

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Efeitos dos canabinoides sobre os prejuízos comportamentais relacionados à
ansiedade, depressão e alterações de memória em um modelo animal de estresse
crônico moderado.**

Gabriel Borges da Silva

Orientador(a): Profa. Dra. Erika Renata Barbosa Neiro
Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Fisiologia

Uberlândia – MG
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Efeitos dos canabinoides sobre os prejuízos comportamentais relacionados à
ansiedade, depressão e alterações de memória em um modelo animal de estresse
crônico moderado.**

Gabriel Borges da Silva

Orientador(a): Profa. Dra. Erika Renata Barbosa Neiro
Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Fisiologia

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal
de Uberlândia, para obtenção do
grau de Licenciatura em Ciências
Biológicas.

Uberlândia – MG

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Efeitos dos canabinoides sobre os prejuízos comportamentais relacionados à
ansiedade, depressão e alterações de memória em um modelo animal de estresse
crônico moderado.**

Gabriel Borges da Silva

Orientador(a): Profa. Dra. Erika Renata Barbosa Neiro
Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Fisiologia

Homologado pela coordenação do
Curso de Ciências Biológicas
em __/__/__

Uberlândia – MG

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Efeitos dos canabinoides sobre os prejuízos comportamentais relacionados à
ansiedade, depressão e alterações de memória em um modelo animal de estresse
crônico moderado.**

Gabriel Borges da Silva

Aprovado pela Banca Examinadora em: / / Nota: _____

Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia – MG

2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Universidade Federal de Uberlândia, ao Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biomédicas e à Rede de Biotérios de Roedores da UFU. Visto que, estes forneceram todo o aparato institucional necessário para a realização deste trabalho. E ainda, ao corpo técnico solícito e especializado de ambas as instituições.

Aos meus pais, Kelly e Alessandro, irmãs Rayssa e Yasmim, meu cunhado Gustavo e à minha avó materna Joana. Pois, sem todo o suporte, carinho e amor destes, essa graduação não teria sido possível, amo tanto vocês.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Erika Renata Barbosa Neiro, por apoiar a paixão que sempre nutri pela neurofisiologia. E ainda, me proporcionar a oportunidade de fazer parte de um laboratório de pesquisa na área que escolhi seguir. Além de, ser um exemplo de docente e pessoa que se tornou minha “mãe científica”.

À minha professora e na prática coorientadora Dr.^a Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini, pela prontidão imediata em retirar quaisquer dúvidas. E, pela correção de projetos coerente e afiada.

Por conseguinte, ao meu professor e orientador em projetos paralelos, Dr. Claudemir Kuhn. Dado que, além de meu maior exemplo como docente, foi essencial na minha formação como pesquisador na área da neuroanatomia, na qual pretendo seguir.

Às minhas amigas mais próximas, Mariana, Júlia, Eleonora, Isabela, Nadine, Gabriela e Heloísa. Por sempre estarem comigo e me apoiarem em meio ao caos da graduação, amo vocês.

À minha amiga-irmã, companheira de laboratório, e Alma gêmea Laura, que sempre me segurou nos piores momentos e com quem tive o privilégio de viver todos os processos da graduação, te amo.

Às primeiras companheiras de laboratório Lorena Costa, Melissa Rodrigues, Bruna Scuccuglia e Ana Júlia Reis, sem elas eu não teria chegado à esta pesquisa com mais habilidades e conhecimentos. Agradeço também à nova geração do laboratório Cleyber Kelvy, Luma Lara e Filipe Basílio. Esses últimos tornaram a conclusão deste trabalho mais agradável.

A posteriori agradeço à banca pela disponibilidade e empenho na correção deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula química do canabidiol.....	13
Figura 2. Estruturas encefálicas que compõem o sistema límbico.....	14
Figura 3. Fórmula química do THC.....	15
Figura 4. Descrição da sinalização endocanabinoide através de receptores CB1 e CB2.....	16
Figura 5. Camundongos da linhagem C57BL/6J em ambiente enriquecido (com cilindro de papelão), antes de serem individualizados em suas caixas moradia.....	19
Figura 6. Ratos (<i>Rattus norvegicus</i> , linhagem Wistar Hannover).....	20
Figura 7. Procedimento de aplicação do tratamento nos animais via inserção intraperitoneal, com imobilização.....	20
Figura 8. Rack organizadora das caixas moradias dos animais dentro da REBIR-UFU, padronizadas para que sejam mantidas regulares as condições de umidade e temperatura.....	22
Figura 9. Rato Wistar Hannover e camundongo C57, em confronto indireto na exposição presa-predador do protocolo de indução de estresse crônico.....	23
Figura 10. Camundongos C57 em aparatos de restrição de movimento durante a aplicação do protocolo de estresse crônico.....	23
Figura 11. Linha do tempo com delineamento experimental detalhado com as ordens dos procedimentos e testes comportamentais.....	24
Figura 12. Camundongo C57 no aparato do Teste de Labirinto em Cruz Elevado explorando um dos braços fechados do aparato.....	25
Figura 13. Camundongo no aparato do Teste de Campo Aberto, explorando os quadrantes periféricos.....	26
Figura 14. Camundongo durante o Teste de Nado Forçado para avaliação de comportamentos relacionados à depressão.....	27
Figura 15. Animal experimental sobre a plataforma de acrílico durante teste de aquisição no Labirinto Aquático de Morris.....	28
Figura 16. Resultados do tempo de permanência em segundos nos quadrantes centrais do Campo Aberto.....	30

Figura 17. Resultados da locomoção nos quadrantes centrais em porcentagem no Teste de Campo Aberto.....	30
Figura 18. Resultados para a locomoção total dos animais no Teste de Campo Aberto.....	31
Figura 19. Resultados do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em segundos no LCE.....	32
Figura 20. Resultados do parâmetro de <i>head dipping</i> (mergulho) desprotegido do LCE.....	32
Figura 21. Resultados das <i>stretch attending postures</i> de avaliação de risco no Teste de Labirinto em Cruz Elevado.....	33
Figura 22. Resultados da quantidade total de comportamento de grooming realizados pelos animais durante o Teste do Splash.....	34
Figura 23. Resultados do tempo de latência para o primeiro comportamento de grooming em segundos.....	34
Figura 24. Resultados do parâmetro de imobilidade no Teste de Nado Forçado.....	35
Figura 25. Resultados do tempo de latência de escape do teste de Labirinto Aquático de Morris.....	36
Figura 26. Resultados para permanência no quadrante alvo no teste do Labirinto Aquático de Morris.....	36
Tabela 1. Delineamento experimental de acordo com a presença ou ausência do protocolo de estresse crônico.....	21

RESUMO

As desordens neuropsiquiátricas configuram-se como um importante problema de saúde pública, intensificado após a pandemia de COVID-19, quando se observaram aumentos significativos nos diagnósticos de depressão, ansiedade e déficits de memória. Esses transtornos possuem etiologia multifatorial, envolvendo predisposição genética, mas, sobretudo, fatores socioambientais. Entre eles, a exposição ao estresse crônico destaca-se como um dos principais desencadeadores de quadros depressivos e ansiosos, devido ao desbalanço do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Essa condição promove elevação persistente de cortisol e comprometimento do feedback negativo, resultando em desequilíbrio homeostático. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a manifestação de comportamentos ansiosos, depressivos e prejuízos de memória em camundongos C57BL/6J submetidos a um protocolo de estresse crônico moderado (ECM) que consistia na restrição de movimento (2h/dia) e na exposição indireta ao predador (1h/dia). Bem como, investigar os possíveis efeitos moduladores do tratamento com óleo full spectrum de Cannabis sativa. Os animais foram divididos em cinco grupos experimentais: G0 – ECM + salina 0,9% (i.p.); G1 – sem ECM + azeite de oliva extravirgem (i.p.); G2 – ECM + azeite de oliva extravirgem (i.p.); G3 – sem ECM + óleo full spectrum de Cannabis (10 mg/kg, i.p.); G4 – ECM + óleo *full spectrum* de Cannabis (10 mg/kg, i.p.). Os tratamentos foram administrados uma vez por semana durante três semanas (P60, P67, P74), enquanto o protocolo de estresse foi aplicado de forma ininterrupta por 14 dias. Após o protocolo foram realizados os testes comportamentais, são eles: Labirinto em Cruz Elevado, Campo Aberto, Nado Forçado, *Splash Test* e Labirinto Aquático de Morris. Os resultados indicaram que a exposição ao ECM aumentou a expressão de comportamentos ansiosos, evidenciada pela comparação entre grupos estressados e não estressados. Observou-se ainda uma possível eficácia do óleo *full spectrum* na atenuação da ansiedade em condições basais (sem estresse). Entretanto, não foram identificadas alterações significativas relacionadas a comportamentos depressivos ou déficits de memória, tampouco efeitos consistentes do tratamento sobre esses parâmetros.

Palavras chaves: Estresse crônico moderado, óleo *full spectrum*, Cannabis, Ansiedade, Depressão.

ABSTRACT

Neuropsychiatric disorders represent a major public health concern, a condition that was further intensified following the COVID-19 pandemic, when a marked increase in diagnoses of depression, anxiety, and memory deficits was observed. These disorders present a multifactorial etiology, involving genetic predisposition but primarily socio-environmental factors. Among them, chronic stress exposure stands out as a major trigger for depressive and anxious phenotypes, largely due to dysregulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. This imbalance leads to sustained cortisol elevation and impaired negative feedback, resulting in homeostatic disruption. This study aimed to evaluate anxiety-like, depressive-like, and memory-related behaviors in male C57BL/6J mice subjected to a moderate chronic stress (MCS) protocol consisting of movement restriction (2 h/day) and indirect predator exposure (1 h/day). Additionally, it sought to investigate the potential modulatory effects of treatment with *Cannabis sativa* full spectrum oil. Animals were assigned to five experimental groups: G0 – MCS + 0.9% saline (i.p.); G1 – no MCS + extra virgin olive oil (i.p.); G2 – MCS + extra virgin olive oil (i.p.); G3 – no MCS + Cannabis full spectrum oil (10 mg/kg, i.p.); G4 – MCS + Cannabis full spectrum oil (10 mg/kg, i.p.). Treatments were administered intraperitoneally once a week for three weeks (P60, P67, P74), while the stress protocol was applied continuously for 14 days. Following the protocol, behavioral tests were performed, including the Elevated Plus Maze, Open Field, Forced Swim, Splash Test, and Morris Water Maze. Results indicated that MCS exposure increased the expression of anxiety-related behaviors, as demonstrated by comparisons between stressed and non-stressed groups. A potential anxiolytic effect of full spectrum oil was also observed under basal (non-stress) conditions. However, no significant alterations were identified regarding depressive-like behaviors or memory deficits, nor were consistent treatment effects observed in these domains.

Keywords: Moderate chronic stress; Full spectrum oil; Cannabis; Anxiety; Depression.

LISTA DE ABREVIATURAS

CA - Campo Aberto
CBD - canabidiol
CBG - canabigerol
CBN - canabinol
CBV - canabidivarina
EC - estresse crônico
ECM - esresse crônico moderado
EO - estresse oxidativo
EROs - espécies reativas de oxigênio
GSH - glutationa
HD - head dipping
HHA - eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
I.P - intraperitoneal
L - leste
LAM - Labirinto Aquático de Morris
LCE - Labirinto em Cruz Elevado
N - norte
NF - Nado Forçado
O - oeste
S - sul
SAPs - stretch attending postures
ST - Splash Test
TAS - transtorno de ansiedade social
TEPT - transtorno de estresse pós-traumático
THC - Δ^9 -tetrahydrocannabinol
TLE - tempo de latência de escape
TQP - tempo gasto no quadrante da plataforma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. JUSTIFICATIVA.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivos Gerais.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4. METODOLOGIA.....	19
4.1 Animais experimentais.....	19
4.2 Tratamentos.....	20
4.3 Delineamento experimental.....	21
4.4 Testes comportamentais.....	24
4.5 Eutanásia dos animais.....	29
5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	29
6. RESULTADOS.....	29
6.1 Ansiedade.....	29
6.2 Depressão.....	33
6.3 Déficits de memória.....	35
7. DISCUSSÃO.....	37
8. CONCLUSÃO.....	42
9. REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

As primeiras evidências do consumo das plantas do gênero *Cannabis* para fins terapêuticos datam da era pré-cristã em aproximadamente 3000 anos antes de Cristo (AC). A antiga medicina chinesa, principalmente, recomendava cannabis para o alívio de dores menstruais, constipação e reumatismo (Inversen, 2008). Além disso, a cannabis era utilizada como calmante e relaxante, empregada em alguns rituais de cura. Na região da Índia, além da aplicação terapêutica, principalmente relacionada a patologias do trato digestivo e excretor, a planta culturalmente possuía relação com o Deus Shiva, e tinha ampla utilização em rituais religiosos (Zuardi, 2006).

