–1484.
- Maejima, T., Araishi, K., Shin, H.S., and Kano, M. (2005). Phospholipase Cbeta.
- Malenka, R.C., and Bear, M.F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44, 5–21.
- Manwell, L.A., Ford, B., Matthews, B.A., Heipel, H., Mallet, P.E. (2014). A vapourized  $\delta$ 9-tetrahydrocannabinol ( $\delta$ 9-THC) delivery system part II: comparison of behavioural effects of pulmonary versus parenteral cannabinoid exposure in rodents. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 70, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014>.
- Maquet P. (2001) The role of sleep in learning and memory. *Science*, 294,1048–5210.1126/science.1062856
- Marshall L., Helgadottir H., Molle M., Born J. (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, 444, 610–310.1038/nature05278.
- Marsicano, G., Goodenough, S., Monory, K., Hermann, H., Eder, M., Cannich, A., Azad, S. C., Cascio, M. G., Gutiérrez, S. O., van der Stelt, M., López-Rodríguez, M. L., Casanova, E., Schütz, G., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V., Behl, C., & Lutz, B. (2003). CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5642), 84–88. <https://doi.org/10.1126/science.1088208>
- McCarley R. (2007). Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Medicine*, 8, 302-330.
- McKenna J, Zielinski M and McCarley R: Neurobiology of REM Sleep, NREM Sleep Homeostasis, and Gamma Band Oscillations in Sleep Disorders Medicine: Basic Science, Technical Considerations and Clinical Aspects. *Neurobiology of clinical reviews*, 23, 55-68, 2017.
- Meier-Koll A., Bussmann B., Schmidt C., Neuschwander D. (1999). Walking through a maze alters the architecture of sleep. *Perception Motor Skills*, 88, 1141–5910.2466/pms.1999.88.3c.1141.

- Mendelson, W. B., & Basile, A. S. (1999). The hypnotic actions of oleamide are blocked by a cannabinoid receptor antagonist. *Neuroreport*, *10*(15), 3237-3239.
- Méndez-Díaz, M., Caynas-Rojas, S., Santacruz, V. A., Ruiz-Contreras, A. E., Aguilar-Roblero, R., & Prospéro-García, O. (2013). Entopeduncular nucleus endocannabinoid system modulates sleep-waking cycle and mood in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *107*, 29-35.
- Miletínová, B. & Wisor J. P. (2013). The sleep-deprived hippocampus: a loss in translation. *Physiological genomics*, *45*(1), 26-27. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00156.2012>.
- Mingote S., Chuhma N., Kalmbach A., Thomsen G., Wang Y., Mihali A. et al. (2017). Dopamine neuron dependent behaviors mediated by glutamate cotransmission. *eLife*, *6*, e27566.
- Miyauchi, S., Misaki, M., Kan, S., Fukunaga, T., & Koike, T. (2009). Human brain activity time-locked to rapid eye movements during REM sleep. *Experimental brain research*, *192*(4), 657-667. <https://doi.org/10.1007/s00221-008-1579-2>.
- Mölle, M., Marshall, L., Gais, S., & Born, J. (2004). Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(38), 13963-13968. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402820101>.
- Mondino, A., Cavelli, M., González, J., Santana, N., Castro-Zaballa, S., Mechoso, B., ... & Falconi, A. (2019). Acute effect of vaporized Cannabis on sleep and electrocortical activity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *179*, 113-123.
- Monory, K., Blaudzun, H., Massa, F., Kaiser, N., Lemberger, T., Schutz, G. (2018). system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron* *51*, 315-321.
- Monory, K., Massa, F., Egertová, M., Eder, M., Blaudzun, H., Westenbroek, R., Kelsch, W., Jacob, W., Marsch, R., Ekker, M., Long, J., Rubenstein, J. L., Goebbels, S., Nave, K. A., During, M., Klugmann, M., Wölfel, B., Dodt, H. U., Zieglgänsberger, W., Wotjak, C. T., ... Lutz, B. (2006). The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron*, *51*(4), 455-466. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.07.006>
- Monti, J. M. (1977). Hypnoticlike effects of cannabidiol in the rat. *Psychopharmacology*.
- Moore R. (2007). Suprachiasmatic nucleus in sleep-wake regulation. *Sleep Medicine*, *8* (Suppl 3), S27-S33.
- Munro, K.L. Thomas, M. Abu-Shaar. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids, *Nature*, *365*, 61-65.
- Murillo-Rodríguez E, Arias-Carrión O, Zavala-García A, Sarro-Ramírez A, Huitrón-Reséndiz S, Arankowsky-Sandoval G (2012) Basic sleep mechanisms: an integrative review. *CentNerv Syst Agents Med Chem* *12*:38-54.
- Murillo-Rodríguez, E., Arankowsky-Sandoval, G., Pertwee, R. G., Parker, L., & Mechoulam, R. (2020). Sleep and neurochemical modulation by cannabidiolic acid methyl ester in rats. *Brain Research Bulletin*, *155*, 166-173.

