



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

Simone Gonçalves Barbosa

**Envolvimento dos receptores canabinoides do tipo CB2 na evocação e
reconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina em ratos
Wistar**

FLORIANÓPOLIS/ SC
2025

Simone Gonçalves Barbosa

Envolvimento dos receptores canabinoides do tipo CB2 na evocação e reconconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina em ratos Wistar

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Ribeiro de Carvalho.

FLORIANÓPOLIS SC

2025

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.
Dados inseridos pelo próprio autor.

Barbosa, Simone Gonçalves

Envolvimento dos receptores canabinoides do tipo CB2 na evocação e reconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina em ratos Wistar / Simone Gonçalves Barbosa ; orientadora, Cristiane Ribeiro de Carvalho, 2025.

81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. Sistema endocanabinóide. 3. Receptores CB2. 4. Adicção. I. Carvalho, Cristiane Ribeiro de. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

Simone Gonçalves Barbosa

Envolvimento dos receptores canabinoides do tipo CB2 na evocação e reconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina

O presente trabalho em nível de Mestrado será avaliado no dia 10 de julho de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros

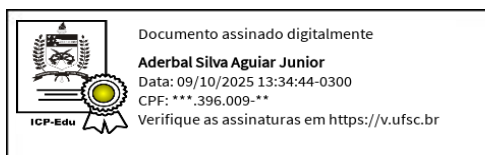
Prof. Dr. Rafael Mariano de Bitencourt

Universidade do Sul de Santa Catarina UNISUL

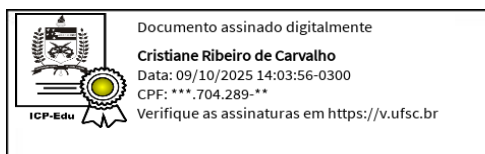
Prof. Dr. Maurício Pena Cunha

Universidade Federal de Santa Catarina UFSC

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Neurociências.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Profa. Dra. Cristiane Ribeiro de Carvalho, Orientadora.

Florianópolis, 2025

Dedico o presente trabalho aos meus filhos:
Wagner, Bárbara e Leonardo.

AGRADECIMENTOS

Eu quero agradecer, primeiramente, ao meu porto seguro que, hoje, sei que me manteve firme, resiliente na jornada escolhida: Deus. Quero agradecer meus pais que me educaram, ensinado coisas muito caras que hoje reconheço, pois me lembro de muitas lições consolidadas na memória com emoções que nem sempre foram doces, porém forjaram a minha estrutura e fortaleceram minha coragem. Quero agradecer minha irmã, que foi quem me deu o chão para pisar e me amparou e sempre foi meu exemplo de força, grandeza e caráter. Quero agradecer meu irmão por ser a muralha admirável de resiliência inspiradora que norteou a minha luta por saúde, liberdade de ser quem somos e mostrar a que viemos. Quero agradecer aos dois maridos, pais dos meus filhos, que, à sua maneira e valor, me mostraram as riquezas da natureza humana em sua beleza selvagem franca, em sua honestidade de valores e suas capacidades de serem excepcionais. Quero agradecer a cada amigo precioso que tenho e que tive o privilégio de conviver (eles sabem). Quero agradecer à UFSC pela porta que abriu não só para minha vida, mas para a imensidão que se estendeu à minha mente. Agradeço imensamente à minha orientadora Dra. Cristiane Ribeiro de Carvalho pelos ensinamentos que me proporcionaram crescimento e mudança. Aos outros professores, igualmente admiráveis. Aos amigos do laboratório, em especial Caroline Gueller e outros amigos especiais que, generosamente, dedicaram tempo, atenção e carinho como Amanda Martins. Durante a preparação deste trabalho, a autora utilizou na Introdução e referências o ChatGPT, empregada exclusivamente para revisão linguística, apoio na estruturação de ideias e para melhorar a clareza de alguns parágrafos, sem interferência nos resultados e análises originais dessa pesquisa. Após o uso desta ferramenta, os autores revisaram e editaram o conteúdo e assumem total responsabilidade pelo conteúdo dessa dissertação. Finalmente agradeço aos órgãos de fomento CNPq e CAPES pela bolsa de estudo e a todas as pessoas não mencionadas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização da minha dissertação.

"O passado não pode ser mudado, mas as memórias podem ser reescritas."
(Anônimo)

RESUMO

Em indivíduos dependentes de drogas, o desejo e a recaída são frequentemente desencadeados pela reativação de memórias associadas ao uso de drogas. Estudos têm demonstrado que essas memórias, quando reativadas por estímulos ambientais, podem sofrer reconsolidação, um processo que tende a fortalecê-las. Portanto, a reativação de traços mnemônicos oferece uma oportunidade de labilizar e suprimir memórias mal adaptativas que perpetuam o ciclo patológico da dependência. Vários estudos indicam que o bloqueio de receptores canabinoides CB1 é uma estratégia terapêutica para o tratamento da dependência de drogas, no entanto, efeitos adversos graves limitam seu potencial terapêutico. Anteriormente, foi demonstrado que o fitocanabinoide canabidiol enfraquece memórias ligadas à experiência anterior com morfina ou cocaína em ratos treinados na tarefa de preferência de lugar condicionada, interferindo no processo de reconsolidação da memória condicionada a drogas de abuso. Estudos recentes demonstraram o potencial terapêutico de agonistas seletivos do receptor CB2, como o β -cariofileno (BCP), no tratamento da dependência. O presente estudo avaliou os efeitos de agonistas seletivos do receptor CB2 na reativação e reconsolidação de memórias associativas induzidas por um opioide em ratos Wistar. Os animais foram submetidos ao protocolo clássico de preferência de lugar condicionado. Em seguida, foram avaliados os efeitos de uma única injeção de BCP na recuperação da memória associada à morfina. Em seguida, foram avaliados os efeitos da administração aguda de BCP e do agonista sintético seletivo para os receptores CB2 AM1241, bem como o impacto deste agonista na reconsolidação da memória associada à morfina e se seus efeitos foram prevenidos pelo pré-tratamento com o antagonista CB2 (AM630). Os resultados indicam que o BCP atenua a expressão e a manutenção da memória condicionada à morfina. Além disso, o agonista sintético teve um efeito mais duradouro do que o BCP, e o impacto do AM1241 parece ser mediado pela ativação dos receptores CB2. Nossos resultados demonstram, pela primeira vez, que a ativação aguda dos receptores CB2 durante a janela de reconsolidação pode impactar a manutenção dessa memória associativa hedônica induzida por opioides. Nossas descobertas reforçam que o conjunto de evidências apontam para o envolvimento do receptor CB2 na modulação de memórias associativas relacionadas ao uso de opioides. Embora se trate de um estudo pré-clínico, os achados sugerem que estratégias farmacológicas baseadas na ativação do CB2, futuramente combinadas a abordagens como a reativação controlada da memória em contextos seguros, podem representar uma via promissora para reduzir o impacto de estímulos ambientais sobre a recaída. No entanto, mais estudos são necessários para validar esses efeitos em modelos translacionais e contextos clínicos.

Palavras-chave: dependência de drogas; β -cariofileno; receptores CB2; receptor canabinoide CB2; preferência condicionada ao lugar; recaída; opioide.

ABSTRACT

In drug-dependent individuals, craving and relapse are often triggered by the reactivation of memories associated with drug use. Studies have shown that these memories, when reactivated by environmental stimuli, can undergo reconsolidation, a process that tends to strengthen them. Therefore, the reactivation of mnemonic traces offers an opportunity to destabilize and suppress maladaptive memories that perpetuate the pathological cycle of addiction. Several studies indicate that blocking CB1 cannabinoid receptors is a therapeutic strategy for the treatment of drug addiction; however, serious adverse effects limit its therapeutic potential. Previously, it has been shown that the phytocannabinoid cannabidiol weakens memories linked to previous experience with morphine or cocaine in rats trained in the conditioned place preference task, interfering with the reconsolidation process of conditioned memory for drugs of abuse. Recent studies have demonstrated the therapeutic potential of selective CB2 receptor agonists, such as β -caryophyllene (BCP), in the treatment of addiction. The present study evaluated the effects of selective CB2 receptor agonists on the reactivation and reconsolidation of associative memories induced by an opioid in Wistar rats. The animals were subjected to the classic conditioned place preference protocol. Next, the effects of a single injection of BCP on the recovery of memory associated with morphine were evaluated. Next, the effects of acute administration of BCP and the synthetic selective CB2 receptor agonist AM1241 were evaluated, as well as the impact of this agonist on the reconsolidation of morphine-associated memory and whether its effects were prevented by pretreatment with the CB2 antagonist (AM630). The results indicate that BCP attenuates the expression and maintenance of morphine-conditioned memory. In addition, the synthetic agonist had a longer-lasting effect than BCP, and the impact of AM1241 appears to be mediated by CB2 receptor activation. Our results demonstrate, for the first time, that acute activation of CB2 receptors during the reconsolidation window can impact the maintenance of this opioid-induced hedonic associative memory. Our findings reinforce that the body of evidence points to the involvement of the CB2 receptor in the modulation of associative memories related to opioid use. Although this is a preclinical study, the findings suggest that pharmacological strategies based on CB2 activation, combined in the future with approaches such as controlled memory reactivation in safe contexts, may represent a promising avenue for reducing the impact of environmental stimuli on relapse. However, further studies are needed to validate these effects in translational models and clinical contexts.

