

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA**

Rayssa Briânis de Oliveira Costa

**EFEITOS DO CANABIDIOL NAS MEMÓRIAS CONTEXTUAIS
RECOMPENSADORAS E AVERSIVAS INDUZIDAS POR COCAÍNA E CLORETO
DE LÍTIO**

BELO HORIZONTE
2021

Rayssa Briânis de Oliveira Costa

**EFEITOS DO CANABIDIOL NAS MEMÓRIAS CONTEXTUAIS
RECOMPENSADORAS E AVERSIVAS INDUZIDAS POR COCAÍNA E CLORETO
DE LÍTIO**

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

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo
Moreira

BELO HORIZONTE

2021

043

Costa, Rayssa Briânis de Oliveira.

Efeitos do canabidiol nas memórias contextuais recompensadoras e aversivas induzidas por cocaína e cloreto de lítio [manuscrito] / Rayssa Briânis de Oliveira Costa. – 2021.

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

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira.

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

1. Farmacologia. 2. Transtornos Relacionados ao Uso de Cocaína. 3. Canabinoides. 4. Canabidiol. 5. Memória. I. Moreira, Fabrício de Araújo. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 615



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO N° 546 DE RAYSSA BRIANIS DE OLIVEIRA COSTA

"Efeitos do Canabidiol Nas Memórias Contextuais Recompensadoras e Aversivas Induzidas Por Cocaína e Cloreto de Lítio"

RAYSSA BRIANIS DE OLIVEIRA COSTA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia 29 de outubro de 2021, pela Banca Examinadora constituída pelas seguintes professores:

Profa. Dra. Ana Lucia Brunialti Godard, ICB/UFMG
Dra. Paula Santana Lunardi, ICB/UFMG
Prof. Dr. Fabricio de Araujo Moreira, ICB/UFMG - Orientador

Belo Horizonte, 29 de outubro de 2021.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Ana Lucia Brunialti Godard, Professora do Magistério Superior**, em 05/11/2021, às 16:16, 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 **Fabricio de Araujo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 05/11/2021, às 22:50, 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 **Paula Santana Lunardi, Usuário Externo**, em 29/12/2021, às 15:46, 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?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1038600** e o código CRC **6D171FAA**.



Agradecimentos

À minha mãe, Fânia, por todo amor, dedicação, carinho, paciência e apoio.

Ao meu pai, Jaime, por todo amor, suporte, incentivo e inspiração.

Ao meu irmão, Jamerson, por ser tão importante para mim e apoiar meus planos sempre com muita animação.

A toda minha família, por tanto amor, minhas tias e tios, primas e primos tão importantes na minha vida, especialmente, aos meus padrinhos por me acolherem sempre como filha.

Ao meu namorado e amigo, Marco Túllio, por todo apoio, tanto profissional quanto pessoal, por segurar minha onda durante os momentos difíceis e me alegrar sempre, deixando tudo mais leve. Também a sua família, principalmente, a minha sogra, Isabel, por todo carinho.

Ao Prof. Dr. Fabrício, por todo aprendizado, paciência, carinho ao educar e dedicação no que faz, muito obrigada por ter me acolhido no laboratório e por me orientar.

Também à Profa. Dra. Daniele Aguiar, por cuidar tão bem do nosso laboratório, por sempre estar disponível para dúvidas, por todas as conversas e também orientação.

Ao Laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNP), desde os ex-alunos como a Rita, Luara, Jadna e Juliana, essenciais para minha formação. À Anna por ser minha dupla desde quando entramos como IC até agora, à Lia por todas as discussões, divagações e conselhos, também a Laila, por me ensinar com tanta paciência os comportamentos, a Nícia, Dayane, Lucas e Aline por todas as trocas e ajudas.

Aos profs. e alunos do laboratório NeuroFar, principalmente, prof. Dr. Antônio, Maria Carolina (nossa associada) e Roberta.

Ao Rinaldo, técnico do biotério, por toda dedicação e por cuidar tão bem dos nossos animais.

Finalmente, aos meus amigos da vida toda, Paulinha, Marília, Rayani, Julio, Pimenta, Cecília, Karine e meninas do rio, Tatita, Gabi, Brunão, Guilherme, Biel, Carol, e muitos outros, obrigada por se interessarem pelo que eu faço, se orgulharem de mim e deixarem minha vida tão mais feliz.

Ao meu professor de inglês, Rodolfo, por toda evolução proporcionada e por me ajudar nos desafios do ano.

Às agências de fomento, CNPq e Capes

E à banca que aceitou participar dessa discussão, muito obrigada pelo tempo e atenção!

Resumo

Aprender a associar pistas ou contextos às recompensas ou ameaças potenciais é um processo adaptativo o qual aumenta a sobrevivência de um indivíduo. Porém, a expressão inadequada de respostas condicionadas a estímulos recompensadores ou aversivos pode ser um fator de predisposição a transtornos relacionados ao abuso de substâncias e à ansiedade, respectivamente. Portanto, a modulação farmacológica de memórias contextuais pode ser uma abordagem útil no tratamento de determinados transtornos psiquiátricos.

Considerando evidências de que o sistema endocanabinoide modula respostas contextuais condicionadas, compostos que facilitam a sinalização endocanabinoide são potencialmente úteis para a modulação de memórias, tanto recompensadoras quanto aversivas. Desse modo, buscamos testar com esse trabalho a hipótese de que o canabidiol (CBD), um fitocanabinoide presente na planta *Cannabis sativa*, o qual facilita a ação do sistema endocanabinoide, é capaz de atenuar o condicionamento contextual recompensador (PCL), induzido por cocaína, e aversivo (ACL), induzido por cloreto de lítio (LiCl).

Para tal, camundongos C57BL/6J, fêmeas e machos, receberam injeções de CBD 30 min antes das fases de aquisição ou expressão dos comportamentos citados (PCL e ACL). Os protocolos foram validados, havendo, portanto, indução de preferência e aversão para PCL e ACL, respectivamente, nas doses de 15 mg/kg de cocaína e 100 mg/kg de LiCl, através do condicionamento consecutivo por três dias. O composto avaliado, CBD nas doses 3, 10 e 30 mg/kg, não foi capaz de inibir a aquisição ou a expressão tanto da PCL quanto ACL. Análises químicas realizadas descartam a possibilidade de que o CBD possa ter se convertido quimicamente em outra substância.

Quanto ao objetivo de estudar os efeitos do CBD sobre a aversão condicionada, não houve sucesso na validação do ACL induzida pelo LiCl. Ajustes de dose, tempo de administração e duração do protocolo poderão ser realizados a fim de se estabelecer um protocolo robusto de ACL.

Por último, a avaliação de outras fases da memória como consolidação, extinção e reconsolidação, ajustes de dose, tempo de administração e duração do

protocolo poderão ser realizados a fim de se estabelecer um melhor modelo e proposição de tratamento.

Palavras chaves: Adicção. Drogas. Canabinoides. Canabidiol. Memória.

Abstract

Learning to associate cues or contexts with potential rewards or threats is an adaptive process that increases an individual's survival. However, the inadequate expression of conditioned responses to rewarding or aversive stimuli may be a predisposing factor to substance abuse and anxiety disorders, respectively. Therefore, pharmacological modulation of contextual memories may be a useful approach in the treatment of certain psychiatric disorders.

Considering the evidence that the endocannabinoid system modulates conditioned contextual responses, compounds that facilitate endocannabinoid signalling are potentially useful for modulating memories, both rewarding and aversive. Thus, we try to test with this work the hypothesis that cannabidiol (CBD), a phytocannabinoid present in the *Cannabis sativa* plant, facilitates the action of the endocannabinoid system, and can attenuate the rewarding contextual conditioning (CPP), induced by cocaine, and aversive (CPA), induced by lithium chloride (LiCl).

For this, C57BL/6J mice, females, and males received injections of CBD 30 min before the phases of acquisition or expression of the mentioned behaviours (PCL and ACL). Therefore, the protocols were validated, and there was the induction of preference and aversion for PCL and ACL, respectively, at doses of 15 mg/kg of cocaine and 100 mg/kg of LiCl, through consecutive conditioning for three days. The evaluated compound, CBD at doses of 3, 10, and 30 mg/kg, was not able to inhibit the acquisition or expression of both CPP and CPA. Chemical analyses carried rule out the possibility that the CBD could have been chemically converted into another substance.

As for the objective of studying the effects of CBD on conditioned aversion, there was no success in validating LiCl-induced ACL. Dose, administration time, and protocol duration adjustments may be made to establish a robust ACL protocol.

Finally, the evaluation of other memory phases such as consolidation, extinction and reconsolidation, dose adjustments, administration time, and protocol duration can be performed to establish a better model and treatment proposition.

Keywords: Addiction. Drugs. Cannabinoids. Cannabidiol. Memory.

Lista de Ilustrações

Fig. 1: Gráfico mostrando o potencial danoso de diferentes drogas de abuso tanto para os outros quanto para o indivíduo adicto.

Fig. 2: Figura esquemática da atuação da cocaína na terminação pós-sináptica dopaminérgica no NAc.

Fig. 3: Circuito de recompensa formado por área tegmental ventral (ATV), o núcleo acumbens (NAc) e córtex pré-frontal (CPF), mostrando as interações glutamatérgicas, GABAérgicas e endocanabinoidérgicas em modular esse circuito.

Fig. 4: Esquema representativo de como certas regiões são comuns na circuitaria recompensadora e aversiva.

Fig. 5: Estruturas químicas dos canabinoides THC e CBD e dos endocanabinoides AEA e 2-AG.

Fig. 6: Esquema representativo dos componentes envolvidos na transmissão retrógrada do Sistema Endocanabinoide.

Fig.7: Principais alvos moleculares e potenciais mecanismo de ação sugeridos para o CBD.

Fig 8: Imagem ilustrativa do protocolo de Condicionamento ao Contexto utilizado neste trabalho.

Fig. 9: Esquema do delineamento experimental para PCL e ACL.

Fig. 10: Efeitos da cocaína (15 mg / kg), na PCL induzindo resposta significativa de recompensa em camundongos tratados com cocaína

Fig. 11: Efeitos da cocaína (15 mg / kg), na PCL em fêmeas e machos

Fig. 12: Efeitos do CBD (3, 10 e 30 mg / kg), na PCL induzida por cocaína (15 mg / kg) em camundongos machos e fêmeas. Durante a fase de aquisição da memória

Fig. 13: Efeitos do CBD (3, 10 e 30 mg / kg), na PCL induzida por cocaína (15 mg / kg) em camundongos machos e fêmeas. Durante a fase de expressão da memória

Fig. 14: Efeitos do LiCl (75 mg / kg), na ACL induzindo resposta aversiva em camundongos machos tratados com LiCl (n=8)

Fig. 15: Efeitos do LiCl (100 mg / kg), na ACL induzindo resposta aversiva em camundongos machos tratados com LiCl

Fig. 16: Efeitos da LiCl (100 mg / kg), na ACL em fêmeas e machos.

Fig. 17: Efeitos do CBD (3, 10 e 30 mg / kg), na ACL induzido por LiCl.

Fig. 18: Efeitos do CBD (3, 10 e 30 mg / kg), na ACL induzido por LiCl.

Lista de Abreviaturas:

- 2-AG – 2-araquidonoilglicerol
- ACL – Aversão Condicionada ao Lugar
- AEA - Anandamida
- AMPC – Monofosfato Cíclico de Adenosina
- ATV – Área Tegmental Ventral
- CB₁ – Receptores Canabinoides do tipo 1
- CB₂ – Receptores Canabinoides do tipo 2
- CBD - Canabidiol
- CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
- CPF – Córtex Pré-Frontal
- DA - Dopamina
- DAGL – Diacilglicerol Lipase
- FAAH – Hidrolase de Amida de Ácido Graxo
- GABA – Ácido Gama-aminobutírico
- LiCl – Cloreto de Lítio
- MAGL – Monoacilglicerol Lipase
- NaCl – Cloreto de Sódio
- PCL – Preferência Condicionada ao Lugar
- SNC – Sistema Nervoso Central
- TUS – Transtorno por Uso de Substância
- Δ9THC – Delta-9-Tetrahydrocannabinol

Sumário

1. Introdução	12
1.1 Respostas recompensadoras	12
a) Transtorno por Uso de Substâncias	12
b) Cocaína	13
c) Circuito de recompensa	16
1.2. Respostas aversivas	18
a) Circuitaria de aversão	18
b) Cloreto de Lítio	21
1.3. Canabinoides e sistema endocanabinoide	22
1.4. Dimorfismo sexual e resposta a drogas	28
2. Justificativa e objetivos do trabalho	29
3. Material e métodos	30
a) Animais	30
b) Drogas	30
c) Modelos comportamentais	30
d) Delineamento experimental	32
e) Análise estatística	33
4. Resultados	33
5. Discussão	44
6. Conclusão	50
7. Referências	51

1. Introdução

1.1 Respostas recompensadoras

a) Transtorno por Uso de Substâncias

O Transtorno por Uso de Substâncias (TUS), de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), engloba diferentes drogas de abuso: álcool, cafeína, maconha, inalantes, opioides, sedativos (hipnóticos), estimulantes e tabaco. Todas essas substâncias possuem a similaridade de alterar sintomas cognitivos, comportamentais e fisiológicos, sendo essas e outras alterações persistentes e relacionadas a ativação de circuitos cerebrais mesmo após desintoxicação. O abuso dessas substâncias acima citadas pode resultar em um transtorno de adicção crônico em que, para o diagnóstico, um dos seguintes critérios se faz presente: (i) busca compulsiva pela substância; (ii) uso incontrolável; (iii) sintomas desagradáveis resultantes do abuso como ansiedade, irritabilidade ou dor. Além desses, critérios, como ingestão de substâncias em quantidades maiores do que o originalmente pretendido, desejo persistente de reduzir ou moderar o uso da substância, períodos mais longos de uso da droga ou recuperação de seus efeitos e prejuízo social, tolerância farmacológica, sintomas de abstinência e recaída, também se fazem presentes (APA; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

No Brasil, o consumo de cocaína e crack aumentou na última década, sendo que a prevalência anual do uso de cocaína entre os estudantes universitários chega a 3 por cento, já a da população em geral é estimada em 1,75 por cento, o que é quatro vezes maior do que a média mundial (0,37 por cento) (MIRAGLIA, 2016). O III Levantamento Nacional sobre o uso de drogas realizado pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), mostrou também que na população brasileira a cocaína em pó é a segunda droga de abuso mais consumida no Brasil. Além de ser uma das drogas que mais causa danos para o indivíduo e para sociedade em todo o mundo como pode ser visto no gráfico abaixo (Fig.1) (NUTT; KING; PHILLIPS, 2010). Tendo isso em vista, faz-se necessário investigar melhor o mecanismo de atuação dessa substância e como intervir nesse ciclo de adicção.

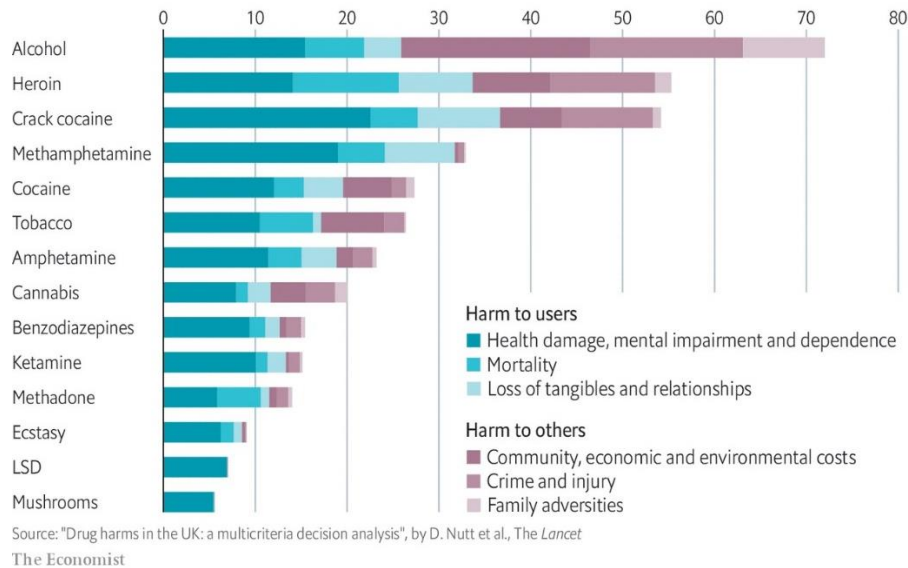


Fig. 1: Potencial danoso de diferentes drogas de abuso tanto para o indivíduo adicto quanto para terceiros (NUTT; KING; PHILLIPS, 2010).

b) Cocaína

A cocaína, a droga de abuso de enfoque desde estudo, é um alcaloide extraído das folhas da planta *Erythroxylum coca* nativa da região montanhosa dos Andes e partes do norte da Amazônia. Foi muito utilizada por povos indígenas, como os Incas, que tinham o costume de mastigar suas folhas secas ou em infusões para chás em rituais religiosos. Essa substância foi isolada pela primeira vez na Europa em 1855 por Niemann e a partir de então seus efeitos começaram a ser melhor elucidados pela comunidade científica (DRAKE; SCOTT, 2018).

