

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Ana Carolina Viana Simões

**Avaliação do efeito neuroprotetor do canabidiol em mitocôndrias
isoladas de córtex cerebral de rato**

Ribeirão Preto
2011

RESUMO

SIMÕES, A. C. V. **Avaliação do efeito neuroprotetor do canabidiol em mitocôndrias isoladas de córtex cerebral de ratos.** 2011. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

As doenças neurodegenerativas (DN) estão entre as principais causas de mortalidade e morbidade nos países ocidentais. Não há ainda um tratamento definitivo para estas neuropatias, mas os estudos têm indicado mecanismos comuns de toxicidade que incluem disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e apoptose. Assim, as mitocôndrias constituem alvos importantes para futuras estratégias de neuroproteção a fim de tratar, prevenir ou até mesmo retardar a neurodegeneração. Neste contexto, o canabidiol (CBD), um constituinte não psicoativo da *Cannabis sativa* e cuja propriedade neuroprotetora tem sido sugerida por diferentes estudos, surge como uma alternativa bastante promissora. Diferentes mecanismos moleculares podem estar envolvidos na neuroproteção exercida pelo CBD. Embora o potencial efeito benéfico do canabidiol com relação às doenças neurodegenerativas já tenha sido sugerido, não há ainda estudos que abordem precisamente os mecanismos de proteção contra a toxicidade mitocondrial cerebral, evento chave no processo neurodegenerativo. O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do CBD em mitocôndrias cerebrais de rato, bem como possíveis mecanismos de neuroproteção. Foram avaliados os seguintes parâmetros: função mitocondrial, estresse oxidativo mitocondrial e transição de permeabilidade de membrana mitocondrial (TPMM). Os resultados obtidos sugerem que o canabidiol é capaz de proteger as mitocôndrias cerebrais contra o intumescimento osmótico induzido por cálcio/fosfato, contra a produção de H₂O₂ induzida por *tert*-butil hidroperóxido e contra a peroxidação lipídica induzida por Fe²⁺ e citrato. A captação mitocondrial de cálcio e a capacidade fosforilativa não foram afetadas.

Palavras-chave: canabidiol; neuroproteção; doenças neurodegenerativas; estresse oxidativo; mitocôndrias.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 - Atividades farmacológicas do canabidiol (CBD)

O termo Canabinóide (CB) se refere a um grupo de compostos heterogêneos que podem ser naturais ou sintéticos, capazes de modular uma série de importantes funções fisiológicas, tais como: atividade locomotora, memória, percepção da dor, ingestão de alimentos e reações inflamatórias (GRUNDY; RABUFFETTI; BELTRAMO, 2001). Dentre estes compostos, têm-se o Canabidiol (CBD), um composto encontrado na planta *Cannabis sativa*, que pode constituir até 40% de seu extrato, e que, ao contrário de outros canabinóides, não age nos receptores canabinóides e não é psicoativo (HAMPSON et al., 1998; ZUARDI et al., 2006).

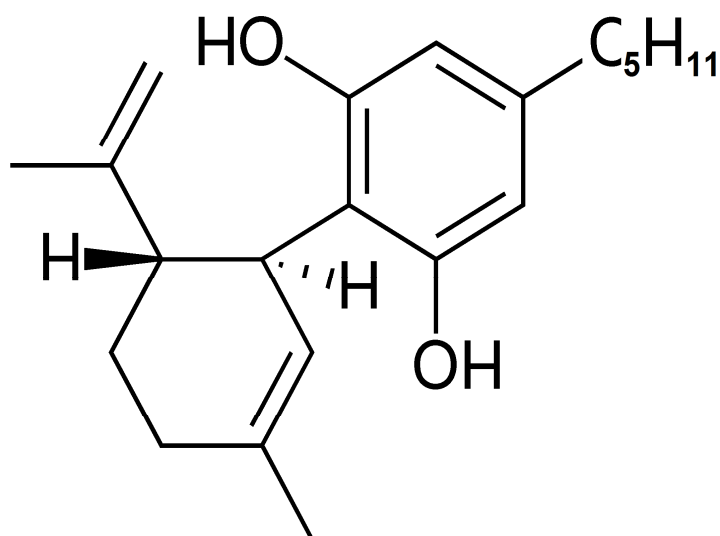


Figura 1 - Estrutura química do canabidiol

Apesar de o CBD (**Figura 1**) ter sido o primeiro canabinóide a ser isolado (1942), apenas em 1963 sua exata estrutura química foi elucidada e a partir de então se abriu um novo campo de investigação sobre a sua atividade farmacológica (GRUNDY; RABUFFETTI; BELTRAMO, 2001; ZUARDI, 2008). Enquanto outros sistemas neurotransmissores (colinérgicos, adrenérgicos e dopaminérgicos)

