

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia

Aline de Castro Santos

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NOS EFEITOS DA COCAÍNA
NO MODELO DE PREFERÊNCIA CONDICIONADA AO CONTEXTO – UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Belo Horizonte

2025

Aline De Castro Santos

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NOS EFEITOS DA COCAÍNA
NO MODELO DE PREFERÊNCIA CONDICIONADA AO CONTEXTO – UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira.

Belo Horizonte

2025

043

Santos, Aline de Castro.

Envolvimento do sistema endocanabinoide nos efeitos da cocaína no modelo de preferência condicionada ao contexto - uma revisão sistemática e metanálise [manuscrito] / Aline de Castro Santos. – 2025.

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

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira.

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

1. Farmacologia. 2. Canabinoides. 3. Cocaína. I. Moreira, Fabrício de Araújo . II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 615

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Jéssica Patrícia Silva de Sá – CRB 6 – 3430

Referência: Processo nº 23072.221483/2025-01 SEI nº 4105758



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DEFESA DA TESE

TÍTULO:

"Envolvimento do Sistema Endocanabinoide nos Efeitos da Cocaína no Modelo de Preferência Condicionada Ao Contexto - Uma Revisão Sistemática e Metanálise"

ESTUDANTE: ALINE DE CASTRO SANTOS

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **28 de março de 2025**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Dra. Lia Parada Iglesias, Universidade de Aarhus, Dinamarca

Profa. Dra. Cilene Lino de Oliveira, Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Luciene Bruno Vieira, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

Dra. Renata Crisna Mendes Ferreira, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira - Orientador, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 28 de março de 2025



Documento assinado eletronicamente por **Fabrizio de Araujo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 05/04/2025, às 06:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciene Bruno Vieira, Professora do Magistério Superior**, em 05/04/2025, às 08:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Crisna Mendes Ferreira, Professora Magistério Superior-Substuta**, em 07/04/2025, às 08:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lia Parada Iglesias, Usuário Externo**, em 07/04/2025, às 09:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cilene Lino de Oliveira, Usuária Externa**, em 08/07/2025, às 10:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4105767** e o código CRC **D00776F5**.

Agradecimentos

Ao olhar para trás e percorrer mentalmente os anos que me trouxeram até aqui, percebo que uma tese de doutorado não é apenas o resultado de um trabalho científico, mas também a soma de desafios, aprendizados e, sobretudo, do apoio inestimável de tantas pessoas que caminharam ao meu lado.

Gratidão a Deus por me permitir mais uma vitória. À minha família, que foi minha base inabalável ao longo dessa trajetória: minha mãe, Rosemary, pelo amor, paciência, força incondicional e por estar presente, literalmente, desde o jardim de infância; meu pai, Nelson, pelo incentivo e; e meu irmão, Cláudio, por ser o meu suporte. Sem vocês, eu não seria quem sou hoje.

À minha colega, Dra. Lia Parada Iglesias, com quem compartilhei não apenas as exigentes etapas metodológicas deste trabalho, mas também reflexões, desafios e descobertas que tornaram esta pesquisa mais robusta e significativa. Sua colaboração foi essencial para que este estudo se concretizasse.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira, que me acompanhou desde o mestrado e, ao longo desses anos, não apenas guiou minha formação acadêmica, mas também esteve aberto a adaptar-se e aprender junto comigo novas formas de fazer ciência. Sua orientação foi mais do que acadêmica, foi um exemplo de compromisso com o conhecimento. Agradeço também ao Prof. Dr. Frederico Soriani pela oportunidade de aprender a divulgar ciência com responsabilidade.

À equipe do Laboratório de Neuropsicofarmacologia, pela troca de ideias, pelos momentos de aprendizado coletivo e pelo ambiente acolhedor que fez desta jornada um pouco mais leve.

Concluir um doutorado é, por si só, um grande desafio, mas os últimos dois anos tornaram essa trajetória ainda mais intensa. Ao entender meu papel político, embarquei em uma nova jornada. Concomitantemente, especializei em políticas públicas e, nas últimas eleições, coloquei o meu nome à disposição de todos os cidadãos de BH e conquistei a posição de suplência, sendo a pessoa com deficiência mais votada. A partir desta experiência, sigo no caminho público, em busca de representatividade e da promoção de políticas públicas baseadas em evidências, defendendo intransigentemente a ciência, a educação, a inclusão e a democracia.

Agradeço, também, à minha equipe-base, que tornou possível a minha campanha e a continuidade deste doutorado, com uma dedicação incansável: Taci, Mel, Bruno, Robinson e Cris. Sem vocês, equilibrar essas duas missões seria impossível. Ainda, expresso a minha gratidão a todos os companheiros e companheiras de partido e da vida política.

À agência de pesquisa financiadora FAPEMIG, registro a minha gratidão.

E, por fim, dedico esta tese à minha avó Efigênia, que sempre sonhou em ver sua neta se tornar doutora, a primeira da família a conquistar esse título. Embora não esteja mais aqui fisicamente, carrego comigo seu orgulho e seu amor, que me sustentaram e continuam me impulsionando para o futuro.

A todos vocês, minha eterna gratidão.

Resumo

Os endocanabinoides são mediadores lipídicos que interagem com os receptores canabinoides, aos quais se liga o $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol, principal constituinte psicoativo da *Cannabis sativa*. A cocaína, droga psicoestimulante, atua inibindo a recaptação de monoaminas e converge para a ativação das vias de recompensa. O sistema endocanabinoide modula estas vias e vem sendo estudado como um componente crucial deste circuito subjacente ao efeito de drogas de abuso. Um modelo frequentemente utilizado para este propósito é o de preferência condicionada ao contexto (“*conditioned place preference*”, CPP). A presente revisão sistemática e metanálise visa elucidar os efeitos de canabinoides e o envolvimento do sistema endocanabinoide nas respostas à cocaína no modelo de CPP. Foram selecionados 17 estudos através da estratégia PICOS de elegibilidade no qual os dados de interesse foram extraídos para a realização da metanálise. A presente revisão sistemática e metanálise revela uma tendência positiva modesta no grupo experimental em relação ao controle. No entanto, essa tendência é insuficiente para alcançar significância estatística robusta. O avanço nas terapias canabinoides exige mais estudos, especialmente aqueles que abordam os mecanismos moleculares subjacentes aos modelos experimentais para estudo do TUS.

Palavras-chave: sistema endocanabinoide; canabinoides; preferência condicionada ao contexto; cocaína.

Abstract

Endocannabinoids are lipid mediators that interact with cannabinoid receptors, to which Δ^9 -tetrahydrocannabinol, the main psychoactive constituent of *Cannabis sativa*, binds. Cocaine, a psychostimulant drug, acts by inhibiting the reuptake of monoamines and converges on the activation of reward pathways. The endocannabinoid system modulates these pathways and has been studied as a crucial component of this circuit underlying the effect of drugs of abuse. A model frequently used for this purpose is the conditioned place preference (CPP). The present systematic review and meta-analysis aims to elucidate the effects of cannabinoids and the involvement of the endocannabinoid system in responses to cocaine in the CPP model. Seventeen studies were selected through the PICOS eligibility strategy in which the data of interest were extracted to carry out the meta-analysis. The present systematic review and meta-analysis reveals a modest positive trend in the experimental group relative to the control. However, this trend is insufficient to achieve robust statistical significance. Advances in cannabinoid therapies require more studies, especially those that address the molecular mechanisms underlying experimental models for studying SUD.

Keywords: endocannabinoid system; cannabinoids; context-conditioned preference; cocaine.

Lista de figuras

Figura 1. Representação esquemática do sistema endocanabinoide e seus principais componentes (Wolf ME, Ferrario CR., 2010). Os endocanabinoides anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) são liberados de neurônios pós-sinápticos após influxo de cálcio induzido, por exemplo, por ação de glutamato (GLU) em receptores N-metil-D-aspartato (NMDA). Uma vez na fenda sináptica, ativam receptores CB₁, CB₂ e TRPV1. O término da ação da AEA e do 2-AG ocorre por internalização mediada por um transportador (T), seguida de metabolismo pela amida hidrolase de ácido graxo (FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL), respectivamente.

Figura 2. Modulação endocanabinoide da via de recompensa mesolímbica (Asth, L. et al., 2022). Os endocanabinoides são liberados das membranas celulares pós-sinápticas para ativar os receptores canabinoides. Os receptores CB₁ modulam a atividade dopaminérgica através da inibição dos terminais glutamatérgicos e GABAérgicos. A expressão do receptor CB₂ é restrita a células gliais e corpos celulares dopaminérgicos. GLU, glutamatérgico; eCBs, endocanabinoides.

Figura 3. Fluxograma indicando o número de estudos identificados, excluídos na fase de triagem e incluídos na revisão sistemática e metanálise.

Figura 4. Porcentagem das espécies de animais utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 5. Porcentagem das linhagens dos animais utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 6. Porcentagem do sexo dos animais utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 7. Porcentagem das doses de cocaína utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 8. Porcentagem de grupos canabinoides utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 9. Porcentagem dos alvos farmacológicos das intervenções utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 10. Porcentagem das doses canabinoides utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 11. Relação do número de estudos e canabinoides utilizados com as doses referentes.

Figura 12. Porcentagem das vias de administração das intervenções utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 13. Porcentagem de co-administração de intervenções utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 14. Porcentagem de estudos que utilizaram pré-emparelhamento, que tem como objetivo avaliar as preferências naturais dos animais pelos ambientes utilizados no estudo, antes de qualquer intervenção farmacológica ou exposição a estímulos recompensadores, nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 15. Porcentagem das fases do CPP utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 16. Porcentagem do número de ensaios utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 17. Porcentagem das variáveis de tempo utilizados no CPP nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 18. Porcentagem tempo em minutos utilizados no CPP nos grupos experimentais dos estudos primários.

Figura 19. Gráfico de floresta global.

Figura 20. Gráfico de floresta subgrupo alvos farmacológicos.

Figura 21. Gráfico de floresta subgrupo fases do CPP.

Figura 22. Gráfico de floresta subgrupo fármacos.

Figura 23. Gráfico de funil.

Figura 24. Planilha busca de artigos selecionados pela pesquisadora AC.

Figura 25. Planilha busca de artigos selecionados pela pesquisadora LPI.

Figura 26. Planilha busca de artigos selecionados que obtiveram divergência entre as pesquisadoras e houve a consulta do terceiro pesquisador, FAM.

Figura 27. Primeira extração de dados obtida pela pesquisadora AC.

Figura 28. Primeira extração de dados obtida pela pesquisadora LPI.

Figura 29. Planilha de dados utilizados na metanálise.

Lista de abreviaturas

Δ 9-THC: Δ 9-tetrahydrocannabinol

2-AG: 2-araquidonoilglicerol

5-HT: Serotonina

AEA: Anandamida

AMPA: Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico

ATV: Área tegmentar ventral

CBD: Canabidiol

CPP: Preferência condicionada ao local

CS: Conditioned stimulus

DA: Dopamina

FAAH: Fatty acid amide hydrolase

GLU: Glutamato

MAGL: Monoacilglicerol lipase

MAP quinases: Proteína quinase ativada por mitógeno

NA: Norepinefrina

NAC: Núcleo accumbens

NMDA: N-metil-D-aspartato

PFC: Córtex pré-frontal

SEC: Sistema endocanabinoide

SNC: Sistema nervoso central

TRPV1: Transient receptor potential family V, type-1

TUS: Transtorno por uso de substâncias

US: Unconditioned stimulus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Transtorno por Uso de Substâncias	16
1.2 Sistema Endocanabinoide	18
1.3 Envolvimento do Sistema Endocanabinoide nos efeitos da Cocaína	22
1.4 Modelo de Preferência Condicionada ao Contexto	24
1.5 Memória e Transtorno por Uso de Substâncias	27
1.6 Importância da Revisão Sistemática e Metanálise	28
2 OBJETIVOS	31
3 METODOLOGIA	32
4 RESULTADOS	37
5 DISCUSSÃO	63
6 CONCLUSÃO	70
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA METANÁLISE	75
9 MATERIAIS COMPLEMENTARES	77

1. INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno por Uso de Substâncias

Denomina-se droga de abuso qualquer substância psicoativa que é capaz de modificar a função dos organismos vivos, resultando em mudanças fisiológicas e comportamentais, com potencial para causar dependência, ou seja, o consumo em longo prazo a despeito de consequência deletérias par ao indivíduo e para terceiros. Ao longo do processo, pode ocorrer o fenômeno da tolerância (redução do efeito) e a síndrome de abstinência (reação aversivas à interrupção do uso). Tem-se proposto que este conjunto de fatores caracteriza o chamado transtorno por uso de substâncias (TUS, no inglês “*Substance Use Disorder*”), que apresenta caráter crônico e recidivante e está associado a alterações neurobiológicas crônicas. Ocorre um desejo de busca e uso compulsivo de drogas, apesar das consequências negativas a curto e longo prazo, perda de controle sobre o consumo, tolerância farmacológica e recaídas mesmo após longos períodos de abstinência (DSM-V, 2013). O TUS pode, também, ser definido como um ciclo recorrente de três estágios – compulsão/intoxicação, abstinência/afeto negativo e preocupação/antecipação, no qual envolve mudanças neuroplásticas nas vias de recompensa, estresse e funções executivas (Koob GF, Volkow ND., 2016; Everitt BJ, Robbins TW., 2005).

Embora atuem por mecanismos moleculares distintos, os efeitos de diversas drogas de abuso, incluindo a cocaína, convergem para a ativação das vias neuronais denominadas vias de recompensa, constituídas principalmente pelo sistema dopaminérgico mesolímbico, parte do feixe prosencefálico medial. Estes neurônios têm seus corpos celulares na área tegmentar ventral (VTA) e se projetam para o núcleo accumbens (NAc) e outras áreas prosencefálicas (Koob GF, Volkow ND., 2016). À medida que o consumo da droga ocorre, modificações celulares e moleculares

ocorrem no sistema mesolímbico, aspectos dorsais dos núcleos da base, amígdala, hipocampo e sub-regiões do córtex pré-frontal (PFC) (Koob GF, Volkow ND., 2016; Everitt BJ, Robbins TW., 2005; Wise RA, Koob GF., 2014).

O aumento acentuado na liberação de dopamina provoca um sinal de recompensa que desencadeia aprendizagem associativa ou condicionamento. Neste tipo de aprendizagem pavloviana, experiências repetidas de recompensa tornam-se associadas aos estímulos ambientais em que ocorrem. Com a exposição repetida à mesma recompensa, as células dopaminérgicas disparam uma resposta antecipatória aos estímulos condicionados que predizem a obtenção de uma recompensa (Goldstein RZ, Volkow ND., 2011). A sinalização de dopamina induzida pela administração de drogas também pode desencadear neuroadaptações nos circuitos dos núcleos da base e alterações sinápticas envolvendo receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e receptores de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) em projeções glutamatérgicas do PFC e da amígdala para a VTA e NAc (Kalivas PW., 2009; Lüscher C, Malenka RC., 2011; Wolf ME, Ferrario CR., 2010). Desta forma, os estímulos ambientais que são repetidamente associados ao uso de drogas motivam comportamentos de busca e resultam na busca compulsiva (Carlezon WA Jr. et al., 2000; Delfs JM. et al., 2000; Boutrel B, de Lecea L., 2000).

A administração recorrente de drogas e a subsequente retirada resultam em disforia, anedonia, irritabilidade e perda de motivação por recompensas naturais (Willner P. et al., 1992), contribuindo para a recaída (Hodgins DC. et al., 1995). O estágio de abstinência/afeto negativo consiste neste conjunto de elementos motivacionais. Há uma redução na transmissão dopaminérgica e serotonérgica no NAc durante a retirada da droga de abuso, aumento na responsividade do receptor μ opioide durante a abstinência de opioides, (Stinus L. et al., 1990; Minkowski CP. et al., 2012) diminuição na transmissão GABAérgica e aumento na transmissão

glutamatérgica de NMDA no NAc (Davidson M. et al., 1995; Dahchour A. et al., 1998). Há indícios de que o estágio de preocupação/antecipação seja um elemento-chave da recaída. Evidências de estudos com roedores sugerem que os sistemas neurotransmissores envolvidos na recaída envolvem uma projeção glutamatérgica do córtex pré-frontal pré-límbico para o NAc, que é modulada pela atividade da dopamina através dos receptores D₁ e D₂ no córtex frontal. Além disso, também há o envolvimento da projeção glutamatérgica do córtex pré-frontal pré-límbico, amígdala basolateral e para o NAc, e modulação da dopamina na amígdala basolateral e estriado dorsal (Vorel SR. et al., 2001; Everitt BJ, Wolf ME., 2002; Vanderschuren LJMJ. et al., 2005).

1.2 Sistema Endocanabinoide

A planta *Cannabis sativa*, popularmente conhecida como maconha, produz várias substâncias, denominadas fitocanabinoides, que exercem efeitos biológicos de interesse. A principal responsável pelos efeitos desta planta é o Δ^9 -tetra-hidrocanabinol (THC), embora outros fitocanabinoides também sejam de interesse farmacológico, a exemplo do canabidiol (CBD) (Mechoulam R. et al., 1963; Mechoulam R., Gaoni, Y., 1965). As pesquisas pelos mecanismos de ação do THC e de derivados sintético com efeitos similares levaram à identificação dos receptores canabinoides na década de 1990 (MatTUSa, L. A. et al., 1990; Munro, S. et al., 1993) e, posteriormente, dos ligantes endógenos, que ficaram conhecidos como endocanabinoides (Devane, W. A. et al., 1992; Mechoulam R. et al., 1995; Sugiura T. et al., 1995; Di Marzo V. & Fontana A., 1995). Foi, portanto, caracterizado um novo sistema de mediação química cerebral, o sistema endocanabinoide (SEC). Mais detalhadamente, o SEC é constituído pelos receptores canabinoides CB₁ e CB₂, seus ligantes endógenos N-araquidonoil etanolamina (AEA), conhecida também por anandamida, e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), várias enzimas de síntese e clivagem, as exemplo

da “fatty acid amide hydrolase” (FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL), principais responsáveis pela hidrólise da AEA e do 2AG, como ilustrado na Figura 1.

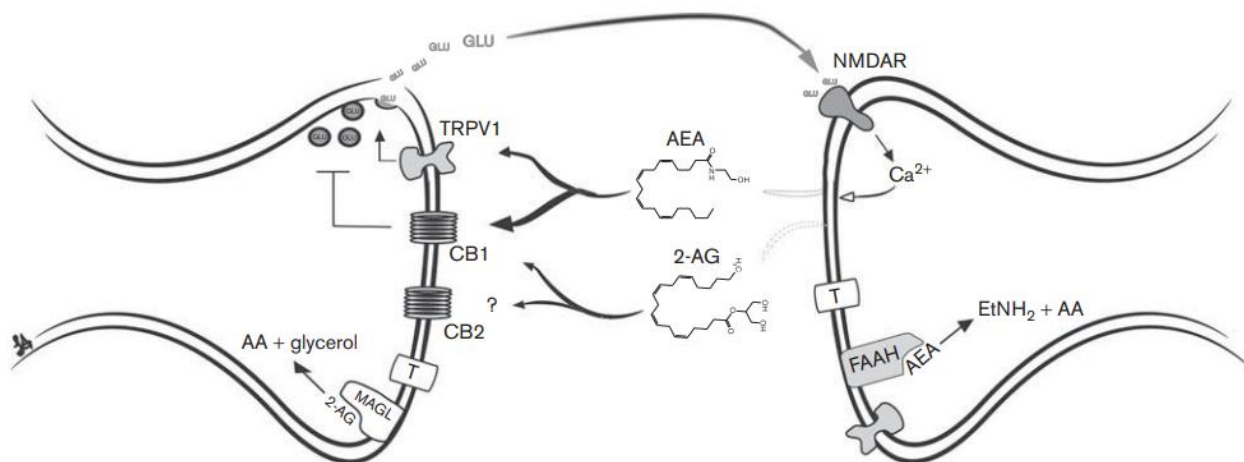


Figura 1. Representação esquemática do sistema endocanabinoide e seus principais componentes (Wolf ME, Ferrario CR., 2010). Os endocanabinoides anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) são liberados de neurônios pós-sinápticos após influxo de cálcio induzido, por exemplo, por ação de glutamato (GLU) em receptores N-metil-D-aspartato (NMDA). Uma vez na fenda sináptica, ativam receptores CB₁, CB₂ e TRPV1. O término da ação da AEA e do 2-AG ocorre por internalização mediada por um transportador (T), seguida de metabolismo pela amida hidrolase de ácido graxo (FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL), respectivamente.

Os endocanabinoides são compostos lipofílicos produzidos a partir da membrana de neurônios pós-sinápticos, de onde são imediatamente liberados, não sendo armazenados em vesículas após a sua produção. Atuam retrogradamente, ativando os receptores CB₁ nos terminais pré-sinápticos. Em relação às vias de transdução, os receptores canabinoides estão acoplados às

proteínas Gi/o. Eles inibem a adenilil ciclase e certos canais de cálcio sensíveis à voltagem, estimulam proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAP quinases) e canais de potássio retificadores internos e recrutam beta-arrestinas, entre outras ações (Howlett AC. et al., 2002).