Após o início da guerra às drogas, a proibição dessa e de outras substâncias consideradas nocivas em todo o mundo começou nos Estados Unidos em 1914, e no Brasil, em 1921 (DRAKE; SCOTT, 2018). Porém, não foram desenvolvidos tratamentos para o transtorno do uso desta substância, o que fez com que o número de doentes crônicos só aumentasse desde então, provocando desamparo e piora desses transtornos na população, além de um preconceito relacionado ao seu uso, o que dificulta ainda mais o diagnóstico dele. Os tratamentos disponíveis para o abuso de cocaína ainda são escassos e pouco eficazes, sendo por isso essencial continuar a busca por alternativas (KAMPMAN, 2019).

A cocaína é uma droga psicoestimulante capaz de inibir transportadores de recaptação membranar de neurotransmissores como de serotonina, catecolaminas

(norepinefrina e epinefrina) e, principalmente, dopamina (fig.2). Na área tegmental ventral (ATV) é originada a maioria das fibras dopaminérgicas e é provavelmente a região primária responsável pela ação estimulante da cocaína ao ativar a via mesocorticolímbica, a qual possui projeções para o núcleo acumbens – NAc (respostas recompensadoras), córtex pré frontal - CPF (comportamento cognitivo e motor) e estriado dorsal (motivação) (KOOB; VOLKOW, 2016).

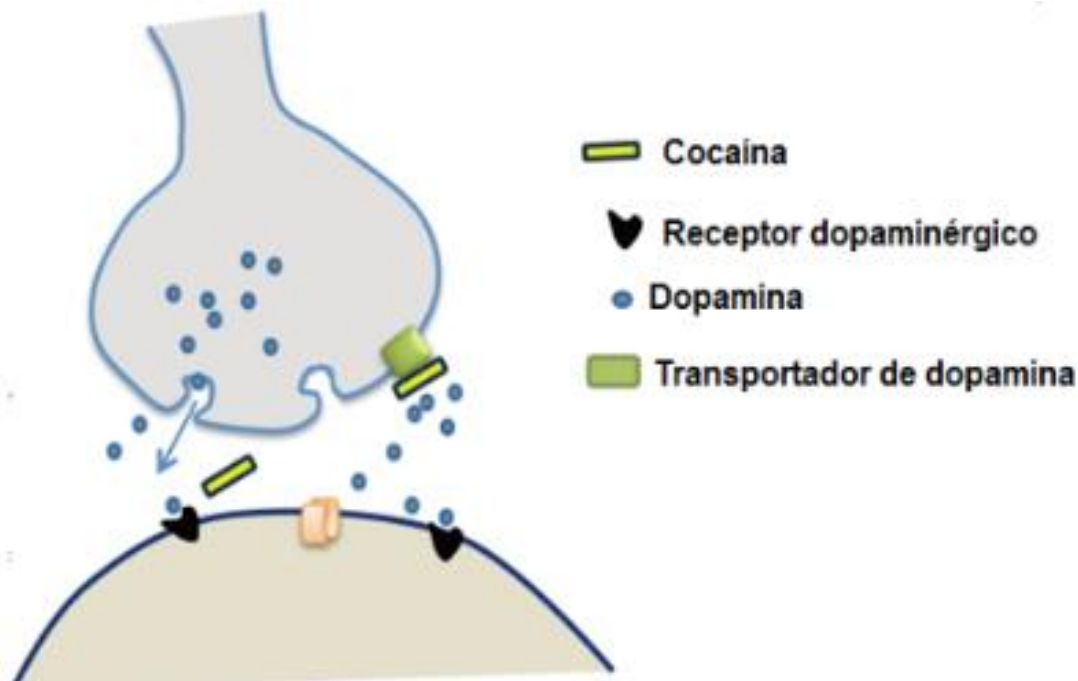


Fig.2: Figura esquemática da atuação da cocaína na terminação pós-sináptica dopaminérgica no NAc.

Modelos experimentais, utilizando roedores como sujeitos, têm sido indispensáveis para a compreensão do abuso de cocaína. As alterações comportamentais mais descritas utilizadas para estudo desse fenômeno em animais são aumento da resposta motora, sensibilização (aumento do efeito após administração repetida de uma substância), ativação neural do sistema de recompensa em presença de um contexto relacionado ao uso, além de aumento do comportamento de busca e sinais de abstinência como agressividade, ansiedade, compulsão (KUHN; KALIVAS; BOBADILLA, 2019; SANCHIS-SEGURA; SPANAGEL, 2006).

Para o estudo da atividade locomotora, o modelo na arena (ou campo aberto, “*Open Field*”) pode ser utilizado tanto agudamente, a fim de verificar o aumento de locomoção provocado por drogas estimulantes, quanto cronicamente, com o objetivo

de estudar as alterações desse parâmetro ao longo do uso de determinada substância. Para isso os animais recebem administração da droga e são expostos à arena para medida da atividade exploratória (BLANCO et al., 2015; SANCHIS-SEGURA; SPANAGEL, 2006).

Como dito acima, o abuso e a dependência de drogas podem ser iniciados e reinstaurados por estímulos contextuais previamente associados ao uso de drogas. A influência exercida pelo contexto no comportamento de busca de drogas pode ser modelada em animais experimentais com protocolos de condicionamento de lugar. O modelo de Preferência Condicionada ao Lugar (PCL, “*conditioned place preference*” - CPP) ganha destaque ao possibilitar o estudo da memória contextual, relacionada a esse transtorno (BARDO; BEVINS, 2000). Estímulos associados ao contexto durante o uso de substâncias que causam dependência, como estímulos sonoros, visuais e táteis, podem desencadear a ativação da memória recompensadora responsável por uma grande porcentagem da motivação para a busca de drogas, tendo o mesmo valor simbólico ao prazer provocado por ela, de acordo com estudos ((HHS), 2016), o que mostra ser de grande importância estudar essas memórias com maior atenção.

Outro modelo capaz de avaliar maiores detalhes, como a motivação pela droga e a busca, é através de um comportamento operante em que o próprio animal se administra a substância, chamado autoadministração (*ou “self-administration”*), em que o animal passa por um processo de aprendizagem a fim de receber infusões da droga, ao pressionar uma barra que pode ser associada à um estímulo, como uma luz ou um som (SANCHIS-SEGURA; SPANAGEL, 2006).

O comportamento tipo adictivo em ratos foi evidenciado após diversas análises no modelo de autoadministração, mostrando haver grande semelhança na população analisada de ratos com análises feitas em humanos adictos. Nele foi avaliada a intensidade de três comportamentos semelhantes aos, na época, considerados marcas do abuso de substância pelo DSM-IV, sendo: (i) dificuldade de parar uso, medida através da persistência de busca de cocaína durante um período de indisponibilidade sinalizada de cocaína no modelo; (ii) alta motivação para o uso da substância, referido como o ponto de quebra, considerado um índice confiável da motivação para a droga; e por último (iii) uso da substância apesar de consequências prejudiciais, medida em relação à persistência da resposta dos animais pela droga mesmo associada a uma punição (choque) (DEROCHE-GAMONET, VÉRONIQUE;

BELIN; PIAZZA, 2004). A partir disso eles puderam concluir, pela primeira vez, a parcela de animais que se tornam adictos (17%) além de outros parâmetros que iam

Por último, a neuroplasticidade promovida por cocaína pode variar de acordo com o esquema de administração, uma vez que são observadas diferenças no transcriptoma induzidos pela cocaína na ATV dependente do esquema de administração da cocaína nos seguintes paradigmas utilizados para o estudo do abuso dessa substância: agudo, crônico, condicionado (alternado) ou de autoadministração. Quanto mais complexo o paradigma, mais complexos se tornam os padrões de expressão gênica dentro da ATV, além de ocorrer uma maior produção de fatores de crescimento neuronal em paradigmas condicionado e de autoadministração, provavelmente devido a uma melhor consolidação dessa memória, fazendo com que haja uma maior plasticidade sináptica nessas áreas (CAMPBELL et al., 2021).

Também relacionado aos esquemas de administração, recentemente, estudos mostraram uma upregulação de receptores CB₂ após o protocolo crônico ou de autoadministração de cocaína no NAc. O que indica o envolvimento desses receptores canabinoides devido a neuroinflamação provocada por essas administrações, indicando a relação do sistema endocanabinoide com esse transtorno (ZHANG et al., 2021).

c) Circuito de recompensa

O sistema de recompensa inclui, tradicionalmente, as regiões envolvidas diretamente na neurotransmissão dopaminérgica proveniente da ATV a qual envia projeções para o NAc e o CPF (Fig.3). Esse circuito é responsável por reforçar comportamentos essenciais para sobrevivência do indivíduo, como alimentação, hidratação, comportamento sexual e interação social (MANDUCA et al., 2021). Esse reforço se dá através da liberação de neurotransmissores como a dopamina (DA) no NAc, relacionadas a sensação de prazer que fazem com que o indivíduo priorize esses comportamentos em relação a outros (EVERITT; ROBBINS, 2005).

As drogas de abuso, como a cocaína, são capazes de se “apropriar” desse circuito, tornando o uso da droga também essencial para o organismo. A cocaína atua diretamente na terminação nervosa dopaminérgica do NAc, bloqueando a recaptção

de dopamina através do bloqueio de seu transportador membranar (DAT) provocando uma estimulação contínua nos receptores pós sinápticos, capaz de alterar as prioridades do sistema de recompensa (GOODMAN; PACKARD, 2016).

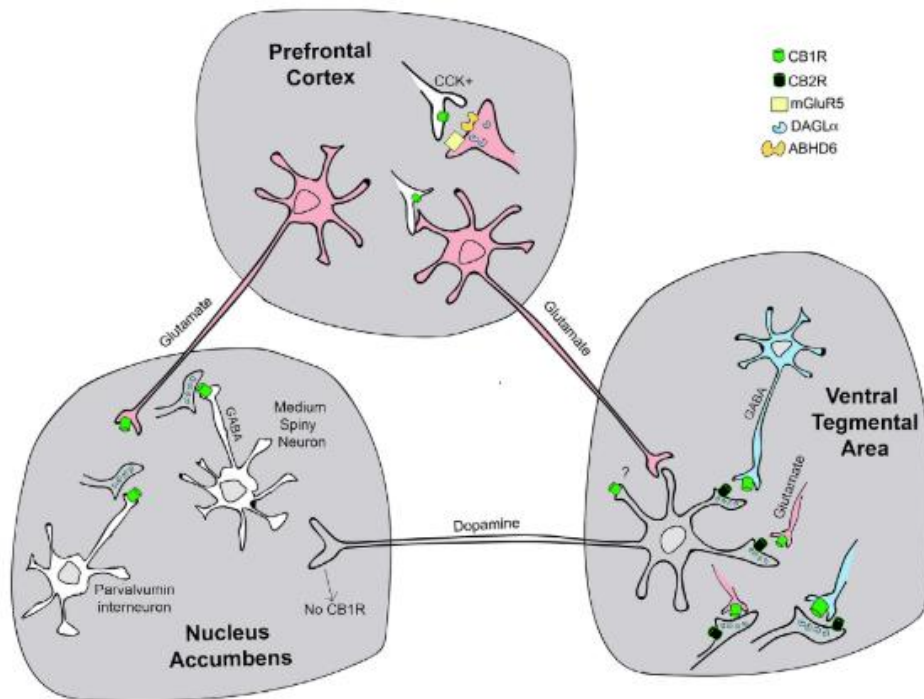


Fig. 3: Circuito de recompensa formado por área tegmental ventral (ATV), o núcleo accumbens (NAC) e córtex pré frontal (CPF), mostrando as interações glutamatérgicas, GABAérgicas e endocanabinoérgicas em modular esse circuito (EVERITT; ROBBINS, 2005; MANZANARES et al., 2018).

Conforme o uso se torna crônico e progride para adicção, modificações moleculares e celulares ocorrem tanto no sistema mesolímbico, quanto em outras regiões como o córtex pré-límbico, amígdala e hipocampo. Além disso, ocorre uma mudança do controle cognitivo, mediado pelo hipocampo, para o controle habitual, mediado pelo estriado dorsolateral, o qual também é reforçado por estresse e ansiedade, podendo facilitar a recaída (GOODMAN; PACKARD, 2016).

Já o hipocampo está envolvido com o TUS uma vez que é a área cerebral responsável por formar novas memórias e por associar pistas contextuais com o evento em si (no caso, o uso da substância) (ASTH; SANTOS; MOREIRA, 2021). O estriado dorsal, por outro lado, tem se mostrado importante para a formação do hábito e também para motivação para busca da droga, além de possuir relação com o

comportamento de compulsividade e impulsividade, também aumentado nesses indivíduos (BELIN et al., 2008; FOUYSSAC; EVERITT; BELIN, 2017; GIULIANO; BELIN; EVERITT, 2019; ITO et al., 2002; SINGER et al., 2018).

Outro composto importante envolvido na plasticidade sináptica é o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), relacionado a neurogênese, neuroplasticidade e funcionamento cognitivo (NAMBA et al., 2021). O BDNF está envolvido em alterações neuro adaptativas nos sistemas dopaminérgico e glutamatérgico, implicados no consumo e manutenção da dependência de cocaína (PITTS; TAYLOR; GOURLEY, 2016). A interação BDNF e endocanabinoides já mostrou ter um papel fundamental na regulação da plasticidade sináptica induzida pela cocaína e no aprendizado associativo, mostrando ser um marcador chave para esse estudo (ZHONG et al., 2015).

1.2. Respostas aversivas

a) Circuitaria de aversão

O estado oposto de recompensa pode ser considerado “aversão”, caracterizado por comportamentos de esquiva e escape frente a determinados estímulos. Estímulos estressores repetidos podem causar um estado crônico de aversão, no qual respostas duradouras são induzidas mesmo após a remoção do estímulo. Exemplos de aversão crônica podem incluir privação alimentar, obesidade, bulimia nervosa, abstinência de drogas, associações negativas aprendidas, depressão e dor crônica (ERIN N. UMBERG; POTHOS, 2011).

Pacientes com dor crônica ou que passaram por eventos estressantes durante a infância, por exemplo, parecem apresentar diversos distúrbios psicológicos, como altos níveis de ansiedade e depressão, estresse ou redução da qualidade do sono. Esses distúrbios provavelmente refletem alterações neurobiológicas de longo prazo, como diminuição na densidade da massa cinzenta. Essa diferença de aversão aguda e crônica parece refletir fenômenos neuroquímicos distintos (ERIN N. UMBERG; POTHOS, 2011; LUDWIG et al., 2018). Por isso, vários protocolos são propostos para induzir estados aversivos, tanto agudamente, como estresse de contenção, trauma

em uma extremidade (choque na cauda ou nas patas), quanto cronicamente, como administração de agentes indutores de náusea (cloreto de lítio), estimulação de eletrodo intracraniano ou administração intraperitoneal de ácido acético (KIYATKIN, 1989; MARK et al., 1995).

Recompensa e aversão parecem ser mediadas por sistemas neurais sobrepostos. Trabalhos anteriores demonstram que a mudança no espectro de aversão à recompensa pode ser, em parte, resultado de mudanças na razão dopamina / acetilcolina central, particularmente no NAc. Um dos mecanismos propostos para a aversão parece ser relacionado a redução da atividade da dopamina e o aumento da atividade da acetilcolina nos “centros de recompensa” do cérebro (HE et al., 2021; HOEBEL; AVENA; RADA, 2007). Esses circuitos neurais são compartilhados e contribuem tanto para a supressão quanto para a recaída das respostas condicionadas associadas ao uso de drogas e ao medo, e englobam o córtex pré-frontal medial e o hipocampo, os quais passam a regular a expressão de respostas condicionadas por regiões como amígdala, núcleo leito da estria terminal e NAc.

Durante a recaída, as projeções do hipocampo para o córtex pré-frontal inibem a recuperação das memórias de extinção, resultando em uma perda de controle inibitório sobre a resposta condicionada associada ao medo e à droga (GOODE; MAREN, 2019). Além disso, há aumento de concentração de dopamina com pico 12h após administração de LiCl (agente aversivo) no hipocampo dorsal, mostrando que a neurotransmissão dopaminérgica também se faz necessária para a consolidação da memória aversiva, assim como foi visto para memória recompensadora (KRAMAR et al., 2021).

Assim como na abstinência, a memória associada a aversão é capaz de desregular alguns circuitos cerebrais ao causar desbalanços de estímulos, os quais são mais facilmente recrutados, provocando prejuízos para o indivíduo (fig.4) (GOODE; MAREN, 2019; KRAMAR et al., 2021), podendo resultar em transtornos como ansiedade, depressão, estresse pós traumático (TEPT), dentre outras fobias. Essas são cada vez mais comuns e afetam grande parte da população que, além disso, adere pouco os medicamentos disponíveis.