foram descobertos na década de 1930, o sistema endocanabinóide foi descoberto apenas no final da década de 1980 e início de 1990 (POPE; MECHOULAM; PARSONS, 2010).

Inicialmente, o maior interesse dos pesquisadores pelo CBD se devia principalmente à sua atividade antiepiléptica. Posteriormente estudos demonstraram suas propriedades antiespasmódica, ansiolítica e antiemética. O número de estudos sobre o canabidiol aumentou consideravelmente nos últimos cinco anos, estimulado, principalmente, pela descoberta da sua atividade anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora (ZUARDI, 2008).

O CBD apresenta um efeito supressivo sobre a resposta imune celular e a produção de mediadores pró-inflamatórios o que pode indicar a sua utilidade no tratamento de várias doenças inflamatórias, como por exemplo, a artrite reumatóide. A ação neuroprotetora do CBD foi demonstrada em cultura de neurônios corticais de rato expostos a níveis tóxicos do neurotransmissor excitatório, glutamato. No referido estudo, a ação neuroprotetora do CBD mostrou-se mais eficiente do que a ação de antioxidantes clássicos como ascorbato e α -tocoferol, demonstrando seu elevado potencial antioxidante e terapêutico (HAMPSON et al., 1998; FERNANDES-RUIZ et al., 2005). Com base no efeito antiinflamatório e na atividade antioxidante do CBD, tiveram início uma série de estudos sobre a sua atividade na prevenção de possíveis danos causados pela isquemia cerebral, complicações do diabetes, da aterosclerose, bem como no tratamento do câncer (COSTA et al., 2007; DURST et al., 2007; ZUARDI, 2008).

1.2 - Canabidiol e neuroproteção

Hoje se especula a possível utilização do CBD no tratamento das doenças de Parkinson (DP) e de Alzheimer (DA), cujos mecanismos de neurodegeneração têm sido associados ao estresse oxidativo (FERNANDES-RUIZ et al., 2005). O possível uso terapêutico do CBD em distúrbios do movimento foi preliminarmente sugerido em meados da década de 1980, mas só recentemente seus efeitos neuroprotetores

foram avaliados em modelos animais da doença de Parkinson (MISHIMA et al., 2005; ZUARDI, 2008). As propriedades antioxidantes do CBD podem fornecer proteção contra a degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos da região nigro-estriatal, característica da DP. Esta possível ação neuroprotetora do CBD na DP sugere que este composto também possa ser útil na DA, que, como a DP tem sido amplamente associada ao estresse oxidativo (GARCIA-ARENCIBIA et al., 2007; ZUARDI et al., 2008).

Atualmente supõe-se que o CBD seja capaz de proteger os neurônios contra múltiplos fatores celulares e moleculares envolvidos nas diferentes etapas do processo neurodegenerativo (DIRIKOC et al., 2007). Tornam-se necessários estudos adicionais não só para confirmação desses efeitos neuroprotetores, mas também para o delineamento dos mecanismos moleculares envolvidos.

1.3 - Doenças neurodegenerativas

Com o aumento da expectativa média de vida da população e o avanço da tecnologia médica, as patologias do cérebro estão ganhando cada vez mais importância. Embora as desordens neurológicas afetem pessoas de todos os países, independentemente da idade, sexo, escolaridade e renda, essas doenças estão entre as principais causas de mortalidade e morbidade em países desenvolvidos afetando cerca de 10% da população com mais de 65 anos de idade. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças neurológicas afetam até um bilhão de pessoas no mundo e estima-se que 6,8 milhões de pessoas morrem a cada ano em consequência de distúrbios neurológicos (HUNG et al., 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2011).

