

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LAURA BORGES GOMES

**Avaliação dos Efeitos Neuroprotetores dos Canabinoides Presentes no Óleo
Integral de *Cannabis sativa* Sobre os Prejuízos Relacionados à Memória em
Camundongas C57BL/6 Submetidas a Protocolos de Estresse Crônico.**

Uberlândia

2025

LAURA BORGES GOMES

**Avaliação dos Efeitos Neuroprotetores dos Canabinoides Presentes no Óleo
Integral de *Cannabis sativa* Sobre os Prejuízos Relacionados à Memória em
Camundongas C57BL/6 Submetidas a Protocolos de Estresse Crônico.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
licenciatura em Ciências Biológicas

Orientadora: Profa. Dra. Erika Renata
Barbosa Neiro

Uberlândia

2025

LAURA BORGES GOMES

Avaliação dos Efeitos Neuroprotetores dos Canabinoides Presentes no Óleo Integral de *Cannabis sativa* Sobre os Prejuízos Relacionados à Memória em Camundongos C57BL/6 Submetidas a Protocolos de Estresse Crônico.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
licenciatura em Ciências Biológicas

Orientadora: Profa. Dra. Erika Renata
Barbosa Neiro

Uberlândia, 12 de setembro de 2025

Banca Examinadora:

Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini – Professora do Magistério Superior (UFU)

Érika Renata Barbosa Neiro – Professora do Magistério Superior (UFU)

Rener Mateus Francisco Duarte – Mestre em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas (UFU) e
Doutorando em Biotecnologia (UFAL)

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

G633 2025	Gomes, Laura Borges, 2002- Avaliação dos Efeitos Neuroprotetores dos Canabinoides Presentes no Óleo Integral de Cannabis sativa Sobre os Prejuízos Relacionados à Memória em Camundongos C57BL/6 Submetidas a Protocolos de Estresse Crônico. [recurso eletrônico] : - / Laura Borges Gomes. - 2025. Orientadora: Erika Renata Barbosa Neiro. Coorientador: - - . Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Ciências Biológicas. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Biologia. I. Neiro, Erika Renata Barbosa, 1971-, (Orient.). II. -, -, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título. CDU: 573
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por abrir caminhos, iluminar minha trajetória e colocar pessoas incríveis para compartilhar a vida comigo.

À minha mãe, que sempre me ensinou que minha maior prioridade deveria ser estudar — conselho que segui desde cedo, mesmo antes de compreender sua dimensão, e que hoje reconheço como o maior presente. Sou imensamente privilegiada por ter alguém que lutou tanto pela minha educação. Amo você “tantão”.

Aos meus avós, pelo apoio essencial em minha mudança e ingresso na universidade

À Universidade Federal de Uberlândia, que me proporcionou acesso ao ensino superior por meio dos auxílios estudantis. Viva a universidade pública!

Ao curso de Ciências Biológicas, que me presenteou com algumas das pessoas mais importantes da minha vida.

Às minhas amigas Tainá, Emylie, Heloísa, Mariana e Isabela, por me ouvirem, apoiarem e incentivarem nos momentos difíceis, e por estarem presentes tanto nas comemorações quanto nas lamentações. Amo vocês com todo o meu coração.

Ao Gabriel, meu melhor amigo e minha cara metade, que me apresentou à área e ao laboratório. Obrigada por estar comigo em aulas, cursos, congressos, protocolos e noites de escrita, por me ensinar e me amparar em todos os momentos deste projeto — e também em todos os momentos da minha vida desde que chegou.

Ao meu companheiro Thomas, pelo apoio constante, incentivo, cuidado e amor ao longo de toda essa reta final.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Érika Renata Barbosa Neiro, que despertou em mim a paixão pela neurofisiologia em suas aulas e me acolheu em seu laboratório, tornando possível o desenvolvimento deste trabalho.

À Sandra Klein, pela disponibilidade e ajuda constante.

Ao REBIR, que possibilitou a execução da pesquisa, e a toda a equipe sempre atenciosa e solícita. Mariane e Loyane, obrigada por tudo!

Ao Prof. Dr. Kleber Del-Claro, meu primeiro orientador, que abriu as portas da pesquisa para mim, me recebeu de coração aberto e me deu a oportunidade de iniciar este caminho, compreendendo minhas dificuldades e incentivando meu crescimento. Sou profundamente grata pelas “minhas borboletas” e por todo o apoio durante esta trajetória.

À Iasmim, que me ensinou, guiou e aconselhou com paciência e dedicação, especialmente quando ainda não tinha experiência alguma. Sua presença e coorientação foram fundamentais para que eu pudesse evoluir neste percurso acadêmico.

À banca examinadora pela disponibilidade, leitura e colaboração para este trabalho.

RESUMO

O estresse crônico é uma condição prevalente na sociedade contemporânea e representa um importante fator de risco para déficits cognitivos, especialmente de memória, mediados por disfunções do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, estresse oxidativo e neuroinflamação. Apesar do amplo uso de modelos animais para investigar seus mecanismos fisiopatológicos, a maioria dos estudos concentra-se em machos, desconsiderando as flutuações hormonais do ciclo estral em fêmeas. Nesse contexto, fitocanabinoides da *Cannabis sativa* vêm sendo investigados por seus potenciais efeitos neuromoduladores, antioxidantes e anti-inflamatórios. Este estudo avaliou os efeitos do óleo integral de *Cannabis sativa* full spectrum (CFS) sobre a memória espacial de camundongas C57BL/6 submetidas a estresse crônico moderado, considerando o ciclo estral. Os animais (n=29) foram distribuídos em cinco grupos: (G0) estresse + salina; (G1) controle + azeite; (G2) estresse + azeite; (G3) controle + CFS; e (G4) estresse + CFS. O protocolo de estresse moderado consistiu em 14 dias de restrição de movimento (2h/dia) associada à exposição presa-predador (1h/dia). A memória foi avaliada no Labirinto Aquático de Morris (LAM), considerando latência de escape (aquisição) e permanência no quadrante alvo (retenção), e o ciclo estral foi monitorado por citologia vaginal. Os resultados mostraram que os grupos submetidos ao estresse (G0, G2 e G4) não apresentaram déficits de memória, sugerindo resiliência ao protocolo. Contudo, as fêmeas tratadas com CFS em condição basal (G3) exibiram prejuízo na aquisição da memória, enquanto o grupo estresse + CFS (G4) manteve desempenho, indicando um possível efeito bifásico do óleo. A análise do ciclo estral indicou maior latência de escape no diestro; contudo, não permitiu conclusões consistentes. Conclui-se que as fêmeas foram resilientes ao estresse crônico e que o CFS pode comprometer a memória espacial em condições basais, possivelmente devido à presença de Δ^9 -THC, mas não após a exposição ao estresse, sugerindo ação dependente do contexto fisiológico. Esses resultados reforçam a importância de considerar o sexo e o estado hormonal em estudos pré-clínicos sobre estresse e memória.

Palavras-chave: Déficit cognitivos; Memória espacial; Neuromodulação; Ciclo estral; Fitocanabinoides, LAM.

ABSTRACT

Chronic stress is a prevalent condition in contemporary society and represents an important risk factor for cognitive deficits, particularly memory impairments, mediated by dysfunctions of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, oxidative stress, and neuroinflammation. Despite the widespread use of animal models to investigate its pathophysiological mechanisms, most studies focus on males, disregarding the hormonal fluctuations of the estrous cycle in females. In this context, phytocannabinoids from *Cannabis sativa* have been investigated for their potential neuromodulatory, antioxidant, and anti-inflammatory effects. This study evaluated the effects of whole spectrum *Cannabis sativa* oil (CFS) on the spatial memory of C57BL/6 female mice subjected to moderate chronic stress, considering the estrous cycle. Animals (n=29) were distributed into five groups: (G0) stress + saline; (G1) control + olive oil; (G2) stress + olive oil; (G3) control + CFS; and (G4) stress + CFS. The moderate stress protocol consisted of 14 days of movement restriction (2h/day) combined with predator-prey exposure (1h/day). Memory was assessed in the Morris Water Maze (MWM), considering escape latency (acquisition) and time spent in the target quadrant (retention), and the estrous cycle was monitored by vaginal cytology. The results showed that the stressed groups (G0, G2, and G4) did not present memory deficits, suggesting resilience to the protocol. However, females treated with CFS under basal conditions (G3) exhibited impaired memory acquisition, whereas the stress + CFS group (G4) maintained performance, indicating a possible biphasic effect of the oil. Estrous cycle analysis indicated longer escape latency in diestrus; however, no consistent conclusions could be drawn. In conclusion, females were resilient to chronic stress, and CFS may impair spatial memory under basal conditions, possibly due to the presence of Δ^9 -THC, but not after stress exposure, suggesting a context-dependent action. These findings highlight the importance of considering sex and hormonal status in preclinical studies on stress and memory.

Keywords: Cognitive deficits; Spatial memory; Neuromodulation; Estrous cycle; Phytocannabinoids; MWM.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema integrado da cascata fisiológica do estresse crônico e seus efeitos no cérebro.....	13
Figura 2. Principais canabinoides identificados na <i>Cannabis sativa</i> e seus potenciais efeitos terapêuticos.....	16
Figura 3. Estruturas químicas dos principais fitocannabinoides estudados.....	17
Figura 4. Esquema dos receptores CB1 e CB2 no sistema endocanabinoide.....	17
Figura 5. Indicações terapêuticas promissoras do CBD.....	18
Figura 6. Camundonga da linhagem C57BL/6.....	21
Figura 7. Caixas isoladas com sistema de exaustão que controla o fluxo de ar (REBIR - UFU).....	21
Figura 8. Administração intraperitoneal de azeite de oliva extravirgem (veículo).....	22
Figura 9. Procedimentos de indução de estresse.....	24
Figura 10. Linha do tempo do delineamento experimental	24
Figura 11. Labirinto Aquático de Morris: tanque circular dividido em quatro quadrantes.....	25
Figura 12. Ferramenta de identificação dos estágios do ciclo estral.....	27
Figura 13. Caracterização citológica das fases do ciclo estral em camundongas.....	27
Figura 14. Tempo de latência de escape no Labirinto Aquático de Morris (P86).....	29
Figura 15. Tempo de permanência no quadrante alvo no Labirinto Aquático de Morris (P87).....	29
Figura 16. Citologia do lavado vaginal em diferentes fases do ciclo estral.....	30
Figura 17. Latência média de escape no teste de memória espacial em função da fase do ciclo estral, protocolo e tratamento.....	32
Figura 18. Tempo de permanência médio por tratamento, protocolo e fase do ciclo estral....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da latência de escape por protocolo, tratamento e fase do ciclo estral..... 32

Tabela 2 - Resumo da porcentagem de permanência no quadrante por protocolo, tratamento e fase do ciclo estral.....34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT1A – Receptor serotoninérgico 1A

A β – Peptídeo amiloide- β

ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico

ALEs – Produtos finais de lipoxidação

ATP – Trifosfato de adenosina

BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (*Brain-derived neurotrophic factor*)

CB1 – Receptor canabinoide tipo 1

CB2 – Receptor canabinoide tipo 2

CBC – Canabicromeno

CBCA – Ácido canabicromênico

CBD – Canabidiol

CBDA – Ácido canabidiólico

CBDV – Canabidivarina

CBG – Canabigerol

CBGA – Ácido canabigerólico

CBGV – Canabigerovarina

CBN – Canabinol

CAT – Catalase

CFS – Óleo de *Cannabis sativa full spectrum*

CRH – Hormônio liberador de corticotropina

DA – Doença de Alzheimer

E2 – 17 β -estradiol

ECM – Estresse Crônico Moderado

EO – Estresse oxidativo

EPM – Erro Padrão da Média

EROs – Espécies reativas de oxigênio

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GPCR – Receptor acoplado à proteína G (*G protein-coupled receptor*)

GPx – Glutathione peroxidase

HHA – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

IL-6 – Interleucina 6
IL-12 – Interleucina 12
IL-18 – Interleucina 18
LAM – Labirinto Aquático de Morris
LCE – Labirinto em Cruz Elevado
MDA – Malondialdeído
SOD – Superóxido dismutase
TDAH – Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
TEPT – Transtorno de Estresse Pós-Traumático
TGF- β – Fator de transformação do crescimento β
THC – Δ 9-tetraidrocanabinol
THCA – Ácido tetraidrocanabinólico
THCV – Tetraidrocanabivarina
TLE – Tempo de Latência de Escape
TNF – Teste de natação forçada
TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa
TPS – Teste de preferência por sacarose
TQP – Tempo no Quadrante da Plataforma
TRPV1 – Receptor vaniloide tipo 1
UFU – Universidade Federal de Uberlândia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	19
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivos Gerais	20
3.2 Objetivos Específicos	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 Animais Experimentais	20
4.2 Tratamentos	22
4.3 Delineamento Experimental	23
4.4 Teste Comportamental	25
4.5 Ciclo Estral	26
4.6 Análise Estatística	28
5. RESULTADOS	28
5.1 Teste Comportamental	28
5.2 Ciclo Estral	30
6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÃO.....	37
7 REFERÊNCIAS	37

1.INTRODUÇÃO

Vivenciar situações de estresse tornou-se um aspecto recorrente da vida moderna, afetando uma parcela significativa da população diariamente (Li et al., 2025). O estresse é uma resposta fisiológica natural do organismo a estímulos potencialmente ameaçadores. Em situações agudas, pode exercer efeitos benéficos, como a melhora do desempenho da memória, o aumento da proliferação celular no hipocampo e a estimulação da neurogênese. No entanto, quando se torna crônico, seus efeitos tendem a ser prejudiciais (Wong, 2004). O estresse prolongado contribui para o desenvolvimento de diversos problemas de saúde, especialmente distúrbios psiquiátricos, como ansiedade e depressão, além de prejuízos cognitivos, como perda de memória e dificuldades de aprendizagem (Fontana, 1994; Lupien et al., 2009).