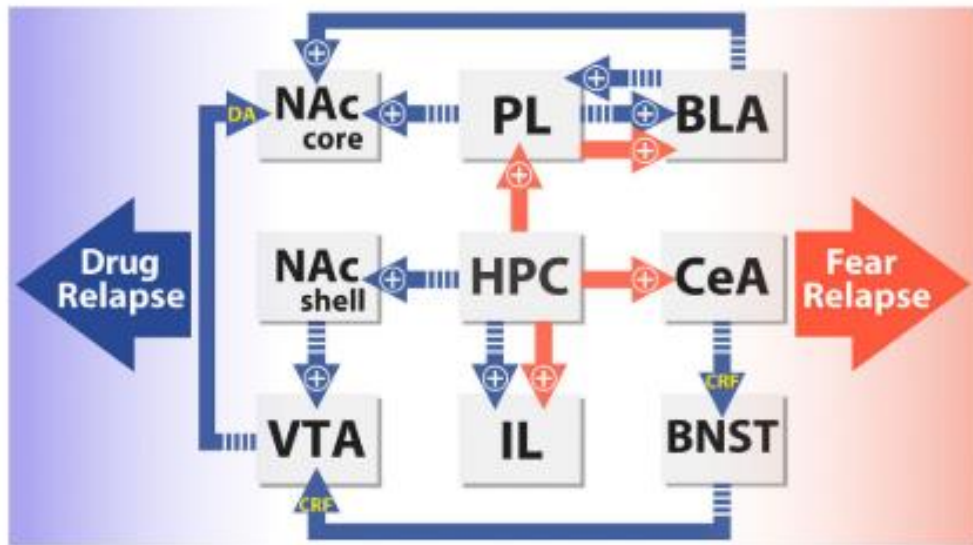


Fig.4: Esquema representativo de como certas regiões são comuns na circuitaria de recaída de respostas recompensadora e aversiva. Abreviaturas de região: núcleo do accumbens núcleo (NAc-núcleo); córtex do núcleo acumbens (NAc-córtex); área tegmental ventral (VTA); córtex pré-límbico (PL); hipocampo (HPC); córtex infralímbico (IL); amígdala basolateral (BLA); amígdala central (CeA); núcleo leito da estria terminal (BNST) (GOODE; MAREN, 2019).

Sendo assim, modelos animais se fazem, mais uma vez, importantes para o estudo e desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. Os mais comumente utilizados para o estudo da aversão e medo são testes em que o animal aprende a associar um estímulo aversivo à um ambiente ou sabor.

Nessa aversão condicionada ocorre o pareamento a um estímulo aversivo e, após o condicionamento, é avaliado o tempo em que o animal passa nesse compartimento em relação ao outro compartimento pareado com um estímulo neutro. Este estímulo aversivo pode ser induzido por dor (Nocicepção), normalmente induzida pelo ácido acético (BAGDAS et al., 2016), por cloreto de lítio (LiCl), através da aversão condicionada ao sabor ou lugar, em que ocorre uma associação do contexto com um sabor ou sensação considerados desagradáveis, como a náusea, o que faz com que o animal evite o lado pareado ao mesmo (RISINGER; CUNNINGHAM, 2000).

A ACL já é utilizada assim como a PCL para o estudo da memória relacionada ao contexto, porém aqui decidimos validar também o protocolo de cinco dias, em que a fase de condicionamento ocorre em três dias consecutivos (JOHNSON et al., 2010; MULDOON et al., 2020).

b) Cloreto de Lítio

Há muito o sal de lítio é utilizado na clínica no tratamento de depressão bipolar (YOUNG, 2009), porém em doses altas essa toxina induz vômito em espécies como um reflexo emético e, por isso, tem sido utilizada para criar modelos animais de náusea antecipatória e aversão local condicionada (DOOBAY et al., 2021). Para esse trabalho, utilizamos esse composto por sua capacidade de causar uma sensação desagradável no animal como um agente aversivo ao gerar memórias associativas as quais permitem o estudo desses transtornos após sua administração intraperitoneal (i.p.), como relatado na literatura.

Anti-inflamatórios e analgésicos, como cetoprofeno e a morfina, foram capazes de atenuar a ACL induzida por ácido acético e falharam em reduzir a ACL induzida pelo estímulo aversivo não nocivo, o LiCl. Este achado fornece mais suporte para a seletividade da ACL induzida por LiCl em roedores a fim de avaliar o componente aversivo (BAGDAS et al., 2016).

O indutor de náusea LiCl na ACL é também utilizado para o estudo de efeitos adversos advindos do tratamento quimioterápico e sua associação com o contexto, uma vez que, após iniciado o tratamento desses pacientes, foi observado que eles costumam sentir desconforto mesmo antes de receberem o tratamento farmacológico. O envolvimento do hipocampo, foi observado mais uma vez, durante a aquisição e manutenção a longo prazo da ACL induzida por LiCl e, além disso, após inativar o hipocampo ventral, a aversão foi alterada para preferência, o que foi confirmado após a ativação de receptores NMDA do hipocampo dorsal e ventral se mostrarem necessárias para manutenção dessa memória (HERNÁNDEZ-MATIAS; BERMÚDEZ-RATTONI; OSORIO-GÓMEZ, 2021).

Ratos após o treinamento de extinção da ACL induzida por LiCl (75 mg/kg), mostraram também ser sujeitos ao restabelecimento desse aprendizado após um priming de LiCl. Evidenciando outra característica importante desse paradigma, a possibilidade de estudar o restabelecimento de respostas aversivas aprendidas após a sua extinção, assim como é possível para o estudo de abuso de drogas (PARKER; MCDONALD, 2000).

O LiCl na dose de 130 mg/kg foi capaz de alterar a expressão de ativação neuronal (através da marcação com c-Fos), após o pareamento ao estímulo condicionado (CS) no córtex cingulado e no núcleo hipotalâmico paraventricular, semelhante ao CS pareado a cocaína, evidenciando mais uma vez as regiões envolvidas para aquisição da memória aversiva e como elas possuem semelhança com o circuito de adicção (JOHNSON et al., 2010). Curiosamente, na substância cinzenta periaquedutal, não houve expressão significativa de c-fos o que diverge da literatura, uma vez que essa área se mostra relacionada com respostas aversivas e de medo (ALMEIDA-SANTOS et al., 2013; BATISTA et al., 2021; BRIANIS et al., 2022) e também com o abuso de drogas (MARICHAL-CANCINO, 2021).

1.3. Canabinoides e sistema endocanabinoide

O Sistema Endocanabinoide (SE) (fig.6) é um sistema neuromodulador descoberto a partir da investigação dos efeitos da planta *Cannabis sativa*, cujos principais constituintes são o Δ 9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC) e o canabidiol (CBD) (fig.5) (MECHOULAM; PARKER, 2013).

Estudos com administração sistêmica de Δ 9-THC relatam PCL mais comumente em baixas doses (1 mg/kg) e ACL em altas doses (5 mg/kg) embora, na verdade, o resultado mais frequente é que não tenha efeito algum (Kubilius et al., 2018). Já o CBD parece não mostrar efeito tanto na PCL quanto na ACL, por não produzir os efeitos psicotrópicos como do THC (VIUDEZ-MARTÍNEZ et al., 2018). Esses compostos atuam em receptores canabinóides tipo 1 (CB₁) e tipo 2 (CB₂), dois receptores metabotrópicos, compostos pela proteína G inibitória (Gi). Além deles, o SE é constituído por seus ligantes endógenos, os endocanabinóides (fig.5), os lípidos N-araquidonoil etanolamina (anandamida ou AEA) e 2-araquidonoil glicerol (2-AG), sintetizados sob demanda, ou seja, não são armazenados em vesículas, a partir de lipídios da membrana pós-sináptica após entrada de cálcio na célula. Também por suas enzimas de síntese e metabolização, amida hidrolase de ácido graxo (FAAH), para a AEA, e a monoacilglicerol lipase (MAGL), para 2-AG (MECHOULAM; PARKER, 2013)

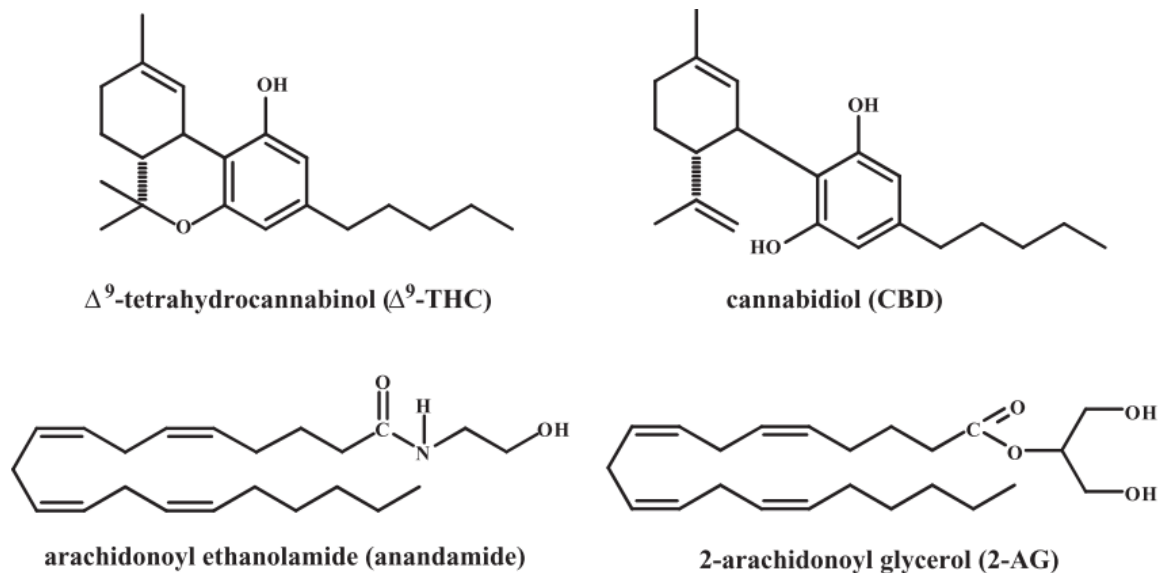


Fig. 5: Estruturas químicas dos canabinoides THC e CBD e dos endocanabinoides AEA e 2-AG (MECHOULAM; PARKER, 2013).

A neurotransmissão endocanabinoide ocorre principalmente de forma retrógrada, uma vez que seus receptores estão, principalmente, localizados em terminais pré-sinápticos, com endocanabinóides sendo sintetizados a partir de membranas celulares em neurônios pós-sinápticos. Características essas que fazem com que esse sistema seja capaz de inibir a atividade neuronal, as taxas de disparo e a liberação de neurotransmissores e esteja diretamente envolvido em processos emocionais, de aprendizado e adicção (MOREIRA; LUTZ, 2008a).

O SE é encontrado em quase todo o cérebro e por isso é capaz de modular outras neurotransmissões como a dopaminérgica, mesmo não possuindo receptores no terminal pré-sináptico dessa terminação presente no NAc. Para tal, endocanabinoides podem ser produzidos e ativarem receptores em neurotransmissores glutamatérgicos e gabaérgicos, produzindo seus efeitos retrogradamente (ROBBINS; ERSCHKE; EVERITT, 2008). Ele também possui um papel crucial no substrato neurobiológico subjacente à adicção, emergindo como potencial terapia para transtornos como o TUS (LEE et al., 2017; MALDONADO; VALVERDE; BERRENDERO, 2006; MANZANARES et al., 2018; MOREIRA; LUTZ, 2008b).

Uma vez que, ocorre uma desregulação de sistemas de neurotransmissão, dentre eles o GABAérgico e glutamatérgico, em que essas mal adaptações podem ser

observadas em diversas regiões centrais como na via mesocorticolímbica, o que coincide com as principais áreas em que os endocanabinoides e seus receptores são amplamente expressos, participando assim do processo de iniciação do consumo de substâncias e do desenvolvimento de compulsão e perda de controle comportamental que ocorre durante a adicção (DE GIACOMO et al., 2020; GOODMAN; PACKARD, 2016; ZHANG et al., 2020). De fato, nosso grupo mostrou, em trabalhos anteriores, a eficácia do antagonismo de receptores CB₁ e do agonismo de receptores CB₂ em reverter diferentes efeitos comportamentais induzidos por cocaína. Além disso, demonstrou-se que a ativação do hipocampo pode ser também revertida com a modulação de receptores canabinoides (LOPES et al., 2020).

Certas drogas de abuso, como a cocaína, nicotina e etanol, requerem a ativação do receptor CB₁ para induzir a liberação de dopamina (CHEER et al., 2007). Além disso, as enzimas de síntese de endocanabinoides são expressas em neurônios dopaminérgicos e a cocaína desencadeia a síntese de 2-AG na ATV, que por sua vez ativa CB₁ para inibir as aferências GABAérgicas e desinibir neurônios dopaminérgicos (WANG et al., 2015). Da mesma maneira, o SE é capaz de atuar no processamento da memória emocional e na plasticidade sináptica relacionada. Transtornos aversivos, como estresse pós-traumático, e os transtornos por uso de drogas podem resultar da formação de uma memória anormal. Os canabinoides tem mostrado um papel importante em modular essas memórias em suas diferentes fases (STERN et al., 2018).

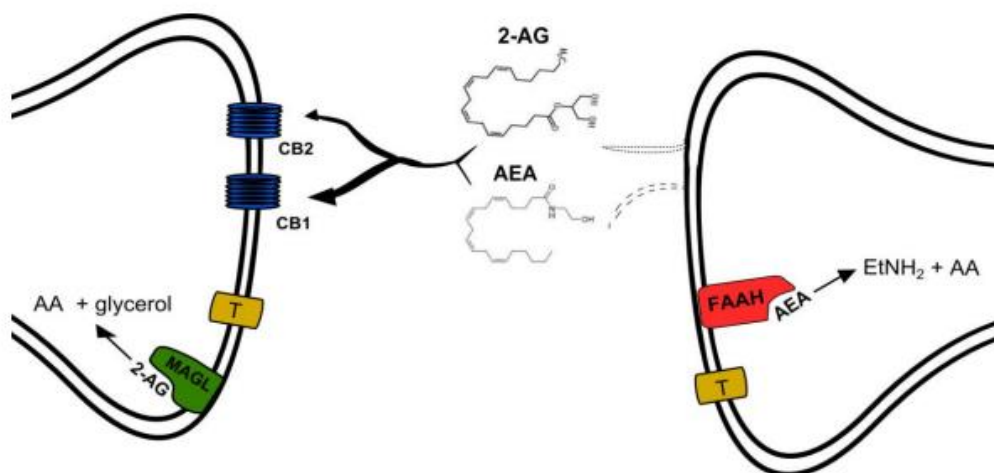


Fig. 6: Esquema representativo dos componentes envolvidos na transmissão retrógrada do Sistema Endocanabinoide. 2-AG: 2-araquidonoil glicerol, AEA: Anandamida, CB₁: Receptor canabinoide do tipo

1, CB₂: Receptor canabinoide do tipo 1, FAAH: Hidrolase de admidia de ácidos graxos, MAGL: Monoacilglicerol lipase, T: Transportadores. (Batista et al., 2014).

Em ratos a sinalização endocanabinoide do hipotálamo modula as respostas aversivas relacionadas a ataques de pânico (VIANA et al., 2019), assim como para o TEPT, já que a expressão de receptores canabinoides em áreas do cérebro que modulam o estresse, bem como respostas emocionais ao medo e recompensa, como a amígdala, córtex pré-frontal e hipocampo, também parecem explicar a redução da hiperativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) após o aumento da sinalização endocanabinoides (STEARDO et al., 2021).

O CBD é um dos fitocannabinoides mais importantes encontrados na planta *Cannabis sativa*, não responsável por seus efeitos psicotomiméticos (VIUDEZ-MARTÍNEZ et al., 2019). Esse composto é utilizado para o tratamento de epilepsias refratárias e vem sendo estudado também para a farmacoterapia de transtornos alimentares, esquizofrenia, depressão, ansiedade, dentre outros (DE ALMEIDA; DEVI, 2020; IBEAS BIH et al., 2015), além de ter se mostrado com baixa toxicidade e com poucos efeitos adversos em humanos até o momento (DEIANA et al., 2012; HUESTIS et al., 2019). Sendo, portanto, uma substância de particular interesse, que apresenta potencial para a modulação tanto de memórias recompensadoras quanto aversivas (STERN et al., 2018).

Em relação aos seus mecanismos de ação, diversos alvos têm sido estudados para a ação desse canabinoide (fig.7). dentre eles a facilitação do SE, não diretamente nos receptores mas, indiretamente, inibindo o transporte, a recaptação e o metabolismo dos endocannabinoides (ELMES et al., 2015; GALAJ; XI, 2019; IBEAS BIH et al., 2015; STERN et al., 2018). Outros alvos específicos já identificados são os receptores serotoninérgicos, 5HT_{1A}, relacionados ao efeito tipo-ansiolítico; receptores vanilóides, como o canal transiente vanilóide tipo 1 (TRPV1), relacionado a resposta anti-aversiva (GALAJ; XI, 2019; RESSTEL et al., 2009). Outros alvos fortemente associados aos receptores endocanabinoides são os GPR12, GPR18 e GPR55, também foram associados a vários processos cognitivos, como aprendizagem e memória (DE ALMEIDA; DEVI, 2020).

O CBD também já mostrou ser capaz de atenuar respostas em modelos de adicção como na PCL e na autoadministração induzida por drogas de abuso em

animais (CALPE-LÓPEZ et al., 2021; CHESWORTH; KARL, 2020; GASPARYAN et al., 2020; LEDESMA; MANZANEDO; AGUILAR, 2021) e, mais recentemente em humanos (MORISSETTE et al., 2021). Além disso, evidências acumuladas de estudos com animais que investigam os efeitos do CBD no processamento da memória do medo, indicando que ele reduz o medo aprendido (BITENCOURT; PAMPLONA; TAKAHASHI, 2008; DO MONTE et al., 2013; HODA BADR, CINDY L. CARMACK, DEBORAH A. KASHY, MASSIMO CRISTOFANILLI, 2011). Também reduz a expressão de memórias de drogas agudamente e interrompendo sua reconsolidação (LEE et al., 2017). E, por último, o CBD também facilitou a extinção da memória recompensadora ou dificultou a reconsolidação dessas memórias (JIANG et al., 2005; LUJÁN et al., 2018; WOLF et al., 2010).