Keywords: drug dependence; β -caryophyllene; CB2 receptors; cannabinoid receptor CB2; conditioned place preference; relapse; opioid.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Biossíntese do metabolismo dos endocanabinoides.....	25
Figura 2- Formação e tipos de memória.....	33
Figura 3- Representação dos principais mecanismos envolvidos na reconsolidação memórias apetitivas	35
Figura 4 - Imagem da caixa de PCL de três compartimentos.....	46
Figura 5- Imagem da caixa de PCL de dois compartimentos	46
Figura 6- Protocolo de reconsolidação da preferência condicionada ao lugar.	47
Figura 7- Esquema representativo do protocolo de PCL na evocação da memória condicionada à morfina	49
Figura 8- Esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à morfina, utilizado nos experimentos 2	50
Figura 9- Esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à morfina, utilizado nos experimentos 3	52
Figura 10- Efeitos do agonista CB2 betacariofileno na evocação da memória.	55
Figura 11- Efeito do agonista CB2, betacariofileno sobre a reconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina	57
Figura 12 - Efeito do agonista AM1241 e do antagonista AM630 sobre a reconsolidação da memória	60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estudos sobre os efeitos terapêuticos dos receptores CB2.	29
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-araquidonilglicerol
AA	Ácido araquidônico
AC	Adenilato ciclase
ADP	Adenosine diphosphate (adenosina difosfato)
AEA	Arachidonoyl Ethanolamine (Anandamida)
AKAP	Proteína quinase de ancoragem
AMPc	Adenosina monofosfato cíclica
ANOVA	Análise de variância
ATV	Área tegmental ventral
BCP	Beta-cariofileno (β -cariofileno)
CaMKII fosforilada	Proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina II
CB	Canabinoide
CBD	Canabidiol
CDK5	Proteína quinase dependente de ciclina 5
COX	Ciclooxigenase
CPF	Córtex pré-frontal
CREB	Proteína de ligação ao elemento de resposta CRE fosforilada
DAGL	Diacilglicerol lipase
DAT	Proteína de recaptação de dopamina
DSE	Supressão da excitação induzida por despolarização
DSI	Supressão da inibição induzida por despolarização
DSMV	Manual Estatístico de Distúrbios Mentais, quinta edição
Egr-1	Proteína de resposta ao crescimento precoce-1
ERK	Proteína quinase regulada por sinais extracelulares fosforilada
EUA	Estados Unidos da América
FAAH	Fatty acid amide hydrolase (amidohidrolase de ácidos graxos)
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GluA1	Subunidade do receptor AMPA glutamatérgico
Gs	Proteína G que estimula a adenilciclase
i.p.	Intraperitoneal
LTD	Long-term depression (depressão de longa duração)
LTP	Long-term potentiation (potenciação de longa duração)
MAGL	Monoacilglicerol lipase
MSN	Medium-sized spiny neurons (neurônios espinhosos médios)
NAc	Núcleo accumbens
NAM	Modulador alostérico negativo
PKA	Proteína quinase A fosforilada
SEC	Sistema Endocanabinoide

TNFR	TNF receptor (receptor de TNF)
TRAF	TNF receptor associated factor (fator associado ao receptor de TNF)
MAPK	Quinase ativada por mitógenos (Mitogen-Activated Protein Kinase)
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase (Phosphoinositide 3-Kinase)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
1.1 JUSTIFICATIVA	19
1.2 HIPÓTESE.....	19
1.3 OBJETIVOS.....	20
1.3.1 Objetivo geral	20
1.3.2 Objetivos específicos	20
2 DESENVOLVIMENTO.....	21
2.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
2.1.1 Transtorno por uso de substâncias	21
2.1.2 Sistema Endocanabinoide.....	23
3 MEMÓRIA e DEPENDÊNCIA	31
3.1 Processos da memória	32
3.1.1 Mecanismos neuroquímicos da reconsolidação.....	35
3.1.2 Sistema de Recompensa na Dependência de Drogas.....	37
3.1.3 Sistema opioide endógeno.....	38
3.1.4 Neuroplasticidade e aprendizado.....	41
3.1.5 Propriedades Farmacológicas do β -cariofileno	42
4 METODOLOGIA	45
4.1. Animais	45
4.2 Modelos experimentais.....	45
4.2.1 Preferência condicionada ao lugar.....	45
4.2.3 Reconsolidação da PCL.....	48
4.3. Análise estatística	52
4.3.1 Delineamento experimental.....	52
5 RESULTADOS	55
5.1 A administração aguda e sistêmica do β -cariofileno na dose de 50 mg/kg diminui a expressão (evocação) da preferência condicionada ao lugar induzida pela morfina em ratos wistar.	55
5.2 A administração aguda e sistêmica do agonista CB2, β -cariofileno, na dose de 50 mg/kg sobre a reconsolidação da memória associada à morfina dos ratos treinados na preferência condicionada ao lugar induzida pelo opioide.....	56

5.3 A administração aguda e sistêmica do agonista CB2 AM1241 suprime a reconsolidação da memória associada à morfina dos ratos treinados na preferência condicionada induzida pelo opioide e os efeitos parecem ser mediados pela ativação dos receptores canabinoides CB2.....	58
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO	72
referências	73
APÊNDICE A - Considerações sobre experimentos realizados, mas que não foram incluídos na Dissertação	84

INTRODUÇÃO

O vício em drogas é um problema complexo e de dimensões globais que afetam um número expressivo da população mundial e o seu tratamento constitui um grande desafio. Em 2024, o Relatório Mundial sobre Drogas, lançado pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC, 2024) em Viena, destacou o surgimento de novos opioides sintéticos e uma oferta e demanda sem precedentes por outras drogas. Isso exacerbou significativamente os transtornos associados ao uso de drogas e os danos ambientais.

A produção, o tráfico e o uso de drogas não apenas aumentam a instabilidade e a desigualdade, mas também causam danos incalculáveis à saúde, segurança e bem-estar das pessoas. Globalmente, mais de 292 milhões de pessoas usaram drogas em 2022, um aumento de 20% em relação à década anterior, sendo que, destes, mais de 64 milhões desencadearam algum transtorno pelo uso de substâncias de abuso. A cannabis continua sendo a droga mais consumida no mundo, com 228 milhões de usuários, seguida pelos opioides (60 milhões), anfetaminas (30 milhões), cocaína (23 milhões) e ecstasy (20 milhões) (UNODC, 2024).

No Brasil, de acordo com o III Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD), conduzido pelo Instituto Nacional de Políticas Públicas do Álcool e Outras Drogas (INPAD/UNIFESP) entre 2006 e 2012, aproximadamente 12% da população relatou problemas relacionados ao uso de substâncias psicoativas, incluindo critérios compatíveis com uso abusivo ou dependência. O álcool e o tabaco permanecem como as substâncias mais prevalentes. Entre as drogas ilícitas, a maconha apresentou prevalência de uso mensal em cerca de 3% da população, sem distinção clara, no estudo, entre uso recreativo, terapêutico ou problemático. Em relação à cocaína e seus derivados, a prevalência anual de consumo foi de 0,7%. O uso de opioides, por sua vez, foi considerado pouco prevalente no país quando comparado a dados internacionais, com cerca de 0,2% da população relatando consumo ao menos uma vez no último ano (Bastos *et al.*, 2016).

No entanto, dados mais recentes apontam para um crescimento alarmante no uso de opioides prescritos no Brasil. Segundo levantamento do Ministério da Justiça e Segurança Pública (MJSP), realizado em parceria com a UNIFESP e divulgado em 2025, o percentual da população brasileira que já fez uso de medicamentos opioides aumentou de 0,8% em 2012 para 7,6% em 2023 — um crescimento de nove vezes em apenas uma década. O aumento foi especialmente expressivo entre mulheres,

passando de 1% para 8,8% no mesmo período. Esse crescimento reflete uma tendência preocupante, já observada em países como os Estados Unidos, e levanta alertas sobre o potencial aditivo desses medicamentos, como morfina, tramadol, codeína e oxicodona.

