

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MANOELA DE AGUIAR FERREIRA

EFEITOS DO TRATAMENTO COM CANABIGEROL NOS COMPORTAMENTOS DE  
MEDO E ANSIEDADE: A INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO PRÉVIO

CURITIBA

2025

MANOELA DE AGUIAR FERREIRA

EFEITOS DO TRATAMENTO COM CANABIGEROL NOS COMPORTAMENTOS DE  
MEDO E ANSIEDADE: A INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO PRÉVIO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina A. Jark Stern

CURITIBA

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Ferreira, Manoela de Aguiar

Efeitos do tratamento com canabigerol nos comportamentos de medo e ansiedade : a influência do condicionamento prévio / Manoela de Aguiar Ferreira. – Curitiba, 2025.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina A. Jark Stern.

1. Canabinóides. 2. Medo. 3. Neurotransmissores. 4. Transtornos de Estresse Pós-Traumáticos. I. Stern, Cristina A. J. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título.

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MANOELA DE AGUIAR FERREIRA**, intitulada: **EFEITOS DO TRATAMENTO COM CANABIGEROL NOS COMPORTAMENTOS DE MEDO E ANSIEDADE: A INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO PRÉVIO**, sob orientação da Profa. Dra. CRISTINA APARECIDA JARK STERN, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 29 de Abril de 2025.

Assinatura Eletrônica

15/05/2025 15:15:01.0

CRISTINA APARECIDA JARK STERN

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

08/05/2025 15:09:44.0

FRANCISLAINE APARECIDA DOS REIS LIVERO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

29/04/2025 22:49:42.0

BRUNO JACSON MARTYNHAK

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristina Stern, pela orientação, pelo auxílio e pelas valiosas contribuições ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Em especial, por me receber de longe e por sempre se dispor a ouvir e elucidar tanto as pequenas quanto as grandes dúvidas.

Ao Fear Memory Lab: Ana Maria, Daiane, Gabriel, Jeferson, Mariana, Mateus e Nathalie. Foram os ensinamentos, a ajuda nas tarefas diárias e nos experimentos que culminaram na realização dessa pesquisa. Agradecimento especial à Ana Maria e Mariana pela ajuda constante na experimentação, tomada de decisões, escrita e revisão, não seria o mesmo sem vocês. Aos que se tornaram alicerce, motivos de sorrisos, escuta ativa e carinhosa, abraço apertado e apoio: Ana Maria, Mariana, Mateus e Nathalie. A presença de todos tornou a minha trajetória mais leve e humanamente significativa.

À minha família, e, em especial a meu pai, Daniel, e à minha mãe, Nona, por serem o incentivo necessário, o porto seguro e o fundamento. É incomensurável o papel e o valor que vocês agregaram à minha formação e, sobretudo, na concretização deste trabalho.

À Otaci, que me acompanha no melhor e no pior, que me ajuda, incentiva, alegre, norteia, supre de alimento e afeto. Sua presença no meu dia a dia me preenche de júbilo e me inspira a ter esperança.

Aos meus queridos amigos: Ana Claudia, Deysi, Raelli e Wendhel. À minha querida Ana, por checar sempre o meu bem estar, pela paciência de me escutar e por sempre aguardar o meu retorno de braços abertos. À Deysi, pela escuta carinhosa, por sua presença e pela reciprocidade. À Raelli pelo afago na alma com ternas palavras e gestos de afeto. Ao meu amigo Wendhel, por promover o pontapé inicial e a acolhida cuidadosa, o seu suporte condicionou este caminho.

Agradeço à CNPq, CAPES e FAPESP pelo suporte financeiro. À Universidade Federal do Paraná e ao Departamento de Farmacologia pelo suporte estrutural e técnico.

## RESUMO

A reconsolidação é um processo onde as memórias armazenadas, quando evocadas, passam por um novo estado de labilização que possibilita que essas memórias sejam atualizadas, fortalecidas ou mesmo enfraquecidas. Assim, prejudicar a reconsolidação pode ser promissor para o tratamento do transtorno de estresse pós-traumático (TEPT). Nesse sentido, os fitocanabinoides têm demonstrado potenciais efeitos terapêuticos, uma vez que o canabidiol e o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol mostraram interferir na reconsolidação da memória de medo em ratos. Outro fitocanabinoide, o canabigerol (CBG), tem atraído atenção por suas propriedades anti-inflamatórias e neuromodulatórias, bem como por sua afinidade por  $\alpha_2$ -adrenoceptores e receptores 5-HT<sub>1A</sub>. Contudo, os efeitos do CBG sobre a reconsolidação da memória de medo ainda são incertos. Nossa hipótese foi que uma dose baixa de CBG (1 mg/kg, i.p.) prejudicaria a reconsolidação da memória de medo mediado pelos  $\alpha_2$ -adrenoceptores, dada a participação desses receptores no processamento da memória de medo. Logo, buscamos examinar a influência do CBG sobre a reconsolidação da memória de medo em ratos machos e fêmeas. Inicialmente, ratos adultos condicionados ao medo receberam veículo (Tween 80 5%, DMSO 5% e salina 90%) ou CBG imediatamente após uma sessão de evocação da memória. Os efeitos do tratamento sobre a reconsolidação e generalização da memória de medo foram avaliados no Teste A e B, respectivamente. Todavia, nenhum efeito significativo do CBG foi visto sobre esses processos. Para avaliar o efeito do CBG sobre o comportamento do tipo ansioso e na atividade locomotora, ratos *naive* tratados com veículo ou CBG foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado (LCE). Também, nenhuma diferença foi observada no comportamento relacionado à ansiedade e na atividade locomotora. Ainda, outro grupo foi tratado com CBG, logo após a evocação da memória, e em seguida ao Teste B foram expostos ao LCE. Curiosamente, o CBG aumentou o tempo e o número de entradas nos braços abertos e reduziu as avaliações de risco de machos condicionados. Diferentemente, o CBG diminuiu o número de entradas nos braços abertos de fêmeas condicionadas. Ademais, foi realizada a quantificação dos neurotransmissores noradrenalina (NA) e serotonina, e seus metabólitos, nas regiões do córtex pré-frontal medial (CPFm), hipocampo dorsal (HD) e ventral de animais tratados. As quantificações foram feitas 2 horas após a injeção, depois da sessão de evocação, e também após o Teste B. Notou-se que no período de 2 horas as fêmeas tratadas apresentaram um menor conteúdo de DHPG, o metabólito da NA, no HD, e menor turnover de NA no CPFm. Ainda, viu-se diferenças basais no conteúdo de neurotransmissores entre os sexos nos dois períodos de tempo avaliados. Esses dados sugerem que o efeito do CBG no comportamento do tipo ansioso é dependente do sexo e da presença de um estresse prévio como o condicionamento do medo. Entretanto, sem afetar a reconsolidação da memória de medo. As alterações na neurotransmissão indicam que os comportamentos relacionados ao medo observados não sofrem efeitos dessas mudanças. Mas podem estar envolvidas com o comportamento relacionado à ansiedade dos animais. Futuros estudos que explorem essa questão são necessários.

Palavras-chave: canabinoide, condicionamento de medo ao contexto, reconsolidação da memória do medo, sistemas de neurotransmissores, TEPT.

## ABSTRACT

Reconsolidation is a process in which stored memories, when recalled, undergo a new state of labilization that allows these memories to be updated, strengthened, or even weakened. Therefore, it is proposed that impairing reconsolidation may be a promising approach for the treatment of PTSD. Phytocannabinoids have shown potential therapeutic effects on post-traumatic stress disorder (PTSD) and anxiety disorders. While previous studies have demonstrated that cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol disrupt fear memory reconsolidation in both male and female rats. Cannabigerol (CBG), another phytocannabinoid, has garnered attention for its anti-inflammatory and neuromodulatory properties, as well as its affinity for  $\alpha_2$ -adrenoceptors and 5-HT<sub>1A</sub> receptors. However, the effects of CBG on fear memory reconsolidation remain unclear. We hypothesized that a low dose of CBG (1 mg/kg, i.p.) would impair fear memory reconsolidation mediated by  $\alpha_2$ -adrenoceptors, given the involvement of these receptors in fear memory processing. Here, we aimed to examine the influence of CBG on fear memory reconsolidation in male and female rats. Firstly, fear-conditioned adult rats, immediately after a retrieval session, received vehicle (5% Tween 80, 5% DMSO, and 90% saline) or CBG. The treatment effect on fear memory reconsolidation and generalization were assessed during Test A and Test B, respectively. However, no significant effect of CBG was observed on these processes. To assess the effect of CBG on anxiety-like behavior and locomotor activity, naive rats were treated with either vehicle or CBG and subjected to the elevated plus maze (EPM) test. No differences were observed in anxiety-related behavior or locomotor activity. Additionally, another group was treated with CBG immediately after memory retrieval and then exposed to the EPM following Test B. In this context, CBG increased both the time spent and the number of entries into the open arms, and reduced risk assessment behaviors in conditioned males. In contrast, CBG decreased the number of open arm entries in conditioned females. Furthermore, we conducted neurotransmitter quantification of noradrenaline (NA) and serotonin, and their metabolites, in male and female samples from the medial prefrontal cortex (mPFC), dorsal hippocampus (DH), and ventral hippocampus areas. The quantification was conducted 2 hours after injection, immediately following the retrieval session, and we also evaluated the neurotransmitter contents immediately after Test B. Interestingly, the neurotransmitter quantification showed that 2 hours after treatment with CBG females presented lower content of DHPG, that is, the NA metabolite, in DH, and lower NA turnover in the mPFC. In addition, baseline neurotransmitter differences were observed between the sexes in the two time periods evaluated. These findings suggest that CBG effect on anxiety-like behavior is sex-specific and influenced by prior stress, such as fear conditioning. However, it does not affect fear memory reconsolidation. The alterations in the neurotransmitter systems analyzed suggests that the observed fear behavior is not influenced by changes in these systems induced by CBG, but these alterations may be involved with the anxiety-behavior presented. Future works addressing this matter are warranted.

Key-words: cannabinoid, contextual fear conditioning, fear memory reconsolidation, neurotransmitter systems, PTSD.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> O processo de formação, reconsolidação e extinção da memória aversiva.....	15
<b>Figura 2.</b> Protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....	28
<b>Figura 3.</b> Representação das fases do ciclo estral.....	30
<b>Figura 4.</b> Efeito do tratamento com CBG durante a reconsolidação da memória de medo.....	34
<b>Figura 5.</b> Efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e na atividade locomotora de ratos de condicionados ao medo.....	36
<b>Figura 6.</b> Efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e na atividade locomotora de ratos condicionados.....	39
<b>Figura 7.</b> Comportamento no LCE de animais não condicionados e condicionados ao medo.....	40
<b>Figura 8.</b> Efeito do tratamento com CBG no conteúdo de neurotransmissores de ratos condicionados ao medo durante a reconsolidação da memória.....	43
<b>Figura 9.</b> Efeito do tratamento com CBG no conteúdo de neurotransmissores de ratos condicionados ao medo após o Teste B.....	46
<b>Figura 10.</b> Principais diferenças entre sexos nos parâmetros de NA e 5-HT no CPFm, HD e HV, comparando fêmeas com machos 2 horas após a administração do veículo (experimento 4) e após o Teste B (experimento 5).....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%EA	- Porcentagem de entradas nos braços abertos
%TA	- Porcentagem de tempo de braços abertos
5-HIAA	- Ácido 5-hidroxiindolacético
5-HT	- Serotonina
AEA	- Anandamida
AMPA	- $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
AMPc	- Monofosfato de adenosina cíclico
ANOVA	- Análise de variância
AR	- Número de avaliação de risco
CAMKII	- Cálcio-Calmodulina quinase II
CBD	- Canabidiol
CBG	- Canabigerol
CBGA	- Ácido canabigerólico
CMC	- Condicionamento de medo ao contexto
CPFm	- Córtex pré-frontal medial
CREB	- Proteína de ligação responsiva ao AMPc
DHPG	- 3,5-di-hidroxifenilglicina
DSM-V	- Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 5
EC	- Estímulo condicionado
EF	- Número de entradas nos braços fechados
EI	- Estímulo incondicionado
HD	- Hipocampo dorsal
HPLC	- Cromatografia líquida de alta performance
HV	- Hipocampo ventral
ISRS	- Inibidores seletivos da recaptação de serotonina
LCE	- Labirinto em cruz elevado
LTP	- Potenciação de longa duração
NA	- Noradrenalina
NMDA	- N-metil-D-aspartato
PKA	- Proteína quinase A

RC	- Resposta condicionada
RI	- Resposta incondicionada
SNC	- Sistema nervoso central
TEPT	- Transtorno do Estresse Pós-Traumático
THC	- $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol
VEI	- Veículo
$\alpha_2$ -AR	- $\alpha_2$ -adrenoceptor

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1 TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS TRAUMÁTICO.....	11
1.2 MEMÓRIA DE MEDO.....	13
1.3 MODELOS NÃO-CLÍNICOS PARA ESTUDO DA MEMÓRIA DE MEDO E ANSIEDADE.....	16
1.3.1 Condicionamento de medo ao contexto.....	16
1.3.2 Labirinto em cruz elevado.....	16
1.4 FITOCANABINOIDES E SEU POTENCIAL TERAPÊUTICO NO TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO.....	17
1.5 CANABIGEROL.....	21
1.5.1 Características do Canabigerol.....	21
1.5.2 Canabigerol: principais achados sobre seu efeito no sistema nervoso central.....	22
1.6 O CANABIGEROL, O SISTEMA NORADRENÉRGICO E A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO.....	23
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
3.1 ANIMAIS.....	27
3.2 DROGAS.....	27
3.3 CONDICIONAMENTO DE MEDO AO CONTEXTO.....	27
3.4 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	28
3.5 AVALIAÇÃO DO CICLO ESTRAL.....	29
3.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC).....	30
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
3.8 ETAPAS EXPERIMENTAIS.....	32
3.8.1 Experimento 1: Avaliação do efeito tratamento com CBG durante a reconsolidação da memória de medo.....	32
3.8.2 Experimento 2: Avaliação do efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e atividade locomotora de animais não condicionados.....	32
3.8.3 Experimento 3: Avaliação do efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e atividade locomotora de animais condicionados ao medo.....	32
3.8.4 Experimento 4: Avaliação do efeito do tratamento com CBG durante a reconsolidação sobre o conteúdo de neurotransmissores.....	33
3.8.5 Experimento 5: Avaliação do efeito do tratamento com CBG sobre o conteúdo de neurotransmissores após exposição ao Contexto B.....	33
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
4.1 O TRATAMENTO COM CBG DURANTE A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO NÃO AFETA A RECONSOLIDAÇÃO E A	

GENERALIZAÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO.....	33
4.2 O TRATAMENTO COM CBG NÃO AFETOU O COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO OU A ATIVIDADE LOCOMOTORA DE RATOS NÃO CONDICIONADOS AO MEDO.....	35
4.3 O TRATAMENTO COM CBG EM ANIMAIS CONDICIONADOS PROMOVE UM EFEITO ANSIOGÊNICO EM MACHOS E UM EFEITO ANSIOLÍTICO EM FÊMEAS.....	36
4.4 O TRATAMENTO COM CBG DURANTE A RECONSOLIDAÇÃO DIMINUIU O CONTEÚDO DE DHPG NO CPF <sub>m</sub> E REDUZIU O TURNOVER DE 5-HT NO HD DE FÊMEAS.....	41
4.5 O TRATAMENTO COM CBG DURANTE A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA NÃO AFETA O CONTEÚDO DE NA E 5-HT APÓS O TESTE B, PORÉM, DIFERENÇAS BASAIS ENTRE SEXOS FORAM OBSERVADAS NOS PARÂMETROS DE NA E 5-HT.....	44
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>6. LIMITAÇÕES.....</b>	<b>60</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>79</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS TRAUMÁTICO

O Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) é classificado como um Transtorno Relacionado a Trauma e Estressores segundo a 5ª edição revisada do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V-TR; American Psychiatric Association, 2023).

O TEPT pode ser desenvolvido em virtude da exposição a um ou mais eventos traumáticos relacionados à morte ou ameaça de morte, lesão grave ou violência sexual. Essa exposição pode ser direta quando o indivíduo vivencia o evento. Mas também, de maneira indireta ao testemunhar outra pessoa passar por um evento traumático, ser informado acerca de pessoas próximas afetadas por um contexto traumático ou, ainda, através do contato repetido ou intenso com informações relacionadas a um evento traumático (American Psychiatric Association, 2023).

Após o advento da pandemia da COVID-19, observou-se um expressivo aumento nos casos de TEPT. A taxa combinada da prevalência do TEPT durante a pandemia, incluindo pacientes com a doença, profissionais de saúde e a população em geral, foi de 17,52% (Yunitri *et al.*, 2022). E a taxa de prevalência em mulheres é o dobro da registrada em homens (Yehuda *et al.*, 2015). A explicação sugerida para essa maior prevalência consiste na maior probabilidade de mulheres serem expostas a eventos violentos e também devido às diferenças relacionadas ao sexo no processamento do trauma e na influência dos hormônios sexuais (American Psychiatric Association, 2023).

A manifestação clínica do TEPT é bastante variada. No entanto, é comum aos indivíduos a presença de uma memória traumática intensa que se manifesta pela recorrência de lembranças involuntárias e intrusivas do evento traumático. Essas memórias ainda podem incluir elementos sensoriais e emocionais angustiantes ao indivíduo. Essas lembranças estão associadas com a manifestação de *flashbacks* e sonhos revivendo o trauma, ou contextos semelhantes ao vivenciado. Inclusive, esses pesadelos podem estar relacionados com problemas de indução e manutenção do sono que são frequentemente observados. O contato com pistas que remetem ao trauma pode repercutir em sofrimento psicológico severo e

respostas fisiológicas intensas. Portanto, quaisquer estímulos relacionados ao trauma são continuamente evitados pelos pacientes (American Psychiatric Association, 2023). Outro processo que pode ocorrer em relação à memória traumática é a generalização. Neste caso, o indivíduo não consegue discriminar adequadamente entre sinais e contextos de perigo e segurança. Por isso, mesmo contextos seguros podem desencadear sintomas associados ao TEPT (Risbrough; Glenn; Baker, 2016).

Indivíduos com TEPT frequentemente apresentam prejuízos significativos no aspecto social, profissional e físico, como diminuição da qualidade de vida e da saúde física (American Psychiatric Association, 2023). Além disso, esses pacientes são usualmente acometidos por outras condições como transtornos de humor, ansiedade e por uso de substâncias (Kessler *et al.*, 1995; Pietrzak *et al.*, 2011; Hayes; Vanelzakker; Shin, 2012). Ainda, existe uma associação entre indivíduos com TEPT e a ideação, tentativas e morte por suicídio (Stanley, 2021).

A primeira estratégia terapêutica para o TEPT diz respeito às psicoterapias (Yabuki; Fukunaga, 2019). São recomendados os tratamentos de exposição prolongada, terapia de processamento cognitivo e dessensibilização e reprocessamento por movimentos oculares (Merians *et al.*, 2023). Em especial, a terapia de exposição prolongada é um dos tratamentos mais estudados e demonstrou eficácia na redução dos sintomas do TEPT (Cusack *et al.*, 2016; O'Neil *et al.*, 2019). Nessa abordagem, é feita a evocação de memórias envolvidas ao evento traumático de maneira controlada e em um ambiente seguro, com o intuito de reduzir as respostas de medo. Apesar de sua ampla utilização e eficácia, a terapia de exposição prolongada está associada com altos índices de abandono, recuperação espontânea e retorno dos sintomas a longo prazo (Singewald *et al.*, 2015; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016; Kida, 2019).

Já a segunda estratégia adotada para o tratamento do TEPT se baseia na farmacoterapia. Esse tratamento não é específico para o TEPT e utiliza-se principalmente de inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS). O uso desses fármacos reduz a expressão de sintomas relacionados ao transtorno, todavia, sem tratar a memória traumática (Stein; Ipser; Seedat, 2006; Yabuki; Fukunaga, 2019). Um estudo mostrou, contudo, que apenas cerca de 20–30% dos pacientes que fazem o tratamento com ISRS alcançam a remissão completa (Berger *et al.*, 2009).

Embora seja notável a complexidade em promover um tratamento psicoterápico e/ou farmacológico eficaz, o conhecimento atual sobre a neurobiologia do TEPT ainda é limitado. Isso reforça a urgência de uma melhor compreensão dos mecanismos neurobiológicos relacionados ao transtorno, assim como a adoção de novas abordagens farmacoterapêuticas que possibilitem a intervenção direta na memória de medo, isto é, a causa da expressão dos sintomas. Dessa forma, possibilitando avanços para um tratamento mais específico e eficaz.

## 1.2 MEMÓRIA DE MEDO

O aprendizado de medo desempenha um papel evolutivo essencial, permitindo que o indivíduo utilize informações importantes para sobreviver e se adaptar às diversas condições (Blanchard *et al.*, 2008; LeDoux, 2012). Diante de um evento traumático, as informações relevantes em relação ao evento são adquiridas na forma de um traço de memória instável. Para que esse traço de memória se torne estável e perdure, deve ocorrer um processo de consolidação desse traço de memória durante um período aproximado de 6 horas (Dudai, 2004; San Luis; Ryan, 2022). Para isso é necessário o recrutamento de um conjunto de neurônios, denominado engrama, para a codificação da informação (Lent, 2023). Esses neurônios ao serem ativados devem fortalecer as conexões sinápticas entre si (San Luis; Ryan, 2022). Já foi visto que a potenciação de longa duração (LTP) é um processo importante para a indução da consolidação da memória (Nabavi *et al.*, 2014). Durante a LTP o neurônio pré-sináptico libera glutamato que ativa o receptor glutamatérgico  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) no neurônio pós-sináptico. A ativação desse receptor ionotrópico excitatório leva ao influxo de  $\text{Na}^+$  promovendo despolarização do neurônio. O aumento do potencial de membrana promove o desligamento do íon  $\text{Mg}^+$  presente no receptor glutamatérgico N-metil-D-aspartato (NMDA). Com isso, a ligação do glutamato ao receptor NMDA, não mais bloqueado pelo  $\text{Mg}^+$ , ativa o receptor e gera um influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ . Por consequência, o aumento do nível intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  pode desencadear a ativação de diversas proteínas quinases. Uma dessas quinases é a cálcio-calmodulina quinase II (CamKII) que fosforila os receptores AMPA na membrana, aumentando a condutância do canal. Além disso, a ação da CamKII também resulta na inserção de mais receptores AMPA na membrana. Esses efeitos tornam o neurônio mais

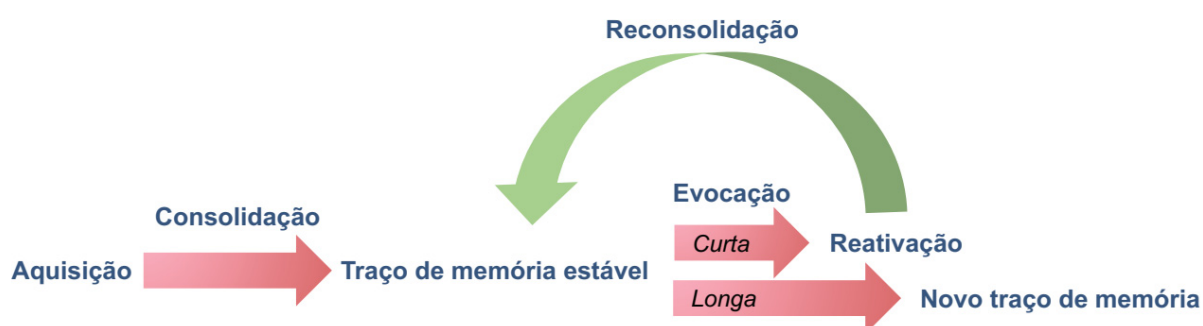
responsivo a novas estimulações (San Luis; Ryan, 2022). Outra enzima ativada é a adenilato ciclase que catalisa a formação de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). Níveis suficientes de AMPc geram a ativação da proteína quinase A (PKA). A PKA como sua atividade de quinase, fosforila o fator de transcrição denominado proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB). Dessa forma, a ação do CREB pode suscitar a síntese de proteínas importantes para a plasticidade sináptica, inclusive promovendo a formação de novas sinapses (Malenka; Bear, 2004; San Luis; Ryan, 2022). A consolidação da memória de medo recente em roedores depende da atividade do hipocampo dorsal (HD), principalmente das áreas CA3 e CA1, e da amígdala, em especial o núcleo da amígdala basolateral (Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016; Casagrande *et al.*, 2023).