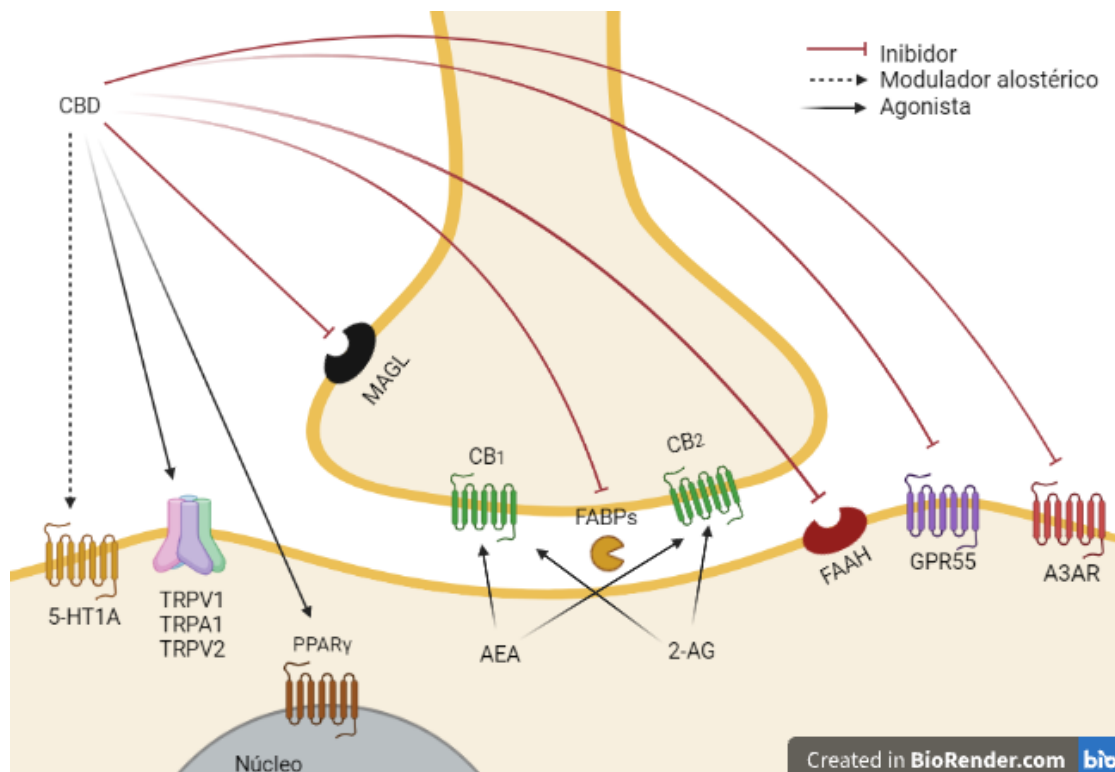


Fig.7: Principais alvos moleculares e potenciais mecanismo de ação sugeridos para o CBD. Essa droga inibe tanto hidrolase de amidas de ácidos graxos (fatty acid amide hydrolase - FAAH), a enzima que metaboliza a anandamida, quanto as proteínas de ligação de ácidos graxos (Proteínas de ligação a ácidos graxos – FABPs), que medeiam o transporte da anandamida para FAAH; ambos os mecanismos acabam resultando na ativação indireta dos receptores CB₁ e / ou CB₂. O CBD também ativa alostericamente o receptor 5-HT_{1A}, e diretamente o receptor nuclear PPAR γ e os canais do potencial transiente do receptor TRPV1, TRPA1 e TRPV2. Finalmente, o CBD inibe a recaptção da adenosina e antagoniza GPR55 (DE ALMEIDA; DEVI, 2020; MORI et al., 2021; RAYMUNDI et al., 2020; SONEGO; PRADO; GUIMARÃES, 2021).

Já em relação a respostas aversivas, o CBD mostrou ser efetivo em modelos de ansiedade como labirinto em T elevado ao diminuir o tempo nos braços fechados, também se mostrou efetivo, na dose de 30 mg/kg, em atenuar efeitos ansiogênicos induzidos pelo modelo de Estresse Crônico Imprevisível (*Chronic Unpredictable Stress - CUS*), efeito esse revertido pelo bloqueio dos receptores CB₁ e CB₂, e não pelo bloqueio do receptor 5HT_{1a}. Além de também haver aumento da neurogênese e da densidade de espinhas dendríticas no hipocampo (FOGAÇA et al., 2018).

O que também foi verificado em modelos de depressão, como o nado forçado, em que o CBD também mostrou ser efetivo em diminuir o tempo de imobilidade dos animais, o que pode ser interpretado como efeito tipo antidepressivo (HÄRING et al., 2013). Evidências indicam que o CBD reduz o medo aprendido de diferentes maneiras: ao diminuir a expressão do medo agudamente, ao interromper a reconsolidação da memória e ao aumentar a extinção dela (JURKUS et al., 2016).

Em relação aos efeitos adversos encontrados até o momento em estudos clínicos, pesquisadores realizaram um estudo durante 10 semanas em que utilizaram 200 mg diários de CBD em dependentes de *cannabis* com o objetivo de melhorar os sintomas psicológicos e cognitivos provocados por uso crônico dessa droga. O CBD foi bem tolerado sem nenhum efeito adverso sério, e foi capaz de melhorar os sintomas psicológicos e a cognição desses indivíduos. Além disso, o CBD foi capaz de reverter a diminuição do volume do hipocampo nos cérebros desses indivíduos, sugerindo um papel protetor contra os danos estruturais do cérebro conferidos pelo uso crônico de *cannabis* (SOLOWIJ et al., 2018).

O CBD produz seus efeitos a longo prazo através da promoção de neurogênese ao promover a liberação de fatores neurotróficos como o BDNF em células como micróglia e astrócitos, promovendo plasticidade sináptica e consolidação dessa nova memória, uma vez que, neurônios novos não possuem memória relacionada à droga e são capazes de estabelecer novas interações, o que desempenharia um papel importante no amortecimento da resposta adictiva (CHIARLONE et al., 2014; LUJÁN et al., 2018; STERN et al., 2018). Além de também ter sido capaz de aumentar os níveis de fatores neurotróficos derivados do cérebro e

estimular a neurogênese hipocampal, em animais isquêmicos melhorando respostas cognitivas e emocionais (MORI et al., 2017).

1.4. Dimorfismo sexual e resposta a drogas

No presente trabalho optamos por trabalhar com ambos os sexos, uma vez que existe uma maior incidência do desenvolvimento de transtornos psiquiátricos em mulheres do que em homens (ALTEMUS; SARVAIYA; NEILL EPPERSON, 2014), além de as mulheres se mostram mais propensas a desenvolver transtorno de estresse pós traumático (TEPT) (CLARK et al., 2019), depressão maior, quadros de pânico e ansiedade em relação aos homens (ALTEMUS; SARVAIYA; NEILL EPPERSON, 2014). Em relação ao abuso de substâncias, também as mulheres podem estar mais vulneráveis à adicção após o uso de certas substâncias, principalmente psicoestimulantes como a cocaína (SWALVE; SMETHELLS; CARROLL, 2016). Essa maior vulnerabilidade parece estar relacionada com o ciclo estral feminino em que certos estágios potencializam a aprendizagem de recompensa da cocaína (JOHNSON et al., 2019; ZLEBNIK, 2019).

Para isso, foi levado em consideração as premissas desse “guia introdutório para pesquisadores pré-clínicos novos no estudo das diferenças sexuais no vício” (RADKE; SNEDDON; MONROE, 2021).

2. Justificativa e objetivos do trabalho

O presente trabalho foi delineado considerando-se a importância da memória contextual para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos relacionados tanto a respostas aversivas quanto recompensadoras, bem como o canabidiol como potencial abordagem farmacológica para se intervir em tais memórias.

- a)** O objetivo geral deste trabalho, portanto, é testar a hipótese de que o Canabidiol é capaz de inibir a aquisição e a evocação da memória contextual recompensadora induzida pela Cocaína, bem como a memória aversiva induzida por Cloreto de Lítio.
- b)** Os objetivos específicos são:
- Verificar os efeitos da cocaína na PCL em machos e fêmeas.
 - Verificar os efeitos do Cloreto de Lítio na ACL em machos e fêmeas.
 - Verificar efeitos do Canabidiol nos dois casos, nas fases de aquisição e expressão.

3. Material e métodos

a) Animais

Camundongos C57BL/6J, machos e fêmeas (20–25 g) adultos com 8-9 semanas, provenientes do Biotério Central – UFMG foram alojados em grupos de dez animais por caixa em uma sala sob temperatura constante (24 ± 2 ° C) e um ciclo claro / escuro de 12 horas, com livre acesso à água e comida (CEUA-UFMG: 179/2020).

b) Drogas

PCL foi induzido com uma dose de 15 mg / kg de cocaína (Merck & Co., Inc. - Alemanha) diluída em solução salina (NaCl 0,9%). Já o ACL foi induzido pelo Cloreto de Lítio (LiCl) (Sigma-Aldrich - USA) na dose de 100 mg / kg (JOHNSON et al., 2010; MULDOON et al., 2020) preparado após a diluição do Carbonato de Lítio em solução salina (NaCl 0,9%) e ácido clorídrico (HCL 4%). O canabidiol (pureza de 99.6%; BSPG-Pharm-Sandwich, UK) doado pelo Professor Dr. Francisco Silveira Guimarães, da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto (FMRP). Todas as substâncias foram administradas por via intraperitoneal (i.p.) em um volume de 10 ml/kg. As faixas de doses foram selecionadas com base em estudos anteriores. A dose do CBD foi selecionada de acordo com trabalhos anteriores e através de um experimento piloto, as doses escolhidas foram de 3,10 e 30 mg/kg diluído em tween 80% (5%) e salina (NaCl 0,9%) e administrado 30 min antes dos tratamentos com cocaína ou LiCl por via i.p. também em um volume de 10 ml/kg.

c) Modelos comportamentais

Condicionamento ao lugar (PCL / ACL):

Comportamento avaliado utilizando uma caixa de acrílico com dois compartimentos com pistas contextuais diferentes (15 x 12 x 12 cm cada) conectados

por um corredor central (9,5 × 5 × 12 cm) com portas removíveis entre cada compartimento (Fig.8).

No dia 1, cada animal possui acesso livre aos compartimentos da caixa por 15 min. Animais que passaram mais de 70% do tempo em um dos compartimentos são excluídos do experimento. Durante as fases de condicionamento (dias 2, 3 e 4), foram administrados veículo ou cocaína (estímulo não condicionado) imediatamente antes do confinamento a uma das câmaras (que servirá como estímulo condicionado contextual) por 30 min. Durante o condicionamento, os animais aprendem a associar o ambiente aos efeitos de recompensa (ou aversivos) induzidos pela droga. No dia do teste (dia 5), o mesmo procedimento descrito para o dia 1 é repetido. Dependendo se eles passam mais tempo no compartimento previamente pareado à droga do que no não pareado, as drogas são consideradas gratificantes (preferência condicionada ao lugar - PCL), enquanto se ocorrer o contrário, o efeito da droga é interpretado como aversivo (aversão condicionada ao local, ACL) (BARDO; BEVINS, 2000).

Para testar os efeitos do tratamento na aquisição, o CBD foi administrado 30 minutos antes de cada injeção de cocaína ou LiCl. Já para o teste dos efeitos durante a expressão, o CBD foi administrado apenas no dia do teste, 30 minutos antes do teste. Os experimentos foram gravados com uma câmera de vídeo (Microsoft LifeCam®) e o tempo gasto em cada compartimento analisado usando o software ANYmaze (versão 7.0). Os dados foram expressos como pontuações do PCL/ACL (em porcentagem), que é definido como o tempo gasto no compartimento pareado com a droga menos o tempo no outro compartimento multiplicado por 100, dividido pela soma do tempo gasto nos dois compartimentos.

Cálculo:

$(\text{lado pareado a droga} - \text{lado veículo}) / (\text{lado droga} + \text{lado veículo}) * 100$

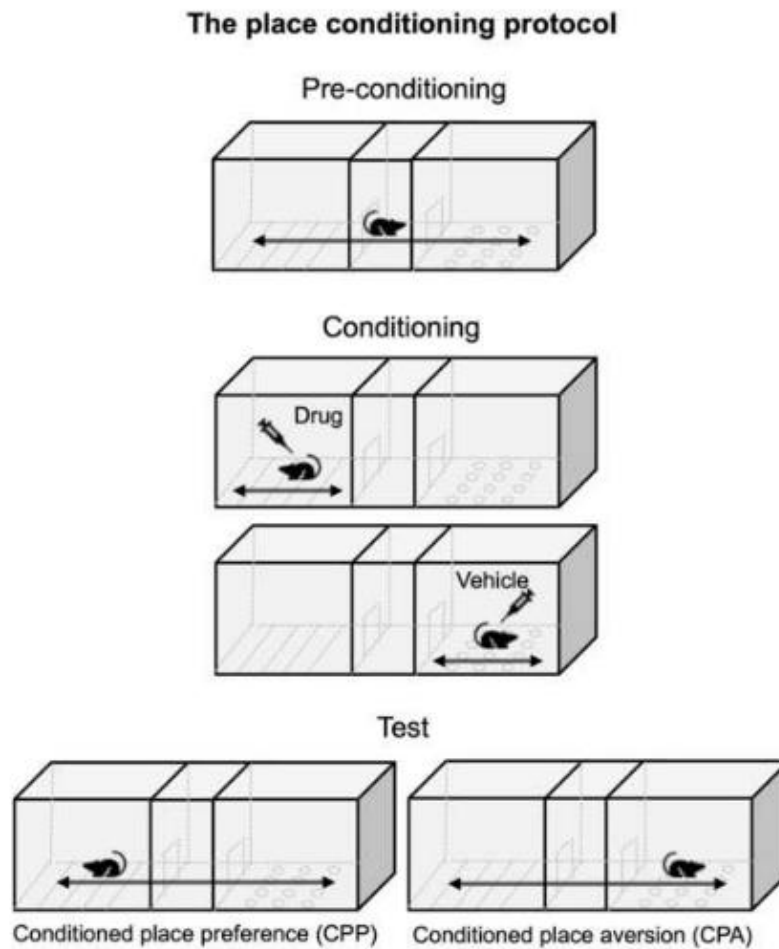


Fig 8: Imagem ilustrativa do protocolo de Condicionamento ao Contexto utilizado neste trabalho (ASTH; SANTOS; MOREIRA, 2021)

d) Delineamento experimental

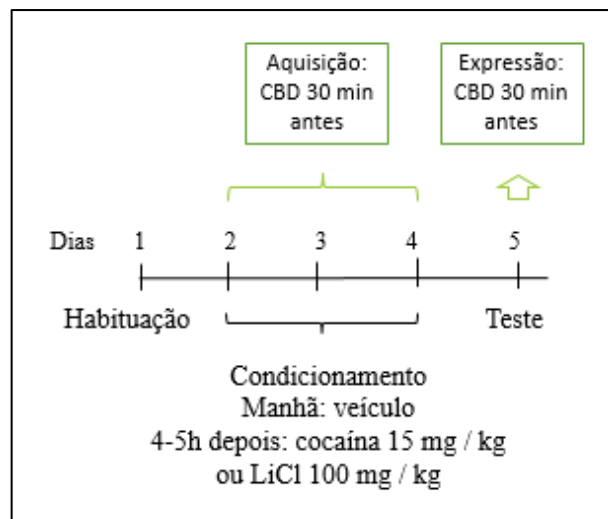


Fig.9: Esquema do delineamento experimental para PCL e ACL (Feita pela autora no programa powerpoint).

- Validação do protocolo de 5 dias do PCL somente com machos.
 - Validação do protocolo de 5 dias do PCL com machos e fêmeas.
 - Seleção de dose CBD no PCL - CBD (3, 10 e 30 mg / kg)
- * O mesmo delineamento se repetiu para ACL, porém induzido com Cloreto de Lítio.

e) Análise estatística

4. Resultados

4.1. Validação do protocolo de PCL com camundongos machos:

Primeiramente, constatou-se a validade do protocolo de indução de PCL em cinco dias em camundongos machos. O grupo controle recebeu administrações de salina durante o condicionamento e o grupo tratamento recebeu cocaína (15 mg/kg), imediatamente antes da exposição à caixa por três dias. Observou-se que houve condicionamento ao efeito da cocaína, teste t de Student ($t_{(9)} = 2,894$; $*p = 0,0106$):

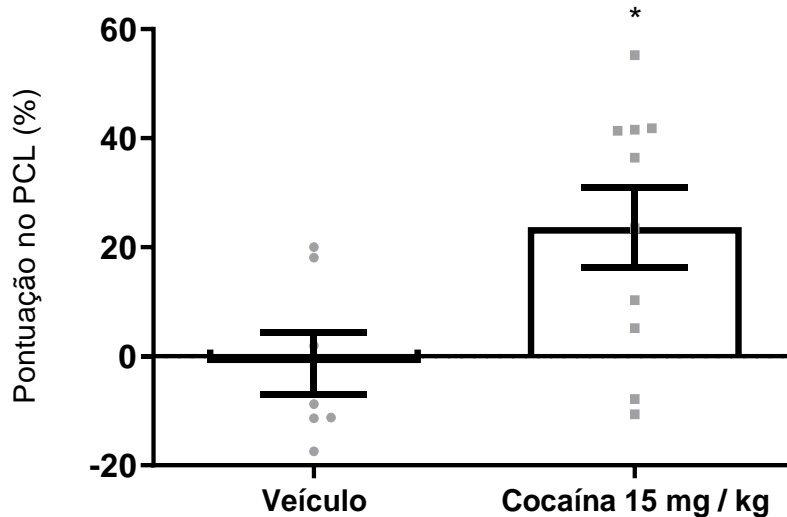


Fig.10: A cocaína (15 mg/kg) induziu resposta de recompensa em camundongos machos tratados com cocaína ($*p = 0,0106$ em comparação ao grupo veículo). Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por teste t ($n=8$; 10).