A estimulação dos receptores CB₁ em terminais neuronais pré-sinápticos suprime a excitabilidade neuronal e inibe a liberação de neurotransmissores (Goldstein RZ, Volkow ND., 2011; Freund TF. et al., 2013). Os receptores CB₁ são densamente encontrados em áreas do SNC, como hipocampo, diversas regiões do córtex cerebral, amígdala, em terminais pré-sinápticos GABAérgicos e em neurônios glutamatérgicos (Monory K. et al., 2006; Yoshida T. et al., 2011). Além disso, há uma expressão importante destes receptores nos núcleos da base (Julian MD. et al., 2003; Hohmann AG, Herkenham M., 2000) terminais axônicos GABAérgicos estriatais Hohmann AG, Herkenham M., 2000) e neurônios no núcleo subtalâmico (Kreitzer AC, Malenka RC., 2007). Está presente também nos terminais eferentes glutamatérgicos pré-frontais que se projetam no NAc, bem como nos terminais do axônio GABAérgico dos neurônios NAc (Uchigashima M. et al., 2007). Receptores CB₁ também são expressos em níveis funcionalmente importantes no corpo neuronal, dendritos (Bacci A. et al., 2004; Kreitzer AC. et al., 2002; Maroso M. et al., 2016), algumas mitocôndrias (Benard G. et al., 2012) e por alguns astrócitos (Navarrete M, Araque A., 2008).

Quanto aos receptores CB₂, foram descritos pela primeira vez como um receptor periférico envolvido em funções imunomoduladoras em leucócitos (Buckley et al., 2000). O receptor CB₂ é um GPCR acoplado principalmente a proteínas Gi/o. Sua estimulação desencadeia a inibição da atividade da adenilato ciclase e a ativação da MAP quinase, e é seguida pelo recrutamento de β -arrestina, resultando na dessensibilização do receptor (Bouaboula et al., 1999, Kibret et al., 2022). As suas vias intracelulares podem diferir dependendo dos tecidos, tipos de células e localização

subcelular (Howlett e Abood, 2017). Sabe-se da presença do receptor CB₂ no SNC e da sua atividade modulada utilizando agonistas específicos e agonistas inversos (Whiting et al., 2022). Além do seu papel imunomodulador, os efeitos da modulação deste receptor no comportamento em contextos neuroinflamatórios podem ser explicados tanto pela modulação direta na inflamação, quanto por outros mecanismos dependentes do receptor (Grabon W. et al., 2023). Foi demonstrado que a administração sistêmica aguda de agonistas CB₂ a roedores WT saudáveis melhora a memória de reconhecimento (Oliveira et al., 2016), aprendizagem espacial (Tchekalarova et al., 2018) e consolidação de memória aversiva (Kruk -Slomka et al., 2022). A deleção de receptores CB₂ em camundongos interrompeu a consolidação de memórias aversivas de curto e longo prazo (García-Gutiérrez et al., 2013). O receptor também está envolvido em diferentes mecanismos de memória dependentes do hipocampo, pois sua exclusão prejudicou a memória contextual do medo (Wang et al., 2018). A ativação farmacológica de CB₂ sob condições patológicas neutralizou comportamentos semelhantes à ansiedade e/ou depressão induzidos por estresse crônico (Hwang et al., 2020, Onaivi et al., 2008).

O sistema endocanabinoide é um importante regulador do reforço de drogas de abuso (Parsons LH, Hurd YL., 2015). Ambos os receptores canabinoides emergiram como um mecanismo pelo qual as drogas atuam nas vias de recompensa e reforço. Os resultados implicam em um papel complexo para os receptores canabinoides na modulação dos efeitos da cocaína, com funções opostas dos receptores CB₁ e CB₂ (Lopes JB. et al., 2019). Portanto, o acúmulo de evidências apoia a potência dos canabinoides no tratamento do TUS e a exploração desses mecanismos pode melhorar nossa compreensão acerca dessa modulação.

1.3 Envolvimento do Sistema Endocanabinoide nos efeitos da Cocaína

Globalmente, mais de 292 milhões de pessoas usaram substâncias ilícitas. em 2022, um aumento de 20% em relação à década anterior. Cerca de 23 milhões de pessoas apresentam dependência à cocaína em todo o mundo, com o maior número encontrado nas Américas (UNODC, 2024). Esta droga pertence a classe dos psicoestimulantes, produzindo um espectro de efeitos como aumento de alerta, estimulação cardiovascular, euforia e diminuição de sono. Por ainda produzir efeitos psicotomiméticos (Rothman, RB., & Baumann, MH, 2003).

A cocaína atua por inibir a captação de monoaminas, inibindo a ação dos transportadores de membrana para serotonina (5-HT), dopamina (DA) e norepinefrina (NA); dessa forma, há diminuição da recaptção e aumento da disponibilidade destes neurotransmissores na fenda sináptica em regiões do cérebro ligadas à cognição, humor e recompensa (Heikkila RE, et al., 1975; Bjorklund A, Dunnett SB, 2007; Volkow ND. et al., 2017).

Ambos os receptores canabinoides modulam a via dopaminérgica mesolímbica na VTA (Szabo B. et al., 1999). O receptor CB₁ é expresso em terminais GABAérgicos que se projetam em neurônios dopaminérgicos, onde sua ativação desinibe a via mesolímbica (Szabo B. et al., 1999; Szabo B. et al., 2022). Por outro lado, o receptor CB₂ é expresso nos corpos celulares de neurônios dopaminérgicos, nos quais exercem funções inibitórias (Zhang HY. et al., 2017). Portanto, os receptores CB₁ e CB₂ podem ser ativados simultaneamente por endocanabinoides em uma sinapse na VTA e podem atuar juntos, competitivamente ou com efeitos opostos na atividade dopaminérgica. Essa interação depende, portanto, da localização e distribuição dos receptores (Asth, L. et al., 2022).

O papel dos receptores CB₁ nos efeitos dos psicoestimulantes já foi amplamente abordado (Chaperon et al., 1998, Peters et al., 2021), mas o papel de receptores CB₂ só recentemente está recebendo maior atenção. Tanto a administração periférica, intra-accumbens e intra-VTA de agonistas seletivos CB₂ bloquearam efeitos da cocaína em animais experimentais (Canseco-Alba et al., 2019, Delis et al., 2016, Ignatowska-Jankowska et al., 2013, Lopes et al., 2020). Esta inibição foi revertida pelo agonista inverso AM630 (Delis et al., 2016, Zhang et al., 2014) e ausente em camundongos CB₂ KO (Zhang et al., 2015, Zhang et al., 2014). Estudos de manipulação genética apoiam o papel inibitório de receptores CB₂ na alteração comportamental induzida pela cocaína, uma vez que camundongos com superexpressão exibem uma aversão ao local condicionado e autoadministração reduzida de cocaína (Aracil-Fernández et al., 2012), enquanto a deleção específica do gene para receptores CB₂ em neurônios dopaminérgicos leva a um aumento da CPP induzida por cocaína (Liu et al., 2017).

Evidências apontam que receptores CB₁ e CB₂ têm papéis diferentes e talvez opostos na modulação dos efeitos recompensadores e estimulantes psicomotores da cocaína, como ilustrado na Figura 2.

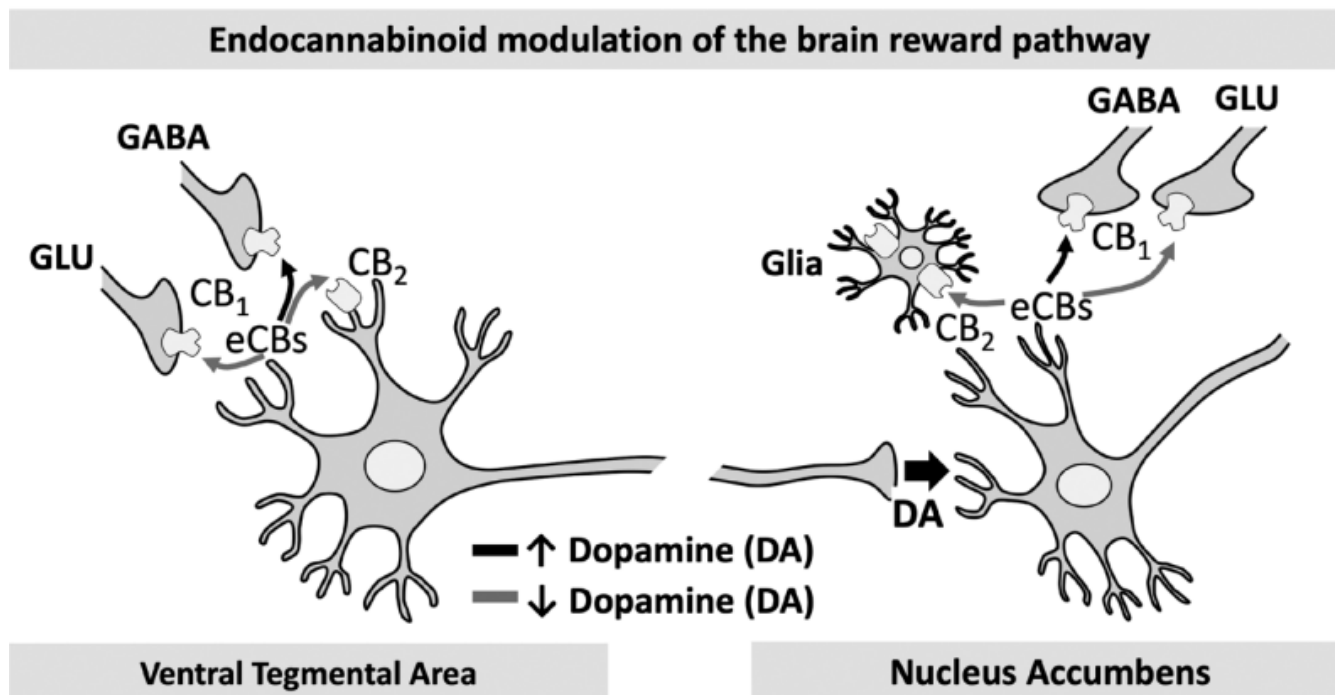


Figura 2. Modulação endocanabinoide da via de recompensa mesolímbica (Asth, L. et al., 2022). Os endocanabinoides são liberados das membranas celulares pós-sinápticas para ativar os receptores canabinoides. Os receptores CB₁ modulam a atividade dopaminérgica através da inibição dos terminais glutamatérgicos e GABAérgicos. A expressão do receptor CB₂ é restrita a células gliais e corpos celulares dopaminérgicos. GLU, glutamatérgico; eCBs, endocanabinoides.

1.4 Modelo de Preferência Condicionada ao Contexto

Além dos efeitos reforçadores e recompensadores da cocaína, os sintomas negativos da abstinência e os diferentes estímulos que levam à recaída são cruciais para a continuidade do consumo, como por exemplo, estímulos estressores e pistas contextuais relacionadas à droga (Koob, GF. et al., 2004; Koob GF, Volkow ND., 2016). Este último, por sua vez, é fundamental em todo o processo desde o consumo inicial da droga até a dependência. Um contexto previamente neutro e suas pistas relacionadas podem se tornar recompensadores (estímulos condicionados) uma

vez que estão associados a drogas de abuso (estímulos interoceptivos incondicionados), precipitando o comportamento de busca de drogas e recaídas. Os subnúcleos específicos da amígdala estão envolvidos no processamento de memórias emocionais associadas ao uso de drogas; o hipocampo na aquisição e recuperação de pistas contextuais previamente pareadas com a droga, que por sua vez pode perpetuar a busca por drogas através de conexões neuronais com a via de recompensa mesolímbica (Asth, L. et al., 2022).

O teste experimental extremamente útil para o estudo da influência do contexto na busca pro drogas é o da preferência condicionada ao contexto (CPP, do inglês “*Conditioned Place Preference*”). Este procedimento avalia o aprendizado relacionado às propriedades recompensadoras de drogas em animais experimentais, como camundongos ou ratos. Ele se baseia no princípio de que o efeito recompensador induzido pelas drogas de abuso atua como estímulo incondicionado, enquanto o lugar ou contexto (previamente neutro) em que a droga foi administrada pode ser um estímulo condicionado, quando pareado à administração da droga (Bardo MT, Bevins RA., 2000).

O aparato para estudo de CPP consiste em uma caixa com compartimentos separados por barras removíveis (Bardo MT e Bevins RA, 2000). Há sempre dois compartimentos, de iguais dimensões, mas que diferem pelas paredes e textura do piso, sem que o animal tenha preferência prévia por um deles. Estes podem ser conectados diretamente ou por um terceiro compartimento, de dimensão menor. Embora os detalhes metodológicos sejam diferentes entre os laboratórios, um experimento típico de CPP consiste em 3 etapas. A primeira é denominada pré-teste ou pré-condicionamento, em que o animal é exposto à caixa de CPP, mas sem a administração de substância. O objetivo é verificar se há ou não preferência prévia por um dos compartimentos. A segunda etapa é o condicionamento, que consiste em administrar ao animal determinada substância

que servirá como estímulo não condicionado (“unconditioned stimulus”, US) e confiná-lo em um dos lados da caixa, cujo contexto servirá como estímulo condicionado (“conditioned stimulus”, CS). Associada com esse pareamento, há uma exposição ao outro contexto (o outro compartimento da caixa), sem o US (o animal recebe apenas administração de veículo). Por fim, é realizado o teste, em que não há administração da droga de abuso e o animal tem a possibilidade de escolha entre os compartimentos da caixa.

O tempo de exploração no lado CS da caixa é quantificado e comparado com o tempo no outro compartimento durante o teste ou com o tempo no mesmo compartimento durante o pré-teste. Um aumento no tempo de exploração no contexto pareado com US (droga) é interpretado como efeito recompensador, enquanto uma redução indica efeito aversivo do estímulo (Cunningham CL. et al. 1995; Cunningham CL. et al. 2006,; Bardo MT, Bevins, RA. 2000). A maioria das drogas de abuso utilizadas por seres humanos produz preferência em animais experimentais (Sanchis-Segura C, Spanagel R, 2006).

A modificação da expressão dos receptores canabinoides influencia nos efeitos da cocaína nas atividades neurais relacionadas à recompensa busca da droga. Em animais experimentais, estudos sugerem que os antagonistas do receptor CB₁ reduzem consistentemente os efeitos de recompensa e reforço induzidos por cocaína, sugerindo um papel modulador para o sistema endocanabinoide na dependência e no TUS (Moreira FA. et al., 2015; Asth, L. et al., 2022). Assim, a cocaína requer ativação do receptor CB₁ para induzir a liberação de dopamina (Cheer JF. et al., 2007). Em relação aos receptores CB₂, são os agonistas que inibem os efeitos comportamentais da cocaína após administrações sistêmicas ou intra-NAc (Lopes JB. et al., 2019). Os resultados de estudos com animais geneticamente modificados demonstram que os camundongos que superexpressam os receptores CB₂ apresentaram aversão, em vez de preferência, após a

administração de cocaína (Aracil-Fernández A. et al., 2012). Dessa forma, as farmacoterapias direcionadas para ambos os receptores despertam muito interesse como potencial tratamento para a dependência de cocaína. Assim, se faz necessário uma compreensão mais detalhada do papel preciso do sistema endocanabinoide nos efeitos da cocaína. Porém, há vários resultados conflitantes e, portanto, o envolvimento do SEC nas respostas à cocaína no modelo do CPP ainda não está esclarecido.

1.5 Memória e Transtorno por Uso de Substâncias

No contexto da neurobiologia comportamental, a formação da memória é um processo multifásico, envolvendo ao menos quatro etapas principais: aquisição, consolidação, evocação e reconsolidação. A fase de aquisição compreende a codificação inicial do estímulo, geralmente acompanhada de ativação sináptica rápida e alterações transitórias na excitabilidade neuronal. Em seguida, a consolidação estabiliza as informações adquiridas por meio de mecanismos dependentes de transcrição gênica e tradução proteica, resultando em modificações duradouras na arquitetura sináptica. A evocação consiste na reativação do traço da memória na presença de estímulos discriminativos, enquanto a reconsolidação, descrita originalmente por Nader et al. (2000), refere-se ao estado temporário de labilidade da memória evocada, período durante o qual ela pode ser atualizada, enfraquecida ou reforçada antes de ser novamente estabilizada (Dudai, 2012; Sara, 2000).

Estudos pré-clínicos em modelos animais têm sido cruciais para a elucidação dos substratos neurais e moleculares dessas fases. Em roedores, há evidências robustas de que a formação de memórias associadas ao uso de drogas, como a cocaína, depende da ativação de estruturas límbicas específicas, incluindo o NAc, o PFC, o hipocampo e a amígdala basolateral (Milton & Everitt,

2010; Blundell et al., 2008). A consolidação e a reconsolidação dessas memórias envolvem a ativação de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, a expressão de genes imediatos e a síntese de proteínas reguladoras da plasticidade sináptica (Tronson & Taylor, 2007). Particularmente no modelo de CPP, essas fases podem ser operacionalizadas experimentalmente, permitindo o estudo da influência farmacológica e comportamental de fármacos em janelas temporais bem delimitadas.

No âmbito do TUS, essas fases da memória são profundamente relevantes. As memórias de recompensa associadas ao uso da droga se tornam altamente salientes e resistentes à extinção, representando um fator de risco substancial para recaídas. Tais memórias podem ser reativadas por pistas ambientais ou emocionais, mesmo após longos períodos de abstinência, indicando uma persistência patológica da evocação e da reconsolidação no TUS (Hyman et al., 2006). A farmacomodulação desses processos, especialmente durante as fases de consolidação ou reconsolidação, tem se mostrado uma estratégia promissora para enfraquecer os traços de memórias disfuncionais que mantêm o ciclo abusivo de TUS (Lee et al., 2017).

Como já elucidado, o sistema endocanabinoide apresenta um papel central nesse contexto. Portanto, compreender as fases da memória e suas relações com os mecanismos neurobiológicos subjacentes ao TUS fornece um arcabouço teórico essencial para o desenvolvimento de intervenções farmacológicas eficazes. O delineamento experimental das fases de aquisição, consolidação, expressão e reconsolidação no modelo de CPP em roedores permite avaliar com alta precisão o impacto de compostos canabinoides sobre a dinâmica das memórias de recompensa, revelando janelas críticas para o redirecionamento terapêutico no TUS.

1.6 Importância da Revisão Sistemática e Metanálise

A revisão sistemática é uma metodologia que visa identificar, avaliar e sintetizar todas as evidências relevantes disponíveis sobre uma questão específica de pesquisa. Diferente das revisões tradicionais, que podem ser subjetivas e seletivas, as revisões sistemáticas seguem um protocolo rigoroso e pré-definido para a busca e análise de dados. Este processo envolve a avaliação crítica por pares em todas as etapas, definição clara dos critérios de inclusão e exclusão dos estudos, a busca em múltiplas bases de dados e da qualidade dos estudos selecionados. O objetivo principal é minimizar vieses e proporcionar uma visão abrangente e imparcial da literatura existente, facilitando a tomada de decisões informadas na prática pré-clínica, clínica e na formulação de políticas públicas (Higgins et al., 2019).

A metanálise é um método estatístico utilizado para integrar os resultados de múltiplos estudos independentes, permitindo uma síntese quantitativa das evidências disponíveis. Esta metodologia é frequentemente aplicada em conjunto com revisões sistemáticas, oferecendo uma estimativa mais precisa e robusta do efeito de uma intervenção ou associação estudada. A metanálise envolve a agregação dos dados de diversos estudos, ponderando-os de acordo com o tamanho amostral e a qualidade metodológica, para gerar uma estimativa combinada. Além disso, a metanálise possibilita a investigação de variáveis moderadoras e a avaliação de heterogeneidades entre os estudos, fornecendo insights adicionais sobre as condições sob as quais os efeitos são mais pronunciados (Gurevitch et al., 2018).

As pesquisas de revisão sistemática e metanálise são ferramentas cruciais no campo da ciência, inclusive em estudos pré-clínicos, onde a heterogeneidade dos dados experimentais pode ser significativa. A revisão sistemática permite a compilação e análise abrangente de todos os estudos relevantes sobre uma determinada questão de pesquisa, minimizando vieses e fornecendo

uma visão ampla e imparcial da literatura existente. Este método rigoroso é essencial para identificar lacunas no conhecimento, avaliar a consistência dos resultados e determinar a robustez das conclusões científicas. Diversos estudos destacam a importância dessas metodologias para aumentar a transparência e reprodutibilidade da ciência pré-clínica, promovendo a confiança nos resultados obtidos (Moher et al., 2009; Hooijmans et al., 2014).

A metanálise, por sua vez, agrega os dados quantitativos de múltiplos estudos independentes, proporcionando uma estimativa mais precisa e geral do efeito de uma intervenção ou fenômeno estudado. Em estudos pré-clínicos, onde a variabilidade inter-estudos pode ser alta devido a diferentes modelos experimentais, condições de teste e populações amostrais, a metanálise se mostra fundamental. Este método não apenas melhora a precisão estatística das estimativas de efeito, mas também permite a avaliação de possíveis fatores moderadores e a investigação de heterogeneidades. A agregação de dados através de metanálises é crucial para identificar tendências robustas que poderiam ser mascaradas em estudos individuais, conferindo uma base sólida para a translacionalidade dos achados para a prática clínica (Gurevitch et al., 2018).