Apesar de existirem diversos estudos publicados acerca da cannabis medicinal no século XIX, foi apenas no século XX com a identificação do Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) e outros canabinóides que os estudos com a cannabis ganharam destaque (Zuardi, 2006). Ainda, a possibilidade da análise da interação entre os canabinóides, propiciado pelo avanço da biologia molecular, mitigou avanços na pesquisa. A combinação dos canabinóides proporcionou um novo cenário para a pesquisa com cannabis ao redor do mundo (Russo; Guy, 2006).

Atualmente, sabe-se que os efeitos observados ao longo do tempo, advêm principalmente dos fitocanabinóides. Existem mais de 113 substâncias fitocanabinóides identificadas e isoladas principalmente da *Cannabis sativa*, sendo essas substâncias meroterpenóides com efeito neuroterapêutico (Scherma et al., 2018). Além, do Canabidiol (CBD) e o THC, pode-se citar o canabigerol (CBG), canabinol (CBN), canabidivarina (CBV), entre diversos outros, sendo o THC a única substância dessa classe a possuir propriedades psicoativas (Gülck; Lindberg Møller, 2020).

O CBD (2-[(6R) -3- metil-6-prop-1-en-2-ilciclohex-2-en-1-il]-5-pentilbenzeno-1,3-diol) (Figura 1) é amplamente explorado em estudos clínicos e pré-clínicos para o tratamento de transtornos neuropsiquiátricos. Principalmente, devido às suas propriedades ansiolíticas, antidepressivas, antioxidantes, antipsicóticas e neuroprotetoras (Gáll et al., 2020). Um estudo aponta que a administração de canabidiol em dosagens de 1-10 mg/kg acarreta ação ansiolítica sem alterar padrões locomotores em animais (Espejo-Porras et al., 2013). No entanto, pode não gerar nenhum efeito quando administrado em doses mais altas ou mais baixas (Todd; Arnold, 2015)

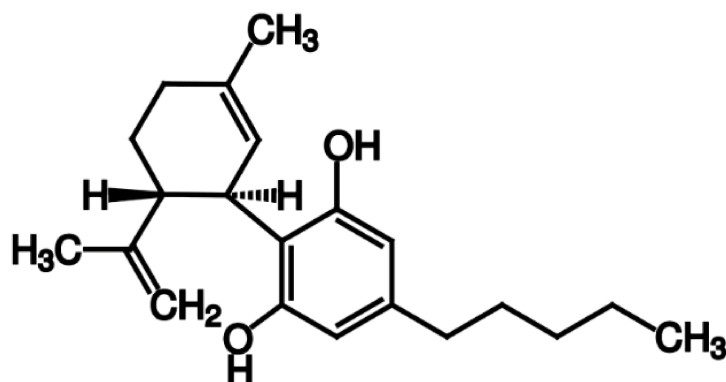


Figura 1: Fórmula química do canabidiol.

Ainda, relacionado a transtornos de ansiedade, o Canabidiol mostrou eficácia no tratamento do transtorno de ansiedade social (TAS). O TAS está ligado ao medo patológico de uma ou mais situações sociais, e, como os tratamentos farmacológicos para esse quadro podem gerar efeitos debilitantes, o CBD surge como uma alternativa interessante. Segundo a literatura, o CBD atua nas áreas encefálicas afetadas pelo TAS, como o córtex pré-frontal e outras estruturas do sistema límbico (Figura 2). Esse sistema, por sua vez, é responsável pelo processamento emocional e pela manutenção da expressão de comportamentos (Fliegel; Lichenstein, 2022). Além disso, a substância tem sido avaliada como tratamento coadjuvante para a redução de crises de pânico, comuns em alguns quadros de transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) (Bitencourt; Takahashi, 2018).

Na literatura existem diversos testes com o objetivo de analisar comportamentos ansiosos, destes destacam-se os testes de Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e Campo Aberto (CA). Ambos os testes avaliam parâmetros relacionados à atividade exploratória. A partir da análise da exposição do animal a uma situação considerada aversiva, quanto menos o animal se expõe, maior é o indicativo de ansiedade (Pellow; File, 1986; Imhof, 1993; Sekhara; Phani Kumar Kola, 2024). Ainda, o CA pode fornecer informações acerca da atividade locomotora dos animais e a relação desses padrões com a ansiedade (Seibenhener; Wooten, 2015).

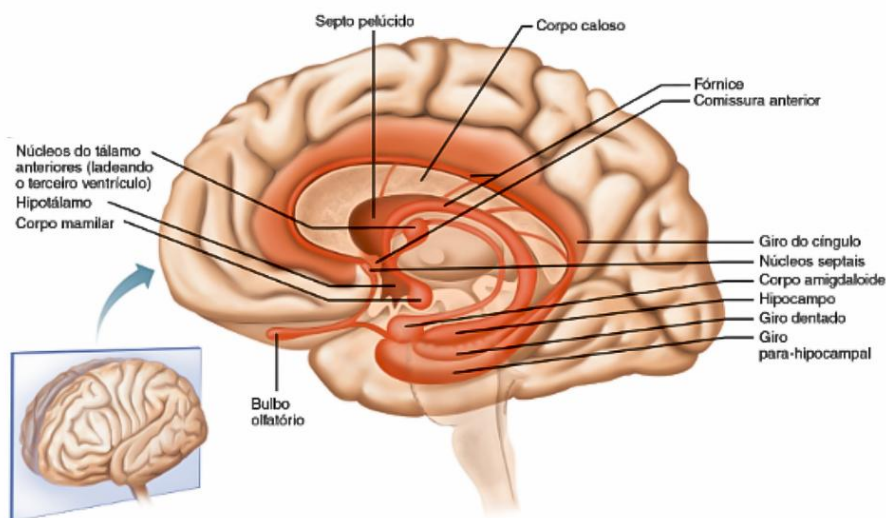


Figura 2: Estruturas encefálicas que compõem o sistema límbico, adaptado de Marieb; Wilhelm; Mallatt (2014).

Em relação à depressão, o CBD apresenta potencial antidepressivo, aumentando a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro, o que reduz a atrofia neuronal e aumenta a plasticidade sináptica em áreas límbicas, codificado pelo gene BDNF em humanos (Chen et al., 2016). Além disso, mostrou eficácia significativa no tratamento de transtornos de memória (Hillard; Patel, 2009), principalmente no que tange à memória de trabalho em um modelo de fisiopatologia da esquizofrenia; sugerindo que o tratamento crônico com CBD reverteu déficits neuropsiquiátricos relacionados à memória e interação social, evidenciando, inclusive, um potencial antipsicótico (Osborne et al., 2017).

Para a investigação desses comportamentos depressivos, são empregados diversos testes comportamentais validados pela literatura científica, entre eles o Teste de Nado Forçado (NF) (Yankelevitch-Yahav et al., 2015), o Teste de Preferência pelo Consumo de Sacarose (Chen et al., 2022) e o *Splash Test* (ST) (Rosa et al., 2014). Esses modelos têm como propósito principal avaliar o sintoma de anedonia, caracterizado pela diminuição ou perda da motivação para buscar estímulos prazerosos, pelo comprometimento do autocuidado, ou, em casos mais extremos, pela redução da motivação para sobreviver, como ocorre no Nado Forçado.

Explora-se também a ação do THC ((-)-6aR,10aR)-6,6,9-trimethyl-3-pentyl-6a,7,8,10a-tetrahydro-6H-benzo[c]chromen-1-ol) (Figura 3), substância psicoativa mais

abundante na cannabis, sobre os comportamentos e a neuroinflamação. Estudos sugerem que o THC tem um papel dose-dependente sobre comportamentos ansiosos e depressivos: em concentrações mais baixas, o THC demonstrou efeito ansiolítico, enquanto em doses mais altas, a substância demonstrou efeito ansiogênico (Sharpe et al., 2020; Childs. Lutz; De Wit, 2017).

Ademais, a administração do óleo *full spectrum*, ou integral, de cannabis com proporção de 2:1 de CBD para THC, mostrou efeito antioxidante com a redução de espécies reativas de oxigênio (EROs), aumento da capacidade antioxidante total e redução de glutathiona (GSH) no fígado de ratos Wistar machos (Degrave et al., 2023). O óleo *full spectrum* tem o potencial de combinar os efeitos de vários fitocanabinoides ativos da cannabis, como o CBD, o THC e outros menos explorados, como o canabinol e o canabigerol. Ainda, estudos apontam que o óleo integral é indicado para quadros de esclerose múltipla e fibromialgia, em detrimento de óleos com canabinoides isolados (Gustavsen et al., 2021).

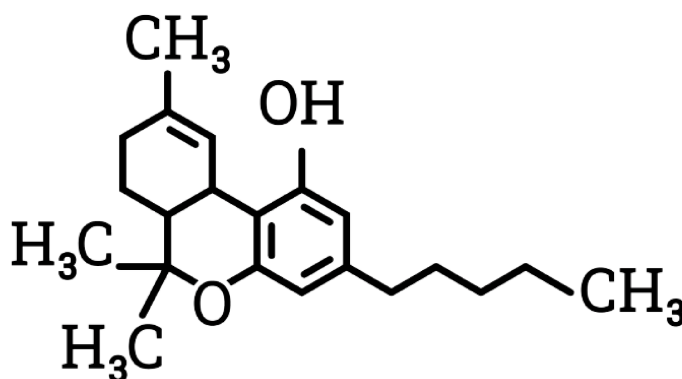


Figura 3: Fórmula química do THC.

Tais efeitos ligados ao CBD e ao THC estão relacionados com a ação dessas substâncias em receptores do sistema endocanabinoide. Esses receptores e seus ligantes estão presentes por todo o corpo, mas principalmente nos neurônios do sistema límbico e no sistema imunológico (Figura 4). Estudos evidenciam que o aumento na sinalização endocanabinoide contribui para a redução de comportamentos ansiosos, enquanto a deleção desses receptores canabinoides do tipo 1 (CB1) desencadeia efeito ansiogênico (Patel; Hillard, 2009; Moreira; Aguiar; Guimarães, 2008).

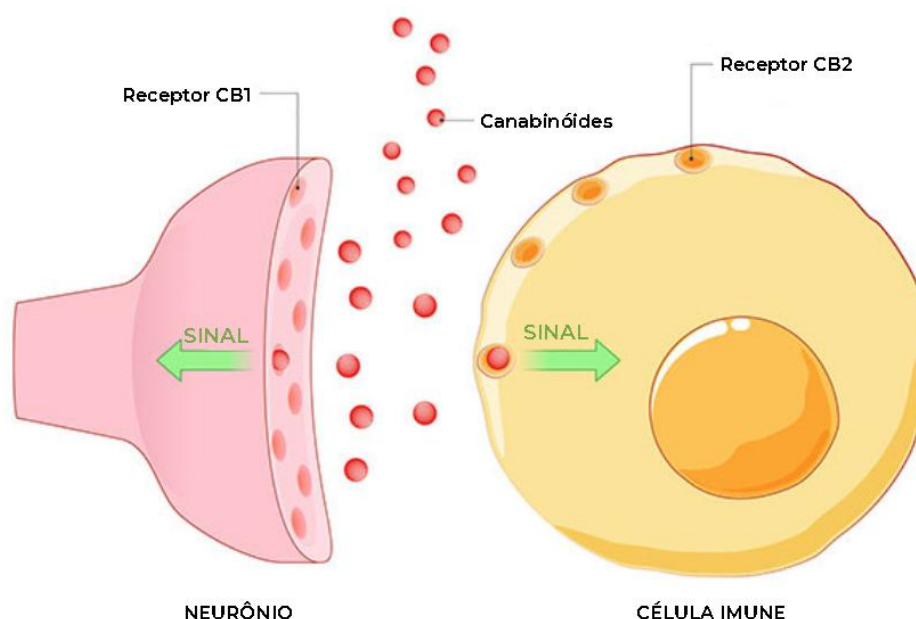


Figura 4: Descrição da sinalização endocanabinoide através de receptores CB1 e CB2. Adaptado de Grispoon (2021)

Transtornos depressivos e ansiosos estão entre os distúrbios psiquiátricos que mais afetam a sociedade contemporânea. Estima-se que, após a pandemia da COVID-19, cerca de 350 milhões de pessoas de todas as idades foram diagnosticadas com depressão ou ansiedade ao redor do mundo. No Brasil, os dados são ainda mais alarmantes, com o país liderando o ranking e apresentando cerca de 18,6 milhões de pessoas acometidas pelos transtornos (World Health Organization, 2023).