4.2. Validação do protocolo de PCL comparando camundongos machos e fêmeas:

Constatou-se a validade do protocolo de cinco dias em camundongos fêmeas e machos. Os dois grupos receberam cocaína, 15 mg/kg, imediatamente antes da fase de condicionamento por três dias e não houve diferença significativa entre eles, teste t de Student ($t_{(18)} = 1,714$; $p = 0,1038$):

Separadamente, nos dois grupos houve indução de resposta recompensadora significativa, para fêmeas: $t_{(9)}=2,768$; $*p=0,0218$ em comparação a um valor teórico de zero, e para machos: $t_{(9)} = 4,721$; $*p=0,0011$ em comparação a um valor teórico de zero.

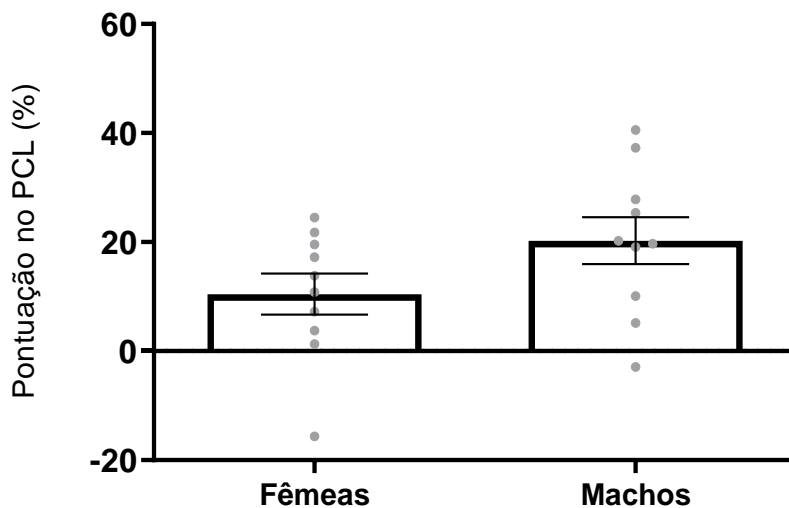


Fig.11: A cocaína (15 mg/kg) induziu PCL em fêmeas e machos ($n = 10, 10$), $p = 0,1038$. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por teste t.

4.3. Efeitos da administração do CBD (3, 10 e 30 mg/kg) durante a fase de aquisição da memória na PCL:

Em seguida, testou-se o efeito do CBD 30 min antes da fase de aquisição da PCL induzida por cocaína, 15 mg/kg. A injeção i.p do CBD (3, 10 e 30 mg/kg) não impediu o condicionamento por cocaína em nenhuma das doses utilizadas tratamento ($F_{3, 27} = 0,07549$; $p=0,9727$), também para o fator sexo ($F_{1, 9} = 1,031$; $p=0,3364$) e para interação entre os dois ($F_{3, 32} = 0,5659$; $p= 0,6432$); ANOVA de duas vias.

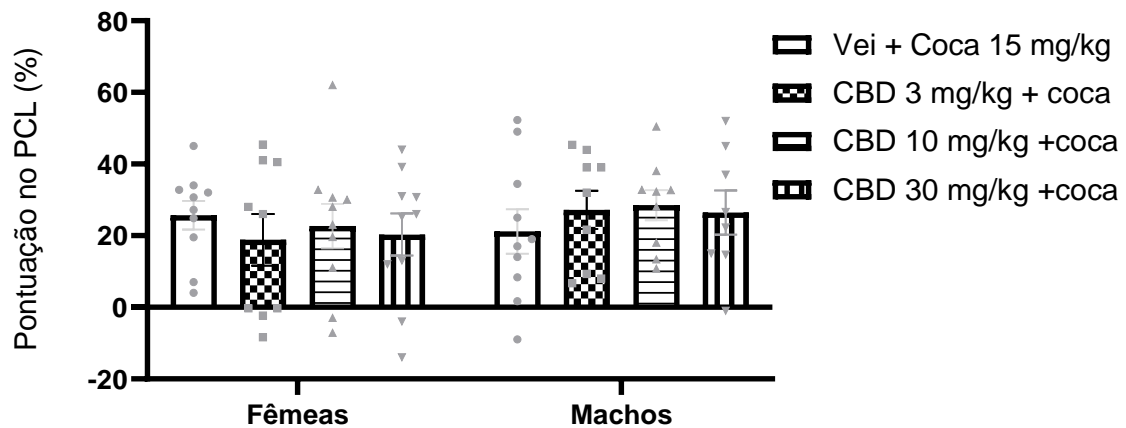


Fig.

12: O CBD (3, 10 e 30 mg/kg) não inibiu a aquisição de PCL induzida por cocaína (15 mg/kg) em camundongos machos e fêmeas ($n = 10, 9, 10, 10, 10, 9, 9, 8$), ($p=0,9727$ em comparação ao grupo veículo + cocaína). Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, ANOVA de duas vias.

4.4. Efeitos do CBD (3, 10 e 30 mg / kg) sobre a PCL durante a fase de expressão da memória:

Também foi testado o efeito do CBD 30 min antes da fase de expressão da PCL induzida por cocaína. A injeção i.p do CBD (3, 10 e 30 mg/kg) não impediu a expressão dessa memória induzida por cocaína em nenhuma das doses utilizadas ($F_{3,42} = 0,5026$; $p=0,6826$), também para o fator sexo ($F_{1,14} = 2,060$; $p=0,1732$) e para interação entre os dois ($F_{3,7} = 0,1070$; $p= 0,9533$); ANOVA de duas vias).

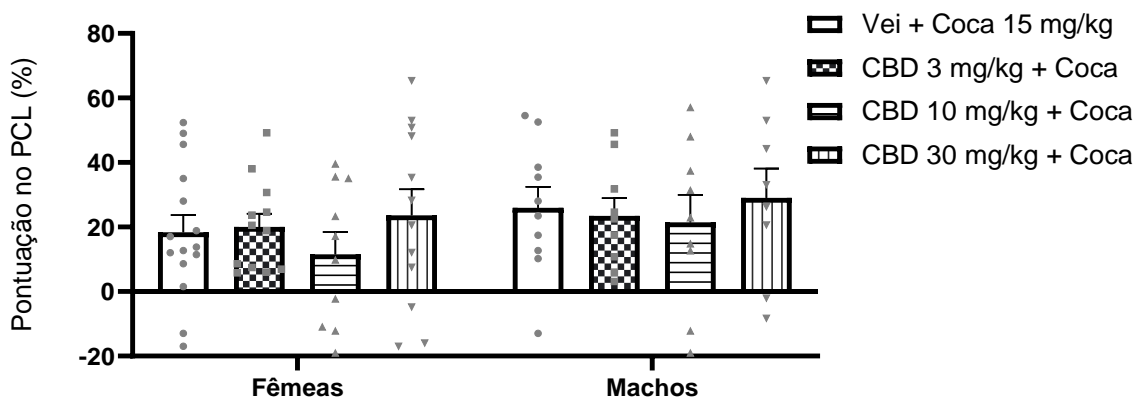


Fig.13: O CBD (3, 10 e 30 mg/kg) não inibiu a expressão da PCL induzida por cocaína (15 mg/kg) em camundongos machos e fêmeas ($n = 15, 13, 10, 12, 10, 10, 9, 8$), $p = 0,5847$ em comparação ao grupo veículo + cocaína. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, ANOVA de duas vias.

4.5. Validação do protocolo de ACL com camundongos machos:

Posteriormente, constatou-se a validade do protocolo de cinco dias em camundongos machos. O grupo controle recebeu administrações de salina durante o condicionamento e o grupo tratamento recebeu LiCl, imediatamente antes da exposição à caixa por três dias.

O LiCl nas doses de 150, 100 e 75 mg/kg foram avaliadas. A dose de 150 mg / kg foi letal para os animais e a de 75 mg/kg não induziu aversão significativa; teste t de Student ($t_{(13)} = 1,429$; $p = 0,1767$):

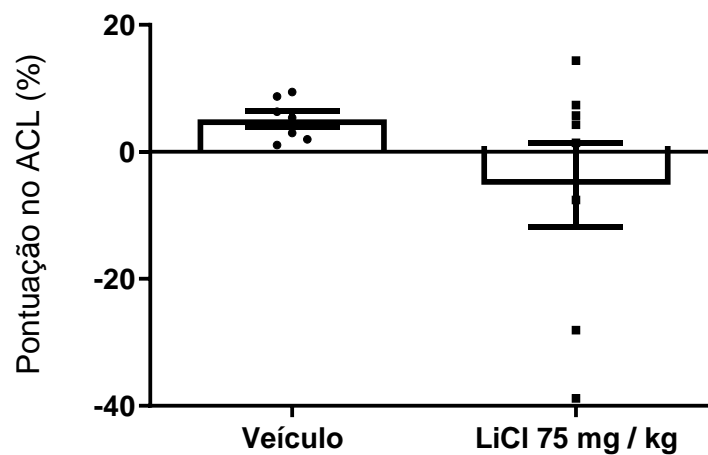


Fig. 14: O LiCl (75 mg/kg), não induziu resposta aversiva em camundongos machos tratados com LiCl ($p = 0,1767$ em comparação ao grupo veículo). Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por teste t ($n=8$; 8).

Já a dose de 100 mg/kg induziu aversão significativa ($t_{(18)} = 3,640$; $*p=0,0019$) e, portanto, foi a selecionada para o estudo:

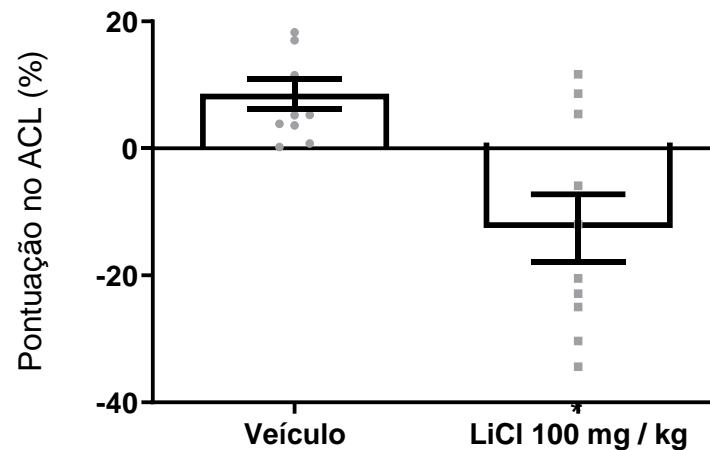


Fig. 15: O LiCl (100 mg/kg), induziu resposta aversiva em camundongos machos tratados com LiCl (* $p=0,0019$ em comparação ao grupo veículo) Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por teste t ($n=10; 10$).

4.6. Validação do protocolo de ACL comparando camundongos machos e fêmeas:

Constatou-se a validade do protocolo de cinco dias em camundongos fêmeas e machos. Os dois grupos receberam LiCl, 100 mg/kg, imediatamente antes da fase de condicionamento por três dias e não houve diferença significativa entre eles, teste t de Student, ($t_{(13)} = 1,387$; $p=0,1887$).

Já em relação aos grupos separados para fêmeas: $t_{(7)} = 2,523$; * $p = 0,0396$ em comparação a um valor teórico de zero; e para machos: $t_{(6)} = 1,724$; $p = 0,1355$ em comparação a um valor teórico de zero.

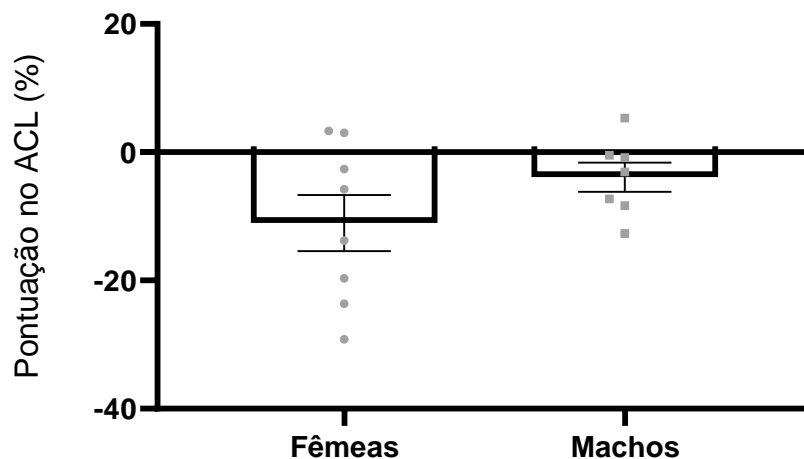


Fig.16: O LiCl (100 mg/kg), não induziu diferença entre fêmeas e machos ($p = 0,1887$). Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por test t ($n = 8,8$).

4.7. Efeitos da administração do CBD (3, 10 e 30 mg / kg) durante a fase de aquisição da memória na ACL:

Em seguida, testou-se o efeito do CBD 30 min antes da fase de aquisição da ACL induzida por LiCl, 100 mg/kg. A injeção i.p. do CBD (3, 10 e 30 mg/kg) não impediu o condicionamento por LiCl em nenhuma das doses utilizadas ($F_{3, 21} = 0,1596$; $p=0,9223$), assim como não houve diferença para o fator sexo ($F_{1, 7} = 0,9843$; $p=0,3542$) e para interação entre eles ($F_{3, 21} = 1,479$; $p=0,2491$); ANOVA de duas vias.

Curiosamente, somente nos machos foi induzida a aversão significativa no grupo veículo + LiCl ($t_{(7)} = 2,462$; $*p=0,0434$) na análise de teste t de uma via em comparação a um valor teórico de zero. Nas fêmeas não houve indução de aversão no grupo veículo + LiCl ($t_{(7)} = 0,2944$; $p=0,7770$).

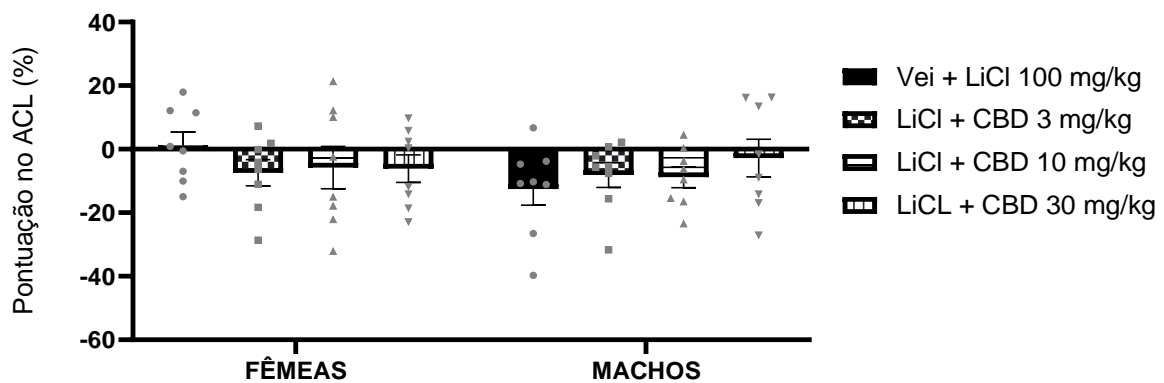


Fig. 17: O CBD (3, 10 e 30 mg / kg), não inibiu a aquisição da ACL induzida por LiCl (100 mg / kg) em camundongos fêmeas e machos ($n = 8, 8, 8, 8, 8, 8, 8, 8$), $p = 0,8971$ em comparação ao grupo veículo + LiCl. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por ANOVA de duas vias.

4.8. Efeitos do CBD (3, 10 e 30 mg/kg) sobre a ACL durante a fase de expressão da memória:

O CBD 30 min antes da fase de expressão da ACL induzida por LiCl, 100 mg/kg. A injeção i.p. do CBD (3, 10 e 30 mg/kg), não impediu a expressão dessa memória induzida por LiCl em nenhuma das doses utilizadas ($F_{3, 27} = 0,0366$; $p = 0,9904$), assim como não houve diferença para o fator sexo ($F_{1, 9} = 0,9481$; $p = 0,3557$) e para interação entre eles ($F_{2,070, 4,829} = 0,9010$; $p = 0,4581$); ANOVA de duas vias.

Mais uma vez, não houve indução de aversão significativa nos grupos veículo + LiCl tanto para fêmeas ($t_{(10)} = 0,8630$; $p = 0,4084$) quanto para machos ($t_{(9)} = 0,05931$; $p = 0,9540$) na análise de teste t de uma via em comparação a um valor teórico de zero.