Estas doenças se caracterizam por uma diminuição no número de células de determinadas populações de neurônios. Na doença de Parkinson (DP) a perda se dá principalmente nos neurônios dopaminérgicos da substância negra e gânglios basais, o que se reflete clinicamente por dificuldades na coordenação dos movimentos

(PRZEDBORSKI; VILA; JACKSON-LEWIS, 2003). O cérebro é particularmente vulnerável ao dano oxidativo, devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos insaturados facilmente peroxidáveis, alta taxa de consumo de oxigênio, e à relativa escassez de enzimas antioxidantes em comparação com outros órgãos (NUNOMURA et al., 2006; PETROZZI et al., 2007). Estudos relativos às doenças degenerativas sugerem como mecanismo de toxicidade a ocorrência do estresse oxidativo associado à disfunção mitocondrial e à morte celular por apoptose (ANDERSEN, 2004; BOSSY-WETZEL; SCHWARZENBACHER; LIPTON, 2004; CALABRESE et al., 2005; ZHAO, 2005; PETROZZI et al., 2007).

O metabolismo energético fosforilativo desempenha um papel importante na indução da morte celular presente nas desordens neurodegenerativas e a melhoria da função mitocondrial tem sido proposta como potencial estratégia terapêutica por vários autores. Assim, a mitocôndria se apresenta como um importante alvo para futuras estratégias de neuroproteção com finalidade de tratamento, prevenção ou mesmo retardamento da neurodegeneração (LIN; BEAL, 2006; PALIWAL et al., 2007; SWERDLOW, 2007).

1.4 - Mitocôndrias, estresse oxidativo e doenças neurodegenerativas

Radicais livres, comumente gerados na respiração mitocondrial, causam dano oxidativo a ácidos nucleicos, lipídeos, carboidratos e proteínas (TRUSHINA; MCMURRAY, 2007). O aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) na célula, formadas permanentemente durante a redução do oxigênio molecular à água, resulta do desequilíbrio entre os oxidantes e os antioxidantes celulares, sendo designado estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). O estresse oxidativo promove a degenerescência celular em consequência dos efeitos citotóxicos de espécies reativas de oxigênio, tais como: radical hidroxila (OH^\bullet), anion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GUTTERIDGE, 1994; BARBOSA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2006). As lesões neuronais observadas na isquemia

cerebral, na esclerose lateral amiotrófica e nas doenças de Parkinson e de Alzheimer têm sido associadas aos processos oxidativos induzidos por espécies reativas de oxigênio (CLEMENS; PANETTA, 1994; EBADI; SRINIVASAN; BAXI, 1996; ROBBERECHT; VAN DEN BOSCH, 1998).

1.5 - Mitocôndrias e morte celular por apoptose

A apoptose desempenha um importante papel na homeostase dos diferentes tecidos e o descontrole deste processo está associado a várias doenças, incluindo neoplasias, doenças auto-imunes e neurodegenerativas. O processo apoptótico pode ser disparado por uma variedade de estímulos que promovem a ativação de proteases, denominadas caspases. Em células de mamíferos, a apoptose ocorre preferencialmente por duas vias: extrínseca e intrínseca (mitocondrial). A via extrínseca é iniciada pela ativação dos receptores de morte, tais como Faz, TNFRI, DR3, DR4, DR5 e DR6 (SHI, 2002; YAN; SHI, 2005). A via intrínseca ou mitocondrial é ativada por diferentes sinais de estresse intracelular e culmina com a liberação de citocromo c para o citosol, resultando na ativação da cascata de caspases que conduzem a célula à apoptose (YAN; SHI, 2005).

1.6 - Mitocôndrias, TPMM e apoptose neuronal

Muitos neurônios sofrem apoptose durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) (BUSS; OPPENHEIM, 2004). Uma produção inicial em excesso, seguida da morte de alguns neurônios é parte de um processo adaptativo que resulta em um número ótimo de neurônios, suficiente para formar os circuitos entre as células nervosas, de acordo com suas especificações funcionais (MATTSON, 2006). Em condições normais, muitos neurônios permanecem viáveis e mantêm suas funções por toda a vida do indivíduo. No entanto, muitas pessoas não completam sua vida sem que ocorra a morte de um número excessivo de uma ou mais populações de neurônios. Dessa forma, a morte dos neurônios corticais e do hipocampo resulta em

sintomas da doença de Alzheimer (DA); a morte dos neurônios dopaminérgicos do cérebro intermediário é responsável pela doença de Parkinson (DP); a doença de Huntington (DH) resulta da morte de neurônios do estriato, região que controla os movimentos corporais; e a morte de neurônios motores da medula espinhal é associada à esclerose amiotrófica lateral (MATTSON, 2000).