Apesar de existir uma ampla gama de fármacos para o tratamento dos transtornos depressivos e ansiosos, como benzodiazepínicos e inibidores seletivos da recaptação de serotonina, há um número significativo de pessoas resistentes a esses medicamentos. Além disso, diversas drogas para tratamentos de transtornos psiquiátricos desencadeiam sintomas adversos, muitas vezes incapacitantes (Akil et al., 2018).

Distúrbios neuropsiquiátricos como depressão e ansiedade possuem patogênese multifatorial, atrelada a fatores genéticos, fisiológicos e socioambientais. Dentre os fatores fisiológicos envolvidos na patogênese de transtornos depressivos e ansiosos está o estresse oxidativo (Juszczyk et al., 2021).

O estresse crônico (EC) contribui para a formação do estresse oxidativo (EO) em regiões do encéfalo responsáveis pela expressão de comportamentos relacionados à depressão, ansiedade e aquisição de memória. O aumento dos níveis de glicocorticoides no plasma sanguíneo acarreta a regulação negativa dos receptores de glicocorticoides no

hipocampo e a redução de enzimas antioxidantes como a glutatona na região (Lei et al., 2025). Ademais, observa-se o surgimento ou aumento de placas de proteínas beta-amilóide oligoméricas, que levam à degeneração sináptica e à redução da complexidade dendrítica em importantes áreas límbicas relacionadas a expressão de comportamentos depressivos e doença de alzheimer, como o hipocampo e áreas do tálamo (Wuwongse et al., 2013).

O estresse propriamente dito é definido como uma resposta fisiológica a um estímulo aversivo (Selye, 1936). Apesar de intensidades controladas de estresse agudo serem benéficas para a neurogênese, neuroplasticidade e memória, o estresse crônico pode provocar alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas deletérias ao tecido nervoso (Antoniuk et al., 2018).

O estresse crônico está relacionado a uma disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), levando a um aumento na produção de glicocorticoides. Níveis elevados desses hormônios podem causar danos ao tecido nervoso, desequilibrando, por exemplo, os níveis das espécies reativas de oxigênio em diversas regiões do encéfalo, especialmente em áreas do hipocampo (figura 3) (Lei et al., 2025). Isso pode desencadear alterações de memória espacial e de trabalho, como acontece na doença de Alzheimer e outros tipos de demências. A exposição do tecido nervoso à inflamação prolongada reduz a liberação de monoaminas na fenda sináptica, causando prejuízos na neurotransmissão em vias dopaminérgicas e serotoninérgicas, diretamente ligadas à etiologia dos transtornos neuropsiquiátricos como depressão, ansiedade e esquizofrenia (Raison; Capuron; Miller, 2006; Dafsari & Jessen, 2020 apud Juszczuk et al., 2021).

Assim, no presente trabalho, se propôs avaliar a relação entre estresse crônico, canabinóides e a expressão de comportamentos relacionados à depressão, ansiedade e déficits de memória, desencadeados no encéfalo de camundongos machos submetidos a situações de estresse crônico moderado (ECM). O estudo buscou analisar se o óleo *full spectrum* de *Cannabis sativa*, através de suas propriedades antidepressivas, ansiolíticas e antioxidantes, atuou sobre os prejuízos causados pelo protocolo de estresse.

2. JUSTIFICATIVA

Transtornos depressivos e ansiosos, bem como os prejuízos de memória e aprendizagem estão entre os transtornos mentais que mais afetam a população mundial, principalmente pós pandemia COVID – 19. Nos países em desenvolvimento a situação

se tornou alarmante, uma vez que, de 76% a 85% da população com transtornos mentais não conseguem tratamento (Organização Mundial de Saúde, 2024). A situação em países desenvolvidos é menos impactante, mas ainda preocupante, pois de 35% a 50% dessas pessoas também não têm acesso ao tratamento (Organização Panamericana de Saúde, 2023).

Apesar de existirem diversos tratamentos farmacológicos para transtornos neuropsiquiátricos, muitos dos medicamentos causam reações adversas incapacitantes. Assim, nunca foi tão imperativo o estudo de tratamentos coadjuvantes alternativos como o óleo *full spectrum* a base de Cannabis, que por sua vez, possui atuação bastante ampla no organismo, mostrando propriedades antidepressivas, antipsicóticas, ansiolíticas e antioxidantes (Shen et al., 2024).

Sendo o estresse crônico o causador de distúrbios fisiológicos que podem ser gerados principalmente por situações de estresse cotidiano, e com ele trazer diversos prejuízos neurobiológicos, evidencia-se a necessidade de pesquisas acerca do tema. Tendo em vista, principalmente, trabalhos que explorem desde a etiologia do problema, suas implicações e ainda, busquem soluções e tratamentos alternativos para esses transtornos, visando principalmente a melhoria da qualidade de vida das pessoas que convivem com essas patologias.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos Gerais

- Analisar os efeitos do tratamento com óleo integral de *Cannabis sativa full spectrum* sobre prejuízos comportamentais e de memória causados por situações de estresse crônico.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a ação do óleo integral de cannabis na reversão de alterações comportamentais relacionadas à depressão e ansiedade em camundongos machos submetidos a situações de estresse crônico.
- Investigar os efeitos do óleo integral de cannabis sobre alterações de memória no Teste do Labirinto aquático de Morris.

- Averiguar se o tratamento com o óleo integral de *Cannabis* provocou interferências significativas quanto à locomoção e atividade exploratória no CA.

4. METODOLOGIA

4.1. Animais Experimentais

Para a realização do presente experimento foram utilizados camundongos machos adultos da linhagem C57BL/6J (figura 5), em uma quantidade de 6-8 animais por grupo experimental. Durante a etapa da indução de estresse crônico por exposição da presa (camundongo) ao predador (rato), foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar Hannover) (figura 6), adquiridos da Rede de Biotérios de Roedores Central da Faculdade de medicina da USP, Ribeirão Preto, Brasil. Os camundongos foram disponibilizados pela Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR-UFU).

O projeto que originou o presente trabalho passou por análise e aprovação prévias pelo Conselho de Ética em Experimentação Animal da mesma Universidade (CEUA-UFU) sob o protocolo: 23117.060663/2023-76.

Os camundongos foram recebidos após desmame com cerca de 3 semanas (vinte e um dias após o nascimento- P21) e, a partir deste momento, foram mantidos em suas caixas-moradia até que atingissem a idade adulta, com temperatura e umidade padrões para o manejo de roedores e com ciclo de iluminação de 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Água e comida estiveram disponíveis *ad libitum*.



Figura 5: Camundongos da linhagem C57BL/6J em ambiente enriquecido (com cilindro de papelão), antes de serem individualizados em suas caixas moradia. Fonte: autoral, 2025.



Figura 6: Ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar Hannover). Fonte: autoral, 2024

4.2. Tratamentos

Os tratamentos foram realizados com óleo integral de *Cannabis full spectrum*, integral, rico em canabinóides, apresentando uma concentração de 3% de CBD e presença de THC (Instituto CuraPro, Mirandópolis, São Paulo, Brasil) 10mg/kg (i.p.) ou, azeite de oliva extravirgem (acidez de 0,5%, Gallo, Lisboa, Portugal) (veículo) ou solução salina 0,9% (controle) por 3 semanas, uma vez por semana (Xu et al., 2018) iniciados com os animais em idade adulta P60.

Todos os tratamentos foram administrados via intraperitoneal, com o animal imobilizado em decúbito dorsal, agulha posicionada em um ângulo de 45 graus. Após a imobilização, as substâncias foram injetadas na área inferior direita do abdômen na região do peritônio (figura 7).



Figura 7: Procedimento de aplicação do tratamento nos animais via inserção intraperitoneal, com imobilização. Autoral, 2025.

4.3. Delineamento Experimental

Ao atingirem a idade adulta, os camundongos (número total=68 animais) foram divididos em 5 grupos experimentais (N=6-8 animais por grupo) e mantidos individualmente em suas caixas moradia (figura 8).

As divisões em grupos experimentais foram: G0 - Protocolo de estresse + tratamento com solução salina 0,9 (i.p.); G1 – sem protocolo de estresse + tratamento com azeite de oliva extravirgem (i.p.); G2 – protocolo de estresse crônico + tratamento com azeite de oliva extravirgem (i.p.); G3 – sem protocolo de estresse + óleo de Cannabis *full spectrum* 10 mg/kg (i.p.); G4 – protocolo de estresse + óleo de Cannabis *full spectrum* 10mg/kg (i.p.) (tabela 1).

Tabela 1: Delineamento experimental de acordo com a presença ou ausência do protocolo de estresse crônico.

Grupo	Tratamento	Protocolo de estresse crônico
G0	solução salina 0,9% (50 ul, i.p.)	presente
G1	azeite de oliva extravirgem (50 ul, i.p.)	ausente
G2	azeite de oliva extravirgem (50 ul, i.p.)	presente
G3	óleo de Cannabis <i>full spectrum</i> 10 mg/kg (50 ul, i.p.)	ausente
G4	óleo de Cannabis <i>full spectrum</i> 10 mg/kg (50 ul, i.p.)	presente



Figura 8: Rack organizadora das caixas moradias dos animais dentro da REBIR-UFU, padronizadas para que sejam mantidas regulares as condições de umidade e temperatura. Autoral, 2024

Sete dias antes do início do protocolo de indução de estresse (que teve duração de 14 dias) foram iniciados os respectivos tratamentos com óleo de *Cannabis full spectrum*, azeite de oliva extravirgem ou com salina 0,9, aplicados uma vez por semana.

O protocolo de estresse crônico com o objetivo de expor o animal a situações aversivas foi caracterizado por: restrição de movimento com aparato individual próprio, cilíndrico confeccionado em acrílico por até 2h ininterruptas e exposição presa/predador, com os camundongos C57 sendo expostos indiretamente a ratos da linhagem Wistar Hannover onde foram observadas as interações entre presa e predador, bem como, os comportamentos relacionados ao estresse do camundongo.

O procedimento de indução de estresse crônico teve início cerca de 39 dias após o recebimento dos camundongos (P68). Tal protocolo, consistiu na exposição dos camundongos a diferentes situações estressoras durante 14 dias ininterruptos; os procedimentos foram adaptados do protocolo de Juszczuk et al (2021).

Na exposição predador-presa os camundongos foram alocados em um compartimento de acrílico com dois lados separados por tela, no lado A foi inserido o

predador (rato Wistar Hannover), e no compartimento B foi inserido o camundongo (figura 9). Os animais foram mantidos em confronto indireto por 1h ininterrupta.

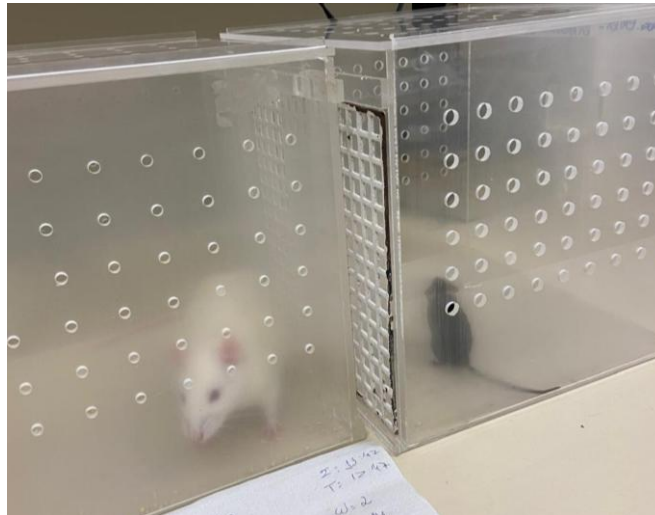


Figura 9: Rato Wistar Hannover e camundongo C57, em confronto indireto na exposição presa-predador do protocolo de indução de estresse crônico. Autoral, 2024

Durante o protocolo de estresse por restrição de movimento, os camundongos foram acomodados em um aparato cilíndrico confeccionado em acrílico, onde eram mantidos por 2h, com os movimentos limitados, podendo mexer somente a cabeça e a cauda (figura 10).