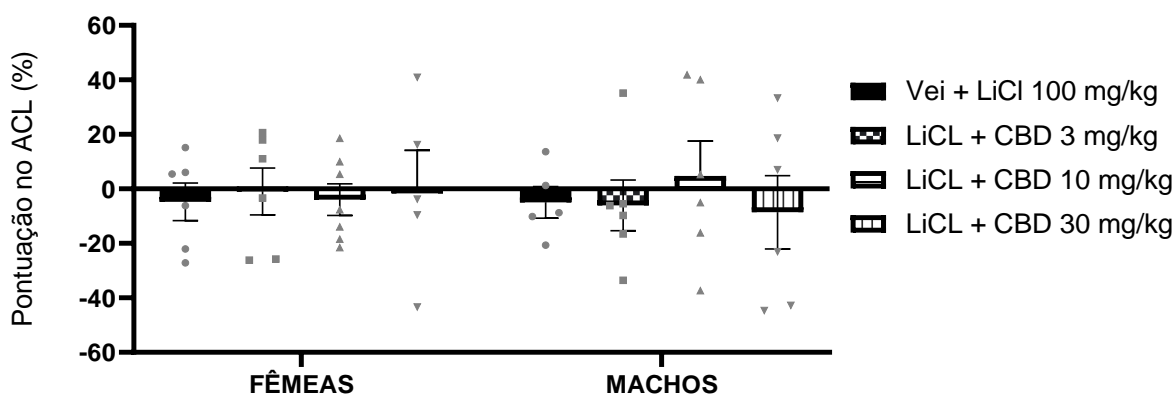
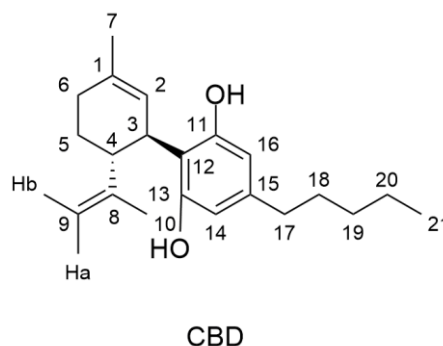


Fig. 18: O CBD (3, 10 e 30 mg / kg), não inibiu a expressão da ACL induzida por LiCl (100 mg/kg) em camundongos machos e fêmeas (n = 10, 9, 9, 9, 10, 9, 9, 9); $p=0,9904$ em comparação ao grupo veículo + LiCl. Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média, analisados por ANOVA de duas vias.

4.9. Caracterização química do CBD:

Por último, em colaboração com o laboratório de química farmacêutica da Farmácia (UFMG), foi realizada pelo aluno Gabriel Lima orientado pela professora Renata Barbosa, a caracterização do CBD utilizado por nós no presente trabalho.

Através das técnicas de espectroscopias de infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN), foi confirmada a não degradação desse composto quando comparado ao composto padrão.



F.M.: C₂₅H₃₈O₂

M.M.: 370,4 g/mol

F.F.: 66,4-67,5 °C; lit.: 66,0-67,0 (MALFAIT et al., 2000)

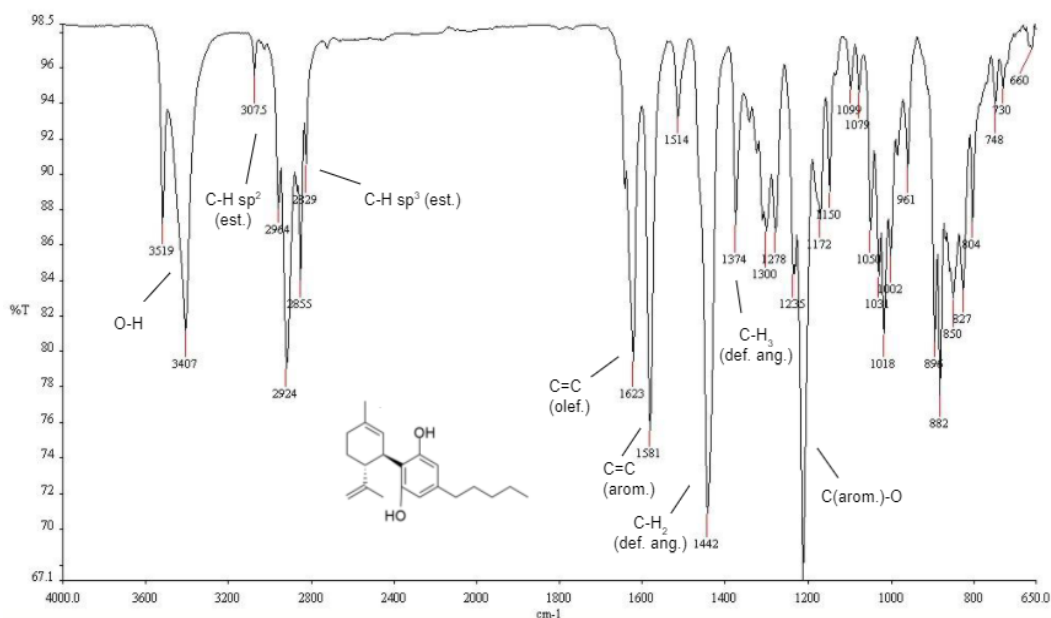
$[\alpha]_{D24,9} = -124^{\circ}$ (1,00, MeOH); lit.: -127° (1,32, 95% EtOH) (AFAQ et al., [s.d.])

I.V., $\bar{\nu}_{max}$ /cm⁻¹: 3519 (m, O-H, est.); 3407 (m, O-H, est.); 3075 (m, C-H sp², est.); 2964-2829 (f, C-H sp³, est.); 1623 (m, C=C, olef., est.); 1581 (F, C=C, arom., est.); 1442 (F, C-H₂, def. ang.); 1374 (m, C-H₃, def. ang.); ~1200 (F, Carom-O, est.).

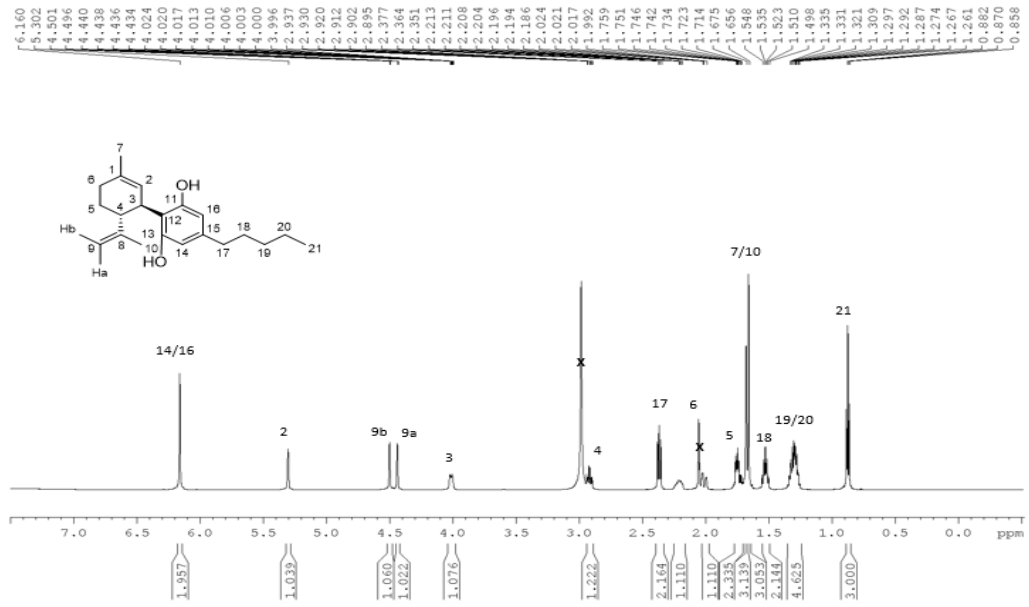
RMN ^1H (600 MHz, acetona- d_6), δ/ppm : 6,16 (2 H, s, H-14 e H-16); 5,30 (1 H, s, H-2); 4,50-4,49 (1 H, m, H β -9); 4,44-4,43 (1 H, m, H α -9); 4,02-3,99 (1H, m, H-3); 2,92 (1 H, td $J_{4,3} = 10,5$ Hz, $J_{4,5} = 4,2$ Hz e 4,5 Hz, H-4); 2,36 (2 H, t, $J_{17,18} = 7,6$ Hz, 2x H-17); 2,23-2,18 (1 H, m, 1x H-6); 2,02-1,99 (1 H, m, 1x H-6'); 1,76-1,71 (2 H, m, 2x H-5); 1,68 (3 H, s, 3x H-7); 1,66 (3 H, s, 3x H-10); 1,52 (2 H, qt, $J_{18,17}$ e $19 = 7,4$ Hz, 2x H-18); 1,35-1,25 (4 H, m, 2x H-19 e 2x H-20); 0,87 (3 H, t, $J_{21,20} = 7,1$ Hz, 2x H-21).

RMN ^{13}C (150 MHz, acetona- d_6), δ/ppm : 157,3 (C-11 e C-13), 149,8 (C-8); 142,3 (C-15); 134,4 (C-1); 126,9 (C-2); 115,3 (C-12); 110,6 (C-9); 108,3 (C-14 e C-16); 46,0 (C-4); 36,9 (C-3); 36,2 (C-17); 32,3 (C-6); 31,7 (C-19); 31,3 (C-18); 30,3 (C-5); 23,7 (C-7); 23,2 (C-20); 19,5 (C-10); 14,4 (C-21).

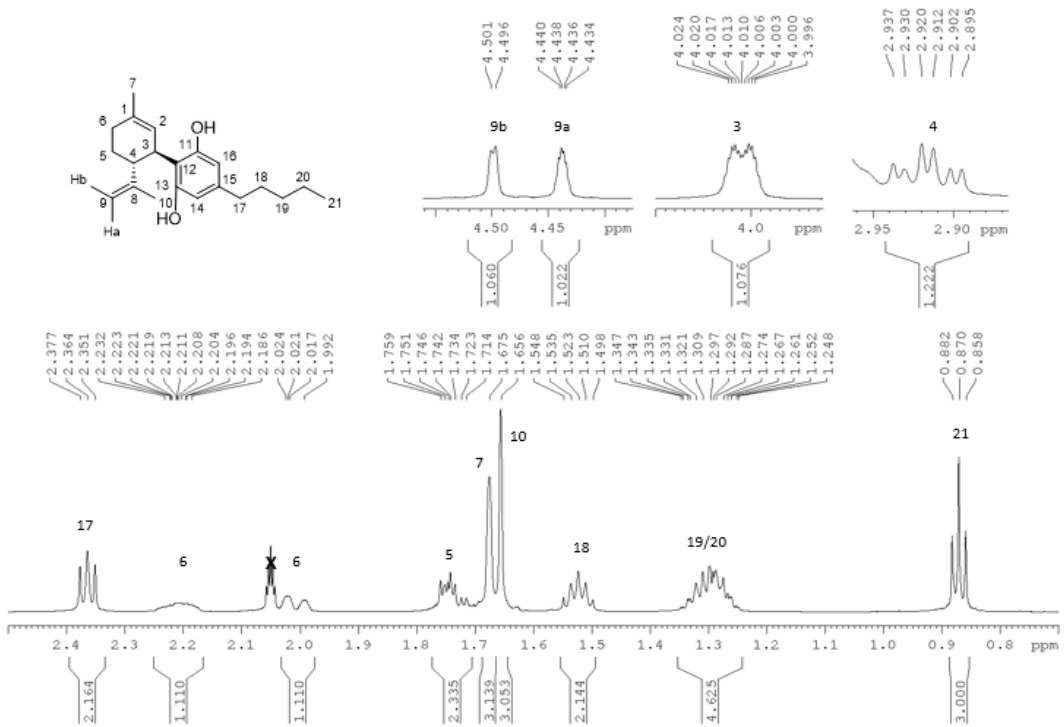
Espectro de infravermelho de CBD



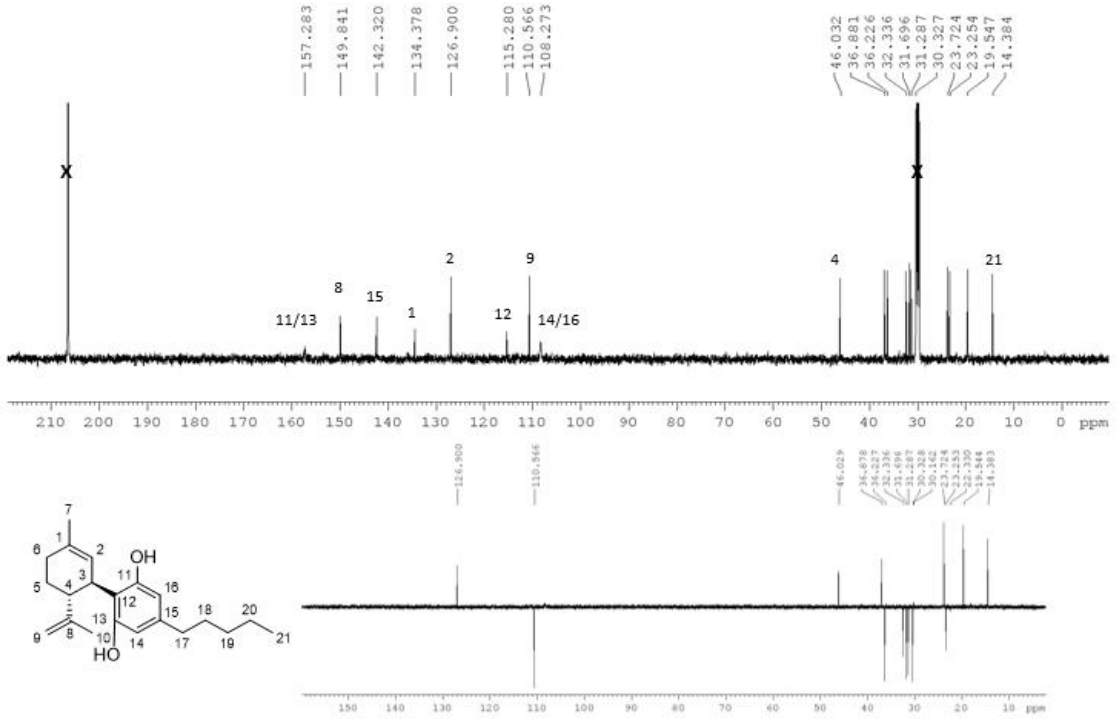
Espectro de RMN de ^1H de CBD (600 MHz, acetona- d_6)



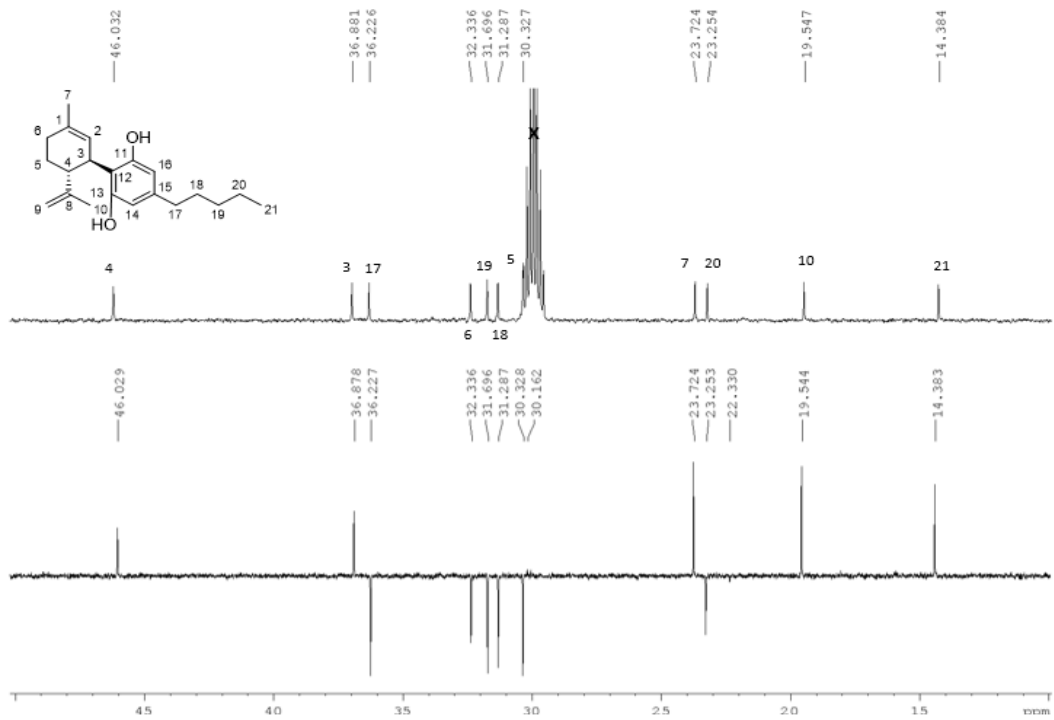
Espectro de RMN de ^1H de CBD - expansão (600 MHz, acetona- d_6)



Espectros de RMN de ^{13}C e DEPT135 de CBD (150 MHz, acetona- d_6)



Espectros de RMN de ^{13}C e DEPT135 de CBD - expansão (150 MHz, cetona-d6)



5. Discussão

Neste estudo, observamos que o Canabidiol, não foi capaz de alterar, no presente protocolo e doses, as memórias contextuais recompensadoras e aversivas, tanto de camundongos fêmeas quanto machos, no modelo de condicionamento ao lugar. Apesar disso, nele mostramos a validade do estudo do condicionamento ao lugar no protocolo de cinco dias para a PCL induzida por cocaína (15 mg/kg). Essa atualização do modelo tem sido cada vez mais utilizada (JOHNSON et al., 2010; MULDOON et al., 2020) e aqui mostramos sua validade pela primeira vez para camundongos machos e fêmeas da linhagem C57BL/6J.