Uma vez consolidado, o traço de memória torna-se estável. A evocação da memória pode levar à reativação do engrama. Quando há reexposição a pistas relacionadas ao evento traumático esse traço de memória pode se tornar lábil, ou seja, o traço de memória anteriormente estável passa para um estado instável. Por isso, durante esse período de instabilidade, as interferências na memória podem alterá-la. Para que essa memória se torne estável novamente é necessário que ocorra um processo de reconsolidação, que consiste em uma atualização dessa memória (Nader; Schafe; LeDoux, 2000; Alberini e LeDoux, 2013; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016; Kida, 2019). Assim como a consolidação, a reconsolidação ocorre durante uma janela de aproximadamente 6 horas e requer expressão gênica e síntese proteica (Nader; Schafe; LeDoux, 2000; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016; Kida, 2019).

A proposta da reconsolidação da memória foi apresentada por Przybylski e Sara (1997) ao observarem que o uso de um antagonista do receptor NMDA após a evocação da memória foi capaz de prejudicar uma memória espacial anteriormente consolidada. Outros trabalhos observaram que interferências farmacológicas na reconsolidação podem prejudicar a memória de medo (Nader; Schafe; LeDoux, 2000; Stern *et al.*, 2015; Raymundi *et al.*, 2023). Essa característica da reconsolidação pode viabilizar a interferência na memória de medo mal adaptativa de maneira a torná-la menos prejudicial. Além disso, sabe-se que interferências nesse processo podem resultar em modificações duradouras (Nader; Schafe; LeDoux, 2000; Alberini, 2011). Se configurando, assim, uma estratégia interessante no que tange o tratamento de memórias relacionadas a traumas

(Gisquet-Verrier; Le Dorze, 2019; Lisboa *et al.*, 2019). A reconsolidação de memórias recentes é mais dependente do hipocampo, enquanto que memórias remotas requerem a atividade de regiões mais corticais (Makino *et al.*, 2019). Ainda assim, estudos têm demonstrado que a administração de drogas no córtex pré-frontal medial (CPFm), em especial a sub-região chamada de córtex pré-límbico, também é capaz de prejudicar a reconsolidação da memória de medo recente (Stern *et al.*, 2013; da Silva *et al.* 2020; Bayer *et al.*, 2022). Contudo, para desencadear a reconsolidação da memória é necessário que o tempo de exposição a pistas relacionadas a um evento seja curto, ou seja, uma evocação curta da memória (Figura 1). Caso a exposição seja prolongada ou repetida, outro processo de memória será desencadeado, conhecido como extinção (Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016; Kida, 2019).

Neste caso, a extinção da memória, diferente do que se possa imaginar, não se trata do “apagamento” de uma memória, mas sim, da formação de um novo traço de memória. Por exemplo, a exposição repetida ou prolongada de maneira segura a um contexto anteriormente aversivo, permite que uma nova memória seja formada. Essa memória reflete que aquele contexto não possui um caráter aversivo. Com isso o novo traço de memória, não aversivo, competirá e inibirá a memória de medo originalmente formada. Dessa forma, a memória de extinção não provoca uma resposta de medo (Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016; Luchkina; Bolshakov, 2019). A memória original, portanto, não é esquecida. Além disso, ela pode voltar a ser expressa posteriormente (Paredes; Morilak, 2019; Wotjak, 2019). Assim, modificações na memória de medo durante a reconsolidação mostram-se mais vantajosas comparadas à indução da extinção, já que as interferências na reconsolidação são mais permanentes (Nader; Schafe; LeDoux, 2000; Alberini, 2011).



**Figura 1. O processo de formação, reconsolidação e extinção da memória aversiva.** Imediatamente após uma experiência emocionalmente relevante, a memória adquirida passa por um processo gradual de consolidação. Após a evocação, a exposição ao estímulo condicionado breve induz a reativação ou desestabilização da memória. Isto é, o traço de memória estável torna-se novamente lábil e, assim, seu conteúdo emocional é modificável até que a etapa de reconsolidação termine. Já a exposição por um período prolongado ou repetido de evocação da memória desencadeia o processo de extinção, levando à formação de um novo traço de memória que compete e inibe a memória aversiva original, reduzindo as respostas de medo. FONTE: Traduzido de Raymundi *et al.*, 2020.

### 1.3 MODELOS NÃO-CLÍNICOS PARA ESTUDO DA MEMÓRIA DE MEDO E ANSIEDADE

#### 1.3.1 Condicionamento de medo ao contexto

O condicionamento Pavloviano ou clássico é a forma mais utilizada para estudar a memória de medo. Esse paradigma se utiliza de dois estímulos. O estímulo incondicionado (EI) é um estímulo naturalmente aversivo, como um choque elétrico. A exposição ao EI produz uma resposta incondicionada (RI). Quando o EI é apresentado juntamente a um estímulo originalmente neutro, como um contexto ou um tom, o estímulo neutro passa a gerar uma resposta semelhante ao EI. O estímulo neutro após ser associado com o EI, passa a ser chamado de estímulo condicionado (EC). A exposição apenas ao EC promove uma resposta chamada de resposta condicionada (RC). Baseando-se nesse modelo de condicionamento, o condicionamento de medo ao contexto (CMC) é um protocolo utilizado para estudar a memória de medo em animais. A priori, um animal, usualmente um roedor, é exposto a um EI, como uma série de choques elétricos nos membros. A RI dos animais é comumente observada como um comportamento de congelamento que consiste em um estado de imobilidade, com exceção dos movimentos relacionados à respiração. O EC neste caso é o contexto. De maneira que quando o animal é exposto apenas ao contexto, ele expressará um comportamento de congelamento (RC) (Maren, 2001; Bear; Connors; Paradiso, 2017).

#### 1.3.2 Labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado (LCE) é um dos modelos mais utilizados para avaliação do comportamento relacionado à ansiedade. A princípio, Montgomery (1955) notou que a utilização de um labirinto em formato de “Y” poderia incitar

comportamentos exploratórios e de medo em roedores. Posteriormente, o labirinto foi modificado para um formato em “X” formado de dois braços abertos e dois braços fechados elevados em relação ao solo. Onde o tempo gasto nos braços abertos em razão dos braços fechados designaria um índice de ansiedade (Handley; Mithani, 1984; Pellow *et al.*, 1985). Durante essa tarefa, o comportamento do animal é resultado do dilema entre a tendência natural de exploração de um ambiente novo *versus* a aversão que espaços abertos e altos provocam. Drogas ansiolíticas promoverão uma maior permanência e número de entradas nos braços abertos, sem alteração da atividade locomotora (Rodgers; Cole, 1994). Uma vez que uma segunda exposição ao aparato não consistiria mais em um ambiente novo para o roedor, o conflito entre exploração-aversão não ocorreria adequadamente, o que pode mascarar a observação do efeito ansiolítico de uma droga (Lister, 1987). Esse protocolo também pode ser utilizado para a obtenção de dados relevantes sobre condições como o TEPT e outros transtornos relacionados à ansiedade (Kraeuter; Guest; Sarnyai, 2019)

#### 1.4 FITOCANABINOIDES E SEU POTENCIAL TERAPÊUTICO NO TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO

Os fitocanabinoides, um grupo diversificado de compostos derivados da *Cannabis sativa*, têm atraído interesse devido às suas potenciais implicações terapêuticas para o TEPT (Bitencourt; Takahashi, 2018). Essa planta possui mais de 100 compostos que são conhecidos como fitocanabinoides. Notadamente, os fitocanabinoides mais estudados são o  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC), que confere os efeitos psicoativos da planta, e o canabidiol (CBD), um produto não psicoativo (Adams; Hunt; Clark, 1940; Mechoulam; Shvo, 1963; Gaoni; Mechoulam, 1964).

Curiosamente, já foi visto que indivíduos com TEPT são mais propícios a fumar a planta *Cannabis*, mas também, esses pacientes exibiram uma maior expressão de receptores canabinoides e menor nível plasmático de anandamida (AEA), um endocanabinoide, indicando uma alteração do sistema endocanabinoide (eCB) nesses indivíduos. (Hauer *et al.*, 2013; Hill *et al.*, 2013; Neumeister, 2013; Neumeister *et al.*, 2013; Loflin; Babson; Bonn-miller, 2017).

O sistema eCB é constituído pelos receptores  $CB_1$ , localizados majoritariamente no SNC, e  $CB_2$ , encontrados periféricamente e no sistema

imunológico. Além disso, o sistema possui dois principais endocanabinoides, a AEA e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), que atuam como ligantes dos receptores CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>. Duas enzimas são as principais responsáveis pela metabolização da AEA e 2-AG. A AEA é degradada pela enzima amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) e a enzima monoacilglicerol lipase (MAGL) degrada a 2-AG (Hill *et al.*, 2018; Bassir Nia; Bender; Harpaz-Rotem, 2019).

Estudos indicam que os eCBs são capazes de alterar a plasticidade sináptica e de torná-la mais persistente (Maldonado *et al.*, 2006; Di Marzo, 2009; Sidhpura; Parsons, 2011), isso implica que a ação dos eCBs pode modular processos de memória. Do ponto de vista do estudo de memórias aversivas, a ativação do receptor CB<sub>1</sub> parece prejudicar tanto a consolidação quanto a reconsolidação da memória de medo (Lin *et al.*, 2006; Kobilko; Hazvi; Dudai, 2007; de Oliveira Alvares *et al.*, 2008; Morena *et al.*, 2014). Esses resultados se alinham com crescentes evidências apontando que o sistema eCB desempenha um papel regulador na resposta ao estresse (Morena *et al.*, 2016; Hill *et al.*, 2018; Bassir Nia; Bender; Harpaz-Rotem, 2019).

Ao que tange o THC, alguns trabalhos exploraram os efeitos da administração desse fitocanabinoide na memória de medo. Esses estudos, no entanto, são em sua maioria trabalhos pré-clínicos com roedores, focados na reconsolidação e extinção da memória aversiva. Em relação a reconsolidação, a priori, foi visto que o THC (0.3-10 mg/kg, i.p.) prejudicou a reconsolidação da memória em ratos machos (Stern *et al.*, 2015). Posteriormente, Raymundi *et al.* (2023) demonstrou que mesmo o pré-tratamento com uma dose ultrabaixa de THC (0.002 mg/kg, i.p.) antes da evocação da memória também prejudicava a reconsolidação da memória de medo. Já em relação ao processo de extinção, Raymundi *et al.* (2020b) retrata em sua revisão que o THC pode facilitar a extinção da memória de medo. Em estudos clínicos, a administração via oral de uma dose baixa de THC (7.5 mg) facilitou a evocação da memória de extinção em indivíduos saudáveis (Rabinak *et al.*, 2013). Enquanto que estudos clínicos com pacientes com TEPT têm demonstrado que o THC também é capaz de promover mudanças em processos relacionados à memória de medo (Rabinak *et al.*, 2014; Zabik *et al.*, 2023; 2024). É notável, portanto, que o THC demonstra potencial terapêutico no tratamento da memória aversiva que deve ser confirmado com mais estudos clínicos. Indica-se que os efeitos do THC, tanto na reconsolidação quanto na extinção, são mediados pela

ativação de receptores CB<sub>1</sub> (Stern *et al.*, 2015; Raymundi *et al.*, 2020b), através da atividade de agonista parcial do THC (Pertwee, 2008).

Outro fitocanabinoide de interesse no estudo de memórias aversivas é o CBD. Lisboa e colaboradores (2024) reuniram evidências de que o CBD pode interferir em diversas fases da memória de medo, principalmente através de estudos com roedores. Em relação à aquisição da memória, informações conflituosas ainda não permitem determinar um efeito preciso do CBD nessa fase. Haja visto que tanto efeitos de aprimoramento, prejuízo e a ausência de efeitos na aquisição da memória foram citados (Norris *et al.*, 2016; Zieba *et al.*, 2019; Montoya; Uhernik; Smith, 2020; Han *et al.*, 2022). Na consolidação da memória, a administração do CBD de maneira sistêmica e no HD prejudicou a consolidação (Stern *et al.*, 2017; Raymundi *et al.*, 2020a). Ao que tange a expressão do medo, o CBD pode levar à um aumento ou diminuição da expressão conforme o protocolo de CMC e via de administração avaliadas (Resstel *et al.*, 2006; Lemos; Resstel; Guimarães, 2010; Marinho *et al.*, 2015; Jurkus *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2016; Assareh *et al.*, 2020; Gasparyan; Navarrete; Manzanares, 2021; Han *et al.*, 2022; Franzen *et al.*, 2023). Outros trabalhos reportaram que o CBD também é capaz de prejudicar a reconsolidação, seja quando administrado sistemicamente ou em estruturas intracerebrais importantes para a reconsolidação (Stern *et al.*, 2012; Bayer *et al.*, 2022; Franzen *et al.*, 2022; Han *et al.*, 2022; Franzen *et al.*, 2023). E por fim, é proposto que o CBD afeta a extinção da memória de medo (Bitencourt; Pamplona; Takahashi, 2008; Jurkus *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2016; Vila-Verde, 2019; Papagianni *et al.*, 2022; Franzen *et al.*, 2023). Do ponto de vista mecanístico, os efeitos do CBD nos vários processos da memória de medo parecem ser mediados pela ativação dos receptores CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, PPAR $\gamma$  e 5-HT<sub>1A</sub>, variando conforme a fase da memória de medo avaliada em questão (Bitencourt; Pamplona; Takahashi, 2008; Gomes *et al.*, 2012; Do Monte *et al.*, 2013; Fogaça *et al.*, 2014; Stern *et al.*, 2017; Vila-Verde, 2019; Raymundi *et al.*, 2020a; Franzen *et al.*, 2023). É importante ressaltar que alguns estudos apontam que os efeitos do CBD em certos processos da memória de medo são mediados pela ativação dos receptores CB<sub>1</sub> (Do Monte *et al.*, 2013; Stern *et al.*, 2017; Bitencourt; Pamplona; Takahashi, 2008; Vila-Verde, 2019; Raymundi *et al.*, 2020a), assim como o THC citado anteriormente, embora isto pareça contraditório, considerando que o CBD atua como antagonista/agonista inverso desses receptores. Apesar disso, se sabe que o CBD pode inibir a atividade da

enzima FAAH (De Petrocellis *et al.*, 2011), induzindo assim um aumento de AEA. Uma vez que a AEA é o principal agonista dos receptores CB<sub>1</sub>, níveis elevados de AEA respaldariam um efeito indireto do CBD (De Almeida; Devi, 2020). Em conjunto, esses resultados destacam o evidente potencial terapêutico do CBD no TEPT.

A busca por novos produtos da *Cannabis sativa* com potencial terapêutico tem fortalecido a pesquisa sobre outro fitocanabinoide, o canabigerol (CBG) (Jastrzab; Jarocka-Karpowicz; Skrzydlewska, 2022). Ele revela ser capaz de produzir uma série de efeitos, inclusive anti-inflamatórios, antibacterianos, e antifúngicos (Borrelli *et al.*, 2013; Cabrera *et al.*, 2021), além de outros que serão melhor explicados ao longo deste trabalho.

Em comparação ao THC, o CBG também é dito como agonista parcial do receptor CB<sub>1</sub>, no entanto, o CBG apresenta uma menor afinidade pelo receptor. Já foi visto que o THC apresenta um Ki de 5.1-80.3 nM (Pertwee, 2008; Rosenthaler *et al.*, 2014). Em oposição ao CBG, com um Ki correspondente a 440-1045 nM (Cascio *et al.*, 2010; Pollastro *et al.*, 2011; Rosenthaler *et al.*, 2014; Navarro *et al.*, 2018). Uma vez que um menor Ki implica em uma maior afinidade, esses dados indicam que o THC possui uma afinidade entre 5 e até mais de 200 vezes maior que o CBG em relação ao receptor CB<sub>1</sub>. Essa característica desfavorece a hipótese de um possível efeito do CBG na memória de medo por intermédio dos receptores CB<sub>1</sub> tal como o THC.

Em comparação ao CBD, embora tenha sido indicado que o CBG iniba a ação da enzima FAAH, tal inibição parece ser inferior àquela produzida pelo CBD (De Petrocellis *et al.*, 2011; De Almeida; Devi, 2020). Isto porque, o CI<sub>50</sub> do CBG foi calculado como >100 µM, em detrimento ao CBD com seu CI<sub>50</sub> de 15.2 ± 3.µM (De Petrocellis *et al.*, 2011). Como o CI<sub>50</sub> do CBG é consideravelmente maior, isso indica que é necessário 6 vezes mais CBG para alcançar o mesmo efeito inibitório que o CBD produz sobre a FAAH.

Por outro lado, estudos demonstraram que o CBG tem uma maior afinidade, de fato, pelos α<sub>2</sub>-AR e ao receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Em relação aos α<sub>2</sub>-AR, o CBG mostrou um valor de CE<sub>50</sub> de 0.2-72.8 nM, o que mostra uma faixa ampla (Cascio *et al.*, 2010). Já a afinidade pelo receptor 5-HT<sub>1A</sub> se mostrou inferior, correspondente a um CI<sub>50</sub> de 51.9 nM (Cascio *et al.*, 2010; Rock *et al.*, 2011), que está dentro do intervalo de CE<sub>50</sub> em relação aos α<sub>2</sub>-AR. Diferente dos α<sub>2</sub>-AR, que o CBG atua como agonista, em relação aos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, o CBG atua como um antagonista. Em

suma, o CBG se diferencia do CBD que é considerado um agonista indireto dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, e principalmente por apresentar afinidade pelos  $\alpha_2$ -AR, ao qual o CBD e THC não demonstraram até o momento (Nachnani; Raup-Konsavage; Vrana, 2022).

Diante dessa afinidade do CBG por esses receptores e o mecanismo de sinalização relacionado a eles, é sugerido que o CBG apresenta potencial terapêutico para algumas condições, como por exemplo, nas memórias aversivas (Cascio *et al.*, 2010; Rock *et al.*, 2011; Granja *et al.*, 2012, Nachnani; Raup-Konsavage; Vrana, 2022). No entanto, os estudos sobre a relação do CBG com a memória de medo ainda estão em estágio inicial.

## 1.5 CANABIGEROL

### 1.5.1 Características do Canabigerol

Um dos diversos componentes da *Cannabis sativa* é o CBG, um fitocanabinoide sem efeito reforçador, formado a partir da descarboxilação do ácido canabigerólico (CBGA). Essa forma ácida, o CBGA, também é precursor comum ao CBD e ao THC (Aizpurua-Olaizol *et al.*, 2016). O CBG é considerado um dos fitocanabinoides menores que, embora tenha recebido mais atenção, ainda apresenta poucos estudos sobre suas atividades no sistema nervoso central (SNC) (Stone *et al.*, 2020; Nachnani; Raup-Konsavage; Vrana, 2022).

É proposto que o CBG desempenha diversas atividades biológicas como anti-inflamatória (Cabrera *et al.*, 2021; Gugliandolo *et al.*, 2018), regulatória do equilíbrio redox (Giacoppo *et al.*, 2017; Gugliandolo *et al.*, 2018), antibacteriana e antifúngica (Borrelli *et al.*, 2013; Cabrera *et al.*, 2021), além de analgésica (Cascio *et al.*, 2010). Além disso, existem estudos que afirmam um efeito ansiolítico do CBG (Mendiguren *et al.*, 2023; Zagzoog *et al.*, 2020), embora haja trabalhos em conflito com essa afirmativa (O'Brien *et al.*, 2013; Zhou; Assareh; Arnold, 2022; Weerts *et al.*, 2024). Como outros derivados da *Cannabis sativa*, o CBG apresenta afinidade por uma série de receptores, atuando como agonista do  $\alpha_2$ -AR, CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, PPAR $\gamma$ , TRPA1, TRPV1, TRPV2, TRPV3 e TRPV4. E como antagonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> e TRPM8 (Cascio *et al.*, 2010; De Petrocellis *et al.*, 2011; D'Aniello *et al.*, 2019; Jastrzab; Jarocka-karpowicz; Skrzydlewska, 2022).

Deiana e colaboradores (2012) mostraram anteriormente através de um estudo com ratos e camundongos que o CBG é rapidamente absorvido no organismo, seja por via oral ou intraperitoneal (i.p.). Ele se distribui pelo organismo, incluindo o cérebro, onde alcança seu pico de concentração entre 60-120 minutos. Curiosamente, quando a administração foi i.p. ainda foi possível detectar níveis de CBG no cérebro mesmo após 24 horas. Por essa via, a meia vida de eliminação no cérebro foi de 447 minutos. O CBG é metabolizado nas células hepáticas, passando principalmente por processos de hidroxilação e epoxidação (Harvey; Brown, 1990; Roy *et al.*, 2022; Havlasek *et al.*, 2023). Evidências apontam que o CBG tem afinidade por várias enzimas do citocromo P450 (CYP-1A3, 1A7, 1A8, 1A9, 2B4, 2B7, 2B17, 2C8, 2C9, 2D6, 2J2, 3A4) no fígado de humanos (Roy *et al.*, 2022; Havlasek *et al.*, 2023; Treyer *et al.*, 2023). Mas também, o CBG se mostrou capaz de se ligar na enzima CYP2J2 pertencente ao citocromo P450 cardíaco. E essa ligação, inclusive, foi capaz de inibir competitivamente o metabolismo da AEA (Arnold; Weigle; Das, 2018). No fígado, dois principais metabólitos são formados a partir do CBG, o ciclo-CBG e 6',7'-epóxi-CBG, que ainda são bioativos (Roy *et al.*, 2022). Além disso, evidências mostram que quando o CBG entra no organismo através do fumo da planta Cannabis, ele é eliminado na urina na sua forma conjugada (Newmeyer *et al.*, 2016). Isso ocorre, pois, o CBG passa pelo processo de glucuronidação catalisada por diversas enzimas das famílias UGT1A e UGT2B de humanos (Havlasek *et al.*, 2023).

#### 1.5.2 Canabigerol: principais achados sobre seu efeito no sistema nervoso central

Quanto ao SNC, pesquisadores não apenas focaram seus estudos no CBG, como também em derivados quinônicos análogos ao CBG como o VCE-003 e VCE-003.2. Essas quinonas atuam como agonistas do receptor PPAR $\gamma$ , produzindo efeitos interessantes contra a neuroinflamação (Granja *et al.*, 2012; Díaz-Alonso *et al.*, 2016). Alguns estudos avaliaram o papel do CBG e seus derivados quinônicos em doenças neurodegenerativas e observaram efeitos neuroprotetores promissores em modelos de Doença de Huntington (Carrillo-Salinas *et al.*, 2014; Valdeolivas *et al.*, 2015; Agualeles *et al.*, 2019; Stone *et al.*, 2020), além de mostrar um potencial terapêutico para o tratamento da esclerose múltipla (Granja *et al.*, 2012; Fleisher-Berkovich *et al.*, 2023) e da Doença de Parkinson (García *et al.*, 2018;

Burgaz *et al.*, 2019; 2021; Rodríguez-Carreiro *et al.*, 2023; Burgaz *et al.*, 2024; Ponciano *et al.*, 2024). Esses trabalhos em conjunto sugerem uma natureza neuroprotetora do CBG nessas doenças neurodegenerativas.

## 1.6 O CANABIGEROL, O SISTEMA NORADRENÉRGICO E A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO

É bem estabelecido que o sistema noradrenérgico tem uma participação significativa na memória emocional (van Stegeren, 2008). Esse sistema é formado por receptores acoplados à proteína G, classificados como  $\alpha$ - e  $\beta$ -adrenoceptores. No cérebro, são encontrados  $\beta$ -adrenoceptores do subtipo  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  (Rainbow; Parsons; Wolfe, 1984; Summers *et al.*, 1995). Os  $\beta$ -adrenoceptores se localizam majoritariamente em neurônios pós-sinápticos (Milner; Shah; Pierce, 2000; Ji *et al.*, 2008). Esses receptores são acoplados à proteína Gs, conseqüentemente, quando são estimulados ocorre a ativação da enzima adenilato ciclase. Isso levará à ativação da via AMPc-PKA-CREB. Uma via que é importante para a plasticidade sináptica (Nguyen; Woo, 2003). Além disso, a ativação dos  $\beta$ -adrenoceptores promove uma menor condutância de  $K^+$  e aumenta a excitabilidade intrínseca (Foehring; Schwindt; Crill, 1989; Mueller; Porter; Quirk, 2008; Otis; Dashew; Mueller, 2013). Já os  $\alpha$ -adrenoceptores são divididos em  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ . Os  $\alpha_1$ -adrenoceptores são classificados como  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  e  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptores. São receptores encontrados em neurônios pós-sinápticos. A estimulação desses receptores, que são acoplados à proteína Gq, ativa a enzima fosfolipase C. Conseqüentemente, produzindo segundo mensageiros, o trifosfato de inositol e o diacilglicerol (Wu *et al.*, 1992; Graham *et al.*, 1996). A atuação dos segundos mensageiros induz um aumento do  $Ca^{2+}$  intracelular que é essencial para a plasticidade sináptica (Berridge, 1998). Sabe-se também que os  $\alpha_2$ -AR podem ser classificados como  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  e  $\alpha_{2C}$ -adrenoceptores. Os  $\alpha_2$ -AR se localizam em neurônios pré- e pós-sinápticos (Aoki *et al.*, 1994). Por se acoplarem com a proteína Gi, sua ativação leva à inibição da adenilato ciclase e da via AMPc-PKA-CREB. Também a ativação da proteína Gi aumenta a condutância de  $K^+$ , gerando hiperpolarização da membrana e redução da excitabilidade intrínseca. Além disso, o receptor acoplado à proteína  $G_0$  inibe canais de cálcio controlados por voltagem (Marzo; Bai; Otani, 2009). Quando esse receptor está presente em neurônios pré-sinápticos, sua ativação inibe o influxo de  $Ca^{2+}$ , o que impede a

liberação das vesículas contendo noradrenalina, atuando assim como um autorregulador (Hirning *et al.*, 1988; Schofield, 1990).