Figura 10 - Camundongos C57 em aparatos de restrição de movimento durante a aplicação do protocolo de estresse crônico. Autoral, 2024

Para a avaliação do possível efeito do estresse crônico e do tratamento sobre os comportamentos depressivos, ansiosos e alterações de memória nos animais, foram realizados testes comportamentais em P81 (81 dias após o nascimento), entre eles: Labirinto em Cruz Elevado e Teste de Campo Aberto para avaliação dos comportamentos do tipo ansiosos; Nado forçado e *Splash Test* para comportamentos do tipo depressivos; e Labirinto Aquático de Morris (LAM) para análise das alterações de memória (figura 11)

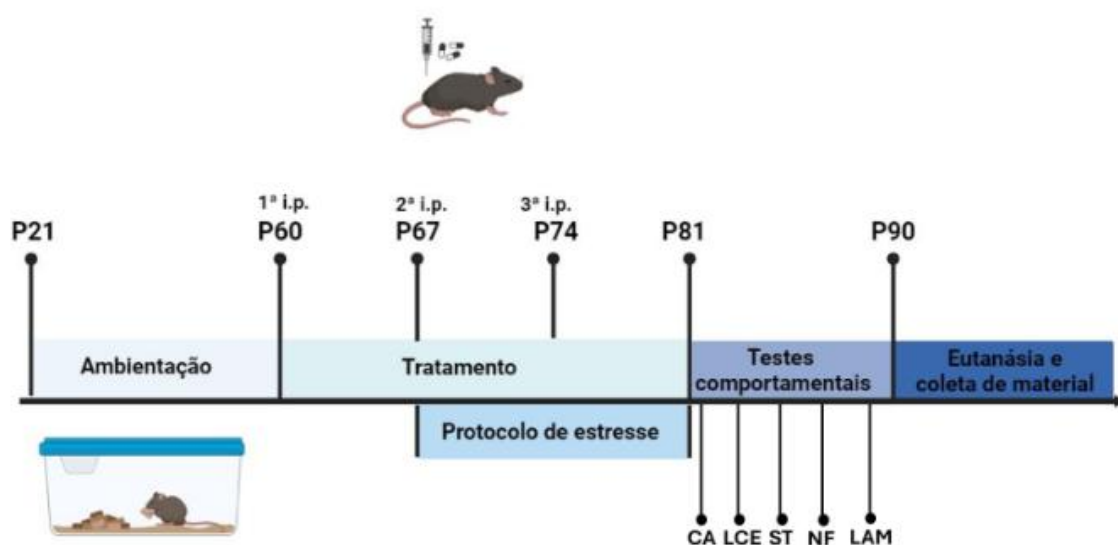


Figura 11: Linha do tempo com delineamento experimental detalhado com as ordens dos procedimentos e testes comportamentais, que vão do de menor grau de invasividade para o de maior grau. Autoral, 2025.

4.4. Testes comportamentais

Labirinto em Cruz Elevado:

O LCE é um dos testes comportamentais para estudo de ansiedade e alguns aspectos relacionados a pânico, onde a atividade exploratória do animal é avaliada por 5 minutos em um aparato confeccionado em acrílico elevado 50 cm do solo e formado por dois braços abertos (34 x 6,5 cm), que formam uma cruz com dois braços fechados (34 x 6,5 x 15cm) (figura 12).

Inicialmente o animal foi posicionado no centro do aparato, com a cabeça apontada para o braço aberto e na sequência seus comportamentos foram gravados por 5 minutos para análise posterior. Entre cada animal testado, o aparato foi limpo com álcool em 20%. Entre os parâmetros comportamentais analisados estão o número de entradas nos braços fechados e abertos e o tempo gasto nos braços abertos e fechados do aparato, além dos *Head dippings* (mergulhos) e as *stretch attending postures*, onde o aumento da permanência nos braços abertos indica redução da ansiedade do animal (Jastrzębska-Więsek et al., 2017; Pellow; File, 1986).



Figura 12: Camundongo C57 no aparato do Teste de Labirinto em Cruz Elevado explorando um dos braços fechados do aparato. Autoral, 2025

Teste de Campo Aberto:

O CA é um dos testes comportamentais utilizados para o estudo de comportamentos do tipo ansiosos e atividade locomotora em modelos animais. Utiliza-se um aparato circular com base de 30 cm de diâmetro circundado por uma parede de acrílico de 30 cm de altura cuja área é dividida em quadrantes periféricos (adjacentes à parede) e centrais (figura 13).

Os animais foram colocados no centro do aparato no início do teste. Os comportamentos expressos pelos animais foram gravados por 5 minutos para análise posterior. A cada animal testado, o aparato foi limpo com álcool 20%.

A atividade locomotora (número de quadrantes percorridos) e o tempo gasto tanto no centro quanto na periferia do aparato foram os parâmetros avaliados. Neste teste,

quanto menos quadrantes percorridos e menos tempo gastos no centro do aparato (área mais desprotegida) mais ansioso o animal é considerado (Bond; Digiusto, 1975).

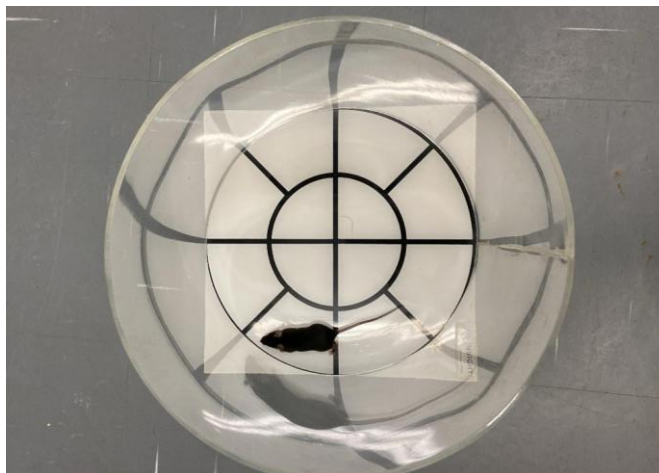


Figura 13: Camundongo no aparato do Teste de Campo Aberto, explorando os quadrantes periféricos.
Autorial, 2025

Teste de Nado Forçado:

O NF é frequentemente usado como modelo para demonstrar comportamentos do tipo depressivos. Compreende duas fases: pré-teste e teste.

No NF os animais foram colocados em um recipiente cilíndrico com 33 cm de diâmetro, preenchido com uma coluna de água de 39 cm (figura 14), sendo esta limpa e com temperatura entre 25°C e 27 °C. Na fase de pré-teste o animal foi colocado no recipiente e mantido em nado por 15 minutos.

Após 24 horas, realizou-se a fase de teste, em que o animal foi colocado novamente no recipiente com água e seus comportamentos foram filmados por 5 minutos. Posteriormente, o vídeo foi analisado para observação dos seguintes parâmetros comportamentais: imobilidade e nado, onde a imobilidade caracteriza um aumento dos comportamentos depressivos. Após cada exposição os animais foram secos com uma toalha de tecido, e devolvidos para suas caixas de criação (Yamato et al., 2016).



Figura 14: Camundongo durante o Teste de Nado Forçado para avaliação de comportamentos relacionados à depressão. Autoral, 2025

Splash Test:

O ST vem sendo amplamente utilizado como modelo na demonstração de comportamentos depressivos no que tange a comportamentos motivacionais e de autocuidado. O teste consiste em esguichar sobre o dorso do animal uma solução de sacarose 10%, dessa forma a sacarose suja o pelo do camundongo, de forma que este inicie um comportamento de *grooming*.

Esse comportamento foi registrado por um período de 5 minutos contados a partir da aplicação da solução tendo ocorrido logo em seguida do teste de CA. Ao final do teste de CA os animais foram realocados em uma caixa moradia sem forragem e expostos ao esguicho de sacarose, o tempo foi computado contando a partir do primeiro movimento de *grooming* do animal, em seguida os animais foram devolvidos à suas caixas de criação (Rosa et al., 2013; Isingrini et al., 2010).

Labirinto Aquático de Morris:

O LAM é amplamente utilizado para a detecção de possíveis déficits relacionamentos a Memória espacial e de trabalho e foi o último teste comportamental aplicado.

Para a realização deste teste os animais foram colocados em um tanque circular (108 cm de diâmetro e 50 cm de profundidade) dividido em 4 quadrantes Norte (N), Sul (S), Leste (L), Oeste (O), preenchido com água até o topo de uma plataforma transparente de acrílico (13 cm de diâmetro e 24,5 cm de altura) (figura 15), submersa logo abaixo da superfície de água.

O teste consistiu em duas fases, treinamento e teste. Antes do teste foram realizadas 3 sessões de treinamento durante 4 dias consecutivos, durante esse período os animais deveriam encontrar a plataforma, num período de até 90 segundos. Caso o camundongo não encontrasse a plataforma nesse período, ele deveria ser posicionado na plataforma por 30 segundos para memorização.

No quinto dia, foi realizada a primeira etapa da segunda fase, chamada de teste de aquisição, com registro de tempo (segundos) de latência de escape (TLE), ou seja, do tempo em que o animal leva para encontrar a plataforma a partir do momento em que é colocado na piscina. Por último, no sexto dia, foi realizada a segunda etapa da segunda fase, com o teste de retenção/consolidação, onde a plataforma foi retirada e o tempo gasto no quadrante da plataforma (TQP) foi registrado durante 90 segundos, avaliando a consolidação da memória espacial, adaptado a partir do trabalho de Vorhees e Williams (2006).



Figura 15: Animal experimental sobre a plataforma de acrílico durante teste de aquisição no Labirinto Aquático de Morris. Autoral, 2025.

4.5. Eutanásia dos animais

Após realizados os testes comportamentais, os animais foram eutanasiados por meio da administração via intraperitoneal de Cetamina 300 mg/kg e Xilazina 30 mg/kg, seguido de deslocamento cervical (Campos et al., 2013).

5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados dos testes comportamentais foram analisados por ANOVA de uma via, através do programa GraphPad Prism 8.0 para Windows (GraphPad Software, Boston, Massachusetts, EUA). Alterações significativas foram consideradas com $p < 0,05$, seguida pelo teste post hoc (pós teste) de Tukey para comparação entre os grupos de interesse.

6. RESULTADOS

6.1. Ansiedade

No Teste de Campo Aberto, ainda que os grupos G3 (41.79 ± 5.29) e G1 (39.23 ± 6.65) tenham apresentado desempenho superior, a ANOVA não revelou diferenças significativas quanto ao tempo de permanência no centro do aparato ($F(4,29)=2.353$, $p=0.0773$). No entanto, o teste post-hoc de Tukey identificou diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os pares: G3 vs. G2 ($p=0.0186$), G1 vs. G2 ($p=0.0449$) e G3 vs. G4 ($p=0.0399$) (figura 16). Como demonstrado na figura 17, com relação à porcentagem de locomoção central, a ANOVA também não apontou diferenças significativas ($F(4,29)=2.278$, $p=0.0850$), e o pós-teste não identificou inclinações significativas. Com relação à mobilidade, ANOVA não identificou diferenças significativas, ($F(4,29)=2.168$, $p=0.0977$) (figura 18).

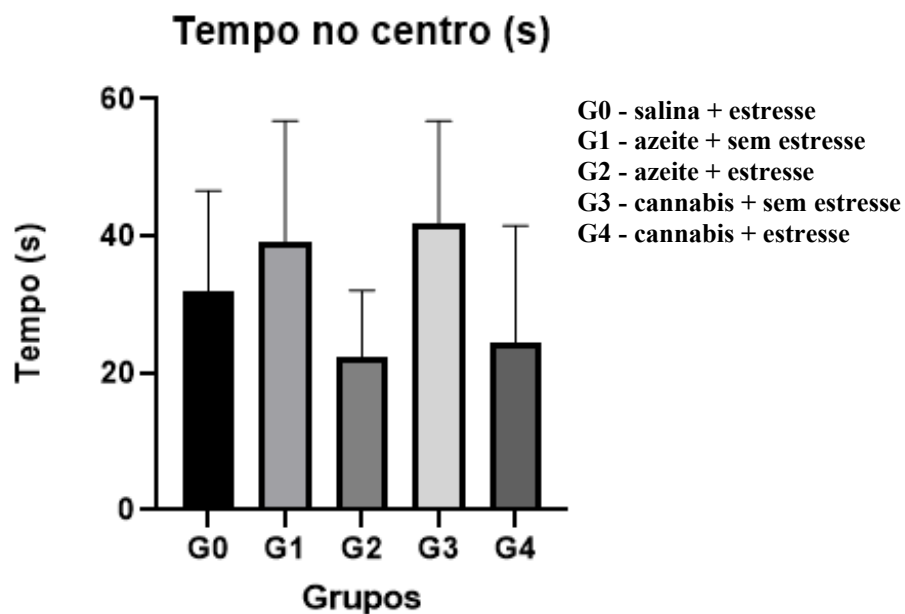


Figura 16: Resultados do tempo de permanência em segundos nos quadrantes centrais do Campo Aberto. Ainda que os grupos G3 (41.79 ± 5.29) e G1 (39.23 ± 6.65) tenham apresentado maior média de permanência, a ANOVA não mostrou diferenças estatisticamente significativas, no entanto o teste *post hoc* de Tukey, mostrou inclinações entre os grupos G3 vs. G2 ($p=0.0186$), G1 vs. G2 ($p=0.0449$) e G3 vs. G4 ($p=0.0399$)