A cocaína é uma droga com alto potencial de abuso, como já discutido anteriormente. Por isso, é possível estudar seus efeitos em diversos paradigmas de condicionamento. Porém, diferenças têm sido mostradas em relação a cada paradigma, uma vez que eles parecem induzir mecanismos moleculares específicos dentro da ATV, além de modificações a longo prazo na expressão gênica e alterações em fatores relacionados à plasticidade sináptica, como o BDNF e células da glia, o que pode justificar o não efeito do CBD nessa intervenção proposta (CAMPBELL et al., 2021).

Relacionado a isso, neste estudo, a intervenção com o CBD foi realizada nas fases de aquisição e expressão da memória, tanto a recompensadora quanto a aversiva. Porém, resultados positivos têm sido descritos durante as fases de extinção e recaída dessas memórias contextuais, além de períodos maiores de tratamento. Por exemplo, o CBD (30 e 60 mg/kg) foi efetivo em atenuar respostas recompensadoras quando administrado durante a fase de extinção da PCL induzido por cocaína (10 mg/kg), ao evitar seu restabelecimento induzido pelo priming da droga (5 mg/kg), em camundongos machos C57BL/6J. Por outro lado, esse efeito não foi encontrado quando administrado nas fases de aquisição e expressão do condicionamento (LEDESMA; MANZANEDO; AGUILAR, 2021). Além disso, suprimiu a PCL induzida por cocaína (10 mg/kg), especificamente, na dose de 7,5 mg/kg, em ratos Wistar, em um protocolo em que o tratamento foi realizado durante 4 dias antes da PCL. O CBD produziu efeitos supressores em forma de U na ativação neuronal no córtex pré-límbico, mas não no infralímbico ou NAc. Além de ter suprimido a sinalização glutamatérgica e GABAérgica no córtex pré-límbico, o que eles sugerem ser um

possível mecanismo celular para a atenuação da PCL induzida por cocaína por CBD (ZHOU et al., 2020).

O CBD (10 mg/kg) quando administrado durante a aquisição da PCL induzida por cocaína (15 mg/kg), em camundongos C57BL/6J, reduziu sua expressão 20 dias após o fim do tratamento. Além de, quando administrado após o condicionamento, ter reduzido a consolidação da memória da cocaína, evidentemente um dia após o tratamento, indicando que nessa dose ele é capaz de modular a consolidação e expressão da PCL em um protocolo com condicionamento consecutivo como o proposto aqui, porém de quatro dias (CHESWORTH; KARL, 2020).

Também foi capaz de reduzir a recaída de cocaína (10 mg/kg), nas doses de 30 e 60 mg/kg, após um período de abstinência em camundongos CD-1 submetidos à PCL, protocolo com quatro dias consecutivos de condicionamento, com extinção após três a quatro semanas. Revertendo também o aumento da expressão do gene DAT na ATV provocado pelo priming de cocaína (5 mg/kg) (CALPE-LÓPEZ et al., 2021). Em camundongos CD-1, expostos a um modelo de abstinência espontânea de cocaína, o CBD (40 mg/kg) bloqueou o aumento da expressão gênica de DAT, da tirosina hidroxilase (TH) na ATV e dos receptores canabinoides 1 (CNR1) e 2 (CNR2), além de ter regulado a diminuição de CNR1 e induzido uma sobreexpressão adicional da expressão gênica de CNR2 e também ter diminuído a hiperlocomoção e ansiedade desses animais (GASPARYAN et al., 2020). Em complemento, estudos recentes mostraram que após a retirada de psicoestimulantes, como a cocaína, ocorre uma modulação dificultada de novas redes neurais, ou seja, as regiões envolvidas neste transtorno ficam desreguladas a ponto de favorecer a abstinência, tornando difícil a remodelação por outros compostos (KIMBROUGH et al., 2021), o que pode explicar o papel mais evidente do CBD após a extinção, uma vez que como discutido anteriormente, ele parece exercer seus efeitos também ao aumentar fatores envolvidos à plasticidade sináptica.

Uma revisão sistemática sobre o potencial do CBD no tratamento de abuso de cocaína concluiu que ele promove redução na autoadministração de cocaína, interfere na estimulação da recompensa cerebral e na liberação de dopamina, promove alterações nas memórias contextuais associada à ela e às neuroadaptações, hepatotoxicidade e convulsões induzidas por essa substância (RODRIGUES et al., 2020). Em camundongos swiss, o CBD (30, 60, e 90 mg/kg) reduziu a inflamação

aguda do fígado e os danos induzidos por cocaína (75 mg/kg) além de prevenir as convulsões induzidas por ela (VILELA et al., 2015). Esse efeito protetor desse canabinoide contra a convulsão induzida por cocaína foi revertido pela rapamicina (1 e 5 mg/kg), um inibidor da via intracelular alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), além de promover uma diminuição de liberação de glutamato (GOBIRA et al., 2015).

Já em humanos, um ensaio clínico randomizado foi realizado em adictos em cocaína, com o objetivo de verificar os fatores antiinflamatórias do CBD, uma vez que o uso crônico de drogas como a cocaína aumenta esses índices no cérebro. Os participantes tratados com CBD (800 mg/kg) tiveram níveis significativamente mais baixos de interleucina-6, fator de crescimento endotelial vascular, monócitos intermediários CD14⁺CD16⁺ e natural killer CD56^{neg}CD16^{hi} em comparação com os participantes que receberam placebo. Esses fatores quando em excesso são capazes de aumentar a permeabilidade da barreira hematoencefálica, promovendo uma neuroinflamação podendo resultar em processos psicológicos como ansiedade, depressão e psicose (MORISSETTE et al., 2021).

Por último, o CBD (10-40 mg/kg) inibiu a autoadministração de cocaína de maneira dependente da dose e atenuou de forma dependente da dose (3–20 mg/kg) a recompensa por estimulação cerebral (BSR) em ratos. Esse efeito foi bloqueado por AM630 (antagonista do receptor CB₂), WAY100135 (antagonista do receptor 5-HT_{1A}) ou capsazepina (um bloqueador do canal TRPV1), mas não por AM251 (antagonista do receptor CB₁), CID16020046 (antagonista de GPR55) ou naloxona (antagonista do receptor opioide), sugerindo o envolvimento dos receptores CB₂, 5-HT_{1A} e TRPV1 na ação do CBD. Além disso, foi realizada a microdiálise in vivo a qual indicou que o pré-tratamento com CBD (10–20 mg/kg) atenuou os aumentos induzidos pela cocaína na dopamina extracelular (DA) no NAc (GALAJ et al., 2020).

Muitas ainda são as controvérsias encontradas em estudos com o CBD, uma vez que este composto pode ser eficaz em diferentes doses, possivelmente devido ao seu complexo mecanismo de ação. Contudo, se mostra importante, relatar cada efeito encontrado em diferentes condições, para que seja possível estabelecer uma homogeneidade de resposta, uma vez que esse composto é um dos que mais tem mostrado potencial no tratamento do abuso de cocaína, o que torna esse trabalho também relevante para a literatura.

Quanto aos efeitos do CBD em respostas aversivas, não foi possível obter resultados consistentes, uma vez que a própria validação do modelo não foi consistente. No entanto, a indução aversiva foi observada em trabalhos utilizados de base para este, na dose de 130 mg/kg (JOHNSON et al., 2010) e na dose de 150 mg/kg em camundongos da linhagem ICR (MULDOON et al., 2020), no protocolo também de cinco dias. Assim como, recentemente, na dose de 96 mg/kg em ratos da linhagem Long-Evans (DOOBAY et al., 2021).

Além disso, o CBD (5 mg/kg) já havia suprimido a aversão condicionada induzida por LiCl (127,2 mg/kg) em ratos, resultado esse atenuado pelo pré-tratamento com antagonistas do receptor 5-HT_{1A} (ROCK et al., 2012). E, mais recentemente, o sistema endocanabinoide também se mostrou importante no tratamento da náusea produzida por quimioterápicos em humanos (ROCK et al., 2016). Assim como foi capaz de interferir, na dose de 5 mg/kg, no estabelecimento de náusea induzida por Δ^9 -THC (10 mg/kg), efeito também mediado por receptores 5-HT_{1A} (DEVUONO et al., 2020).

Além disso, o papel dos receptores CB₁ já havia sido mostrado para o aprendizado de estímulos aversivos no hipocampo dorsal no modelo de aversão condicionado ao sabor com LiCl, em que, micro infusões (semelhante ao sistema endógeno) no córtex insular de agonistas CB₁ se mostraram capazes de inibir a aquisição e provavelmente a reconsolidação, enquanto o antagonista promoveu a aquisição e bloqueio da extinção dessas memórias (KOBILLO; HAZVI; DUDAI, 2007)

Como dito antes, neste trabalho, optamos por trabalhar com machos e fêmeas e considerar que seus respectivos ciclos alterariam sim, diferentemente, o comportamento desses animais a fim de ver o que encontraríamos para poder assim investigar melhor cada situação. Essas diferenças observadas, de acordo com a literatura, ainda são discutidas, porém alguns pontos se mostram relevantes no estudo do dimorfismo sexual, uma vez que, existe uma diferença nas vias relacionadas à memória consolidada após o PCL, induzido por cocaína, em camundongos C57BL/6J. Fêmeas tratadas com o agonista inverso do receptor CB₁, Rimonabanto, mostraram efeitos diferentes dos machos, assim como, as vias de sinalização pelas quais essa consolidação acontece. Sendo a via receptores de estrogênio (ER-mGluR5-CB₁) para fêmeas e a via receptores glutamatérgicos tipo 5 (mGluR5-CB₁) para machos,

mostrando, portanto, a necessidade de um tratamento específico para os sexos em casos de adicção (CHANG; DAI; HU, 2021).

Na mesma linha, o reforço da memória de cocaína provocado por pistas contextuais parece ser maior durante o ciclo estral das fêmeas. Havendo um aumento da motivação apenas durante o estro e não no diestro das fêmeas, ou em machos. Outra observação feita, foi que durante o estro ocorreu o aumento na expressão de c-fos, principalmente nas regiões estriatais, o que reforça o aumento do comportamento de busca ou motivação que são relacionados a essas regiões cerebrais (JOHNSON et al., 2019).

A maioria dos estudos sobre hierarquias de dominância destacam ser maior em camundongos e ratos machos, ao passo que uma menor hierarquia ou nenhuma hierarquia é observada entre fêmeas (FULENWIDER; CARUSO; RYABININ, 2021). A hierarquia social em ratos machos também é capaz de influenciar a taxa de autoadministração de cocaína, mas não a ansiedade ou impulsividade. E, semelhante aos primatas não humanos, esses efeitos parecem ser mediados por sistemas dopaminérgicos estriatais (JUPP et al., 2016). Porém neles destaca-se a importância em incluir fêmeas nos estudos para que seja possível verificar se elas realmente não apresentam hierarquia ou se sofrem efeitos da hierarquia dos machos.

Levando em consideração os fatores acima citados, poderíamos hipotetizar que na aversão (ACL) eles sejam mais proeminentes do que para recompensa, fazendo com que as fêmeas no ciclo estral relacionassem mais as pistas contextuais ao medo gerado pelo LiCl do que as fêmeas no ciclo no diestro, o que poderia explicar a alta variabilidade nos grupos do nosso estudo e, principalmente, do grupo controle das fêmeas. Nesse sentido, estudos em ratas mostraram que elas exibem maior condicionamento induzido por LiCl em comparação aos machos (CLOUTIER; KAVALIERS; OSSENKOPP, 2017). Além de exibirem maior aversão condicionada no ponto alto de estrogênio de seu ciclo, na fase de pró-estro, em comparação com a fase de baixo estrogênio, diestro (CLOUTIER et al., 2018). Por outro lado, essa diversidade de respostas também foi observada nos machos, o que até então não seria relacionado ao ciclo de testosterona deles, de acordo com a literatura. Sendo, portanto, preciso investigar um melhor modelo para o estudo da aversão induzida por LiCl.

Em doses muito altas o LiCl também é capaz de induzir uma hipolocomoção no animal devido aos seus efeitos eméticos, outro ponto importante também em ser investigado. Apesar disso as doses selecionadas vão de acordo com o que vem sendo utilizado nos trabalhos com ACL (DOOBAY et al., 2021).

Por último, através de uma colaboração com o grupo da química farmacêutica da Farmácia – UFMG, confirmamos a não degradação do CBD utilizado neste trabalho, através técnicas de espectroscopias de infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN). Descartando a possibilidade de os resultados encontrados serem devidos a inatividade desse composto (item 4.9 em métodos).

6. Conclusão

Primeiramente, fomos capazes de validar o protocolo de preferência condicionada ao lugar induzido por cocaína, através do condicionamento consecutivo por três dias, em fêmeas e machos da linhagem C57BL/6J. Em relação aos efeitos do CBD, avaliamos o tratamento durante aquisição e expressão dessas respostas. Esse composto, entretanto, não foi capaz de inibir a aquisição ou a expressão de PCL induzidas pela cocaína. As análises químicas realizadas descartam a possibilidade de que o CBD possa ter se convertido quimicamente em outra substância.

Quanto ao objetivo de estudar os efeitos do CBD sobre a aversão condicionada, não houve sucesso na validação do ACL induzida pelo lítio. Ajustes de dose, tempo de administração e duração do protocolo poderão ser realizados a fim de se estabelecer este modelo.

7. Referências

- (HHS), U. S. D. OF H. AND H. S. Facing Addiction in America: The Surgeon General's Report on Alcohol, Drugs, and Health. **Facing Addiction in America: The Surgeon General's Report on Alcohol, Drugs, and Health**, 2016.
- AFAQ, W. et al. Successful Separation of Cannabidiol Enantiomers by LC-UV Analysis using Lux ® Amylose Chiral Columns. p. 2–4, [s.d.].
- ALMEIDA-SANTOS, A. F. et al. Modulation of anxiety-like behavior by the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol (2-AG) in the dorsolateral periaqueductal gray. **Behavioural Brain Research**, v. 252, p. 10–17, 2013.
- ALTEMUS, M.; SARVAIYA, N.; NEILL EPPERSON, C. Sex differences in anxiety and depression clinical perspectives. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 35, n. 3, p. 320–330, 2014.
- ASTH, L.; SANTOS, A. C.; MOREIRA, F. A. The endocannabinoid system and drug-associated contextual memories. **Behavioural Pharmacology**, v. Publish Ah, 2021.
- BAGDAS, D. et al. Expression and pharmacological modulation of visceral pain-induced conditioned place aversion in mice. **Neuropharmacology**, v. 102, p. 236–243, 2016.
- BARDO, M. T.; BEVINS, R. A. Conditioned place preference: What does it add to our preclinical understanding of drug reward? **Psychopharmacology**, v. 153, n. 1, p. 31–43, 2000.
- BATISTA, L. A. et al. Intravenous doxapram administration as a potential model of panic attacks in rats. **Behavioural Pharmacology**, v. 32, n. 2&3, p. 182–193, 28 abr. 2021.
- BELIN, D. et al. High impulsivity predicts the switch to compulsive cocaine-taking. **Science**, v. 320, n. 5881, p. 1352–1355, 2008.
- BITENCOURT, R. M.; PAMPLONA, F. A.; TAKAHASHI, R. N. Facilitation of contextual fear memory extinction and anti-anxiogenic effects of AM404 and cannabidiol in conditioned rats. **European Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 12, p. 849–859, 2008.
- BLANCO, E. et al. Cocaine-induced behavioral sensitization is associated with changes in the expression of endocannabinoid and glutamatergic signaling systems in the mouse prefrontal cortex. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 1, p. 1–10, 2015.
- BRIANIS, R. C. et al. Anti-aversive effect of 2-arachidonoylglycerol in the dorsolateral periaqueductal gray of male rats in contextual fear conditioning and Vogel tests. **Behavioural Pharmacology**, v. 33, n. 2&3, p. 213–221, 1 abr. 2022.
- CALPE-LÓPEZ, C. et al. Cannabidiol prevents priming- and stress-induced reinstatement of the conditioned place preference induced by cocaine in mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 35, n. 7, p. 864–874, 2021.
- CAMPBELL, R. R. et al. Cocaine induces paradigm-specific changes to the transcriptome within the ventral tegmental area. **Neuropsychopharmacology**, v. 46,

n. 10, p. 1768–1779, 2021.

CHANG, H.-A.; DAI, W.; HU, S. S.-J. Sex differences in cocaine-associated memory: The interplay between CB1, mGluR5, and estradiol. **Psychoneuroendocrinology**, p. 105366, 2021.

CHEER, J. F. et al. Phasic dopamine release evoked by abused substances requires cannabinoid receptor activation. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 4, p. 791–795, 2007.

CHESWORTH, R.; KARL, T. Cannabidiol (CBD) reduces cocaine-environment memory in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 199, n. August, p. 173065, 2020.