Evidências indicam que a exposição prolongada a situações estressoras compromete o funcionamento dos sistemas imunológico e endócrino, suprime a neurogênese e interfere negativamente na neurotransmissão (McEwen, 1998; Baghya et al., 2016). Essas alterações têm sido associadas ao desenvolvimento de distúrbios neurológicos, incluindo esquizofrenia, acidente cerebrovascular e doenças neurodegenerativas (Esch et al., 2002; Cohen et al., 2007).

Diversos estudos demonstram que o estresse crônico desencadeia uma cascata hormonal mediada pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), cuja hiperativação resulta na produção excessiva de cortisol (Johnson et al., 1992; Alzoubi et al., 2018) (Figura 1). Quando ocorre esse desequilíbrio, o hipotálamo libera quantidades elevadas do hormônio liberador de corticotropina (CRH), que estimula a hipófise anterior a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH, por sua vez, atua sobre as glândulas adrenais, promovendo a liberação exacerbada de cortisol (Rivier, Rivier e Vale, 1982; Dastgerdi et al., 2020).

Como consequência dessa liberação exacerbada de cortisol, diversas estruturas cerebrais podem ser comprometidas, como o hipocampo (Justice, 2018), córtex pré-frontal (McEwen, 2007), amígdala (McEwen, 2006), estriado dorsal (Dias-Ferreira, 2009), núcleo accumbens (Kalivas & Duffy, 1995), núcleo da estria terminal (Erb & Stewart, 1990) e tronco encefálico (Chappel et al., 1986). Nesse contexto, evidências apontam que o estresse crônico exerce efeitos negativos sobre diferentes domínios cognitivos, incluindo a memória, a aprendizagem, a cognição social e a função emocional (Zain, 2019).

Adicionalmente, níveis elevados e prolongados de cortisol podem desencadear a hiperprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs), frequentemente excedendo a capacidade do sistema antioxidante endógeno, o que leva ao desenvolvimento de estresse oxidativo (EO) (Juszczyk et al., 2021; Praticò, 2008)(Figura 1). Entre os principais componentes desse sistema de defesa estão enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), a glutathione peroxidase (GPx) e a catalase (CAT), que atuam neutralizando os radicais livres e prevenindo danos celulares (Aguilar et al., 2016). A ação protetora destes antioxidantes no organismo pode ser classificada em três mecanismos principais: (1) inibição da formação de novos radicais livres, principalmente por meio da ação da SOD e da CAT; (2) neutralização de radicais livres já existentes, impedindo reações em cadeia — processo mediado por moléculas como os carotenóides e as vitaminas C e E; e (3) reparo dos danos celulares causados pelas EROs, envolvendo enzimas como lipases e proteases (Juszczyk et al., 2021; Neha et al., 2019).

Esse excesso de radicais livres exerce efeitos deletérios sobre diversos componentes celulares, incluindo ácidos nucleicos e lipídios, promovendo a redução nos níveis de ATP (Adenosina Trifosfato) e das concentrações de glutathione (Herbert et al., 2018). Além disso, as EROs atacam biomembranas, desencadeando uma reação em cadeia de peroxidação lipídica que pode culminar em diferentes tipos de morte celular, como apoptose, autofagia e ferroptose (Li et al., 2018). O EO também eleva os níveis de malondialdeído (MDA), subproduto da oxidação de ácidos graxos, que contribui para a formação de produtos finais de lipoxidação (ALEs), os quais comprometem ainda mais as defesas antioxidantes do organismo — fenômeno observado em pacientes com diagnóstico de depressão (Galecki et al., 2009).

Além dos danos celulares, o estresse oxidativo tem sido implicado na patogênese de doenças neurodegenerativas. Durante o EO, ocorre também a formação de placas de peptídeos amiloide- β oligoméricos ($A\beta$) e de emaranhados neurofibrilares, eventos associados ao comprometimento da memória (Green et al., 2006). Ademais, estudos indicam que os níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) são significativamente reduzidos em condições de estresse oxidativo. O BDNF desempenha papel essencial na plasticidade sináptica e na consolidação da memória, tanto em condições fisiológicas normais (Alnos et al., 2002) quanto comprometidas (Kiprianova et al., 1999). Além disso, ele participa da mediação da formação de novas conexões dopaminérgicas, serotoninérgicas, noradrenérgicas e colinérgicas (Trzeciak & Herbert, 2024).

Paralelamente aos efeitos do EO, há evidências crescentes de que o estresse crônico também promove neuroinflamação, mediada principalmente pela ativação crônica da microglia

(Figura 1). Esse processo desencadeia respostas inflamatórias no encéfalo, comprometendo os papéis de suporte sináptico e contribuindo para a deterioração cognitiva relacionada à idade, como observado na Doença de Alzheimer (DA), Doença de Parkinson e demência associada ao HIV (Wang et al., 2019; Wu et al., 2024). A ativação excessiva resulta na secreção de marcadores inflamatórios como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), o fator de transformação do crescimento β (TGF- β) e as interleucinas 6 (IL-6), 12 (IL-12) e 18 (IL-18) (Herbet & Lucassen, 2016) (Figura 1).

Nesse cenário, o hipocampo destaca-se como uma das estruturas mais vulneráveis aos efeitos do estresse crônico (Figura 1). Trata-se de uma região fundamental para os processos de aprendizagem e memória. Além de sua participação na função cognitiva, exerce papel no controle de funções autônomas e vegetativas, incluindo a regulação da secreção de ACTH (Jacobson & Sapolsky, 1991; Gazzaley et al., 1996). A exposição prolongada do hipocampo às corticotropinas causa danos às suas células, resultando em redução do seu volume (McEwen & Magariños, 2001; Justice, 2018), prejuízos à neurogênese e redução das ramificações dendríticas (Pawlak et al., 2005). Como consequência, observa-se disfunção cognitiva e comprometimento da memória dependente do hipocampo (Seib & Martin-Villalba, 2015) (Figura 1).

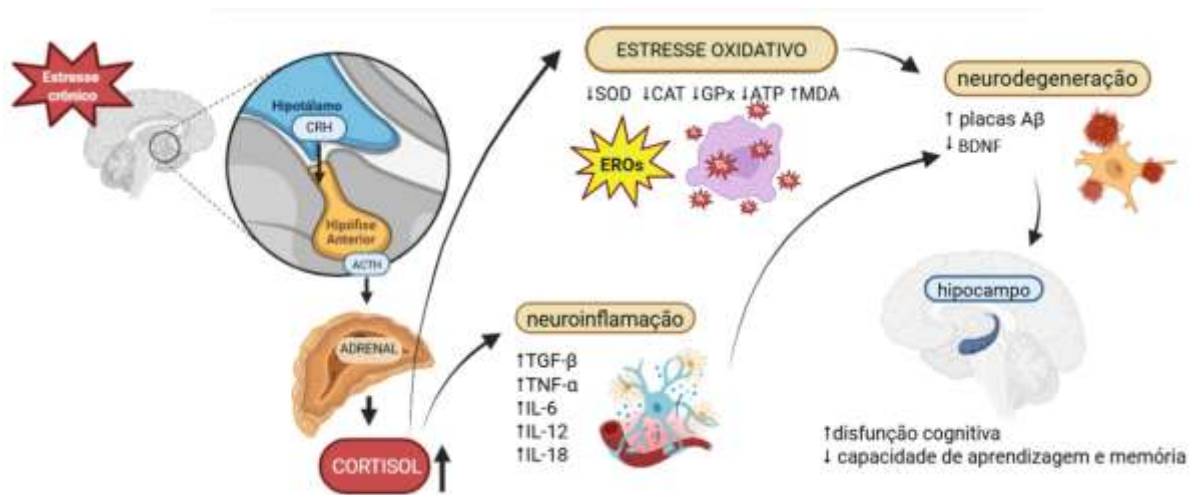


Figura 1. Esquema integrado da cascata fisiológica do estresse crônico e seus efeitos no cérebro. A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) eleva os níveis de cortisol, desencadeando estresse oxidativo — caracterizado pela redução das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutational peroxidase (GPx), redução do ATP e aumento do malondialdeído (MDA). Paralelamente, ocorre neuroinflamação

com elevação das citocinas pró-inflamatórias TGF- β , TNF- α , IL-6, IL-12 e IL-18. Esses eventos promovem neurodegeneração, evidenciada pelo acúmulo de placas de β -amiloide (A β) e pela diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo, culminando em disfunção cognitiva e prejuízo na aprendizagem e memória. Fonte: Elaborado pela autora através do Software Biorender, 2025.

Estudos indicam que a atrofia do hipocampo humano é frequentemente observada em condições como síndrome de Cushing (Starkman et al., 1992), depressão recorrente (Duman et al., 2000), transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) (Sapolsky, 1992), esquizofrenia (Goldman & Mitchell, 2004) e demência (Sheline et al., 1996, 1999). A diversidade de distúrbios associados a essa atrofia levanta a hipótese da existência de mecanismos fisiopatológicos comuns subjacentes. Nesse contexto, modelos animais de indução de estresse crônico têm sido amplamente utilizados para elucidar os efeitos do estresse prolongado sobre o comprometimento de memória, bem como sobre a estrutura e função do hipocampo (Pawlak et al., 2005; Walesiuk & Braszko, 2009; Cuadrado-Tejedor et al., 2011).

Apesar dos avanços obtidos por meio desses modelos, a maioria dos estudos experimentais em roedores foi conduzido com animais machos. Estudos com fêmeas têm se concentrado, principalmente, em protocolos que envolvem instabilidade social (Herzog et al., 2009), isolamento (Palanza, 2001; Smith et al., 2011), separação materna (Hill et al., 2014; Llorente et al., 2011) ou estressores imprevisíveis (Grassi et al., 2014; McFadden et al., 2011). Há, portanto, uma lacuna importante na formulação de modelos que representem, de forma realista, os comportamentos associados à depressão, ansiedade e déficits de memória em fêmeas submetidas ao estresse (Iñiguez et al., 2018).

A experimentação com fêmeas exige atenção às flutuações hormonais naturais, pois variações nos níveis de estradiol e progesterona influenciam a secreção de corticosterona, o comportamento e o desempenho em tarefas cognitivas. Estudos das últimas décadas demonstraram que os hormônios esteroides sexuais, especialmente o estrogênio 17 β -estradiol (E2), regulam esses processos tanto em fêmeas quanto em machos (Packard, 1998; Luine, 2014). Apesar disso, não há consenso sobre a influência do ciclo estral na cognição. Alguns estudos apontam que o E2 melhora o desempenho em tarefas cognitivas específicas (Conrad, 2004; 2010), enquanto outros argumentam que o ciclo estral não aumenta a variabilidade entre fêmeas e machos (Prendergast BJ, Onishi KG, Zucker I, 2014; Levy et al., 2023; Berry et al., 1997). A utilização de fêmeas com gônadas intactas possibilita a observação dos efeitos hormonais em seu estado fisiológico natural, fornecendo uma base mais adequada de comparação com a literatura predominante baseada em machos (Frick et al., 2015; Pompili et al., 2010).

De fato, a literatura aponta para diferenças sexuais marcantes na resposta ao estresse crônico, sobretudo em tarefas que demandam codificação espacial e localização de objetos (Jonasson, 2005; Luine et al, 2007; Astur; Ortiz; Sutherland, 1998). Em machos adultos, a exposição prolongada ao estresse por contenção (21 dias) está consistentemente associada a prejuízos na memória espacial e de reconhecimento, evidenciados em testes como labirinto radial, labirinto em Y e reconhecimento de objetos (Beck & Luine, 1999; 2002; Conrad et al, 1996; Kitraki et al., 2004). Em contraste, os resultados em fêmeas permanecem controversos: alguns estudos descrevem desempenho preservado (Zain, 2019; Bowman, Ferguson & Luine, 2002) ou até superior ao de controles não estressados (Conrad et al., 2004; Kitraki et al., 2004). McLaughlin et al., 2005), enquanto outros relatam déficits cognitivos (Ma et al, 2023; Hokenson et al., 2021). Essas discrepâncias reforçam a hipótese de que os efeitos do estresse sobre a cognição são multifatoriais e modulados por variáveis como sexo, protocolo experimental e tempo de exposição.