Uma vez que interferências farmacológicas durante a reconsolidação da memória de medo pode facultar alterações duradouras no traço dessa memória, o papel do sistema noradrenérgico durante a reconsolidação tem sido alvo de interesse por parte de diversos autores. Estudos pré-clínicos, a priori, investigaram o papel dos  $\beta$ -adrenoceptores na memória de medo. Foi visto que a administração de um antagonista dos  $\beta$ -adrenoceptores, o propranolol, prejudicou o comportamento de congelamento dos animais quando testados no contexto pareado no dia seguinte (Debiec; Ledoux, 2004; Abrari *et al.*, 2008; Muravieva; Alberini, 2010). Isto implica que o propranolol prejudicou a reconsolidação da memória de medo. Sugerindo que o bloqueio dessa sinalização noradrenérgica prejudica a reconsolidação da memória de medo.

Posteriormente, Gazarini *et al.* (2013) demonstrou que o tratamento em ratos com um antagonista dos  $\alpha_2$ -AR, a ioimbina, potencializou a reconsolidação da memória de medo. O efeito oposto foi visto com a administração de um agonista, a clonidina, que diminuiu o congelamento dos animais no dia do teste. Notando-se, assim, um prejuízo da reconsolidação da memória de medo (Gazarini *et al.*, 2013; Gamache *et al.*, 2012).

Gazarini *et al.* (2013) observou que animais tratados com ioimbina quando pré-tratados com propranolol não mais exibiam um efeito potencializado da reconsolidação. De maneira semelhante, o pré-tratamento com prazosina, um antagonista do  $\alpha_1$ -adrenoceptor, também bloqueou os efeitos da ioimbina na reconsolidação da memória de medo. Esses resultados apontam que a estimulação do sistema noradrenérgico durante a reconsolidação potencializa esse processo e que a inibição o prejudica.

Nesse sentido, ensaios clínicos examinaram os efeitos do uso de agonistas dos  $\alpha_2$ -AR em pacientes com TEPT. De fato, a clonidina melhorou sintomas associados ao TEPT (Alao; Selvarajah; Razi, 2012; Kinzie; Leung, 1989; Kinzie; Sack; Riley, 1994; Mousavi *et al.* 2006; Porter; Bell, 1999; Wendell; Maxwell, 2015; Ziegenhorn *et al.* 2009). Entretanto, outro agonista, a guanfacina, não se mostrou eficaz (Davis *et al.*, 2008; Neylan *et al.*, 2006). Ambas as drogas são agonistas do subtipo  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor. Desse modo, criando um conflito sobre o emprego desses agonistas no tratamento do TEPT.

Esse conflito foi explorado por Saggi *et al.* (2023). Curiosamente, apesar de ambas as drogas possuírem afinidade pelo  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor, experimentos com roedores obtiveram que a clonidina, mas não a guanfacina, provocou um prejuízo na reconsolidação da memória de medo. Eles avaliaram que apenas a clonidina acarreta uma interação do receptor com o complexo cofilina-espinofilina. Isto alteraria a morfologia dos espinhos dendríticos e, por fim, prejudicaria a reconsolidação. O mesmo não foi observado com a guanfacina. Os autores ainda teorizam, após a realização de um *docking molecular*, que essa diferença de efeitos entre as drogas pode ocorrer em virtude das diferentes ligações entre drogas e receptor. Isto porque, a guanfacina ligada ao receptor forma duas pontes de hidrogênio adicionais comparando com a clonidina. Dessa maneira, drogas agonistas dos  $\alpha_2$ -ARs, especificamente  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptores, que promovam a interação do receptor com o complexo cofilina-espinofilina poderiam se configurar potenciais alvos para o tratamento do TEPT.

Valendo-se do papel do sistema noradrenérgico na reconsolidação da memória de medo e a atividade do CBG como agonista dos  $\alpha_2$ -AR, assim como a clonidina, pode-se supor que o CBG apresenta potencial para atenuar a reconsolidação da memória de medo. No entanto, estudos sobre o efeito do CBG sobre memórias aversivas ainda são escassos.

Apenas um estudo se propôs a avaliá-lo. Zhou, Assareh e Arnold (2022) trabalharam com o CBG em um protocolo de CMC, avaliando o efeito do CBG após administrações repetidas (10 ou 30 mg/kg, i.p.) e também nas fases de aquisição (1, 10 ou 30 mg/kg, i.p.), consolidação (1, 10 ou 30 mg/kg, i.p.) e reconsolidação (3, 10, 30 ou 60 mg/kg, i.p.) da memória de medo de camundongos machos. Neste trabalho, ainda foi analisado o comportamento dos animais previamente estressados e que foram tratados com CBG (10 ou 30 mg/kg, i.p.). Os autores observaram que o CBG não alterou significativamente o comportamento dos camundongos em quaisquer dos experimentos realizados. Indicando que o CBG não afeta os processos de memória avaliados no estudo ou o comportamento do tipo ansioso após um estresse prévio.

Contudo, embora o trabalho traga uma contribuição vanguardista na investigação da memória de medo com o uso do CBG, ainda permanecem lacunas relevantes. Uma delas é se esses resultados seriam os mesmos em relação a fêmeas, esse é um aspecto essencial, pois as mulheres são mais prevalentemente

acometidas com TEPT (Yehuda *et al.*, 2015). Outro questionamento tange a dose utilizada no estudo, visto que alguns fitocanabinoides podem gerar diferentes comportamentos dependente da dose (Crippa *et al.*, 2018; Salviato *et al.*, 2021). Assim, doses menores poderiam engendrar desfechos diferentes. E também, permanece desconhecido se o CBG afeta a generalização da memória de medo, processo bastante importante do ponto de vista terapêutico. Portanto, mostra-se pertinente buscar uma compreensão mais ampla do envolvimento do CBG na memória de medo, considerando o potencial terapêutico do CBG e de outros fitocanabinoides no TEPT. Nossa hipótese é que a administração de uma dose baixa de CBG (1 mg/kg) em ratos Wistar machos e fêmeas prejudicaria a reconsolidação da memória de medo e que esse efeito seria mediado pela ativação de  $\alpha_2$ -AR.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o efeito do tratamento com CBG na reconsolidação da memória de medo em ratos machos e fêmeas.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar o efeito do tratamento com CBG na reconsolidação da memória de medo ao contexto;

Avaliar efeito do tratamento com CBG no comportamento relacionado à ansiedade de animais não condicionados ao medo;

Testar o efeito do tratamento com CBG no comportamento relacionado à ansiedade de animais condicionados ao medo;

Examinar o efeito do tratamento com CBG durante a reconsolidação sobre o conteúdo de noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e seus metabólitos CPFm, HD e hipocampo ventral (HV);

Quantificar o conteúdo de NA, 5-HT e seus metabólitos no CPFm, HD e HV de grupos tratados com CBG durante a reconsolidação, após exposição ao Contexto B.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 ANIMAIS**

Foram utilizados ratos machos e fêmeas da linhagem Wistar, com cerca de 75 a 90 dias, fornecidos pelo biotério do setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram mantidos no ratário climatizado ( $22 \pm 1$  °C), organizados em grupos de 4 por caixa moradia (48 x 37,5 x 21 cm), separados por sexo e mantidos em ratários diferentes. Onde foram submetidos a um ciclo de iluminação claro/escuro de 12 h (início da fase clara às 7:00 h). Comida e água foram fornecidas livremente. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com a aprovação pela Comissão de Ética no uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da UFPR (CEUA/BL) (número de autorização 1569).

#### **3.2 DROGAS**

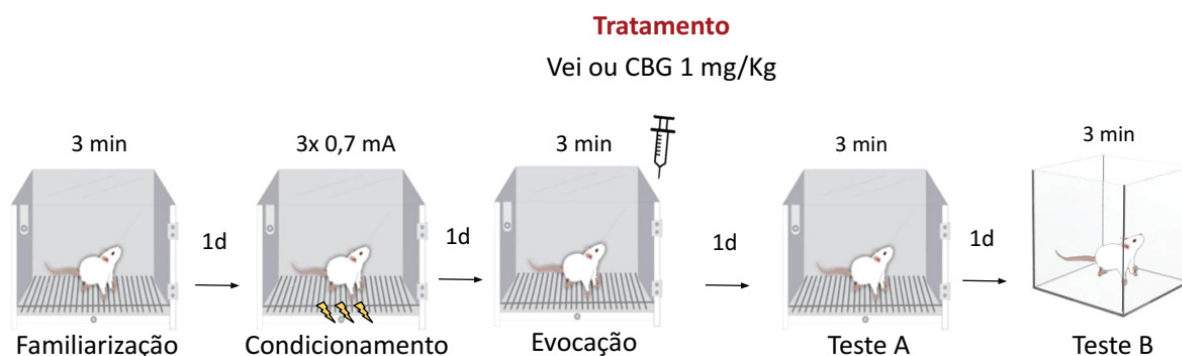
CBG (PurMed Global, USA) foi administrado na dose de 1mg/kg i.p. em um volume de 1 mL/kg (Zhou; Assareh; Arnold, 2022). O CBG foi diluído em uma solução veículo (VEI) contendo Tween 80, DMSO e NaCl 0.9% (pH = 7.4) (1:1:18).

#### **3.3 CONDICIONAMENTO DE MEDO AO CONTEXTO**

O condicionamento de medo ao contexto foi realizado no Contexto A (26 x 31.5 x 21 cm), uma caixa retangular de alumínio com a tampa superior e a parede frontal de acrílico. O assoalho de metal inoxidável estava ligado a um circuito e conectado a uma fonte geradora de choque (Insight, Brazil). Outra câmara também foi utilizada, a caixa era feita de acrílico transparente possuindo uma tampa preta. Essa câmara foi utilizada como um contexto neutro e não pareado, denominado Contexto B (33 x 34 x 26 cm).

O protocolo de condicionamento ocorreu de acordo com trabalhos já publicados (Figura 2; Stern *et al.*, 2012; Daneluz *et al.*, 2022). Na sessão de familiarização, cada animal foi alocado no Contexto A para explorá-lo por 3 minutos. No dia seguinte, cada animal foi exposto ao Contexto A, onde recebeu o EI. Esse estímulo consistiu em três choques elétricos administrados com um intervalo de 30 segundos entre choques. Cada choque apresentava uma corrente de 0.7 mA e duração de 3 segundos. Após um dia, cada animal foi reexposto ao Contexto A para uma sessão de evocação curta de 3 minutos, sem apresentação do EI, para induzir a reativação da memória. Imediatamente após, o tratamento foi administrado aleatoriamente. Para testar o efeito do tratamento, os animais no dia seguinte foram submetidos ao Contexto A (3 minutos) para o Teste A. Para avaliar a generalização da memória, um dia depois cada animal foi colocado no Contexto B (3 minutos) para o Teste B.

O comportamento de congelamento foi utilizado como índice de memória de medo e foi medido como a ausência de movimentos, com exceção dos movimentos relacionados à respiração. Esse parâmetro foi medido manualmente por um avaliador treinado e cego em relação aos tratamentos dos grupos experimentais.



**Figura 2.** Protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Cada animal foi submetido no primeiro dia a uma sessão de familiarização no Contexto A. Após 24 horas, os animais foram expostos novamente ao contexto para uma sessão de condicionamento. No terceiro dia, foi feita uma sessão de evocação curta da memória de medo no contexto condicionado e imediatamente após os animais foram tratados aleatoriamente com VEI ou CBG (1 mg/kg i.p.). Um dia depois foi avaliado o efeito do tratamento no Contexto A (Teste A). No dia seguinte foi investigado se houve generalização da memória no Contexto B (Teste B). FONTE: A autora (2025).

### 3.4 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

O aparato é composto por dois braços abertos opostos (50 x 10 x 0.6 cm) e dois braços fechados que estão dispostos em lados opostos de uma plataforma central (10 x 10 cm), sendo este aparato elevado a 50 cm do solo.

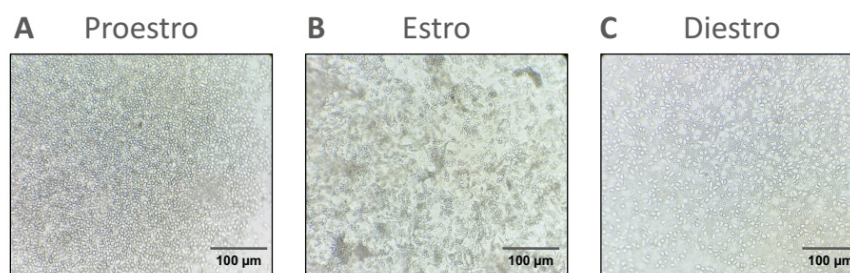
Cada animal foi colocado no aparato voltado para um braço fechado, permanecendo no aparelho por 5 minutos. O comportamento do animal foi gravado utilizando de uma câmera posicionada superiormente ao labirinto com o auxílio de um tripé. A cada animal avaliado o aparato foi devidamente limpo com álcool 20%.

Os parâmetros avaliados foram o número de avaliação de risco, o tempo gasto em cada braço e o número de entradas, que foram contados quando o animal adentrava o novo braço com os quatro membros. Essas medidas foram usadas para calcular a porcentagem de tempo de braços abertos  $\{\%TA; [(tempo\ nos\ braços\ abertos/300) \times 100]\}$  e a porcentagem de entradas nos braços abertos  $\{\%EA; [número\ de\ entradas\ de\ braços\ nos\ abertos/(número\ de\ entradas\ nos\ braços\ abertos\ +\ fechados) \times 100]\}$ .

A %TA e a %EA foram utilizadas como índices do comportamento do tipo ansioso. Já o número de entradas nos braços fechados (EF) foi utilizado como um índice da atividade locomotora. O número de avaliação de risco (AR) foi tratado como um índice de comportamento de evitação e foi contabilizado a cada vez que o animal projetou seu corpo em direção a um braço aberto com sua cabeça e pelo menos uma pata, mas depois disso retornou à sua posição inicial (Carobrez e Bertoglio, 2005; Salemme *et al.*, 2024). Os parâmetros foram avaliados manualmente por um examinador treinado, que desconhecia a distribuição dos tratamentos entre os grupos experimentais.

### 3.5 AVALIAÇÃO DO CICLO ESTRAL

O ciclo estral de ratas foi avaliado através da secreção vaginal coletada por meio de uma micropipeta, contendo 50 µl de solução salina, inserindo-a parcialmente na vagina da fêmea. A secreção foi aplicada em uma lâmina de vidro. Cada lâmina foi visualizada utilizando um microscópio óptico e a fase do ciclo foi determinada entre proestro, estro e diestro (Figura 3; Marcondes; Bianchi; Tanno, 2002; Salemme *et al.*, 2022). A avaliação foi feita conforme o desenho experimental.



**Figura 3.** Esfregaço vaginal de ratas nas diferentes fases do ciclo estral. Fotografias da secreção de lavado vaginal de fêmeas. A) Esfregaço do proestro consistindo predominantemente de células epiteliais nucleadas. B) Esfregaço do estro consistindo predominantemente de células cornificadas anucleadas. C) Esfregaço do diestro consistindo predominantemente de leucócitos.

### 3.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)

As concentrações de NA, 3,5-di-hidroxifenilglicina (DHPG), 5-HT e ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) foram quantificadas de amostras do CPFm, HD e HV, utilizando o HPLC de fase reversa com detecção eletroquímica.

Para isso, animais foram eutanasiados por decapitação, e as amostras obtidas foram imediatamente congeladas em gelo seco, sendo armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento do processamento. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas utilizando um sonicador de células ultrassônico (Sonics) em ácido perclórico 0,1 M contendo metabissulfito de sódio 0,02% e padrão interno de di-hidroxibenzilamina (1,0  $\mu\text{L}/\mu\text{g}$  de tecido cerebral). Após isso, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 25 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, foram utilizados 20  $\mu\text{L}$  desta solução para injeção no cromatógrafo. A fase móvel (pH 4.0) foi composta de 20 g de ácido cítrico monoidratado (Merck, EUA), 200 mg de ácido octano-1-sulfônico (Merck, EUA), 40 mg de ácido etilenediaminotetracético (EDTA; Sigma, EUA) e 900 mL de água deionizada e filtrada através de um filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, foi adicionado metanol (Merck) para uma composição final de 10% de metanol (v/v).

O sistema consistiu de uma coluna de fase reversa Synergi Fusion-RPC-18 (150  $\times$  4,6 mm, tamanho de partícula de 4  $\mu\text{m}$ ) equipada com uma pré-coluna de 4,0  $\times$  3,0 mm (SecurityGuard Cartridges Fusion-RP); um detector electroquímico (detector electroquímico ESA Coulochem III) equipado com uma célula de guarda (ESA 5020), com o eletrodo regulado para 350 mV e uma célula analítica com eletrodo duplo (ESA 5011 A); e uma bomba LC-20AT (Shimadzu, EUA) equipada

com injetor manual Rheodyne 7725 com loop de 20  $\mu$ L. A coluna foi mantida em um forno com temperatura controlada (25 °C). A célula analítica possui duas câmaras em série: cada câmara inclui um eletrodo colorimétrico de grafite poroso, um contra-eletrodo duplo e um eletrodo duplo de referência. Os potenciais de oxidação foram ajustados em 100 mV para o primeiro eletrodo e em 450 mV para o segundo eletrodo. As áreas de pico dos padrões externos foram utilizadas para quantificar os picos da amostra.

Os dados foram expressos em ng/g de tecido. O turnover de NA e 5-HT foram calculados através da razão do metabólito pelo seu neurotransmissor, isto é, a razão de DHPG/NA e 5-HIAA/5-HT, respectivamente (Salviato *et al.*, 2021).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Quando a normalidade foi confirmada, foram realizados Testes T, de análise de variância (ANOVA) de uma via, de duas vias ou de medidas repetidas. Quando necessário, foi adotado o teste não-paramétrico correspondente. O nível de significância adotado foi de  $p < 0.05$ . O teste de Duncan foi o teste de *post hoc* utilizado para comparações. O tamanho dos grupos experimentais foi definido através do G-Power (HHU: Universität Düsseldorf, Alemanha). Foram adotados para as análises os parâmetros de  $\alpha = 0.05$ ,  $\beta = 0.20$  e  $\eta^2 = 0.14$  ou  $d = 1.6$  (Stern *et al.*, 2017; Raymundi *et al.*, 2020a; Cardoso *et al.*, 2025). O valor de eta-quadrado parcial ( $\eta^2$ ) e  $d$  de Cohen ( $d$ ) foram calculados para avaliar o tamanho do efeito para ANOVA e Testes T, respectivamente. Para as análises por HPLC, foram utilizados animais 5-7 por grupo para a ANOVA de duas vias. Nos experimentos comportamentais foram adotados 6-10 animais por grupo para Testes T, 6-10 animais por grupo para a ANOVA de uma via, 10 animais por grupo para a ANOVA de duas vias e 10-11 animais por grupo para a ANOVA de medidas repetidas. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  o erro padrão da média (E.P.M.), onde os valores foram representados individualmente. O Software Statistic12 (StatSoft, USA) foi utilizado para as análises estatísticas e o GraphPad Prism 8 (GraphPad Prism, USA) foi usado para a construção dos gráficos.

### 3.8 ETAPAS EXPERIMENTAIS

#### 3.8.1 Experimento 1: Avaliação do efeito tratamento com CBG durante a reconsolidação da memória de medo

Ratos machos e fêmeas condicionados foram submetidos a uma sessão curta de evocação no Contexto A. Imediatamente após, grupos independentes foram tratados aleatoriamente com VEI (n = 10-11 por grupo) ou CBG (1 mg/kg, i.p.; n = 10-11 por grupo). A avaliação do ciclo estral foi feita logo em seguida da administração. Para testar o efeito do tratamento, o teste A foi realizado no Contexto A no dia seguinte. Após 1 dia, os animais foram expostos ao Contexto B não pareado para avaliar se houve generalização da memória através do Teste B (Figura 4A).

#### 3.8.2 Experimento 2: Avaliação do efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e atividade locomotora de animais não condicionados

Grupos independentes de ratos machos e fêmeas receberam VEI (n = 10 por grupo) ou CBG (1 mg/kg, i.p.; n = 10 por grupo). Após 1 hora da administração, cada animal foi submetido ao teste do LCE (Figura 5A). Após o teste foi feita a avaliação do ciclo estral.

#### 3.8.3 Experimento 3: Avaliação do efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e atividade locomotora de animais condicionados ao medo

Ratos machos e fêmeas condicionados passaram pela sessão de evocação no Contexto A. Os animais foram aleatoriamente tratados com VEI (n = 6 por grupo) ou CBG (1 mg/kg, i.p.; n = 6-9 por grupo) e logo após foi feita a análise do ciclo estral de fêmeas. No dia seguinte foram submetidos ao Teste A e após 1 dia foi feito o Teste B. Cerca de 5 minutos depois do Teste B, cada animal foi alocado no LCE para a realização do teste (Figura 6A).

### 3.8.4 Experimento 4: Avaliação do efeito do tratamento com CBG durante a reconsolidação sobre o conteúdo de neurotransmissores

Ratos machos e fêmeas condicionados foram submetidos a uma sessão curta de evocação no Contexto A. Imediatamente após, grupos independentes foram tratados aleatoriamente com VEI (n = 5-6 por grupo) ou CBG (1 mg/kg, i.p.; n = 5-6 por grupo). Em seguida, foi feita a avaliação do ciclo estral. Para realizar a análise neuroquímica do CPFm, HD e HV, amostras desses tecidos foram coletadas duas horas após o tratamento. Os animais foram sacrificados por decapitação. As amostras coletadas foram rapidamente congeladas em gelo seco e mantidas em uma temperatura de -80 °C para posterior processamento e quantificação utilizando o HPLC (Figura 8A).

### 3.8.5 Experimento 5: Avaliação do efeito do tratamento com CBG sobre o conteúdo de neurotransmissores após exposição ao Contexto B

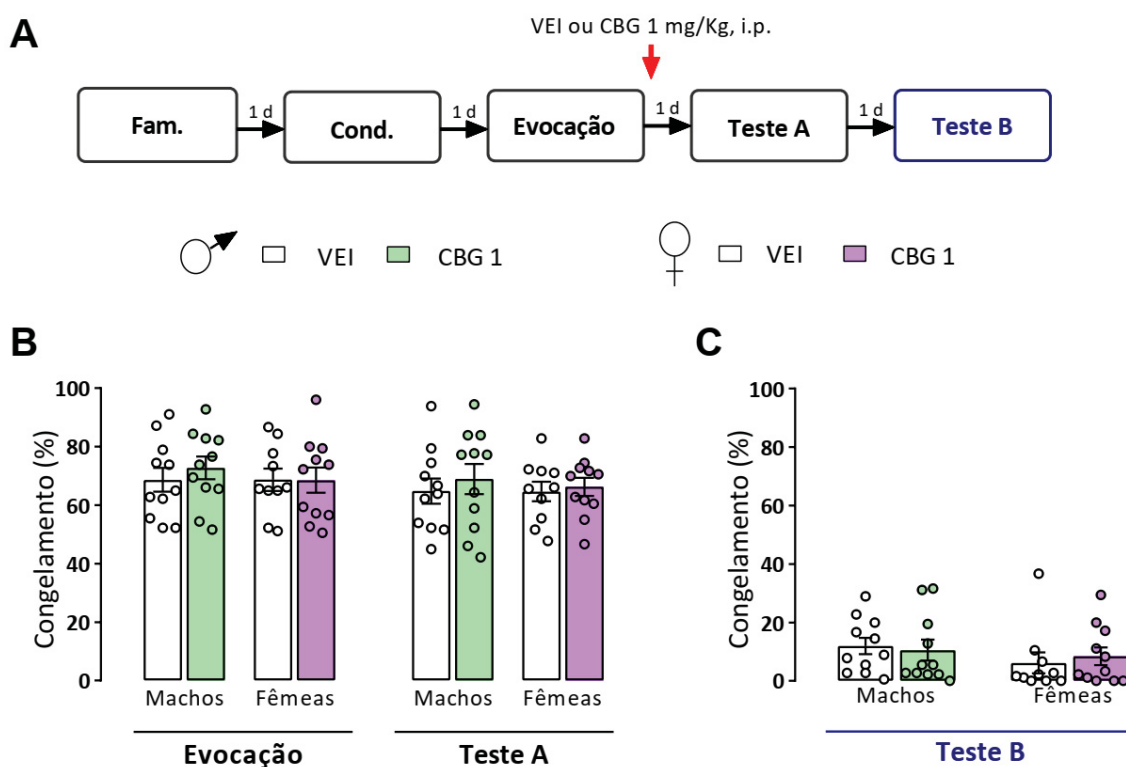
Ratos machos e fêmeas condicionados foram submetidos a uma sessão curta de evocação no Contexto A. Imediatamente após, grupos independentes foram aleatoriamente tratados com VEI (n = 6-7 por grupo) ou CBG (1 mg/kg, i.p.; n = 6-7 por grupo). Logo após, a avaliação do ciclo estral foi realizada. No dia seguinte, o teste A foi realizado no Contexto A. Após 1 dia, os animais passaram pelo Teste B no Contexto B. Para realizar a análise neuroquímica do CPFm, HD e HV, amostras desses tecidos foram coletadas imediatamente após o Teste B. Os animais foram sacrificados por decapitação. As amostras coletadas foram rapidamente congeladas em gelo seco e mantidas em uma temperatura de -80 °C para posterior processamento e quantificação utilizando o HPLC (Figura 9A).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 O TRATAMENTO COM CBG DURANTE A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO NÃO AFETA A RECONSOLIDAÇÃO E A GENERALIZAÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO

A ANOVA de medidas repetidas não mostrou interação significativa entre o sexo, tratamento e a re-exposição ao Contexto A [ $F_{(1,39)} = 0.047$ ,  $p = 0.829$ ,  $\eta^2 = 0.001$ ]. Todos os grupos apresentaram tempos de congelamento similares durante a evocação e o Teste A (Figura 4B), indicando que a administração de CBG não afeta a reconsolidação da memória de medo.