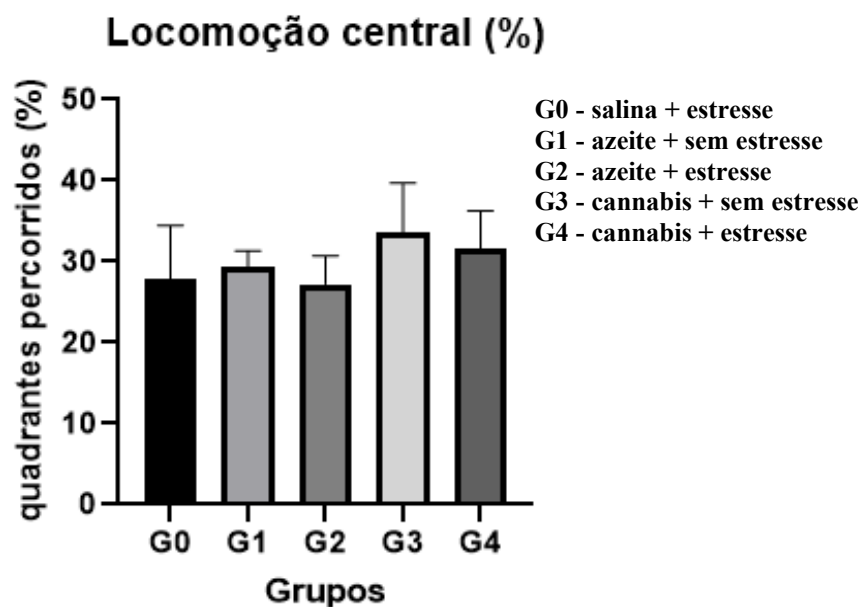


Figura 17: Resultados da locomoção nos quadrantes centrais em porcentagem no Teste de Campo Aberto. ANOVA não mostrou diferenças estatísticas relevantes na locomoção nos quadrantes centrais, e o pós teste de Tukey não mostrou tendências significativas

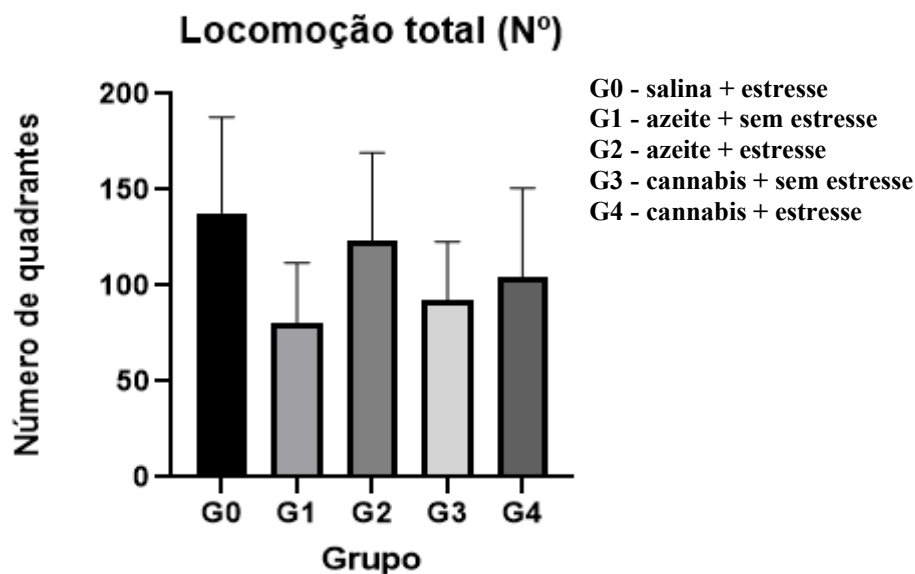


Figura 18: Resultados para a locomoção total dos animais no Teste de Campo Aberto. ANOVA não identificou diferenças estatisticamente relevantes, sugerindo que não houve alteração nos padrões locomotores dos animais.

Para o Teste de Labirinto em Cruz Elevado, a ANOVA não mostrou diferenças significativas no tempo de permanência nos braços abertos do aparato ($F(4,29)=0.5887$, $p=0.6735$) (figura 19). Como mostrado na figura 20, quanto à quantidade de *Head Dipping* (mergulho) desprotegido, a ANOVA indicou variação significativa ($F(4,26)=6.000$, $p=0.0012$). A análise post-hoc de Tukey revelou diferenças significativas entre: G1 vs. G0 ($p=0.0042$), G1 vs. G2 ($p=0.0020$), G1 vs. G3 ($p=0.0264$) e G1 vs. G4 ($p=0.0249$). Por fim, nas Stretch Attending Postures (SAPs), a ANOVA não identificou diferenças significativas ($F(4,29)=1.860$, $p=0.1445$) (figura 21).

Permanencia nos braços abertos (s)

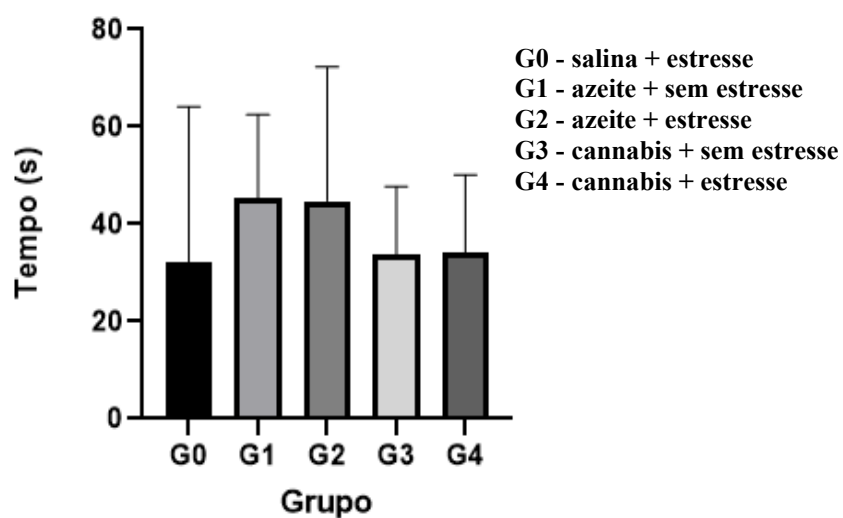


Figura 19: Resultados do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em segundos no LCE. ANOVA não identificou alterações significantes entre os grupos de interesse ($F(4,29)=0.5887$, $p=0.6735$).

Head dipping desprotegido (Nº)

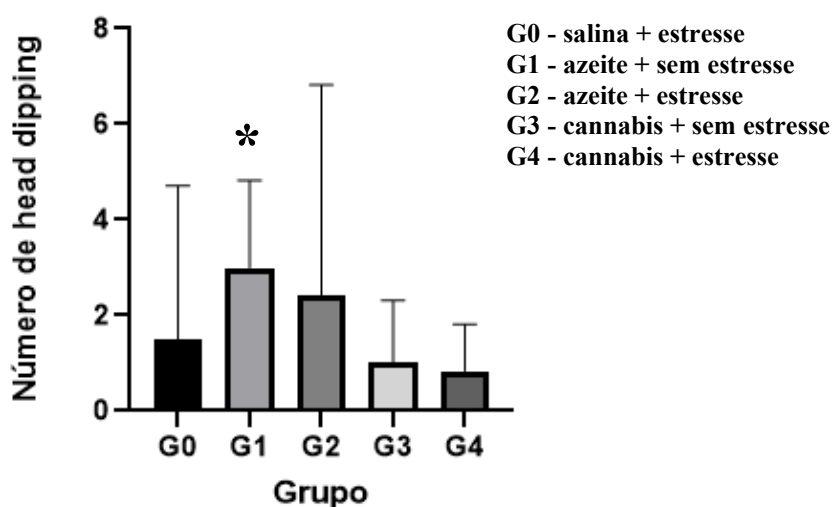


Figura 20: Resultados do parâmetro de *head dipping* (mergulho) desprotegido do LCE. * Variação estatisticamente relevante; ANOVA indicou variação significativa ($F(4,26)=6.000$, $p=0.0012$). A análise post-hoc de Tukey revelou diferenças significantes entre: G1 vs. G0 ($p=0.0042$), G1 vs. G2 ($p=0.0020$), G1 vs. G3 ($p=0.0264$) e G1 vs. G4 ($p=0.0249$).

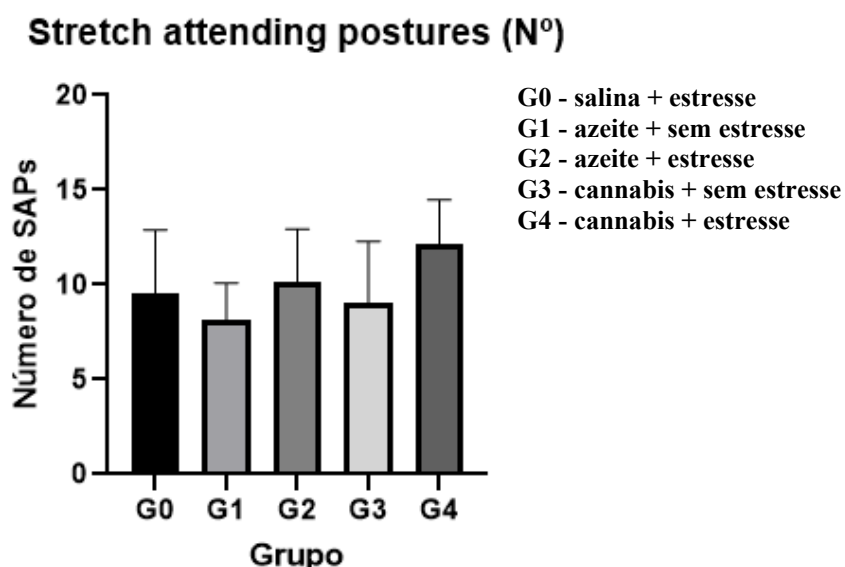


Figura 21: Resultados das *stretch attending postures* de avaliação de risco no Teste de Labirinto em Cruz Elevado. A análise realizada por ANOVA de uma via não identificou alterações significativas entre os grupos.

6.2. Depressão

No Teste do Splash, foram analisados os parâmetros de *grooming* total e latência para o primeiro *grooming*. Embora os grupos G3 (63.25 ± 7.09) e G1 (63.14 ± 11.04) tenham apresentado maior número de *grooming* como mostrado na figura 22, a ANOVA não revelou diferenças significativas quanto à quantidade total de *grooming* realizada pelos animais ($F(4,29)=0.5384$, $p=0.7087$). Ainda, com relação à latência em segundos para o primeiro *grooming*, ANOVA também não mostrou resultados estatísticos significativos (<0.05) ($F(4,29)=0.6050$, $p=0.6622$). Em ambas as situações o pós-teste de Tukey não mostrou tendências significativas entre os pares de grupos (figura 23).

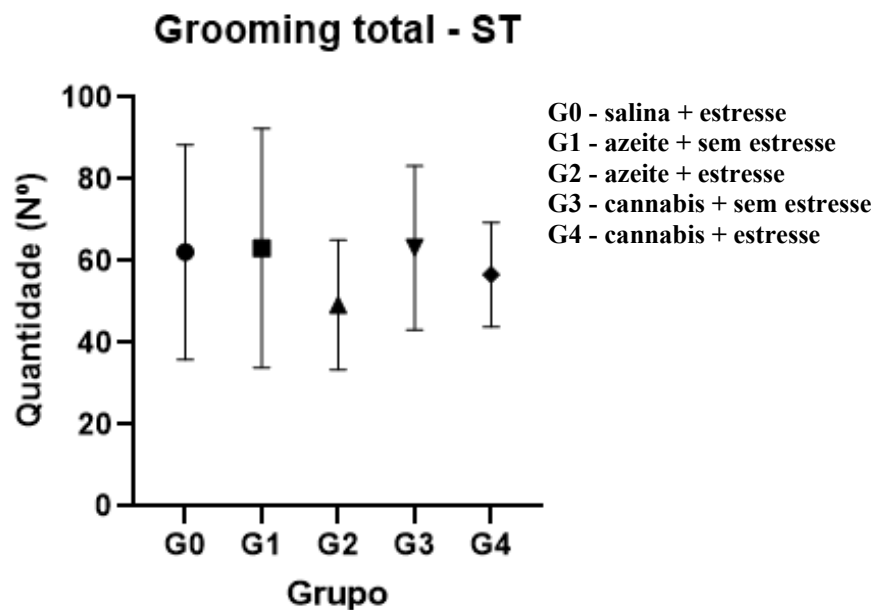


Figura 22: Resultados da quantidade total de comportamento de grooming realizados pelos animais durante o Teste do Splash. ANOVA não indicou diferenças estatisticamente relevantes, o *post hoc* de Tukey também não mostrou tendências significativas, no entanto os grupos G3 (63.25 ± 7.09) e G1 (63.14 ± 11.04) apresentaram os melhores desempenhos.