- Murillo-Rodríguez, E., Blanco-Centurion, C., Sanchez, C., Daniele, P., & Shiromani, P. J. (2003). Anandamide enhances extracellular levels of adenosine and induces sleep: an in vivo microdialysis study. *Sleep*, *26*(8), 943-947.
- Murillo-Rodríguez, E., Cabeza, R., Méndez-Díaz, M., Navarro, L., & Prospéro-García, O. (2001). Anandamide-induced sleep is blocked by SR141716A, a CB1 receptor antagonist and by U73122, a phospholipase C inhibitor. *Neuroreport*, *12*(10), 2131-2136.
- Murillo-Rodríguez, E., Di Marzo, V., Machado, S., Rocha, N. B., Veras, A. B., Neto, G. A., ... & Arankowsky-Sandoval, G. (2017). Role of N-arachidonoyl-serotonin (AA-5-HT) in sleep-wake cycle architecture, sleep homeostasis, and neurotransmitters regulation. *Frontiers in molecular neuroscience*, *10*, 152.
- Murillo-Rodríguez, E., Machado, S., Rocha, N. B., Budde, H., Yuan, T. F., & Arias-Carrión, O. (2016). Revealing the role of the endocannabinoid system modulators, SR141716A, URB597 and VDM-11, in sleep homeostasis. *Neuroscience*, *339*, 433-449.
- Murillo-Rodríguez, E., Millán-Aldaco, D., Di Marzo, V., & Drucker-Colin, R. (2008). The anandamide membrane transporter inhibitor, VDM-11, modulates sleep and c-Fos expression in the rat brain. *Neuroscience*, *157*(1), 1-11.
- Murillo-Rodríguez, E., Millán-Aldaco, D., Palomero-Rivero, M., Mechoulam, R., & Drucker-Colín, R. (2006). Cannabidiol, a constituent of Cannabis sativa, modulates sleep in rats. *FEBS letters*, *580*(18), 4337-4345.
- Murillo-Rodríguez, E., Millán-Aldaco, D., Palomero-Rivero, M., Mechoulam, R., & Drucker-Colín, R. (2008). The nonpsychoactive Cannabis constituent cannabidiol is a wake-inducing agent. *Behavioral neuroscience*, *122*(6), 1378.
- Murillo-Rodríguez, E., Palomero-Rivero, M., Millán-Aldaco, D., & Di Marzo, V. (2013). The administration of endocannabinoid uptake inhibitors OMDM-2 or VDM-11 promotes sleep and decreases extracellular levels of dopamine in rats. *Physiology & behavior*, *109*, 88-95.
- Murillo-Rodríguez, E., Palomero-Rivero, M., Millán-Aldaco, D., Arias-Carrión, O., & Drucker-Colín, R. (2011). Administration of URB597, oleoylethanolamide or palmitoylethanolamide increases waking and dopamine in rats. *PloS one*, *6*(7), e20766.
- Murillo-Rodríguez, E., Palomero-Rivero, M., Millán-Aldaco, D., Mechoulam, R., & Drucker-Colín, R. (2011). Effects on sleep and dopamine levels of microdialysis perfusion of cannabidiol into the lateral hypothalamus of rats. *Life sciences*, *88*(11-12), 504-511.
- Murillo-Rodríguez, E., Sánchez-Alavez, M., Navarro, L., Martínez-González, D., Drucker-Colín, R., & Prospéro-García, O. (1998). Anandamide modulates sleep and memory in rats. *Brain research*, *812*(1-2), 270-274.
- Murillo-Rodríguez, E., Vázquez, E., Millán-Aldaco, D., Palomero-Rivero, M., & Drucker-Colin, R. (2007). Effects of the fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 on the sleep-wake cycle, c-Fos expression and dopamine levels of the rat. *European journal of pharmacology*, *562*(1-2), 82-91.