Apesar da baixa prevalência do uso recreativo de opioides no Brasil em comparação à outras regiões do mundo, o impacto do abuso dessas substâncias é desproporcionalmente devastador. Segundo Jordan et al. (2019), estudos como os de Khatri et al. (2018) apontam que os opioides sintéticos, como o fentanil e análogos, estão associados ao aumento de mortes por overdose. Embora o Brasil apresente uma prevalência anual relativamente baixa de uso de heroína (0,05% da população adulta), destaca-se como o maior mercado consumidor de opioides da América do Sul, com cerca de 600 mil usuários — o que representa 0,5% da população entre 12 e 65 anos, segundo o Relatório Mundial sobre Drogas de 2024 (UNODC, 2024). A maior parte desses usuários faz uso de opioides sintéticos, cuja potência e risco de overdose são significativamente mais elevados do que os opioides naturais. Esses dados, ainda que mostrem números absolutos inferiores aos observados em epidemias como a norte-americana, não devem ser subestimados. O caráter silencioso do uso de opioides sintéticos no Brasil, somado à escassez de protocolos específicos de tratamento e à baixa percepção de risco entre usuários, aumenta o potencial letal dessas substâncias. Assim, mesmo que pouco frequente, o uso recreativo e abusivo de opioides configura um problema emergente de saúde pública, com elevado custo humano, social e econômico.

O desenvolvimento da dependência ocorre devido a uma complexa interação entre fatores sociais, biológicos e genéticos (Robbins *et al.*, 1999). O abuso de substâncias causa uma alteração na plasticidade sináptica dos circuitos cerebrais cruciais nos processos de recompensa e aprendizado e memória. Isso promove mudanças no cérebro e o desenvolvimento de comportamentos mal adaptativos ligados à dependência de drogas (Robinson *et al.*, 2004; Zlebnik *et al.*, 2016).

Em decorrência do uso abusivo, comportamentos de busca compulsiva por substâncias lícitas e ilícitas se tornam crônicos, apesar dos prejuízos que causam, causando um impacto negativo na saúde, vida social e laboral. Isso parece não afetar da mesma forma todos os indivíduos, que apresentam padrões de consumo diferentes que inclui uso ocasional, recreativo, consomem em excesso num curto intervalo de tempo “*binge*”, uso compulsivo que pode caracterizar a dependência de drogas

(transtorno por uso de substâncias). Um dos principais problemas da dependência de drogas é que apesar de existirem diversas estratégias de tratamento que inclui abordagens farmacológicas e não farmacológicas, uma parcela dos indivíduos dependentes de drogas sofre recaídas constantemente e, em muitos casos, as recaídas culminam em desfechos fatais (overdose), conforme dados obtidos através do Observatório Brasileiro de Informações sobre Drogas (OBID) e mundiais (UNODC, 2024).

A dependência de drogas já foi subestimada e reduzida a apenas fraqueza de caráter ou da volição, porém, os prejuízos devastadores que abrangem todos os âmbitos da vida humana, tornaram necessário um olhar observador mais científico. Enquanto alguns usuários regulares de drogas deixam de usá-las por conta própria, para muitos a dependência torna-se um problema. “Atualmente, a dependência é considerada um distúrbio neuropsiquiátrico crônico e recorrente, denominado transtorno por uso de substâncias, diagnosticado a partir de 11 critérios estabelecidos pelo *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais*” (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014, p. 541).

O desejo compulsivo de busca pelas drogas envolve processos de aprendizado mal adaptativos que fortalecem memórias associativas. Nesse contexto, os efeitos de relacionados com a sensação de prazer e euforia, bem como os efeitos relacionados à experiência com a droga são associados com os as dicas ambientais como lugares, ou pessoas através de aprendizado associativo. De modo que as memórias associativas formadas podem ser codificadas através de associações Pavlovianas que ligam estímulos preditivos (por exemplo, pessoas, lugares e parafernália utilizada pelo usuário) aos efeitos hedônicos da droga, bem como por processos de aprendizado instrumental que direcionam as ações necessárias para obter as recompensas associadas à droga. Nesse sentido, a reconsolidação pode oferecer uma oportunidade de intervenção, mostrando que essas memórias aberrantes podem ser enfraquecidas e isso poderia ser explorado como uma estratégia de prevenção das recaídas (Carvalho, 2014).

O sistema endocanabinoide desempenha um papel central na modulação de processos da memória, da motivação e de reforço induzidos por drogas (Carvalho, et al., 2014). Em termos fisiológicos, a reconsolidação da memória serve para atualizar e manter memórias relevantes para o indivíduo, porém, a administração de alguns agentes farmacológicos dentro de uma “janela temporal de reconsolidação” pode

enfraquecer ou mesmo apagar as memórias mal adaptativas. Assim, a reconsolidação pode oferecer uma janela de intervenção, mostrando que as memórias aberrantes podem ser enfraquecidas ou extintas (Miller *et al.*, 2005; Milton *et al.*, 2010). Evidências demonstram que a ativação ou bloqueio de seus receptores pode influenciar, criticamente a manutenção ou o enfraquecimento de memórias associativas relacionadas ao uso de substâncias. Experimentos mostram que o bloqueio de receptores CB1 prejudica a reconsolidação de memória em ratos condicionados com morfina (Carvalho, 2014), enquanto o fitocanabinoide canabidiol foi capaz de prejudicar memórias associadas à morfina e cocaína em modelos de preferência condicionada ao lugar (Carvalho *et al.*, 2017).

1.1 JUSTIFICATIVA

Diferentemente dos hormônios peptídicos (como a insulina) ou dos esteroides (como o cortisol), que derivam de aminoácidos ou do colesterol, respectivamente, os endocanabinoides são mensageiros lipídicos derivados de ácidos graxos, especialmente do ácido araquidônico. O sistema endocanabinoide, composto principalmente pelos receptores canabinoides CB1 e CB2, seus ligantes endógenos (como anandamida e 2-AG) e enzimas de síntese/degradação, desempenha um papel essencial na regulação de diversos processos fisiológicos, incluindo a modulação da via de recompensa cerebral (PARSONS & HURD, 2015). Seu envolvimento direto na neurobiologia da dependência de substâncias de abuso é amplamente reconhecido. Embora os receptores CB1 tenham sido inicialmente apontados como um alvo terapêutico promissor, os efeitos colaterais neuropsiquiátricos graves associados ao seu bloqueio farmacológico, como observado com o rimonabanto, limitaram sua aplicabilidade clínica. Portanto, os receptores CB2, que possuem uma expressão mais periférica e apresentam menor envolvimento com efeitos psicoativos, têm emergido como um alvo alternativo e promissor. Sua ativação tem se mostrado eficaz em modular a recompensa e os comportamentos de busca por drogas, sem os efeitos adversos emocionais observados com o bloqueio de CB1.

1.2 HIPÓTESE

A ativação aguda e sistêmica dos receptores canabinoides CB2 pode suprimir o comportamento preditivo de busca pela droga ao interferir na expressão e manutenção de memórias associativas apetitivas associadas à experiência prévia com a droga em ratos Wistar treinados no paradigma da preferência condicionada ao lugar induzida pela morfina.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Investigar o possível efeito da administração aguda e sistêmica de agonistas dos receptores canabinoides CB2 sobre a evocação e reconsolidação da memória condicionada à morfina em ratos Wistar treinados no modelo experimental de preferência condicionada ao lugar. Este estudo visa aprofundar a compreensão dos mecanismos neurobiológicos subjacentes à dependência de drogas e explorar potenciais abordagens terapêuticas para o tratamento de comportamentos aditivos.

1.3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da administração aguda do agonista dos receptores canabinoides CB2, β -cariofileno, sobre a expressão (evocação) da memória associada à droga em ratos Wistar previamente treinados na tarefa de preferência condicionada ao lugar induzida pela morfina.

Avaliar o efeito da administração aguda do β -cariofileno sobre a reconsolidação da memória (hedônica) associada à morfina em ratos Wistar treinados na tarefa de preferência condicionada ao lugar.