Os fatores genéticos e ambientais que causam a apoptose dos neurônios diferem em condições fisiológicas e em condições patológicas, mas apesar disso, muitos dos eventos bioquímicos que executam o processo de morte celular são comuns em ambas as situações. Um ponto chave deste processo é a mitocôndria (KROEMER, 1998; VERCESI et al., 2006). As alterações que ocorrem na mitocôndria da célula em apoptose, incluem aumento da produção de radicais livres, transição de permeabilidade da membrana mitocondrial (TPMM) e liberação de citocromo c. Essas alterações mitocondriais são eventos centrais no processo de morte neuronal, e sabe-se que agentes como a MnSOD (superóxido dismutase magnésio-dependente) e ciclosporina A (CsA), que atuam diretamente na mitocôndria suprimindo o estresse oxidativo e a TPMM, também previnem a morte neuronal em vários modelos experimentais (KELLER et al., 1998; FATOKUN; STONE; SMITH, 2007).

A TPMM é um fenômeno bem documentado, mediado pela abertura de poros específicos (poros de transição de permeabilidade, PTP) na membrana mitocondrial. Esse fenômeno é induzido pela concentração excessiva de cálcio associada ao acúmulo de ERO e caracteriza-se pelo intumescimento osmótico mitocondrial sensível à CsA. A TPMM promove a difusão de solutos com peso molecular menor que 1500 Da. através da membrana mitocondrial interna e a liberação de fatores pró-apoptóticos, como o citocromo c, do espaço intermembranas (ZORATTI; SZABO, 1995; ZAIDAN; NILSSON; SIMS, 2004; KROEMER; GALLUZZI; BRENNER, 2007; MOROTA et al., 2009b; SAYEED et al., 2009). A indução da TPMM é considerada um evento importante na perda neuronal (FRIBERG; WIELOCH, 2002) e a inibição

da TPMM tem sido proposta como uma interessante estratégia de neuroproteção (MOROTA et al., 2009b).

Assim, com base no importante papel da mitocôndria e particularmente da TPMM no desenvolvimento e progressão das doenças neurodegenerativas, no presente estudo foram avaliados os efeitos do CBD na função mitocondrial, bem como a sua capacidade protetora contra o estresse oxidativo e o intumescimento osmótico mitocondrial, eventos associados à TPMM.

2 – CONCLUSÕES

- O CBD protege contra o estresse oxidativo mitocondrial e conseqüentemente inibe a lipoperoxidação;
- O mecanismo de proteção provavelmente envolve a inibição da TPMM e conseqüentemente da via mitocondrial de indução da apoptose, eventos implicados na neurodegeneração;
- Diferentemente de outros inibidores da TPMM, o CBD não afeta a função mitocondrial, como demonstrado pelos ensaios de respiração e captação de cálcio mitocondrial;
- O CBD é um composto promissor para uma futura estratégia de proteção contra as doenças neurodegenerativas.

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, J. K. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? **Nature Medicine.**, New York, v. 10 Suppl, p. S18-25, 2004.

AZBILL, R. D.; MU, X. J.; BRUCEKELLER, A. J.; MATTSON, M. P.; SPRINGER, J. E. Impaired mitochondrial function, oxidative stress and altered antioxidant enzyme activities following traumatic spinal cord injury. **Brain Research.** Amsterdam, v. 765, n. 2, p. 283-290, 1997.

BARBOSA, L. F.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Oxidative damage and neurodegeneration. What have we learned from transgenic and knockout animals? **Quimica Nova.** São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1352-1360, 2006.

BATANDIER, C.; FONTAINE, E.; KERIEL, C.; LEVERVE, X. M. Determination of mitochondrial reactive oxygen species: methodological aspects. **Journal of Cellular and Molecular Medicine.** Malden, v. 6, n. 2, p. 175-187, 2002.