A realização de revisões sistemáticas e metanálises em estudos pré-clínicos também desempenha um papel vital na otimização do uso de recursos. Ao consolidar e sintetizar evidências existentes, essas metodologias evitam a duplicação desnecessária de esforços e direcionam futuras investigações para áreas de maior necessidade e potencial impacto. Este aspecto é particularmente relevante em um cenário de recursos limitados e demanda crescente por resultados científicos eficientes e eficazes. Além disso, a metanálise pode identificar subgrupos específicos onde as

intervenções são mais ou menos eficazes, permitindo um direcionamento mais preciso de futuros estudos pré-clínicos e clínicos (Ioannidis, 2016).

Finalmente, as revisões sistemáticas e metanálises contribuem significativamente para a melhoria das diretrizes e práticas regulatórias em pesquisas biomédicas. A evidência consolidada a partir dessas análises fornece uma base sólida para a elaboração de políticas e recomendações que garantem a segurança e eficácia das intervenções antes de sua aplicação clínica. Além disso, ao promover uma abordagem baseada em evidências, essas metodologias ajudam a mitigar riscos e aumentar a confiabilidade das descobertas científicas, facilitando a transição dos achados pré-clínicos para ensaios clínicos e, eventualmente, para a prática médica. A incorporação de revisões sistemáticas e metanálises nos processos regulatórios reforça a importância de uma base científica robusta e rigorosa para a inovação e avanço da medicina (Higgins et al., 2019).

Diante da relevância do sistema endocanabinoide na modulação das vias de recompensa e dos comportamentos relacionados ao uso de substâncias, postula-se que a manipulação farmacológica deste sistema — particularmente por meio da administração de agonistas do receptor CB₁ e de agonistas do receptor CB₂ — é capaz de modular reduzir os efeitos da cocaína no modelo de CPP. Supõe-se ainda que esses efeitos sejam dependentes do alvo farmacológico específico, do tipo de composto administrado e da fase comportamental analisada, reforçando o potencial do sistema endocanabinoide como alvo promissor para o desenvolvimento de terapias voltadas ao TUS.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral: realizar revisão sistemática e metanálise a fim de elucidar os efeitos de canabinoides e o envolvimento do sistema endocanabinoide nas respostas à cocaína no modelo de CPP.

Objetivos específicos: verificar as ações dos fitocannabinoides THC e CBD; canabinoides sintéticos; agonistas e antagonistas CB₁ e CB₂ e de inibidores da hidrólise de endocannabinoides nos efeitos da cocaína em animais experimentais no modelo de preferência condicionada ao contexto.

3. METODOLOGIA

Este estudo consiste em uma revisão sistemática da literatura e metanálise. As etapas de busca de artigos, seleção, extração e interpretação de dados foram realizadas por duas pesquisadoras independentes: a doutoranda Aline de Castro Santos (AC) e a Dra. Lia Parada Iglesias (LPI), da Universidade de Aarhus, Dinamarca. Em caso de divergências, o auxílio de um terceiro pesquisador, Fabrício de Araújo Moreira (FAM), foi solicitado para se obter um consenso.

O protocolo da revisão foi previamente registrado na plataforma PROSPERO, sob o número de identificação 394127, com o título *“Involvement of the endocannabinoid system in the effect of cocaine in the conditioned place preference model: A systematic review and meta-analysis”*, assegurando transparência e rastreabilidade dos procedimentos adotados.

A busca dos artigos foi realizada por duas revisoras independentes (AC e LPI), no dia 04/06/2021, às 14 horas horário de Brasília (GMT-3). A base de dados *PubMed/Medline* e *Scopus* foram utilizadas para fazer a busca de artigos científicos utilizando-se os termos *“(“conditioned place preference” AND cocaine) AND (cannabinoid* OR endocannabinoid*)”*. A estratégia PICOS foi usada para definir com precisão os critérios de elegibilidade, sendo População (P):

Camundongos ou ratos na idade adulta como sujeitos experimentais; Intervenção (I): Administração aguda de fitocanabinoides THC e CBD, canabinoides sintéticos, agonistas e antagonistas CB₁ e CB₂ e inibidores da hidrólise endocanabinóide sem intervenção prévia à administração ou teste; Comparação (C): Administração do veículo; Resultado (O): Efeitos bifásicos dos canabinóides no modelo CPP; Desenho do estudo (S): Estudos pré-clínicos experimentais originais que avaliam o envolvimento do sistema endocanabinoide nos efeitos de recompensa da cocaína em animais experimentais no modelo CPP.

Foram considerados critérios de exclusão: artigos de revisão, estudos que não testem efeito agudo das drogas anteriormente citadas, estudos em modelos de desenvolvimento gestacional, estudos no qual não demonstraram a preferência induzida por cocaína, estudos que avaliaram se o canabinoide facilitou a preferência condicionada ao contexto induzida por doses subefetivas de cocaína, estudos feitos em animais experimentais que não sejam roedores e estudos que avaliaram o comportamento em outro modelo que não o de preferência.

Após a busca, a seleção dos artigos foi realizada e, em seguida, os dados foram extraídos e tabulados em uma planilha do *ExcelTM* com as variáveis: referência (ano; autor), modelo animal (espécie; linhagem; sexo), cocaína (via de administração; dose), tratamento (nome da droga; alvo; dose; via de administração; tempo antes do comportamento; fase de administração), protocolo de CPP (compartimentos; dias de condicionamento; tempo de condicionamento; tempo de pré teste; tempo de teste; extinção; reintegração). Após a tabulação, os artigos foram agrupados buscando manter homogeneidade dentro do mesmo grupo, para isso, foi feito um levantamento considerando a variável utilizada para quantificar o CPP.

Nos casos em que os artigos selecionados apresentavam dados incompletos ou insuficientes para o cálculo do tamanho do efeito, tentamos contato direto com os autores correspondentes, por meio dos endereços eletrônicos fornecidos nas publicações. A solicitação de dados adicionais foi realizada de forma padronizada e foram aguardadas respostas por um período de até 30 dias. Apenas após o esgotamento desse prazo, e na ausência de retorno, é que tais estudos foram excluídos da análise quantitativa, embora registrados no banco de dados da revisão sistemática. Essa estratégia foi adotada para assegurar a transparência e o rigor científico do processo, evitando a exclusão precoce de dados relevantes e reduzindo potenciais vieses de seleção.

A etapa final consiste na análise estatística, que foi realizada por meio do software *Rstudio* de metanálise, um conjunto de métodos quantitativos utilizados para combinar, resumir e interpretar imparcialmente todas as evidências disponíveis provenientes da revisão sistemática. O software em questão, que utiliza a linguagem estatística R, foi utilizado pelo seu reconhecimento internacional, robustez e flexibilidade na manipulação de dados e geração de gráficos de forma gratuita. Para isso, os dados graficamente expressos foram extraídos através do *WebPlotDigitizer* e tabulados em uma nova planilha do *ExcelTM*, incluindo: média (M) dos grupos controle e experimental, SD (Desvio Padrão da Média) dos grupos controle e experimental, número de animais (N) utilizados nos grupos controle e experimental, SEM (Erro Padrão da Média) dos grupos controle e experimental e a variável CPP (unidade de quantificação do CPP).

O método de distribuição normal dos dados foi adotado, pois foi uma coleta aleatória de dados de diferentes fontes. Quando há seleção deste modelo, considera-se o fato de que os tamanhos de efeito mostram mais variância se comparado aos extraídos de uma única população homogênea e os valores discrepantes com tamanhos de efeito muito altos são perdidos no efeito agregado. A partir disso, quantificamos a heterogeneidade entre os estudos, que é a extensão em

que os tamanhos de efeito reais variam dentro de uma metanálise. Após a obtenção deste valor, será realizado o cálculo de ajuste de de Hartung-Knapp-Sidik-Jonkman para reduzir a chance de falsos positivos (Harrer M. et al., 2021).

Com base no modelo de efeitos aleatórios, existem duas fontes de variação que ocasionam em divergência de efeitos observados entre estudos. Há o erro de amostragem e o erro causado pela heterogeneidade entre os estudos. Dessa forma, utilizamos o Método Q de Cochran para distinguir o erro de amostragem da heterogeneidade real entre os estudos. O teste parte do pressuposto que os achados dos estudos primários são iguais (hipótese nula) e verifica-se os dados encontrados refutam esta hipótese. Se a hipótese nula for confirmada, os estudos são considerados homogêneos ($p > 0,05$) (Harrer M. et al., 2021).

A estatística I^2 descreve a proporção da variação total da heterogeneidade. A estatística I^2 é obtida a partir da estatística do teste Q de Cochran e do número de estudos envolvidos na metanálise. Uma escala com um valor de I^2 próximo a 0% indica não heterogeneidade entre os estudos, próximo a 25% indica baixa heterogeneidade, próximo a 50% indica heterogeneidade moderada e próximo a 75% indica alta heterogeneidade entre os estudos (Harrer M. et al., 2021).

Ao se avaliar a heterogeneidade em uma metanálise, é fundamental empregar medidas estatísticas que sejam robustas e minimamente influenciadas pelo poder estatístico da amostra. O teste Q de Cochran, embora amplamente utilizada, apresenta sensibilidade ao número de estudos incluídos na análise, bem como ao tamanho amostral e à precisão das estimativas de cada estudo. Dessa forma, sua interpretação isolada pode ser enganosa, especialmente em metanálises com elevado número de estudos ou grande variabilidade nas amostras. O aumento do valor de Q em

tais situações reflete tanto variações reais quanto artefatos estatísticos, razão pela qual sua utilização deve ser acompanhada de medidas complementares (Harrer M. et al., 2021).

Nesse contexto, o índice I^2 representa uma ferramenta mais adequada para quantificar a proporção da variabilidade total entre os estudos que não pode ser atribuída ao erro amostral. O I^2 não é influenciado pelo número de estudos incluídos na análise e fornece uma estimativa percentual direta da heterogeneidade real. Ainda assim, é importante reconhecer que o I^2 também não constitui uma medida perfeita, pois depende diretamente da estatística Q e, portanto, de sua variância. Dado que nenhuma medida isolada é inteiramente suficiente, recomenda-se o uso conjunto dessas métricas para uma avaliação mais acurada da heterogeneidade entre os estudos (Harrer M. et al., 2021).

Para superar as limitações associadas à inferência estatística baseada apenas no efeito agregado, foram também calculados intervalos de predição (PI). Diferentemente dos intervalos de confiança, que estimam a precisão da média dos efeitos observados, os intervalos de predição refletem a distribuição esperada de efeitos em estudos futuros, levando em conta a variabilidade entre os estudos já existentes. Um intervalo de predição situado inteiramente no lado do efeito favorável à intervenção sugere que, mesmo diante da heterogeneidade observada, espera-se que estudos subsequentes mantenham um efeito consistente em magnitude e direção. Essa abordagem amplia a relevância prática dos achados da metanálise e contribui para maior aplicabilidade translacional dos resultados (Harrer M. et al., 2021).

Todas essas técnicas estatísticas foram adotadas com o objetivo de estimar de maneira mais imparcial e precisa o tamanho médio do efeito populacional. No entanto, mesmo a estimativa mais robusta estará sujeita a distorções caso a amostra de estudos incluídos seja enviesada. Viés de

publicação é um dos principais riscos nesse sentido, caracterizando-se pela tendência de que apenas estudos com resultados estatisticamente significativos sejam publicados e indexados em bases de dados científicas. Isso pode comprometer substancialmente a validade dos resultados da metanálise (Harrer M. et al., 2021).

Para investigar a presença de viés de publicação, foram utilizadas duas abordagens complementares. Primeiramente, realizou-se uma avaliação qualitativa da simetria dos estudos em gráfico em funil. Nesse tipo de gráfico, distribuições assimétricas sugerem a possível presença de viés, geralmente em função da ausência de estudos com pequeno tamanho amostral e efeitos nulos ou negativos. Para complementar essa análise e reduzir inferências subjetivas, foi realizado o teste de regressão de Egger, que fornece uma estimativa quantitativa da assimetria. Valores próximos de zero indicam ausência de viés, enquanto valores superiores a 1,96 sugerem viés de publicação estatisticamente significativo (Harrer M. et al., 2021).

Por fim, todos os gráficos de floresta, tanto o gráfico global quanto os gráficos de subgrupos, foram gerados no RStudio utilizando os pacotes dmetar. Esses gráficos foram empregados para representar visualmente os efeitos agregados de cada estudo individual e seus respectivos intervalos de confiança (IC), bem como para comparar as intervenções de acordo com o alvo farmacológico, o tipo de composto e a fase comportamental do protocolo CPP. A estrutura gráfica padronizada permite a identificação imediata da direção e magnitude dos efeitos e a visualização da heterogeneidade entre os estudos incluídos.

4. RESULTADOS

Dos 125 artigos encontrados através das bases de dados citadas anteriormente, 16 foram incluídos para a realização da revisão sistemática e metanálise, conforme representado na Figura 3.

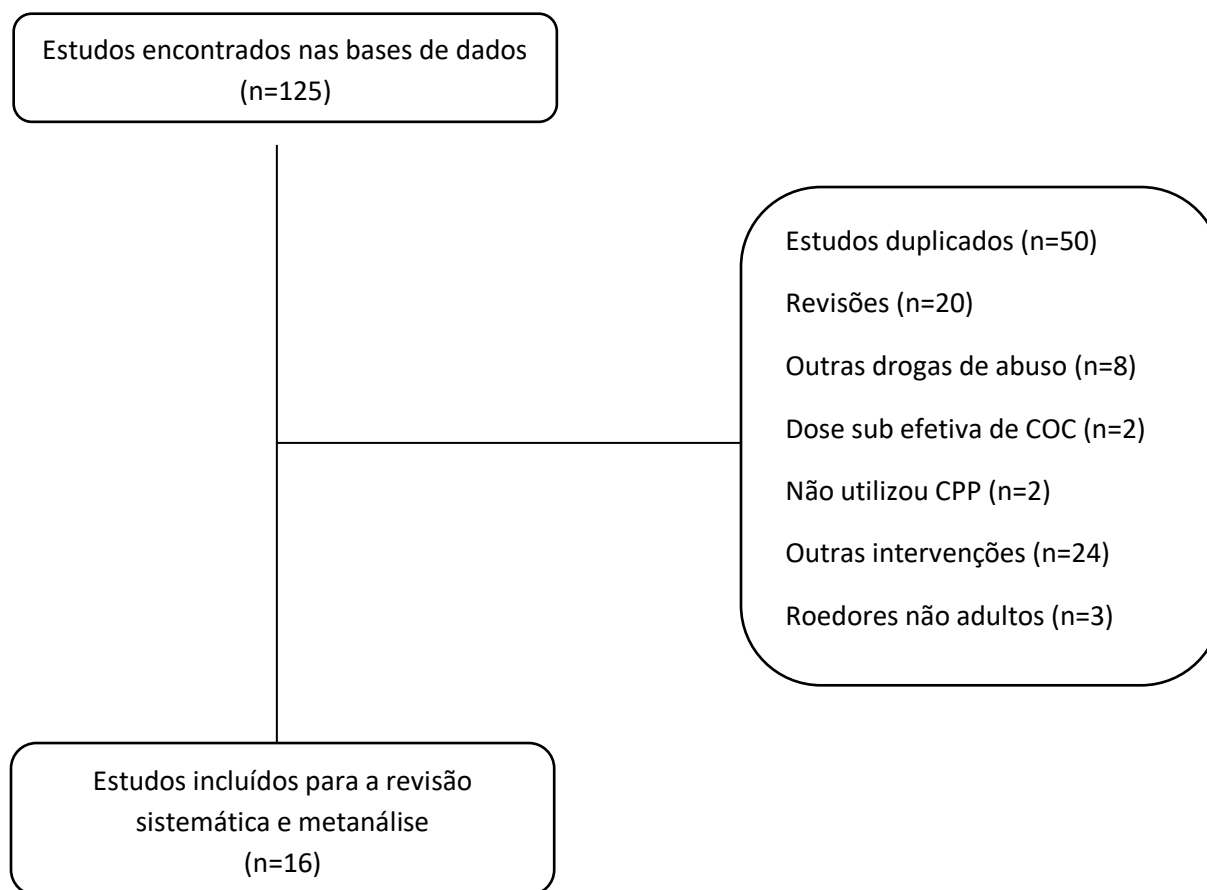


Figura 3. Fluxograma indicando o número de estudos identificados, excluídos na fase de triagem e incluídos na revisão sistemática e metanálise.

Estes estudos primários selecionados contêm um total de 72 grupos experimentais. Os principais critérios extraídos destes grupos estão representados nas Figuras 4-18.

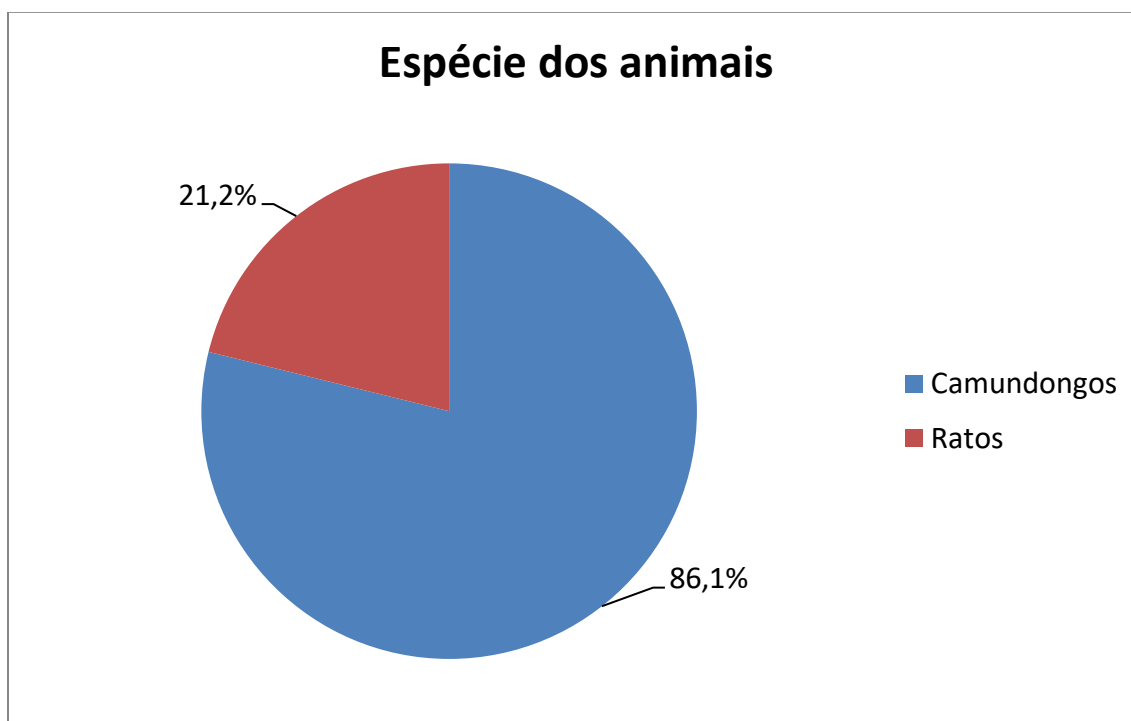


Figura 4. Porcentagem das espécies de animais utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

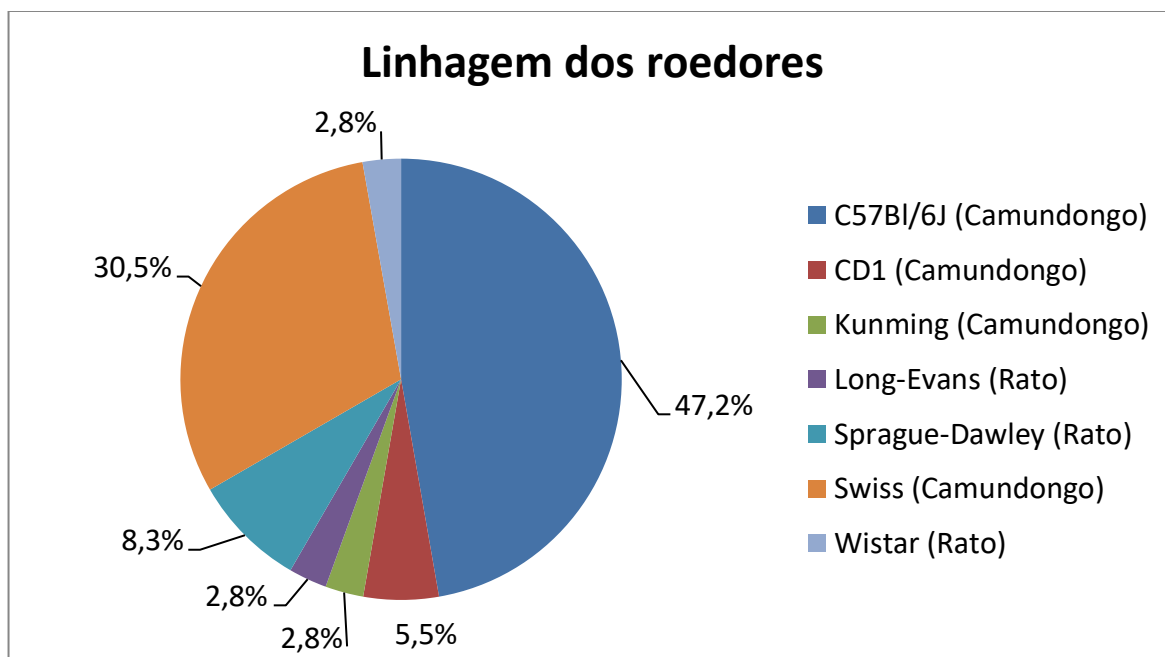


Figura 5. Porcentagem das linhagens dos animais utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