- Nguyen, J.D., Aarde, S.M., Vandewater, S.A., Grant, Y., Stouffer, D.G., Parsons, L.H., Cole, M., Taffe, M.A.(2016). Inhaled delivery of  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol (THC) to rats by e-cigarette vapor technology. *Neuropharmacology*, 109, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.05.021>.
- Nugent, F.S., Penick, E.C., and Kauer, J.A. (2007). Opioids block long-term potentiation of inhibitory synapses. *Nature*, 446, 1086–1090.
- O'Dell, T. J., Hawkins, R. D., Kandel, E. R., & Arancio, O. (1991). Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(24), 11285–11289. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.24.11285>.
- Ogilvie R. D. (2001). The process of falling asleep. *Sleep medicine reviews*, 5(3), 247–270. <https://doi.org/10.1053/smr.2001.0145>.
- Oh J., Petersen, C., Walsh, C., Bittencourt, J., Neylan T. & Grinberg, T. (2019) The role of co-neurotransmitters in sleep and wake regulation. *Psychiatry* 24,1284-1295, 2019
- Ohlsson, A., Lindgren, J.E., Wahlen, A., Agurell, S., Hollister, L.E., Gillespie, H.K., 1980. Plasma delta-9 tetrahydrocannabinol concentrations and clinical effects after oral and intravenous administration and smoking. *Clinical Pharmacology Therapies*, 28, 409–416.
- Ouyang, M., Hellman K., Abel, T. & Thomas, A. (2004) Adrenergic signaling plays a critical role in the maintenance of waking and in the regulation of REM sleep. *Journal of Neurophysiology*, 92,2071–82.
- Pace-Schott E. F., Spencer M. (2011) Age-related changes in the cognitive function of sleep. *Program of Brain Research*,191, 75–89.10.1016/B978-0-444-53752-2.00012-6
- Pace-Schott, E. F., and Hobson, J. A. (2002). The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 591–605.
- Parrino, L., Ferri, R., Bruni, O., Terzano, G. (2012) Cyclic alternating pattern (CAP): the marker of sleep instability. *Sleep Medicine Reviews*, 16(1), 27–45.10.1016/j.smr.2011.02.003
- Pascual, O., Casper, K. B., Kubera, C., Zhang, J., Revilla-Sanchez, R., Sul, J. Y., ... & Haydon, P. G. (2005). Astrocytic purinergic signaling coordinates synaptic networks. *Science*, 310(5745), 113-116.
- Pava MJ, Makriyannis A, Lovinger DM. (2016). Endocannabinoid signaling regulates sleep stability. *PLoS One*,11(3), e0152473.
- Pazos, M.R., Sagredo, O., and Fernandez-Ruiz, J. (2008). The endocannabinoid system in Huntington's disease. *Curr. Pharm. Des.* 14, 2317–2325.
- Peigneux P, Leproult R. (2014). Theories OnThe Functions of Sleep In: *Sleep Medicine Textbook*. C Bassetti, Z Dogas, P Peigneux (Eds). European Sleep Research Society (ESRS), Rege

- Pelluru, D., Konadhode, R. R., Bhat, N. R., & Shiromani, P. J. (2016). Optogenetic stimulation of astrocytes in the posterior hypothalamus increases sleep at night in C57 BL/6J mice. *European Journal of Neuroscience*, 43(10), 1298-1306.
- Pérez-Morales, M., Alberto, K., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A. E., Drucker-Colín, R., & Prospéro-García, O. (2013). 2-AG into the lateral hypothalamus increases REM sleep and cFos expression in melanin concentrating hormone neurons in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 108, 1-7.
- Pérez-Morales, M., Alvarado-Capuleño, I., López-Colomé, A. M., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A. E., & Prospéro-García, O. (2012). Activation of PAR1 in the lateral hypothalamus of rats enhances food intake and REMS through CB1R. *Neuroreport*, 23(14), 814-818.
- Pérez-Morales, M., López-Colomé, A. M., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A. E., & Prospéro-García, O. (2014). Inhibition of diacylglycerol lipase (DAGL) in the lateral hypothalamus of rats prevents the increase in REMS and food ingestion induced by PAR1 stimulation. *Neuroscience Letters*, 578, 117-121.
- Peterson, M. J., & Benca, R. M. (2006). Sleep in mood disorders. *The Psychiatric clinics of North America*, 29(4), 1009–ix. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2006.09.003>
- Pinnock, R. D. (1992) Activation of kappa-opioid receptors depresses electrically evoked excitatory postsynaptic potentials on 5-HT sensitive neurones in the rat dorsal raphe nucleus in vitro. *Brain Res*, 583, 237–46
- Piomelli D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature reviews. Neuroscience*, 4(11), 873–884. <https://doi.org/10.1038/nrn1247>
- Plihal W, Born J. (1999) Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory. *Psychophysiology*, 36, 571–82. [10.1111/1469-8986.3650571](https://doi.org/10.1111/1469-8986.3650571)
- Plutchik R. (1995). Outward and inward directed aggressiveness: the interaction between violence and suicidality. *Pharmacopsychiatry*, 28(Suppl 2):47–57.
- Privattam J. Shiromani, Jonh H. Peever. (2017). New Neuroscience Tools That Are Identifying the Sleep–Wake Circuit *Sleep*, 40, Issue 4.
- Prospero-Garcia, O., Amancio-Belmont, O., Becerril M., Alline L., Ruiz-Contreras, Alejandra E. (2016). Endocannabinoids and sleep. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 71, 671-679
- Puskar, P., Sengupta, T., Sharma, B., Nath, S. S., Mallick, H., & Akhtar, N. (2021). Changes in sleep-wake cycle after microinjection of agonist and antagonist of endocannabinoid receptors at the medial septum of rats. *Physiology & Behavior*, 237, 113448.
- Rác b, dušková m, stárka l, hainer v, kunešová m. (2018). Links between the circadian rhythm, obesity and the microbiome. *Physiol Res*, 67, S409-S420.
- Rattenborg, N. C. (2006). Do birds sleep in flight? *Naturwissenschaften* 93, 413–425.
- Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system and sleep stages of human subjects. Los Angeles: UCLA Brain Information Service; 1968.