Avaliar se os efeitos da administração aguda do agonista dos receptores canabinoides CB2, AM1241, sobre a reconsolidação da preferência condicionada ao lugar induzida pela morfina em ratos Wistar são suprimidos pelo bloqueio farmacológico prévio dos receptores CB2.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1.1 Transtorno por uso de substâncias

De acordo com o Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNODC, 2024), enquanto alguns países da Europa e os Estados Unidos apresentam estabilidade no consumo de drogas tradicionais, como cocaína e heroína, o Brasil tem registrado um aumento significativo no consumo de cocaína nos últimos anos. O país se tornou o segundo maior consumidor da substância no mundo, ficando atrás apenas dos EUA. Nos últimos seis anos, o consumo de cocaína dobrou, atingindo 1,75% da população brasileira entre 15 e 64 anos, que relata ter utilizado a droga pelo menos uma vez por ano.

Além das drogas ilícitas, o estudo também destaca um crescimento preocupante no uso não medicinal de fármacos psicotrópicos, incluindo psicoestimulantes e opioides. Esse fenômeno tem se tornado um problema de saúde pública em diversos países, incluindo o Brasil, exigindo atenção para os impactos do consumo dessas drogas na população, particularmente, por conta do potencial risco de desenvolvimento da dependência.

O Transtorno por Uso de Substâncias (TUS) caracteriza-se pelo uso persistente de drogas de abuso apesar das graves consequências negativas, e representa um grave problema social e de saúde pública global. No Brasil, a dependência de drogas tem um impacto significativo em termos de saúde, segurança e economia. Os custos diretos e indiretos associados ao uso de drogas são igualmente significativos, afetando negativamente a economia e a qualidade de vida das famílias. O impacto na sociedade é igualmente devastador, contribuindo para a criminalidade, violência e sobrecarga dos sistemas de saúde e segurança pública (Cadernos de Saúde Pública, 2024).

Diversas instituições estão envolvidas no tratamento e prevenção da dependência de drogas no Brasil e no mundo. Organizações como a Associação Brasileira de Estudos do Alcool e Outras Drogas (ABEAD) e o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas (SISNAD) desenvolvem políticas e programas de prevenção, tratamento e reinserção social para dependentes químicos. A OMS

(Organização Mundial da Saúde) e o Gabinete das Nações Unidas contra a Droga e o Crime (UNODC, 2024) - uma das agências especializadas da ONU - também realizam esforços globais na prevenção do uso de drogas.

Além dos desafios já mencionados, novos opioides sintéticos têm surgido, trazendo novas preocupações, como os nitazenos, que podem ser ainda mais potentes do que o fentanil. Esses opioides surgiram recentemente em vários países de renda alta, resultando em um aumento no número de mortes por overdose. Embora aproximadamente 64 milhões de pessoas no mundo sofram de transtornos relacionados ao uso de drogas, apenas uma em cada 11 recebe tratamento. As mulheres têm menos acesso ao tratamento do que os homens, com apenas uma em cada 18 mulheres com transtornos relacionados ao uso de drogas recebendo tratamento, em comparação com um em cada sete homens (UNODC, 2024).

Em 2022, estimou-se que sete milhões de pessoas tiveram algum contato formal com a polícia por delitos relacionados a drogas, das quais quase dois terços foram por uso ou posse de drogas para consumo. Além disso, 2,7 milhões de pessoas foram processadas por delitos relacionados a drogas e mais de 1,6 milhão foram condenadas globalmente em 2022 (UNODC, 2024). Embora existam diferenças significativas entre os países em termos de uso ou posse de drogas e nas respostas da justiça criminal às infrações relacionadas a drogas, esse parece ser um fenômeno que tem um impacto negativo global.

Diversas organizações ou Instituições de saúde, como a OMS, por meio da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10), bem como a APA (através do DSM-V), reconhecem a dependência de drogas como um transtorno psiquiátrico. No Brasil, o Ministério da Saúde presta assistência a pessoas com transtornos, incluindo aqueles decorrentes da dependência de drogas. Esses dados refletem não apenas a magnitude do impacto social e judicial do uso de substâncias psicoativas, mas também reforçam a importância de abordagens terapêuticas baseadas em evidências neurobiológicas. Considerando o fato que a dependência é reconhecida como um transtorno mental multifatorial, com que tem implicações cognitivas, comportamentais e neuroadaptativas, torna-se prioritário compreender os mecanismos cerebrais que estão subjacentes e que contribuem para a aquisição, manutenção e recaída no uso de drogas, portanto, nesse contexto, o sistema endocanabinoide tem emergido como um dos principais moduladores da neuroplasticidade envolvida na motivação, no

reforço e na memória associativa de drogas. Diversas evidências apontam que alterações no SEC estão implicitamente relacionadas à vulnerabilidade à dependência, bem como à persistência de comportamentos de busca por drogas.

2.1.2 Sistema Endocanabinoide

O Sistema Endocanabinoide (SEC), descoberto no final dos anos 1980 e início dos anos 1990, é uma rede complexa de moléculas e receptores essenciais para a manutenção da homeostase e desempenha um papel crucial na modulação da dependência de drogas e da memória associativa. O SEC influencia e é influenciado por muitas outras vias de sinalização, o que é especialmente importante ao avaliar os efeitos dos medicamentos direcionados (Lu *et al.*, 2021). Ele é composto por ligantes endógenos, conhecidos como endocanabinoides, como a anandamida (AEA) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG), que são lipídios bioativos sintetizados sob demanda a partir de precursores lipídicos na membrana celular, receptores canabinoides e proteínas de síntese, degradação e recaptção.

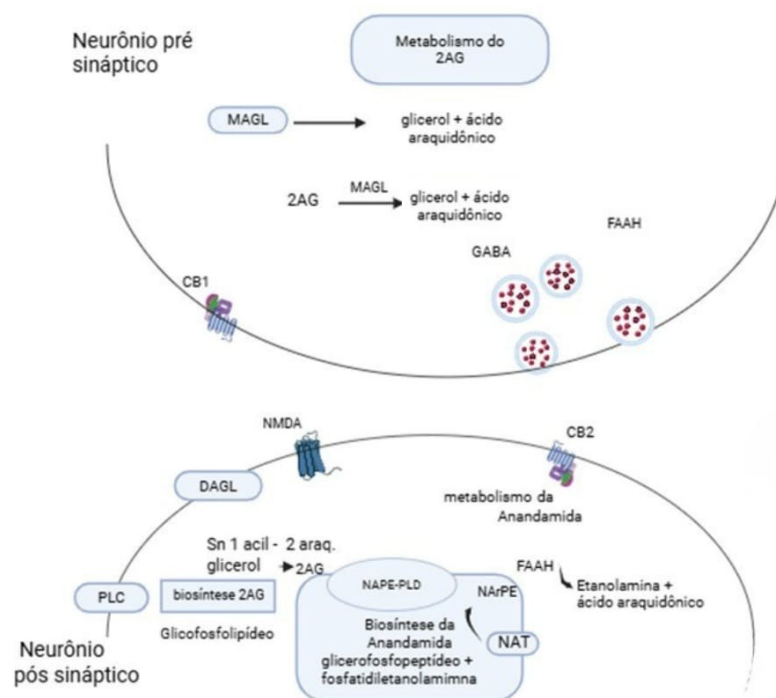
O potencial terapêutico da cannabis, assim como seus efeitos psicoativos, tem sido reconhecido há milênios (Adams *et al.*, 1996). No entanto, foi apenas com a descoberta de sítios de ligação de canabinoides no cérebro (Devane *et al.*, 1988; Herkenham *et al.*, 1991) e a subsequente clonagem do receptor CB1 (Matsuda *et al.*, 1990; Alexander *et al.*, 2011) que os mecanismos celulares desses efeitos começaram a ser compreendidos. Em 1993, foi identificado e clonado um segundo receptor canabinoide (CB2) a partir de células HL60 (Munro *et al.*, 1993). Naquela época, o receptor CB2 foi denominado "receptor canabinoide periférico" após a análise de hibridização *in situ* revelar altos níveis de mRNA do CB2 no baço e sua ausência no cérebro. Na sequência, a anandamida e o 2-araquidonilglicerol (2-AG) foram identificados como os ligantes endógenos (Sugiura *et al.*, 2002). O 2-AG é um agonista de alta eficácia em CB1 e CB2 (Sugiura *et al.*, 2002; Shoemaker *et al.*, 2005). No entanto, a anandamida tem baixa eficácia no CB2, age como um agonista parcial fraco (Showalter *et al.*, 1996; Sugiura *et al.*, 2002). As enzimas de síntese e degradação dos endocanabinoides incluem a N-acil-fosfatidiletanolamina-hidrolase (NAPE-PLD) e a monoacilglicerol lipase (MAGL), entre outras. Estas enzimas garantem que os endocanabinoides sejam rapidamente sintetizados e degradados, permitindo uma regulação precisa da sinalização endocanabinoide. Os receptores CB1 e CB2 são

acoplados a proteínas G inibitórias (Gi/o), com sete alças transmembranares, cuja ativação leva à supressão da liberação de neurotransmissores e outros mensageiros celulares (Pertwee, 2015). Ambos os receptores, CB1 e CB2, são receptores metabotrópicos acoplados à proteína Gi/o, e sua ativação inibe a adenilato ciclase (Felder et al., 1995; Shoemaker et al., 2005). Além disso, pode promover a ativação de efetores tais como MAPK, PI3K, que afetam a transcrição de genes (Grabon *et al.*, 2023). No entanto, os receptores CB1 e CB2 possuem diferenças nos mecanismos de transdução de sinal, na localização subcelular, nas células e tecidos, bem como no perfil de respostas farmacológicas decorrentes da sua estimulação seletiva (Howlett *et al.*, 2017).