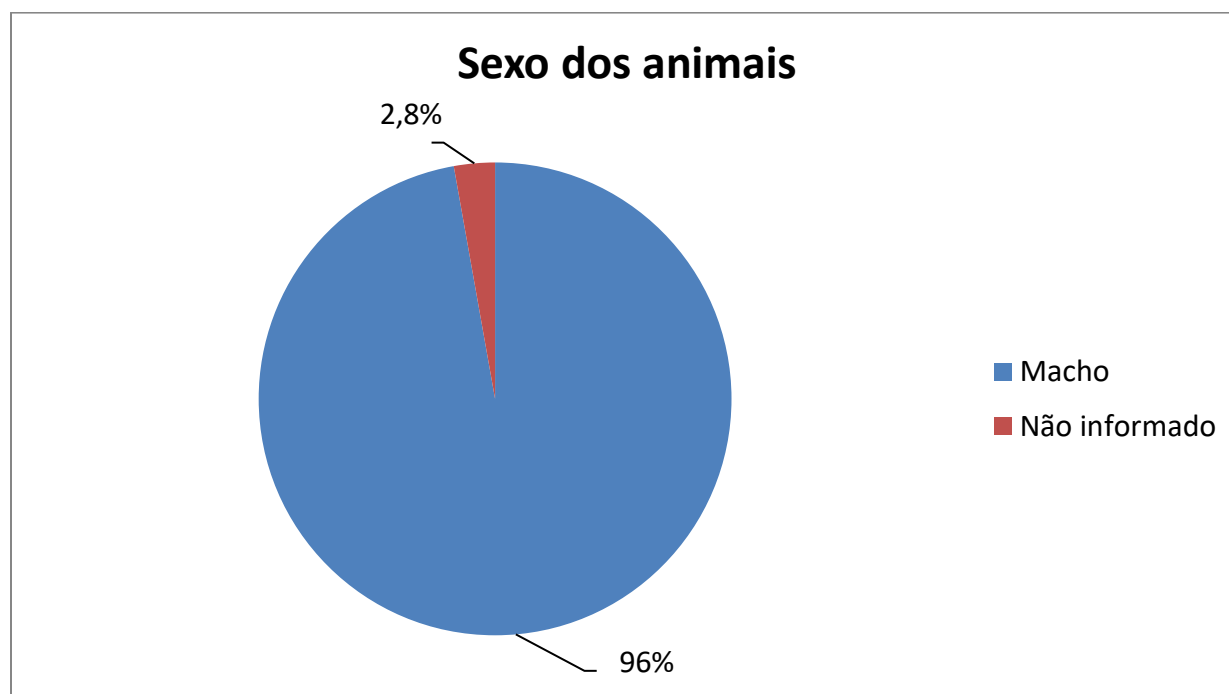


Figura 6. Porcentagem do sexo dos animais utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

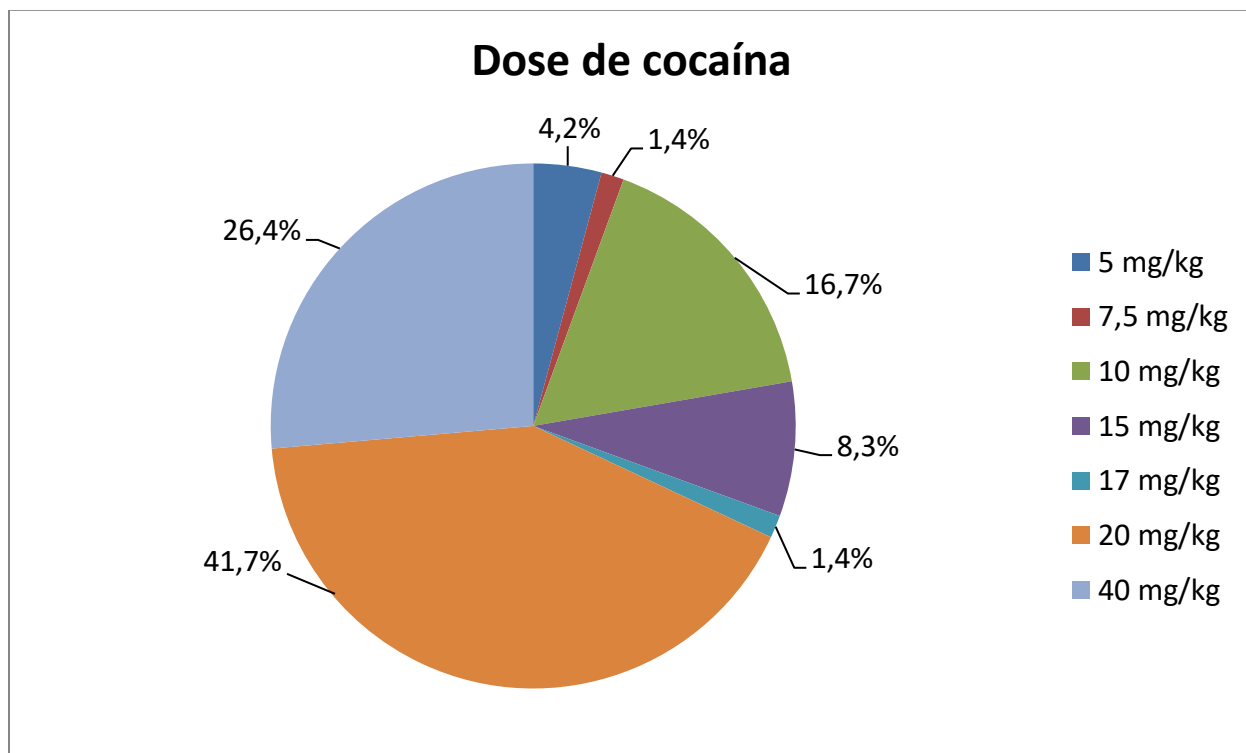


Figura 7. Porcentagem das doses de cocaína utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

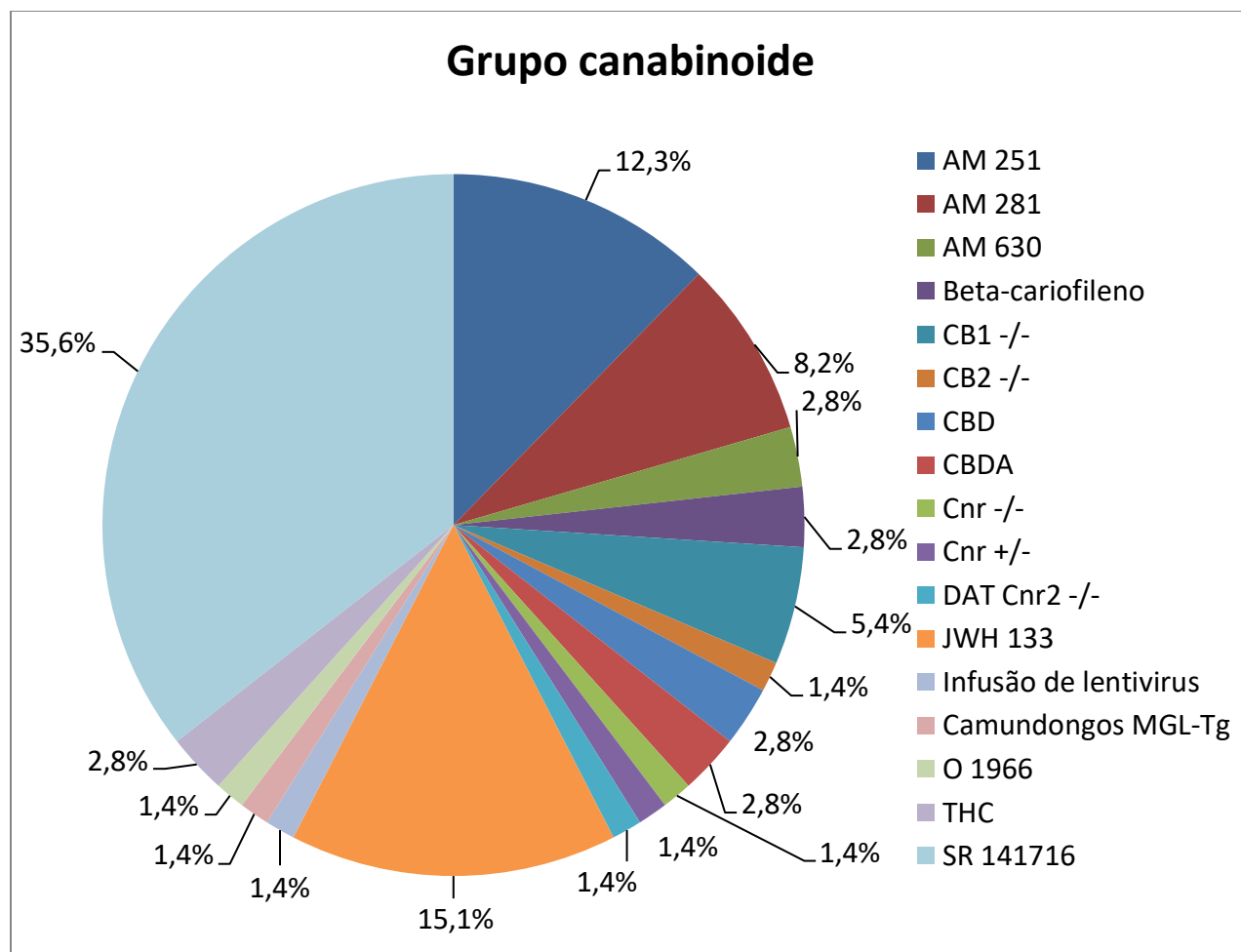


Figura 8. Porcentagem de grupos canabinoides utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

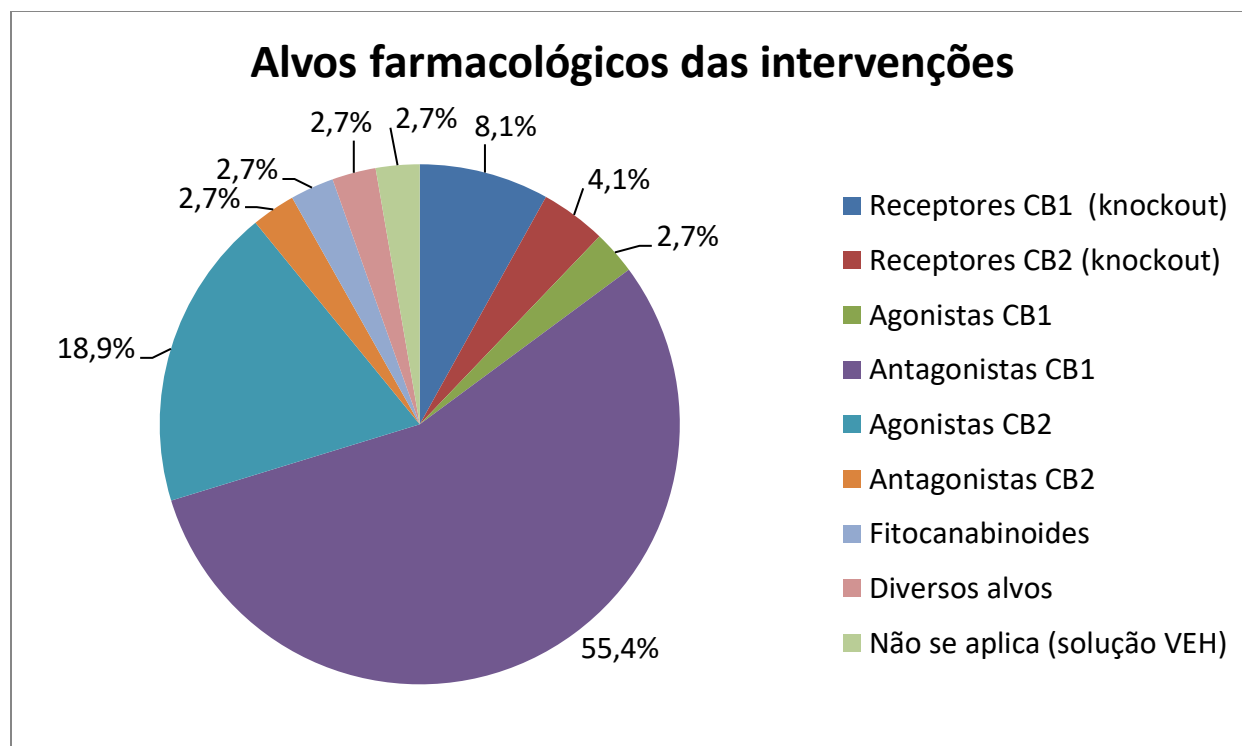


Figura 9. Porcentagem dos alvos farmacológicos das intervenções utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

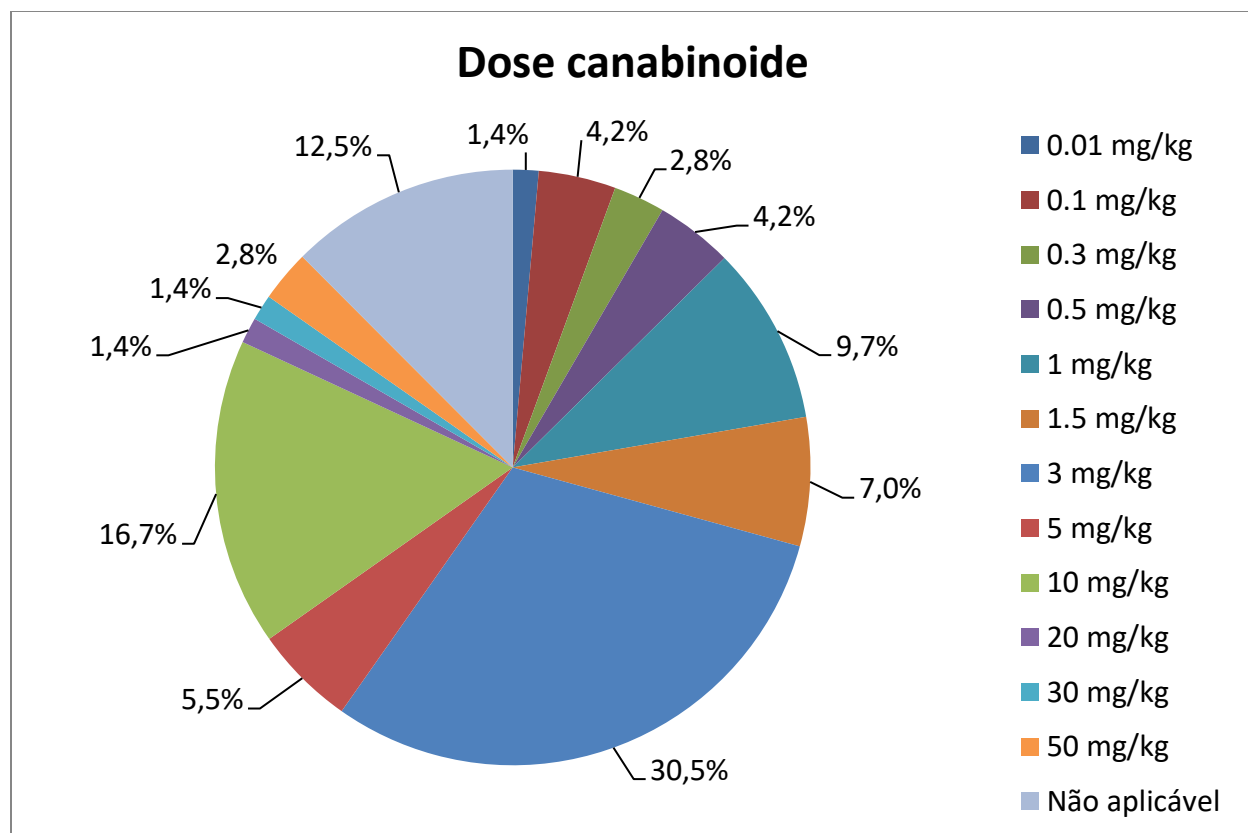


Figura 10. Porcentagem das doses canabinoides utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

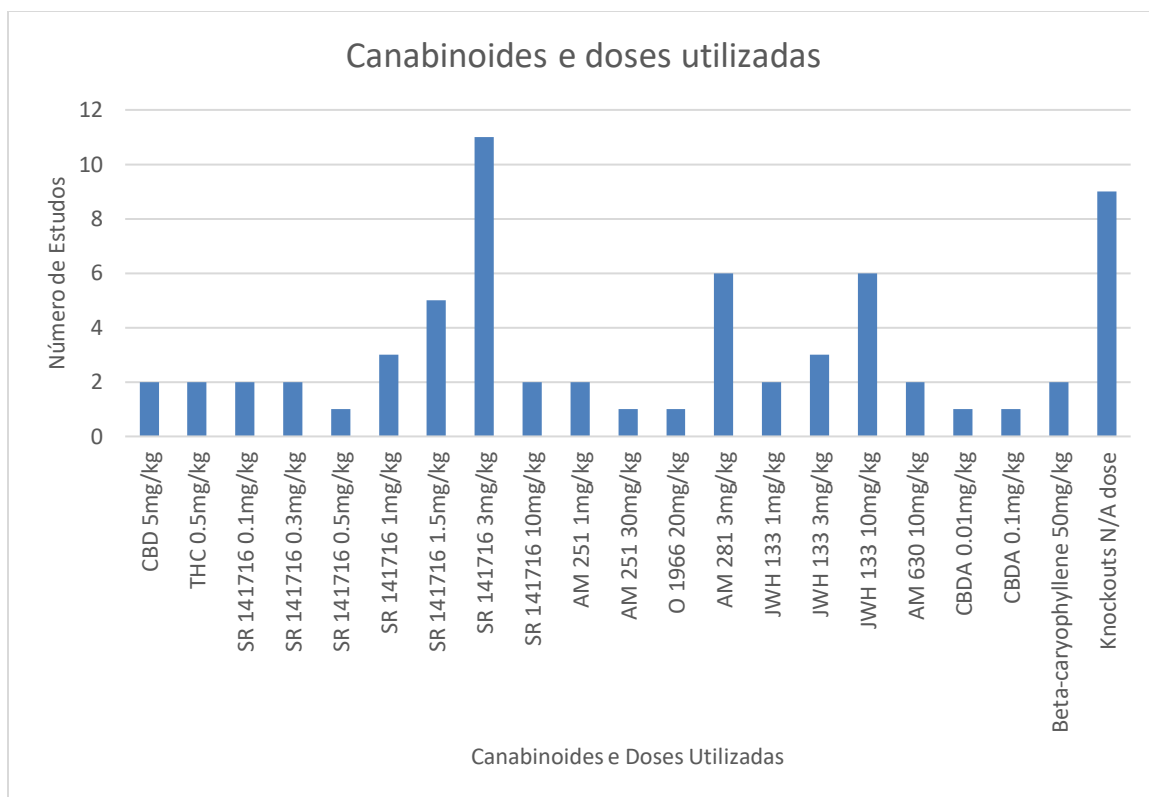


Figura 11. Relação do número de estudos e canabinoides utilizados com as doses referentes.