- Refinetti, R., & Menaker, M. (1992). The circadian rhythm of body temperature. *Physiology & behavior*, *51*(3), 613–637. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(92\)90188-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90188-8).
- Reilly, T., & Waterhouse, J. (2007). Altered sleep-wake cycles and food intake: the Ramadan model. *Physiology & behavior*, *90*(2-3), 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.09.004>.
- Roffwarg, H. P., Muzio, J. N., & Dement, W. C. (1966). Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. *Science (New York, N.Y.)*, *152*(3722), 604–619. <https://doi.org/10.1126/science.152.3722.604>
- Rueda-Orozco, P. E., Soria-Gómez, E., Montes-Rodríguez, C. J., Pérez-Morales, M., & Prospéro-García, O. (2010). Intrahippocampal administration of anandamide increases REM sleep. *Neuroscience letters*, *473*(2), 158-162.
- Saletin, J. M., Goldstein, A. N., & Walker, M. P. (2011). The role of sleep in directed forgetting and remembering of human memories. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *21*(11), 2534–2541. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr034>.
- Santucci, V., Storme, J. J., Soubrié, P., & Le Fur, G. (1996). Arousal-enhancing properties of the CB1 cannabinoid receptor antagonist SR 141716A in rats as assessed by electroencephalographic spectral and sleep-waking cycle analysis. *Life sciences*, *58*(6), PL103–PL110. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)02319-4](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)02319-4)
- Saper, C.B. (2013) The neurobiology of sleep. *Continuum (Minneapolis)* *19*,19–31.
- Saper, C.B., Fuller, P.M. (2017). Wake-sleep circuitry: an overview. *Current Opinion of Neurobiology*, *44*, 186–92.
- Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrinological Reviews*, *21*, 55–89.
- Sauvet, F., Leftheriotis, G., Gomez-Merino, D., Langrume, C., Drogou, C., Van Beers, P., Bourrillhon, C., Florence, G., & Chennaoui, M. (2010). Effect of acute sleep deprivation on vascular function in healthy subjects. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md: 1985)*, *108*(1), 68–75. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00851.2009>.
- Savage, V. M., & West, G. B. (2007). A quantitative, theoretical framework for understanding mammalian sleep. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(3), 1051–1056. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610080104>,
- Scharf, M. T., Naidoo, N., Zimmerman, J. E., & Pack, A. I. (2008). The energy hypothesis of sleep revisited. *Progress in neurobiology*, *86*(3), 264–280. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.08.003>.
- Schmidt M. H. (2014). The energy allocation function of sleep: a unifying theory of sleep, torpor, and continuous wakefulness. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *47*, 122–153. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.08.001>.

- Schwartz, M. D., & Kilduff, T. S. (2015). The Neurobiology of Sleep and Wakefulness. *The Psychiatric clinics of North America*, 38(4), 615–644. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2015.07.002>.
- Schwarz, L. A., & Luo, L. (2015). Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. *Current biology: CB*, 25(21), R1051–R1056. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.09.039>,
- Sheth, B. R., Nguyen, N., & Janvelyan, D. (2009). Does sleep really influence face recognition memory? *PloS one*, 4(5), e5496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005496>
- Siegel, J.M. (2005) Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature* 437(7063):1264–1271
- Siegel, J.m. (2009). Sleep viewed as a state of adaptive inactivity. *Nature Reviews of Neuroscience*, 10, 747-753.
- Siegel, J.M. (2011). REM sleep: a biological and psychological paradox. *Sleep Medicine Reviews*, 15(3), 139–142
- Sirota, A., Csicsvari, J., Buhl, D., & Buzsáki, G. (2003). Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(4), 2065–2069. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437938100>.
- Spencer, R. M., Gouw, A. M., & Ivry, R. B. (2007). Age-related decline of sleep-dependent consolidation. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 14(7), 480–484. <https://doi.org/10.1101/lm.569407>.
- Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13515–13522. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13515>
- Steiger A. (2006). Sleep and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system. *Sleep Medicine Reviews*, 6,125–3810.1053/smr.2001.0159
- Steriade, M. (1995) Thalamic origin of sleep spindles: Morison and Bassett. *J. Neurophysiology*, 73,921–2
- Steriade, M., Nunez, A., Amzica F. A. (1993). Novel slow (<1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *J Neuroscience*, 13,3252–65.
- Steriade, M., Timofeev, I., Grenier, F. (2001). Natural waking and sleep states: A view from inside neocortical neurons *Journal of Neurophysiology*, 85, 1969–198
- Terzano, M.G., Parrino, L., Sherieri, A., Chervin, R., Chokroverty, S., Guilleminault, C., et al. (2001) Atlas, rules, and recording techniques for the scoring of cyclic alternating pattern (CAP) in human sleep. *Sleep Medicine*, 2(6), 537–5310.1016/S1389-9457(01)00149-6
- Tononi G, Cirelli C. (2014). Sleep and the price of plasticity: From synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron*, 81, 12–34.