Estudos subsequentes demonstraram a presença e a funcionalidade dos receptores CB2 no sistema nervoso central (SNC), apesar da baixa densidade de expressão em neurônios e células não neuronais (Grabon *et al.*, 2023). Por outro lado, os receptores CB1 estão abundantemente expressos no SNC, especialmente em regiões como o córtex pré-frontal, hipocampo, amígdala, área tegmentar ventral (ATV) e núcleo accumbens (NAc). A ativação desses receptores modula a liberação de neurotransmissores e regulam diversas funções cerebrais, incluindo a percepção de dor, o apetite, a memória e o humor. Quando disfuncional, o SEC pode contribuir para estados patológicos, incluindo dor crônica, inflamação, distúrbios neurodegenerativos e dependência de drogas (Lutz, 2020). Estudos também indicam os receptores CB2, pode ser uma estratégia promissora para tratar os TUS.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de novas ferramentas demonstrou que os receptores canabinoides estão distribuídos em diversos tipos de celulares, não apenas células neuronais, gliais ou imunológicas, bem como em compartimentos intracelulares (por exemplo, mitocôndrias). Os receptores mitocondriais CB1 regulam o metabolismo energético neuronal, influenciando diretamente a atividade sináptica e a homeostase celular (Bénard et al., 2012). Curiosamente, os efeitos celulares ou moleculares mediados pelos receptores canabinoides são diferentes, de acordo com sua localização específica em diferentes tipos de células ou em diferentes localizações subcelulares. Além disso, o SEC inclui outros alvos e ligantes não canônicos que também estão presentes em todo o corpo, e parecem atuar na modulação da conexão entre o cérebro e a periferia (Busquets-Garcia *et al.*, 2022).

Figura 1- Biossíntese do metabolismo dos endocanabinoides



Fonte: Figura reproduzida de Carvalho (2014).

Legenda da figura 1: Representação esquemática simplificada da biossíntese e do metabolismo dos endocanabinoides (eCBs) em sinapses GABAérgicas nos neurônios pré e pós-sinápticos. As enzimas responsáveis pela biossíntese do 2-AG, a fosfolipase C (PLC) e a diacilglicerol lipase (DAGL), estão principalmente localizadas nas membranas plasmáticas dos neurônios pós-sinápticos. A monoacilglicerol lipase (MAGL), que cataboliza o 2-AG, está presente nos neurônios pré-sinápticos. As enzimas envolvidas na biossíntese da anandamida, como a N-acil-transferase (NAT) e a N-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD), bem como a enzima de catabolismo Amido hidrolase de ácido graxo (FAAH), são encontradas em membranas intracelulares. A FAAH está localizada predominantemente em neurônios pós-sinápticos, diferentemente da MAGL, que é encontrada nos neurônios pré-sinápticos. Os transportadores de membrana dos eCBs (TeCB), localizados em neurônios pré e pós-sinápticos, facilitam a recaptação dos eCBs. Este processo desempenha um papel fundamental na regulação da neurotransmissão canabinoide.

2.1.2.1 Receptores canabinoides CB1

Os receptores CB1 são os receptores acoplados à proteína G mais abundantes no cérebro (Tsou, 1998). Contudo, sua expressão no SNC é ampla e heterogênea. Os receptores CB1 desempenham papéis cruciais na regulação da função cerebral e participam de processos fisiopatológicos. Os CB1R são abundantes nos gânglios da base (substância negra reticulada, globo pálido, estriado, núcleo entopeduncular), córtex, NAc, cerebelo e hipocampo (Manzanares *et al.*, 2018). Os receptores canabinoides CB1 estão presentes em regiões-chave do circuito de recompensa cerebral, incluindo a ATV e o NAc. Além disso, eles também são presentes em áreas que se projetam para essas estruturas, tais como o hipocampo, CPF e amígdala (Manzanares *et al.*, 2018). No hipocampo, os receptores CB1 são densamente expressos em terminais pré-sinápticos de neurônios GABAérgicos, especialmente nas células que co-liberam colecistocinina, e em terminais pré-sinápticos de neurônios piramidais glutamatérgicos, embora em menor densidade (Maldonado *et al.*, 2006).

Os endocanabinoides (eCBs) agem através dos receptores CB1 como moduladores retrógrados, exercendo controle sobre a neurotransmissão dopaminérgica da via mesocorticolímbica. A ativação dos receptores CB1 nos axônios terminais dos neurônios GABAérgicos na ATV inibe a transmissão GABAérgica, resultando na desinibição dos neurônios dopaminérgicos (Lupica *et al.*, 2005). De maneira semelhante, a ativação dos receptores CB1 nos terminais glutamatérgicos no CPF, NAc e ATV também inibe a transmissão sináptica (MALDONADO *et al.*, 2006).

Em termos de plasticidade sináptica, os receptores CB1 são recrutados durante a indução da depressão de longa duração (LTD), mas não estão envolvidos na manutenção dessa plasticidade (Ohno-shosaku *et al.*, 2014). A indução da LTD mediada pelos eCBs requer um aumento intracelular de Ca^{2+} e a ativação de receptores glutamatérgicos metabotrópicos pós-sinápticos. Esse processo foi demonstrado em diversas regiões do cérebro, como o estriado dorsal, NAc, amígdala, hipocampo, CPF e ATV (Maldonado *et al.*, 2006; Sidhpura *et al.*, 2011). A indução da LTD começa com a liberação pré-sináptica de glutamato, que ativa receptores glutamatérgicos metabotrópicos pós-sinápticos, estimulando a síntese de 2-AG pelas

enzimas fosfolipase C beta (PLC β) e diacilglicerol lipase alfa (DGL α). O 2-AG então atua em receptores CB1 pré-sinápticos localizados em terminais excitatórios glutamatérgicos ou inibitórios GABAérgicos (Ohno-Shosaku *et al.*, 2014). Esse processo reduz a adenilato ciclase e a atividade da proteína quinase A (PKA), suprimindo a liberação do neurotransmissor através de um mecanismo dependente da subunidade α_i/o da proteína Gi/o acoplada ao receptor (Ohno-Shosaku *et al.*, 2014). Diversas evidências experimentais indicam que o efeito primário de recompensa de diferentes drogas de abuso não-cannabinoides depende da liberação de eCBs, especialmente o 2-AG na ATV, assim como da plasticidade sináptica mediada pelos eCBs no sistema nervoso central (SNC) (Maldonado *et al.*, 2006). No NAc, a ativação dos receptores CB1 modula a liberação de dopamina e outros neurotransmissores, como o GABA e o glutamato, influenciando a plasticidade sináptica e o comportamento de recompensa (Pertwee, 2015).

2.1.2.2 Receptores cannabinoides CB2

O receptor canabinoide do tipo CB2 foi inicialmente considerado um receptor periférico. No entanto, avanços tecnológicos, diversas evidências têm mostrado que os receptores CB2 são expressos em neurônios e células gliais no cérebro sob condições fisiológicas e patológicas, desempenhando múltiplas funções em níveis celulares e comportamentais (Zou *et al.*, 2018). Os receptores CB2, apresentam diferenças nas estruturas dos genes, na funcionalidade dos receptores e respostas aos diferentes ligantes. As isoformas dos transcritos de CB2 também diferem entre o cérebro e o baço. No cérebro, CB2A é a principal isoforma de transcrito, enquanto os transcritos CB2A e CB2B estão presentes em níveis mais altos no baço. Essas descobertas sobre as diferentes isoformas de CB2R no cérebro *versus* baço podem, em parte, explicar por que os primeiros estudos falharam em detectar a expressão do gene dos receptores CB2 no cérebro (Zou *et al.*, 2018; Onaivi *et al.*, 2008; Cristino *et al.*, 2020).