Frente a essa complexa cascata de alterações estruturais, bioquímicas e comportamentais induzidas pelo estresse crônico, torna-se urgente a investigação de terapias com potencial neuroprotetor. Substâncias de origem vegetal vêm ganhando atenção por seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e moduladores da plasticidade neural. A *Cannabis sativa* é uma das plantas medicinais mais antigas conhecidas pela humanidade. Essa espécie contém mais de 500 compostos naturais, incluindo óleos, proteínas, metabólitos e fibras (Papagianni & Stevenson, 2019). Dentre esses, destacam-se os canabinoides, conhecidos por suas propriedades farmacológicas relevantes (Figura 2) . Estudos recentes demonstram que a *Cannabis* possui propriedades analgésicas (Roger et al, 2000), anti-inflamatórias (Liu et al, 2010), ansiolíticas (De Assis et al, 2021), antidepressivas (Sales et al, 2018), anticonvulsivantes (Aquino et al, 2025), antioxidantes (Chen et al, 2016), neuroprotetoras (Lima et al., 2025) antialérgicas (Nuutinen, 2018).

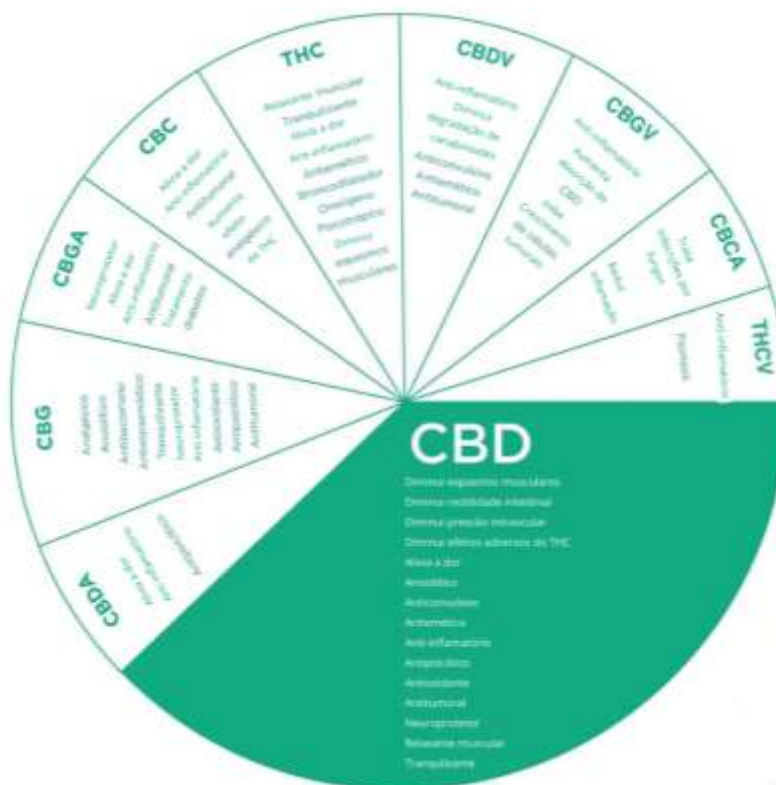


Figura 2. Principais canabinoides identificados na *Cannabis sativa* e seus potenciais efeitos terapêuticos. CBDV – Canabidivarina; CBGV – Canabigerovarina; CBCA – Ácido Canabierômênico; THCV – Tetraidrocanabivarina; CBD – Canabidiol; CBDA – Ácido Canabidiólico; CBG – Canabigerol; CBGA – Ácido Canabigerólico; CBC – Canabierômeno; THC – Tetraidrocanabinol. Fonte: Adaptado de Cannactiva (2025).

Entre os principais fitocanabinoides estudados, destacam-se o Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC), responsável pelos efeitos psicoativos, e o canabidiol (CBD), que não apresenta efeitos psicotomiméticos (Scuderi et al., 2009) (Figura 3). Esses compostos atuam no sistema endocanabinoide, uma rede sinalizadora crucial para a homeostase fisiológica, constituída principalmente pelos receptores canabinoides CB1 e CB2 – ambos membros da família de receptores acoplados à proteína G (GPCR) (Pertwee, 2008, apud Araújo; Almeida; Araújo, 2023). Os receptores CB1, considerados os GPCR mais abundantes no sistema nervoso central (Herkenham et al., 1990), distribuem-se predominantemente em regiões como gânglios da base, cerebelo e hipocampo (Hu & Mackie, 2015), regulando processos como percepção da dor, modulação do humor e consolidação da memória (Hampson & Deadwyler, 1999; Gerdeman et al., 2002; Brunt & Bossong, 2020). Em contrapartida, os CB2 apresentam expressão predominante em células do sistema imunológico, atuando como moduladores-chave da resposta inflamatória (Pertwee, 2008; Howlet, 2002) (Figura 4).

O THC atua como agonista parcial de ambos os receptores, presentes em neurônios GABAérgicos inibitórios e neurônios glutamatérgicos excitatórios, resultando em efeitos psicoativos e anti-inflamatórios (Boggs et al, 2018). O CBD, por sua vez, apresenta baixa afinidade direta por esses receptores (Thomas et al, 2007), modulando sua atividade de forma indireta e atuando ainda em outros alvos moleculares, como receptores de serotonina (5-HT1A) e vaniloides (TRPV1), o que lhe confere propriedades ansiolíticas, analgésicas e anti-inflamatória (Pacher et al., 2020)

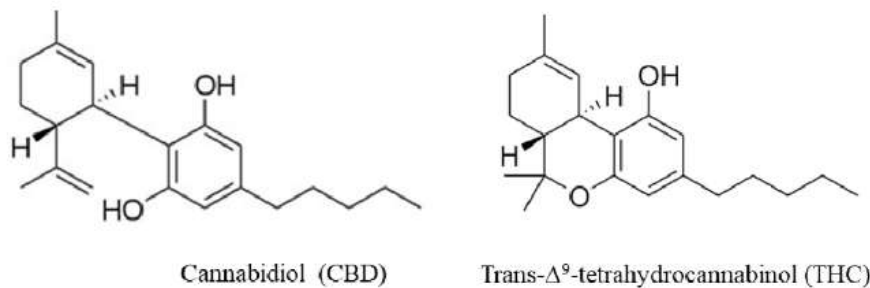


Figura 3. Estruturas químicas dos principais fitocanabinoides estudados. Fonte: Raja et al., 2020.

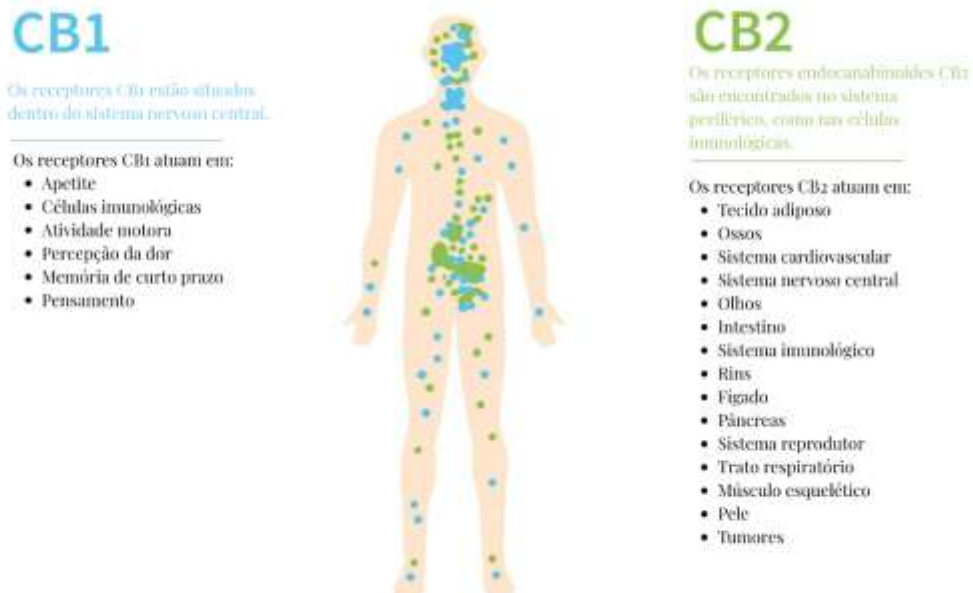


Figura 4. Esquema dos receptores CB1 e CB2 no sistema endocanabinoide. Fonte: Adaptado de Dr Green Relief (2019).

Na última década, o uso terapêutico do CBD tem ganhado destaque como uma abordagem promissora para o tratamento de diversas condições neuropsiquiátricas, incluindo depressão (Shbiro et al., 2019), ansiedade (De Assis et al., 2021), esquizofrenia (Gomes et al., 2015), Doença de Alzheimer (DA) (Cheng et al., 2014), Doença de Parkinson (Lastres-Becker, 2005) e epilepsia (Friedman & Sirven, 2017) (Figura 5). Estudos pré-clínicos diversos têm demonstrado que tratamentos agudos e crônicos com CBD promovem melhorias no reconhecimento, no reconhecimento social e na memória espacial em modelos experimentais de DA (Martín-Moreno et al., 2011; Fagherazzi et al., 2012; Cheng et al., 2014). De modo complementar, Lima et al (2025) evidenciaram que o CBD pode atenuar o desenvolvimento do parkinsonismo induzido por reserpina e proteger contra a perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra, apresentando maior eficácia quando administrado em protocolos preventivos. Esses achados reforçam o potencial terapêutico do CBD, sugerindo que seus efeitos podem ter implicações significativas para o tratamento de doenças neurodegenerativas.



Figura 5. Indicações terapêuticas promissoras do CBD. Ilustração das principais aplicações clínicas em investigação para o canabidiol (CBD), incluindo potenciais usos no tratamento de transtornos de ansiedade, autismo, transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), distúrbios do sono, epilepsia, Doença de Alzheimer, esquizofrenia, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), dor crônica, entre outras condições atualmente em estudo. Fonte: Adaptado de Trojan et al., 2023.

Além dos benefícios observados com o uso isolado do CBD, estudos demonstram que a combinação de THC e CBD apresenta efeito neuroprotetor superior quando comparada à administração isolada de cada composto (Aso et al., 2016; Watt & Karl, 2017). De Assis et al. (2021) demonstraram que a administração oral de óleo de Cannabis com proporção de CBD:THC de 11:1 (0,1 mg/kg) foi capaz de reduzir comportamentos semelhantes à ansiedade

no teste do labirinto em cruz elevado (LCE), além de reverter sinais de desespero e anedonia nos testes de natação forçada (TNF) e de preferência por sacarose (TPS), respectivamente ($p < 0,05$). Esses resultados indicam efeitos ansiolíticos e antidepressivos significativos dessa formulação em modelos murinos de estresse crônico.

De forma complementar, Zorrilla *et al* (2025) evidenciaram que a proporção de 100:1 de CBD:THC exerceu efeitos benéficos sobre alguns dos sintomas mais incômodos relacionados à enxaqueca, em três diferentes modelos murinos, reforçando o potencial terapêutico das formulações com alta concentração de canabidiol. No entanto, apesar desses avanços, ainda se faz necessário compreender os mecanismos moleculares envolvidos, a fim de definir com precisão a dosagem adequada, o tempo de uso e a proporção segura entre THC e CBD antes de iniciar os estudos clínicos.

2. JUSTIFICATIVA

A sociedade contemporânea, marcada pelo crescente estresse social em nível global, evidencia a necessidade urgente de desenvolver intervenções para prevenir os prejuízos à plasticidade sináptica decorrentes do estresse crônico. Essa demanda torna-se ainda mais relevante à medida que se acumulam evidências sobre seus efeitos duradouros na função cerebral, somados ao impacto social e econômico associado ao aumento dos transtornos neuropsiquiátricos na população.

Dessa forma, considerando que o estresse crônico está associado tanto ao comprometimento da memória quanto ao desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos e neurodegenerativos, torna-se imprescindível buscar estratégias capazes de prevenir e tratar tais condições (Girotti; Bulin; Carreno, 2024). Os tratamentos farmacológicos disponíveis, embora úteis, apresentam limitações importantes, pois geralmente se restringem ao alívio dos sintomas e frequentemente acarretam efeitos adversos (Takeda et al, 2006; Stewart, 2005).

Nesse contexto, substâncias com propriedades antioxidantes vêm sendo investigadas como alternativas promissoras. Entre elas, destaca-se o óleo de *Cannabis sativa*, cuja relevância terapêutica tem sido cada vez mais reconhecida. Estudos apontam para seu potencial antioxidante, neuroprotetor, antidepressivo, antipsicótico e ansiolítico, reforçando seu papel como abordagem coadjuvante no enfrentamento dos efeitos do estresse crônico e dos comprometimentos cognitivos a ele associados.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

Avaliar os efeitos neuroprotetores dos canabinoides presentes no óleo integral de *Cannabis sativa* sobre os prejuízos relacionados à memória em camundongas C57BL/6 submetidas a protocolos de estresse crônico moderado (ECM).

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar se o estresse crônico promove alterações na memória, utilizando o Labirinto Aquático de Morris (LAM) como teste comportamental.
- Avaliar a eficácia dos canabinoides presentes no óleo integral de *Cannabis sativa* na reversão de possíveis déficits de memória induzidos pelo estresse crônico.
- Investigar a influência do ciclo estral sobre o desempenho mnêmico das fêmeas nos diferentes grupos experimentais.