BEAL, M. F. Experimental models of Parkinson's disease. **Nature Reviews Neuroscience.** London, v. 2, n. 5, p. 325-34, 2001.

BOSSY-WETZEL, E.; SCHWARZENBACHER, R.; LIPTON, S. A. Molecular pathways to neurodegeneration. **Nature Medicine.** New York, v. 10 Suppl, p. S2-9, 2004.

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTTO, E. L. **Métodos de laboratório em Bioquímica.** São Paulo, Manole, 2003.

BROOKES, P. S.; YOON, Y. S.; ROBOTHAM, J. L.; ANDERS, M. W.; SHEU, S. S. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. **American Journal of Physiology-Cell Physiology.** Bethesda, v. 287, n. 4, p. C817-C833, 2004.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology.** San Diego, v. 52, p. 302-10, 1978.

BUSS, R. R.; OPPENHEIM, R. W. Role of programmed cell death in normal neuronal development and function. **Anatomical Science International** . New York, v. 79, n. 4, p. 191-7, 2004.

CAIN, K.; SKILLETER, D. N. Preparation and use of mitochondria in toxicological research. In: SNELL, K. M. B. (Ed.). **Biochemical toxicology**.: Oxford: IRL Press, 1987. p. 217-254

CALABRESE, V.; LODI, R.; TONON, C.; D'AGATA, V.; SAPIENZA, M.; SCAPAGNINI, G.; MANGIAMELI, A.; PENNISI, G.; STELLA, A. M.; BUTTERFIELD, D. A. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. **Journal Of The Neurological Sciences** . Amsterdam, v. 233, n. 1-2, p. 145-62, 2005.

CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; AMES, B. N. Detection of Picomole Levels of Hydroperoxides Using a Fluorescent Dichlorofluorescein Assay. **Analytical Biochemistry**. San Diego, v. 134, n. 1, p. 111-116, 1983.

CHANCE, B.; WILLIAMS, G. R. The Respiratory Chain and Oxidative Phosphorylation. **Advances in Enzymology and Related Subjects of Biochemistry**. New York, v. 17, p. 65-134, 1956.

CLEMENS, J. A.; PANETTA, J. A. Neuroprotection by Antioxidants in Models of Global and Focal Ischemia. **Neurobiology of No- and -Oh**. New York, v. 738, p. 250-256, 1994.

CONSROE, P.; LAGUNA, J.; ALLENDER, J.; SNIDER, S.; STERN, L.; SANDYK, R.; KENNEDY, K.; SCHRAM, K. Controlled clinical trial of cannabidiol in Huntington's disease. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**. Oxford, v. 40, n. 3, p. 701-8, 1991.

COSTA, B.; TROVATO, A. E.; COMELLI, F.; GIAGNONI, G.; COLLEONI, M. The non-psychoactive cannabis constituent cannabidiol is an orally effective therapeutic agent in rat chronic inflammatory and neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**. Amsterdam, v. 556, n. 1-3, p. 75-83, 2007.

CUNHA, J. M.; CARLINI, E. A.; PEREIRA, A. E.; RAMOS, O. L.; PIMENTEL, C.; GAGLIARDI, R.; SANVITO, W. L.; LANDER, N.; MECHOULAM, R. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. **Pharmacology**. Basel, v. 21, n. 3, p. 175-85, 1980.

DIRIKOC, S.; PRIOLA, S. A.; MARELLA, M.; ZSURGER, N.; CHABRY, J. Nonpsychoactive cannabidiol prevents prion accumulation and protects neurons against prion toxicity. **Journal of Neuroscience**. Washington, v. 27, n. 36, p. 9537-9544, 2007.

DURST, R.; DANENBERG, H.; GALILEE, R.; MECOULAM, R.; BEERI, R.; MEIR, K.; GRAD, E.; AXELROD, E.; PUGATCH, T.; LOTAN, C. Cardioprotective effect of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabis constituent, in ischemic reperfusion injury. **Journal of the American College of Cardiology**. New York, v. 49, n. 9, p. 186a-186a, 2007.

EBADI, M.; SRINIVASAN, S. K.; BAXI, M. D. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**. Oxford, v. 48, n. 1, p. 1-19, 1996.