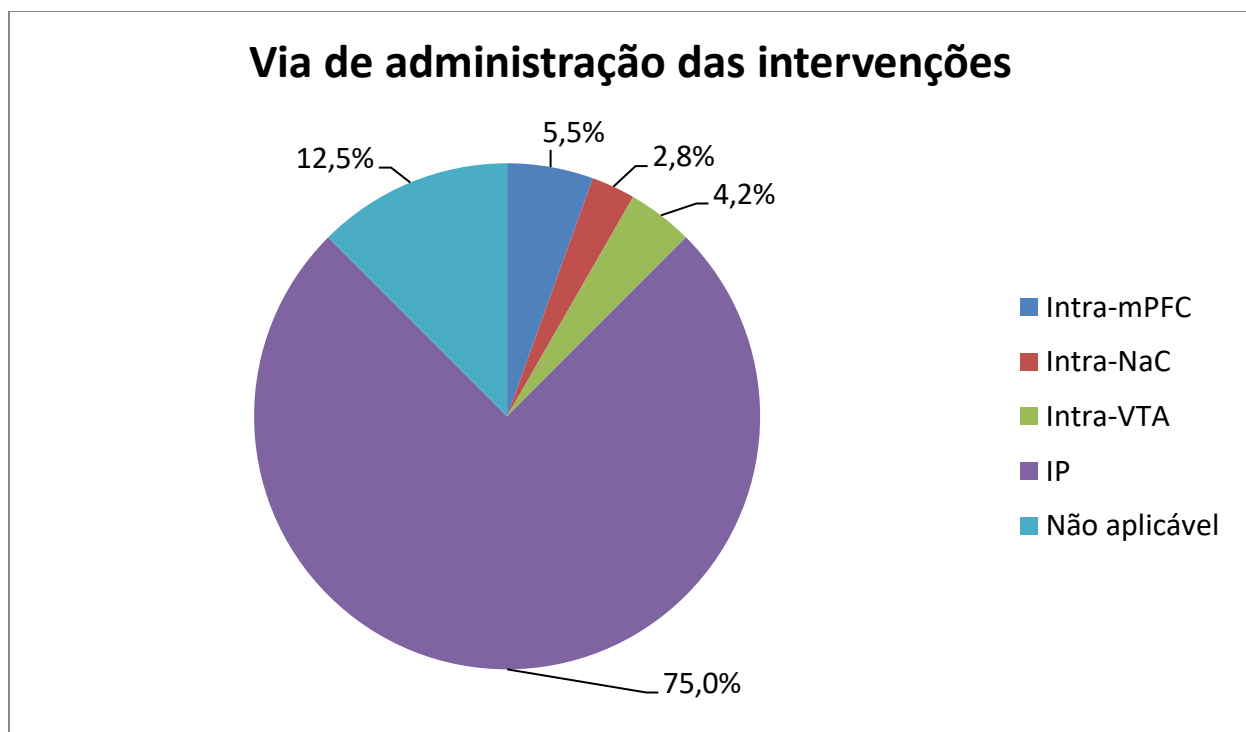


Figura 12. Porcentagem das vias de administração das intervenções utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

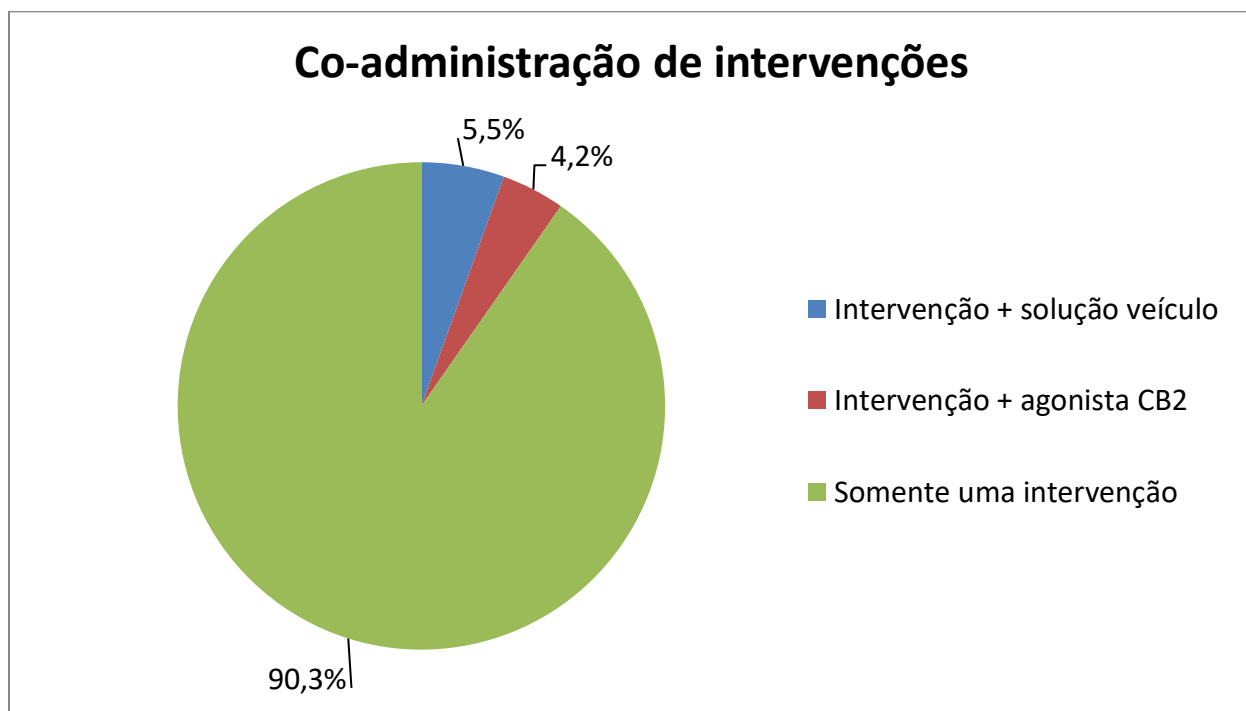


Figura 13. Porcentagem de co-administração de intervenções utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

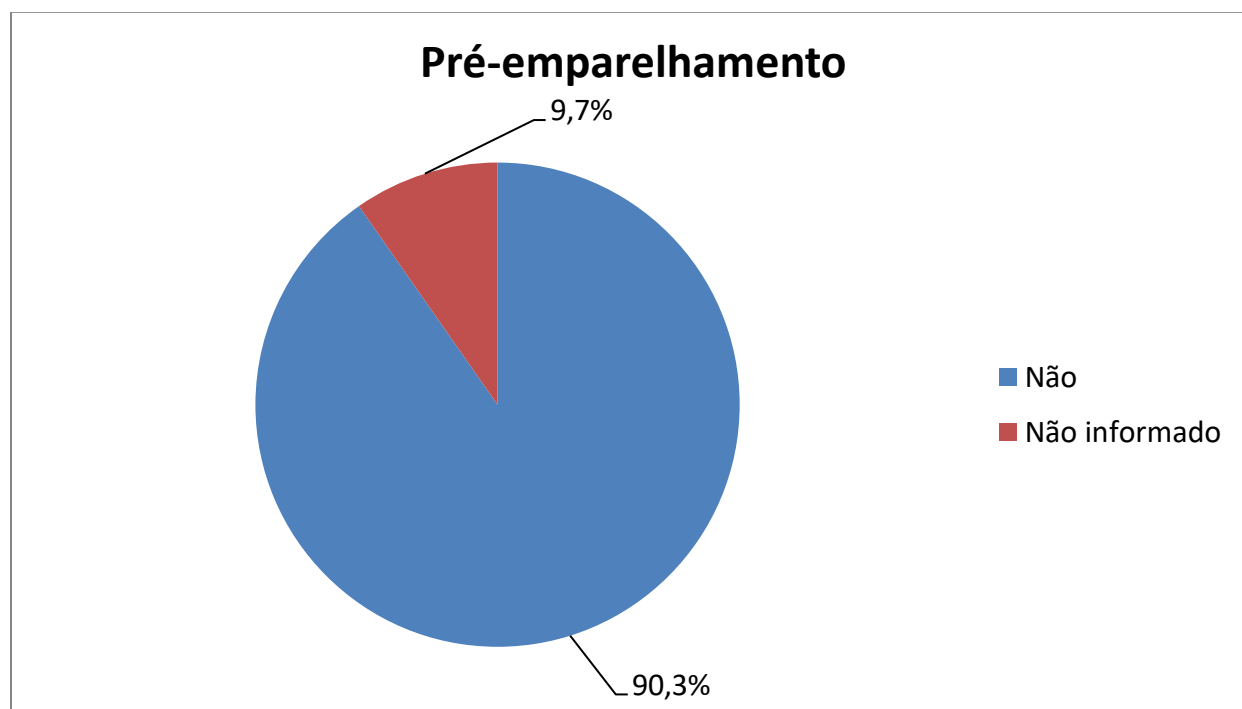


Figura 14. Porcentagem de estudos que utilizaram pré-emparelhamento, que tem como objetivo avaliar as preferências naturais dos animais pelos ambientes utilizados no estudo, antes de qualquer intervenção farmacológica ou exposição a estímulos recompensadores, nos grupos experimentais dos estudos primários.

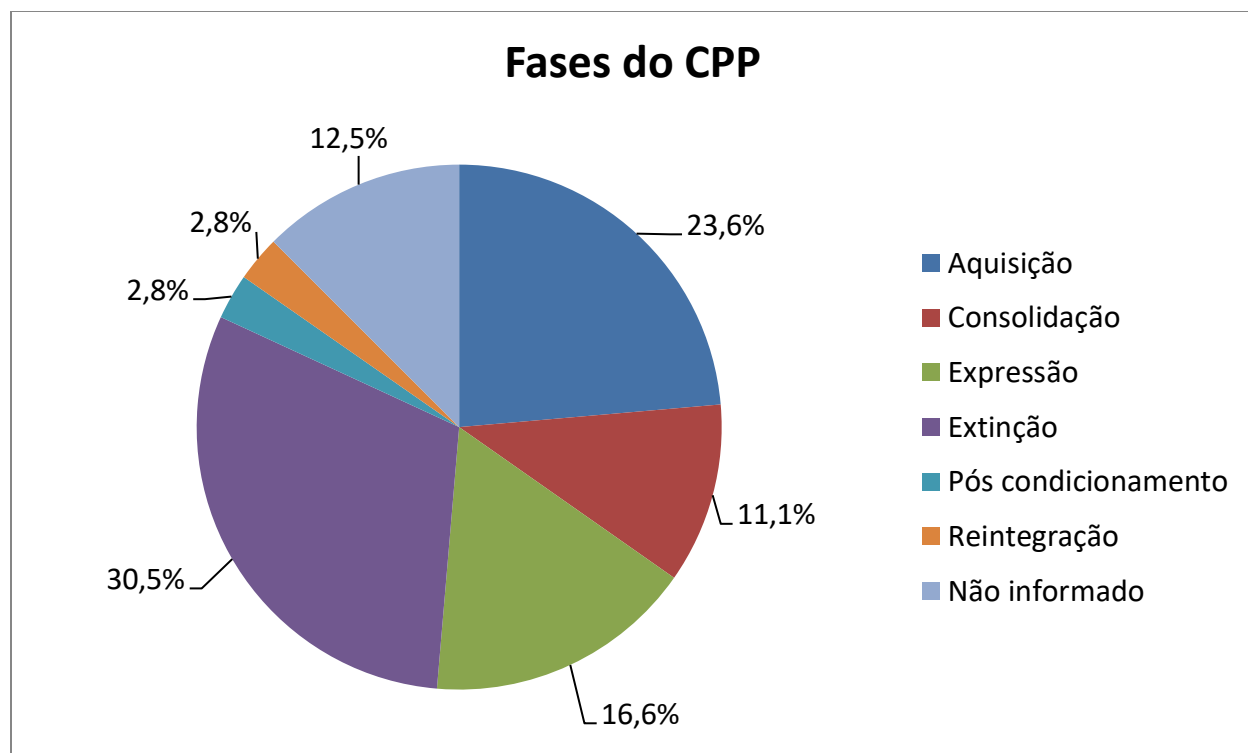


Figura 15. Porcentagem das fases do CPP utilizadas nos grupos experimentais dos estudos primários.

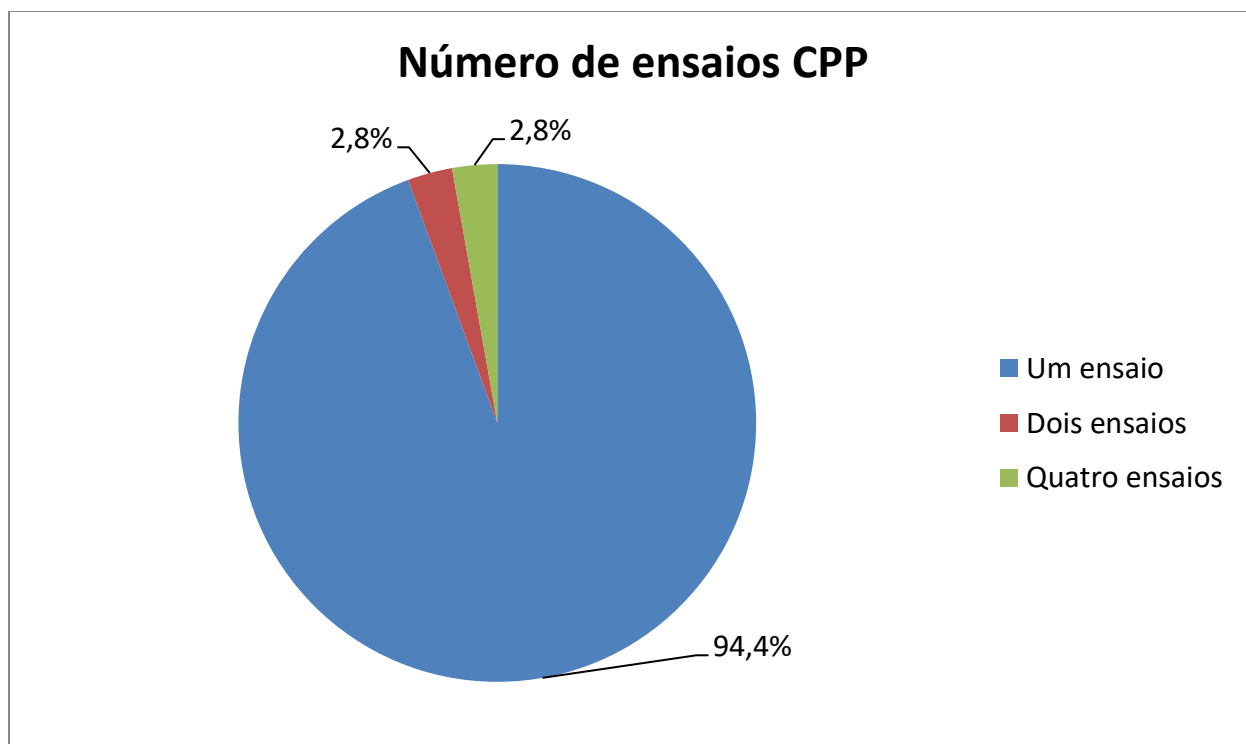


Figura 16. Porcentagem do número de ensaios utilizados nos grupos experimentais dos estudos primários.

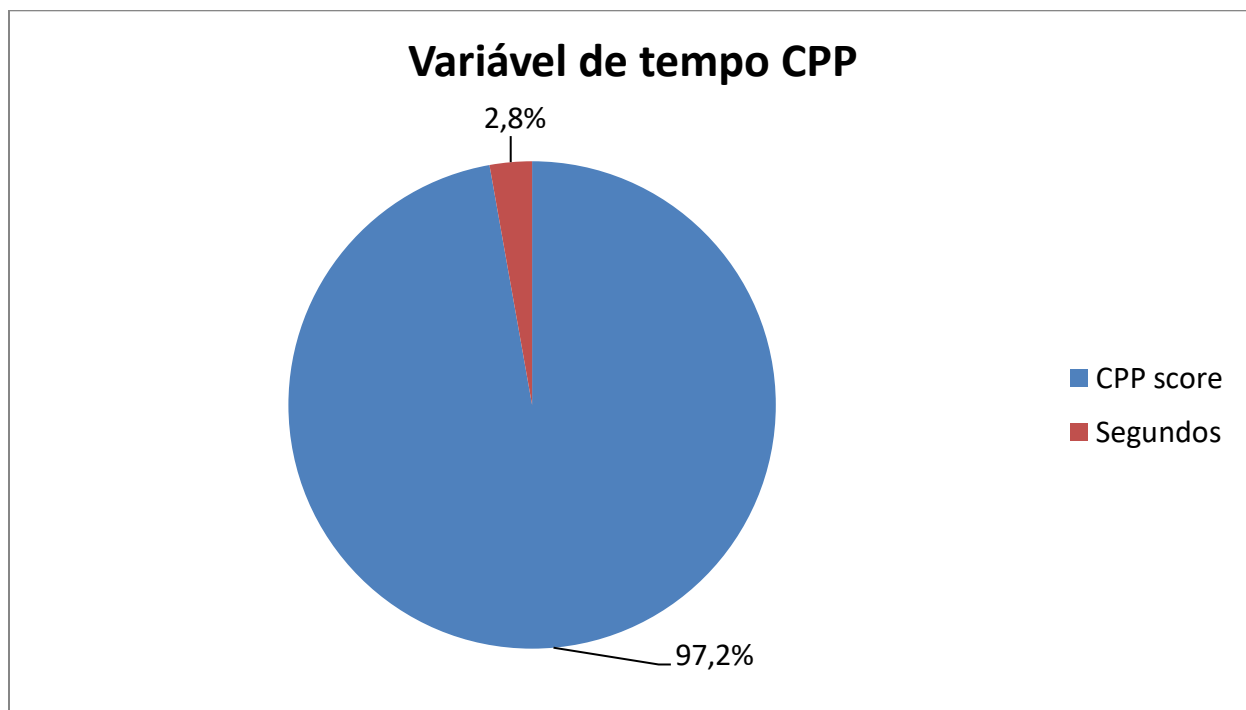


Figura 17. Porcentagem das variáveis de tempo utilizados no CPP nos grupos experimentais dos estudos primários.

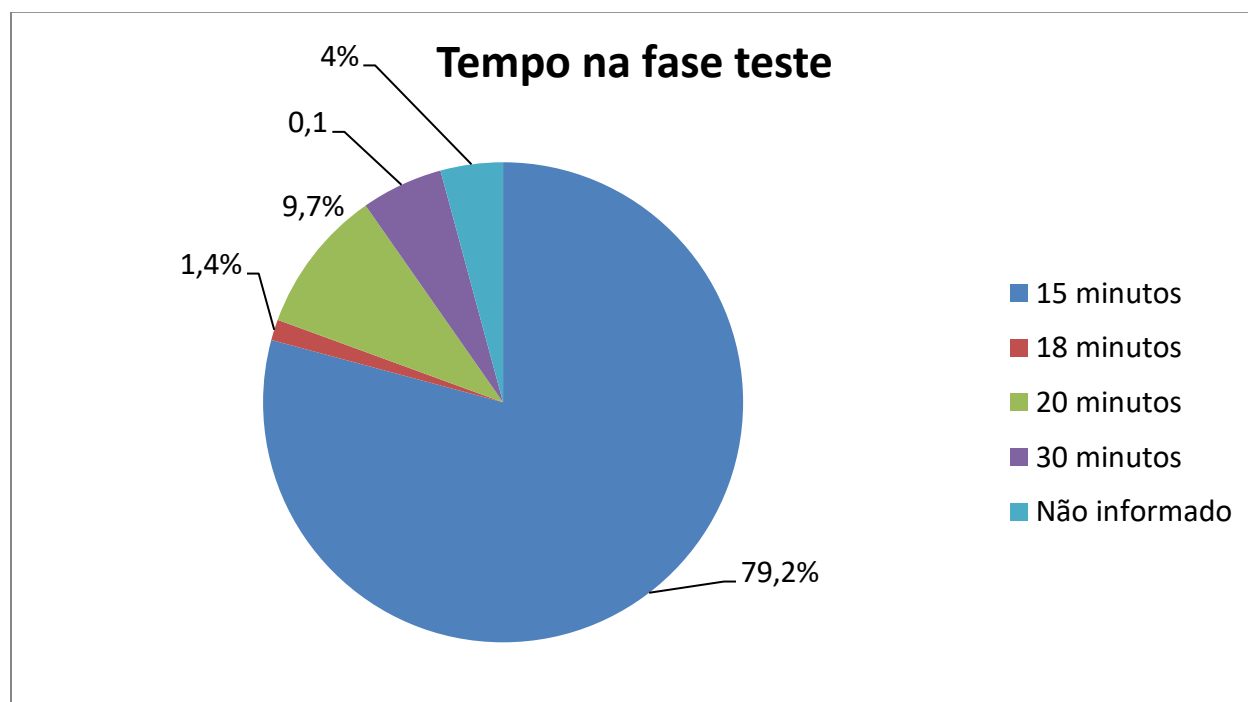


Figura 18. Porcentagem tempo em minutos utilizados no CPP nos grupos experimentais dos estudos primários.

Os resultados da metanálise estão apresentados da seguinte forma: Na parte inferior do gráfico de floresta, uma forma de losango representa o efeito médio. O comprimento do diamante simboliza o intervalo de confiança do resultado agrupado no eixo X e a linha de referência vertical indica o ponto no eixo X igual a nenhum efeito. Outros gráficos também foram gerados para uma análise mais ampla, de acordo com o receptor alvo, fase do CPP e grupo farmacológico.

Foram utilizadas estimativas de diferença média padronizada (SMD), com cálculo baseado em variância inversa e modelo de efeitos aleatórios, acompanhadas dos respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%) e índice de heterogeneidade (I^2).

O gráfico de floresta, corresponde à Figura 19, mostra que o deslocamento do losango à esquerda da linha de nulidade confirma que a intervenção foi superior quando comparada aos grupos controle. O IC95% entre $-0,65$ e $-0,20$, indica uma redução estatisticamente significativa da CPP nos grupos que receberam intervenção, confirmando a hipótese inicial sobre o papel funcional do sistema endocanabinoide na modulação do comportamento de recompensa a cocaína no modelo de CPP.

A heterogeneidade estatística foi substancial, com um índice $I^2 = 71\%$, indicando que a variabilidade entre os efeitos observados não se explica apenas por erro amostral, mas por diferenças reais entre os estudos, dessa forma, realizamos análises estratificadas por tipo de alvo farmacológico, intervenção e fase comportamental, para melhor compreensão da variabilidade observada.