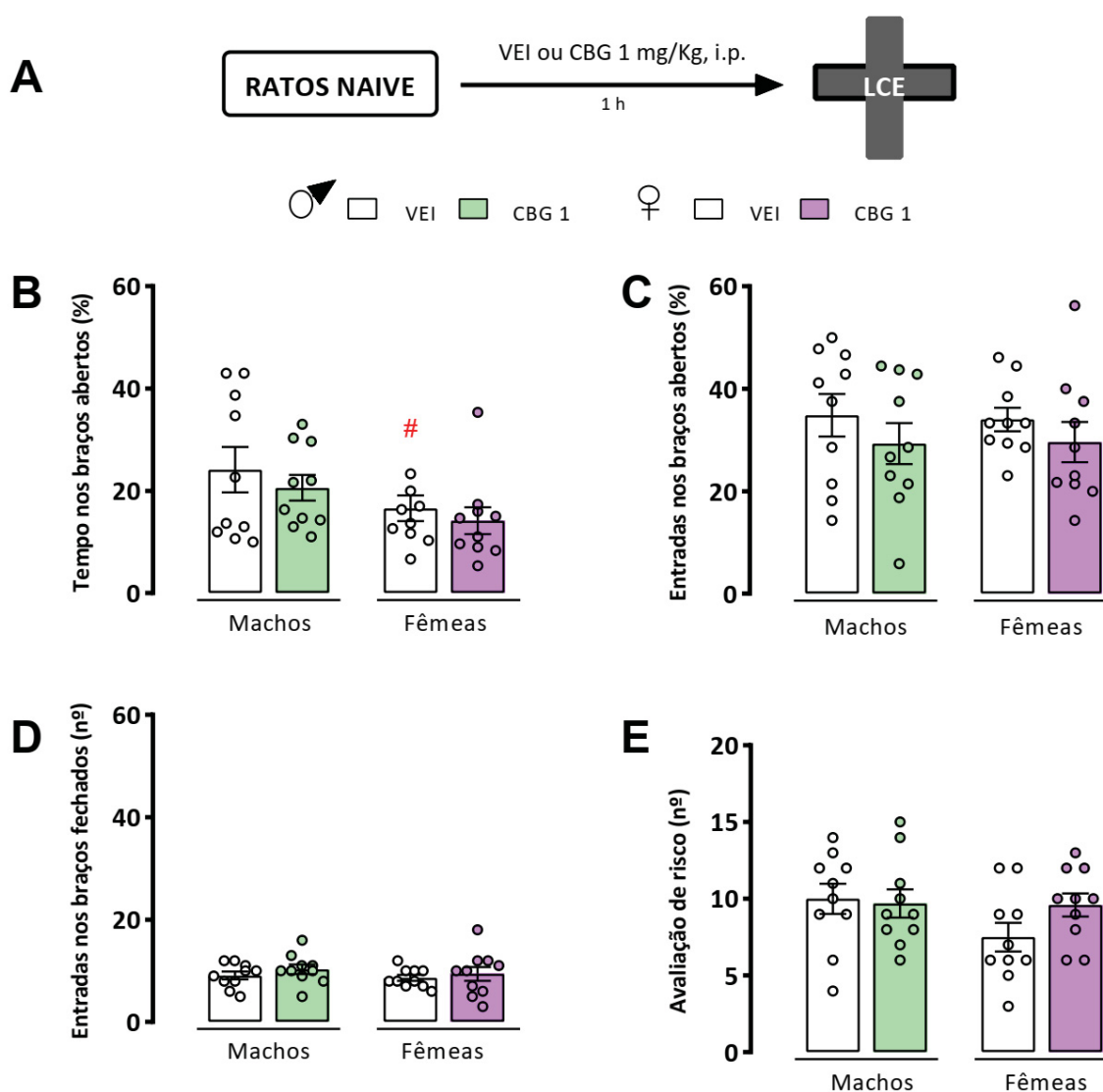
A ANOVA de duas vias não revelou interação significativa entre o tratamento e o sexo no Teste B [ $F_{(1,39)} = 0.699$ ,  $p = 0.408$ ,  $\eta^2 = 0.018$ ]. O tratamento com CBG não alterou o congelamento dos animais machos e fêmeas durante o Teste B (Figura 4C), indicando que o CBG não induz generalização.



**Figura 4.** Efeito do tratamento com CBG durante a reconsolidação da memória de medo. A) Ratos machos e fêmeas condicionados foram tratados com VEI ou CBG (1 mg/kg, i.p.) imediatamente após a sessão de evocação. O efeito do tratamento foi avaliado no dia seguinte durante o Teste A. Para investigar se houve generalização da memória, os animais passaram pelo Teste B um dia após o Teste A. B) Porcentagem de congelamento durante a sessão de evocação e o Teste A. C) Porcentagem de congelamento durante o Teste B. ANOVA de duas vias. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM com valores individuais.  $n = 10-11$  por grupo.

## 4.2 O TRATAMENTO COM CBG NÃO AFETOU O COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO OU A ATIVIDADE LOCOMOTORA DE RATOS NÃO CONDICIONADOS AO MEDO

A ANOVA de duas vias não demonstrou interação significativa entre o tratamento e o sexo nos parâmetros de %TA [ $F_{(1,36)} = 0.76948$ ,  $p = 0.38619$ ,  $\eta^2 = 0.021$ ], %EA [ $F_{(1,36)} = 0.012$ ,  $p = 0.915$ ,  $\eta^2 = 0.001$ ], EF [ $F_{(1,36)} = 0.107$ ,  $p = 0.745$ ,  $\eta^2 = 0.003$ ] e AR [ $F_{(1,36)} = 3.071$ ,  $p = 0.088$ ,  $\eta^2 = 0.079$ ]. No entanto, um efeito significativo do sexo foi observado na %TA [ $F_{(1,36)} = 5.4116$ ,  $p = 0.0257$ ,  $\eta^2 = 0.131$ ]. O grupo veículo de fêmeas exibiu uma menor %TA ( $p = 0.0479$ ), comparado ao grupo veículo de machos (Figura 5B), sugerindo uma influência do sexo no comportamento tipo ansioso. Ainda, esses achados sugerem que a administração de CBG (1 mg/kg, i.p.) não afetou o comportamento do tipo ansioso ou a atividade locomotora em ratos machos e fêmeas.



**Figura 5.** Efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e na atividade locomotora de ratos não condicionados ao medo. A) Grupos independentes de ratos machos e fêmeas foram tratados aleatoriamente com veículo VEI ou CBG (1 mg/kg, i.p.). Uma hora depois, cada animal foi submetido ao teste do LCE. B) Porcentagem do tempo nos braços abertos. C) Porcentagem de entradas nos braços abertos. D) Número de entradas nos braços fechados. E) Número de avaliações de risco. ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM com valores individuais. O símbolo # representa  $p < 0.05$  comparando entre grupos veículo de machos e fêmeas.  $n = 10$  por grupo.

#### 4.3 O TRATAMENTO COM CBG EM ANIMAIS CONDICIONADOS PROMOVE UM EFEITO ANSIOGÊNICO EM MACHOS E UM EFEITO ANSIOLÍTICO EM FÊMEAS

Em relação aos machos condicionados, o Teste T mostrou diferenças significativas na %TA [ $t_{(13)} = 3.221$ ,  $p = 0.007$ ,  $d = 0.308$ ], %EA [ $t_{(13)} = 2.541$ ,  $p = 0.025$ ,  $d = 0.276$ ] e AR [ $t_{(13)} = 2.386$ ,  $p = 0.033$ ,  $d = 1.152$ ]. Nenhuma diferença foi

vista no EF [ $t_{(13)} = 0.857$ ,  $p = 0.407$ ,  $d = 0.436$ ]. O tratamento com CBG aumentou a %TA, %EA e diminuiu a AR comparado ao grupo veículo (Figura 6B, C, E), sugerindo que o CBG induziu um efeito do tipo ansiolítico. Um número semelhante de EF foi visto em ambos os grupos (Figura 6D), sugerindo que o tratamento não afetou a atividade locomotora dos animais.

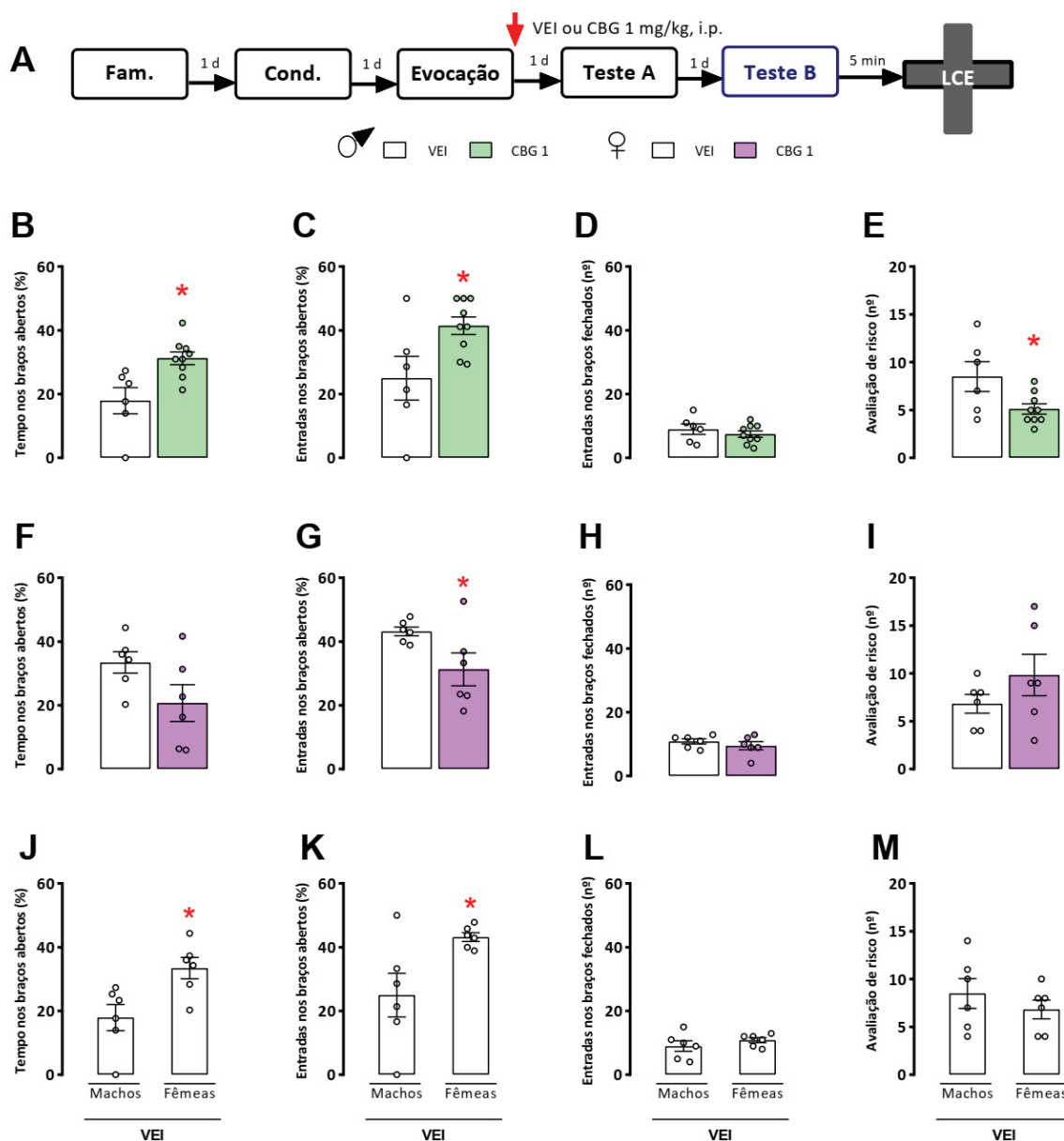
Com relação às fêmeas condicionadas, o Teste T exibiu diferença significativa na %EA [ $t_{(10)} = 2.244$ ,  $p = 0.0487$ ,  $d = 0.466$ ]. Não foi observado diferenças na %TA [ $t_{(10)} = 1.906$ ,  $p = 0.089$ ,  $d = 0.215$ ], EF [ $t_{(10)} = 0.884$ ,  $p = 0.398$ ,  $d = 0.380$ ] e AR [ $t_{(10)} = 1.261$ ,  $p = 0.236$ ,  $d = 0.728$ ]. Fêmeas tratadas com CBG demonstraram uma menor %EA (Figura 6G), sugerindo que o CBG promoveu um efeito do tipo ansiogênico. O grupo veículo e CBG mostraram um comportamento similar no EF (Figura 6H), sugerindo que a atividade locomotora não foi afetada pelo tratamento. Os grupos também mostraram um comportamento parecido sobre a %TA e AR (Figura 6F, I),

Também decidimos comparar entre grupos veículos de machos e fêmeas condicionados. Por conseguinte, o Teste T mostrou diferenças significativas na %TA [ $t_{(10)} = 2.915$ ,  $p = 0.0154$ ,  $d = 0.264$ ] e %EA [ $t_{(10)} = 2.597$ ,  $p = 0.027$ ,  $d = 0.679$ ]. Não foram observadas diferenças significativas no EF [ $t_{(10)} = 1.000$ ,  $p = 0.341$ ,  $d = 2.493$ ] e AR [ $t_{(10)} = 0.902$ ,  $p = 0.389$ ,  $d = 0.521$ ]. O grupo veículo de fêmeas exibiu uma maior %TA e %EA (Figura 6J, K), sugerindo que essas fêmeas condicionadas apresentavam um comportamento do tipo ansioso menor do que os machos. Comportamentos correspondentes foram visualizados quanto ao EF e AR (Figura 6L, M), sugerindo que o condicionamento não fomenta diferenças nesses comportamentos entre sexos.

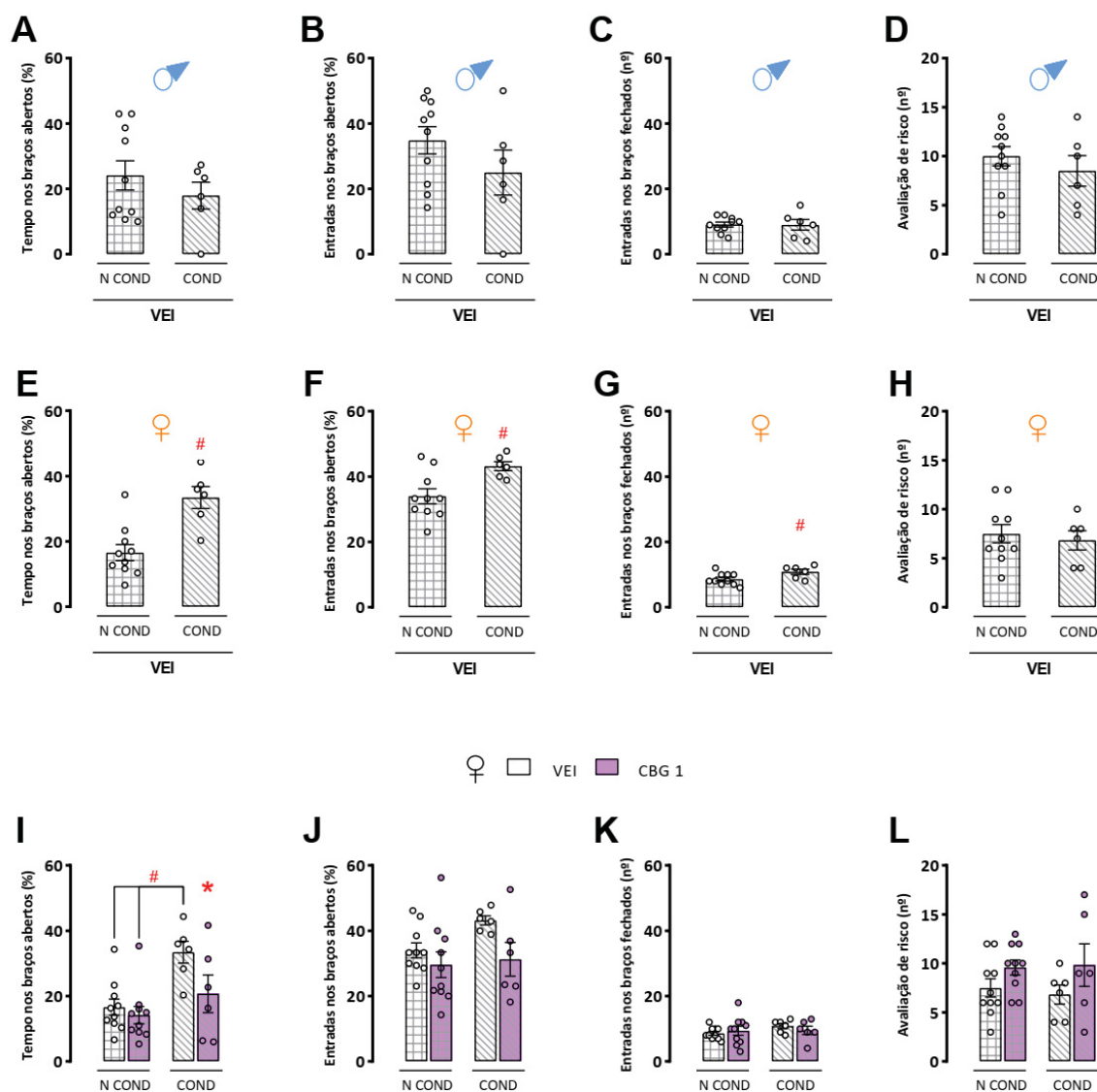
Em seguida, avaliamos se havia mudança dos comportamentos entre grupos veículos de machos não condicionados e condicionados. Não foi vista nenhuma diferença significativa na % EA [ $t_{(14)} = 1.307$ ,  $p = 0.212$ ,  $d = 0.652$ ], EF [ $t_{(14)} = 0.063$ ,  $p = 0.9508$ ,  $d = 0.030$ ] e AR [ $t_{(14)} = 0.855$ ,  $p = 0.407$ ,  $d = 0.021$ ] através do Teste T. O Teste de Mann-Whitney mostrou que não houve diferença também na %TA [ $U = 28.0$ ,  $p = 0.851$ ]. Machos não condicionados e condicionados mostraram valores comparáveis referentes à %TA, EA e AR (Figura 7A, B, D), indicando que o condicionamento não afetou tais comportamentos. O mesmo foi notado sobre o EF (Figura 7C), pressupondo que a atividade locomotora não foi afetada pelo condicionamento.

Também grupos veículos de fêmeas não condicionadas e condicionadas foram comparados. O Teste T apontou diferenças significativas na %TA [ $t_{(14)} = 4.075$ ,  $p = 0.001$ ,  $d = 0.209$ ], %EA [ $t_{(14)} = 2.913$ ,  $p = 0.011$ ,  $d = 0.163$ ] e EF [ $t_{(14)} = 2.306$ ,  $p = 0.0369$ ,  $d = 0.527$ ]. Não foi vista diferença significativa na AR [ $t_{(14)} = 0.467$ ,  $p = 0.648$ ,  $d = 0.248$ ]. Fêmeas condicionadas apresentaram maior %TA e %EA (Figura 7E, F), comparado àquelas não condicionadas. Além disso, esse grupo condicionado mostrou um maior EF (Figura 7G), apontando uma hiperlocomoção em comparação ao grupo não condicionado. E por fim, valores equivalentes de AR (Figura 7H) foram vistos no grupo não condicionado e condicionado de fêmeas.

Para explorar melhor como o tratamento com CBG afetou os comportamentos de fêmeas no LCE sejam condicionadas ou não, comparamos todos os grupos de fêmeas que foram submetidas ao LCE. A ANOVA de uma via apontou um efeito significativo do tratamento na %TA [ $F_{(1,28)} = 5.6959$ ,  $p = 0.004$ ,  $\eta^2 = 0.379$ ] e nenhuma diferença foi vista na %EA [ $F_{(1,28)} = 2.564$ ,  $p = 0.075$ ,  $\eta^2 = 0.216$ ], EF [ $F_{(1,28)} = 0.655$ ,  $p = 0.587$ ,  $\eta^2 = 0.066$ ] e AR [ $F_{(1,28)} = 1.534$ ,  $p = 0.227$ ,  $\eta^2 = 0.144$ ]. O grupo veículo de fêmeas condicionadas mostrou maior %TA tanto comparado ao veículo não condicionado ( $p = 0.003$ ), quanto ao grupo tratado com CBG que não passou pelo condicionamento ( $p = 0.001$ ) (Figura 7I). Interessantemente, o tratamento com CBG em fêmeas condicionadas foi capaz de diminuir a %TA ( $p = 0.015$ ) (Figura 7I). Diferentemente, todos os grupos apresentaram valores similares em relação a %EA, EF e AR (Figura 7J, K, L).



**Figura 6.** Efeito do tratamento com CBG no comportamento do tipo ansioso e na atividade locomotora de ratos condicionados. A) Ratos machos e fêmeas condicionados foram tratados com VEI ou CBG (1 mg/kg, i.p.) imediatamente após a sessão de evocação. Após 24h foi realizado o Teste A. No dia seguinte foi conduzido o Teste B e depois de 5 min os animais foram submetidos ao LCE. B) Porcentagem do tempo gasto nos braços abertos por animais machos. C) Porcentagem de entradas nos braços abertos realizadas pelos machos. D) Número de entradas nos braços fechados realizadas pelos machos. E) Número de avaliações de risco realizadas pelos machos. F) Porcentagem do tempo gasto nos braços abertos por fêmeas. G) Porcentagem de entradas nos braços abertos realizados pelas fêmeas. H) Número de entradas nos braços fechados realizadas pelas fêmeas. I) Número de avaliações de risco realizadas pelas fêmeas. J) Porcentagem do tempo gastos nos braços abertos de grupos de machos e fêmeas que receberam veículo. K) Porcentagem de entradas nos braços abertos realizadas por grupos de machos e fêmeas que receberam veículo. L) Número de entradas nos braços fechados realizadas por grupos de machos e fêmeas que receberam veículo. M) Número de avaliações de risco realizadas por grupos de machos e fêmeas que receberam veículo. Teste T. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM com valores individuais. O símbolo \* representa  $p < 0.05$  comparando entre grupos. n de machos = 6-9 por grupo. n de fêmeas = 6 por grupo.