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Animais experimentais

Para o presente estudo, foram utilizados 29 fêmeas de camundongos da linhagem C57BL6 (Figura 6), fornecidas e mantidas pela Rede de Biotérios (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), conforme aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo 23117.663/2023-76. A literatura científica consolida a similaridade entre os sistemas fisiológicos de roedores e humanos, tornando os roedores amplamente utilizados em modelos animais para estudos neurocomportamentais e neuropatológicos.

A linhagem C57BL/6 foi escolhida por apresentar bons resultados em estudos comportamentais relacionados a distúrbios neurológicos, como depressão, ansiedade e comprometimento de memória (Patel & Hillard, 2009). Além disso, estudos demonstram uma resposta positiva ao tratamento com canabinoides, com redução de neuroinflamação nessa linhagem (Morii et al., 2016). Os animais foram recebidos após desmame com cerca de 3 semanas e mantidos em ambiente controlado até que atingissem a idade adulta, com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro/escuro de 12 horas, sistema de exaustão para controle do fluxo de ar em caixas isoladas (Figura 7), e acesso *ad libitum* à água filtrada e ração.

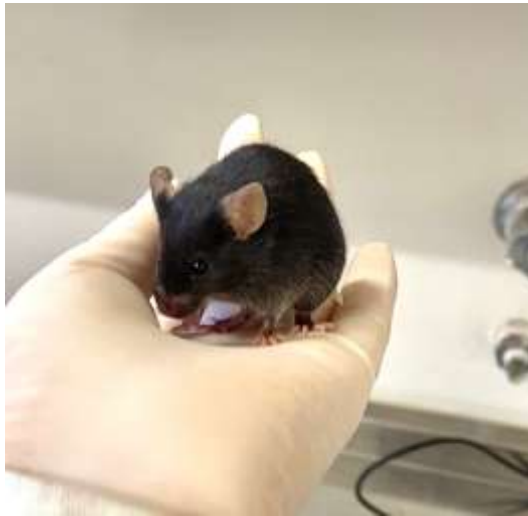


Figura 6. Camundonga da linhagem C57BL/6. Fonte: Imagem autoral, 2024.



Figura 7. Caixas isoladas com sistema de exaustão que controla o fluxo de ar (REBIR – UFU). Fonte: Imagem autoral, 2024.

4.2. Tratamentos

Os animais receberam tratamento com óleo integral de *Cannabis sativa* (full spectrum, 3%), cuja composição, segundo o fabricante, inclui diferentes fitocanabinoides, como canabidiol (CBD), canabinol (CBN), canabicromeno (CBC), tetrahydrocannabinólico (THCA), tetrahydrocannabinavarin (THCV), canabidivarina (CBDV), ácido canabidiólico (CBDA), ácido canabigerólico (CBGA), canabigerol (CBG), ácido canabicromênico (CBCA) e CGCA (Instituto CuraPro, 2022). Contudo, será realizada análise laboratorial específica para confirmar a presença desses compostos e determinar suas respectivas quantidades no extrato utilizado. O óleo utilizado foi adquirido da Linha Curativa do Instituto CuraPro (Mirandópolis, São Paulo, Brasil) e administrado na dose de 10 mg/kg. Como grupos comparativos, foram utilizados azeite de oliva extravirgem (acidez 0,5%; Gallo, Lisboa, Portugal), empregado como veículo, e solução salina 0,9%, utilizada como controle.

Todos os tratamentos foram administrados por via intraperitoneal (i.p.) (Figura 8), uma vez por semana, durante três semanas consecutivas, de acordo com protocolo adaptado de Xu et al. (2019). As aplicações foram realizadas na região inferior direita do abdômen, com a agulha posicionada em ângulo de 45° para acesso ao peritônio.



Figura 8. Administração intraperitoneal de azeite de oliva extravirgem (veículo). Fonte: Imagem autoral, 2024.

4.3 Delineamento experimental

Após o desmame, os animais (n=29) foram divididos em 5 grupos experimentais, sendo eles:

Grupo 0 (G0) (n=6): Protocolo de estresse crônico + tratamento com salina 0,9 % 50μL (i.p.);

Grupo 1 (G1) (n=6): Sem protocolo de estresse crônico + tratamento com azeite de oliva extravirgem 50μL (i.p.);

Grupo 2 (G2) (n=6): Protocolo de estresse crônico + tratamento com azeite de oliva extravirgem (50μL) (i.p.);

Grupo 3 (G3) (n=6): Sem protocolo de estresse crônico + óleo de *Cannabis full spectrum* 10 mg/kg 10 mg/kg (50μL) (i.p.);

Grupo 4 (G4) (n=5): Protocolo de estresse + óleo de *Cannabis full spectrum* 10 mg/kg 10mg/kg (50μL) (i.p.).

O tratamento foi administrado uma vez por semana, durante três semanas, utilizando os seguintes compostos: óleo de Cannabis full spectrum (CFS), azeite de oliva extravirgem ou solução salina a 0,9%. Sete dias após a primeira administração, foi iniciado o protocolo de indução de estresse, no qual os animais foram expostos a situações estressoras crônicas, comumente associadas ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos e déficits de memória relacionados a danos teciduais (Figura 9).

A indução de estresse crônico foi realizada durante 14 dias consecutivos (P68–P81). O paradigma consistiu em: (I) Restrição de movimento: as camundongas foram colocadas em um aparato de acrílico cilíndrico individual, no qual podiam mover apenas a cauda e, de forma limitada, a cabeça, por 2 horas ininterruptas (Figura 9a); seguido de (II) Exposição presa-predador: as camundongas foram colocadas em uma caixa de acrílico com dois compartimentos separados por uma grade, onde foram expostas indiretamente a ratos da linhagem Wistar Hannover por 1 hora ininterrupta (Figura 9b).

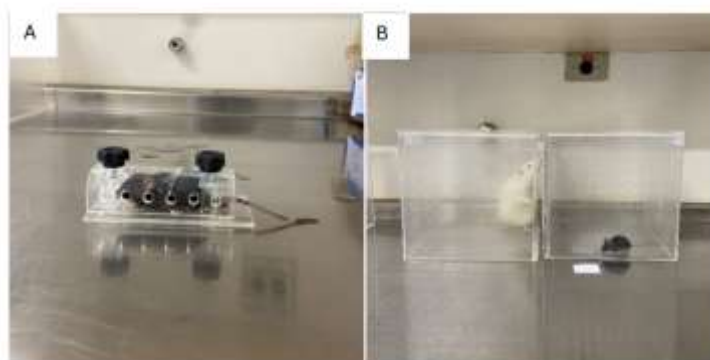


Figura 9. Procedimentos de indução de estresse. **A)** Restrição de Movimento. **B)** Exposição presa-predador.
Fonte: Imagem autoral, 2024.

Após a conclusão dos tratamentos e protocolos de estresse crônico (P81), foi realizado o teste comportamental: Labirinto Aquático de Morris (LAM) (Morris, 1984; Vorhees & Williams, 2006; Chan et al., 2020). Em aproximadamente P90, após a realização dos testes, os animais foram eutanasiados com a administração intraperitoneal de cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg), seguida de deslocamento cervical (Figura 10).

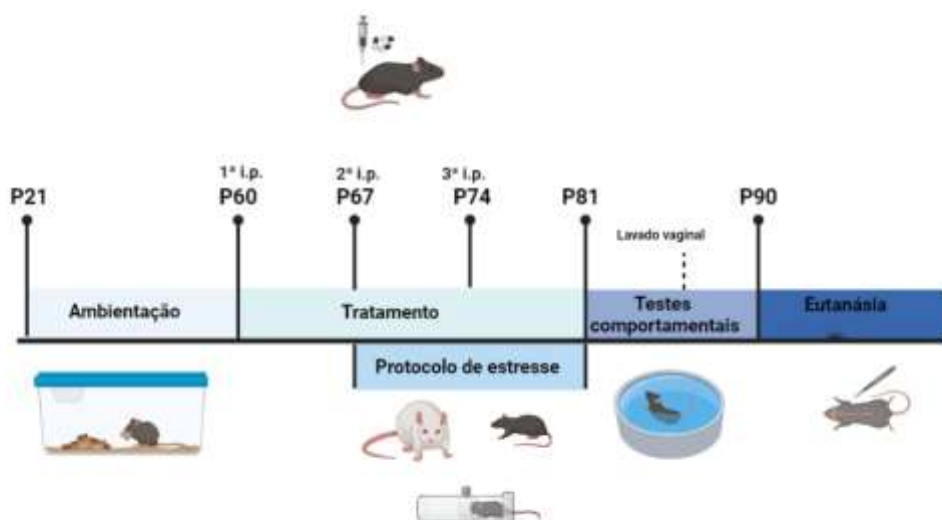


Figura 10. Linha do tempo do delineamento experimental. Fonte: Elaborado pela autora através do Software Biorender, 2024

4.4 Teste Comportamental

A avaliação do desempenho de aquisição e retenção de memória foi realizada por meio do Labirinto Aquático de Morris (LAM) (Morris, 1984), um dos testes mais empregados para investigar déficits relacionados à memória espacial e de trabalho. Para sua realização, os animais foram colocados em um tanque circular (108 cm de diâmetro e 40 cm de profundidade), dividido em quatro quadrantes: Norte (N), Sul (S), Leste (L) e Oeste (O). O tanque foi preenchido com água até o nível de uma plataforma transparente de acrílico (13 cm de diâmetro e 24,5 cm de altura), posicionada logo abaixo da superfície (Figura 11). Essa metodologia foi adaptada do trabalho de Vorhees & Williams (2006). O teste consistiu em três fases:

I) Treinamento: Durante os quatro dias que antecederam o teste, os animais passaram por três sessões de treinamento diárias, iniciando a busca a partir de três quadrantes diferentes. O objetivo era localizar a plataforma em até 90 segundos; caso o camundongo não a encontrasse nesse período, era colocado sobre a plataforma por 30 segundos para memorização.

II) Teste de aquisição: Realizado no quinto dia, esta fase consistiu no registro do tempo de latência de escape (TLE), ou seja, o tempo (em segundos) que o animal levou para encontrar e permanecer na plataforma.

III) Teste de retenção/consolidação: No sexto dia, a plataforma foi retirada e registrou-se o tempo de permanência no quadrante previamente ocupado pela plataforma (TQP) durante 90 segundos, por meio de gravação.



Figura 11. Labirinto Aquático de Morris: tanque circular dividido em quatro quadrantes: Norte (N), Sul (S), Leste (L) e Oeste (O). Plataforma transparente de acrílico localizada no quadrante Sul. Fonte: Imagem autoral, 2024.

4.5. Ciclo estral

A determinação das fases do ciclo estral das camundongas foi realizada por meio de avaliação citológica de lavados vaginais, conforme descrito por McLean et al. (2012), técnica considerada o método mais preciso para o estadiamento reprodutivo (Byers et al., 2012; Caligioni, 2009; Azevedo, 2021). As amostras foram coletadas imediatamente antes de cada teste comportamental, sempre no mesmo horário (entre 10h e 11h), por meio da lavagem do canal vaginal com aproximadamente 100 μ L de água destilada estéril (ddH₂O), utilizando uma ponteira de 200 μ L adaptada com borracha de látex, evitando a penetração no orifício vaginal para não induzir pseudogestação. O líquido coletado foi depositado em lâminas de vidro, seco à temperatura ambiente e posteriormente corado com violeta genciana por um minuto, seguido de duas lavagens com ddH₂O. Por fim, as lâminas foram montadas com glicerol e cobertas com lamínula para análise microscópica.

A análise microscópica foi realizada imediatamente após a coloração, por meio de microscopia de luz, e a fase do ciclo estral foi determinada com base na proporção relativa de células epiteliais nucleadas, células cornificadas e leucócitos (Figura 12). Foram consideradas quatro fases principais: proestro (predomínio de células nucleadas), estro (presença exclusiva de células cornificadas), metaestro (abundância de leucócitos e fragmentos de células cornificadas) e diestro (predomínio de leucócitos com poucas células epiteliais nucleadas e cornificadas) (Figura 13). Esfregaços correspondentes a diestro e metaestro foram agrupados devido à similaridade citológica. Amostras com contaminação urinária evidente foram descartadas e não utilizadas para estadiamento.

A realização do esfregaço é essencial para diferenciar características fisiológicas e respostas entre machos e fêmeas, garantindo maior precisão nos resultados e na interpretação dos dados obtidos (Grant et al, 2019; Karp et al, 2017).

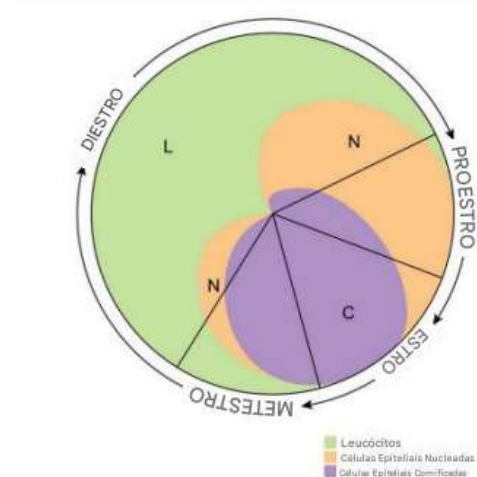


Figura 12. Ferramenta de identificação dos estágios do ciclo estral. A figura mostra a representação visual dos tipos celulares (leucócitos, células epiteliais nucleadas e cornificadas) e suas proporções relativas nos quatro estágios do ciclo estral (proestro, estro, metaestro e diestro). Adaptado de Byers et al. (2012).