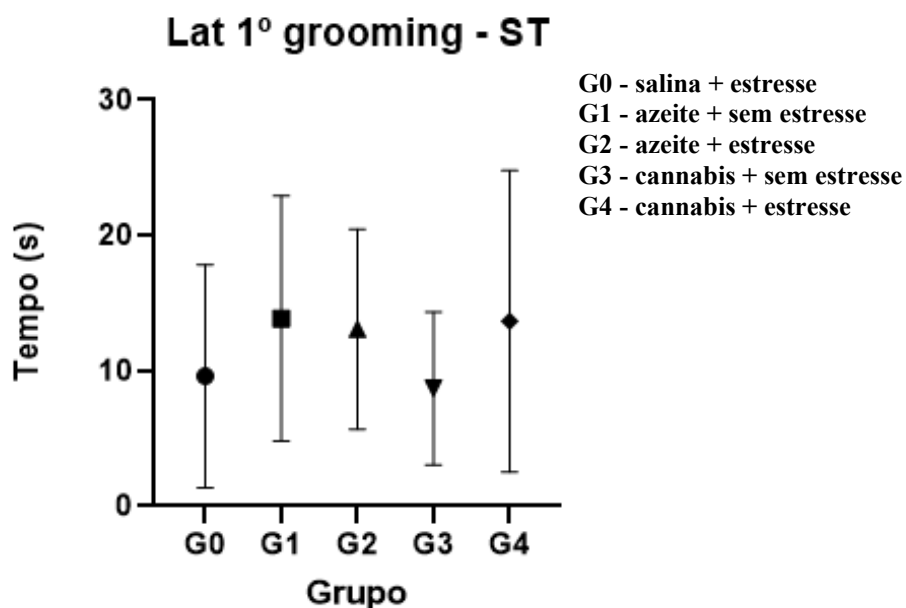


Figura 23: Resultados do tempo de latência para o primeiro comportamento de grooming em segundos. A ANOVA não indicou variações estatisticamente relevantes ($F(4,29)=0.6050$, $p=0.6622$).

Com relação ao Teste de Nado Forçado, onde foram avaliados parâmetros quanto à mobilidade do animal no aparato, para a avaliação de comportamento semelhante à

depressão, A ANOVA não indicou diferenças estatísticas significativas quanto à imobilidade ($F(4,29)=0.8726$, $p=0.4922$), o teste *post hoc* de Tukey não revelou tendências significativas, embora G4 (111.70 ± 22.22) e G1 (128.51 ± 23.73) tenham mostrado menor tempo de imobilidade (figura 24).

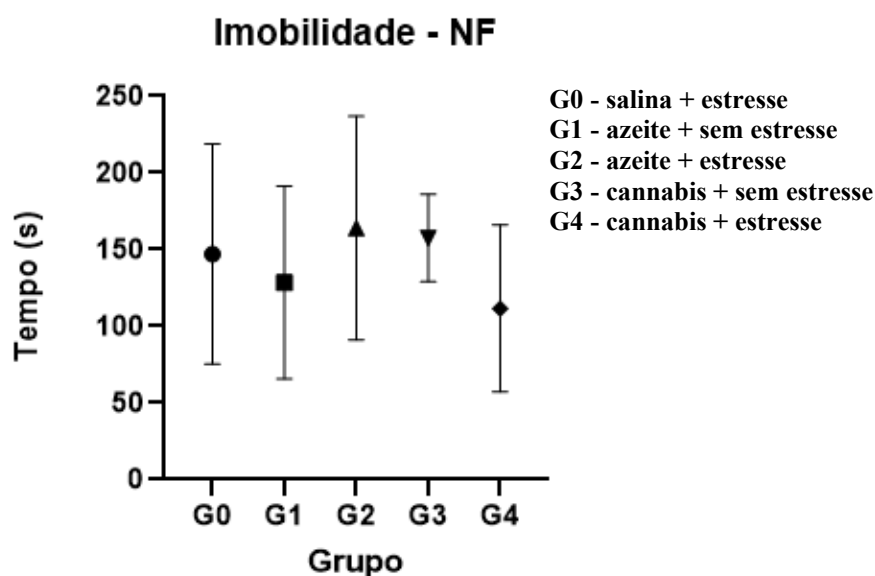


Figura 24: Resultados do parâmetro de imobilidade no Teste de Nado Forçado. Não houveram estatísticas significativamente relevante e o pós teste de Tukey não indicou tendências relevantes

6.3. Déficits de memória

Como mostrado pela figura 25, no parâmetro de tempo de latência de escape, a ANOVA de uma via não identificou diferenças significativas entre os grupos ($F(4,26)=1.304$, $p=0.2945$), o pós teste de Tukey também não demonstrou tendências significativas. Com relação à retenção da memória no teste de permanência no quadrante alvo, ainda que os grupos G3 (33.83 ± 5.04) e G4 ($36,20 \pm 6.71$) tenham apresentado maior tempo de permanência no quadrante, ANOVA não identificou diferenças significativas ($F(4,28)=0.7467$, $p=0.5685$) (figura 26).

Tempo de latencia de escape - LAM

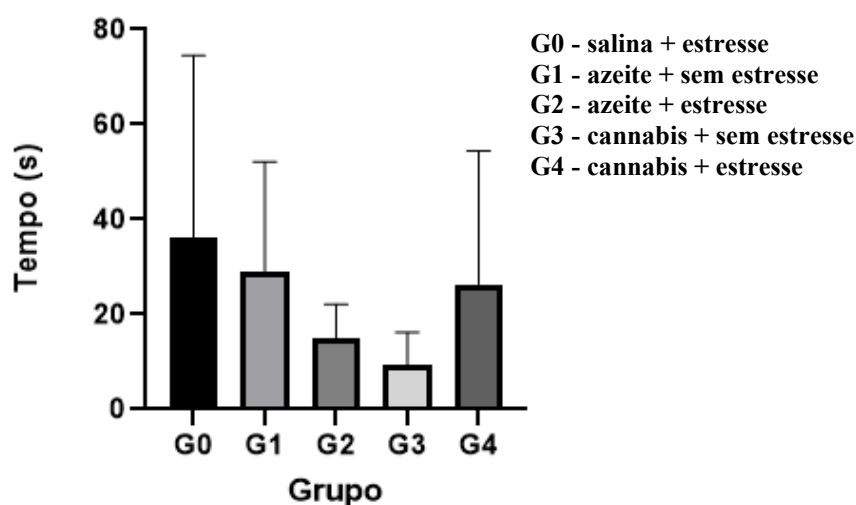


Figura 25: Resultados do tempo de latência de escape do teste de Labirinto Aquático de Morris. A NOVA não indicou variações estatísticas relevantes e o pós teste de Tukey não mostrou tendências significativas.

Permanência no quadrante - LAM

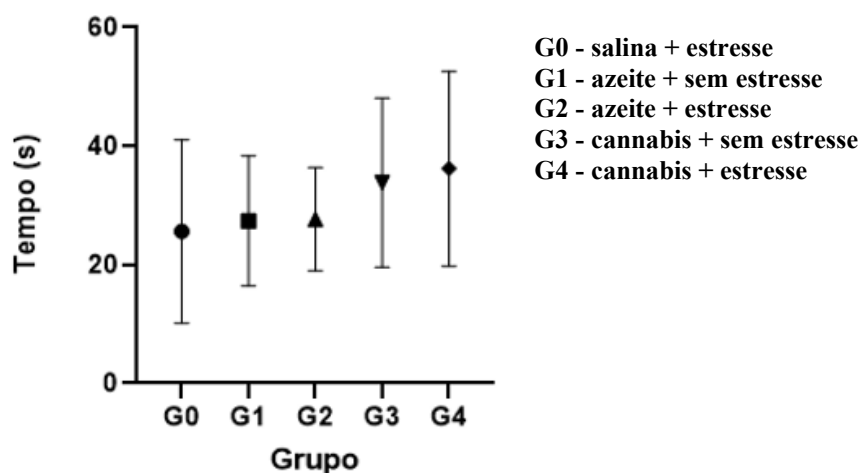


Figura 26: Resultados para permanência no quadrante alvo no teste do Labirinto Aquático de Morris. Ainda que G3 (33.83 ± 5.04) e G4 ($36,20 \pm 6.71$) tenham apresentado melhores resultados, a ANOVA não indicou variações estatísticas relevantes.

7. DISCUSSÃO

O teste de Campo Aberto é um modelo amplamente utilizado há mais de 40 anos para a avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade e padrões locomotores.

Entre os parâmetros analisados destacam-se os cruzamentos da linha central, a mobilidade nos quadrantes periféricos e/ou centrais, bem como o tempo de permanência em cada região. Uma maior movimentação na periferia, associada à redução da exploração da área central, é considerada indicativa de ansiedade. Adicionalmente, o CA permite investigar alterações nos padrões de locomoção induzidas por drogas ou lesões (Bond; Digiusto, 1975; Prut; Belzung, 2003).

Nesse contexto, Blokland; Prickaerts; Raaijmakers (1992) avaliaram comportamentos ansiosos em um modelo animal submetido a tratamento crônico com doses controladas de etanol. Os comportamentos foram mensurados pelo teste de CA, com a finalidade de verificar se o tratamento poderia atenuar a expressão de comportamentos do tipo ansioso. Foram analisados parâmetros também empregados no presente estudo, como locomoção total, locomoção periférica e número de cruzamentos da linha central. Considerou-se efeito ansiolítico a redução da permanência nos quadrantes periféricos e da locomoção total. Nesse paradigma, os animais tratados permaneceram mais tempo na região central em comparação aos controles, evidenciando o potencial ansiolítico do tratamento (Rapuano et al., 2020).

Assim como neste estudo, Huynh et al. (2011) empregaram o CA para mensuração de comportamentos relacionados à ansiedade. Foram avaliados ratos machos e fêmeas, expostos ou não a um paradigma de estresse crônico por restrição de movimento. Entre os indicadores observados destacaram-se a movimentação nos quadrantes periféricos e a exploração nos quadrantes centrais, considerando tanto o tempo quanto a quantidade de quadrantes percorridos. Os achados demonstraram que os machos apresentaram menor mobilidade central e menor tempo de permanência no centro, independentemente da condição de estresse, quando comparados às fêmeas, sugerindo uma marcante variação dependente do sexo (Berry; Zucker, 2025).

De modo semelhante ao constatado neste trabalho, camundongos machos mostraram-se mais vulneráveis a alterações comportamentais relacionadas à ansiedade, tendendo a permanecer menos tempo no centro do aparato. Essa variação, pode ser decorrente do fato de as fêmeas apresentarem maiores níveis de TPH2 na região do córtex pré-frontal, refletindo em uma maior produção basal de serotonina, o que, pode conferir maior resiliência comportamental em relação ao estresse (Herselman et al., 2023).

Por outro lado, não foram verificadas diferenças expressivas quanto à quantidade de quadrantes explorados, o que não sugere alterações consistentes nos padrões de atividade locomotora. Ainda assim, observou-se que os grupos submetidos ao estresse (G0, G2 e G4) percorreram mais quadrantes no total e apresentaram menor proporção de deslocamentos na região central.

De maneira similar, Carneiro et al. (2022) aplicaram o CA para investigar comportamentos ansiosos em um paradigma de coabitação com um animal estressado. Apesar de o estudo ter evidenciado diferenças estatísticas na locomoção periférica e central, a ANOVA não revelou modificações relevantes na quantidade total de quadrantes atravessados. Assim, de modo comparável ao presente trabalho, embora os modelos de indução de estresse tenham sido distintos, não foram observadas alterações consistentes nos padrões de deslocamento dos animais.

O tratamento crônico com óleo à base de Cannabis com presença de CBD e THC para a modulação de comportamentos decorrentes de situações estressoras, geralmente não promove alterações relevantes nos padrões locomotores em modelos animais (Dlugosz; Scott; McIntyre Burnham, 2021; Gáll et al. 2020). Contudo, há uma tendência desse tipo de intervenção em reduzir manifestações relacionadas à ansiedade, sobretudo no aumento do tempo de permanência dos animais nos quadrantes centrais do aparato (Mendonça de Assis et al., 2021).