FATOKUN, A. A.; STONE, T. W.; SMITH, R. A. Cell death in rat cerebellar granule neurons induced by hydrogen peroxide in vitro: Mechanisms and protection by adenosine receptor ligands. **Brain Research**. Amsterdam, v. 1132, n. 1, p. 193-202, 2007.

FERNANDES-RUIZ, J.; GONZÁLEZ, S.; ROMERO, J.; RAMOS, J. A. Cannabinoids in neurodegeneration and neuroprotection. In: MECOULAM, R. (Ed.). **Cannabinoids as therapeutics**. Verlag, 2005. p. 79-109.

FRIBERG, H.; WIELOCH, T. Mitochondrial permeability transition in acute neurodegeneration. **Biochimie**. Paris, v. 84, n. 2-3, p. 241-250, 2002.

GARCIA-ARENCIBIA, M.; GONZALEZ, S.; DE LAGO, E.; RAMOS, J. A.; MECOULAM, R.; FERNANDEZ-RUIZ, J. Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: Importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties. **Brain Research**. Amsterdam, v. 1134, n. 1, p. 162-170, 2007.

GRUNDY, R. I.; RABUFFETTI, M.; BELTRAMO, M. Cannabinoids and neuroprotection. **Molecular Neurobiology**. Totowa, v. 24, n. 1-3, p. 29-51, 2001.

GUTTERIDGE, J. M. Hydroxyl radicals, iron, oxidative stress, and neurodegeneration. **Annals Of The New York Academy Of Sciences** . Oxford, v. 738, p. 201-13, 1994.

HAIJEVA, P.; MOCKO, J. B.; MOOSMANN, B.; BEHL, C. Novel imine antioxidants at low nanomolar concentrations protect dopaminergic cells from oxidative neurotoxicity. **Journal Of Neurochemistry** . Malden, v. 110, n. 1, p. 118-32, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. 4th. ed. **Oxford University**, Oxford, Press, 2007.

HAMPSON, A. J.; GRIMALDI, M.; AXELROD, J.; WINK, D. Cannabidiol and (-)Delta(9)-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 95, n. 14, p. 8268-8273, 1998.

HUNG, C. W.; CHEN, Y. C.; HSIEH, W. L.; CHIOU, S. H.; KAO, C. L. Ageing and neurodegenerative diseases. **Ageing Research Reviews**. Clare, v. 9, p. S36-S46, 2010.

HUNTER, D. R.; HAWORTH, R. A. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms. **Archives Of Biochemistry And Biophysics** . New York, v. 195, n. 2, p. 453-9, 1979.

JHA, H. C.; VONRECKLINGHAUSEN, G.; ZILLIKEN, F. Inhibition of Invitro Microsomal Lipid-Peroxidation by Isoflavonoids. **Biochemical Pharmacology**. Oxford, v. 34, n. 9, p. 1367-1369, 1985.

KELLER, J. N.; GUO, Q.; HOLTSBERG, F. W.; BRUCE-KELLER, A. J.; MATTSON, M. P. Increased sensitivity to mitochondrial toxin-induced apoptosis in neural cells expressing mutant presenilin-1 is linked to perturbed calcium homeostasis and enhanced oxyradical production. **Journal of Neuroscience**. Washington, v. 18, n. 12, p. 4439-4450, 1998.

KRISTAL, B. S.; DUBINSKY, J. M. Mitochondrial permeability transition in the central nervous system: Induction by calcium cycling-dependent and -independent pathways. **Journal of Neurochemistry**. Malden, v. 69, n. 2, p. 524-538, 1997.

KROEMER, G. The mitochondrion as an integrator/coordinator of cell death pathways. **Cell Death and Differentiation**. London v. 5, n. 6, p. 547-547, 1998.

KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; BRENNER, C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. **Physiological Reviews**. Bethesda Paris, v. 87, n. 1, p. 99-163, 2007.

LIN, M. T.; BEAL, M. F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Nature**. London, v. 443, n. 7113, p. 787-795, 2006.

MAGNASCO, A.; ROSSI, A.; CATARSI, P.; GUSMANO, R.; GINEVRI, F.; PERFUMO, F.; GHIGGERI, G. M. Cyclosporin and organ specific toxicity: clinical aspects, pharmacogenetics and perspectives. **Current Clinical Pharmacology**. Geneva, v. 3, n. 3, p. 166-73, 2008.