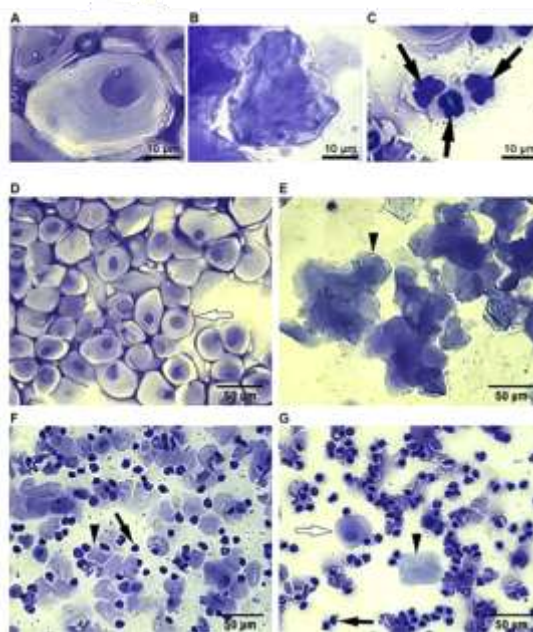


Figura 13. Caracterização citológica das fases do ciclo estral em camundongas. A) Células epiteliais nucleadas. B) Células epiteliais escamosas cornificadas. C) Leucócitos. D) Proestro. E) Estro. F) Metaestro. G) Diestro. As cabeças de setas pretas nas imagens E, F e G indicam células epiteliais escamosas cornificadas. As setas pretas nas imagens C, F e G apontam para leucócitos. As setas brancas nas imagens D e G destacam células epiteliais nucleadas. Fonte: Adaptado de McLean et al. (2012).

4.6. Análise estatística

Os comportamentos foram analisados e os dados obtidos submetidos à análise estatística utilizando o GraphPad Prism 5, por meio do One Way ANOVA, com valores de $p \leq 0,05$ considerados significativos. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Quando significativo a análise foi seguida pelo teste *post hoc* Newman-keuls.

A influência do ciclo estral foi avaliada por meio de análise estatística utilizando o software R (versão 4.6), empregando uma ANOVA de três fatores (3-way ANOVA), com os fatores protocolo (estresse vs. sem estresse), tratamento (salina, óleo, etc.) e fase do ciclo estral (proestro, estro e diestro). As fases citológicas metaestro e diestro são muito similares e, neste projeto, foram agrupadas como diestro. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Quando efeitos significativos foram detectados, comparações múltiplas foram realizadas pelo teste *post hoc* de Tukey. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

5. Resultados

5.1 Labirinto Aquático de Morris

Para a análise de possíveis déficits de memória de aprendizagem e retenção de memória, foi realizado o Teste do Labirinto Aquático de Morris. Os parâmetros analisados foram o tempo de latência de escape em segundos e o tempo de permanência no quadrante alvo durante o teste de retenção. No teste de aquisição (P86), observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais quanto à latência para encontrar a plataforma de escape ($F(4,21) = 3,675$; $p = 0,0203$), como mostrado na Figura 14. Os camundongos do G3 apresentaram a maior latência média de escape ($48,83 \pm 18,43$ s), indicando prejuízo no desempenho da aprendizagem espacial. Em contraste, os animais do G4 exibiram latência baixa de $8,00 \pm 1,64$ s, demonstrando desempenho significativamente superior. O grupo controle (G0) também apresentou baixa latência ($7,00 \pm 1,34$ s), enquanto os grupos G1 e G2 mostraram valores intermediários, $G1 = 10,00 \pm 1,27$ s e $G2 = 12,00 \pm 2,55$ s, sem diferenças estatísticas entre si. A análise *post hoc* de Newman-Keuls revelou diferenças estatisticamente significativas entre os pares G0 vs G3, G1 vs G3, G2 vs G3 e G4 vs G3 ($p < 0,05$), reforçando o pior desempenho do G3 em relação aos demais grupos.



Figura 14. Tempo de latência de escape no Labirinto Aquático de Morris (P86). Os dados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM). O asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa entre G3 e todos os demais grupos ($p < 0,05$).

No teste de retenção/consolidação (P87), os grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa no tempo médio de permanência no quadrante alvo ($F(4,24) = 0,08746$; $p = 0,9855$). O G4 apresentou tempo médio de $36,80 \pm 7,35\%$, levemente maior que os demais grupos, seguido por $G0 = 36,33 \pm 7,04\%$, $G1 = 34,33 \pm 6,36\%$, $G2 = 34,50 \pm 9,20\%$ e $G3 = 30,67 \pm 9,89\%$. Apesar dessas variações, o teste post hoc de Newman-Keuls não identificou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$ para todas as comparações), indicando que a memória de retenção/consolidação não foi afetada pelos tratamentos ou pelo estresse (Figura 15).

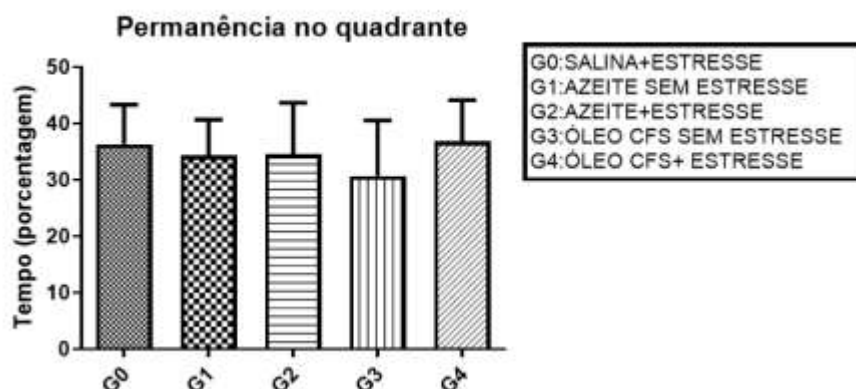


Figura 15. Tempo de permanência no quadrante alvo no Labirinto Aquático de Morris (P87). Os dados foram expressos em média $\pm$ EPM. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$).

5.2. Ciclo estral

Para confirmar a fase estral de cada camundonga antes do teste comportamental, foram realizados esfregaços de lavado vaginal. Com base na caracterização citológica das células presentes nos esfregaços, os animais foram agrupados de acordo com a fase estral, seguindo os critérios estabelecidos por Byers et al. (2012), conforme demonstrado na Figura 16.

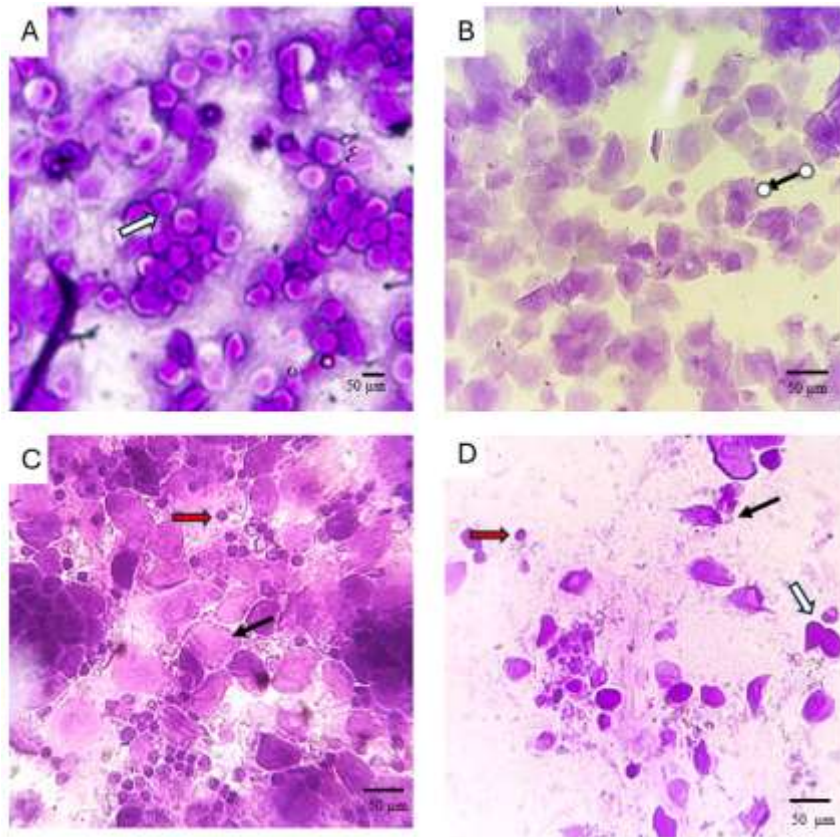


Figura 16. Citologia do lavado vaginal em diferentes fases do ciclo estral. A) Proestro: presença de células epiteliais nucleadas dispostas em aglomerados. B) Estro: predominância de células epiteliais escamosas cornificadas em aglomerados. C) Metaestro: predomínio de leucócitos, com presença de células epiteliais escamosas. D) Diestro: presença de células epiteliais escamosas cornificadas, leucócitos e algumas células nucleadas. As setas brancas em (A) e (D) indicam células epiteliais nucleadas; as setas pretas em (B), (C) e (D) indicam células epiteliais escamosas cornificadas; e as setas vermelhas em (C) e (D) indicam leucócitos.

Para fins de análise estatística, as fases diestro e metaestro foram agrupadas em uma única categoria devido à similaridade observada entre elas, além do baixo número de animais em cada fase. Esse agrupamento foi aplicado tanto para o tempo de latência de escape quanto para o tempo de permanência na tarefa.

A influência da fase do ciclo estral sobre a latência de escape foi avaliada por meio de uma ANOVA de três fatores (protocolo, tratamento e fase). O modelo revelou efeito significativo da fase sobre a latência ($F(2,17) = 4,19$; $p = 0,0331$). As camundongas na fase proestro apresentaram latência média de $20,1 \pm 27,1$ s ($n = 17$), aquelas na fase estro $23,5 \pm 33,1$ s ($n = 11$), e o único animal na fase diestro apresentou 90 s ($n = 1$), sugerindo desempenho reduzido, embora o baixo número de sujeitos impossibilite análises post hoc robustas.

Ao analisar os protocolos separadamente, observou-se que, no conjunto sem estresse, os animais tratados com azeite (G1) apresentaram latências baixas e semelhantes entre proestro ($14,8 \pm 5,6$ s; $n = 4$) e estro (11,0 s; $n = 2$), enquanto aqueles tratados com óleo CFS (G3) apresentaram maior variabilidade, com latências médias de 62 ± 28 s ($n = 3$) no proestro e $35,7 \pm 27,2$ s ($n = 3$) no estro. No conjunto com estresse, os animais tratados com salina (G0) apresentaram latências de $7,7 \pm 2,0$ s ($n = 3$) no proestro e 34 ± 28 s ($n = 3$) no estro, enquanto os tratados com azeite (G2) mostraram 11 ± 3 s ($n = 4$) no proestro e 16 s ($n = 1$) no estro, com aumento notável na fase diestro (90 s, $n = 1$). Por fim, os animais tratados com óleo CFS no grupo estresse apresentaram latências de $9,7 \pm 2,3$ s ($n = 3$) no proestro e $5,5 \pm 0,5$ s ($n = 2$) no estro (Tabela 1). Algumas combinações apresentaram n reduzido, resultando em desvio padrão não calculável.

De forma geral, as fases proestro e estro apresentaram desempenho semelhante, enquanto a fase diestro tende a apresentar valores mais elevados, sugerindo possível influência dos hormônios sexuais sobre a memória espacial (Figura 17).