Evidências recentes mostram que, apesar da baixa densidade de expressão no cérebro, a ativação seletiva dos receptores CB2 na via de recompensa (ATV e NAc), diminui a liberação de dopamina e pode reduzir o consumo de drogas e comportamentos preditivos de recaída em roedores (Navarrete *et al.*, 2013; Zhang *et*

al., 2014, 2017). Estudos pré-clínicos têm demonstrado que a ativação dos receptores CB2 reduz o consumo de drogas de abuso e suprime comportamentos de busca pela droga, os quais estão associados à recaída (Onaivi *et al.*, 2008; Xi *et al.*, 2011; Ortega-álvaro *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014, 2017; Canseco-alba *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2019; García-Gutiérrez *et al.*, 2022).

Como alvo terapêutico, os receptores CB2 apresentam uma vantagem notável sobre os receptores CB1, pois a modulação dos receptores CB2 não causa os efeitos psicotrópicos e psicotomiméticos típicos de agonistas CB1, incluindo o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) – uma das principais substâncias psicoativas das plantas do gênero *Cannabis*, e também parece não produzir efeitos adversos psiquiátricos graves associados ao antagonismo dos receptores CB1, como o rimonabanto (Cristino *et al.*, 2020; Zou *et al.*, 2018).

Sabe-se que a ativação dos receptores CB1 está associada a efeitos psicotrópicos indesejados, o que limita o desenvolvimento de agonistas CB1 de ação direta. Em contraste, a ativação dos receptores CB2 não parece produzir esses efeitos psicotrópicos. Por isso, os receptores CB2 constituem um alvo promissor para a descoberta de novos medicamentos, inclusive para o tratamento da dependência de drogas (García-Gutiérrez *et al.*, 2022). A modulação dos receptores canabinoides CB1 e CB2 é altamente dependente do contexto sináptico, tipo celular e do grau de ativação. O CB1 atua como um regulador fino da liberação de neurotransmissores excitatórios e inibitórios, exercendo papel crucial no controle da excitabilidade sináptica e da plasticidade. Em contrapartida, o CB2, embora menos expressivo em condições basais no SNC, assume papel regulador importante em contextos inflamatórios ou de neuroadaptação, como nos transtornos por uso de substâncias.

A observação de que a ativação do receptor CB2 produz ações desejáveis em vários modelos pré-clínicos atraiu considerável interesse e gerou atividade significativa em laboratórios acadêmicos e comerciais. Além disso, a expressão dos receptores CB2 podem estar aumentadas sob certas condições e estados de doença, o que reforça ainda mais seu potencial como alvo terapêutico (Grabon *et al.*, 2023). O quadro abaixo concentra alguns estudos que sugerem efeitos terapêuticos de redução de comportamentos motivados e de recaídas onde o papel do receptor CB2 foi alvo de investigações na dependência das substâncias de abuso mais estudadas nas últimas décadas.

Quadro 1 - Estudos sobre os efeitos terapêuticos dos receptores CB2. (Continua)

Estudo	Ano	Descoberta	Modelo experimental
Galaj et al.	2024	Redução das infusões de heroína, dependente da dose; sem afetar antinocicepção	Camundongos C57BL/6 fêmeas e machos; autoadministração de heroína (FR2); BCP (25 e 50 mg/kg, i.p.); efeito presente apenas em fêmeas; sem efeito antinociceptivo; BCP não manteve autoadministração em substituição.
Galaj et al.	2021	Redução dose-dependente da autoadministração de cocaína	Ratos Long-Evans; autoadministração de cocaína (FR2); BCP (25, 50, 100 mg/kg, i.p. ou oral); curva dose-resposta rebaixada; redução da PCL; sem reforço direto pelo BCP.)
He et al.	2021	Redução da autoadministração de metanfetamina; efeito ausente em CB2-KO	Camundongos WT e CB2-KO; metanfetamina (FR1 e razão progressiva); BCP (25, 50, 100 mg/kg, i.p.); efeito bloqueado por AM630 (3 mg/kg, i.p.); CB2-dependente.
Galaj et al.	2020	Agonistas CB2 reduzem a autoadministração de cocaína	Ratos; autoadministração de cocaína (FR2); agonistas CB2; mecanismo parcialmente independente de CB2, sugerindo envolvimento de PPARs.
Zhang et al.	2014	Expressão de CB2 em regiões dopaminérgicas; efeito comportamental.	Análise imunohistoquímica e optogenética; expressão de CB2 em neurônios dopaminérgicos da ATV e NAc; JWH-133: doses 3, 10 e 20 mg/kg (30 min antes do teste). reduziu dopamina no NAc.
Ignatowska-Jankowska et al.	2013	AM1241 reduziu reconsolidação da memória associada à morfina	Ratos Wistar; PCL induzida por morfina; evocação + AM1241 (10 mg/kg, i.p.); redução da reconsolidação; efeito revertido por AM630 (3 mg/kg).

Carvalho & Takahashi	2014	A ativação de CB ₂ por AM1241 atenua a reconsolidação da memória associada à morfina; efeito revertido por AM630, confirmando especificidade do receptor	Ratos Wistar submetidos à tarefa de preferência condicionada ao lugar (PCL) induzida por morfina; após evocação da memória, foi administrado AM1241 (10 mg/kg, i.p.) , resultando em redução da PCL após 48h. A pré-administração de AM630 (3 mg/kg, i.p.) bloqueou esse efeito, confirmando a mediação específica por receptores CB₂ .
Aracil-Fenandez et al.	2012	Agonistas CB2 reduzem a autoadministração de cocaína, reforçando seu potencial terapêutico.	Ratos Sprague-Dawley; autoadministração de cocaína; JWH-133 (3 mg/kg, i.p.); redução de ingestão e motivação.
Xi et al.	2011	JWH-133 reduziu reforço de cocaína; efeito bloqueado por AM630 (antagonista CB2).	Autoadministração de cocaína
Svizenska et al.	2008	CB2 expressos em regiões cerebrais associadas à dependência, sugerindo papel modulador. Expressão central de CB2 em regiões associadas à recompensa	Estudos moleculares (qPCR e imuno-histoquímica); CB2 detectado em neurônios do cérebro adulto.
Gong et al.	2006	Primeira evidência de expressão de CB2 no cérebro, desafiando a visão tradicional de que CB2 só atua na periferia.	Análise molecular e histológica; reclassificou CB2 como potencial modulador central.

Fonte: Galaj, E.; Ranaldi, R.

3 MEMÓRIA E DEPENDÊNCIA

A memória é essencial para processos cerebrais vitais à perpetuação das espécies. Nos seres humanos, a memória é fundamental para o aprendizado e para o funcionamento das funções executivas — um conjunto de habilidades cognitivas responsáveis pelo planejamento, tomada de decisão, controle inibitório e flexibilidade mental. A memória de trabalho, em especial, é considerada um componente central dessas funções, permitindo a manipulação ativa de informações durante tarefas complexas (TRATADO DAS FUNÇÕES EXECUTIVAS, 2023). Embora o conhecimento sobre alguns desses processos tenha avançado, ainda não está completamente elucidado como os potenciais elétricos e os fenômenos bioquímicos se traduzem em representações mentais.

A concepção da memória como um "reservatório" de informações é uma das metáforas mais tradicionais nas ciências cognitivas. Essa ideia remonta à teoria seminal de Hebb (1949), que propôs um modelo dual de armazenamento, no qual diferentes sistemas de memória desempenham papéis distintos no processamento e na retenção de informações. Desde o início do século XX, pesquisadores vêm buscando compreender esses sistemas de maneira mais aprofundada.

Nos experimentos clássicos de Müller e Pilzecker (1900), o fenômeno da "interferência retroativa" foi descrito como o impacto de novos aprendizados sobre o conteúdo previamente memorizado. A interferência retroativa pode ser entendida como uma interrupção dos processos neurais de consolidação, comprometendo a retenção de informações recém-aprendidas. (TRENDS IN PSYCHOLOGY, 2017). Utilizando listas de sílabas sem sentido, eles demonstraram que a apresentação de informações adicionais compromete a capacidade de recordar o material apreendido anteriormente. A hipótese levantada pelos autores foi de que uma "tendência à perseverança" das informações poderia favorecer sua consolidação. Demandas cognitivas adicionais podem comprometer a consolidação de memórias, evidenciando o impacto da interferência retroativa (Alves, 2013).