MANSSON, R.; HANSSON, M. J.; MOROTA, S.; UCHINO, H.; EKDAHL, C. T.; ELMER, E. Re-evaluation of mitochondrial permeability transition as a primary neuroprotective target of minocycline. **Neurobiology Of Disease**. San Diego, v. 25, n. 1, p. 198-205, 2007.

MATTSON, M. P. Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let me run. **Brain Research**. Amsterdam, v. 886, n. 1-2, p. 47-53, 2000.

MATTSON, M. P. Neuronal life-and-death signaling, apoptosis, and neurodegenerative disorders. **Antioxidants and Redox Signal**. Baltimore, v. 8, n. 11-12, p. 1997-2006, 2006.

MISHIMA, K.; HAYAKAWA, K.; ABE, K.; IKEDA, T.; EGASHIRA, N.; IWASAKI, K.; FUJIWARA, M. Cannabidiol prevents cerebral infarction via a serotonergic 5-hydroxytryptamine(1A) receptor-dependent mechanism. **Stroke**. Philadelphia, v. 36, n. 5, p. 1071-1076, 2005.

MOREL, I.; LESCOAT, G.; COGREL, P.; SERGENT, O.; PASDELOUP, N.; BRISSOT, P.; CILLARD, P.; CILLARD, J. Antioxidant and Iron-Chelating Activities of the Flavonoids Catechin, Quercetin and Diosmetin on Iron-Loaded Rat Hepatocyte Cultures. **Biochemical Pharmacology**. Oxford, v. 45, n. 1, p. 13-19, 1993.

MOROTA, S.; MANSSON, R.; HANSSON, M. J.; KASUYA, K.; SHIMAZU, M.; HASEGAWA, E.; YANAGI, S.; OMI, A.; UCHINO, H.; ELMER, E. Evaluation of putative inhibitors of mitochondrial permeability transition for brain disorders--specificity vs. toxicity. **Experimental Neurology**. San Diego, v. 218, n. 2, p. 353-62, 2009a.

MOROTA, S.; MANSSON, R.; HANSSON, M. J.; KASUYA, K.; SHIMAZU, M.; HASEGAWA, E.; YANAGI, S.; OMI, A.; UCHINO, H.; ELMER, E. Evaluation of putative inhibitors of mitochondrial permeability transition for brain disorders - Specificity vs. toxicity. **Experimental Neurology**. San Diego, v. 218, n. 2, p. 353-362, 2009b.

NORENBERG, M. D.; RAO, K. V. The mitochondrial permeability transition in neurologic disease. **Neurochemistry International**. Oxford, v. 50, n. 7-8, p. 983-97, 2007.

NUNOMURA, A.; HONDA, K.; TAKEDA, A.; HIRAI, K.; ZHU, X.; SMITH, M. A.; PERRY, G. Oxidative damage to RNA in neurodegenerative diseases. **Journal Of Biomedicine And Biotechnology**, New York, v. 2006, n. 3, p. 82323, 2006.

PALIWAL, R.; RAI, S.; VAIDYA, B.; MAHOR, S.; GUPTA, P. N.; RAWAT, A.; VYAS, S. P. Cell-selective mitochondrial targeting: progress in mitochondrial medicine. **Current Drug Delivery**, Oak Park, v. 4, n. 3, p. 211-24, 2007.

PETROZZI, L.; RICCI, G.; GIGLIOLI, N. J.; SICILIANO, G.; MANCUSO, M. Mitochondria and neurodegeneration. **Bioscience Reports**, London, v. 27, n. 1-3, p. 87-104, 2007.

POPE, C.; MECHOULAM, R.; PARSONS, L. Endocannabinoid signaling in neurotoxicity and neuroprotection. **Neurotoxicology**. Amsterdam v. 31, n. 5, p. 562-71, 2010.

PRZEDBORSKI, S.; JACKSON-LEWIS, V.; DJALDETTI, R.; LIBERATORE, G.; VILA, M.; VUKOSAVIC, S.; ALMER, G. The parkinsonian toxin MPTP: action and mechanism. **Restorative Neurology And Neuroscience**. Amsterdam v. 16, n. 2, p. 135-142, 2000.