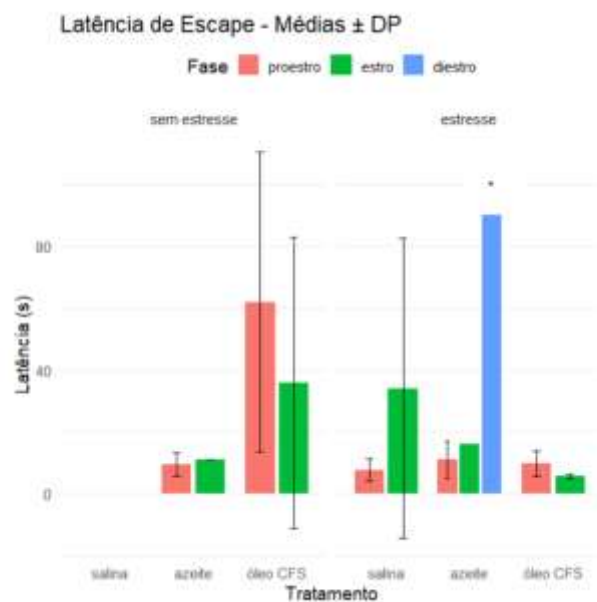


Figura 17. Latência média de escape no teste de memória espacial em função da fase do ciclo estral, protocolo e tratamento. Os valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Cada barra representa uma fase do ciclo estral: proestro (vermelho), estro (verde) e diestro (azul), e cada faceta corresponde ao protocolo experimental (estresse ou sem estresse) e seus respectivos tratamentos (salina, azeite e óleo CFS). Observa-se que a fase diestro apresentou latência média superior às fases proestro e estro, sugerindo desempenho prejudicado na tarefa. A ANOVA de três fatores indicou efeito significativo da fase sobre a latência ($F(2,17) = 4,192$; $p = 0,0331$; * indica diferença estatisticamente significativa). A extensão negativa das barras de erro não indica valores de latência abaixo de zero, mas reflete a alta variabilidade observada em alguns grupos.

protocolo	tratamento	fase	media	sd	n	se	media_se	comentario
sem estresse	azeite	proestro	14.750000	11.2657297	4	5.632865	14.8 $\pm$ 5.6	não significativo
sem estresse	azeite	estro	11.000000	0.0000000	2	0.000000	11 $\pm$ 0	não significativo
sem estresse	óleo CFS	proestro	62.000000	48.4974226	3	28.000000	62 $\pm$ 28	não significativo
sem estresse	óleo CFS	estro	35.666667	47.1204131	3	27.204983	35.7 $\pm$ 27.2	não significativo
estresse	salina	proestro	7.666667	3.5118846	3	2.027588	7.7 $\pm$ 2	não significativo
estresse	salina	estro	34.000000	48.5386444	3	28.023799	34 $\pm$ 28	não significativo
estresse	azeite	proestro	11.000000	6.0553007	4	3.027650	11 $\pm$ 3	não significativo
estresse	azeite	estro	16.000000	NA	1	NA	16 (n=1)	não significativo
estresse	azeite	diestro	90.000000	NA	1	NA	90 (n=1)	não significativo
estresse	óleo CFS	proestro	9.666667	4.0414519	3	2.333333	9.7 $\pm$ 2.3	não significativo
estresse	óleo CFS	estro	5.500000	0.7071068	2	0.500000	5.5 $\pm$ 0.5	não significativo

Tabela 1. Resumo da latência de escape por protocolo, tratamento e fase do ciclo estral. Os valores representam média $\pm$ erro padrão da média (EPM), com o número de animais (n) indicado. Algumas combinações apresentaram baixo número de sujeitos, o que pode afetar o cálculo do desvio padrão. Os dados foram calculados e organizados no software R, utilizando os pacotes dplyr e knitr.

A análise do tempo de permanência, por sua vez, não revelou efeito significativo da fase isoladamente ($F(1,27) = 1,506$; $p = 0,2347$). Considerando todas as combinações de protocolos e tratamentos, os animais na fase diestro permaneceram em média $39,1 \pm 14,4\%$ ($n = 13$),

enquanto os da fase estro permaneceram $30,7 \pm 20,6 \%$ ($n = 16$). Embora haja diferença numérica, ela não atingiu significância estatística.

Ao analisar os protocolos separadamente, observou-se que, no conjunto sem estresse, os animais tratados com azeite (G1) apresentaram percentuais de permanência médios de $40 \pm 8,2\%$ ($n = 4$) no diestro e $23 \pm 3\%$ ($n = 2$) no estro, enquanto os tratados com óleo CFS (G3) exibiram maior variabilidade, com $45,5 \pm 6,5\%$ ($n = 2$) no diestro e $23,2 \pm 13,5\%$ ($n = 4$) no estro. No grupo com estresse, os animais que receberam salina (G0) registraram $46 \pm 2,6\%$ ($n = 3$) de permanência no diestro e $26,7 \pm 12,1\%$ ($n = 3$) no estro, enquanto os tratados com azeite (G2) apresentaram $25,3 \pm 11,1\%$ ($n = 3$) no diestro e $43,7 \pm 14,7\%$ ($n = 3$) no estro. Já os animais sob estresse tratados com óleo CFS tiveram 43% ($n = 1$) no diestro e $35,2 \pm 9,3\%$ ($n = 4$) estro. Destaca-se que algumas condições apresentaram tamanho amostral limitado ($n = 1$), impossibilitando o cálculo do desvio padrão, e nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada entre os grupos (Tabela 2). Esses resultados sugerem que o tempo de permanência depende da interação entre protocolo, tratamento e fase do ciclo estral, embora a fase isoladamente não tenha impactado significativamente o desempenho. A representação gráfica das médias e do erro padrão da média (Figura 18) evidencia visualmente essa diferença entre as fases.

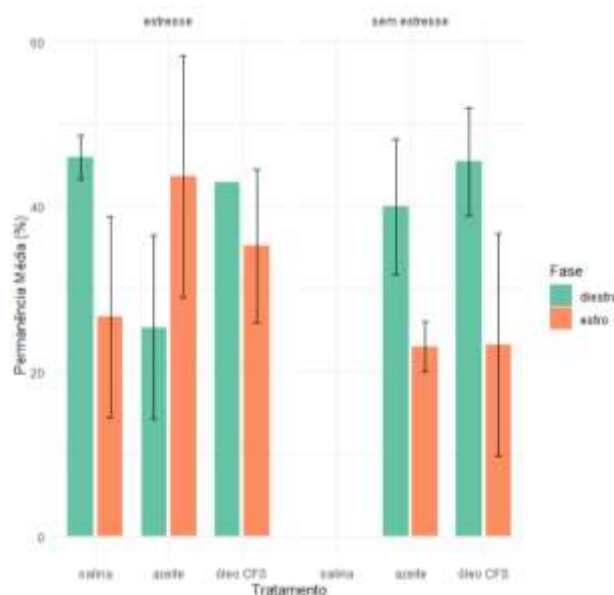


Figura 18. Tempo de permanência médio por tratamento, protocolo e fase do ciclo estral. Os dados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM). As barras representam as fases do ciclo estral: estro (verde) e diestro (laranja). Cada faceta representa um protocolo (estresse ou sem estresse) e seus respectivos tratamentos (salina, azeite e óleo CFS). Apesar das variações observadas entre fases e tratamentos, a ANOVA de três fatores não revelou efeito significativo da fase do ciclo estral sobre o tempo de permanência ($F(1, 27) = 1,507$; $p = 0,2347$).

protocolo	tratamento	fase	media	sd	n	se	media_se	comentario
:-----	:-----	:-----	:-----	:-----	:-----	:-----	:-----	:-----
estresse	salina	diestro	46.00000	4.582576	3	2.645751	46 ± 2.6	não significativo
estresse	salina	estro	26.66667	21.007935	3	12.128937	26.7 ± 12.1	não significativo
estresse	azeite	diestro	25.33333	19.295941	3	11.140517	25.3 ± 11.1	não significativo
estresse	azeite	estro	43.66667	25.423087	3	14.678026	43.7 ± 14.7	não significativo
estresse	óleo CFS	diestro	43.00000	NA	1	NA	43 ± NA	não significativo
estresse	óleo CFS	estro	35.25000	18.553975	4	9.276988	35.2 ± 9.3	não significativo
sem estresse	azeite	diestro	40.00000	16.431677	4	8.215838	40 ± 8.2	não significativo
sem estresse	azeite	estro	23.00000	4.242641	2	3.000000	23 ± 3	não significativo
sem estresse	óleo CFS	diestro	45.50000	9.192388	2	6.500000	45.5 ± 6.5	não significativo
sem estresse	óleo CFS	estro	23.25000	26.998457	4	13.499228	23.2 ± 13.5	não significativo

Tabela 2. Resumo da porcentagem de permanência no quadrante por protocolo, tratamento e fase do ciclo estral. Os valores representam média ± erro padrão da média (EPM), com o número de animais (n) indicado. Algumas combinações apresentaram baixo número de sujeitos, o que pode afetar o cálculo do desvio padrão. Os dados foram calculados e organizados no software R, utilizando os pacotes dplyr e knitr.

6. Discussão

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do estresse crônico e do tratamento com óleo integral de *Cannabis sativa* (CFS) sobre a memória espacial de fêmeas adultas no Labirinto Aquático de Morris (LAM), considerando também a influência do ciclo estral. Os resultados obtidos permitem reflexões relevantes, tanto do ponto de vista neurobiológico quanto translacional.

Na literatura, os efeitos do estresse crônico sobre a cognição em fêmeas ainda são inconclusivos. Alguns estudos relatam desempenho preservado ou até superior ao de controles não estressados (Zain, 2019; McLaughlin et al., 2005; Kittraki et al, 2004), enquanto outros descrevem prejuízos cognitivos após a exposição prolongada (Ma et al, 2023; Hokenson et al., 2021). No presente estudo, o protocolo de estresse crônico não comprometeu de forma significativa o desempenho das fêmeas no LAM, uma vez que a latência de escape e o tempo de permanência no quadrante alvo foram semelhantes entre os grupos G0 (salina), G2 (azeite) e G4 (CFS). Esse resultado indica uma relativa resiliência das fêmeas frente aos efeitos deletérios do estresse sobre a memória espacial.

Além disso, os grupos tratados com azeite, independentemente da exposição ao estresse (G1 e G2), apresentaram valores intermediários de latência, indicando que o protocolo de estresse crônico isoladamente não foi suficiente para comprometer a aprendizagem espacial. Esse perfil pode estar relacionado à ação neuroprotetora de hormônios ovarianos, especialmente os estrogênios, que modulam a plasticidade sináptica no hipocampo e em circuitos associados à aprendizagem e memória (Frick et al., 2015). Outro fator relevante diz respeito às diferenças sexuais no funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), visto que fêmeas

tendem a apresentar maior flexibilidade na regulação da resposta ao estresse, o que pode contribuir para a manutenção do desempenho cognitivo mesmo após protocolos prolongados de estresse (Torrìsi et al., 2023).

Em contraste, o tratamento com CFS em condições basais (G3) prejudicou a aquisição da memória espacial, evidenciado pelo aumento significativo da latência de escape em comparação aos demais grupos (G0, G1, G2 e G4; $p < 0,05$). Esse efeito deletério pode ser explicado pela composição do óleo, que inclui CBD, THC e outros fitocanabinoides. Evidências mostram que a administração aguda de THC em fêmeas C57BL/6 induz déficits na memória espacial, mediados pela ativação de receptores canabinoides tipo 1 (CB1) no hipocampo, região chave para consolidação e recuperação de memórias (DeLarge & Winsauer, 2020). Além disso, fêmeas dessa linhagem apresentam elevada sensibilidade ao THC, manifestando catalepsia prolongada, hipotermia tardia e comportamento ansiogênico mesmo em doses baixas (Sallam et al., 2023), o que corrobora os achados observados em G3.

Outro aspecto relevante é a presença simultânea de diferentes fitocanabinoides, terpenos e flavonoides, que interagem de forma sinérgica no chamado *efeito entourage*. Esse fenômeno pode modular a ação farmacológica do extrato de maneira imprevisível (André et al., 2024; Koltai & Namdar, 2020; Campos et al., 2017). Assim, embora o CBD isolado apresente efeitos ansiolíticos e pró-cognitivos (Jîteã et al., 2025), sua combinação com THC e outros canabinoides pode resultar em prejuízos cognitivos, como observado no grupo G3.

Por outro lado, em animais submetidos ao estresse crônico, a administração de CFS (G4) não prejudicou a memória espacial, apresentando desempenho comparável aos controles. Esse resultado sugere que, em condições de desafio fisiológico, o óleo pode modular respostas adaptativas por meio da regulação do sistema endocanabinoide e da interação com o eixo HHA. Evidências indicam que a hiperliberação de corticosterona decorrente do estresse altera a produção de endocanabinoides e a função dos receptores CB1 (Hillard et al., 2016, apud Scarante et al., 2017). No hipocampo, região com alta densidade de receptores de glicocorticoides e CB1, esses sistemas atuam de forma integrada na regulação do feedback negativo do eixo HHA, modulando respostas emocionais e cognitivas (Herman et al., 1993; Hillard et al., 2016). Estudos também mostram que a ativação de receptores canabinoides após trauma pode prevenir déficits comportamentais e normalizar a expressão de receptores de glicocorticoides e CB1 na região CA1 do hipocampo, efeito dependente da sinalização concomitante de glicocorticoides (Korem & Akirav, 2014). Esses achados reforçam a hipótese de que a combinação entre CFS e estresse prévio favorece a manutenção da memória espacial.

Outro fator modulador importante são os hormônios sexuais femininos. A inibição da produção ou dos receptores de estrogênio aumenta a vulnerabilidade a déficits de memória em fêmeas, enquanto sua ativação em machos pode protegê-la (Wei et al., 2014; Luine, 2016). Estudos demonstram que os estrogênios, como o 17 β -estradiol (E2), têm efeito neuroprotetor em tarefas dependentes do hipocampo, incluindo reconhecimento de objetos, memória de localização e navegação em labirintos (Frick & Berger-Sweeney, 2001; Luine, 2014; Wang et al., 2018). Níveis elevados de E2 durante as fases de proestro estão associados a melhor desempenho cognitivo (Koss & Frick, 2017; Woolley & McEwen, 1993). No presente estudo, a preservação da aprendizagem e consolidação da memória espacial em fêmeas submetidas ao estresse (G0, G2 e G4) pode estar parcialmente relacionada a essa modulação hormonal, embora os mecanismos protetores frente ao estresse ainda não estejam completamente esclarecidos (Conrad et al., 2004, 2012 apud Hokenson, 2024; Karisetty et al, 2017).