- Turrigiano, G. (2007). Homeostatic signaling: the positive side of negative feedback. *Current Opinion of Neurobiology*, 17, 318–324.
- Turrigiano, G.G., Leslie, K.R., Desai, N.S., Rutherford, L.C., and Nelson, S.B. (1998). Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 391, 892–896.
- Tzavara, E. T., Valjent, E., Firmo, C., Mas, M., Beslot, F., Defer, N., et al. (2000). Cannabinoid withdrawal is dependent upon PKA activation in the cerebellum. *European Journal of Neuroscience*, 12, 1038–1046
- Tzounopoulos, T., Rubio, M.E., Keen, J.E., and Trussell, L.O. (2007). Coactivation of pre- and postsynaptic signaling mechanisms determines cell-specific spike-timing-dependent plasticity. *Neuron* 54, 291–301.
- Van der Helm, E., Gujar, N., Nishida, M., & Walker, M. P. (2011). Sleep-dependent facilitation of episodic memory details. *PloS one*, 6(11), e27421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027421>.
- Villablanca J. R. (2004). Counterpointing the functional role of the forebrain and of the brainstem in the control of the sleep-waking system. *Journal of sleep research*, 13(3), 179–208. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2004.00412.x>,
- Vyazovskiy, V. V., Cirelli, C., Pfister-Genskow, M., Faraguna, U., & Tononi, G. (2008). Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nature neuroscience*, 11(2), 200–208. <https://doi.org/10.1038/nn2035>
- Wagner U, Hallschmid M, Verleger R, Born J. (2003). Signs of REM sleep dependent enhancement of implicit face memory: a repetition priming study. *Biological Psychology*, 62,197–210. [10.1016/S0301-0511\(02\)00125-4](https://doi.org/10.1016/S0301-0511(02)00125-4),
- Walker, M. P., & Stickgold, R. (2006). Sleep, memory, and plasticity. *Annual review of psychology*, 57, 139–166. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.56.091103.070307>.
- Watson, C. J., Lydic, R., & Baghdoyan, H. A. (2011). Sleep duration varies as a function of glutamate and GABA in rat pontine reticular formation. *Journal of neurochemistry*, 118(4), 571–580. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07350.x>
- Weber F, Dan Y. (2016). Circuit-based interrogation of sleep control. *Nature* 538: 51–59.
- Weng, F. J., Williams, R. H., Hawryluk, J. M., Lu, J., Scammell, T. E., Saper, C. B., & Arrigoni, E. (2014). Carbachol excites sublaterodorsal nucleus neurons projecting to the spinal cord. *The Journal of physiology*, 592(7), 1601–1617. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.261800>.
- Weng, F. J., Williams, R. H., Hawryluk, J. M., Lu, J., Scammell, T. E., Saper, C. B., & Arrigoni, E. (2014). Carbachol excites sublaterodorsal nucleus neurons projecting to the spinal cord. *The Journal of physiology*, 592(7), 1601–1617. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.261800>.

- Werth, E., Achermann, P., Dijk, D. J., & Borbély, A. A. (1997). Spindle frequency activity in the sleep EEG: individual differences and topographic distribution. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 103(5), 535–542. [https://doi.org/10.1016/s0013-4694\(97\)00070-9](https://doi.org/10.1016/s0013-4694(97)00070-9).
- WILLIAMS, H. L., HAMMACK, J. T., DALY, R. L., DEMENT, W. C., & LUBIN, A. (1964). RESPONSES TO AUDITORY STIMULATION, SLEEP LOSS AND THE EEG STAGES OF SLEEP. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 16, 269–279. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(64\)90109-](https://doi.org/10.1016/0013-4694(64)90109-)
- Wisor, J. P., Jiang, P., Striz, M., and O'Hara, B. F. (2009). Effects of ramelteon and triazolam in a mouse genetic model of early morning awakenings. *Brain Reseach*, 1296, 46–55. doi: 10.1016/j.brainres.2009.07.103.
- Wotjak, C.T., Lutz, B., and Marsicano, G. (2007). Genetic dissection of behavioural and autonomic effects of Delta(9)-tetrahydrocannabinol in mice. *PLoS Biol.* 5, e269.
- Wyatt, R. M., Fraser, I., Welty, N., Lord, B., Wennerholm, M., Sutton, S., Ameriks, M. K., Dugovic, C., Yun, S., White, A., Nguyen, L., Koudriakova, T., Tian, G., Suarez, J., Szewczuk, L., Bonnette, W., Ahn, K., Ghosh, B., Flores, C. M., Connolly, P. J., ... Bonaventure, P. (2020). Pharmacologic Characterization of JNJ-42226314, [1-(4-Fluorophenyl)indol-5-yl]-[3-[4-(thiazole-2-carbonyl)piperazin-1-yl]azetid-1-yl]methanone, a Reversible, Selective, and Potent Monoacylglycerol Lipase Inhibitor. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 372(3), 339–353. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.262139>.
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., O'Donnell, J., Christensen, D. J., Nicholson, C., Iliff, J. J., Takano, T., Deane, R., & Nedergaard, M. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science (New York, N.Y.)*, 342(6156), 373–377. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., ... & Nedergaard, M. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *science*, 342(6156), 373-377.
- Yamaguchi, M., Uemura, H., Katsuura-Kamano, S., Nakamoto, M., Hiyoshi, M., Takami, H., Sawachika, F., Juta, T., & Arisawa, K. (2013). Relationship of dietary factors and habits with sleep-wake regularity. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 22(3), 457–465. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2013.22.3.01>.
- Yamashita, T., & Yamanaka, A. (2017). Lateral hypothalamic circuits for sleep-wake control. *Current opinion in neurobiology*, 44, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.03.020>
- Yamauchi, M., Kimura, H., and Strohl, K. P. (2010). Mouse models of apnea: strain differences in apnea expression and its pharmacologic and genetic modification. *Adv. Exp. Med. Biol.* 669, 303–307. doi: 10.1007/978-1-4419-5692-7\_62
- Yang, J. Y., Wu, C. F., Wang, F., Song, H. R., Pan, W. J., & Wang, Y. L. (2003). The serotonergic system may be involved in the sleep-inducing action of oleamide in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 368(6), 457-462.
- Yasenkov, R., & Deboer, T. (2012). Circadian modulation of sleep in rodents. *Progress in brain research*, 199, 203–218. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59427-3.00012-5>.