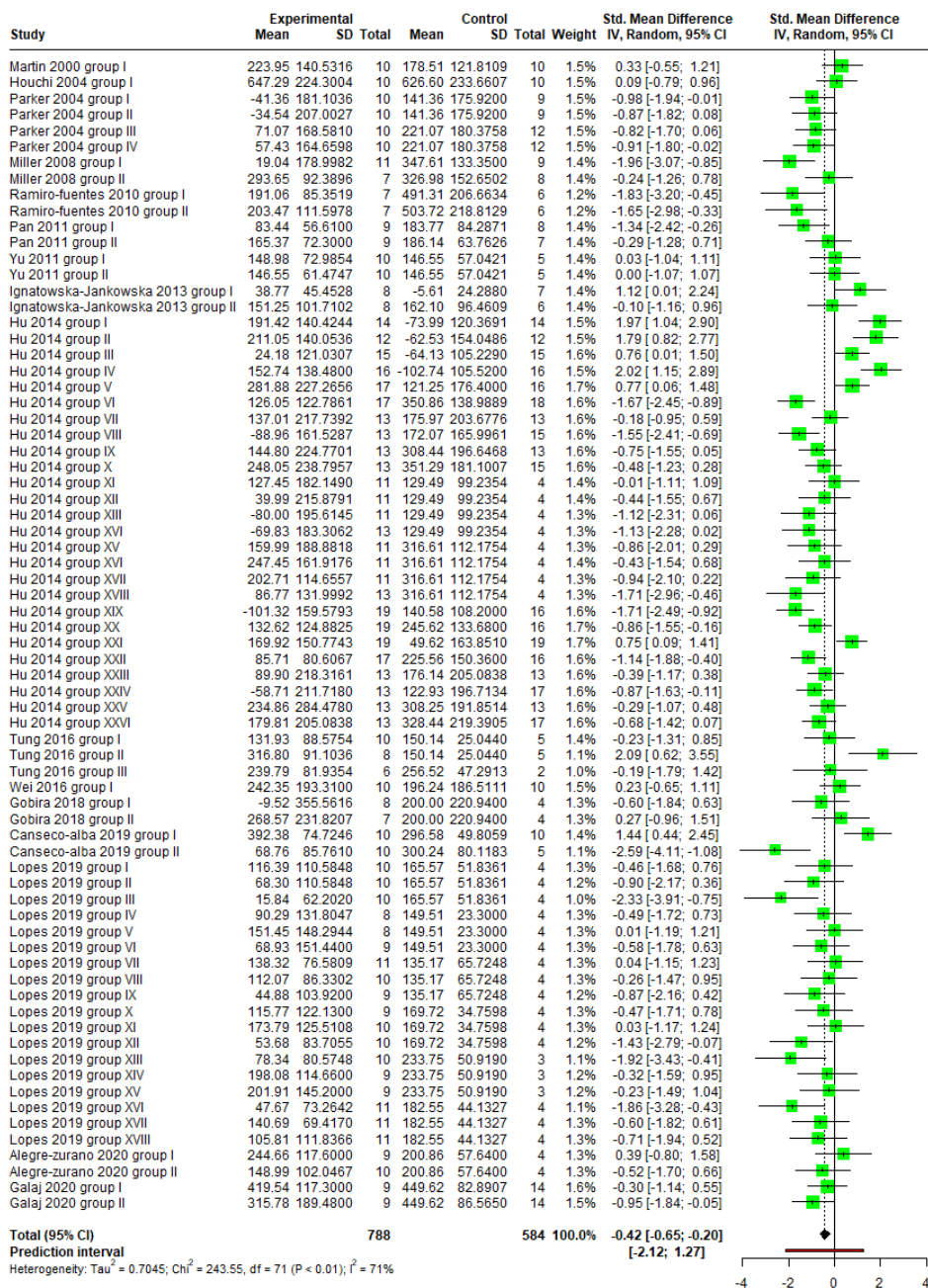


Figura 19. Gráfico de floresta global.

De acordo com a Figura 20, podemos observar dados estatísticos relevantes sobre cada grupo abrangendo os receptores alvo (alvos CB₁, diversos receptores alvo, CB₁ agonista, CB₁ antagonista, CB₂ agonista, alvos CB₂, CB₂ antagonista e fitocanabinoides), incluindo valores de

efeito e intervalos de confiança. No grupo CB₁, o tamanho do efeito não apresentou uma significância estatística. Especificamente, o IC95% inclui o valor nulo (0), indicando que os resultados são inconclusivos para uma eficácia clara dos alvos CB₁ no manejo do TUS. Esse achado é coerente com a literatura, que frequentemente mostra uma resposta variável no uso de agonistas e antagonistas do CB₁ (Volkow et al., 2014).

A presença de ICs amplos nesse grupo sugere alta variabilidade entre os estudos, possivelmente devido a diferenças nas dosagens, modelos experimentais e protocolos de intervenção, o que eleva a heterogeneidade. O I² reflete essa inconsistência, que na maioria dos casos ultrapassa 70%, reforçando a necessidade de padronização metodológica em estudos sobre os alvos CB₁.

O grupo que analisa as intervenções ligantes em múltiplos alvos canabinoides, apresentou um tamanho de efeito maior do que o grupo CB₁ isolado, com um deslocamento mais pronunciado no gráfico. Ainda assim, o IC95% inclui o valor nulo, o que indica falta de significância estatística robusta. A ausência de heterogeneidade I² = 0% sugere alta uniformidade metodológica ou de efeito entre os estudos, isso reflete os resultados de subgrupos de um mesmo estudo. Essa variabilidade é compatível com achados na literatura, que destacam que a utilização de drogas que se ligam em vários alvos podem ter efeitos inconsistentes devido à complexidade do sistema endocanabinoide e sua interação com sistemas neuroquímicos relacionados ao comportamento de busca por drogas (Freels et al., 2020).

O grupo de agonistas CB₁ mostrou um tamanho de efeito estatisticamente significativo, com um IC95% que não cruza o valor nulo, com a ausência de heterogeneidade I² = 0%. No grupo de antagonistas CB₁, o tamanho de efeito sugere uma redução do CPP, o losango está deslocado à

esquerda e o IC95% não cruza o zero. O valor de I^2 neste grupo é elevado, 77%, o que sugere grande variabilidade nos resultados.

Os antagonistas CB_2 apresentaram um efeito estatisticamente nulo, com IC95% cruzando amplamente a nulidade, indicando falta de significância estatística e alta imprecisão. O resultado sugere uma ausência de efeito significativo no CPP, ainda que os dados tenham baixa heterogeneidade. Esse resultado é coerente com a literatura, onde os antagonistas CB_2 apresentam pouca eficácia para modular comportamentos relacionados ao TUS (Onaivi et al., 2018).

Os agonistas CB_2 apresentaram um deslocamento levemente positivo na redução do CPP, embora o IC 95% novamente cruze o valor nulo. A literatura indica que os agonistas CB_2 podem reduzir a neuroinflamação e os comportamentos associados ao TUS, mas os efeitos observados ainda são limitados (Atwood et al., 2020). O valor de I^2 de 52% indica variabilidade significativa entre os estudos, o que pode estar relacionado às diferentes abordagens entre os estudos. Para o grupo fitocanabinoides, incluindo THC e CBD, também há ausência de significância estatística.

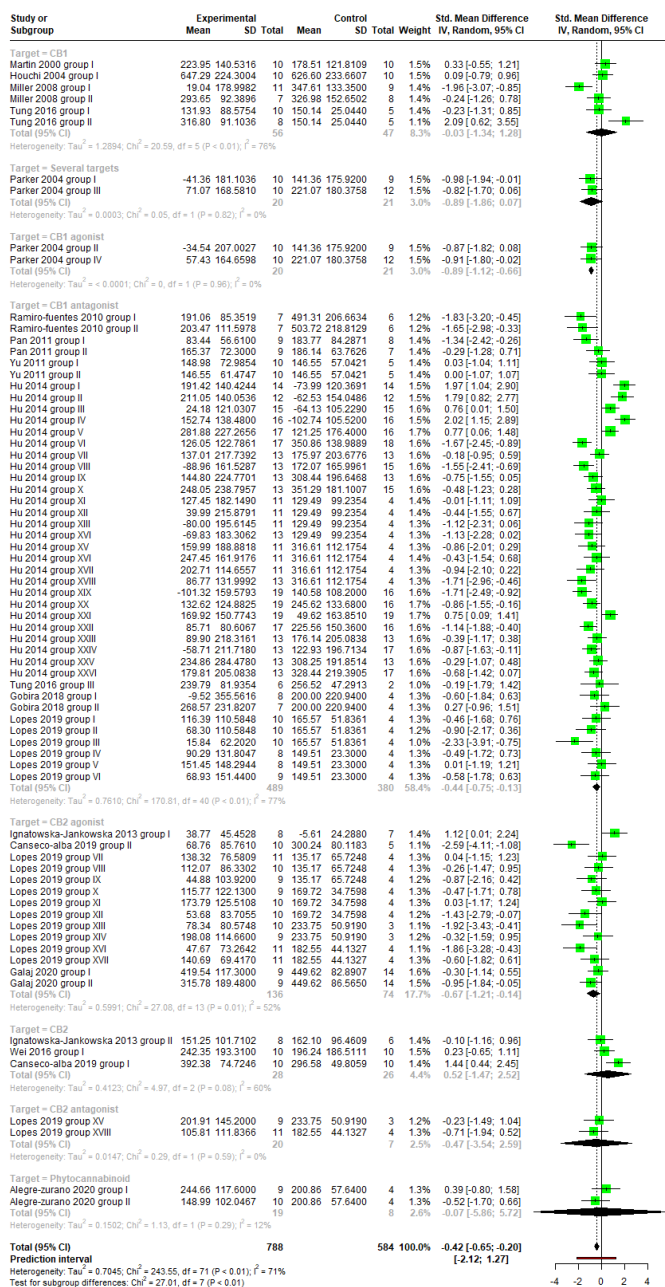


Figura 20. Gráfico de floresta subgrupo alvos farmacológicos.

Na Figura 21, o gráfico foi dividido em sete categorias relacionadas às fases do CPP: fase não informada no estudo, extinção, pós-condicionamento, aquisição, expressão, reintegração e

consolidação. Os valores estatísticos e significância apresentados indicam uma modulação fase-específica dos receptores endocanabinoides, nas diferentes etapas do CPP para a cocaína.

Na categoria “não informado”, os estudos apresentam um conjunto de dados onde as fases do CPP não foram especificadas. A análise sugere uma alta variabilidade, possivelmente causada pela falta de uniformidade nos protocolos experimentais. Isso limita a interpretação, pois as fases do CPP apresentam mecanismos neurofisiológicos distintos.

Durante a fase de extinção, observou-se $SMD = -0,88$, com IC de 95% entre $-0,99$ e $-0,60$, e ausência de heterogeneidade. Esse resultado indica uma redução estatisticamente significativa e altamente consistente da CPP, sugerindo que as intervenções facilitam o processo de extinção da memória de recompensa associada à cocaína.

Na fase pós-condicionamento, o efeito foi ainda mais acentuado ($SMD = -1,74$; IC95%: $-2,84$ a $-0,63$; $I^2 = 0\%$), representando a maior magnitude observada entre todos os subgrupos. A ausência de heterogeneidade também confere alta confiabilidade ao achado, apontando que a intervenção é eficaz na supressão da memória condicionada.

Na fase de aquisição, a intervenção resultou em $SMD = -0,55$, com IC de $-1,04$ a $-0,07$, e heterogeneidade moderada ($I^2 = 51\%$). O resultado é estatisticamente significativo, sugerindo que o sistema endocanabinoide também interfere na formação da memória contextual, embora a variabilidade entre os estudos.

Durante a fase de expressão, os dados indicaram $SMD = -0,59$ (IC95%: $-0,91$ a $-0,27$; $I^2 = 0\%$), confirmando um efeito inibitório consistente da intervenção sobre a evocação da memória condicionada. A ausência de heterogeneidade neste subgrupo reforça a solidez estatística do achado.

Em contrapartida, durante a fase de reintegração, o efeito foi $SMD = -0,06$ (IC95%: $-1,16$ a $1,05$; $I^2 = 0\%$), sem significância estatística. Embora os estudos tenham apresentado homogeneidade, o IC amplo e cruzando a nulidade indica falta de evidência robusta de efeito nesta fase. Por fim, na fase de consolidação, o efeito estimado foi positivo ($SMD = 0,64$), porém não significativo, com IC de $-0,52$ a $1,80$ e heterogeneidade extremamente elevada ($I^2 = 91\%$), sugerindo forte inconsistência entre os estudos e baixa confiabilidade preditiva.

Esses resultados indicam que as intervenções sobre o sistema endocanabinoide apresentam eficácia durante as fases de extinção, expressão, aquisição e pós-condicionamento, atuando de forma relevante na formação, evocação e supressão de memórias associativas à recompensa por cocaína. Por outro lado, seus efeitos durante a consolidação e reintegração ainda permanecem sem significância estatística.

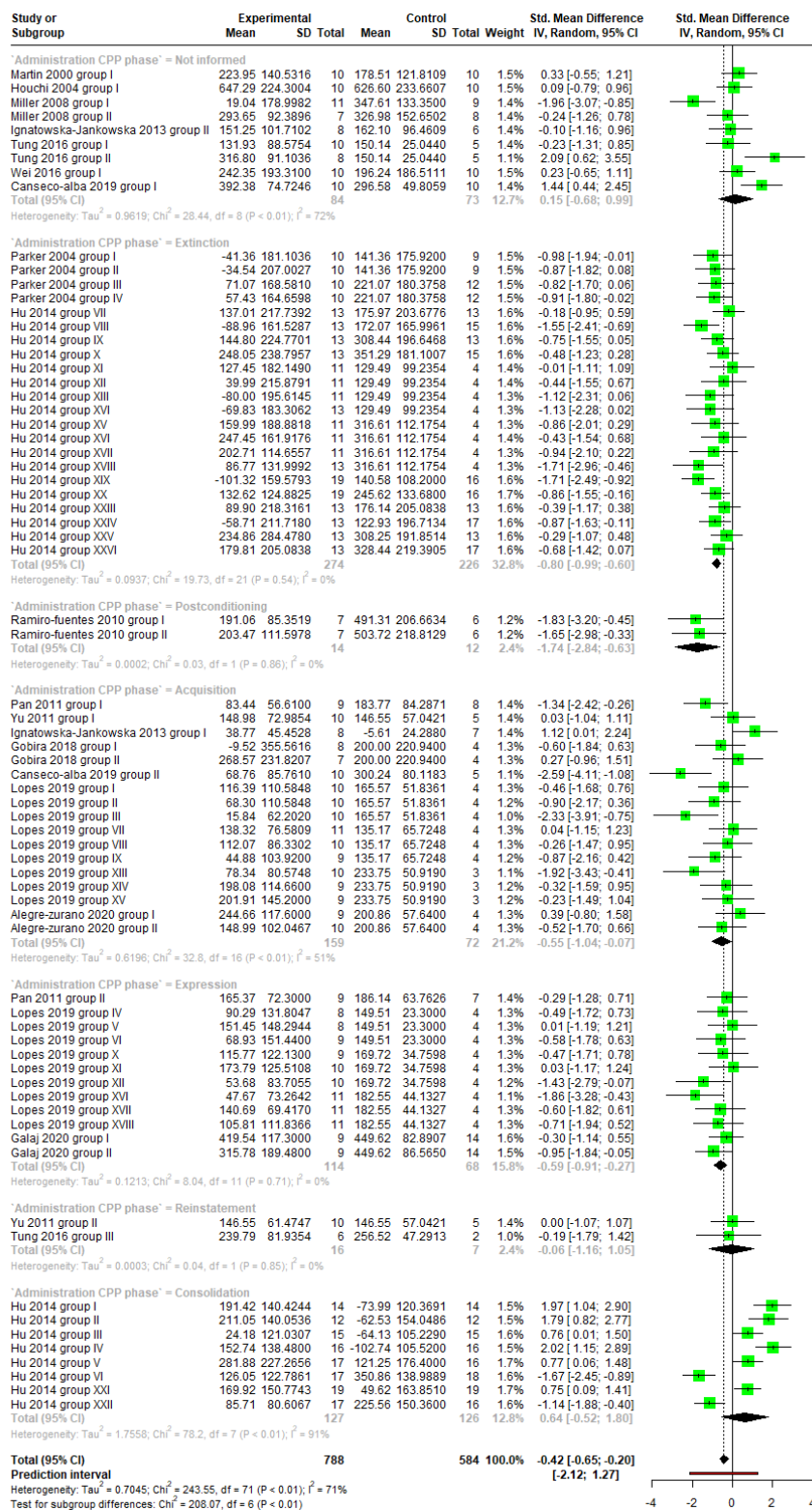


Figura 21. Gráfico de floresta subgrupo fases do CPP.

O gráfico apresentado na Figura 22 analisa cada grupo do sistema endocanabinoide envolvido. A deleção do receptor CB1 (CB1^{-/-}) resultou em uma diferença média padronizada (SMD) de -0,41, com intervalo de confiança de 95% entre -2,03 e 1,21, e heterogeneidade de $I^2 = 74\%$, evidenciando ausência de significância estatística e alta variabilidade entre os estudos. O CBD apresentou um valor médio de -0,89 [-1,86; 0,07], com $I^2 = 0\%$, indicando consistência metodológica, mas com significância limítrofe, pois o intervalo de confiança marginalmente cruza a nulidade.

Por outro lado, o THC demonstrou um efeito negativo estatisticamente significativo, com SMD = -0,89, IC95% entre -1,12 e -0,66, e $I^2 = 0\%$, revelando uma redução consistente da CPP entre os estudos. A ação do antagonista CB₁ SR141716 não apresentou significância estatística SMD = -0,37 IC95% entre -0,83; 0,09, com heterogeneidade elevada ($I^2 = 89\%$). Já AM251, outro antagonista CB₁, apresentou um efeito negativo significativo SMD -0,69 IC95% entre -1,20; -0,18 com $I^2 = 3\%$, indicando alta precisão e reprodutibilidade.

Entre os moduladores de CB₂, o agonista O-1966 apresentou SMD = 1,12 IC95% entre 0,01; 2,24, cruzando a linha de nulidade, assim como CB₂^{-/-}, o antagonista CB₂ AM630 e o antagonista CB₁ AM281.

Modelos genéticos com deleção ou mutações parciais nos genes dos receptores canabinoides também apresentaram resultados variados. O grupo CNR^{+/-} teve efeito não significativo, enquanto CNR^{-/-} resultou em um efeito fortemente positivo SMD 2,09 IC95% entre 0,62; 3,55, sugerindo uma resposta comportamental aumentada em ausência total da sinalização canabinoide. De forma semelhante, o knockout específico de CB₂ em neurônios dopaminérgicos DAT-CNR2^{-/-} produziu um efeito positivo significativo SMD 1,44 IC95% entre 0,44; 2,45,

reforçando a hipótese de que o CB₂ exerce modulação inibitória sobre as vias dopaminérgicas envolvidas na recompensa.

O agonista seletivo de CB₂ JWH-133 apresentou uma SMD de $-0,86$ [$-1,44$; $-0,28$], com $I^2 = 37\%$, evidenciando redução significativa do CPP com baixa heterogeneidade, enquanto os fitocanabinoides CBDA e β -cariofileno apresentaram efeitos nulos, ambos com intervalos de confiança muito amplos, refletindo ausência de significância e limitações metodológicas nos estudos incluídos.

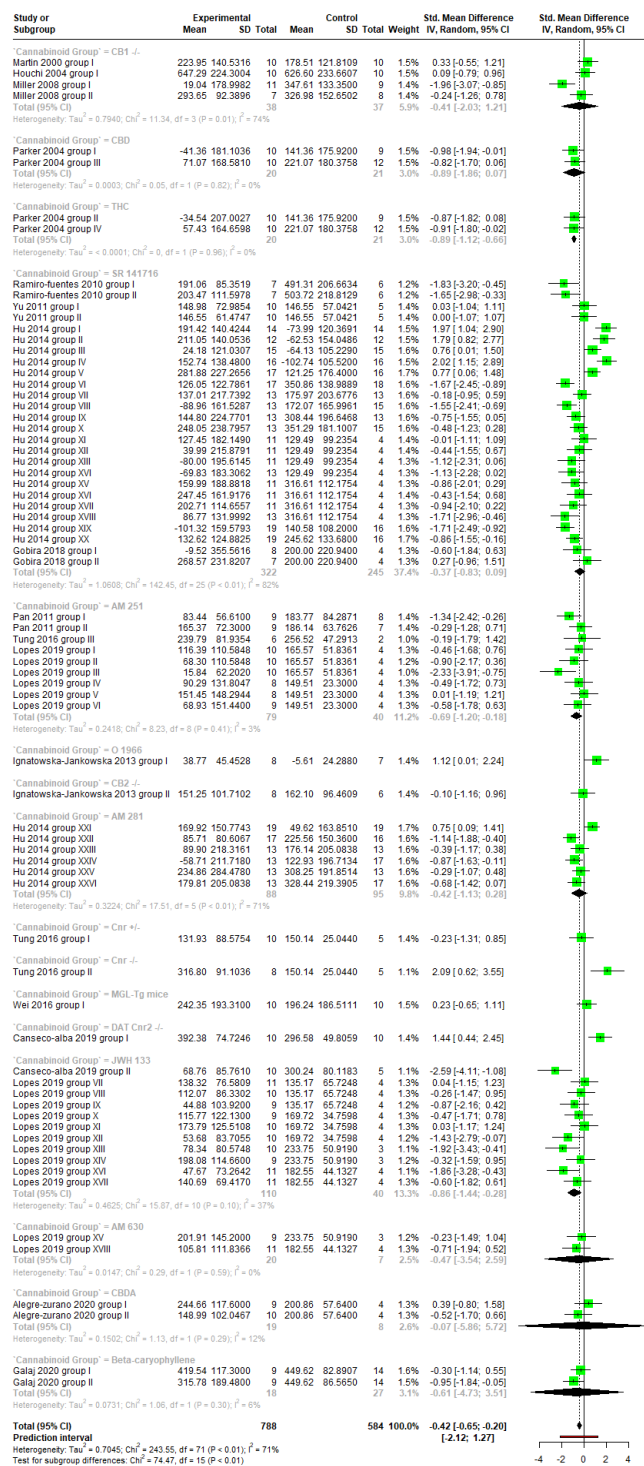


Figura 22. Gráfico de floresta subgrupo fármacos.