**Figura 7.** Comportamento no LCE de animais não condicionados e condicionados ao medo. A) Porcentagem do tempo gasto nos braços por grupos de machos não condicionados e condicionados que receberam veículo. B) Porcentagem de entradas nos braços abertos realizadas por grupos de machos não condicionados e condicionados que receberam veículo. C) Número de entradas nos braços fechados realizadas por grupos de machos não condicionados e condicionados que receberam veículo. D) Número de avaliações de risco realizadas por grupos de machos não condicionados e condicionados que receberam veículo. E) Porcentagem do tempo gasto nos braços abertos por grupos de fêmeas não condicionadas e condicionadas que receberam veículo. F) Porcentagem de entradas nos braços abertos realizadas por grupos de fêmeas não condicionadas e condicionadas que receberam veículo. G) Número de entradas nos braços fechados realizadas por grupos de fêmeas não condicionadas e condicionadas que receberam veículo. H) Número de avaliações de risco realizadas por grupos de fêmeas não condicionadas e condicionadas que receberam veículo. I) Porcentagem do tempo gasto nos braços abertos por grupos de fêmeas não condicionadas e condicionadas. J) Porcentagem de entradas nos braços abertos realizadas pelas fêmeas não condicionadas e condicionadas. K) Número de entradas nos braços fechados realizadas pelas fêmeas não condicionadas e condicionadas. L) Número de avaliações de risco realizadas pelas fêmeas não condicionadas e condicionadas. Teste T ou Teste de Mann-Whitney. ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM com valores individuais. O símbolo \* representa  $p < 0.05$  comparando ao grupo veículo da sessão. O símbolo # representa  $p < 0.05$  comparando com grupos da outra sessão.  $n = 6-10$  por grupo.

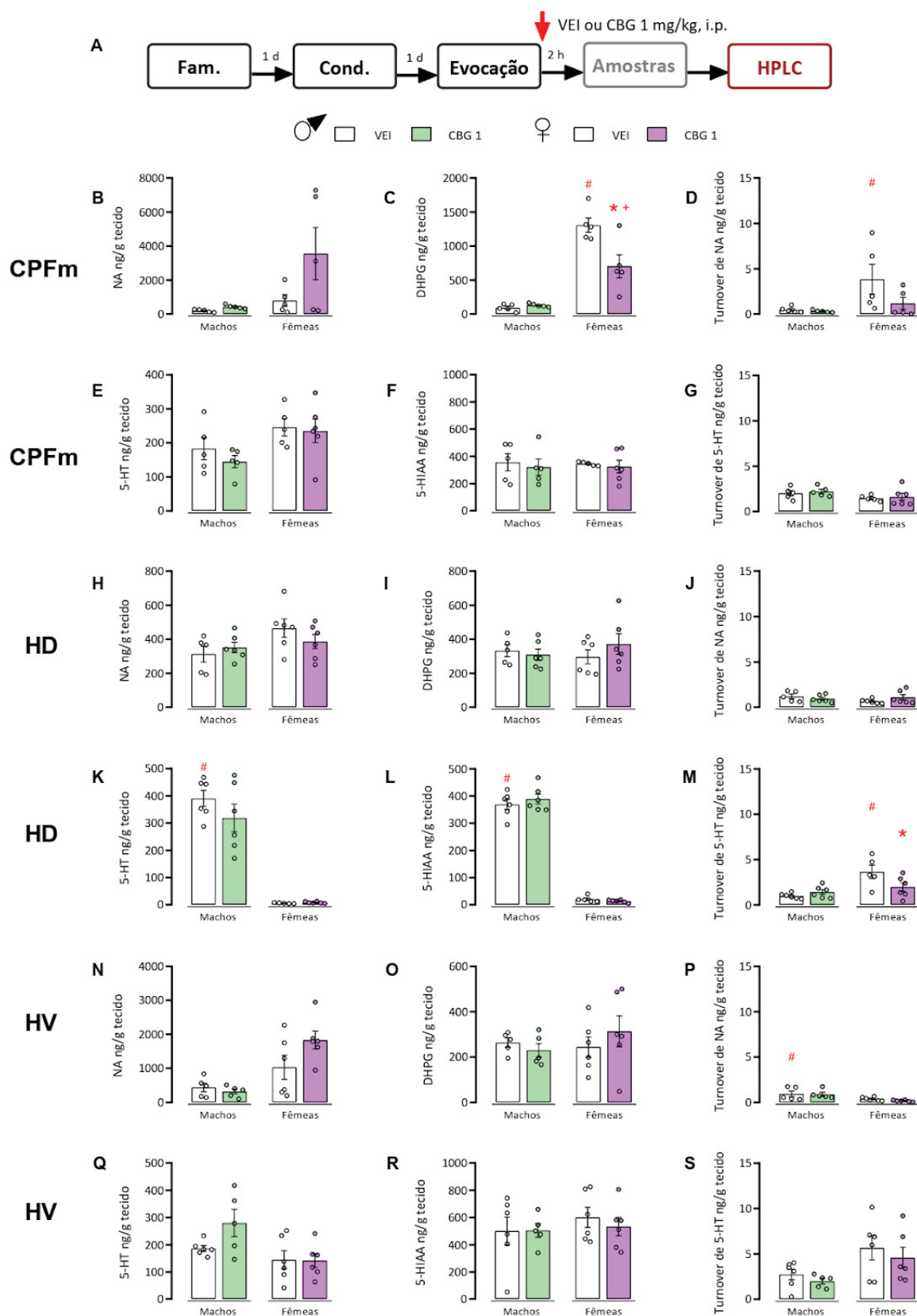
#### 4.4 O TRATAMENTO COM CBG DURANTE A RECONSOLIDAÇÃO DIMINUIU O CONTEÚDO DE DHPG NO CPF<sub>m</sub> E REDUZIU O TURNOVER DE 5-HT NO HD DE FÊMEAS

No CPF<sub>m</sub>, a ANOVA de duas vias revelou uma interação significativa entre o tratamento e o sexo no conteúdo de DHPG [ $F(1,16) = 10.137$ ;  $p = 0.006$ ;  $\eta^2 = 0.39$ ]. Além disso, um efeito significativo do sexo foi observado no conteúdo de DHPG [ $F(1,16) = 78.708$ ;  $p < 0.001$ ;  $\eta^2 = 0.831$ ] e no turnover de NA [ $F(1,16) = 5.711$ ;  $p = 0.030$ ;  $\eta^2 = 0.263$ ]. O grupo veículo de fêmeas apresentou um conteúdo de DHPG significativamente maior ( $p = 0.00006$ ) comparado ao grupo veículo de machos (Figura 8C). No entanto, o tratamento com CBG em fêmeas diminuiu significativamente o conteúdo de DHPG ( $p = 0.0008$ ) comparado ao seu grupo veículo (Figura 8C). Ainda assim, o grupo tratado de fêmeas apresentou um conteúdo de DHPG significativamente maior que o grupo tratado de machos ( $p = 0.001$ ). Esse resultado sugere uma menor degradação de NA no grupo CBG de fêmeas, mas uma maior degradação de DHPG em fêmeas comparando com os machos. Ainda, o grupo veículo de fêmeas exibiu um turnover de NA significativamente maior ( $p = 0.02$ ) do que o grupo veículo de machos (Figura 8C, D), sem alterações no conteúdo de NA (Figura 8B). Esses achados podem indicar uma maior produção ou liberação basal de NA no CPF<sub>m</sub> em ratos fêmeas do que em machos. Nenhuma interação entre fatores ou efeito significativo do sexo foram vistos em relação ao conteúdo de NA, 5-HT, 5-HIAA e Turnover de 5-HT no CPF<sub>m</sub> (Figura 8E, F, G).

No HD, a ANOVA de duas vias mostrou uma interação significativa entre o tratamento e o sexo no turnover de 5-HT [ $F(1,19) = 6.048$ ;  $p = 0.023$ ;  $\eta^2 = 0.241$ ]. Também, um efeito significativo do sexo foi observado no conteúdo de 5-HT [ $F(1,19) = 125.902$ ;  $p < 0.001$ ;  $\eta^2 = 0.869$ ], 5-HIAA [ $F(1,19) = 662.026$ ;  $p = 0.000$ ;  $\eta^2 = 0.972$ ] e no turnover de 5-HT [ $F(1,19) = 13.743$ ;  $p = 0.0001$ ;  $\eta^2 = 0.420$ ]. A administração de CBG em fêmeas reduziu significativamente o turnover de 5-HT ( $p = 0.013$ ) comparado ao grupo veículo (Figura 8G), sugerindo uma diminuição da produção ou liberação de 5-HT. O grupo veículo de fêmeas exibiu um conteúdo menor de 5-HT ( $p = 0.00006$ ) e 5-HIAA ( $p = 0.0002$ ), juntamente com um maior turnover de 5-HT ( $p = 0.0006$ ) comparado ao grupo veículo de machos (Figura 8K, L, M). Nossos resultados indicam que as fêmeas apresentam um menor conteúdo de 5-HT no HD

em relação aos machos, embora a renovação desse neurotransmissor aparece aumentada nas fêmeas. Nenhum resultado significativo quanto a interação entre fatores ou efeito do sexo foram observados sobre o conteúdo de NA, DHPG e Turnover de NA no HD (Figura 8H, I, J).

No HV, a ANOVA de duas vias mostrou um efeito significativo do sexo em relação ao turnover de NA [ $F(1,18) = 17.943$ ;  $p = 0.0005$ ;  $\eta^2 = 0.499$ ]. O grupo veículo de fêmeas apresentou um menor turnover de NA ( $p = 0.034$ ) comparado ao grupo veículo de machos (Figura 8P), sem alterações no conteúdo de NA e DHPG (Figura 8N, O). Não foi encontrado nenhum achado significativo quanto a interação entre fatores ou efeito do sexo relacionado ao conteúdo de NA, DHPG, 5-HT, 5-HIAA e Turnover de 5-HT no HV (Figura 8N, O, Q, R, S). Os resultados obtidos foram reunidos e representados visualmente na Figura 8.



**Figura 8.** Efeito do tratamento com CBG no conteúdo de neurotransmissores em ratos condicionados ao medo durante a reconsolidação da memória. A) Ratos machos e fêmeas condicionados ao medo foram tratados aleatoriamente com VEI ou CBG (1 mg/kg, i.p.) imediatamente após a evocação. Duas horas depois, os animais foram sacrificados e amostras do córtex pré-frontal medial (CPFm),

hipocampo dorsal (HD) e hipocampo ventral (HV) foram coletadas. A concentração de noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e seus metabólitos (DHPG e 5-HIAA) foram quantificados usando HPLC de fase reversa com detecção eletroquímica. B, C, D) Conteúdo de NA, DHPG e turnover de NA no CPFm. E, F, G) Conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e turnover de 5-HT no CPFm. H, I, J) Conteúdo de NA, DHPG e turnover de NA no HD. K, L, M) Conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e turnover de 5-HT no HD. N, O, P) Conteúdo de NA, DHPG e turnover de NA no HV. Q, R, S) Conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e turnover de 5-HT no HV. ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM com valores individuais. O símbolo \* representa  $p < 0.05$  comparado ao grupo veículo da sessão. O símbolo + representa  $p < 0.05$  comparado ao grupo CBG de machos. O símbolo # representa  $p < 0.05$  comparando entre grupos veículo de machos e fêmeas.  $n = 5-6$  por grupo.

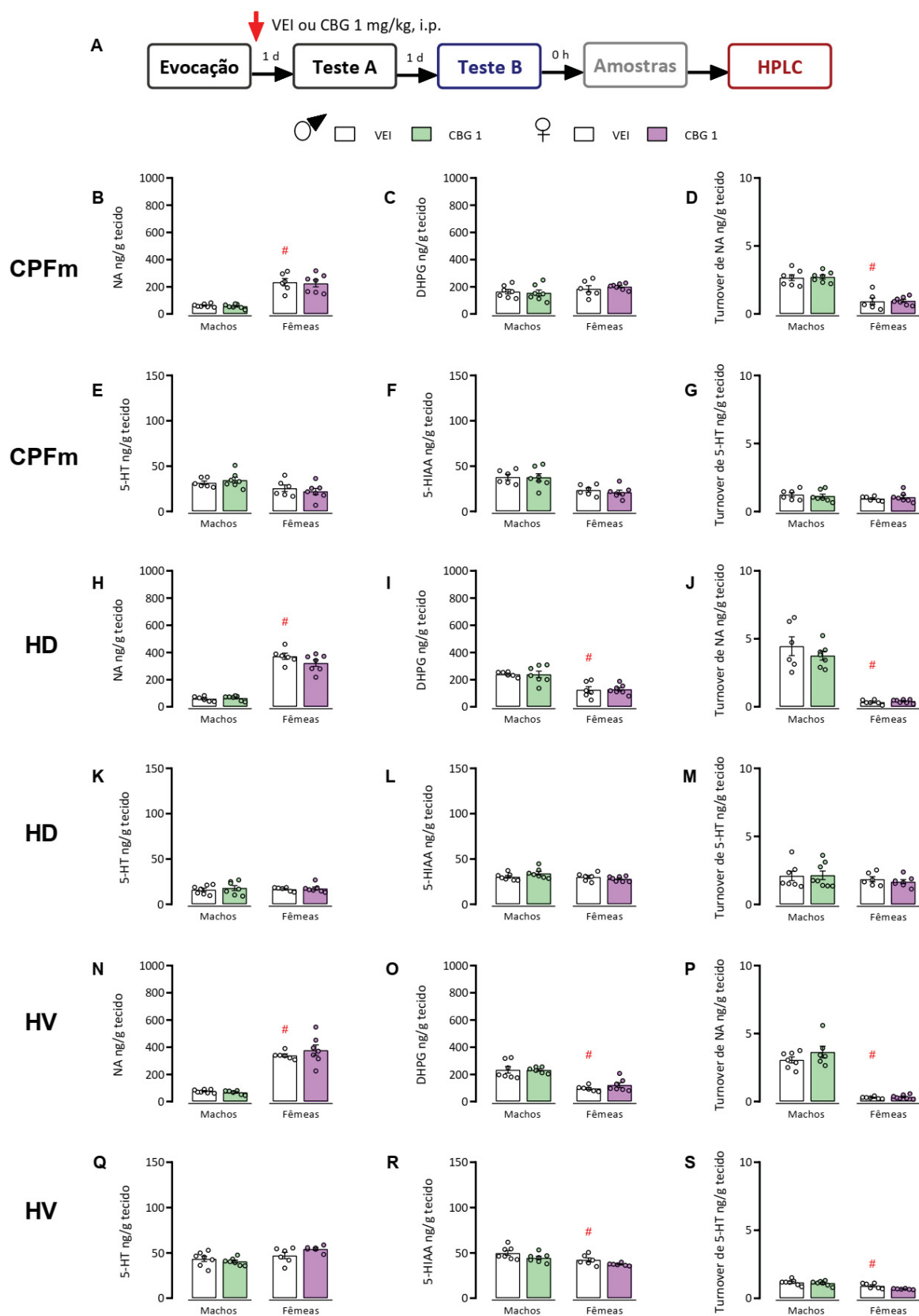
#### 4.5 O TRATAMENTO COM CBG DURANTE A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA NÃO AFETA O CONTEÚDO DE NA E 5-HT APÓS O TESTE B, PORÉM, DIFERENÇAS BASAIS ENTRE SEXOS FORAM OBSERVADAS NOS PARÂMETROS DE NA E 5-HT

No CPFm, a ANOVA de duas vias apontou um efeito significativo do sexo em relação ao conteúdo de NA [ $F_{(1,23)} = 87.021$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.791$ ] e o turnover de NA [ $F_{(1,23)} = 91.745$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.799$ ]. O grupo veículo de fêmeas apresentou um maior conteúdo de NA ( $p = 0.0001$ ) e menor Turnover de NA ( $p = 0.0001$ ), comparado ao grupo veículo de machos (Figura 9B, D). Esses resultados sugerem que as fêmeas apresentaram um maior conteúdo basal de NA no CPFm e menor liberação ou produção de NA do que os machos. Não foi observada interação entre fatores ou efeito significativo do sexo no conteúdo de DHPG, 5-HT, 5-HIAA e Turnover de 5-HT no CPFm (Figura 9C, E, F, G).

No HD, a ANOVA de duas vias mostrou um efeito significativo do sexo no conteúdo de NA [ $F_{(1,22)} = 269.89$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.925$ ], DHPG [ $F_{(1,22)} = 35.891$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.620$ ] e no turnover de NA [ $F_{(1,22)} = 105.24$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.8271$ ]. O grupo veículo de fêmeas exibiu um maior conteúdo de NA ( $p = 0.0001$ ), porém apresentou um menor conteúdo de DHPG ( $p = 0.0005$ ) e Turnover de NA ( $p = 0.0001$ ), comparado ao grupo veículo de machos (Figura 9H, I, J). Esses resultados indicam que as fêmeas apresentaram um maior conteúdo basal de NA no HD, concomitante com uma menor liberação ou produção de NA do que os machos. Nenhum efeito significativo da interação entre fatores ou do sexo foram vistos no conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e Turnover de 5-HT no HD (Figura 9K, L, M).

Já no HV, a ANOVA de duas vias indicou um efeito significativo do sexo no conteúdo de NA [ $F_{(1,22)} = 196.74$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.885$ ], DHPG [ $F_{(1,22)} = 52.77$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.706$ ], Turnover de NA [ $F_{(1,22)} = 171.709$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.886$ ],

5-HIAA [ $F_{(1,22)} = 6.138$ ,  $p = 0.0213$ ,  $\eta^2 = 0.218$ ] e no turnover de 5-HT [ $F_{(1,22)} = 25.287$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.535$ ]. Foi visto que o grupo veículo de fêmeas apresentou um maior conteúdo de NA ( $p = 0.0001$ ), mas exibiu um menor conteúdo de DHPG ( $p = 0.0001$ ) e Turnover de NA ( $p = 0.0001$ ), comparando ao grupo veículo de machos (Figura 9N, O, P). Esses dados sugerem que as fêmeas, comparado aos machos, possuíam um maior conteúdo basal de NA no HV, juntamente com uma menor liberação ou produção de NA. Também foi visto que o grupo veículo de fêmeas exibiu menor conteúdo de 5-HIAA ( $p = 0.021$ ) e Turnover de 5-HT ( $p = 0.019$ ), comparado ao grupo veículo de machos (Figura 9Q, R, S). Indicando uma menor metabolização basal de 5-HT por parte das fêmeas comparado aos machos. Não foi possível observar um efeito significativo da interação entre fatores ou do sexo no conteúdo de 5-HT no HV (Figura 9Q). Todos os resultados encontrados foram organizados visualmente na Figura 8.



**Figura 9.** Efeito do tratamento com CBG no conteúdo de neurotransmissores de ratos condicionados ao medo após o Teste B. A) Ratos machos e fêmeas condicionados ao medo foram tratados aleatoriamente com VEI ou CBG (1 mg/kg, i.p.) imediatamente após a evocação. Após 1 e 2 dias os animais foram submetidos ao Teste A e Teste B, respectivamente. Imediatamente após o Teste B, os

animais foram sacrificados e amostras do córtex pré-frontal medial (CPFm), hipocampo dorsal (HD) e hipocampo ventral (HV) foram coletadas. A concentração de noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e seus metabólitos (DHPG e 5-HIAA) foram quantificados. B, C, D) Conteúdo de NA, DHPG e turnover de NA no CPFm. E, F, G) Conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e turnover de 5-HT no CPFm. H, I, J) Conteúdo de NA, DHPG e turnover de NA no HD. K, L, M) Conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e turnover de 5-HT no HD. N, O, P) Conteúdo de NA, DHPG e turnover de NA no HV. Q, R, S) Conteúdo de 5-HT, 5-HIAA e turnover de 5-HT no HV. ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM com valores individuais. O símbolo \* representa  $p < 0.05$  comparado ao grupo veículo da sessão. O símbolo # representa  $p < 0.05$  comparando entre grupos controle de machos e fêmeas.  $n = 6-7$  por grupo.

EXPERIMENTO 4						
	NA	DHPG	TO de NA	5-HT	5-HIAA	TO de 5-HT
CPFm	-	↑	↑	-	-	-
HD	-	-	-	↓	↓	↑
HV	-	-	↓	-	-	-

EXPERIMENTO 5						
	NA	DHPG	TO de NA	5-HT	5-HIAA	TO de 5-HT
CPFm	↑	-	↓	-	-	-
HD	↑	↓	↓	-	-	-
HV	↑	↓	↓	-	↓	↓

**Figura 10.** Principais diferenças entre sexos nos parâmetros de NA e 5-HT no CPFm, HD e HV, comparando fêmeas com machos 2 horas após a administração de veículo (experimento 4) e após o Teste B (experimento 5). ↑: aumento significativo comparado ao veículo de machos; ↓: redução significativa comparado ao veículo de machos; -: nenhuma alteração significativa comparado ao veículo de machos.

## 5. DISCUSSÃO

A administração de CBG (1 mg/kg, i.p.) em ratos machos e fêmeas imediatamente após uma sessão curta de evocação não alterou o comportamento de congelamento no Teste A comparado ao grupo veículo, sugerindo, portanto, que o CBG não afeta a reconsolidação da memória de medo. Nosso resultado concorda com um estudo anterior que avaliou o efeito do tratamento com CBG na reconsolidação da memória de medo (Zhou; Assareh; Arnold, 2022). No entanto, diferentemente do nosso estudo, esse trabalho adotou as doses de 3, 10, 30 e 60 mg/kg de CBG e utilizou de camundongos, exclusivamente machos. Segundo nossa hipótese, o tratamento com uma dose mais baixa de CBG levaria a uma maior seletividade pelos  $\alpha_2$ -AR. O agonismo desses receptores pelo CBG implicaria em

uma redução da liberação de NA pelos neurônios adrenérgicos. Trabalhos de Gazarini e colaboradores (2013; 2015) têm visto que a diminuição do conteúdo de NA prejudica a reconsolidação da memória de medo. Esperávamos, portanto, uma diminuição do comportamento de congelamento durante o Teste A. No entanto, nosso resultado contraria a hipótese proposta.

Não podemos descartar, todavia, a possibilidade do CBG produzir uma resposta diferente se administrado em outro período de tempo durante a reconsolidação. É bem estabelecido que a reconsolidação da memória requer diversos mecanismos celulares e moleculares, como a ativação de cascatas de sinalização, transcrição de genes e síntese de proteínas (Nader; Einarsson, 2010; Kida, 2019). Portanto, é possível que no período de tempo avaliado, a administração do CBG não seja suficiente para interferir nessas e outras atividades de maneira a produzir mudanças no comportamento de congelamento dos animais.

Ademais, a administração de CBG não alterou o comportamento de congelamento de animais machos e fêmeas durante o Teste B. Esse resultado nos sugere que o CBG não induz à generalização da memória de medo. Esse resultado era esperado.

Estudos prévios reportaram que a estimulação noradrenérgica pela ioimbina durante a consolidação da memória de medo promove a generalização da memória. Assim como o tratamento com a ioimbina durante consolidação e posteriormente na reconsolidação geram generalização. No entanto, quando essa estimulação ocorreu apenas durante a reconsolidação da memória de medo, não foi vista uma indução da generalização (Gazarini *et al.*, 2013; 2015). Isto não quer dizer, entretanto, que a modulação do sistema noradrenérgico durante a reconsolidação não possa afetar o comportamento no contexto neutro. A priori, parece ser necessário que os animais apresentem um certo nível de congelamento, por volta de 80%, no contexto pareado para que a estimulação noradrenérgica na janela de reconsolidação leve à generalização (Gazarini *et al.*, 2013; 2015; Marin *et al.*, 2020; Gazarini *et al.*, 2022). Além disso, um protocolo de CMC de fraca intensidade pode não ser suficiente para suscitar uma resposta de generalização, requerendo, assim, a administração repetida de doses de ioimbina para o aparecimento de um efeito no Teste B (Gazarini *et al.*, 2013). Outro estudo de Gazarini *et al.* (2022) também mostrou que ao utilizar um protocolo de intensidade fraca, a administração isolada de adrenalina, corticosterona e AM251, um antagonista do receptor CB<sub>1</sub>, promoveu um

aprimoramento da reconsolidação sem afetar a generalização. No entanto, a combinação de doses subeficazes de adrenalina, corticosterona e AM251 levou à generalização da memória. Logo, elucidando que a interação sinérgica entre os sistemas noradrenérgico, glicocorticoide e endocanabinoide podem alterar o comportamento animal no contexto neutro. Tais estudos fortalecem a ideia da estimulação do sistema noradrenérgico como importante para essa resposta de medo menos específica. Tendo isso em vista, a ação do CBG como agonista dos  $\alpha_2$ -AR acarretaria em uma menor estimulação noradrenérgica, isso se configura como um efeito oposto ao causado pela ioimbina. Portanto, era estimado que o tratamento CBG não culminaria na generalização da memória de medo.