CHIARLONE, A. et al. A restricted population of CB1 cannabinoid receptors with neuroprotective activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 22, p. 8257–8262, 2014.

CLARK, J. W. et al. Sex differences in mouse models of fear inhibition : Fear extinction , safety learning , and fear – safety discrimination. n. January, p. 4149–4158, 2019.

CLOUTIER, C. J. et al. Conditioned disgust in rats (anticipatory nausea) to a context paired with the effects of the toxin LiCl: Influence of sex and the estrous cycle. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 173, n. August, p. 51–57, 2018.

CLOUTIER, C. J.; KAVALIERS, M.; OSSENKOPP, K. P. Rodent sex differences in disgust behaviors (anticipatory nausea) conditioned to a context associated with the effects of the toxin LiCl: Inhibition of conditioning following immune stimulation with lipopolysaccharide. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 152, p. 4–12, 2017.

DE ALMEIDA, D. L.; DEVI, L. A. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. **Pharmacology Research and Perspectives**, v. 8, n. 6, p. 1–10, 2020.

DE GIACOMO, V. et al. Differential glutamatergic and GABAergic contributions to the tetrad effects of Δ 9-tetrahydrocannabinol revealed by cell-type-specific reconstitution of the CB1 receptor. **Neuropharmacology**, v. 179, 2020.

DEIANA, S. et al. Plasma and brain pharmacokinetic profile of cannabidiol (CBD), cannabidivarin (CBDV), Δ 9-tetrahydrocannabivarin (THCV) and cannabigerol (CBG) in rats and mice following oral and intraperitoneal administration and CBD action on obsessive-compulsive behav. **Psychopharmacology**, v. 219, n. 3, p. 859–873, 2012.

DEROCHE-GAMONET, VÉRONIQUE; BELIN, D.; PIAZZA, P. V. Deroche et al 2004. v. 305, n. August, p. 1–4, 2004.

DEVUONO, M. V. et al. Cannabidiol Interferes with Establishment of Δ 9 - Tetrahydrocannabinol-Induced Nausea Through a 5-HT 1A Mechanism. **Cannabis and Cannabinoid Research**, 21 dez. 2020.

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

DOOBAY, M. et al. Toxin-induced aversive context conditioning: Assessing active aversive behaviors conditioned to the context of an automated activity monitor. **Physiology and Behavior**, v. 240, n. March, p. 113559, 2021.

DRAKE, L. R.; SCOTT, P. J. H. DARK Classics in Chemical Neuroscience: Cocaine. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 9, n. 10, p. 2358–2372, 2018.

ELMES, M. W. et al. Fatty acid-binding proteins (FABPs) are intracellular carriers for Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 14, p. 8711–8721, 2015.

ERIN N. UMBERG; POTHOS, E. N. Neurobiology of Aversive States. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2011.

EVERITT, B. J.; ROBBINS, T. W. Neural systems of reinforcement for drug addiction: From actions to habits to compulsion. **Nature Neuroscience**, v. 8, n. 11, p. 1481–1489, 2005.

FOGAÇA, M. V. et al. The anxiolytic effects of cannabidiol in chronically stressed mice are mediated by the endocannabinoid system: Role of neurogenesis and dendritic remodeling. **Neuropharmacology**, v. 135, p. 22–33, 2018.

FOUYSSAC, M.; EVERITT, B. J.; BELIN, D. Cellular basis of the intrastriatal functional shifts that underlie the development of habits: relevance for drug addiction. **Current Opinion in Behavioral Sciences**, v. 13, p. 144–151, 2017.

FULENWIDER, H. D.; CARUSO, M. A.; RYABININ, A. E. Manifestations of domination: Assessments of social dominance in rodents. **Genes, Brain and Behavior**, n. October 2020, p. 1–15, 2021.

GALAJ, E. et al. Cannabidiol attenuates the rewarding effects of cocaine in rats by CB2, 5-HT1A and TRPV1 receptor mechanisms. **Neuropharmacology**, v. 167, n. July 2019, p. 107740, 2020.

GALAJ, E.; XI, Z. X. **Potential of Cannabinoid Receptor Ligands as Treatment for Substance Use Disorders** CNS Drugs Springer International Publishing, , 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40263-019-00664-w>>

GASPARYAN, A. et al. Cannabidiol Modulates Behavioural and Gene Expression Alterations Induced by Spontaneous Cocaine Withdrawal. **Neurotherapeutics**, 2020.

GIULIANO, C.; BELIN, D.; EVERITT, B. J. Compulsive alcohol seeking results from a failure to disengage dorsolateral striatal control over behavior. **Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 9, p. 1744–1754, 2019.

GOBIRA, P. H. et al. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, inhibits cocaine-induced seizures in mice: Possible role of the mTOR pathway and reduction in glutamate release. **NeuroToxicology**, v. 50, p. 116–121, 2015.

GOODE, T. D.; MAREN, S. Common neurocircuitry mediating drug and fear relapse in preclinical models. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 415–437, 2019.

GOODMAN, J.; PACKARD, M. G. Memory Systems and the Addicted Brain. v. 7, n. February, p. 1–9, 2016.

HÄRING, M. et al. Cannabinoid CB1 receptor in the modulation of stress coping behavior in mice: The role of serotonin and different forebrain neuronal subpopulations. **Neuropharmacology**, v. 65, p. 83–89, 2013.

HE, Z. et al. The Aversion Function of the Limbic Dopaminergic Neurons and Their Roles in Functional Neurological Disorders. **Frontiers in Cell and Developmental**

Biology, v. 9, n. September, 2021.

HERNÁNDEZ-MATIAS, A.; BERMÚDEZ-RATTONI, F.; OSORIO-GÓMEZ, D. Maintenance of conditioned place avoidance induced by gastric malaise requires NMDA activity within the ventral hippocampus. **Learning & Memory**, v. 28, n. 9, p. 270–276, 2021.

HODA BADR, CINDY L. CARMACK, DEBORAH A. KASHY, MASSIMO CRISTOFANILLI, AND T. A. R. 基因的改变NIH Public Access. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2011.

HOEBEL, B. G.; AVENA, N. M.; RADA, P. Accumbens dopamine-acetylcholine balance in approach and avoidance. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 6, p. 617–627, 2007.

HUESTIS, M. A. et al. Cannabidiol Adverse Effects and Toxicity. **Current Neuropharmacology**, v. 17, n. 10, p. 974–989, 2019.

IBEAS BIH, C. et al. Molecular Targets of Cannabidiol in Neurological Disorders. **Neurotherapeutics**, v. 12, n. 4, p. 699–730, 2015.

ITO, R. et al. Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 14, p. 6247–6253, 2002.

JIANG, W. et al. Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. v. 115, n. 11, p. 180, 2005.

JOHNSON, A. R. et al. Cues play a critical role in estrous cycle-dependent enhancement of cocaine reinforcement. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 7, p. 1189–1197, 2019.

JOHNSON, Z. V. et al. A similar pattern of neuronal Fos activation in 10 brain regions following exposure to reward- or aversion-associated contextual cues in mice. **Physiology and Behavior**, v. 99, n. 3, p. 412–418, 2010.

JUPP, B. et al. Social dominance in rats: Effects on cocaine self-administration, novelty reactivity and dopamine receptor binding and content in the striatum. **Psychopharmacology**, v. 233, n. 4, p. 579–589, 2016.

JURKUS, R. et al. Cannabidiol regulation of learned fear: Implications for treating anxiety-related disorders. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, n. NOV, p. 1–8, 2016.

KAMPMAN, K. M. The treatment of cocaine use disorder. **Science Advances**, v. 5, n. 10, p. 1–9, 2019.

KIMBROUGH, A. et al. Characterization of the brain functional architecture of psychostimulant withdrawal using single-cell whole brain imaging. **ENEURO**, p. ENEURO.0208-19.2021, 2021.

KIYATKIN, E. A. Dopaminergic involvement in nociceptive sensitivity/behavioral reactivity regulation during aversive states of different nature in the rat. **International Journal of Neuroscience**, v. 44, n. 1–2, p. 111–133, 1989.

KOBILO, T.; HAZVI, S.; DUDAI, Y. Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in

conditioned taste aversion memory. **European Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 11, p. 3417–3421, 2007.

KOOB, G. F.; VOLKOW, N. D. **Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis***The Lancet Psychiatry*Elsevier Ltd, , 2016. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)>

KRAMAR, C. P. et al. The late consolidation of an aversive memory is promoted by VTA dopamine release in the dorsal hippocampus. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 3, p. 841–851, 2021.

KUHN, B. N.; KALIVAS, P. W.; BOBADILLA, A. C. Understanding Addiction Using Animal Models. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 13, n. November, p. 1–24, 2019.

LEDESMA, J. C.; MANZANEDO, C.; AGUILAR, M. A. Cannabidiol prevents several of the behavioral alterations related to cocaine addiction in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 111, p. 110390, 2021.

LEE, J. L. C. et al. Cannabidiol regulation of emotion and emotional memory processing: relevance for treating anxiety-related and substance abuse disorders. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 19, p. 3242–3256, 2017.

LOPES, J. B. et al. The roles of cannabinoid CB1 and CB2 receptors in cocaine-induced behavioral sensitization and conditioned place preference in mice. **Psychopharmacology**, v. 237, n. 2, p. 385–394, fev. 2020.

LUDWIG, L. et al. Stressful life events and maltreatment in conversion (functional neurological) disorder: systematic review and meta-analysis of case-control studies. **The Lancet Psychiatry**, v. 5, n. 4, p. 307–320, 2018.

LUJÁN, M. Á. et al. Repeated Cannabidiol treatment reduces cocaine intake and modulates neural proliferation and CB1R expression in the mouse hippocampus. **Neuropharmacology**, v. 143, n. June, p. 163–175, 2018.

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

MALFAIT, A. M. et al. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 17, p. 9561–9566, 2000.

MANDUCA, A. et al. The neurochemistry of social reward during development: What have we learned from rodent models? **Journal of Neurochemistry**, v. 157, n. 5, p. 1408–1435, 2021.

MANZANARES, J. et al. Role of the endocannabinoid system in drug addiction. **Biochemical Pharmacology**, v. 157, n. September, p. 108–121, 2018.

MARICHAL-CANCINO, B. A. The Periaqueductal Gray and Its Extended Participation in Drug Addiction Phenomena. 2021.

MARK, G. P. et al. Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus. **Brain**

Research, v. 688, n. 1–2, p. 184–188, 1995.

MECHOULAM, R.; PARKER, L. A. The endocannabinoid system and the brain. **Annual Review of Psychology**, v. 64, p. 21–47, 2013.

MIRAGLIA, P. Drugs and drug trafficking in Brazil: trends and policies. **Improving Global Drug Policy: Comparative Perspectives and UNGASS 2016**, p. 1–16, 2016.

MOREIRA, F. A.; LUTZ, B. The endocannabinoid system: Emotion, learning and addiction. **Addiction Biology**, v. 13, n. 2, p. 196–212, 2008a.

MOREIRA, F. A.; LUTZ, B. The endocannabinoid system: Emotion, learning and addiction. **Addiction Biology**, v. 13, n. 2, p. 196–212, 2008b.

MORI, M. A. et al. **Cannabidiol reduces neuroinflammation and promotes neuroplasticity and functional recovery after brain ischemia** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2017.

MORI, M. A. et al. **Differential contribution of CB1, CB2, 5-HT1A, and PPAR- γ receptors to cannabidiol effects on ischemia-induced emotional and cognitive impairments** *European Journal of Neuroscience*, 2021.

MORISSETTE, F. et al. Exploring cannabidiol effects on inflammatory markers in individuals with cocaine use disorder: a randomized controlled trial. **Neuropsychopharmacology**, n. April, p. 1–11, 2021.

MULDOON, P. P. et al. Inhibition of monoacylglycerol lipase reduces nicotine reward in the conditioned place preference test in male mice. **Neuropharmacology**, v. 176, p. 108170, 2020.

NAMBA, M. D. et al. Neuroimmune Mechanisms as Novel Treatment Targets for Substance Use Disorders and Associated Comorbidities. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, n. April, p. 1–27, 2021.

NUTT, D. J.; KING, L. A.; PHILLIPS, L. D. Drug harms in the UK: A multicriteria decision analysis. **The Lancet**, v. 376, n. 9752, p. 1558–1565, 2010.

PARKER, L. A.; MCDONALD, R. V. Reinstatement of Both a Conditioned Place Preference and a Conditioned Place Aversion with Drug Primes. v. 66, n. 3, p. 1–3, 2000.

PITTS, E. G.; TAYLOR, J. R.; GOURLEY, S. L. Prefrontal cortical BDNF: A regulatory key in cocaine- and food-reinforced behaviors. **Neurobiology of Disease**, v. 91, p. 326–335, 2016.

RADKE, A. K.; SNEDDON, E. A.; MONROE, S. C. Studying Sex Differences in Rodent Models of Addictive Behavior. **Current Protocols**, v. 1, n. 4, p. 1–18, 2021.

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

RESSTEL, L. B. M. et al. 5-HT 1A receptors are involved in the cannabidiol-induced attenuation of behavioural and cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 156, n. 1, p. 181–188, 2009.

RISINGER, F. O.; CUNNINGHAM, C. L. DBA/2J mice develop stronger lithium

chloride-induced conditioned taste and place aversions than C57BL/6J mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 67, n. 1, p. 17–24, 2000.

ROBBINS, T. W.; ERSCHKE, K. D.; EVERITT, B. J. Drug addiction and the memory systems of the brain. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1141, p. 1–21, 2008.

ROCK, E. M. et al. Cannabidiol, a nonpsychotropic component of cannabis, attenuates vomiting and nausea-like behaviour via indirect agonism of 5-HT 1A somatodendritic autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 8, p. 2620–2634, 2012.

ROCK, E. M. et al. Cannabinoid Regulation of Acute and Anticipatory Nausea. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 1, n. 1, p. 113–121, 2016.

RODRIGUES, L. A. et al. Evaluation of the potential use of cannabidiol in the treatment of cocaine use disorder: A systematic review. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 196, n. January, p. 172982, 2020.

SANCHIS-SEGURA, C.; SPANAGEL, R. Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: An overview. **Addiction Biology**, v. 11, n. 1, p. 2–38, 2006.

SINGER, B. F. et al. Behavioral/Cognitive Are Cocaine-Seeking “Habits” Necessary for the Development of Addiction-Like Behavior in Rats? 2018.

SOLOWIJ, N. et al. Therapeutic Effects of Prolonged Cannabidiol Treatment on Psychological Symptoms and Cognitive Function in Regular Cannabis Users: A Pragmatic Open-Label Clinical Trial. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 3, n. 1, p. 21–34, 2018.

SONEGO, A. B.; PRADO, D. DA S.; GUIMARÃES, F. S. PPAR γ receptors are involved in the effects of cannabidiol on orofacial dyskinesia and cognitive dysfunction induced by typical antipsychotic in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 111, n. February, 2021.

STEARDO, L. et al. Endocannabinoid system as therapeutic target of ptsd: A systematic review. **Life**, v. 11, n. 3, p. 1–15, 2021.

STERN, C. A. J. et al. Effects of Cannabinoid Drugs on Aversive or Rewarding Drug-Associated Memory Extinction and Reconsolidation. **Neuroscience**, v. 370, p. 62–80, 2018.

SWALVE, N.; SMETHELLS, J. R.; CARROLL, M. E. Sex differences in the acquisition and maintenance of cocaine and nicotine self-administration in rats. **Psychopharmacology**, v. 233, n. 6, p. 1005–1013, 19 mar. 2016.

VIANA, T. G. et al. Hypothalamic endocannabinoid signalling modulates aversive responses related to panic attacks. **Neuropharmacology**, v. 148, p. 284–290, abr. 2019.

VILELA, L. R. et al. Cannabidiol rescues acute hepatic toxicity and seizure induced by cocaine. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.

VIUDEZ-MARTÍNEZ, A. et al. Cannabidiol reduces ethanol consumption, motivation and relapse in mice. **Addiction Biology**, v. 23, n. 1, p. 154–164, 2018.

VIUDEZ-MARTÍNEZ, A. et al. Cannabidiol does not display drug abuse potential in mice behavior. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 40, n. 3, p. 358–364, 18 mar. 2019.

WANG, H. et al. Cocaine-Induced Endocannabinoid Mobilization in the Ventral Tegmental Area. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 5, p. 139–148, 2015.

WOLF, S. A. et al. Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. **Cell Communication and Signaling**, v. 8, p. 1–14, 2010.

YOUNG, W. Review of lithium effects on brain and blood. **Cell Transplantation**, v. 18, n. 9, p. 951–975, 2009.

ZHANG, T. et al. Glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex mediate the formation and retrieval of cocaine-associated memories in mice. **Addiction Biology**, v. 25, n. 1, p. 1–11, 2020.

ZHONG, P. et al. BDNF interacts with endocannabinoids to regulate cocaine-induced synaptic plasticity in mouse midbrain dopamine neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 10, p. 4469–4481, 2015.

ZHOU, H. et al. Cannabidiol produces distinct U-shaped dose-response effects on cocaine conditioned place preference and associated recruitment of prelimbic neurons in male rats. **Materials & Design**, p. 108947, 2020.

ZLEBNIK, N. E. Females pay a higher price for addiction. **Neuropsychopharmacology**, n. March, p. 26–28, 2019.