No gráfico de funil, representado pelo gráfico da Figura 23, observa-se uma distribuição majoritariamente simétrica em torno da linha central, representando um efeito agregado próximo de zero, o que sugere uma baixa probabilidade de viés de publicação. Em uma metanálise, espera-se que os estudos com maior erro padrão ou menor tamanho amostral estejam dispersos, formando um funil simétrico, enquanto os estudos com menor erro padrão, ou seja, maior precisão estejam mais próximos do centro do gráfico.

No entanto, algumas observações fora da região de confiança triangular indicam a presença de certa dispersão e possivelmente de heterogeneidade. A presença de pontos fora da área triangular inferior pode sugerir uma variabilidade nos tamanhos de efeito entre os estudos, provavelmente devido a diferenças metodológicas nos estudos incluídos.

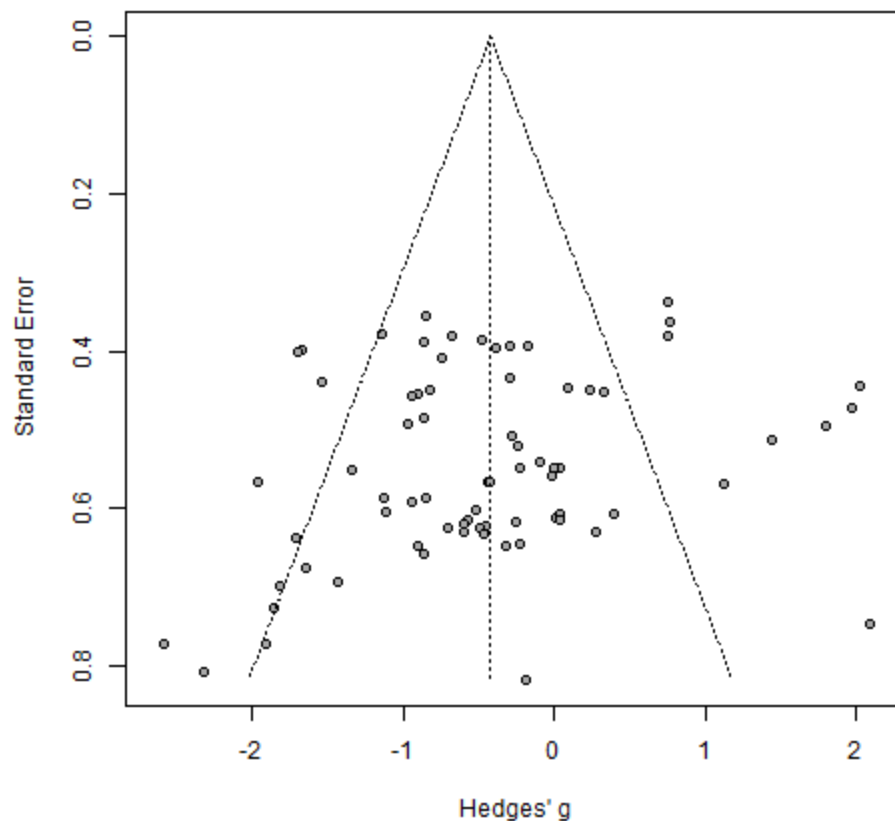


Figura 23. Gráfico de funil.

5. DISCUSSÃO

A presente revisão sistemática e metanálise foi conduzida com o objetivo de elucidar os efeitos dos canabinoides e o papel do sistema endocanabinoide nas respostas à cocaína utilizando o teste de CPP. O gráfico de floresta e a tabela de resultados permitem uma avaliação detalhada dos diferentes estudos e intervenções farmacológicas, levando em consideração as fases do CPP e os diferentes mecanismos de ação dos fármacos testados. Observa-se na análise global dos estudos incluídos, um efeito médio padronizado (SMD) de $-0,43$, com intervalo de confiança entre $-0,65$ e $-0,20$, indicando uma redução estatisticamente significativa na expressão da CPP após

intervenções que modulam o sistema endocanabinoide. Embora o deslocamento do losango para a esquerda no gráfico de floresta sinalize um efeito consistente na direção esperada, temos uma heterogeneidade substancial identificada ($I^2 = 71\%$).

É importante salientar que os receptores canabinoides CB_1 e CB_2 desempenham papéis distintos no sistema nervoso, tanto central quanto periférico, sendo fundamentais para compreender os resultados observados nesta revisão sistemática e metanálise. Os receptores CB_1 estão amplamente distribuídos no sistema nervoso central, com alta densidade em regiões relacionadas ao circuito de recompensa, como o NAc, o PFC e VTA. Esses receptores estão predominantemente localizados em terminais pré-sinápticos de neurônios glutamatérgicos e GABAérgicos, modulando a liberação de neurotransmissores por meio da inibição de canais de cálcio dependentes de voltagem e da ativação de canais de potássio, promovendo um estado de hiperpolarização neuronal (Katona & Freund, 2012; Cristino et al., 2020).

A modulação via CB_1 impacta diretamente o sistema dopaminérgico mesolímbico, um dos principais responsáveis pelos efeitos recompensadores da cocaína. Estudos mostram que a ativação dos receptores CB_1 facilita a liberação de dopamina no NAc em resposta a estímulos recompensadores, como a administração de cocaína. No entanto, o bloqueio desses receptores por antagonistas seletivos, como o AM251 e o SR141716A, interfere nessa via, reduzindo a hiperatividade dopaminérgica característica do uso de cocaína (Xi et al., 2011).

Ao se considerar as intervenções de forma estratificada, observa-se que os resultados estão alinhados com o que a literatura recente sugere sobre os papéis divergentes dos receptores canabinoides CB_1 e CB_2 no TUS. Intervenções com antagonistas seletivos de CB_1 , como o AM251, apresentaram redução significativa da CPP, resultado que converge com diversos estudos prévios

que demonstram que a inibição da sinalização CB₁ atenua os efeitos reforçadores de drogas de abuso ao reduzir a liberação de dopamina em estruturas do sistema mesocorticolímbico, especialmente no NAc (Solinas et al., 2008; Justinova et al., 2011).

Curiosamente, os agonistas de CB₁, que seriam esperados, segundo parte da literatura, para facilitar a aquisição e expressão de CPP, também apresentaram um efeito redutor significativo. Esta aparente contradição pode ser explicada por fenômenos dose-dependentes e bifásicos descritos para os canabinoides, em que doses mais elevadas ou administração repetida levam à dessensibilização ou internalização dos receptores CB₁, resultando em um perfil farmacodinâmico similar ao de antagonistas funcionais (Panlilio et al., 2010). Além disso, o momento da intervenção em relação às fases da CPP pode ter influenciado os resultados. Estudos demonstram que os efeitos dos agonistas de CB₁ são fortemente modulados pela fase comportamental, com efeitos pró-recompensa na aquisição e potencial bloqueio da expressão quando administrados tardiamente (Maldonado et al., 2006).

Por outro lado, agonistas seletivos de CB₂, como o JWH-133, também reduziram significativamente a CPP, com baixos índices de heterogeneidade, indicando consistência entre os estudos. Esse achado está em consonância com evidências crescentes de que o CB₂, anteriormente considerado periférico, é expressivamente regulado em condições neuroinflamatórias e tem papel ativo em células da glia e, em menor grau, em neurônios dopaminérgicos do sistema de recompensa (Zhang et al., 2014; Aracil-Fernández et al., 2012). Esses receptores exercem seus efeitos principalmente por meio da regulação da neuroinflamação e da modulação indireta da liberação de dopamina, diferentemente dos CB₁, que atuam diretamente sobre os terminais pré-sinápticos. Estudos pré-clínicos sugerem que agonistas seletivos de CB₂, como o AM251 e o

JWH133, reduzem os comportamentos relacionados à busca de drogas, incluindo a expressão do CPP, por mecanismos que envolvem a atenuação de processos neuroinflamatórios associados ao uso crônico de substâncias psicoativas (Mallet et al., 2009; Xi et al., 2013).

O efeito modulador mais discreto observado com os agonistas CB₂, em comparação aos antagonistas CB₁, pode ser atribuído à sua menor expressão nos circuitos de recompensa e à sua atuação mais indireta no controle do sistema dopaminérgico. Enquanto os antagonistas CB₁ bloqueiam diretamente a liberação excessiva de dopamina induzida por cocaína, os agonistas CB₂ parecem reduzir a excitabilidade neuronal dos neurônios dopaminérgicos por meio de mecanismos anti-inflamatórios, o que pode explicar a menor eficácia na redução do CPP observada em nossa metanálise. Além disso, os receptores CB₂ desempenham um papel crucial na regulação de microglia e astrócitos, células que participam ativamente na remodelação sináptica e na manutenção da homeostase do sistema nervoso central. Essa modulação neuroimune pode contribuir para a redução dos processos de sensibilização e recaída associados ao uso de cocaína (Fattore & Fratta, 2011; Cristino et al., 2020).

Ao se analisar a eficácia das intervenções por fase do CPP, os dados foram igualmente consistentes. As intervenções demonstraram maior eficácia durante a extinção (SMD = -0,88), pós-condicionamento (SMD = -1,74) e expressão (SMD = -0,59) da CPP, com heterogeneidade nula, sugerindo que a modulação do sistema endocanabinoide atua de forma mais eficaz sobre memórias já consolidadas ou em processo de reconsolidação, do que sobre a formação inicial da associação droga-contexto. Esses resultados têm implicações clínicas importantes, uma vez que refletem o potencial dos canabinoides como adjuvantes terapêuticos na prevenção de recaídas, ao

interferirem na evocação ou reconsolidação das memórias associativas de reforço, uma estratégia considerada promissora na abordagem do TUS (Milton & Everitt, 2010).

A ausência de efeitos significativos durante as fases de reintegração e consolidação reforça essa hipótese. A fase de consolidação, em particular, apresentou alta heterogeneidade ($I^2 = 91\%$), o que aponta para possíveis variações metodológicas.

O gráfico de funil apresentado mostra a distribuição dos estudos em relação ao erro padrão e ao tamanho do efeito (SMD). Observando o gráfico, nota-se que os pontos estão, em grande parte, distribuídos de forma simétrica em torno do eixo central (SMD = 0). Essa distribuição sugere a ausência de um viés de publicação evidente, uma vez que não há uma concentração significativa de estudos em uma das extremidades do gráfico (Sterne & Egger, 2001). No entanto, é importante observar a presença de alguns *outliers*, que podem indicar a variabilidade na qualidade metodológica dos estudos ou a presença de fatores que geram heterogeneidade entre eles (Higgins et al., 2003).

Em relação à heterogeneidade dos estudos, a dispersão dos pontos no gráfico de funil reflete uma variabilidade significativa entre os tamanhos de efeito. A estatística I^2 , utilizada para medir a heterogeneidade, revelou que uma parcela considerável da variabilidade observada entre os estudos é decorrente de diferenças reais entre eles, e não apenas do acaso (Higgins et al., 2003). Isso aponta para a necessidade de considerar os fatores contextuais que podem estar influenciando os resultados, como diferenças nas metodologias dos estudos, nas características das populações ou nas intervenções avaliadas (Cooper, Hedges, & Valentine, 2009).

Os tamanhos de efeito encontrados indicam que, embora as intervenções avaliadas de forma individual mostrem um impacto positivo, a magnitude desse efeito varia entre os estudos.

Estudos com menor erro padrão, ou seja, com maior precisão, tendem a apresentar tamanhos de efeito mais robustos, o que sugere que a qualidade metodológica dos estudos desempenha um papel importante nos resultados obtidos (Hedges & Vevea, 1998). Contudo, a presença de estudos com efeitos negativos ou nulos sugere que, para algumas populações ou em determinados contextos, as intervenções não produziram os resultados esperados (Schmidt & Hunter, 2015).

As principais vantagens do CPP sobre outros procedimentos usados para estudar os efeitos recompensadores das drogas de abuso são: (i) simplicidade metodológica; (ii) potencial de alta produtividade, porque a duração dos experimentos é curta, em comparação a modelos de resposta operante; (iii) sensibilidade para estudar tanto recompensa, quanto aversão; (iv) determinação simultânea de recompensa/aversão e atividade locomotora; (v) capacidade de avaliar não apenas a aquisição da preferência condicionada, mas também a extinção e reconsolidação da memória associativa; (vi) utilidade em investigar os circuitos neurais envolvidos no efeito recompensador das drogas (Bardo MT e Bevins RA, 2000). Dentre as principais limitações, pode-se destacar: (i) apresenta baixa sensibilidade a variações de doses; (ii) gera resultados de difícil interpretação quando os animais preferem um contexto antes do condicionamento da droga; (iii) falta de caráter translacional e (iv) avalia apenas os efeitos condicionados das drogas, e não o comportamento ativo de busca, como ocorre no modelo de autoadministração. (Bardo MT e Bevins RA, 2000).

Uma das questões mais críticas no uso do CPP é se o aparato e o procedimento de atribuição contextual são "tendenciosos" ("biased") ou não. Um aparato é considerado "tendencioso" quando os animais apresentam preferência por um dos lados da caixa, no pré-teste, antes mesmo do pareamento com a droga de abuso (Tzschentke TM, 1998; Cunningham CL et al. 2003). Já o protocolo no qual animais não treinados passam uma média de 50% do tempo em cada compartimento é considerado "imparcial" ("unbiased"), ou seja, quando o estímulo específico

selecionado como CS + é atribuído aleatoriamente, independentemente da preferência ou aversão não aprendida do sujeito por esse estímulo. No caso do protocolo “enviesado”, o usual é parear o estímulo recompensador com o lado oposto ao preferido pelo animal experimental. Considera-se mais apropriado que o experimento seja não-enviesado, o que pode ser feito ajustando-se as condições na sala experimental, tais como, iluminação e som ambiente (Cunningham CL et al. 2003). Além disso, existem vários parâmetros temporais importantes que podem variar entre os protocolos, tais como o intervalo de tempo entre a exposição à droga, a duração da exposição e o intervalo de tempo entre ensaios de condicionamento consecutivos.

Esses achados trazem implicações práticas importantes. As intervenções analisadas devem ser aplicadas com cautela, levando em consideração os fatores moderadores identificados na análise. Além disso, é importante reconhecer as limitações metodológicas de alguns estudos, especialmente aqueles com tamanho de amostra pequeno, para evitar a generalização de resultados que possam não ser aplicáveis a outros contextos (Higgins et al., 2003).

Um aspecto metodológico crítico que emerge da presente análise é a predominância de estudos conduzidos com animais do sexo masculino (mais de 85%), geralmente das linhagens Swiss ou C57BL/6, como evidenciado nas figuras metodológicas da tese. Embora esses modelos sejam amplamente utilizados por sua estabilidade comportamental e genética, sua prevalência representa um viés de seleção significativo, uma vez que há clara evidência de que a sensibilidade à cocaína e aos canabinoides difere entre os sexos, e que hormônios como o estrogênio modulam tanto a expressão de receptores CB₁ quanto a plasticidade sináptica em áreas-chave do circuito de recompensa (Calipari et al., 2017; Becker & Koob, 2016). Além disso, a homogeneidade genética dos modelos limita a generalização dos achados e pode trazer variações individuais relevantes.

Entre os pontos fortes deste estudo, destaca-se a abrangência da análise, que incorporou não apenas o efeito global das intervenções, mas também recortes detalhados por tipo de fármaco, alvo molecular e fase comportamental, permitindo uma interpretação estratificada dos efeitos. Além disso, o uso rigoroso de métodos de metanálise, com análise da heterogeneidade, avaliação de viés e estratificação, contribui para a confiabilidade dos achados. No entanto, as limitações da literatura primária — especialmente a baixa diversidade sexual e genética dos modelos, além da variabilidade de doses e protocolos — ainda impõem restrições à força preditiva dos dados.

Em perspectiva, os achados desta metanálise apoiam de forma clara o papel inibitório do sistema endocanabinoide, especialmente via antagonismo CB₁ e agonismo CB₂, sobre as memórias associativas de reforço induzidas pela cocaína. Esses resultados têm relevância translacional direta, ao indicar alvos farmacológicos promissores para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas voltadas ao transtorno por uso de cocaína. Ainda que nenhuma intervenção canabinoide tenha sido aprovada clinicamente para esse fim, os dados aqui reunidos oferecem uma base sólida para a condução de novos ensaios pré-clínicos com maior diversidade amostral e rigor metodológico para avançarmos em práticas clínicas.

6. CONCLUSÃO

A presente revisão sistemática e metanálise, ao explorar os efeitos dos antagonistas CB₁ e agonistas CB₂ no teste de CPP, revela um resultado positivo no grupo experimental em relação ao controle, como evidenciado pelo deslocamento do losango no gráfico de floresta. Isso implica que, a farmacologia dos canabinoides é uma área promissora de investigação. A literatura recente tem mostrado que os receptores CB₁ e CB₂ modulam comportamentos associados ao TUS e têm um

papel crucial na neuroinflamação, comportamento e plasticidade sináptica (Schoedel et al., 2021; Fattore & Fratta, 2011).

Os resultados encontrados enfatizam a necessidade de ensaios mais rigorosos, com amostras maiores e intervenções padronizadas, além de uma melhor caracterização das populações estudadas, levando em consideração variáveis como o tipo de fármaco utilizado e o modelo experimental. Outro ponto importante é a inclusão de biomarcadores neurobiológicos que possam aferir com mais precisão os impactos dos fármacos sobre o sistema nervoso.

Por fim, este estudo destaca a importância das metanálises na compreensão de intervenções complexas, como as relacionadas ao sistema endocanabinoide. Embora nossos resultados apontem eficácia, as limitações metodológicas e a heterogeneidade indicam que o avanço nas terapias canabinoides exige mais estudos, especialmente aqueles que abordam os mecanismos moleculares subjacentes aos modelos experimentais para estudo do TUS.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.). Washington, DC: Author.

Aracil-Fernández, A., Trigo, J. M., García-Gutiérrez, M. S., Ortega-Álvaro, A., Ternianov, A., Navarro, D., ... & Manzanares, J. (2012). Decreased cocaine motor sensitization and self-administration in mice overexpressing cannabinoid CB2 receptors. *Neuropsychopharmacology*, 37(8), 1749–1763. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.19>

Asth, L., Santos, A. C., & Moreira, F. A. (2022). The endocannabinoid system and drug-associated contextual memories. *Behavioural Pharmacology*, *33*(2–3), 90–104.

<https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000661>

Bardo, M. T., & Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: What does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*, *153*(1), 31–43.

<https://doi.org/10.1007/s002130000569>

Björklund, A., & Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: An update.

Trends in Neurosciences, *30*(5), 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.006>

Bushlin, I., Gupta, A., Stockton, S. D., Miller, L. K., & Devi, L. A. (2012). Dimerization with cannabinoid receptors allosterically modulates delta opioid receptor activity during neuropathic pain. *PLoS ONE*, *7*(12), e49789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049789>

Cheer, J. F., Wassum, K. M., Heien, M. L., Phillips, P. E. M., & Wightman, R. M. (2007). Phasic dopamine release evoked by abused substances requires cannabinoid receptor activation. *Journal of Neuroscience*, *27*(4), 791–795. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4152-06.2007>

Cunningham, C. L., Dickinson, S. D., & Okorn, D. M. (1995). Naloxone facilitates extinction but does not affect acquisition or expression of ethanol-induced conditioned place preference.

Experimental and Clinical Psychopharmacology, *3*(4), 330–343. <https://doi.org/10.1037/1064-1297.3.4.330>

Cunningham, C. L., Gremel, C. M., & Groblewski, P. A. (2006). Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. *Nature Protocols*, *1*(4), 1662–1670.

<https://doi.org/10.1038/nprot.2006.279>

Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M., & Minder, C. (1997). Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*, *315*(7109), 629–634. <https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629>

Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: From actions to habits to compulsion. *Nature Neuroscience*, *8*(11), 1481–1489.

<https://doi.org/10.1038/nm1579>

Gardner, E. L., & Vorel, S. R. (1998). Cannabinoid transmission and reward-related events.

Neurobiology of Disease, *5*(6), 502–533. <https://doi.org/10.1006/nbdi.1998.0223>

Gurevitch, J., Koricheva, J., Nakagawa, S., & Stewart, G. (2018). Meta-analysis and the science of research synthesis. *Nature*, *555*(7695), 175–182. <https://doi.org/10.1038/nature25753>

Harrer, M., Cuijpers, P., Furukawa, T. A., & Ebert, D. D. (2021). *Doing meta-analysis in R: A hands-on guide*. https://bookdown.org/MathiasHarrer/Doing_Meta_Analysis_in_R/

Higgins, J. P. T., Thompson, S. G., Deeks, J. J., & Altman, D. G. (2003). Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*, *327*(7414), 557–560.