Observou-se ainda um efeito da fase do ciclo estral sobre a latência no LAM, com desempenho aparentemente reduzido durante o diestro em comparação ao proestro e estro. Esses resultados indicam que a flutuação hormonal ao longo do ciclo estral pode influenciar a aprendizagem espacial; entretanto, a interpretação é limitada pelo número desigual de animais em cada fase. No teste de retenção e consolidação da memória, a fase do ciclo estral isoladamente não apresentou efeito significativo. Esses resultados reforçam a necessidade de estudos futuros com amostras equilibradas entre as fases do ciclo, a fim de compreender melhor a influência dos esteroides ovarianos sobre o desempenho cognitivo.

Os achados deste estudo acrescentam evidências inéditas ao campo, ao demonstrar que fêmeas expostas ao óleo integral de *Cannabis sativa* apresentam um perfil de resposta distinto, com prejuízo cognitivo em condições basais, mas preservação do desempenho após o estresse. Esse efeito bifásico ressalta a relevância de se considerar o sexo, o estado hormonal e o contexto fisiológico na interpretação dos impactos dos fitocanabinoides sobre a memória. Entretanto, algumas limitações devem ser destacadas, como o número reduzido de animais em determinadas fases do ciclo estral e a ausência de análises bioquímicas que poderiam esclarecer os mecanismos subjacentes. Dessa forma, estudos futuros com maior controle das variáveis hormonais e caracterização molecular são necessários para confirmar e ampliar a compreensão desses resultados.

7. Conclusão

No presente estudo, fêmeas C57BL/6 submetidas ao estresse crônico, independentemente do tratamento, demonstraram resiliência, não apresentando déficits significativos na memória espacial. Em contraste, a administração do óleo full spectrum de *Cannabis sativa* em condições basais comprometeu o desempenho cognitivo, sugerindo efeitos deletérios possivelmente relacionados à presença de Δ^9 -THC e à interação de múltiplos fitocanabinoides, terpenos e flavonoides. Curiosamente, quando administrado em animais previamente expostos ao estresse, o óleo não prejudicou a memória espacial, indicando que seus efeitos podem ser modulados pelo contexto fisiológico e pela interação com mecanismos adaptativos, como a regulação do sistema endocanabinoide e do eixo HHA. Os resultados também destacam a influência de fatores sexuais e hormonais, como os estrogênios e a fase do ciclo estral, na preservação da memória espacial. Em síntese, o estudo indica que formulações integrais de *Cannabis sativa* podem ter efeitos opostos sobre a cognição feminina: prejudiciais em condições basais, mas potencialmente moduladoras diante de desafios estressantes, ressaltando a necessidade de investigações futuras sobre mecanismos neurobiológicos e hormonais.

8. Referências

- AGUILAR, T. A. F.; NAVARRO, B. C. H.; PÉREZ, J. A. M. Endogenous antioxidants: a review of their role in oxidative stress. In: INTECHOPEN LIMITED. **Endogenous antioxidants: a review of their role in oxidative stress**. London: IntechOpen, 2016. p. 3-20.
- ALNOS, M.; VIANNA, M.; DENINO, A.; MELLO, T.; PEREIRA, P.; SQZAPIRO, G. et al. BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. **Hippocampus**, v. 12, p. 551-560, 2002.
- ALZOUBI, K. H. et al. Carob (*Ceratonia siliqua* L.) prevents short-term memory deficit induced by chronic stress in rats. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 66, n. 3, p. 314-321, 2018.
- ANDRÉ, R. et al. The entourage effect in cannabis medicinal products: a comprehensive review. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 11, 2024.
- AQUINO, P. E. A. et al. Nanoemulsions of cannabidiol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, and their combination similarly exerted anticonvulsant and antioxidant effects in mice treated with pentylenetetrazole. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 6, p. 782, 2025.
- ARAÚJO, M.; ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, L. L. N. Mecanismo de ação dos canabinoides: visão geral. **BrJP**, v. 6, p. 109-113, 2023.
- ASO, E.; ANDRES-BENITO, P.; CARMONA, M.; MALDONADO, R.; FERRER, I. Cannabinoid receptor 2 participates in amyloid-beta processing in a mouse model of

Alzheimer's disease but plays a minor role in the therapeutic properties of a cannabis-based medicine. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 51, n. 2, p. 489-500, 2016.

ASTUR, R. S.; ORTIZ, M. L.; SUTHERLAND, R. J. A characterization of performance by men and women in a virtual Morris water maze task: a large and reliable sex difference. **Behavioural Brain Research**, v. 93, n. 1-2, p. 185-190, 1998.

AZEVEDO, M. A. **Influência da fase do ciclo estral na expressão de HSP70 induzida por desafio térmico em células de sangue periférico de camundongas C57BL/6J: um estudo piloto**. 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

BECK, K. D.; LUINE, V. N. Food deprivation modulates chronic stress effects on object recognition in male rats: role of monoamines and amino acids. **Brain Research**, v. 830, n. 1, p. 56-71, 1999.

BECK, K. D.; LUINE, V. N. Sex differences in behavioral and neurochemical profiles after chronic stress: role of housing conditions. **Physiology & Behavior**, v. 75, n. 5, p. 661-673, 2002.

BERRY, B.; MCMAHAN, R.; GALLAGHER, M. Spatial learning and memory at defined points of the estrous cycle: effects on performance of a hippocampal-dependent task. **Behavioral Neuroscience**, v. 111, n. 2, p. 267-274, 1997.

BHAGYA, V.; CHRISTOFER, T.; RAO, B. S. S. Neuroprotective effect of *Celastrus paniculatus* on chronic stress-induced cognitive impairment. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 687-693, 2016.

BOGGS, D. L. et al. Clinical and pre-clinical evidence for functional interactions of cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 142-154, 2018.

BOWMAN, R. E.; FERGUSON, D.; LUINE, V. N. Effects of chronic restraint stress and estradiol on open field activity, spatial memory, and monoaminergic neurotransmitters in ovariectomized rats. **Neuroscience**, v. 113, n. 2, p. 401-410, 2002.

BYERS, S. L. et al. Mouse estrous cycle identification tool and images. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e35538, 2012.

CALIGIONI, C. S. Assessing reproductive status/stages in mice. **Current Protocols in Neuroscience**, v. 48, n. 1, p. A.41.1-A.41.8, 2009.

CANNACTIVA. *Tipos de canabinoides na cannabis e seus efeitos*. [S. l.], 2025. Disponível em: <https://cannactiva.com/pt/tipos-de-canabinoides-na-cannabis-e-seus-efeitos/>. Acesso em: 26 set. 2025.

CHAN, C. J. et al. Ameliorative effects of functional chalaza hydrolysates prepared from protease-A digestion on cognitive dysfunction and brain oxidative damages. **Poultry Science**, v. 99, n. 5, p. 2819-2832, 2020.

CHAPPELL, P. et al. Alterations in corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in discrete rat brain regions after acute and chronic stress. **The Journal of Neuroscience**, v. 6, n. 10, p. 2908-2914, 1986.

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, 2016.

CHENG, D. et al. Long-term cannabidiol treatment prevents the development of social recognition memory deficits in Alzheimer's disease transgenic mice. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 42, n. 4, p. 1383-1396, 2014.

COHEN, S.; JANICKI-DEVERTS, D.; MILLER, G. E. Psychological stress and disease. **JAMA**, v. 298, n. 14, p. 1685-1687, 2007.

CONRAD, C. D. A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 34, n. 5, p. 742-755, 2010.

CONRAD, C. D. et al. Acute stress impairs spatial memory in male but not female rats: influence of estrous cycle. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 78, n. 3, p. 569-579, 2004.

CONRAD, C. D.; GALEA, L. A.; KURODA, Y.; MCEWEN, B. S. Chronic stress impairs rat spatial memory on the Y maze, and this effect is blocked by tianeptine pretreatment. **Behavioral Neuroscience**, v. 110, n. 6, p. 1321-1334, 1996.

CUADRADO-TEJEDOR, M. et al. Chronic mild stress in mice promotes cognitive impairment and CDK5-dependent tau hyperphosphorylation. **Behavioural Brain Research**, v. 220, n. 2, p. 338-343, 2011.

DE ASSIS, P. M. et al. Broad-spectrum Cannabis oil alleviates behavioral symptoms associated with stress-related anxiety and depression in mice. **Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 2, p. 239-250, 2021.

DELARGE, A. F.; WINSAUER, P. J. Effects of Δ^9 -THC on memory in ovariectomized and intact female rats. **Hormones and Behavior**, v. 127, p. 104883, 2021.

DIAS-FERREIRA, E. et al. Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. **Science**, v. 325, n. 5940, p. 621-625, 2009.

DR GREEN RELIEF. *Endocannabinoid System and CB1 & CB2 Receptors* [Internet]. Publicado em 11 nov. 2019. Disponível em: <https://www.drgreenrelief.com/blog/endocannabinoid-system/>. Acesso em: 26 set. 2025.

DUMAN, R. S. et al. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. **Biological Psychiatry**, v. 48, n. 8, p. 732-739, 2000.

EICHENBAUM, H. The role of the hippocampus in navigation is memory. **Journal of Neurophysiology**, v. 117, n. 4, p. 1785-1796, 2017.

ERB, S.; STEWART, J. A role for the bed nucleus of the stria terminalis, but not the amygdala, in the effects of corticotropin-releasing factor on stress-induced reinstatement of cocaine seeking. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 23, p. RC35, 1999.

- ESCH, T.; STEFANO, G. B.; FRICCHIONE, G. L.; BENSON, H. The role of stress in neurodegenerative diseases and mental disorders. **Neuroendocrinology Letters**, v. 23, n. 3, p. 199-208, 2002.
- FAGHERAZZI, E. V. et al. Memory-rescuing effects of cannabidiol in an animal model of cognitive impairment relevant to neurodegenerative disorders. **Psychopharmacology**, v. 219, n. 4, p. 1133-1140, 2012.
- FONTANA, D. **Estresse: faça dele um aliado e exercite a autodefesa**. 2. ed. São Paulo: Saraiva, 1994.
- FRICK, K. M.; BERGER-SWEENEY, J. Spatial reference memory and hippocampal plasticity are differentially affected by learning in adult and aged female mice. **Behavioural Brain Research**, v. 123, n. 1, p. 65-76, 2001.
- FRICK, K. M. et al. Sex steroid hormones matter for learning and memory: estrogenic regulation of hippocampal function in male and female rodents. **Learning & Memory**, v. 22, n. 9, p. 472-493, 2015.
- FRIEDMAN, D.; SIRVEN, J. I. Historical perspective on the medical use of cannabis for epilepsy: ancient times to the 1980s. **Epilepsy & Behavior**, v. 70, p. 298-301, 2017.
- GAŁECKI, P. et al. Oxidative stress parameters after combined fluoxetine and acetylsalicylic acid therapy in depressive patients. **Human Psychopharmacology**, v. 24, n. 4, p. 277-286, 2009.
- GAŁECKI, P. et al. Oxidative stress parameters after combined fluoxetine and acetylsalicylic acid therapy in depressive patients. **Human Psychopharmacology**, v. 24, n. 4, p. 277-286, 2009.
- GAZZALEY, A. H. et al. Differential regulation of NMDAR1 mRNA and protein by estradiol in the rat hippocampus. **Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 21, p. 6830-6838, 1996.
- GERDEMAN, G. L.; RONESI, J.; LOVINGER, D. M. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. **Nature Neuroscience**, v. 5, n. 5, p. 446-451, 2002.
- GIROTTI, Milena; BULIN, Sarah E.; CARRENO, Flavia R. Effects of chronic stress on cognitive function—From neurobiology to intervention. **Neurobiology of stress**, v. 33, p. 100670, 2024.
- GOMES, F. V. et al. Decreased glial reactivity could be involved in the antipsychotic-like effect of cannabidiol. **Schizophrenia Research**, v. 164, n. 1-3, p. 155-163, 2015.
- GRANT, M. K. O. et al. Sexual dimorphism of acute doxorubicin-induced nephrotoxicity in C57Bl/6 mice. **PLoS One**, v. 14, n. 2, p. e0212486, 2019.
- GRASSI, D. et al. Chronic unpredictable stress and long-term ovariectomy affect arginine-vasopressin expression in the paraventricular nucleus of adult female mice. **Brain Research**, v. 1588, p. 55-62, 2014.
- GREEN, K. N. et al. Glucocorticoids increase amyloid-beta and tau pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 35, p. 9047-9056, 2006.

HAMPSON, R. E.; DEADWYLER, S. A. Cannabinoids, hippocampal function and memory. **Life Sciences**, v. 65, n. 6-7, p. 715-723, 1999.

HERBERT, J.; LUCASSEN, P. J. Depression as a risk factor for Alzheimer's disease: genes, steroids, cytokines and neurogenesis - what do we need to know? **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 41, p. 153-171, 2016.

HERBET, M. et al. α -Tocopherol ameliorates redox equilibrium and reduces inflammatory response caused by chronic variable stress. **Biomedical Research International**, v. 2018, p. 1-12, 2018.

HERKENHAM, M. et al. Cannabinoid receptor localization in brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 5, p. 1932-1936, 1990.

HERMAN, J. P. et al. Diurnal regulation of glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNAs in rat hippocampus. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 4, n. 2, p. 181-190, 1993.