Em seguida, quando animais não condicionados foram testados no LCE, o tratamento com CBG não foi capaz de alterar o comportamento do tipo ansioso e a atividade locomotora de ratos machos e fêmeas. Efeitos distintos em relação ao tratamento com CBG sobre a ansiedade têm sido discutidos na literatura. Consistente com nossos resultados, a administração oral aguda de CBG (30-600 mg/kg, p.o.) em ratos machos e fêmeas não gerou diferença no comportamento do tipo ansioso no Teste de Resposta de Sobressalto Acústico (Weerts *et al.*, 2024). Somado a esse, quando foi feita a administração aguda de outras doses de CBG (0.1 ou 3 mg/kg, i.p.), uma baixa e uma intermediária, em camundongos machos, também não foi visto nenhum efeito no comportamento do tipo ansioso usando o Teste do Campo Aberto (Zagzoog *et al.*, 2020). Posteriormente, essa dose intermediária de CBG (3 mg/kg, i.p.) foi testada em ratos machos através do teste do LCE e, novamente, nenhuma diferença significativa foi observada em comparação ao veículo (Mendiguren *et al.*, 2023). Ainda, explorando um regime de tratamento diferente, um outro estudo se propôs a avaliar os efeitos da administração crônica de CBG (2.5 mg/kg, i.p.) em ratos machos por 14 dias, o que resultou na falta de efeitos quando os animais foram submetidos ao Teste Claro/Escuro (O'Brien *et al.*, 2013). Apenas a administração aguda de uma dose maior de CBG (10 mg/kg, i.p.), em ratos e camundongos machos, foi capaz de suscitar um efeito do tipo ansiolítico visualizado através dos Testes de Alimentação Suprimida pela Novidade, Campo Aberto e LCE (Zagzoog *et al.*, 2020; Mendiguren *et al.*, 2023). É possível que doses menores de CBG não sejam capazes de acarretar mudanças no comportamento do tipo ansioso em animais que não passaram por estresse prévio.

Ao que tange a atividade locomotora, os estudos realizados indicam que a administração de CBG (10 mg/kg, i.p.) não leva à alteração da atividade locomotora de camundongos e ratos machos (Zagzoog *et al.*, 2020; Mendiguren *et al.*, 2023), o que corrobora nossos resultados. De maneira notável, apenas a administração oral de doses maiores de CBG (300 e 600 mg/kg, p.o.) foram capazes de aumentar a atividade locomotora no Teste da Tétrade Canabinoide em ratas (Weerts *et al.*, 2024).

É importante enfatizar que, embora algumas evidências corroborem este estudo, esses trabalhos apresentam diferenças sutis em relação ao nosso. Essas diferenças consistem nas doses avaliadas, a duração do tratamento, a via de administração utilizada ou modelos experimentais utilizados para avaliar o comportamento do tipo ansioso e a atividade locomotora. Entretanto, nosso estudo é o primeiro a avaliar os efeitos agudos da administração sistêmica do CBG na dose de 1 mg/kg no comportamento do tipo ansioso e na atividade locomotora de ratos machos e fêmeas através do Teste do LCE.

Por outro lado, foi observado que as fêmeas passam menos tempo nos braços abertos do que os machos. Estudos prévios mostram resultados contrastantes em relação a diferenças sexuais na %TA no LCE. Por um lado, alguns estudos observaram um efeito contrário ao nosso, isto é, as fêmeas passaram mais tempo nos braços abertos do que os machos (Scholl *et al.*, 2019; Knight *et al.*, 2021). Todavia, outro trabalho mostrou que não havia diferenças na %TA entre machos e fêmeas (Salviato *et al.*, 2021). Essa divergência entre achados pode ser em função do ciclo estral das fêmeas. Isso porque, já foi visto que fêmeas durante a fase do diestro apresentaram uma %TA menor comparado àquelas durante o proestro (Marcondes *et al.*, 2001; Fabris *et al.*, 2022). Essa diferença, entretanto, não se manteve em um grupo de fêmeas no diestro tratadas com estradiol (Marcondes *et al.*, 2001). No nosso estudo, realizamos a avaliação do ciclo estral conforme descrito em na seção 3.5. Porém, o número de fêmeas por fase do ciclo foi desigual e insuficiente para realização de análise estatística ao que tange todos os experimentos. Logo, os dados foram agrupados sem distinção do ciclo estral. Ainda assim, ao avaliarmos a distribuição do número de fêmeas por fase, vimos que tanto o grupo veículo de fêmeas, quanto o grupo tratado apresentaram um baixo número de fêmeas no proestro (Apêndice 1). Portanto, é possível que a baixa %TA das fêmeas comparado aos machos seja influenciada por esse fator.

Os resultados anteriores mostram a ausência de efeito do CBG em animais *naïve*. Não obstante, questionamos se o tratamento com CBG na fase de reconsolidação da memória poderia modificar o comportamento do tipo ansioso dos animais quando expostos ao LCE. Por isso, submetemos nossos animais ao protocolo de CMC. Após o término do Teste B nós avaliamos a performance dos animais no LCE.

Com isso, obtivemos que machos condicionados tratados com CBG apresentaram um comportamento do tipo ansiolítico, em oposição às fêmeas que demonstraram um comportamento do tipo ansiogênico. Os estudos prévios com CBG em sua maioria avaliam seu efeito nesses comportamentos em animais que não foram submetidos a estresse prévio.

Zhou, Assareh e Arnold (2022), contudo, realizou um protocolo de CMC com camundongos que foram submetidos a sessão de condicionamento, na qual cada animal recebeu o estímulo aversivo, e após 24 h foi feito o Teste Claro/Escuro. Duas horas antes do teste os animais receberam 10 ou 30 mg/kg i.p. de CBG. Diferentemente do nosso trabalho, os autores não reportaram alteração do comportamento do tipo ansioso ou mesmo da atividade locomotora entre animais submetidos ao estresse prévio. No entanto, diferenças metodológicas em relação ao nosso trabalho devem ser consideradas. Além da diferença entre os tipos de testes para avaliação do comportamento do tipo ansioso, as doses avaliadas no estudo foram 3 e 10 vezes maiores que a nossa. Também, a diferença do estresse prévio deve ser considerada. No estudo, os animais foram tratados no dia do Teste Claro/Escuro e o teste foi feito 1 dia após o estresse. Em contrapartida, nossos animais além da sessão de condicionamento, passaram pela evocação da memória, Teste A e Teste B. No nosso caso, a administração da droga foi feita após a evocação e os animais foram testados no LCE cerca de 2 dias após o tratamento. Tendo nesse segundo dia sido expostos a um contexto neutro durante o Teste B. Desse modo, tais discrepâncias metodológicas podem favorecer desfechos distintos. Somado a isso, o estudo focou-se em camundongos e apenas machos, diferente do nosso que utilizou ratos de ambos os sexos.

Nossos achados indicam que o CBG afetou o comportamento dos animais apenas quando eles foram submetidos a um estresse prévio ao LCE. Além disso, os efeitos gerados foram díscrepantes entre machos e fêmeas, indicando que o efeito do CBG é dependente do sexo. Embora os estudos na literatura científica não

estabeleçam um efeito claro do CBG no comportamento do tipo ansioso, e especialmente em fêmeas, as evidências acerca de outros fitocannabinoides oferecem suporte para a análise crítica dos resultados alcançados.

Já foi bem documentado em revisão da literatura realizada por Simeí e colabores (2024) que a administração de CBD pode induzir mudanças no comportamento do tipo ansioso. Essas mudanças mostraram seguir uma curva dose-resposta em formato de sino e que respostas ansiolíticas são mediadas pelos receptores 5-HT<sub>1A</sub>. Curiosamente, investigações de Fogaça *et al.* (2014) e Marinho *et al.* (2015) elucidaram que a administração de CBD no córtex pré-límbico e infralímbico, acarreta um efeito ansiogênico e ansiolítico, respectivamente. A participação do receptor 5-HT<sub>1A</sub> nessas respostas também foi notada. Entretanto, quando os animais do estudo foram expostos a um estresse de retenção antes da avaliação pelo LCE, um efeito ansiolítico e nenhum efeito foram observados, respectivamente. Torna-se claro, assim, que a exposição a um estresse prévio afetou o efeito da droga e conseqüente desfecho comportamental. Logo, pode-se considerar que os efeitos do CBG têm um potencial de serem influenciados por experiências estressantes, assim como acontece com o CBD.

Ainda sobre o CBD, Salviato *et al.* (2021) verificou que ratas, sem distinção do ciclo estral, que receberam CBD na dose de 3 mg/kg i.p. performaram um comportamento ansiolítico. Por outro lado, Fabris *et al.* (2022) observou que apenas fêmeas durante o diestro apresentaram uma resposta ansiolítica como os machos. Porém, nesse caso, as doses eficazes foram de 0.3 mg/kg para fêmeas e 3 mg/kg para machos. Apenas a dose 10 vezes menor fez efeito nas fêmeas. Os autores consideram que a disparidade de doses pode ser sustentada por diferentes mecanismos de ação do CBD. Onde o efeito em machos seria mediado por receptores 5-HT<sub>1A</sub> e o efeito em fêmeas por receptores GABA<sub>A</sub>. Além disso, o envolvimento dos receptores GABA<sub>A</sub> na resposta de fêmeas estaria relacionado às diferenças hormonais durante o diestro. Todavia, mais investigações sobre o envolvimento dos receptores GABA<sub>A</sub> são necessárias.

Somado a esses dados, Salviato *et al.* (2021) mostrou que o tratamento com THC em fêmeas nas doses de 0.075 e 0.1 mg/kg promoveram um efeito do tipo ansiolítico. Em contraposição, a dose de 1 mg/kg levou a um efeito ansiogênico. Relativo aos machos, nenhuma das doses afetou o comportamento do tipo ansioso. Esses resultados revelam um efeito bifásico de doses baixas de THC visto apenas

em fêmeas e reforçam que respostas ao THC, assim como ao CBD, sofrem influências do sexo.

Do ponto de vista mecanístico, considerando os alvos aos quais o CBG tem maior afinidade, os efeitos observados podem estar relacionados ao sistema serotoninérgico e/ou noradrenérgico. O sistema serotoninérgico é bastante discutido como importante para o desenvolvimento de diversos transtornos relacionados ao estresse (Baldwin; Johnston; File, 1989; Chaouloff, 1993; Jacobsen; Medvedev; Caron, 2012). É bem descrito que o nocaute de receptores 5-HT<sub>1A</sub> em camundongos acarreta em aumento do comportamento do tipo ansioso, condicionamento ao medo e comportamento de congelamento (Connor *et al.*, 2000; Gorinski *et al.*, 2019). Inclusive, como dito anteriormente, a administração de CBD (3 mg/kg, i.p.) em machos promove efeitos ansiolíticos em virtude do agonismo indireto do fitocanabinoide por receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Simei *et al.*, 2024). Podia se esperar que o CBG atuando como antagonista moderado, promoveria um efeito ansiogênico e não um efeito ansiolítico como visto. Contudo, deve-se levar em conta que o CBD e THC podem gerar efeitos contrários de acordo com a dose utilizada (Crippa *et al.*, 2018; Salviato *et al.*, 2021). E que o efeito do CBD muda de acordo com a área cerebral ao qual é infundido (Fogaça *et al.*, 2014; Marinho *et al.*, 2015). Logo, não se descarta que o CBG promova seus efeitos nos animais condicionados por meio de uma interferência no sistema serotoninérgico. Mas também, se este for o caso, é notável que tal interferência produz comportamentos inversos entre machos e fêmeas. Faz-se crucial, portanto, avaliar se o CBG estaria promovendo seus efeitos no comportamento relacionado à ansiedade por meio do sistema serotoninérgico.

Além disso, o sistema noradrenérgico também parece desempenhar um papel nas desordens de ansiedade, uma vez que evidências indicam que sua disfunção está relacionada a essas condições (Southwick *et al.*, 1999; Sullivan *et al.*, 1999; Tanaka *et al.*, 2000). Em diversos estudos, o bloqueio dos  $\alpha_2$ -AR pela ioimbina tem produzido respostas ansiogênicas (Pellow *et al.*, 1985; Pellow, Johnston; File, 1987; Baldwin *et al.*, 1989; Johnston; File, 1989; Cole *et al.*, 1995; Redfern; Williams, 1995; Braun *et al.*, 2011). Isso significa, que a estimulação do sistema de NA, então, conduziu a um comportamento ansiogênico. Ainda, a ação da ioimbina foi impedida quando utilizada a clonidina (Charney; Heninger; Redmond, 1983; Gubits *et al.*, 1989; Johnston; File, 1989), reforçando que os níveis de NA interferem no comportamento relacionado à ansiedade. A priori, é concebível que o CBG ao atuar

sobre os  $\alpha_2$ -AR diminua a liberação de NA, atuando de maneira semelhante à clonidina. Isso promoveria um efeito ansiolítico como foi visto em machos. Ainda assim, tal hipótese não elucida o comportamento ansiogênico observado nas fêmeas. Cabe verificar se o CBG afeta o sistema noradrenérgico de animais condicionados e como isso se concretizaria em diferentes respostas relacionadas à ansiedade entre machos e fêmeas.

Outro aspecto em relação aos animais condicionados testados no LCE, foi um menor comportamento do tipo ansioso em fêmeas do grupo veículo comparadas ao grupo veículo de machos. Apesar dos animais terem passado por um estresse prévio, nossos resultados estão alinhados com a literatura (Scholl *et al.*, 2019; Knight *et al.*, 2021). No que diz respeito a diferenças entre animais dos grupos veículo não condicionados e condicionados, a análise mostrou que os animais machos exibiram comportamentos semelhantes. Por sua vez, as fêmeas condicionadas demonstraram maior %TA, EA, e EF. É possível supor que tais disparidades sejam decorrentes da exposição ao estresse prévio, porém, a escassez de estudos com fêmeas sob condições semelhantes impossibilita respaldar nossos resultados. Mas também, é plausível que a fase do ciclo estral possa justificar os resultados sobre o comportamento nos braços abertos (Marcondes *et al.*, 2001; Fabris *et al.*, 2022). A avaliação do ciclo estral de fêmeas condicionadas foi realizada (Apêndice 2) após o tratamento com VEI, que ocorreu imediatamente após a sessão de evocação, isto é, cerca de 2 dias antes do LCE. Assim, ressaltamos como limitação do nosso estudo não ter sido feita uma segunda avaliação do ciclo estral no dia do teste do LCE. Apesar disso, não é descartada a possibilidade de que no dia do LCE as fêmeas estivessem em uma fase diferente. Inclusive, que as fêmeas na fase do diestro tenham mudado para o proestro. Isto porque, o diestro tem duração aproximada de 57 horas (Lohmiller; Swing, 2006). E como citado anteriormente, fêmeas durante o proestro apresentam um comportamento do tipo ansioso inferior àquelas no diestro (Marcondes *et al.*, 2001; Fabris *et al.*, 2022). Logo, não está claro se o condicionamento e/ou a fase do ciclo estral influenciou as diferenças entre controles de fêmeas não condicionadas e condicionadas. Dessa forma, sugerimos que em futuros trabalhos a análise do ciclo estral seja feita após a administração das drogas e após o Teste do LCE.

Além disso, buscando contemplar o efeito do CBG em fêmeas por outro ponto de vista, comparamos os grupos de fêmeas *naive* e aqueles que passaram pelo

CMC. Por conseguinte, foi visto que o grupo veículo de fêmeas que foram expostos ao estresse prévio apresentou maior %TA do que animais não estressados, porém, o CBG foi capaz de diminuir a %TA. Pode-se inicialmente inferir que o CBG estaria induzindo um comportamento do tipo ansiogênico neste caso. Contudo, os resultados anteriormente discutidos sobre diferenças entre veículos de fêmeas condicionadas e não condicionadas ainda permite uma outra interpretação. Isto porque foi visto que o grupo veículo de ratas condicionadas mostrou maior %TA, %EA e EF. O aumento de EF usualmente é associado com hiperlocomoção, enquanto que a elevação da %TA e %EA com uma resposta ansiolítica. Embora à primeira vista possa parecer controverso que a exposição ao estresse cause um efeito ansiolítico, a hiperlocomoção vista pode ser interpretada como uma resposta ativa ao estresse. Trabalhos prévios têm reportado que roedores fêmeas são mais propícias a adotarem respostas ativas após estímulos estressantes (Gruene *et al.*, 2015; Lyons; Buckmaster; Schatzberg, 2018; Plas *et al.*, 2024). Conseqüentemente, esse perfil de comportamento poderia explicar uma maior locomoção e exploração dos braços abertos, sem necessariamente exprimir um estado ansiolítico. Nessa lógica, o CBG estaria diminuindo a expressão desse comportamento ativo nas fêmeas. Embora essa seja uma interpretação alternativa, não podemos descartar que as respostas ao estresse dependendo do protocolo experimental podem ser diferentes entre sexos. No entanto, faz-se necessária a adoção de outros testes que avaliem o comportamento do tipo ansioso e a atividade locomotora, como o Teste do Campo Aberto, para corroborar a compreensão do efeito do CBG em fêmeas estressadas.

Com o intuito de esclarecer se a administração de CBG promove uma alteração dos níveis de NA ou mesmo de 5-HT, foi feita a quantificação do conteúdo desses neurotransmissores e seus metabólitos. Interessantemente, o tratamento com CBG durante a janela de reconsolidação em machos e fêmeas não afetou o conteúdo de NA e 5-HT no CPFm, HD e HV. Esse resultado é concordante com o comportamento de congelamento dos animais que se mostrou inalterado no Teste A.

Em contrapartida, o tratamento com CBG resultou em mudanças sutis em outros parâmetros. Foi visto que as fêmeas tratadas tiveram uma redução significativa do conteúdo de DHPG no CPFm, assim como um menor Turnover de 5-HT no HD. Esses achados indicam que o tratamento é capaz de diminuir tanto a degradação de NA no CPFm, mas também, reduzir a renovação de 5-HT no HD.

Contudo, esses efeitos não correspondem ao esperado inicialmente e se mostraram dependente do sexo. É possível que as mudanças neuroquímicas observadas denotem uma responsividade influenciada pelo sexo. Isto pois, estudos anteriormente apontaram que roedores fêmeas podem exibir diferentes responsabilidades para componentes da planta Cannabis, como THC e CBD (Wakley; Wiley; Craft, 2014; Salviato *et al.*, 2021; Fabris *et al.*, 2022; Hernandez *et al.*, 2023). Essas modificações, todavia, não foram acompanhadas de alterações no comportamento de congelamento. Nós imaginamos que, embora o tratamento com CBG gere efeitos neuroquímicos em fêmeas, esses não foram suficientes para repercutir em mudanças no comportamento.

De outra forma, diferenças notáveis foram observadas em parâmetros de NA e 5-HT entre grupos veículo de machos e fêmeas. Nas análises de amostras do CPFm, o grupo veículo de fêmeas exibiu um maior conteúdo de DHPG e Turnover de NA comparado ao veículo de machos. Indicando que as fêmeas possuem uma maior degradação e produção/liberação basal de NA comparado aos machos. Já em relação ao HD, o grupo veículo de fêmeas apresentou um menor conteúdo de 5-HT e 5-HIAA, porém, com um maior Turnover de 5-HT. Esses dados provavelmente refletem que as fêmeas possuem um conteúdo de 5-HT no HD inferior aos machos, ao passo que a renovação desse neurotransmissor aparenta estar aumentada nas fêmeas. Esses dados se alinham com um estudo realizado em humanos que mostrou que a síntese de 5-HT no hipocampo de homens saudáveis era maior do que em mulheres saudáveis (Nishizawa *et al.*, 1997). Por fim, no HV, o grupo veículo de machos exibiu um maior Turnover de NA do que o veículo das fêmeas. O que nos sugere uma maior renovação basal de NA pelos machos em comparação às fêmeas. Quando consideradas em conjunto, essas observações sugerem diferenças basais entre ratos machos e fêmeas na dinâmica de NA e 5-HT nas áreas do CPFm, HD e HV.

Quando o conteúdo de NA e 5-HT foi avaliado após exposição ao Teste B, o tratamento com CBG não alterou o conteúdo desses neurotransmissores no CPFm, HD e HV. Esse resultado se mostra em concordância com a ausência de efeitos no Teste B. Novamente, apenas diferenças entre grupos de veículo de machos e fêmeas foram visualizadas.

Nas análises do CPFm, o grupo veículo de fêmeas mostrou um maior conteúdo de NA e um menor Turnover de NA, sem alterar o conteúdo de DHPG, em

comparação ao grupo veículo de machos. Assim, sugere-se que as fêmeas possuem um conteúdo basal de NA no CPFm superior, além de uma liberação ou produção de NA inferior em comparação aos machos. Em relação ao HD, foi visto que o grupo veículo de fêmeas exibiu um maior conteúdo de NA, contrastante com uma redução do conteúdo de DHPG e Turnover de NA comparado aos machos. Esse resultado é semelhante ao que foi visto no CPFm. Sobre o HV, os parâmetros de NA seguiram o mesmo padrão que o visto no CPFm e HD. Além disso, o menor conteúdo de 5-HIAA e Turnover de 5-HT do grupo veículo de fêmeas, em comparação aos machos, indica que as fêmeas apresentam uma metabolização basal de 5-HT menor. Os achados neste período de tempo também direcionam para diferenças basais relacionados ao sexo nos parâmetros de NA e 5-HT no CPFm, HD e HV.

É bem estabelecido que o CPFm, HD e HV são áreas que desempenham papéis importantes em processos de memória medo como a reconsolidação e generalização (Baldi; Bucherelli, 2015; Cullen *et al.*, 2015; Bian *et al.*, 2019). A avaliação dos efeitos do tratamento do CBG em dois períodos de tempo fomenta duas observações. A primeira refere-se às diferenças basais entre sexos que foram vistas nos dois períodos, porém que não foram consistentes entre os períodos. E a segunda observação diz respeito aos nossos resultados que refutam a hipótese primária de que o CBG na dose utilizada modularia os níveis de NA e alteraria o comportamento de medo.

A análise do CPFm mostrou que 2 horas após o tratamento as fêmeas apresentavam uma maior degradação e produção/liberação basal de NA comparado aos machos, enquanto que após o Teste B apresentavam um conteúdo basal de NA, com liberação/produção de NA inferior aos machos. Esses resultados denotam uma diferença de demanda funcional, no primeiro caso reflete um maior recrutamento do sistema noradrenérgico, e no segundo uma menor ativação basal desse sistema. Provavelmente, após o Teste B a NA vesiculada é mantida armazenada em sua maior parcela com menor liberação na fenda sináptica. Esses achados acompanham a natureza mais neutra que o Teste B possui.

Já ao analisar o HD, o período de 2 horas mostrou que comparado aos machos, as fêmeas apresentavam um conteúdo de 5-HT inferior e uma renovação mais pronunciada. Sem alterações na dinâmica de NA. E a análise no período de tempo após o Teste B não mostrou diferenças sexuais na dinâmica de 5-HT, mas

mostrou que as fêmeas apresentavam um maior conteúdo basal de NA, com uma menor liberação/produção de NA comparado aos machos. Esse resultado segue o mesmo padrão do CPFm. Considerados em conjunto, os achados sugerem que durante esse período da reconsolidação, as fêmeas apresentavam um sistema serotoninérgico mais dinâmico e regulado de forma diferente. Já o que foi visto em seguida no Teste B, possivelmente repercute uma menor ativação do sistema noradrenérgico por parte das fêmeas de maneira semelhante ao visto no CPFm.

E por fim sobre o HV, o período de 2 horas mostrou que a renovação basal de NA das fêmeas era menor em relação aos machos. E na avaliação após o Teste B a dinâmica do sistema noradrenérgico foi semelhante ao resultado do CPFm e HD. Ainda, a metabolização basal de 5-HT nas fêmeas se apresentava inferior. Tais achados indicam que durante esse intervalo da janela de reconsolidação há uma menor estabilidade do sistema noradrenérgico no HV de fêmeas do que em machos. E, novamente, as fêmeas apresentam uma menor ativação noradrenérgica.

No período de 2 horas após o tratamento, a maior ativação do sistema noradrenérgico no CPFm concomitante à uma menor dinâmica no HV pode sinalizar um perfil de recrutamento diferente dessas áreas durante a reconsolidação da memória de machos e fêmeas. Onde o CPFm é mais recrutado mais tardiamente nesse período de 2 horas. Ainda nesse tempo, se imagina que a dinâmica de 5-HT esteja aumentada no HD de fêmeas, refletindo uma regulação diferente da neurotransmissão serotoninérgica durante esse momento. Por outro lado, após o Teste B, as diferenças observadas na dinâmica no sistema noradrenérgico se mostraram semelhantes em todas as áreas. Em conjunto, elas podem indicar que as fêmeas apresentaram menor ativação desse sistema após o Teste B. Os períodos avaliados evidenciam as diferenças de neurotransmissão em momentos distintos do CMC.