<https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>

Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., de Vries, R. B., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., &

Langendam, M. W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Medical Research Methodology*, *14*, 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>

Ioannidis, J. P. A. (2016). Why most clinical research is not useful. *PLoS Medicine*, *13*(6), e1002049. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002049>

Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *The Lancet Psychiatry*, *3*(8), 760–773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)

Lipsey, M. W., & Wilson, D. B. (2001). *Practical meta-analysis*. Sage Publications.

Lopes, J. B., Gobira, P. H., Aguiar, D. C., & Moreira, F. A. (2019). The roles of cannabinoid CB1 and CB2 receptors in cocaine-induced behavioral sensitization and conditioned place preference in mice. *Psychopharmacology*, *237*(2), 385–394. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-05370-5>

Mechoulam, R., Shani, A., Ederly, H., & Grunfeld, Y. (1970). Chemical basis of hashish activity. *Science*, *169*(3945), 611–612. <https://doi.org/10.1126/science.169.3945.611>

Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G., & The PRISMA Group. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Medicine*, *6*(7), e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>

Moreira, F. A., Grieb, M., & Lutz, B. (2015). Endocannabinoids and striatal function: Implications for addiction-related behaviours. *Behavioural Pharmacology*, *26*(1–2), 59–72. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000111>

Rothman, R. B., & Baumann, M. H. (2003). Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *European Journal of Pharmacology*, *479*(1–3), 23–40. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.08.054>

United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). (2024). *World drug report 2022*. United Nations publication.

Volkow, N. D., Wise, R. A., & Baler, R. (2017). The dopamine motive system: Implications for drug and food addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, *18*(12), 741–752. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.130>

Xi, Z. X., Peng, X. Q., Li, X., Song, R., Zhang, H. Y., Liu, Q. R., & Gardner, E. L. (2011). Brain cannabinoid CB2 receptors modulate cocaine's actions in mice. *Nature Neuroscience*, *14*(9), 1160–1166. <https://doi.org/10.1038/nn.2874>

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA METANÁLISE

Alegre-Zurano, L., Martín-Sánchez, A., & Valverde, O. (2020). Behavioural and molecular effects of cannabidiolic acid in mice. *Life Sciences*, *259*, 118271. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118271>

Canseco-Alba, A., Grove, J., Ortiz-González, M. A., Papachristou, M., Van Sickle, M. D., & Bortell, N. (2019). Behavioral effects of psychostimulants in mutant mice with cell-type specific deletion of CB2 cannabinoid receptors in dopamine neurons. *Behavioural Brain Research*, *360*, 286–297. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.043>

Galaj, E., Bi, G. H., Yang, H. J., Kumar, V., & Xi, Z. X. (2021). Beta-caryophyllene inhibits cocaine addiction-related behavior by activation of PPAR α and PPAR γ : Repurposing a FDA-approved food additive for cocaine use disorder. *Neuropsychopharmacology*, *46*(4), 860–870. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00885-4>

Gobira, P. H., Aguiar, D. C., Leite, J. A., de Oliveira, A. C. P., Moreira, F. A., & Campos, A. C. (2019). Opposing roles of CB1 and CB2 cannabinoid receptors in the stimulant and rewarding effects of cocaine. *British Journal of Pharmacology*, *176*(10), 1541–1551. <https://doi.org/10.1111/bph.14473>

Houchi, H., Babovic, D., Pierrefiche, O., Ledent, C., Parmentier, M., & Daoust, M. (2005). CB1 receptor knockout mice display reduced ethanol-induced conditioned place preference and increased striatal dopamine D2 receptors. *Neuropsychopharmacology*, *30*(2), 339–349. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300568>

Hu, S. S., Liu, Y. W., & Yu, L. (2015). Medial prefrontal cannabinoid CB1 receptors modulate consolidation and extinction of cocaine-associated memory in mice. *Psychopharmacology*, 232(10), 1803–1815. <https://doi.org/10.1007/s00213-014-3812-y>

Ignatowska-Jankowska, B. M., Jankowski, M., Glac, W., & Faron-Górecka, A. (2013). The cannabinoid CB2 receptor is necessary for nicotine-conditioned place preference, but not other behavioral effects of nicotine in mice. *Psychopharmacology*, 229(4), 591–601. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3117-6>

Lopes, J. B., Gobira, P. H., Aguiar, D. C., Resstel, L. B. M., & Moreira, F. A. (2020). The roles of cannabinoid CB1 and CB2 receptors in cocaine-induced behavioral sensitization and conditioned place preference in mice. *Psychopharmacology*, 237(2), 385–394. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-05370-5>

Martin, M., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado, R., & Valverde, O. (2000). Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB1 knockout mice. *European Journal of Neuroscience*, 12(11), 4038–4046. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00287.x>

Miller, L. L., Ward, S. J., & Dykstra, L. A. (2008). Chronic unpredictable stress enhances cocaine-conditioned place preference in type 1 cannabinoid receptor knockout mice. *Behavioural Pharmacology*, 19(5–6), 575–581. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32830ded11>

Parker, L. A., Limebeer, C. L., & Rock, E. M. (2004). Effect of low doses of delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on the extinction of cocaine-induced and amphetamine-induced conditioned place preference learning in rats. *Psychopharmacology*, 175(3), 360–366. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1825-7>

Pan, B., Wang, W., Zhong, P., Blankman, J. L., Cravatt, B. F., & Liu, Q. S. (2011). Extracellular signal-regulated kinase signaling in the ventral tegmental area mediates cocaine-induced synaptic plasticity and rewarding effects. *Journal of Neuroscience*, 31(31), 11244–11255. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1040-11.2011>

Ramiro-Fuentes, S., et al. (2010). Intra-accumbens rimonabant is rewarding but induces aversion to cocaine in cocaine-treated rats, as does in vivo accumbal cannabinoid CB1 receptor silencing: Critical role for glutamate receptors. *Neuroscience*, *167*(2), 205–215. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.02.019>

Tung, L. W., Lu, G. L., Lee, Y. H., Yu, L., & Lin, C. R. (2016). Orexins contribute to restraint stress-induced cocaine relapse by endocannabinoid-mediated disinhibition of dopaminergic neurons. *Nature Communications*, *7*, 12199. <https://doi.org/10.1038/ncomms12199>

Wei, D., Lee, D., Cox, C. D., Karsten, C. A., Peñagarikano, O., Geschwind, D. H., & Piomelli, D. (2016). A role for the endocannabinoid 2-arachidonoyl-sn-glycerol for social and high-fat food reward in male mice. *Psychopharmacology*, *233*(10), 1911–1919. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4222-0>

Yu, L. L., Wang, X. F., & Liu, Y. W. (2011). Effects of cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant on acquisition and reinstatement of psychostimulant reward memory in mice. *Behavioural Brain Research*, *217*(1), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.10.008>

9. MATERIAIS COMPLETARES

Reference		ORIGINAL ARTICLE (YES/NO)	Model			Treatment		Animal		FINAL (YES/NO)
Year of publication	Authors		COCAINE (YES/NO)	CPP (YES/NO)	Previous intervention? (YES/NO)	Treatment with endo/cannabinoids or knockout	Acute treatment (YES/NO)	Rodent (YES/NO)	Adult (YES/NO)	
2018	Zambrana-Infante	YES	YES	YES	NO	YES	NO	YES	YES	YES
2013	Bodnar RJ.	NO								NO
2019	Lopes JB.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2020	Chou YH.	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2016	Delis F.	YES	YES	YES	YES	YES	YES	YES	YES	YES
2015	Wei D.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	NO - 4-8 wk	NO
1995	Lepore M.	YES	YES	YES	YES	NO				NO
2000	Cheer JF.	YES	YES	YES	YES	NO				NO
2012	Zhong P.	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2000	Martin M.	YES	YES	YES	NO	YES - KNOCKOUT CB	YES	YES	YES	YES
2008	Li F.	YES	NO							NO
2008	Miller LL.	YES	YES	YES	NO	YES - KNOCKOUT CB	YES	YES	YES	YES
2016	Rodríguez-Ariza	YES							NO	NO
2004	Parker LA	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2018	Gobira	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2013	Yu F.	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2009	Polissidis A.	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2018	Luján MÁ.	YES	YES	YES	NO	YES	NO			NO
2012	Aracil-Fernández	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2018	Hamilton J.	YES	YES	YES	NO	FABP 5/7 KO ?	YES	YES	YES ?	NO
2014	Hu SS.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2020	Galaj E.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2012	Vaughn LK.	NO								NO
2020	Alegre-Zurano	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2020	Rodrigues LA.	NO								NO
2017	Tong J.	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2014	Vlachou S.	NO								NO
2004	Houchi H.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2014	Panagis G.	NO								NO
2017	Marcus DJ.	YES	YES	YES	NO	(S426A/S430A)	YES	YES	YES	NO
2002	Maldonado R.	NO								NO
2014	Sanchez-Catala	NO								NO
2017	Blanco-Gandia	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2010	Ramiro-Fuentes	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2016	Tung LW.	YES	YES	YES	NO	YES - KNOCKOUT Cn	YES	YES	YES	YES
2011	Schmidt K.	YES	YES	YES	NO		NO	YES	NO	NO
2010	Luchicchi A.	YES	YES	NO						NO
2011	Yu LL.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2007	Centonze D.	YES	YES	YES	NO	NO				NO
1998	Chaperon	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2000	Navarro	NO								NO
2003	Tanda	NO								NO
2003	Vlachou S.	NO								NO
2004	Vajent	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2005	Beardsley	NO								NO
2005	Ribeiro	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2006	Vicentic	NO								NO
2006	Zangen	YES	NO							NO
2007	Fattore	NO								NO
2008	Barbier	YES	YES	YES	YES	NO				NO
2009	Boutrel	NO								NO
2010	Lin	YES	NO							NO
2010	Panlilio	NO								NO
2010	Wee	NO								NO
2011	Fritz	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2011	Pan	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2011	Passos	NO								NO
2012	Bilbao	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2012	Slamberova	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2013	Ignatowska-jani	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2015	Botanas	YES	NO							NO
2015	Ignatowska-jankov	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2017	Blanco-gandia b	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2017	Grenald	YES	NO							NO
2017	Li	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2018	Exton-mcguinn	NO								NO
2019	Canseco-alva	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2019	Hakamaki	YES	NO							NO
2020	Duarte-castells	YES	YES	YES	NO	NO				NO
2020	Marszalek-grab	YES	NO							NO
2021	Asth L.	NO								NO
2021	Galaj E.	NO								NO
2015	Zhong P.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES
2016	Reddy	YES	NO	NO						NO
2016	Wei D.	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES	YES

21 ARTIGOS INCLUIDOS

Figura 24. Planilha busca de artigos selecionados pela pesquisadora AC.

Reference		ORIGINAL ARTICLE (YES/NO)	Model			Treatment		Animal		FINAL (YES/NO)	
Year of publication	Authors		COCAINE (YES/NO)	CPP (YES/NO)	Previous Intervention? (YES/NO)	Treatment with endo/cannabinoids (YES/NO)	Acute treatment (YES/NO)	Rodent (YES/NO)	Adult (YES/NO)		
1995	Lepore	YES	YES	YES	NO	NO			NO		NO cannabinoids t
1998	Chaperon	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2000	Cheer	YES	YES	YES	NO	NO					NO cannabinoids t
2000	Martin	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2000	Navarro	NO									NO
2002	Maldonado	NO									NO
2003	Tanda	NO									NO
2003	Vlachou	YES	YES	NO							NO
2004	Houchi	YES	YES	YES	NO	YES		YES	YES		YES
2004	Parker	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2004	Valjent	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2005	Beardsley	NO									NO
2005	Ribeiro	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2006	Vicentic	NO									NO
2006	Zangen	YES	NO								NO
2007	Centonze	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2007	Fattore	NO									NO
2008	Barbier	YES	YES	YES	YES	NO					NO
2008	Li	YES	NO								NO
2008	Miller	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		tem grupo control
2009	Boutrel	NO									NO
2009	Polissidis	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2010	Lin	YES	NO								NO
2010	Luchicchi	YES	YES	NO							NO
2010	Parillio	NO									NO
2010	Ramiro-fuentes	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2010	Wee	NO	NO								NO
2011	Fritz	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2011	Pan	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2011	Passos	NO									NO
2011	Schmidt	YES	YES	YES	NO				NO		NO
2011	Yu	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2012	Aracil-fernandez	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2012	Bilbao	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2012	Slamberova	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2012	Vaughn	NO									NO
2012	Zhong	YES	YES	YES	NO						NO
2013	Ignatowska-jankowska	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2013	Yu	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2013	Bodnar	NO									NO
2014	Hu	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2014	Panagis	NO									NO
2014	Sanchez-catalan	NO									NO
2014	Vlachou	NO									NO
2015	Botanas	YES	NO								NO
2015	Ignatowska-jankowska	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2015	Wei	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	NO		SUPLEMENTAR RE
2015	Zhong	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2016	Dellis	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2016	Reddy	YES	NO	NO							NO
2016	Rodriguez-arias	YES							NO		NO
2016	Tung	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2016	Wei	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2017	Blanco-gandia	YES	YES	YES	YES						NO
2017	Blanco-gandia b	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2017	Grenald	YES	NO								NO
2017	Li	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2017	Marcus	YES	YES	YES	NO	NO	YES	YES	YES		NO
2017	Tong	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2018	Exton-mcguinness	NO									NO
2018	Gobira	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2018	Hamilton	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2018	Lujan	YES	YES	YES	NO	YES	NO				NO
2018	Zambrana-infantes	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2019	Canseco-alva	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		NO
2019	Hakamaki	YES	NO								NO
2019	Lopes	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2020	Alegre-zurano	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2020	Chou	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2020	Duarte-castells	YES	YES	YES	NO	NO					NO
2020	Galaj	YES	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES		YES
2020	Marszalek-grabska	YES	NO								NO
2020	Rodrigues	NO									NO
2021	Asth	NO									NO
2021	Galaj	NO									NO

Figura 25. Planilha busca de artigos selecionados pela pesquisadora LPI.

2012 Aracil-fernandez - Aline teve duvida na coluna "Treatment with endo/cannabinoids or knockout animals". Lia incluiu artigo	YES										
2015 Wei - Aline teve duvida na coluna "Adults" (4-8 weeks). Lia incluiu artigo, mas colocou observação "SUPLEMENTAR (NAO ACHEI MAS PARECE PELO QUE FALA NO TEXTO)"											NO
2017 Marcus - Aline teve duvida na coluna "Treatment with endo/cannabinoids or knockout animals". Lia incluiu artigo											
2008 Miller - Lia incluiu, mas colocou observação "tem grupo controle sem CUS". Aline incluiu artigo	YES										
2018 Hamilton - Aline e Lia tiveram duvidas em relação a modelo animal e idade											
2018 Zambana-infantes - Lia teve duvida se consideramos TRPV1. Aline não incluiu.	YES										

Figura 26. Planilha busca de artigos selecionados que obtiveram divergência entre as pesquisadoras e houve a consulta do terceiro pesquisador, FAM.

Reference	Animal model	Cocaine	Treatment				CPP protocol											
			Route of administration	Dose	Drug name	Target	Dose	Route of administration	Time before behavior	Administration phase	Compartments	Conditioning (days)	Conditioning (time)	Pre-test time	Test time	Extinction session	Reinstatement	
1998 Chapeon	Rat	Water	Male	IP	2 mg/kg	SR 141716	CB1 ariang	0.03, 0.1, 1 µg	IP	30 min	acquisition	2	7-30 min	NO	20 min			
2000 Martin	Rat	Water	Male	IP	20 mg/kg	SR 141716	CB1 ariang	0.3, 1.0, 3.0 µg	IP	30 min	extinction	3	6-25 min	NO	20 min			
2004 Housh	Mice	CD1	Male	IP	20 mg/kg	CB1 NO	CB1	-	-	-	-	2	5-20 min	20 min	18 min			
2004 Parker	Rat	Sprague-D	Male	IP	15 mg/kg	CB1 NO	CB1	-	-	-	extinction	3	4 of 8-30 min	15 min	15 min	15 min		
2008 Miller	Rat	Sprague-D	Male	IP	15 mg/kg	THC	CB1 ariang	0.5 mg/kg	IP	30 min	extinction	3	6-30 min	15 min	15 min	15 min		**24 of 72h between conditioning
2010 Barro-fu	Rat	Water	NI	IP	3.2, 10.0, 30.0 mg/kg	CB1 NO	CB1	-	-	-	extinction	3	4-30 min	30 min	30 min			
2011 Pan	Rat	Sprague-D	Male	IP	10 mg/kg	in vivo	CB1	-	-	-	extinction	3	4-30 min	30 min	30 min			
2011 Pan	Rat	Sprague-D	Male	IP	2 or 10 mg	Rimonaba	CB1 ariang	0.5 or 1.5	intra-MAC	5 min	acquisition	3	8-20 min	30 min	30 min			
2011 Yu	Rat	Sprague-D	Male	IP	15 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	0.5 µg/dl	intra-VTA	20 min	acquisition	3	8-20 min	20 min	20 min			
2011 Yu	Mice	Kunming	Male	IP	20 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	1.0, 3.0 mg/kg	IP	30 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
2012 Macl-ferr	Mice	NI	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	1.0, 3.0 mg/kg	IP	30 min	reinstatement	3	8-30 min	15 min	15 min	2x15 min	Priming 5mg/kg + 15min test	
2013 Igratovsk	Mice	NI	Male	IP	10 mg/kg	CB2AP	CB2	-	-	-	extinction	2	9-15 min	20 min	15 min			
2014 Hu	Mice	CS78/6	Male	IP	10 mg/kg	O-1966	CB2 ariang	20 mg/kg	IP	15 min	acquisition	3	3-15 min	15+5 min	15+5 min		*+5 confirmed in the middle	
	Mice	CS78/6	Male	IP	2.5, 5, 10	Rimonaba	CB1 ariang	1.5 µg/kg	IP	0 min	consolidation	3	3-30 min	15 min	15 min			
	Mice	CS78/8	Male	IP	2.5, 5, 10	Rimonaba	CB1 ariang	1.5 µg/kg	IP	0 min	consolidation	3	3-30 min	15 min	15 min			
	Mice	CS78/9	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	0 min	consolidation	3	3-30 min	15 min	15 min			
	Mice	CS78/10	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	1.5 µg/kg	IP	0 min	consolidation	3	3-30 min	15 min	15 min			
	Mice	CS78/11	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	1.5 µg/kg	IP	0 min	consolidation	3	3-30 min	15 min	15 min			
	Mice	CS78/12	Male	IP	15 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	0 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min	2x30	Priming 5mg/kg + 15min test	
2015 Zhong	Mice	CS78/6	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	30 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
2016 Delis	Rat	Sprague-D	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	20 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
	Rat	Sprague-D	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	20 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
	Rat	Sprague-D	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	20 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
	Rat	Sprague-D	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	20 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
	Rat	Sprague-D	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	3 mg/kg	IP	20 min	acquisition	3	8-30 min	15 min	15 min			
2016 Tung	Mice	CS78/6	Male	IP	20 mg/kg	AM 630	CB2 ariang	5 mg/kg	IP	50 min	extinction	3	8-30 min	15 min	15 min			
	Mice	CS78/6	Male	IP	20 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	1.1 mg/kg	IP	30 min	reinstatement	2	3-30 min	10 min	NI	3xNI	30 min restraint stress	
	Mice	CS78/6	Male	IP	20 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	30 nmol	intra-VTA	30 min	reinstatement	2	3-30 min	10 min	NI	3xNI	30 min restraint stress	
2016 Wei	Mice	CS78/6	Male	IP	5 mg/kg	MGL-1	Tg m CB2	-	-	-	reinstatement	2	8-30 min	15 min	15 min			
2018 Gobira	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	Rimonaba	CB1 ariang	10 mg/kg	IP	30 min	acquisition	2	6-30 min	20 min	20 min			
2018 Zambana	Mice	CS78/6	Male	IP	20 mg/kg	PEA	Endocann	1, 10 mg/kg	IP	30 min	acquisition	2	4-30 min	20 min	20 min			
2019 Carreo-a	Mice	CS78/6	Male	IP	7.5 mg/kg	PEA	Endocann	1, 10 mg/kg	IP	30 min	extinction	3	4-15 min	15 min	15 min			
2019 Lopes	Mice	CS78/6	Male	IP	7.5 mg/kg	DM-CE2	CB2	-	-	-	extinction	2	4-15 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	JWH 133	CB2 ariang	3 mg/kg	IP	15 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	1, 3, 10 mg/kg	IP	30 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	AM 251	CB1 ariang	1, 3, 10 mg/kg	IP	30 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	JWH 133	CB2 ariang	1, 3, 10 mg/kg	IP	30 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	JWH 133	CB2 ariang	1, 3, 10 mg/kg	IP	30 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	AM 630	CB2 ariang	10 mg/kg	IP	40 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
	Mice	Swiss	Male	IP	20 mg/kg	AM 630	CB2 ariang	10 mg/kg	IP	40 min	acquisition	3	6-30 min	15 min	15 min			
2020 Alegre-sur	Mice	CD1	Male	IP	10 mg/kg	CBDA	Phycann	0.001, 0.01 µg	IP	30 min	acquisition	3	8-30 min	20 min	20 min			
2020 Galaj	Rat	Long-Evan	Male	IP	10 mg/kg	Beta cary	CB2 ariang	50, 100 mg/kg	IP	NI	extinction	3	8-30 min	15 min	15 min			

Figura 28. Primeira extração de dados obtida pela pesquisadora LPI.