Posteriormente, Hebb (1949) ofereceu uma explicação neurobiológica para esse fenômeno. Segundo sua proposta, a atividade recorrente em circuitos neurais recém-engajados no aprendizado contribui para a manutenção temporária das informações, configurando o que se denomina "memória de curto prazo". Na ausência de interferências, essa atividade sustentada promove alterações estruturais nas

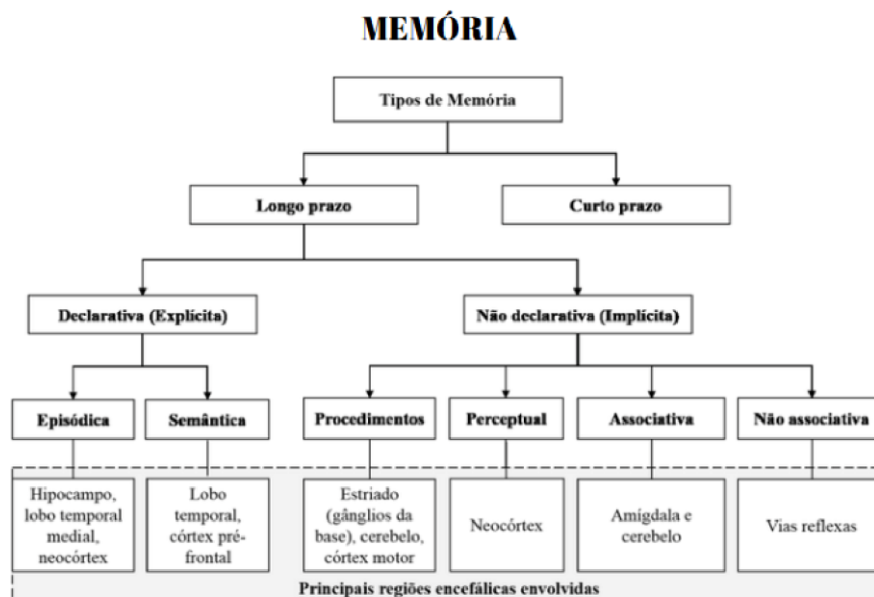
conexões sinápticas, permitindo a fixação estável dessas informações no cérebro — processo que resulta na formação da "memória de longo prazo", conforme o modelo dual de Hebb.

Contudo, houve uma evolução conceitual que fortaleceu o entendimento da memória como um sistema dinâmico que armazena e transforma informações adquiridas. Ainda que as evidências sustentem a consolidação como etapa crítica na estabilização das memórias, desde a década de 1970 surgiram observações que desafiaram a visão de um processo unidirecional e irreversível. Diversos estudos apontam para a possibilidade de que memórias já consolidadas possam retornar a estados de instabilidade, abrindo caminho para sua atualização ou modificação — fenômeno associado à reconsolidação.

3.1 PROCESSOS DA MEMÓRIA

A formação e manutenção de memórias envolvem fases distintas, como a aquisição, consolidação, evocação, reconsolidação, persistência e extinção. A aquisição refere-se ao momento em que a informação chega ao sistema nervoso por meio das estruturas sensoriais, que a transportam até o cérebro. O estímulo atinge os órgãos receptores e é transmitido ao sistema nervoso central através dos nervos sensitivos (Kandel, 2006). Já a consolidação é o armazenamento da informação, que pode ocorrer de duas formas: através de alterações bioquímicas e por fenômenos eletrofisiológicos. Nos fenômenos eletrofisiológicos, ao tentar memorizar uma nova situação, determinados conjuntos de neurônios continuam disparando durante alguns segundos, retraindo temporariamente a informação. Este tipo de memória é efêmero e não forma traços bioquímicos, ocorrendo na memória sensorial e na memória de trabalho (Kandel, 2006). Alterações bioquímicas incluem mudanças estruturais, como a formação de novas espinhas dendríticas e prolongamentos axonais, e funcionais, como a formação de novos canais iônicos e proteínas sinalizadoras, ambos relacionados à síntese proteica (Purves et al., 2012).

Figura 2- Formação e tipos de memória



Fonte: Modificada de (Bartsch *et al.*, 2013).

Legenda da figura 3: Classificação dos principais tipos de memória humana, incluindo memória sensorial, memória de curto prazo (ou memória de trabalho) e memória de longo prazo. A memória de longo prazo é subdividida em memória declarativa (explícita) e não declarativa (implícita), com destaque para seus sistemas e funções cognitivas associadas.

Cada fase da memória — codificação, consolidação, armazenamento e evocação — é mediada por circuitos neurais e processos bioquímicos distintos (Squire, 2004). A consolidação da memória envolve uma cascata de eventos moleculares e celulares que alteram a eficácia sináptica, como a ativação de vias intracelulares, modulação da expressão gênica e síntese proteica (McGaugh, 2000). Esse processo depende da interação funcional entre o hipocampo e o córtex cerebral, sendo essencial para a estabilização de traços mnêmicos e para a reorganização gradual das informações, tornando-as mais resistentes à interferência e aptas ao armazenamento de longo prazo (Tse *et al.*, 2011).

Essa fase requer a síntese de novas proteínas e expressão de genes para garantir modificações sinápticas duradouras (Nader, 2003; Izquierdo, 2006). A consolidação inicial ocorre por meio da reorganização de memórias pré-existentes (Mckenzie *et al.*, 2011). A fase tardia da consolidação pode durar dias ou semanas,

resultando em armazenamento permanente (Mcgaugh, 2000; Nader, 2003; Izquierdo, 2006).

A evocação de memórias de longo prazo pode induzir instabilidade transiente, exigindo nova transcrição gênica e síntese proteica para sua reestabilização (Alberini, 2011). A recuperação de experiências anteriores é influenciada pelos eventos em curso, resultando em alterações na memória original e na incorporação de novas informações (Mckenzie *et al.*, 2011). A reconsolidação envolve a atualização de memórias existentes, tornando-as menos suscetíveis à desorganização (Tronson *et al.*, 2013).

Os diferentes tipos de memória são classificados de acordo com o tempo de duração, sendo: memórias de trabalho, de curta duração, de longa duração e remotas (Izquierdo, 2011).

As memórias relacionadas à experiência da droga podem ser categorizadas em duas principais: memórias declarativas relacionadas à droga e memórias não declarativas relacionadas à droga. As memórias declarativas são aquelas adquiridas através de intervenção da consciência e subdividem-se em memórias semânticas e episódicas: memória semântica que se refere aos conhecimentos gerais ou informações impessoais sobre a droga. Estudos sugerem que a formação de memórias semânticas relacionadas à droga geralmente começa antes do primeiro episódio de consumo, quando o indivíduo adquire informações sobre a droga. As memórias episódicas, por outro lado, compreendem todas as experiências vividas com a droga. Isso inclui memórias formadas automaticamente a partir dos efeitos da intoxicação aguda até episódios emocionais aversivos ocorridos durante a abstinência subsequente. Na pesquisa pré-clínica, há uma limitação experimental significativa na avaliação das memórias episódicas relacionadas à droga, apesar da existência de tarefas experimentais preditivas de memórias episódicas, como o teste de reconhecimento de objetos (Winters *et al.*, 2008)

A desestabilização da memória original é o mecanismo pelo qual a memória torna-se lábil, permitindo sua modificação ou reconsolidação (LEE *et al.*, 2008). Este mecanismo envolve a degradação de proteínas sintetizadas durante a consolidação da memória e requer a ativação de receptores CB1, canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo L e receptores glutamatérgicos NMDA contendo a subunidade NR2B (Tronson, 2013). A reestabilização da memória após a evocação demanda a síntese de proteínas e fatores de transcrição de genes imediatos, bem como moléculas de