PRZEDBORSKI, S.; VILA, M.; JACKSON-LEWIS, V. Neurodegeneration: what is it and where are we? **Journal Of Clinical Investigation**. Ann Arbor, v. 111, n. 1, p. 3-10, 2003.

ROBBERECHT, W.; VAN DEN BOSCH, L. The pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. **Neuroscience Research Communications**. Malden, v. 23, n. 2, p. 67-75, 1998.

ROBERTSON, C. L. Mitochondrial dysfunction contributes to cell death following traumatic brain injury in adult and immature animals. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**. New York, v. 36, n. 4, p. 363-368, 2004.

ROSS, D. Mechanistic Toxicology - a Radical Perspective. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. London, v. 41, n. 8, p. 505-511, 1989.

SANTOS, N. A. G.; CATAO, C. S.; MARTINS, N. M.; CURTI, C.; BIANCHI, M. L. P.; SANTOS, A. C. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. **Archives of Toxicology**. New York, v. 81, n. 7, p. 495-504, 2007.

SAYEED, I.; PARVEZ, S.; WALI, B.; SIEMEN, D.; STEIN, D. G. Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: A possible mechanism for better neuroprotective effects of allopregnanolone over progesterone. **Brain Research**. Amsterdam v. 1263, p. 165-173, 2009.

SHI, Y. G. Apoptosome: The cellular engine for the activation of caspase-9. **Structure**. Cambridge v. 10, n. 3, p. 285-288, 2002.

SIMS, N. R.; ANDERSON, M. F. Isolation of mitochondria from rat brain using Percoll density gradient centrifugation. **Nature Protocols**. London, v. 3, n. 7, p. 1228-1239, 2008.

SWERDLOW, R. H. Treating neurodegeneration by modifying mitochondria: potential solutions to a "complex" problem. **Antioxidants and Redox Signal**. Baltimore, v. 9, n. 10, p. 1591-603, 2007.

TRUSHINA, E.; MCMURRAY, C. T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. **Neuroscience**. Oxford, v. 145, n. 4, p. 1233-1248, 2007.

VERCESI, A.; REYNAFARJE, B.; LEHNINGER, A. L. Stoichiometry of H⁺ Ejection and Ca²⁺ Uptake Coupled to Electron-Transport in Rat-Heart Mitochondria. **Journal of Biological Chemistry**. Bethesda, v. 253, n. 18, p. 6379-6385, 1978.

VERCESI, A. E.; KOWALTOWSKI, A. J.; OLIVEIRA, H. C. F.; CASTILHO, R. F. Mitochondrial Ca²⁺ transport, permeability transition and oxidative stress in cell death: implications in cardiotoxicity, neurodegeneration and dyslipidemias. **Frontiers in Bioscience**. New York, v. 11, p. 2554-2564, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Neurological disorders affect millions globally: WHO report**. Geneva: WHO, 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr04/en/>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

YAN, N.; SHI, Y. G. Mechanisms of apoptosis through structural biology. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**. Palo Alto, v. 21, p. 35-56, 2005.

ZAIDAN, E.; NILSSON, M.; SIMS, N. R. Increased mitochondrial permeability in response to intrastriatal N-methyl-D-aspartate: Detection based on accumulation of radiolabel from [H-3]deoxyglucose. **Neurochemical Research**. New York, v. 29, n. 3, p. 609-616, 2004.

ZHAO, B. Natural antioxidants for neurodegenerative diseases. **Molecular Neurobiology**. Totowa v. 31, n. 1-3, p. 283-93, 2005.

ZORATTI, M.; SZABO, I. The Mitochondrial Permeability Transition. **Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Biomembranes**. Amsterdam, v. 1241, n. 2, p. 139-176, 1995.

ZUARDI, A. W. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. São Paulo, v. 30, n. 3, p. 271-80, 2008.

ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A. S.; HALLAK, J. E. C.; MOREIRA, F. A.; GUIMARAES, F. S. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. São Paulo, v. 39, n. 4, p. 421-429, 2006.

ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A. S.; HALLAK, J. E. C.; PINTO, J. P.; CHAGAS, M. H. N.; RODRIGUES, G. G. R.; DURSUN, S. M.; TUMAS, V. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinson's disease. **European Neuropsychopharmacology**. Amsterdam, v. 18, p. S417-S418, 2008.