Os dados levantam importantes questões sobre a existência de diferenças sexuais na dinâmica dos neurotransmissores, mas também nos circuitos neuronais subjacentes à memória de medo. De fato, evidências demonstram que há diferenças específicas do sexo em relação à neurotransmissão em humanos (Cosgrove *et al.*, 2007). Como também, um outro estudo com foco nas diferenças sexuais em camundongos demonstrou variações nos circuitos neuronais relativos à formação da memória de medo (Florido *et al.*, 2024). A diferença basal na neurotransmissão e em circuitos neuronais proporcionam pontos de partida diferentes para machos e

fêmeas, o que ocasiona diferentes respostas relacionadas ao TEPT, Transtorno de Ansiedade Generalizada e no Transtorno Depressivo Maior como foi revisado por Bangasser e Cuarenta (2021). Contudo, é importante ressaltar que neste estudo não foi feita a análise neuroquímica em animais *naive*, o que limita nossos resultados a animais condicionados. Além disso, a repetição desses experimentos com uma amostra maior permitiria investigar separadamente a influência hormonal no conteúdo de neurotransmissores e confirmar nosso achados.

A análise do HPLC de animais 2 horas após tratamento com CBG trouxe resultados que não aparentavam interferir na reconsolidação e na generalização da memória de medo. Entretanto, em relação ao resultado visto pelo Teste do LCE em animais condicionados ainda não foi discutido. A diminuição da degradação de NA no CPFm vista em fêmeas tratadas com CBG pode ser decorrente de uma menor atividade enzimática ou mesmo de uma menor liberação de NA, o que estaria alinhado com a atividade agonística do CBG sobre os  $\alpha_2$ -AR. Embora não tenha sido encontrada diferença estatística no conteúdo de NA dessa área, ao que tange uma interação entre o tratamento e o sexo, podemos sugerir uma tendência de aumento de NA nas fêmeas tratadas. É importante salientar que a metodologia que utilizamos para quantificação exprime o conteúdo de neurotransmissor presente tanto na fenda sináptica quanto no terminal axonal. Portanto, o conteúdo de NA não demonstrar modificações não exclui a possibilidade do neurotransmissor estar armazenado nas vesículas sinápticas. De maneira especulativa, a menor liberação de NA poderia ser responsável por frear uma resposta ativa das fêmeas ao estresse durante o LCE, como sugerido anteriormente, indicando um ajuste do comportamento. Com os nossos dados, não é claro se no período de tempo avaliado o CBG produz mudanças que alterem o comportamento do tipo ansioso de ratos machos e fêmeas condicionados. Explorar outros recortes temporais e estruturas cerebrais pertinentes à ansiedade é fortemente sugerido.

Nossos achados refutam a hipótese inicial de que o CBG promoveria um prejuízo na reconsolidação da memória de medo por intermédio da sua ação como agonista dos  $\alpha_2$ -AR, uma vez que não houve alteração tanto no comportamento de congelamento dos animais quanto no conteúdo de NA nas áreas avaliadas. Não obstante, é fundamental salientar que os efeitos do tratamento com CBG no conteúdo de neurotransmissores não haviam sido investigados na literatura até este estudo. Para nossas análises neuroquímicas, amostras de tecido foram dissecadas

2 horas após o tratamento ou imediatamente após o Teste B. O período de tempo de 2 horas recai dentro da janela de tempo teórica da reconsolidação (Nader; Schafe; LeDoux, 2000) e se alinha com a pesquisa que mostrou que o CBG atinge o pico de concentração no cérebro de roedores cerca de 60-120 min após a administração i.p. (Deiana *et al.*, 2012). No entanto, análises futuras com foco em pontos de tempo distintos podem levar a resultados diversos, já que processos relacionados à reconsolidação ainda podem estar vigentes. Além disso, investigar outras áreas do cérebro, como a amígdala e sub-regiões específicas do CPFm, como o córtex infralímbico, pré-límbico e cingulado anterior, pode contribuir para uma compreensão mais profunda e valiosa do impacto do CBG durante a reconsolidação da memória do medo.

## **6. LIMITAÇÕES**

Nosso trabalho realizou a avaliação do ciclo estral de fêmeas, contudo, não foi possível estratificar grupos baseados na fase do ciclo estral. Ressaltamos que um valor amostral maior possibilitaria confirmar se existe influência do ciclo estral no efeito do CBG nos diversos comportamentos avaliados e na neurotransmissão de NA e 5-HT. Além disso, quando investigamos o efeito do CBG no comportamento relacionado à ansiedade e a atividade locomotora em fêmeas condicionadas, a avaliação do ciclo estral foi conduzida unicamente após o tratamento. Fazer tal análise no dia do Teste do LCE elucidaria se houve uma influência hormonal nos nossos resultados. Em relação a quantificação do conteúdo de neurotransmissores no CPFm, HD e HV, sugerimos que outras áreas como a amígdala ou sub-regiões do CPFm como o córtex cingulado anterior e o pré- e infra-límbico poderiam enriquecer a compreensão do efeito do tratamento com CBG. Também é possível que a quantificação após 1 hora do tratamento, ou seja, um período mais curto, possibilitasse a visualização de modificações significativas no conteúdo de NA e 5-HT. Outra abordagem interessante seria quantificar os neurotransmissores após o Teste do LCE de animais condicionados, traçando uma relação mais clara entre comportamento e neurotransmissão. Ainda também não está claro por qual mecanismo é promovida a disparidade no comportamento do tipo ansioso de ratos machos e fêmeas condicionados ao medo. Considerar essas limitações e fornecer resoluções poderia fortalecer o entendimento sobre como o CBG interage com o

SNC e produz seus efeitos.

## **7. CONCLUSÃO**

Nosso estudo destaca que o CBG não prejudica a reconsolidação da memória de medo e não induz generalização. Também, nossos achados mostram que o CBG não altera os níveis de NA ou 5-HT, embora modifique a dinâmica do sistema noradrenérgico e serotoninérgico dependente do sexo. Além disso, o CBG não influenciou o comportamento do tipo ansioso ou a atividade locomotora de animais não condicionados. Entretanto, quando os animais passaram pelo condicionamento, machos e fêmeas mostraram comportamentos aparentemente distintos. Ademais, dentre os sistemas de neurotransmissores analisados, sugerimos a presença de importantes diferenças basais entre animais durante o CMC. Em suma, nosso trabalho pré-clínico não apoia o uso do CBG para o alívio de sintomas do TEPT. Futuros trabalhos abordando o envolvimento do CBG com a expressão de comportamentos relacionados à ansiedade e os efeitos neuroquímicos do tratamento com CBG são necessários.

## REFERÊNCIAS

- ABRARI, K. et al. Administration of corticosterone after memory reactivation disrupts subsequent retrieval of a contextual conditioned fear memory: Dependence upon training intensity. **Neurobiology of learning and memory**, v. 89, n. 2, p. 178–184, 2008.
- ADAMS, R.; HUNT, M.; CLARK, J. H. Structure of cannabidiol, a product isolated from the marijuana extract of Minnesota wild hemp. I. **Journal of the American Chemical Society**, v. 62, n. 1, p. 196–200, 1940.
- AGUARELES, J. et al. Oral administration of the cannabigerol derivative VCE-003.2 promotes subventricular zone neurogenesis and protects against mutant huntingtin-induced neurodegeneration. **Translational neurodegeneration**, v. 8, n. 1, p. 9, 2019.
- AIZPURUA-OLAIZOLA, O. et al. Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of *Cannabis sativa* Plants from Different Chemotypes. **Journal of natural products**, v. 79, n. 2, p. 324–331, 2016.
- ALAO, A.; SELVARAJAH, J.; RAZI, S. The use of clonidine in the treatment of nightmares among patients with co-morbid PTSD and traumatic brain injury. **International journal of psychiatry in medicine**, v. 44, n. 2, p. 165–169, 2012.
- ALBERINI, C. M. The role of reconsolidation and the dynamic process of long-term memory formation and storage. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 5, p. 12, 2011.
- ALBERINI, C. M.; LEDOUX, J. E. Memory reconsolidation. **Current biology: CB**, v. 23, n. 17, p. R746–R750, 2013.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5-TR**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2023.
- AOKI, C. et al. Perikaryal and synaptic localization of  $\alpha$ 2A-adrenergic receptor-like immunoreactivity. **Brain research**, v. 650, n. 2, p. 181–204, 1994.
- ARNOLD, W. R.; WEIGLE, A. T.; DAS, A. Cross-talk of cannabinoid and endocannabinoid metabolism is mediated via human cardiac CYP2J2. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 184, p. 88–99, 2018.
- ASSAREH, N. et al. Cannabidiol disrupts conditioned fear expression and cannabidiolic acid reduces trauma-induced anxiety-related behaviour in mice. **Behavioural pharmacology**, v. 31, n. 6, p. 591–596, 2020.
- BALDI, E.; BUCHERELLI, C. Brain sites involved in fear memory reconsolidation and extinction of rodents. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 53, p. 160–190, 2015.

BALDWIN, H. A.; JOHNSTON, A. L.; FILE, S. E. Antagonistic effects of caffeine and yohimbine in animal tests of anxiety. **European journal of pharmacology**, v. 159, n. 2, p. 211–215, 1989.

BANGASSER, D. A.; CUARENTA, A. Sex differences in anxiety and depression: circuits and mechanisms. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 22, n. 11, p. 674–684, 2021.

BASSIR NIA, A.; BENDER, R.; HARPAZ-ROTEM, I. Endocannabinoid system alterations in posttraumatic stress disorder: A review of developmental and accumulative effects of trauma. **Chronic stress (Thousand Oaks, Calif.)**, v. 3, 2019.

BAYER, H. et al. Medial prefrontal cortex mechanisms of cannabidiol-induced aversive memory reconsolidation impairments. **Neuropharmacology**, v. 205, n. 108913, p. 108913, 2022.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: Desvendando o sistema nervoso**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

BERGER, W. et al. Pharmacologic alternatives to antidepressants in posttraumatic stress disorder: a systematic review. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 169–180, 2009.

BERRIDGE, M. J. Neuronal calcium signaling. **Neuron**, v. 21, n. 1, p. 13–26, 1998.

BIAN, X.-L. et al. Anterior cingulate cortex to ventral hippocampus circuit mediates contextual fear generalization. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 39, n. 29, p. 5728–5739, 2019.

BITENCOURT, R. M.; PAMPLONA, F. A.; TAKAHASHI, R. N. Facilitation of contextual fear memory extinction and anti-anxiogenic effects of AM404 and cannabidiol in conditioned rats. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 12, p. 849–859, 2008.

BITENCOURT, R. M.; TAKAHASHI, R. N. Cannabidiol as a therapeutic alternative for post-traumatic stress disorder: From bench research to confirmation in human trials. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, p. 502, 2018.

BLANCHARD, R. J. et al. Chapter 1.1 Introduction to the handbook on fear and anxiety. Em: **Handbook of Anxiety and Fear**. [s.l.] Elsevier, 2008. p. 3–7.

BORRELLI, F. et al. Beneficial effect of the non-psychotropic plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. **Biochemical pharmacology**, v. 85, n. 9, p. 1306–1316, 2013.

BRAUN, A. A. et al. Comparison of the elevated plus and elevated zero mazes in treated and untreated male Sprague-Dawley rats: effects of anxiolytic and anxiogenic agents. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 97, n. 3, p. 406–415, 2011.

BURGAZ, S. et al. Development of an oral treatment with the PPAR- $\gamma$ -acting cannabinoid VCE-003.2 against the inflammation-driven neuronal deterioration in experimental Parkinson's disease. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 24, n. 15, p. 2702, 2019.

BURGAZ, S. et al. Neuroprotection with the cannabigerol quinone derivative VCE-003.2 and its analogs CBGA-Q and CBGA-Q-Salt in Parkinson's disease using 6-hydroxydopamine-lesioned mice. **Molecular and cellular neurosciences**, v. 110, n. 103583, p. 103583, 2021.

BURGAZ, S. et al. Investigation in the cannabigerol derivative VCE-003.2 as a disease-modifying agent in a mouse model of experimental synucleinopathy. **Behavioral and brain functions: BBF**, v. 20, n. 1, 2024.

CABRERA, C. L. R. et al. The anti-inflammatory effects of cannabidiol and cannabigerol alone, and in combination. **Pulmonary pharmacology & therapeutics**, v. 69, n. 102047, p. 102047, 2021.

CARDOSO, N. C. et al. Time-dependent fear memory generalization triggered by phosphodiesterase 5 inhibition during reconsolidation. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 137, n. 111274, p. 111274, 2025.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193–1205, 2005.

CARRILLO-SALINAS, F. J. et al. A cannabigerol derivative suppresses immune responses and protects mice from experimental autoimmune encephalomyelitis. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e94733, 2014.

CASAGRANDE, M. A. et al. Emotional value of fear memory and the role of the ventral hippocampus in systems consolidation. **Neuroscience**, v. 535, p. 184–193, 2023.

CASCIO, M. G. et al. Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent  $\alpha$ 2-adrenoceptor agonist and moderately potent 5HT1A receptor antagonist: Novel pharmacological actions of cannabigerol. **British journal of pharmacology**, v. 159, n. 1, p. 129–141, 2010.

CHAOULOFF, F. Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. **Brain research reviews**, v. 18, n. 1, p. 1–32, 1993.

CHARNEY, D. S.; HENINGER, G. R.; REDMOND, D. E., Jr. Yohimbine induced anxiety and increased noradrenergic function in humans: Effects of diazepam and clonidine. **Life sciences**, v. 33, n. 1, p. 19–29, 1983.

COLE, B. J. et al. Effects of benzodiazepine receptor partial inverse agonists in the elevated plus maze test of anxiety in the rat. **Psychopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 118–126, 1995.

CONNOR, T. J. et al. Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 65, n. 4, p. 591–597, 2000.

COSGROVE, K. P.; MAZURE, C. M.; STALEY, J. K. Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function, and chemistry. **Biological psychiatry**, v. 62, n. 8, p. 847–855, 2007.

CRIPPA, J. A. et al. Translational investigation of the therapeutic potential of cannabidiol (CBD): Toward a new age. **Frontiers in immunology**, v. 9, 2018.

CULLEN, P. K. et al. Activity of the anterior cingulate cortex and ventral hippocampus underlie increases in contextual fear generalization. **Neurobiology of learning and memory**, v. 124, p. 19–27, 2015.

CUSACK, K. et al. Psychological treatments for adults with posttraumatic stress disorder: A systematic review and meta-analysis. **Clinical psychology review**, v. 43, p. 128–141, 2016.

DA SILVA, T. R. et al. The role of prelimbic and anterior cingulate cortices in fear memory reconsolidation and persistence depends on the memory age. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 27, n. 8, p. 292–300, 2020.

DANELUZ, D. M. et al. Evidence on the impairing effects of Ayahuasca on fear memory reconsolidation. **Psychopharmacology**, v. 239, n. 10, p. 3325–3336, 2022.

D'ANIELLO, E. et al. Identification and characterization of phytocannabinoids as novel dual PPAR $\alpha$ / $\gamma$  agonists by a computational and in vitro experimental approach. **Biochimica et biophysica acta. General subjects**, v. 1863, n. 3, p. 586–597, 2019..

DE ALMEIDA, D. L.; DEVI, L. A. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. **Pharmacology research & perspectives**, v. 8, n. 6, 2020.

DE OLIVEIRA ALVARES, L. et al. Differential role of the hippocampal endocannabinoid system in the memory consolidation and retrieval mechanisms. **Neurobiology of learning and memory**, v. 90, n. 1, p. 1–9, 2008.

DE PETROCELLIS, L. et al. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes: Novel pharmacology of minor plant cannabinoids. **British journal of pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1479–1494, 2011.

DEBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. **Neuroscience**, v. 129, n. 2, p. 267–272, 2004.

DEIANA, S. et al. Plasma and brain pharmacokinetic profile of cannabidiol (CBD), cannabidivarin (CBDV),  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin (THCV) and cannabigerol (CBG) in rats and mice following oral and intraperitoneal administration and CBD action on

obsessive-compulsive behaviour. **Psychopharmacology**, v. 219, n. 3, p. 859–873, 2012.

DI MARZO, V. The endocannabinoid system: its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation.

**Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society**, v. 60, n. 2, p. 77–84, 2009.

DÍAZ-ALONSO, J. et al. VCE-003.2, a novel cannabigerol derivative, enhances neuronal progenitor cell survival and alleviates symptomatology in murine models of Huntington's disease. **Scientific reports**, v. 6, p. 29789, 2016.

DO MONTE, F. H. et al. Infusion of cannabidiol into infralimbic cortex facilitates fear extinction via CB1 receptors. **Behavioural brain research**, v. 250, p. 23–27, 2013.

DUDAI, Y. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? **Annual review of psychology**, v. 55, n. 1, p. 51–86, 2004.

ECHEVERRY, C. et al. A comparative in vitro study of the neuroprotective effect induced by cannabidiol, cannabigerol, and their respective acid forms: Relevance of the 5-HT<sub>1A</sub> receptors. **Neurotoxicity research**, v. 39, n. 2, p. 335–348, 2021.

FABRIS, D. et al. Sex-dependent differences in the anxiolytic-like effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 36, n. 12, p. 1371–1383, 2022.

FLORIDO, A. et al. Sex differences in neural projections of fear memory processing in mice and humans. **Science advances**, v. 10, n. 28, p. eadk3365, 2024.

FLEISHER-BERKOVICH, Sigal et al. Therapeutic potential of phytocannabinoid cannabigerol for multiple sclerosis: Modulation of microglial activation in vitro and in vivo. **Biomolecules**, v. 13, n. 2, p. 376, 2023.

FOEHRING, R. C.; SCHWINDT, P. C.; CRILL, W. E. Norepinephrine selectively reduces slow Ca<sup>2+</sup>- and Na<sup>+</sup>-mediated K<sup>+</sup> currents in cat neocortical neurons. **Journal of neurophysiology**, v. 61, n. 2, p. 245–256, 1989.

FOGAÇA, M. V. et al. Effects of intra-prelimbic prefrontal cortex injection of cannabidiol on anxiety-like behavior: Involvement of 5HT<sub>1A</sub> receptors and previous stressful experience. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 3, p. 410–419, 2014.

FRANZEN, J. M. et al. Cannabidiol impairs fear memory reconsolidation in female rats through dorsal hippocampus CB1 but not CB2 receptor interaction. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 64, p. 7–18, 2022.

FRANZEN, J. M. et al. Cannabidiol attenuates fear memory expression in female rats via hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> but not CB1 or CB2 receptors. **Neuropharmacology**, v. 223, n. 109316, p. 109316, 2023.

GAMACHE, K.; PITMAN, R. K.; NADER, K. Preclinical evaluation of reconsolidation blockade by clonidine as a potential novel treatment for posttraumatic stress disorder. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 13, p. 2789–2796, 2012.

GAONI, Y.; MECOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, n. 8, p. 1646–1647, 1964.

GARCÍA, C. et al. Benefits of VCE-003.2, a cannabigerol quinone derivative, against inflammation-driven neuronal deterioration in experimental Parkinson's disease: possible involvement of different binding sites at the PPAR $\gamma$  receptor. **Journal of neuroinflammation**, v. 15, n. 1, 2018.

GASPARYAN, A.; NAVARRETE, F.; MANZANARES, J. Cannabidiol and sertraline regulate behavioral and brain gene expression alterations in an animal model of PTSD. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, 2021.

GAZARINI, L. et al. Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting  $\alpha$ 1- and  $\beta$ -adrenergic receptors. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 20, n. 4, p. 210–219, 2013.

GAZARINI, L. et al. PTSD-like memory generated through enhanced noradrenergic activity is mitigated by a dual step pharmacological intervention targeting its reconsolidation. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 1, p. yu026-pyu026, 2015.

GAZARINI, L. et al. Interactions of noradrenergic, glucocorticoid and endocannabinoid systems intensify and generalize fear memory traces. **Neuroscience**, v. 497, p. 118–133, 2022.

GIACOPPO, S. et al. Cannabinoid CB2 receptors are involved in the protection of RAW264.7 macrophages against the oxidative stress: an in vitro study. **European journal of histochemistry: EJH**, v. 61, n. 1, p. 2749, 2017.

GISQUET-VERRIER, P.; LE DORZE, C. Post traumatic stress disorder and substance use disorder as two pathologies affecting memory reactivation: Implications for new therapeutic approaches. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 13, p. 26, 2019.

GOMES, F. V. et al. Cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis reduces the expression of contextual fear conditioning via 5-HT $_1A$  receptors. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 26, n. 1, p. 104–113, 2012.

GORINSKI, N. et al. Attenuated palmitoylation of serotonin receptor 5-HT $1A$  affects receptor function and contributes to depression-like behaviors. **Nature communications**, v. 10, n. 1, 2019.

GRAHAM, R. M. et al. alpha 1-adrenergic receptor subtypes. Molecular structure, function, and signaling: Molecular structure, function, and signaling. **Circulation research**, v. 78, n. 5, p. 737–749, 1996.

GRANJA, A. G. et al. A cannabigerol quinone alleviates neuroinflammation in a chronic model of multiple sclerosis. **Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology**, v. 7, n. 4, p. 1002–1016, 2012.

GRUENE, T. M. et al. Sexually divergent expression of active and passive conditioned fear responses in rats. **eLife**, v. 4, 2015.

GUBITS, R. M. et al. Adrenergic receptors mediate changes in c-fos mRNA levels in brain. **Brain research. Molecular brain research**, v. 6, n. 1, p. 39–45, 1989.

GUGLIANDOLO, A. et al. In vitro model of neuroinflammation: Efficacy of cannabigerol, a non-psychoactive cannabinoid. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 7, 2018.

HAN, X. et al. Comparison between cannabidiol and sertraline for the modulation of post-traumatic stress disorder-like behaviors and fear memory in mice. **Psychopharmacology**, v. 239, n. 5, p. 1605–1620, 2022.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 327, n. 1, p. 1–5, 1984.

HARVEY, D. J.; BROWN, N. K. In vitro metabolism of cannabigerol in several mammalian species. **Biological Mass Spectrometry**, v. 19, n. 9, p. 545–553, 1990.

HAUER, D. et al. Plasma concentrations of endocannabinoids and related primary fatty acid amides in patients with post-traumatic stress disorder. **PloS one**, v. 8, n. 5, p. e62741, 2013.

HAVLASEK, J. et al. Hepatic biotransformation of non-psychoactive phytocannabinoids and activity screening on cytochromes P450 and UDP-glucuronosyltransferases. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 476, n. 116654, p. 116654, 2023.

HAYES, J. P.; VANELZAKKER, M. B.; SHIN, L. M. Emotion and cognition interactions in PTSD: a review of neurocognitive and neuroimaging studies. **Frontiers in integrative neuroscience**, v. 6, 2012.

HERNANDES, P. M. et al. Sex and estrous cycle-linked differences in the effect of cannabidiol on panic-like responding in rats and mice. **Behavioural brain research**, v. 455, n. 114663, p. 114663, 2023.

HILL, M. N. et al. Reductions in circulating endocannabinoid levels in individuals with post-traumatic stress disorder following exposure to the World Trade Center attacks. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 12, p. 2952–2961, 2013.

HILL, M. N. et al. Integrating endocannabinoid signaling and cannabinoids into the biology and treatment of posttraumatic stress disorder.

**Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 80–102, 2018.

HIRNING, L. D. et al. Dominant role of N-type Ca<sup>2+</sup> channels in evoked release of norepinephrine from sympathetic neurons. **Science (New York, N.Y.)**, v. 239, n. 4835, p. 57–61, 1988.

IZQUIERDO, I.; FURINI, C. R. G.; MYSKIW, J. C. Fear memory. **Physiological reviews**, v. 96, n. 2, p. 695–750, 2016.

JACOBSEN, J. P. R.; MEDVEDEV, I. O.; CARON, M. G. The 5-HT deficiency theory of depression: perspectives from a naturalistic 5-HT deficiency model, the tryptophan hydroxylase 2<sup>Arg439His</sup> knockin mouse. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 367, n. 1601, p. 2444–2459, 2012.

JASTRZĄB, A.; JAROCKA-KARPOWICZ, I.; SKRZYDLEWSKA, E. The origin and biomedical relevance of cannabigerol. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 14, p. 7929, 2022.

Jl, X.-H. et al. Pre- and postsynaptic beta-adrenergic activation enhances excitatory synaptic transmission in layer V/VI pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex of rats. **Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)**, v. 18, n. 7, p. 1506–1520, 2008.

JOHNSTON, A. L.; FILE, S. E. Yohimbine's anxiogenic action: evidence for noradrenergic and dopaminergic sites. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 32, n. 1, p. 151–156, 1989.

JURKUS, R. et al. Cannabidiol regulation of learned fear: Implications for treating anxiety-related disorders. **Frontiers in pharmacology**, v. 7, p. 454, 2016.

KESSLER, R. C. et al. Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. **Archives of general psychiatry**, v. 52, n. 12, p. 1048–1060, 1995.

KIDA, S. Reconsolidation/destabilization, extinction and forgetting of fear memory as therapeutic targets for PTSD. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 49–57, 2019.