- Yoo, S. S., Gujar, N., Hu, P., Jolesz, F. A., & Walker, M. P. (2007). The human emotional brain without sleep--a prefrontal amygdala disconnect. *Current biology: CB*, 17(20), R877–R878. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.08.007>
- Zeitler J. M. (2013). Control of sleep and wakefulness in health and disease. *Progress in molecular biology and translational science*, 119, 137–154. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396971-2.00006-3>,
- Zohar, D., Tzischinsky, O., Epstein, R., & Lavie, P. (2005). The effects of sleep loss on medical residents' emotional reactions to work events: a cognitive-energy model. *Sleep*, 28(1), 47–54. <https://doi.org/10.1093/sleep/28.1.47>

## ANEXO 1 – Fórmulas para pesquisa nas bases de dados

### PsyInfo

(MA Cannabinoids OR MA cannabis OR MA cannabidiol OR MA tetrahydrocannabinol OR MA Rimonabant OR MA Hashish OR MA Marijuana OR TI Cannabinoids OR AB Cannabinoids OR TI cannabis OR AB cannabis OR TI dronabinol OR AB dronabinol OR TI endocannabinoids OR AB endocannabinoids OR TI anandamide OR AB anandamide OR TI 2-arachidonoylglycerol OR AB 2-arachidonoylglycerol OR TI 2AG OR AB 2AG OR TI URB602 OR AB URB602 OR TI Oleamide OR AB Oleamide OR TI CB1 agonists OR AB CB1 agonists OR TI CB1 antagonists OR AB CB1 antagonists OR TI faah inhibitor OR AB faah inhibitor OR TI MAGL inhibitor OR AB MAGL inhibitor OR TI tetrahydrocannabinol OR AB tetrahydrocannabinol OR TI the OR AB the OR TI cannabidiol OR AB cannabidiol OR TI cbd OR AB cbd OR TI synthetic cannabinoids OR AB synthetic cannabinoids OR TI nabilone OR AB nabilone OR TI sativex OR AB sativex OR TI nabiximols OR AB nabiximols OR TI marinol OR AB marinol OR TI endocannabinoid system OR AB endocannabinoid system OR TI rimonabant OR AB rimonabant OR TI SR141716 OR AB SR141716 OR TI marijuana OR AB marijuana) AND (MA sleep OR MA rem sleep OR MA sleep deprivation OR MA sleepiness OR MA wakefulness OR MA polysomnography OR MA sleep onset OR MA theta rhythm OR MA electroencephalography OR MA delta rythm OR MA electrical activity OR MA sleep wake cycle OR MA nrem sleep OR TI sleep OR AB sleep OR TI wake OR AB wake OR TI rapid eye movement OR AB rapid eye movement OR TI nrem stage OR AB nrem stage OR TI rem OR AB rem OR TI non rapid eyes movement OR AB non rapid eyes movement OR TI wakefulness OR AB wakefulness OR TI sleepiness OR AB sleepiness OR TI polysomnography OR AB polysomnography OR TI theta rhythm OR AB theta rhythm OR TI electroencephalography OR AB electroencephalography OR TI eeg OR AB eeg OR TI electroencephalogram OR AB electroencephalogram OR TI delta rythm OR AB delta rythm OR TI electrical activity OR AB electrical activity OR TI sleep wake cycle OR AB sleep wake cycle)