Complementarmente, Kaplan et al (2021) investigaram o efeito isolado do CBD sobre a atividade locomotora em camundongos C57BL/6J adolescentes, confirmando a ideia de que isolados ou em associação, os canabinoides não tendem a causar alterações nos padrões de locomoção. O que, pode sugerir que esse tipo de tratamento não causa hipo ou hiperatividade motora.

Neste trabalho, para a avaliação de comportamentos ansiosos, foram examinados no LCE tanto indicadores principais, como a permanência nos braços abertos, quanto variáveis secundárias, como os head dipping (HD) — protegidos ou desprotegidos — e as stretch attending postures (SAPs). Esses parâmetros adicionais podem corroborar os achados dos indicadores principais ou justificar tendências observadas nos mesmos. Os resultados não revelaram diferenças significativas em relação ao tempo de permanência nos braços abertos; entretanto, foi constatada diferença nos head dipping desprotegidos.

No entanto, os animais do grupo G1 apresentaram maior tempo de permanência nos braços abertos. Esses resultados, aliados ao aumento nos HD desprotegidos, podem indicar que o protocolo de indução de estresse foi capaz de promover alterações comportamentais associadas à ansiedade. Ainda assim, o óleo à base de Cannabis não demonstrou efeito ansiolítico, nem na presença nem na ausência de estresse, uma vez que os animais tratados permaneceram próximos à média dos comportamentos observados.

Em consonância com esses achados, análises prévias de Gáll et al. (2020) também não evidenciaram efeitos consistentes no LCE em modelos de estresse agudo e crônico moderado. Nesse estudo, foi empregado tratamento com CBD (10 mg/kg) ou veículo, administrado por via intraperitoneal, sendo os comportamentos relacionados à ansiedade analisados por meio do CA e do LCE. No LCE, nos estudos de Gáll et al (2010), não houveram distinções significativas quanto ao tempo de permanência nos braços abertos ou em relação aos HD, não evidenciando efeito ansiolítico do CBD na reversão dos prejuízos decorrentes do estresse. Apesar disso, no presente trabalho foi identificada diferença nos HD desprotegidos, sugerindo uma possível eficácia do protocolo de estresse crônico, embora não tenham sido verificadas mudanças nos indicadores principais do LCE entre os grupos de interesse (G3 e G4).

Dessa forma, no que se refere à ansiedade, pode-se afirmar que a exposição diária dos animais às situações estressoras tendeu a intensificar a manifestação de comportamentos ansiosos nos testes de CA e LCE. Entretanto, o tratamento com canabinoides não se mostrou eficaz na reversão desses prejuízos sob condições de estresse, apresentando efeito apenas na ausência de estresse, conforme observado no CA.

Além da ansiedade, foram examinados parâmetros relacionados à expressão de comportamentos depressivos. Diversos modelos animais são empregados para o estudo de transtornos desse tipo, entre eles os protocolos de estresse crônico (Yan et al., 2010). O estresse crônico promove desequilíbrios em vários sistemas fisiológicos, incluindo o eixo HHA, atividade da micróglia e cascatas inflamatórias. Além disso, quadros de estresse prolongado podem desencadear neuroinflamação por meio da hiperativação da micróglia (Antoniuk et al., 2019).

No presente estudo, para a avaliação de comportamentos associados à depressão, foram utilizados os testes de Nado Forçado e *Splash*. O ST foi aplicado para análise do comportamento de *grooming*, considerando os parâmetros de latência e frequência.

Embora os testes voltados para depressão não tenham revelado diferenças estatisticamente significativas, no ST os grupos G3 ($\pm 63,25$) e G1 ($\pm 63,14$) exibiram maiores índices de grooming total. Em relação ao tempo de latência para o primeiro grooming, não foram detectadas diferenças relevantes. De modo semelhante, Sabbag; Kritman; Irit Akirav (2025) também não observaram alterações significativas na latência para o primeiro grooming em ratas submetidas a um protocolo de estresse associado a dieta com alto teor de gordura.

Um estudo recente apontou que doses intermediárias (1–3 mg/kg) de óleo à base de Cannabis *broad* e/ou *full spectrum* apresentam maior eficácia na redução de comportamentos depressivos quando comparadas a doses elevadas (>3 mg/kg) (Silva et al., 2022). Em um paradigma de estresse crônico complexo, Shen et al. (2024) demonstraram que doses reduzidas de óleo medicinal de Cannabis (0,5 mg/ml e 1,0 mg/ml, por gavagem) foram mais eficazes em diminuir a latência para imobilidade no NF do que concentrações mais altas (2,0 mg/ml). Resultados semelhantes foram descritos por Mendonça de Assis et al. (2022), em que doses baixas (0,1 e 1 mg/kg) de óleo *broad spectrum* de Cannabis contendo CBD, THC e ácido canabidiólico (CBDA) mostraram maior eficiência na redução da imobilidade no NF, em comparação com doses mais altas (3 e 10 mg/kg). O mesmo padrão foi observado na latência para o primeiro *grooming* no ST.

Tais resultados ajudam a explicar a falta de eficácia do tratamento com óleo *full spectrum* na reversão de comportamentos depressivos decorrentes do modelo de estresse crônico empregado neste estudo. Ainda que Gáll et al (2020) e Sabbag; Kritman; Irit Akirav (2025) tenham obtido resultados no testes para comportamentos depressivos com a mesma dosagem do presente estudo e com dosagens superiores (20 mg/kg), conforme indicado por outros estudos (Mendonça de Assis et al. 2022; Silva et al., 2022; Shen et al. 2024), a dosagem utilizada (10 mg/kg), pode ser considerada elevada para o manejo de sintomas depressivos em paradigmas de estresse, pois desencadeia uma hiperativação dos receptores CB1, podendo inibir a liberação de serotonina, dopamina e glutamato (Rey et al., 2012), o que possivelmente comprometeu o desempenho observado nos testes de NF e ST. Dessa forma, ao comparar os grupos submetidos ou não ao estresse, não foi possível identificar diferenças relevantes na expressão desses comportamentos, tampouco efeitos consistentes do tratamento.

Entre os ensaios comportamentais mais aplicados nas neurociências para avaliação de possíveis prejuízos na região hipocampal, destaca-se o LAM. Esse teste permite detectar déficits de memória de aprendizagem e, sobretudo, falhas na consolidação da memória de longo prazo, a partir de parâmetros como o tempo de latência de escape e o tempo de permanência no quadrante da plataforma (Morris et al., 1982; Francis, 1995).

Contudo, Engelmann et al. (2006) demonstraram que protocolos de treinamento com duração de 3 a 4 dias (dependendo do delineamento) podem induzir disfunções no eixo HHA, elevando os níveis de corticosterona devido ao esforço do animal em nadar até encontrar a plataforma. Tal alteração fisiológica pode acentuar danos no hipocampo, agravando o estado de estresse em modelos que utilizam paradigmas de estresse crônico moderado (ECM), como o adotado no presente trabalho.

No procedimento experimental realizado aqui, foram avaliados os parâmetros de TLE e TQP, com testes de aquisição e consolidação aplicados após quatro dias de treinamento em três sessões. Em relação ao TLE, embora o grupo G3 tenha apresentado a menor média, sugerindo desempenho superior na memória de aprendizagem, a diferença em relação aos demais grupos não alcançou significância estatística. Resultado semelhante foi encontrado no teste de aquisição, no qual a ANOVA não revelou diferenças entre os grupos, tampouco tendências relevantes pelo pós-teste de Tukey. Esses achados sugerem que o protocolo de estresse crônico pode ter gerado déficits de memória, mas a ausência de significância estatística impede uma conclusão definitiva. Nesse cenário, o óleo de Cannabis também não demonstrou eficácia na reversão desses prejuízos.

Ainda assim, considerando os achados de Engelmann et al. (2006), é possível que o período de treinamento prévio aos testes tenha induzido um quadro de estresse agudo em animais que não haviam sido previamente submetidos ao estresse (grupos G1 e G3). Isso teria exposto todos os animais a níveis de estresse mais elevados do que o esperado, o que pode ter contribuído para a ausência de resultados conclusivos nesta parte do estudo.

De forma semelhante, Gouirand e Matuszewich (2005) não observaram diferenças relevantes entre animais submetidos ou não ao estresse no teste de consolidação. De forma semelhante ao presente estudo, embora tenham sido encontradas distinções estatisticamente significativas nos tempos de aquisição durante os dias 1 e 2, essas

discrepâncias não se mantiveram no quarto dia de avaliação nem no teste de consolidação, em que todos os grupos permaneceram períodos equivalentes no quadrante da plataforma. Esses achados indicam que o protocolo de estresse aplicado não exerceu influência sobre a memória espacial ou sobre a consolidação mnemônica no quinto dia.

Considerando os achados de 2005 por Gouirand e Matuszewich e os resultados do presente estudo, algumas associações fisiológicas podem ser levantadas. Uma possibilidade é que o modelo de estresse adotado não exerceu efeito significativo sobre a região hipocampal, o que contribuiria para a manutenção do processo de consolidação da memória. Ainda, nesse sentido, Aguilar-Valles et al (2005) demonstraram que a repetição diária do treinamento, ao longo do tempo, possa ter induzido níveis adicionais de estresse, mesmo em animais que não foram previamente submetidos ao paradigma de estresse crônico, o que explicaria a redução gradual do desempenho observada neste trabalho.

Além disso, os efeitos do uso prolongado de canabinoides sobre a memória permanecem controversos na literatura. Alguns estudos sugerem que a presença de THC na formulação do óleo pode gerar prejuízos cognitivos, em vez de atuar de forma protetiva (Hill et al., 2004; Da Silva e Takahashi, 2001). Schleicher et al. (2019), ao investigar alterações cognitivas e motoras decorrentes do tratamento contínuo com CBD em camundongos C57BL/6J, não identificaram déficits de memória no LAM. Infere-se, assim, que o uso de CBD isolado não acarreta comprometimento cognitivo; contudo, os animais tratados também não apresentaram vantagem em relação aos controles, indicando efeito discreto ou inexistente sobre a memória de trabalho.

Por outro lado, achados de Jitcă, Stoicescu e Májai (2025), utilizando um modelo de exposição ao predador associado a estresse social para o estudo do TEPT, sugerem que o CBD foi capaz de reverter os prejuízos de memória induzidos pelo TEPT. Nessa investigação, ao comparar os resultados do LAM entre controles e animais tratados com CBD (10 mg/kg), não foram verificadas diferenças no TLE entre estressados e não estressados. Contudo, no TQP, os grupos tratados exibiram melhora significativa na consolidação da memória. De modo análogo ao presente estudo, embora não tenha havido diferença estatística nos parâmetros de TQP, os animais dos grupos G3 e G4 apresentaram desempenho superior.

8. CONCLUSÃO

A análise dos resultados sugere que o protocolo de estresse crônico moderado tendeu a induzir alterações comportamentais de ansiedade na prole. No entanto, o tratamento com o óleo *full spectrum* à base de cannabis na dosagem de 10mg/kg não se mostrou eficaz na reversão desses comportamentos ansiosos na presença de estresse.

Em relação à depressão, conclui-se que são necessários mais estudos com óleos integrais de cannabis em diferentes concentrações para determinar a faixa de ação ideal para transtornos depressivos. A mesma premissa se aplica aos déficits de memória, onde foram observadas apenas tendências. Mais pesquisas sobre canabinoides combinados e o tratamento crônico da memória seriam benéficas para entender a ação do tratamento em estruturas da formação hipocampal.

9. REFERÊNCIAS

- AGUILAR-VALLES, A. et al. Analysis of the Stress Response in Rats Trained in the Water-Maze: Differential Expression of Corticotropin-Releasing Hormone, CRH-R1, Glucocorticoid Receptors and Brain-Derived Neurotrophic Factor in Limbic Regions. **Neuroendocrinology**, v. 82, n. 5-6, p. 306–319, 2005.
- AKIL, H. et al. Treatment resistant depression: A multi-scale, systems biology approach. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 84, n. 84, p. 272–288, 1 jan. 2018.
- ANTONIUK, S. et al. Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 99, p. 101–116, abr. 2019.
- BERRY, M. S.; ZUCKER, I. Sex differences in anxiety and depression: insights from adult rodent models. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 19, p. 1-16, 2025.
- BHUNIA, S. et al. Cannabidiol for neurodegenerative disorders: A comprehensive review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 25 out. 2022.
- BITENCOURT, R. M.; TAKAHASHI, R. N. Cannabidiol as a Therapeutic Alternative for Post-traumatic Stress Disorder: From Bench Research to Confirmation in Human Trials. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, 24 jul. 2018.
- BLOKLAND, A.; PRICKAERTS, J.; RAAIJMAKERS, W. Reduced level of anxiety in adult Lewis rats after chronic ethanol consumption. **Physiology & Behavior**, v. 51, n. 2, p. 245–248, fev. 1992.