HERZOG, C. J. et al. Chronic social instability stress in female rats: a potential animal model for female depression. **Neuroscience**, v. 159, n. 3, p. 982-992, 2009.

HILL, R. A. et al. Sex-specific disruptions in spatial memory and anhedonia in a "two hit" rat model correspond with alterations in hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression and signaling. **Hippocampus**, v. 24, n. 10, p. 1197-1211, 2014.

HILLARD, C. J.; BEATKA, M.; SARVAIDEO, J. Endocannabinoid signaling and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Comprehensive Physiology**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2017.

HOKENSON, Rachael E. et al. Unexpected role of physiological estrogen in acute stress-induced memory deficits. **Journal of Neuroscience**, v. 41, n. 4, p. 648-662, 2021.

HOKENSON, R. E. **Sex-and hormone-dependent differences in memory vulnerability to acute traumatic stress**. 2024. Tese (Doutorado) - University of California, Irvine, 2024.

HOWLETT, A. C. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 54, n. 2, p. 161-202, 2002.

HU, S. S. J.; MACKIE, K. Distribution of the endocannabinoid system in the central nervous system. In: PERTWEE, R. G. (Ed.). **Endocannabinoids**. Cham: Springer, 2015. p. 59-93. (Handbook of Experimental Pharmacology, v. 231).

IÑIGUEZ, S. D. et al. Vicarious social defeat stress induces depression-related outcomes in female mice. **Biological Psychiatry**, v. 83, n. 1, p. 9-17, 2018.

INSTITUTO CURAPRO. **Catálogo CBD CuraPro**. Mirandópolis: Instituto CuraPro, 2022.

JACOBSON, L.; SAPOLSKY, R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 2, p. 118-134, 1991.

JOHNSON, E. O. et al. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 2, p. 115-130, 1992.

- JONASSON, Z. Meta-analysis of sex differences in rodent models of learning and memory: a review of behavioral and biological data. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 28, n. 8, p. 811-825, 2005.
- JUSTICE, N. J. The relationship between stress and Alzheimer's disease. **Neurobiology of Stress**, v. 8, p. 127-133, 2018.
- 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, 2021.
- KALIVAS, P. W.; DUFFY, P. Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress. **Brain Research**, v. 675, n. 1-2, p. 325-328, 1995.
- KARISSETTY, Bhanu Chandra et al. Differential effect of chronic stress on mouse hippocampal memory and affective behavior: Role of major ovarian hormones. **Behavioural Brain Research**, v. 318, p. 36-44, 2017.
- KARP, N. A. et al. Prevalence of sexual dimorphism in mammalian phenotypic traits. **Nature Communications**, v. 8, p. 15475, 2017.
- KIPRIANOVA, I. et al. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal death and glial activation after global ischemia in the rat. **Journal of Neuroscience Research**, v. 56, n. 1, p. 21-27, 1999.
- KITRAKI, E. et al. Gender-dependent alterations in corticosteroid receptor status and spatial performance following 21 days of restraint stress. **Neuroscience**, v. 125, n. 1, p. 47-55, 2004.
- KOLTAI, H.; NAMDAR, D. Cannabis phytomolecule "entourage": from domestication to medical use. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 10, p. 976-984, 2020.
- KOREM, N.; AKIRAV, I. Cannabinoids prevent the effects of a footshock followed by situational reminders on emotional processing. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 12, p. 2709-2722, 2014.
- KOSS, W. A.; FRICK, K. M. Sex differences in hippocampal function. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95, n. 1-2, p. 539-562, 2017.
- LASTRES-BECKER, I. et al. Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: relevance to Parkinson's disease. **Neurobiology of Disease**, v. 19, n. 1-2, p. 96-107, 2005.
- LEVY, D. R. et al. Mouse spontaneous behavior reflects individual variation rather than estrous state. **Current Biology**, v. 33, n. 7, p. 1358-1364, 2023.
- LI, J. et al. Psychosocial stressors and cognitive function: an analysis using data from the English longitudinal study of ageing. **The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, 2025.
- LI, Q. et al. Ultrastructural characteristics of neuronal death and white matter injury in mouse brain tissues after intracerebral hemorrhage: coexistence of ferroptosis, autophagy, and necrosis. **Frontiers in Neurology**, v. 9, p. 581, 2018.

LIMA, A. C. et al. Preventive beneficial effects of cannabidiol in a reserpine-induced progressive model of parkinsonism. **Frontiers in Pharmacology**, v. 16, p. 1539783, 2025.

LIU, W. M.; FOWLER, D. W.; DALGLEISH, A. G. Cannabis-derived substances in cancer therapy: an emerging anti-inflammatory role for the cannabinoids. **Current Clinical Pharmacology**, v. 5, n. 4, p. 281-287, 2010.

LLORENTE, R. et al. Long term sex-dependent psychoneuroendocrine effects of maternal deprivation and juvenile unpredictable stress in rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 23, n. 4, p. 329-344, 2011.

LUINE, V. N. Estradiol and cognitive function: past, present and future. **Hormones and Behavior**, v. 66, n. 4, p. 602-618, 2014.

LUINE, V. N. et al. Chronic stress and neural function: accounting for sex and age. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 19, n. 10, p. 743-751, 2007.

LUPIEN, S. J. et al. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 434-445, 2009.

MA, Junxing et al. 5-HT attenuates chronic stress-induced cognitive impairment in mice through intestinal flora disruption. **Journal of Neuroinflammation**, v. 20, n. 1, p. 23, 2023.

MARTÍN-MORENO, A. M. et al. Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation in vitro and in vivo: relevance to Alzheimer's disease. **Molecular Pharmacology**, v. 79, n. 6, p. 964-973, 2011.

MCEWEN, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators: allostasis and allostatic load. **The New England Journal of Medicine**, v. 338, n. 3, p. 171-179, 1998.

MCEWEN, B. S.; MAGARINOS, A. M. Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. **Human Psychopharmacology**, v. 16, p. S7-S19, 2001.

MCEWEN, B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 3, p. 873-904, 2007.

MCEWEN, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 8, n. 4, p. 367-381, 2006.

MCFADDEN, L. M. et al. Sex-dependent effects of chronic unpredictable stress in the water maze. **Physiology & Behavior**, v. 102, n. 3-4, p. 266-275, 2011.

MCLAUGHLIN, K. J. et al. Chronic stress enhances spatial memory in ovariectomized female rats despite CA3 dendritic retraction: possible involvement of CA1 neurons. **Neuroscience**, v. 135, n. 4, p. 1045-1054, 2005.

MCLEAN, A. C. et al. Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification. **Journal of Visualized Experiments**, n. 67, p. e4389, 2012.

MORI, M. A. et al. Cannabidiol reduces neuroinflammation and promotes neuroplasticity and functional recovery after brain ischemia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 75, p. 94-105, 2017.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 11, n. 1, p. 47-60, 1984.

NEHA, K. et al. Medicinal prospects of antioxidants: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 687-704, 2019.

NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 198-228, 2018.

O'KEEFE, J.; NADEL, L. **The hippocampus as a cognitive map**. Oxford: Clarendon Press, 1978.

PACHER, P.; KOGAN, N. M.; MECHOULAM, R. Beyond THC and endocannabinoids. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 60, p. 637-659, 2020.

PACKARD, M. G. Posttraining estrogen and memory modulation. **Hormones and Behavior**, v. 34, n. 2, p. 126-139, 1998.

PALANZA, P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 25, n. 3, p. 219-233, 2001.

PAPAGIANNI, E. P.; STEVENSON, C. W. Cannabinoid regulation of fear and anxiety: an update. **Current Psychiatry Reports**, v. 21, n. 6, p. 38, 2019.

PATEL, S.; HILLARD, C. J. Role of endocannabinoid signaling in anxiety and depression. In: KENDALL, D.; ALEXANDER, S. (Ed.). **Behavioral neurobiology of the endocannabinoid system**. Berlin: Springer, 2009. p. 347-371.

PAWLAK, R. et al. Tissue plasminogen activator and plasminogen mediate stress-induced decline of neuronal and cognitive functions in the mouse hippocampus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 50, p. 18201-18206, 2005.

PERTWEE, R. G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 199-215, 2008.

POMPILI, A. et al. Working and reference memory across the estrous cycle of rat: a long-term study in gonadally intact females. **Behavioural Brain Research**, v. 213, n. 1, p. 10-18, 2010.

PRATICÒ, D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, n. 12, p. 609-615, 2008.

PRENDERGAST, Brian J.; ONISHI, Kenneth G.; ZUCKER, Irving. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 40, p. 1-5, 2014.

RAJA, A. et al. Attenuation of oxidative stress by cannabinoids and cannabis extracts in differentiated neuronal cells. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 11, p. 328, 2020.

RIVIER, C.; RIVIER, J.; VALE, W. Inhibition of adrenocorticotrophic hormone secretion in the rat by immunoneutralization of corticotropin-releasing factor. **Science**, v. 218, n. 4570, p. 377-379, 1982.

ROGER, G. et al. O-1057, a potent water-soluble cannabinoid receptor agonist with antinociceptive properties. **British Journal of Pharmacology**, v. 129, n. 8, p. 1577-1584, 2000.

RUDY, J. W. Context representations, context functions, and the parahippocampal-hippocampal system. **Learning & Memory**, v. 16, n. 10, p. 573-585, 2009.

SALES, A. J. et al. Antidepressant-like effect induced by cannabidiol is dependent on brain serotonin levels. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 86, p. 255-261, 2018.

SALLAM, N. A. et al. Sex differences in plasma, adipose tissue, and central accumulation of cannabinoids, and behavioral effects of oral cannabis consumption in male and female C57BL/6 mice. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 11, p. 773-783, 2023.

SAPOLSKY, R. M. **Stress, the aging brain, and the mechanisms of neuron death**. Cambridge: MIT Press, 1992.

SCARANTE, F. F. et al. Cannabinoid modulation of the stressed hippocampus. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, p. 411, 2017.

SCUDERI, C. et al. Cannabidiol in medicine: a review of its therapeutic potential in CNS disorders. **Phytotherapy Research**, v. 23, n. 5, p. 597-602, 2009.

SHBIRO, L. et al. Effects of cannabidiol in males and females in two different rat models of depression. **Physiology & Behavior**, v. 201, p. 59-63, 2019.

SMITH, A. S.; BIRNIE, A. K.; FRENCH, J. A. Social isolation affects partner-directed social behavior and cortisol during pair formation in marmosets (*Callithrix geoffroyi*). **Physiology & Behavior**, v. 104, n. 5, p. 955-961, 2011.

STARKMAN, M. N. et al. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. **Biological Psychiatry**, v. 32, n. 9, p. 756-765, 1992.

STEWART, Samantha A. The effects of benzodiazepines on cognition. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 66, n. 2, p. 9-13, 2005.

TAKEDA, A. et al. A systematic review of the clinical effectiveness of donepezil, rivastigmine and galantamine on cognition, quality of life and adverse events in Alzheimer's disease. **International Journal of Geriatric Psychiatry: A journal of the psychiatry of late life and allied sciences**, v. 21, n. 1, p. 17-28, 2006.

THOMAS, A. et al. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, n. 5, p. 613-623, 2007.

TORRISI, S. A. et al. Acute stress alters recognition memory and AMPA/NMDA receptor subunits in a sex-dependent manner. **Neurobiology of Stress**, v. 25, p. 100545, 2023.

TROJAN, Václav et al. The Main Therapeutic Applications of Cannabidiol (CBD) and Its Potential Effects on Aging with Respect to Alzheimer's Disease. **Biomolecules**, v. 13, n. 10, p. 1446, 2023.

TRZECIAK, P.; HERBET, M. Role of the intestinal microbiome, intestinal barrier and psychobiotics in depression. **Nutrients**, v. 13, n. 3, p. 927, 2021.

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, 2006.

WALESIUK, A.; BRASZKO, J. J. Preventive action of Ginkgo biloba in stress- and corticosterone-induced impairment of spatial memory in rats. **Phytomedicine**, v. 16, n. 1, p. 40-46, 2009.

WANG, W. et al. Memory-related synaptic plasticity is sexually dimorphic in rodent hippocampus. **Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 37, p. 7935-7951, 2018.

WANG, Y. et al. Icarin attenuates M1 activation of microglia and A β plaque accumulation in the hippocampus and prefrontal cortex by up-regulating PPAR γ in restraint/isolation-stressed APP/PS1 mice. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, p. 291, 2019.

WATT, G.; KARL, T. In vivo evidence for therapeutic properties of cannabidiol (CBD) for Alzheimer's disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 20, 2017.

WEI, J. et al. Estrogen protects against the detrimental effects of repeated stress on glutamatergic transmission and cognition. **Molecular Psychiatry**, v. 19, n. 5, p. 588-598, 2014.

WOOLLEY, C. S.; MCEWEN, B. S. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. **Journal of Neuroscience**, v. 13, n. 3, p. 858-870, 1993.

WONG, E. Y. H.; HERBERT, J. The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. **European Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 10, p. 2491-2498, 2004.

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, 2019.

ZAIN, Mohd Aizat et al. Chronic restraint stress impairs sociability but not social recognition and spatial memory in C57BL/6J mice. **Experimental animals**, v. 68, n. 1, p. 113-124, 2019.