### Cochrane Library

ID	Search Hits
#1	MeSH descriptor: [Cannabinoids] this term only 109

#2 MeSH descriptor: [Cannabis] this term only 347

#3 MeSH descriptor: [Dronabinol] this term only 782

#4 MeSH descriptor: [Endocannabinoids] this term only 60

#5 MeSH descriptor: [Cannabidiol] this term only 170

#6 MeSH descriptor: [Rimonabant] this term only 104

#7 MeSH descriptor: [Cannabis] this term only 347

#8 (cannabinoids):ti,ab,kw 601

#9 ("Cannabis"):ti,ab,kw 2776

#10 (dronabinol):ti,ab,kw 960

#11 ("endocannabinoid"):ti,ab,kw 296

#12 (anandamide):ti,ab,kw 101

#13 (arachidonoylglycerol):ti,ab,kw 34

#14 ("2 arachidonoylglycerol"):ti,ab,kw 34

#15 ("2-AG"):ti,ab,kw 56

#16 (URB602):ti,ab,kw 0

#17 (oleamide):ti,ab,kw 8

#18 ("CB1 agonists"):ti,ab,kw 17

#19 ("CB1 antagonists"):ti,ab,kw 47

#20 ("FAAH inhibitor"):ti,ab,kw 26

#21 ("MAGL inhibitor"):ti,ab,kw 0

#22 ("tetrahydrocannabinol"):ti,ab,kw 1073

#23 (THC):ti,ab,kw 1250

#24 ("cannabidiol"):ti,ab,kw 835

#25 (CBD):ti,ab,kw 1167

#26 (synthetic cannabinoids):ti,ab,kw 75

#27 (nabilone):ti,ab,kw 163

#28 (sativex):ti,ab,kw 165

#29 (nabiximols):ti,ab,kw 79

#30 ("Marinol"):ti,ab,kw 35

#31 (endocannabinoid system):ti,ab,kw 207

#32 (rimonabant):ti,ab,kw 216

#33 (SR141716):ti,ab,kw 25

#34 (marijuana):ti,ab,kw 2122

#35 #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 1141  
 #36 #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10 3504  
 #37 #11 OR #12 OR #13 OR #14 OR #15 357  
 #38 #16 OR #17 OR #18 OR #19 OR #20 97  
 #39 #21 OR #22 OR #23 OR #24 OR #25 2422  
 #40 #26 OR #27 OR #28 OR #29 OR #30 426  
 #41 #31 OR #32 OR #33 OR #34 2493  
 #42 #35 OR #36 OR #37 OR #38 OR #39 OR #40 OR #41 5755  
 #43 MeSH descriptor: [Sleep] this term only 4308  
 #44 MeSH descriptor: [Sleep, REM] this term only 610  
 #45 MeSH descriptor: [Sleep Stages] this term only 1243  
 #46 MeSH descriptor: [Sleep Deprivation] this term only 799  
 #47 MeSH descriptor: [Sleep, Slow-Wave] this term only 11  
 #48 MeSH descriptor: [Sleep Latency] this term only 19  
 #49 MeSH descriptor: [Wakefulness] this term only 1037  
 #50 (sleep):ti,ab,kw 41419  
 #51 (wake):ti,ab,kw 5226  
 #52 (Rapid eyes movement):ti,ab,kw 35  
 #53 (NREM Stage):ti,ab,kw 158  
 #54 (REM):ti,ab,kw 2396  
 #55 (Non Rapid eyes movement):ti,ab,kw 10  
 #56 (wakefulness):ti,ab,kw 3494  
 #57 (sleepness):ti,ab,kw 23  
 #58 (Polysomnography):ti,ab,kw 4471  
 #59 (theta rythm):ti,ab,kw 0  
 #60 (electroencephalo\*):ti,ab,kw 9861  
 #61 (EEG):ti,ab,kw 7767  
 #62 (Delta Rythm):ti,ab,kw 0  
 #63 (electrical activity):ti,ab,kw 2856  
 #64 (sleep-wake cicle):ti,ab,kw 4  
 #65 #43 OR #44 OR #45 OR #46 OR #47 OR #48 OR #49 OR #50 OR #51 OR #52 OR  
 #53 OR #54 OR #55 OR #56 OR #57 OR #58 OR #59 OR #60 OR #61 OR #62 OR #63 OR  
 #64 56144

#66 #65 AND #42 461

### Scopus

(( TITLE-ABS-KEY ( sleep ) OR TITLE-ABS-KEY ( wake ) OR TITLE-ABS-KEY ( "rapid eyes movement" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "nrem stage" ) OR TITLE-ABS-KEY ( rem ) OR TITLE-ABS-KEY ( "non rapid eyes movement" ) OR TITLE-ABS-KEY ( wakefulness ) OR TITLE-ABS-KEY ( sleepness ) OR TITLE-ABS-KEY ( polysomnography ) OR TITLE-ABS-KEY ( "theta rhythm" ) OR TITLE-ABS-KEY ( electroencephalo\* ) OR TITLE-ABS-KEY ( eeg ) OR TITLE-ABS-KEY ( "delta rhythm" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "electrical activity" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "sleep-wake cycle" ) ) ) AND ( ( TITLE-ABS-KEY ( cannabinoids ) OR TITLE-ABS-KEY ( cannabis ) OR TITLE-ABS-KEY ( dronabinol ) OR TITLE-ABS-KEY ( endocannabinoids ) OR TITLE-ABS-KEY ( anandamide ) OR TITLE-ABS-KEY ( "2 arachidonoylglycerol" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "2 ag" ) OR TITLE-ABS-KEY ( urb602 ) OR TITLE-ABS-KEY ( oleamide ) OR TITLE-ABS-KEY ( "cb1 agonists" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "cb1 antagonists" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "faah inhibitor" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "magl inhibitor" ) OR TITLE-ABS-KEY ( tetrahydrocannabinol ) OR TITLE-ABS-KEY ( thc ) OR TITLE-ABS-KEY ( cannabidiol ) OR TITLE-ABS-KEY ( cbd ) OR TITLE-ABS-KEY ( "synthetic cannabinoids" ) OR TITLE-ABS-KEY ( nabilone ) OR TITLE-ABS-KEY ( sativex ) OR TITLE-ABS-KEY ( nabiximols ) OR TITLE-ABS-KEY ( marinol ) OR TITLE-ABS-KEY ( "endocannabinoid system" ) OR TITLE-ABS-KEY ( rimonabant ) OR TITLE-ABS-KEY ( sr141716 ) OR TITLE-ABS-KEY ( marijuana ) ) ) )