KINZIE, J. D.; LEUNG, P. Clonidine in Cambodian patients with posttraumatic stress disorder. **The journal of nervous and mental disease**, v. 177, n. 9, p. 546–550, 1989.

KINZIE, J. D.; SACK, R. L.; RILEY, C. M. The polysomnographic effects of clonidine on sleep disorders in posttraumatic stress disorder: a pilot study with Cambodian patients. **The journal of nervous and mental disease**, v. 182, n. 10, p. 585–587, 1994.

- KNIGHT, P. et al. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 204, n. 173168, p. 173168, 2021.
- KOBILO, T.; HAZVI, S.; DUDAI, Y. Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in conditioned taste aversion memory: Role of cannabinoids in conditioned taste aversion. **The European journal of neuroscience**, v. 25, n. 11, p. 3417–3421, 2007.
- KRAEUTER, A.-K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. Em: **Methods in Molecular Biology**. New York, NY: Springer New York, 2019. p. 69–74.
- LEDOUX, J. Rethinking the emotional brain. **Neuron**, v. 73, n. 4, p. 653–676, 2012.
- LEMOS, J. I.; RESSTEL, L. B.; GUIMARÃES, F. S. Involvement of the prelimbic prefrontal cortex on cannabidiol-induced attenuation of contextual conditioned fear in rats. **Behavioural brain research**, v. 207, n. 1, p. 105–111, 2010.
- LENT, R. Neurociência da mente e do comportamento / autor-organizador Roberto Lent 2. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2023. ISBN: 978-85-277-3952-8.
- LIN, H.-C.; MAO, S.-C.; GEAN, P.-W. Effects of intra-amygdala infusion of CB1 receptor agonists on the reconsolidation of fear-potentiated startle. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 13, n. 3, p. 316–321, 2006.
- LISBOA, S. F. et al. Tempering aversive/traumatic memories with cannabinoids: a review of evidence from animal and human studies. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 201–226, 2019.
- LISBOA, S. F. et al. Cannabidiol effects on fear processing and implications for PTSD: Evidence from rodent and human studies. **International review of neurobiology**, v. 177, p. 235–250, 2024.
- LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180–185, 1987.
- LOFLIN, M. J.; BABSON, K. A.; BONN-MILLER, M. O. Cannabinoids as therapeutic for PTSD. **Current opinion in psychology**, v. 14, p. 78–83, 2017.
- LOHMILLER, J. J.; SWING, S. P. Reproduction and Breeding. Em: **The Laboratory Rat**. [s.l.] Elsevier, 2006. p. 147–164.
- LUCHKINA, N. V.; BOLSHAKOV, V. Y. Mechanisms of fear learning and extinction: synaptic plasticity–fear memory connection. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 163–182, 2019.
- LYONS, D. M.; BUCKMASTER, C. L.; SCHATZBERG, A. F. Learning to actively cope with stress in female mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 96, p. 78–83, 2018.

MAKINO, Y. et al. Physiological signature of memory age in the prefrontal-hippocampal circuit. **Cell reports**, v. 29, n. 12, p. 3835- 3846.e5, 2019.

MALDONADO, R.; VALVERDE, O.; BERRENDERO, F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. **Trends in neurosciences**, v. 29, n. 4, p. 225–232, 2006.

MALENKA, R. C.; BEAR, M. F. LTP and LTD: an embarrassment of riches. **Neuron**, v. 44, n. 1, p. 5–21, 2004.

MARCONDES, F. K. et al. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. **Physiology & behavior**, v. 74, n. 4–5, p. 435–440, 2001.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4A, p. 609–614, 2002.

MAREN, S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. **Annual review of neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 897–931, 2001.

MARIN, F. N. et al. Taking advantage of fear generalization-associated destabilization to attenuate the underlying memory via reconsolidation intervention. **Neuropharmacology**, v. 181, n. 108338, p. 108338, 2020.

MARINHO, A. L. Z. et al. Effects of intra-infralimbic prefrontal cortex injections of cannabidiol in the modulation of emotional behaviors in rats: Contribution of 5HT1A receptors and stressful experiences. **Behavioural brain research**, v. 286, p. 49–56, 2015.

MARZO, A.; BAI, J.; OTANI, S. Neuroplasticity regulation by noradrenaline in mammalian brain. **Current neuropharmacology**, v. 7, n. 4, p. 286–295, 2009.

MECHOULAM, R.; SHVO, Y. Hashish. I. The structure of cannabidiol. **Tetrahedron**, v. 19, n. 12, p. 2073–2078, 1963.

MENDIGUREN, A. et al. Cannabigerol modulates  $\alpha$ 2-adrenoceptor and 5-HT1A receptor-mediated electrophysiological effects on dorsal raphe nucleus and locus coeruleus neurons and anxiety behavior in rat. **Frontiers in pharmacology**, v. 14, p. 1183019, 2023.

MERIANAS, A. N. et al. Post-traumatic stress disorder. **The Medical clinics of North America**, v. 107, n. 1, p. 85–99, 2023.

MILNER, T. A.; SHAH, P.; PIERCE, J. P. Beta-adrenergic receptors primarily are located on the dendrites of granule cells and interneurons but also are found on astrocytes and a few presynaptic profiles in the rat dentate gyrus. **Synapse (New York, N.Y.)**, v. 36, n. 3, p. 178–193, 2000.

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **Journal of comparative and physiological psychology**, v. 48, n. 4, p. 254–260, 1955.

MONTOYA, Z. T.; UHERNIK, A. L.; SMITH, J. P. Comparison of cannabidiol to citalopram in targeting fear memory in female mice. **Journal of cannabis research**, v. 2, n. 1, p. 48, 2020.

MORENA, M. et al. Endogenous cannabinoid release within prefrontal-limbic pathways affects memory consolidation of emotional training. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 51, p. 18333–18338, 2014.

MORENA, M. et al. Neurobiological interactions between stress and the endocannabinoid system. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 1, p. 80–102, 2016.

MOUSAVI, S. et al. The comparison between prazosin versus clonidine effects on combat related P.T.S.D nightmares. **Annals of general psychiatry**, v. 5, n. S1, p. S190, 2006.

MUELLER, D.; PORTER, J. T.; QUIRK, G. J. Noradrenergic signaling in infralimbic cortex increases cell excitability and strengthens memory for fear extinction. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 28, n. 2, p. 369–375, 2008.

MURAVIEVA, E. V.; ALBERINI, C. M. Limited efficacy of propranolol on the reconsolidation of fear memories. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 17, n. 6, p. 306–313, 2010.

NACHNANI, R.; RAUP-KONSAVAGE, W. M.; VRANA, K. E. The pharmacological case for cannabigerol. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 376, n. 2, p. 204–212, 2021.

NADER, K.; EINARSSON, E. Ö. Memory reconsolidation: an update. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1191, n. 1, p. 27–41, 2010.

NADER, K.; SCHAFE, G. E.; LEDOUX, J. E. The labile nature of consolidation theory. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 1, p. 216–219, 2000.

NABAVI, S. et al. Engineering a memory with LTD and LTP. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 348–352, 2014.

NAVARRO, G. et al. Cannabigerol action at cannabinoid CB1 and CB2 receptors and at CB1-CB2 heteroreceptor complexes. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 632, 2018.

NEUMEISTER, A. The endocannabinoid system provides an avenue for evidence-based treatment development for PTSD: The cutting edge: Evidence-based

treatment developments for PTSD. **Depression and anxiety**, v. 30, n. 2, p. 93–96, 2013.

NEUMEISTER, A. et al. Elevated brain cannabinoid CB1 receptor availability in post-traumatic stress disorder: a positron emission tomography study. **Molecular psychiatry**, v. 18, n. 9, p. 1034–1040, 2013.

NEWMAYER, M. N. et al. Free and glucuronide whole blood cannabinoids' pharmacokinetics after controlled smoked, vaporized, and oral cannabis administration in frequent and occasional cannabis users: identification of recent cannabis intake. **Clinical Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 1579–1592, 2016.

NEYLAN, T. C. et al. No improvement of posttraumatic stress disorder symptoms with guanfacine treatment. **The American journal of psychiatry**, v. 163, n. 12, p. 2186–2188, 2006.

NGUYEN, P. V.; WOO, N. H. Regulation of hippocampal synaptic plasticity by cyclic AMP-dependent protein kinases. **Progress in neurobiology**, v. 71, n. 6, p. 401–437, 2003.

NISHIZAWA, S. et al. Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 10, p. 5308–5313, 1997.

NORRIS, C. et al. Cannabidiol modulates fear memory formation through interactions with serotonergic transmission in the mesolimbic system. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 12, p. 2839–2850, 2016.

O'BRIEN, L. D. et al. Effect of chronic exposure to rimonabant and phytocannabinoids on anxiety-like behavior and saccharin palatability. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 103, n. 3, p. 597–602, 2013.

O'NEIL, M. et al. **Pharmacologic and nonpharmacologic treatments for Posttraumatic Stress Disorder: Groundwork for a publicly available repository of randomized controlled trial data**. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2019.

OTIS, J. M.; DASHEW, K. B.; MUELLER, D. Neurobiological dissociation of retrieval and reconsolidation of cocaine-associated memory. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 3, p. 1271–81a, 2013.

PAPAGIANNI, E. P. et al. Cannabidiol prevents spontaneous fear recovery after extinction and ameliorates stress-induced extinction resistance. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 16, p. 9333, 2022.

PAREDES, D.; MORILAK, D. A. A rodent model of exposure therapy: The use of fear extinction as a therapeutic intervention for PTSD. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 13, 2019.

PELLOW, S. et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149–167, 1985.

PELLOW, S.; JOHNSTON, A. L.; FILE, S. E. Selective agonists and antagonists for 5-hydroxytryptamine receptor subtypes, and interactions with yohimbine and FG 7142 using the elevated plus-maze test in the rat. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 39, n. 11, p. 917–928, 1987.

PERTWEE, R. G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin:  $\Delta$ 9-THC, CBD and  $\Delta$ 9-THCV. **British journal of pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 199–215, 2008.

PIETRZAK, R. H. et al. Prevalence and Axis I comorbidity of full and partial posttraumatic stress disorder in the United States: results from Wave 2 of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. **Journal of anxiety disorders**, v. 25, n. 3, p. 456–465, 2011.

PLAS, S. L. et al. Acute stress yields a sex-dependent facilitation of signaled active avoidance in rats. **Neurobiology of stress**, v. 31, n. 100656, p. 100656, 2024.

POLLASTRO, F. et al. Bioactive prenylogous cannabinoid from fiber hemp (*Cannabis sativa*). **Journal of natural products**, v. 74, n. 9, p. 2019–2022, 2011.

PONCIANO, R. et al. Cannabigerol mitigates haloperidol-induced vacuous chewing movements in mice. **Neurotoxicity research**, v. 43, n. 1, 2024.

PORTER, D. M.; BELL, C. C. The use of clonidine in post-traumatic stress disorder. **Journal of the National Medical Association**, v. 91, n. 8, p. 475–477, 1999.

PRZYBYSLAWSKI, J.; SARA, S. J. Reconsolidation of memory after its reactivation. **Behavioural brain research**, v. 84, n. 1–2, p. 241–246, 1997.

RABINAK, C. A. et al. Cannabinoid facilitation of fear extinction memory recall in humans. **Neuropharmacology**, v. 64, p. 396–402, 2013.

RABINAK, C. A.; PHAN, K. L. Cannabinoid modulation of fear extinction brain circuits: a novel target to advance anxiety treatment. **Current pharmaceutical design**, v. 20, n. 13, p. 2212–2217, 2014.

RAINBOW, T. C.; PARSONS, B.; WOLFE, B. B. Quantitative autoradiography of beta 1- and beta 2-adrenergic receptors in rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, n. 5, p. 1585–1589, 1984.

RAYMUNDI, A. M. et al. A time-dependent contribution of hippocampal CB1 , CB2 and PPAR $\gamma$  receptors to cannabidiol-induced disruption of fear memory consolidation. **British journal of pharmacology**, v. 177, n. 4, p. 945–957, 2020a.

RAYMUNDI, A. M. et al. Effects of  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol on aversive memories and anxiety: a review from human studies. **BMC psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 420, 2020b.

RAYMUNDI, A. M. et al. Effects of delta-9 tetrahydrocannabinol on fear memory labilization and reconsolidation: A putative role of GluN2B-NMDA receptor within the dorsal hippocampus. **Neuropharmacology**, v. 225, n. 109386, p. 109386, 2023.

REDFERN, W. S.; WILLIAMS, A. A re-evaluation of the role of alpha 2-adrenoceptors in the anxiogenic effects of yohimbine, using the selective antagonist delequamine in the rat. **British journal of pharmacology**, v. 116, n. 3, p. 2081–2089, 1995.

RESSTEL, L. B. M. et al. Effects of cannabidiol and diazepam on behavioral and cardiovascular responses induced by contextual conditioned fear in rats. **Behavioural brain research**, v. 172, n. 2, p. 294–298, 2006.

RISBROUGH, V. B.; GLENN, D. E.; BAKER, D. G. On the road to translation for PTSD treatment: Theoretical and practical considerations of the use of human models of conditioned fear for drug development. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 28, p. 173–196, 2016.

ROCK, E. M. et al. Interaction between non-psychotropic cannabinoids in marihuana: effect of cannabigerol (CBG) on the anti-nausea or anti-emetic effects of cannabidiol (CBD) in rats and shrews. *Psychopharmacology*, v. 215, n. 3, p. 505–512, 2011.

RODGERS, R. J.; COLE, J. C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. Em: COOPER, S. J.; HENDRIE, C. A. (Eds.). **Ethology and psychopharmacology**. Chichester: Wiley, 1994. p. 9–44.

RODRÍGUEZ-CARREIRO, S. et al. The cannabigerol derivative VCE-003.2 exerts therapeutic effects in 6-hydroxydopamine-lesioned mice: Comparison with the classic dopaminergic replacement therapy. **Brain sciences**, v. 13, n. 9, p. 1272, 2023.

ROSENTHALER, S. et al. Differences in receptor binding affinity of several phytocannabinoids do not explain their effects on neural cell cultures. **Neurotoxicology and teratology**, v. 46, p. 49–56, 2014.

ROY, P. et al. Metabolites of cannabigerol generated by human cytochrome P450s are bioactive. **Biochemistry**, v. 61, n. 21, p. 2398–2408, 2022.

SAGGU, S. et al. Activation of a novel  $\alpha$ 2AAR-spinophilin-cofilin axis determines the effect of  $\alpha$ 2 adrenergic drugs on fear memory reconsolidation. **Molecular psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 588–600, 2023.

SALEMME, B. W. et al. The estrous cycle influences the effects of fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase inhibition in the anxiety-like behavior in rats. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 9, n. 4, p. e1063–e1074, 2024.

SALVIATO, B. Z. et al. Female but not male rats show biphasic effects of low doses of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on anxiety: can cannabidiol interfere with these effects? **Neuropharmacology**, v. 196, n. 108684, p. 108684, 2021.

SAN LUIS, C. O.; RYAN, T. J. Correction: Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. **The journal of biological chemistry**, v. 299, n. 8, p. 105070, 2023.

SCHOFIELD, G. G. Norepinephrine blocks a calcium current of adult rat sympathetic neurons via an alpha 2-adrenoceptor. **European journal of pharmacology**, v. 180, n. 1, p. 37–47, 1990.

SCHOLL, J. L. et al. Sex differences in anxiety-like behaviors in rats. **Physiology & behavior**, v. 211, n. 112670, p. 112670, 2019.

SIDHPURA, N.; PARSONS, L. H. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity and addiction-related behavior. **Neuropharmacology**, v. 61, n. 7, p. 1070–1087, 2011.

SIMEI, J. L. Q. et al. Research and clinical practice involving the use of cannabis products, with emphasis on cannabidiol: A narrative review. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 12, p. 1644, 2024.

SINGEWALD, N. et al. Pharmacology of cognitive enhancers for exposure-based therapy of fear, anxiety and trauma-related disorders. **Pharmacology & therapeutics**, v. 149, p. 150–190, 2015.

SONG, C. et al. Bidirectional effects of cannabidiol on contextual fear memory extinction. **Frontiers in pharmacology**, v. 7, p. 493, 2016.

SOUTHWICK, S. M. et al. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of posttraumatic stress disorder. **Biological psychiatry**, v. 46, n. 9, p. 1192–1204, 1999.

STANLEY, Ian H. Advancements in the understanding of PTSD and suicide risk: Introduction to a special section. **Psychological trauma: theory, research, practice, and policy**, v. 13, n. 7, p. 723, 2021.

STEIN, D. J.; IPSER, J. C.; SEEDAT, S. Pharmacotherapy for post traumatic stress disorder (PTSD). **Cochrane database of systematic reviews**, n. 1, p. CD002795, 2006.

STERN, C. A. J. et al. On disruption of fear memory by reconsolidation blockade: evidence from cannabidiol treatment. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 9, p. 2132–2142, 2012.

STERN, C. A. J. et al. Activity in prelimbic cortex subserves fear memory reconsolidation over time. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 21, n. 1, p. 14–20, 2013.

STERN, C. A. J. et al.  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol alone and combined with cannabidiol mitigate fear memory through reconsolidation disruption. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 6, p. 958–965, 2015.

STERN, C. A. J. et al. Cannabidiol disrupts the consolidation of specific and generalized fear memories via dorsal hippocampus CB1 and CB2 receptors. **Neuropharmacology**, v. 125, p. 220–230, 2017.

STONE, N. L. et al. A systematic review of minor phytocannabinoids with promising neuroprotective potential. **British journal of pharmacology**, v. 177, n. 19, p. 4330–4352, 2020.

SULLIVAN, G. M. et al. The noradrenergic system in pathological anxiety: a focus on panic with relevance to generalized anxiety and phobias. **Biological psychiatry**, v. 46, n. 9, p. 1205–1218, 1999.

SUMMERS, R. J. et al. Expression of beta 3-adrenoceptor mRNA in rat brain. **British journal of pharmacology**, v. 116, n. 6, p. 2547–2548, 1995.

TANAKA, M. et al. Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. **European journal of pharmacology**, v. 405, n. 1–3, p. 397–406, 2000.

TREYER, A. et al. Phytochemical comparison of medicinal cannabis extracts and study of their CYP-mediated interactions with coumarinic oral anticoagulants. **Medical cannabis and cannabinoids**, v. 6, n. 1, p. 21–31, 2023.

VALDEOLIVAS, S. et al. Neuroprotective properties of cannabigerol in Huntington's disease: Studies in R6/2 mice and 3-nitropropionate-lesioned mice. **Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v. 12, n. 1, p. 185–199, 2015.

VAN STEGEREN, A. H. The role of the noradrenergic system in emotional memory. **Acta psychologica**, v. 127, n. 3, p. 532–541, 2008.

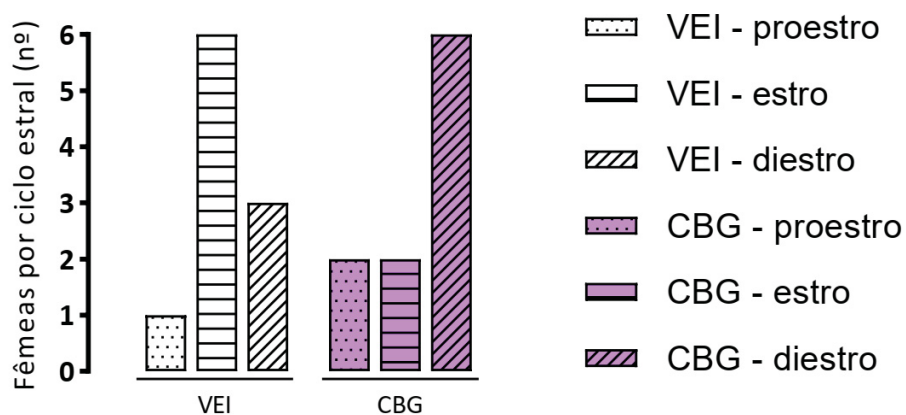
VILA-VERDE, C. **Efeitos do canabidiol e do 7-Nitroindazole na resposta de medo condicionado contextual após exposição de ratos a um estresse intenso: envolvimento dos sistemas nitrérgico, serotoninérgico e canabinoide.** [s.l.] Universidade de São Paulo, 2019.

WAKLEY, A. A.; WILEY, J. L.; CRAFT, R. M. Sex differences in antinociceptive tolerance to delta-9-tetrahydrocannabinol in the rat. **Drug and alcohol dependence**, v. 143, p. 22–28, 2014.

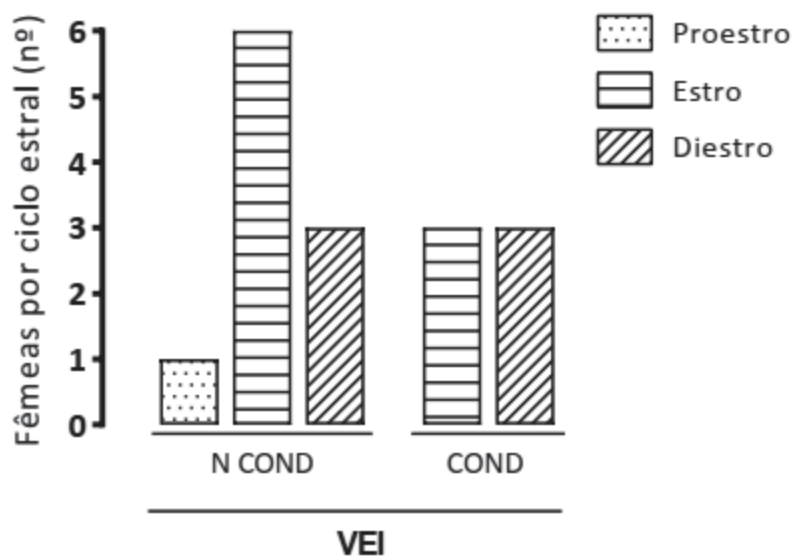
WEERTS, E. M. et al. Orally administered Cannabigerol (CBG) in rats: Cannabimimetic actions, anxiety-like behavior, and inflammation-induced pain. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 245, n. 173883, p. 173883, 2024.

- WENDELL, K. R.; MAXWELL, M. L. Evaluation of clonidine and prazosin for the treatment of nighttime posttraumatic stress disorder symptoms. **Federal practitioner: for the health care professionals of the VA, DoD, and PHS**, v. 32, n. 11, p. 8–14, 2015.
- WOTJAK, C. T. Sound check, stage design and screen plot – how to increase the comparability of fear conditioning and fear extinction experiments. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 33–48, 2019.
- WU, D. et al. Activation of phospholipase C by alpha 1-adrenergic receptors is mediated by the alpha subunits of Gq family. **The journal of biological chemistry**, v. 267, n. 36, p. 25798–25802, 1992.
- YABUKI, Y.; FUKUNAGA, K. Clinical therapeutic strategy and neuronal mechanism underlying post-traumatic stress disorder (PTSD). **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 15, p. 3614, 2019.
- YEHUDA, R.; LEHRNER, A. M. Y.; ROSENBAUM, T. Y. PTSD and sexual dysfunction in men and women. **The journal of sexual medicine**, v. 12, n. 5, p. 1107–1119, 2015.
- YUNITRI, N. et al. Global prevalence and associated risk factors of posttraumatic stress disorder during COVID-19 pandemic: A meta-analysis. **International journal of nursing studies**, v. 126, n. 104136, p. 104136, 2022.
- ZABIK, N. L. et al. Cannabinoid modulation of corticolimbic activation during extinction learning and fear renewal in adults with posttraumatic stress disorder. **Neurobiology of learning and memory**, v. 201, n. 107758, p. 107758, 2023.
- ZABIK, N. L. et al. Dose-dependent effect of acute THC on extinction memory recall and fear renewal: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Psychopharmacology**, 2024.
- ZAGZOOG, A. et al. In vitro and in vivo pharmacological activity of minor cannabinoids isolated from *Cannabis sativa*. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 20405, 2020.
- ZHOU, C.; ASSAREH, N.; ARNOLD, J. C. The cannabis constituent cannabigerol does not disrupt fear memory processes or stress-induced anxiety in mice. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 7, n. 3, p. 294–303, 2022.
- ZIEBA, J. et al. Cannabidiol (CBD) reduces anxiety-related behavior in mice via an FMRP-independent mechanism. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 181, p. 93–100, 2019.
- ZIEGENHORN, A. A. et al. Clonidine improves hyperarousal in borderline personality disorder with or without comorbid posttraumatic stress disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 170–173, 2009.

## APÊNDICE



**Apêndice 1.** Número de fêmeas de acordo com a fase do ciclo estral após a avaliação do LCE de animais não condicionados. Os dados foram expressos como número. n por grupo = 10.



**Apêndice 2.** Número de fêmeas de acordo com a fase do ciclo estral após a avaliação do LCE de animais não condicionados e condicionados. Os dados foram expressos como número. n de não condicionados = 10. n de condicionados = 6.