BOND, N. W.; DIGIUSTO, E. L. Changes in Open-Field Behavior following Short-Term Alcohol Ingestion by Rats. **Psychological Reports**, v. 37, n. 2, p. 575–578, out. 1975.

CAMPOS, A. C. et al. The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 16, n. 6, p. 1407–1419, 1 jul. 2013.

CARNEIRO, E. et al. Mice Cohabiting With Familiar Conspecific in Chronic Stress Condition Exhibit Methamphetamine-Induced Locomotor Sensitization and Augmented Consolation Behavior. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 16, 18 abr. 2022.

CHEN, J. et al. Protective effect of cannabidiol on hydrogen peroxide-induced apoptosis, inflammation and oxidative stress in nucleus pulposus cells. **Molecular Medicine Reports**, v. 14, n. 3, p. 2321–2327, 13 jul. 2016.

CHEN, Z. et al. Saffron essential oil ameliorates CUMS-induced depression-like behavior in mice via the MAPK-CREB1-BDNF signaling pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 115719, set. 2022.

CHILDS, E.; LUTZ, J. A.; DE WIT, H. Dose-related effects of delta-9-THC on emotional responses to acute psychosocial stress. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 177, p. 136–144, 2017.

DA SILVA, G. E.; TAKAHASHI, R. N. SR 141716A prevents Δ^9 -tetrahydrocannabinol-induced spatial learning deficit in a Morris-type water maze in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 26, n. 2, p. 321–325, 17 dez. 2001.

DEGRAVE, V. et al. Effects of Full-Spectrum Cannabis Oil with a Cannabidiol:Tetrahydrocannabinol 2:1 Ratio on the Mechanisms Involved in Hepatic Steatosis and Oxidative Stress in Rats Fed a Sucrose-Rich Diet. **Medical Cannabis and Cannabinoids**, v. 6, n. 1, p. 170–183, 15 nov. 2023.

Depressão - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/depressao>>. Acesso em: 31/03/2024

DLUGOSZ, L.; SCOTT, B. W.; MCINTYRE BURNHAM, W. The effects of cannabidiol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, and combinations of cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in the open field test and forced swim test. **Clinical Neurophysiology**, v. 132, n. 9, p. e6, set. 2021.

ENGELMANN, M. et al. Effects of Morris water maze testing on the neuroendocrine stress response and intrahypothalamic release of vasopressin and oxytocin in the rat. **Hormones and Behavior**, v. 50, n. 3, p. 496–501, set. 2006.

ESPEJO-PORRAS, F. et al. Motor effects of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol that are mediated by 5-HT_{1A} receptors. **Neuropharmacology**, v. 75, p. 155–163, dez. 2013.

FLIEGEL, D. K.; LICHENSTEIN, S. D. Systematic literature review of human studies assessing the efficacy of cannabidiol for social anxiety. **Psychiatry Research Communications**, v. 2, n. 4, p. 100074, dez. 2022.

FRANCIS, D. Stress-induced disturbances in Morris water-maze performance: Interstrain variability. **Physiology & Behavior**, v. 58, n. 1, p. 57–65, jul. 1995.

G. S. et al. Safety and efficacy of low-dose medical cannabis oils in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 48, p. 102708, fev. 2021.

GÁLL, Z. et al. Effects of Chronic Cannabidiol Treatment in the Rat Chronic Unpredictable Mild Stress Model of Depression. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 801, 22 maio 2020.

GOUIRAND, A. M.; MATUSZEWICH, L. The effects of chronic unpredictable stress on male rats in the water maze. **Physiology & Behavior**, v. 86, n. 1-2, p. 21–31, set. 2005.

GRINSPOON, P. The endocannabinoid system: Essential and mysterious. Disponível em: <<https://www.health.harvard.edu/blog/the-endocannabinoid-system-essential-and-mysterious-202108112569>>.

GÜLCK, T.; LINDBERG MØLLER, B. Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 10, p. 985–1004, 1 out. 2020.

HASBI, A.; MADRAS, B. K.; GEORGE, S. R. Endocannabinoid System and Exogenous Cannabinoids in Depression and Anxiety: A Review. **Brain Sciences**, v. 13, n. 2, p. 325, 14 fev. 2023.

HERSELMAN, M. F. et al. Sex-Dependent Effects of Chronic Restraint Stress on Mood-Related Behaviours and Neurochemistry in Mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 12, p. 10353, 19 jun. 2023.

HILL, M. R. et al. Prolonged cannabinoid treatment results in spatial working memory deficits and impaired long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus in vivo. **European Journal of Neuroscience**. V. 20, n. 3, p. 859–863, 1 ago. 2004.

HUYNH, T. N. et al. Sex differences and phase of light cycle modify chronic stress effects on anxiety and depressive-like behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 222, n. 1, p. 212–222, set. 2011.

IMHOF, J. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. **Behavioural Brain Research**, v. 56, n. 2, p. 177–180, 30 set. 1993.

ISINGRINI, E. et al. Association between Repeated Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) Procedures with a High Fat Diet: A Model of Fluoxetine Resistance in Mice. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, p. e10404, 28 abr. 2010.

IVERSEN, L. L. The science of marijuana, 2nd ed. New York: **Oxford University Press**, 2008.

JASTRZĘBSKA-WIĘSEK, M. et al. Activity of Serotonin 5-HT_{1A} Receptor Biased Agonists in Rat: Anxiolytic and Antidepressant-like properties. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 9, n. 5, p. 1040–1050, 21 dez. 2017.

JÎTCĂ, G.; STOICESCU, R.; MÁJAI, E. Cannabidiol Treatment in a Predator-Based Animal Model of PTSD: Assessing Oxidative Stress and Memory Performance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 10, p. 4491, 8 maio 2025.

JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J.; PARIANTE, C. M. [The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression. **Revista Brasileira De Psiquiatria** (Sao Paulo, Brazil: 1999), v. 26, n. 3, p. 189–201, 1 set. 2004.

JUSZCZYK, G. et al. Chronic Stress and Oxidative Stress as Common Factors of the Pathogenesis of Depression and Alzheimer's Disease: The Role of Antioxidants in Prevention and Treatment. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1439, 9 set. 2021.

KAPLAN, J. S. et al. Cannabidiol Exposure During the Mouse Adolescent Period Is Without Harmful Behavioral Effects on Locomotor Activity, Anxiety, and Spatial Memory. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 15, 26 ago. 2021.

LEI, Ai et al. Chronic stress-associated depressive disorders: the impact of HPA axis dysregulation and neuroinflammation on the hippocampus—a mini review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 7, p. 2940, 2025.

MARIEB, E. N.; WILHELM, P. B; MALLATT, J. Anatomia humana. 7. ed. São Paulo: **Pearson Education do Brasil**, 2014.

MENDONÇA DE ASSIS, P. et al. Broad-spectrum Cannabis oil alleviates behavioral symptoms associated with stress-related anxiety and depression in mice. **Pharmaceutical Sciences**, 13 set. 2021.

MOREIRA, F. A.; AGUIAR, D. C.; GUIMARÃES, F. S. Reduced anxiety-like behaviour induced by genetic and pharmacological inhibition of the endocannabinoid-degrading enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH). **Neuropharmacology**, v. 54, n. 1, p. 141–150, 2008.

MORRIS, R. G. M. et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. **Nature**, v. 297, n. 5868, p. 681–683, jun. 1982.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). WHO Special Initiative for Mental Health: expanding access to mental health services — treatment gap remains at 85% globally. Genebra: **OMS**; atualização em 2024. Disponível em: Site da Organização Mundial da Saúde;

OSBORNE, A. L. et al. Improved Social Interaction, Recognition and Working Memory with Cannabidiol Treatment in a Prenatal Infection (poly I:C) Rat Model. **Neuropsychopharmacology**, v. 42, n. 7, p. 1447–1457, 23 fev. 2017.

PATEL, S.; HILLARD, C. J. Role of endocannabinoid signaling in anxiety and depression. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 1, p. 347–371, 2009.

PELLOW, S.; FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 24, n. 3, p. 525–529, mar. 1986.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n. 1–3, p. 3–33, 2003.

PUSPITA, L.; CHUNG, S. Y.; SHIM, J. Oxidative stress and cellular pathologies in Parkinson's disease. **Molecular Brain**, v. 10, n. 1, 28 nov. 2017.

RAISON, C. L.; CAPURON, L.; MILLER, A. H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. **Trends in Immunology**, v. 27, n. 1, p. 24–31, jan. 2006.

RAPUANO, K. et al. Neuroticism and the dynamic interplay between anticipation, anxiety, and exploratory behavior: Evidence from behavior and functional connectivity in mice. **Behavioral Brain Research**, v. 382, 112508, 2020.

REY, A. A. et al. Biphasic effects of cannabinoids in anxiety responses: CB1 and GABA(B) receptors in the balance of GABAergic and glutamatergic neurotransmission. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 12, p. 2624–2634, 2012. DOI: 10.1038/npp.2012.123.;

ROSA, P. B. et al. Folic acid prevents depressive-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 127, p. 1–6, 1 dez. 2014.

RUSSO, E.; GUY, G. W. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **Medical hypotheses**, v. 66, n. 2, p. 234–46, 2006.

SABBAG, T.; KRITMAN, M.; IRIT AKIRAV. Cannabidiol Effects on Depressive-like Behavior and Neuroinflammation in Female Rats Exposed to High-Fat Diet and Unpredictable Chronic Mild Stress. **Cells**, v. 14, n. 12, p. 938–938, 19 jun. 2025.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v. 138, p. 32, 1936.

SCHERMA, M. et al. New Perspectives on the Use of Cannabis in the Treatment of Psychiatric Disorders. **Medicines**, v. 5, n. 4, p. 107, 2 out. 2018.

SCHLEICHER, E. M. et al. Prolonged Cannabidiol Treatment Lacks on Detrimental Effects on Memory, Motor Performance and Anxiety in C57BL/6J Mice. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 13, 7 maio 2019.

SEIBENHENER, M. L.; WOOTEN, M. C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 52434, 6 fev. 2015.

SEKHARA, C.; PHANI KUMAR KOLA. Elevated Plus Maze for Assessment of Anxiety and Memory in Rodents. **Methods in Molecular Biology**, v. 2761, p. 93–96, 1 jan. 2024.

SHARPE, L. et al. Cannabis, a cause for anxiety? A critical appraisal of the anxiogenic and anxiolytic properties. **Journal of Translational Medicine**, v. 18, n. 1, 2 out. 2020.

SHEN, B. et al. Medicinal cannabis oil improves anxiety-like and depressive-like behaviors in CCS mice via the BDNF/TRPC6 signaling pathway. **Behavioural Brain Research**, v. 467, p. 115005, 5 jun. 2024.

SILVA, M. R. et al. Efficacy of full-spectrum cannabis extracts in treating mood disorders in rodents: dose-response and behavioral outcomes. **Journal of Psychopharmacology**, v. 36, n. 8, p. 975-988, 2022.

TODD, S. M.; ARNOLD, J. C. Neural correlates of interactions between cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice: implications for medical cannabis. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 1, p. 53–65, 18 nov. 2015.

VORHEES, C. V.; WILLIAMS, M. T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. **Nature Protocols**, v. 1, n. 2, p. 848–858, 27 jul. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depressive Disorder (depression). Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>.

Wuwongse, S.; Cheng, S.S.; Wong, G.T.; Hung, C.H.; Zhang, N.Q.; Ho, Y.S.; Law, A.C.; Chang, R.C. Effects of corticosterone and amyloid-beta on proteins essential for synaptic function: Implications for depression and Alzheimer's disease. **Biochim. Biophys Acta** 2013, 1832, 2245–2256.

XU, C. et al. Pharmacokinetics of oral and intravenous cannabidiol and its antidepressant-like effects in chronic mild stress mouse model. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 70, p. 103202, ago. 2019.

YALCIN, I.; AKSU, F.; BELZUNG, C. Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. **European Journal of Pharmacology**, v. 514, n. 2-3, p. 165–174, maio 2005.

YAN, H.-C. et al. Behavioral animal models of depression. **Neuroscience Bulletin**, v. 26, n. 4, p. 327–337, ago. 2010.

YANKELEVITCH-YAHAV, R. et al. The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2, n. 97, 2 mar. 2015.

YAMATO, K. et al. Study on Antidepressant-Like Effects of Radon Inhalation on Forced Swim Induced Depression in Mice. **RADIOISOTOPES**, v. 65, n. 12, p. 493–506, 1 jan. 2016.