### Web Of Science

(((((TS=(Cannabinoids)) OR TS=(cannabis )) OR TS=(dronabinol)) OR TS=(endocannabinoids)) OR TS=(anandamide )) OR TS=("2 Arachidonoylglycerol")) OR TS=(" 2 AG")) OR TS=( URB602 )) OR TS=( oleamide)) OR TS=(" CB1 agonists ")) OR TS=(" CB1 Antagonists")) OR TS=("FAAH inhibitor")) OR TS=(" MAGL inhibitor")) OR TS=(Tetrahydrocannabinol)) OR TS=(THC )) OR TS=( cannabidiol )) OR TS=( cannabidiol )) OR TS=( CBD)) OR TS=("synthetic cannabinoids")) OR TS=(nabilone )) OR TS=( sativex)) OR TS=( nabiximols)) OR TS=(marinol)) OR TS=("endocannabinoid system ")) OR TS=(rimonabant)) OR TS=(SR141716)) OR TS=(marijuana) AND ((((((TS=(sleep )) OR TS=(wake)) OR TS=("Rapid eyes movement")) OR TS=("NREM Stage "))

TS=(REM)) OR TS=("Non Rapid eyes movement")) OR TS=(wakefulness)) OR  
TS=(sleepness)) OR TS=(Polysomnography)) OR TS=("theta rythm")) OR  
TS=(electroencephalo\*)) OR TS=(EEG)) OR TS=("Delta Rythm")) OR TS=("electrical  
activity")) OR TS=("sleep-wake cycle")

ANEXO 2

		Select ion bias		Perfo rman ce bias		Dete ction bias		Attriti on bias	Repo rting bias	Other
Autor/Ano	Sequenc egenerati on	Baseli necha racter istics	Allocati on conceal ment	Rand omho using	Blindi ng	Rand omou tcom easse smen t	Blindi ng	Incom plete Outco me data	Selec tiveoutco mere porti ng	Other sourc es of bias
Santucci-1996	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Murillo-Rodriguez-1998	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Eric Murillo-Rodriguez 2001 Ficha 14	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Eric Murillo-Rodriguez-2003	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco
Murillo-Rodriguez 2006	Alto rscio	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Alto rsico	Baixo risco	Baixo risco
Mónica Méndez-Díaz 2013	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco
Herrera-Solis -2010	Alto risco	Não claro	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Não claro	Baixo risco	Baixo risco
Rueda-Orozzoco 2010	Alto risco	Não claro	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Não claro	Baixo risco	Baixo risco
Marcel Pérez Morales 2013	Alto risco	Não claro	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Não claro	Baixo risco	Baixo risco
Anushka V. Goonawardena 2011 Ficha 21	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
Puskar 2021 Ficha 42	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo eisco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
Laszlo Tothfalusi 2019	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Nor clear	Baixo risco	Baixo risco
Bogáthy 2019	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Não claro	Baixo risco	Baixo risco
Alejandra Mondino 2019	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Não claro	Baixo risco	Baixo risco
JAIME M. MONTI 1970	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Não claro	Baixo risco	Baixo risco
Eric Murillo-Rodríguez 2011	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
Murillo-Rodriguez 2003	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
Murillo Rodriguez 2020	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
MURILLO-RODRÍGUEZ 2008	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
Murillo-Rodriguez* 2016	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
Murillo -Rodriguez 2012	Alto risco	Baixo risco	Not clear	Not clear	Baixo risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Mendelson 1999	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco

<b>Mendelson 1999</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Salvador Huitron-Resendiz 2001</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Not clear	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Jing-Yu Yang 2003</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Marcel Perez-Morales 2012</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Murillo-Rodríguez 2007</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Not clear	Not clear	Not clear	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Murillo-Rodríguez 2011</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Eric Murillo-Rodríguez 2017</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Alto risco	Baixo risco	Not clear	Not clear	Baixo risco	Baixo risco
<b>Ryan M. Wyatt 2020</b>	Alto risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Alto risco	Not clear	Baixo risco	Baixo risco