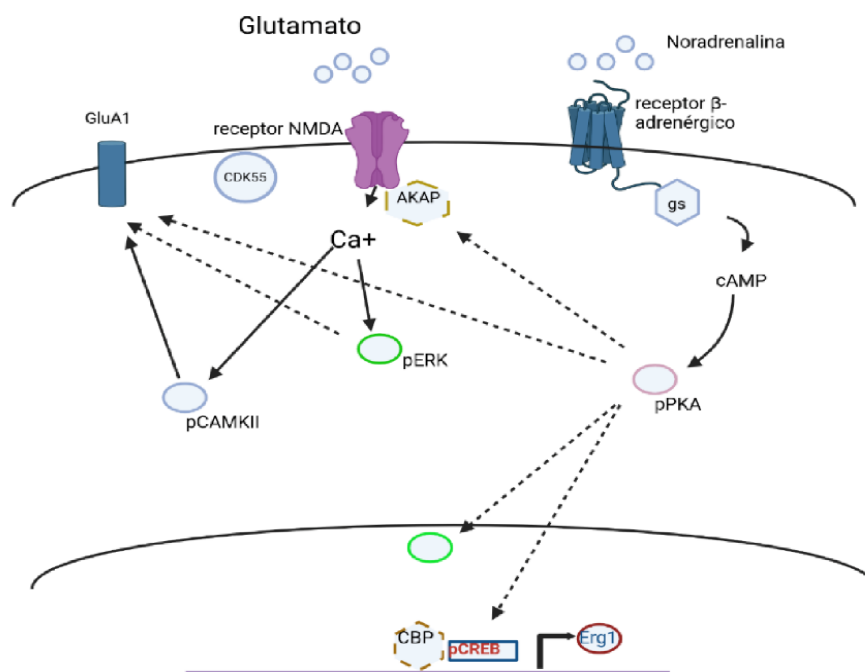
sinalização intracelular, como a proteína quinase A (PKA) e o CREB em diversas estruturas encefálicas. As proteínas necessárias para a reestabilização da memória são reguladas pela expressão do gene imediato Zif/268, relacionado à plasticidade e essencial para o processo de reconsolidação (Dudai, 2004). Embora a consolidação da memória de longa duração seja um fenômeno bem estabelecido experimentalmente, a reconsolidação, ao que parece, não é universal, com alguns pesquisadores falhando em detectá-la em certos paradigmas comportamentais. Muitas intervenções farmacológicas que bloqueiam a consolidação também prejudicam a reconsolidação, sugerindo que a reconsolidação pode recapitular eventos moleculares da consolidação. No entanto, diferenças bioquímicas e farmacológicas significativas entre os dois processos foram identificadas (Lee et al., 2008). A reconsolidação e a extinção da memória oferecem oportunidades para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas anti recaídas. A terapia de exposição de pistas consiste em reexpor indivíduos dependentes a estímulos associados ao uso da droga, na tentativa de reduzir a fissura e prevenir a recaída. No entanto, a persistência das memórias relacionadas à droga e a resistência ao processo de extinção limitam o sucesso dessas terapias na clínica (Sorg, 2012).

Pesquisas pré-clínicas exploraram a possível utilidade clínica de abordagens terapêuticas baseadas na reconsolidação para tratar distúrbios associados a memórias mal adaptativas, como o transtorno de estresse pós-traumático e a dependência de drogas (Debiec *et al.*, 2006; Sorg, 2012). Memórias induzidas por outras drogas de abuso, como anfetamina e morfina, também são susceptíveis à interrupção da reconsolidação por agentes amnésicos (Sorg, 2012, Carvalho et al., 2017).

3.1.1 Mecanismos neuroquímicos da reconsolidação

A reconsolidação de memórias associadas às drogas de abuso envolve sistemas noradrenérgico e glutamatérgico, especificamente receptores β -adrenérgicos e NMDA (Lee et al., 2008; Itzhak, 2008). baixo, na **Figura 3**, a representação dos principais mecanismos envolvidos na reconsolidação memórias apetitivas.

Figura 3- Representação dos principais mecanismos envolvidos na reconsolidação memórias apetitivas



Fonte: reproduzida de Tronson et al., 2013

Legenda da figura 3 - Representação dos principais mecanismos envolvidos na reconsolidação de memórias apetitivas. A ativação dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA ou dos receptores β -adrenérgicos desencadeia cascatas de sinalização intracelular que culminam na transcrição de genes e proteínas essenciais para o processo de reconsolidação. Os símbolos, representados por linhas contínuas e tracejadas, indicam proteínas que desempenham papéis cruciais na reconsolidação. As setas, tanto contínuas quanto tracejadas, representam as principais vias de sinalização que podem mediar esse processo. Abreviaturas: pPKA: Proteína quinase A fosforilada; pCaMKII: Proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina II fosforilada; pERK: Proteína quinase regulada por sinais extracelulares fosforilada; AKAP: Proteína quinase de ancoragem; pCREB: Proteína de ligação ao elemento de resposta CRE fosforilada; proteína de ligação ao CREB; Egr-1: Proteína de resposta

ao crescimento precoce-1 (Zif268); CDK5: Proteína quinase dependente de ciclina 5; Gs: Proteína G que estimula a adenil ciclase; cAMP: AMP cíclico; GluA1: Subunidade do receptor AMPA glutamatérgico.

3.1.2 Sistema de Recompensa na Dependência de Drogas

O sistema de recompensa do cérebro é um mecanismo essencial para a sobrevivência, responsável por promover comportamentos necessários à vida, como alimentação, atividade física e relação sexual, através de efeitos motivacionais positivos conhecidos como reforço positivo. Este sistema também desempenha um papel crucial em respostas negativas a estímulos aversivos, aumentando a probabilidade de comportamentos que evitem ou aliviem estados desagradáveis, um processo denominado reforço negativo. A via mesocorticolímbica é composta por neurônios dopaminérgicos que se projetam da ATV para o NAc e estriado dorsal, além do CPF. Esta via interage com projeções glutamatérgicas provenientes de outras estruturas límbicas, como o hipocampo e a amígdala, regulando conjuntamente respostas aos reforços naturais. A função fisiológica do sistema de recompensa é motivar ações necessárias para a sobrevivência do indivíduo ou para a perpetuação da espécie, como o consumo de água, alimentos e comportamento sexual (Wise, 2004). O sistema endocanabinoide participa da regulação da atividade da via de recompensa cerebral, influenciando os efeitos reforçadores de recompensas naturais e de drogas de abuso. Diferente da experiência inicial de prazer, proporcionada por estímulos gratificantes, a exposição prolongada às drogas leva a uma plasticidade sináptica anormal, estados emocionais negativos e prejuízos nos processos de aprendizagem e memória. Esses fatores contribuem para o consumo compulsivo de substâncias, característica marcante da dependência química. A ativação dos receptores CB1, amplamente expressos em regiões críticas como a ATV, NAc, amígdala, hipocampo e CPF, facilita os efeitos reforçadores de diferentes drogas de abuso, promovendo a liberação de dopamina no NAc e interferindo na plasticidade sináptica resultante do uso repetido de drogas (Kauer & Malenka, 2007).

As drogas de abuso que ativam essa via, resultam em efeitos reforçadores iniciais que são cruciais para o desenvolvimento da dependência. Esse processo é mediado pela liberação de dopamina no NAc, que gera sensações de prazer e recompensa (Wise, 2004). Além disso, a interação com projeções glutamatérgicas de

estruturas límbicas, como o hipocampo e a amígdala, intensifica a resposta do sistema de recompensa, reforçando a associação entre o uso de drogas e o ambiente, o que facilita a formação de memórias associadas ao prazer proporcionado pelas drogas. Isso contribui significativamente para o comportamento compulsivo e o ciclo vicioso da dependência (Kauer *et al.*, 2007). Essas descobertas destacam a complexa interação entre os sistemas de recompensa, dopaminérgico e endocanabinoide na regulação das respostas aos reforços naturais e às drogas de abuso.

3.1.3 Sistema opioide endógeno

Os receptores opioides e seus ligantes peptídicos endógenos são amplamente distribuídos pelo SNC e tecidos periféricos. Essa ampla distribuição está relacionada ao importante papel que o sistema opioide desempenha no controle de diversas funções fisiológicas, incluindo nocicepção, comportamento emocional, aprendizagem e memória, regulação do apetite e regulação da via de recompensa (Bodnar, 2008). A existência de receptores de membrana no cérebro para drogas opioides foi demonstrada pela primeira vez em 1973. Alguns anos depois, diferentes sítios de ligação de opioides foram identificados, confirmando que os receptores opioides não constituíam uma população homogênea. O conhecimento do sistema opioide endógeno foi amplamente aprimorado desde a caracterização molecular e clonagem dos diferentes receptores opioides μ , δ e κ na década de 90. Os receptores opioides pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína Gi/Go. A ativação dos receptores opioides leva à inibição da produção de AMPc e dos canais de Ca^{+2} dependentes de voltagem, bem como à estimulação de canais de K^{+} e à ativação da via da MAP quinase. No nível celular, todas essas ações induzem a inibição da atividade neuronal e uma redução na liberação de neurotransmissores.

Os opioides endógenos consistem em três famílias que derivam da quebra proteolítica de grandes precursores proteicos. Estas moléculas grandes incluem a proopiomelanocortina (POMC), que é o precursor da β -endorfina; a preproencefalina (PENK), que é o precursor da leucina (Leu) e da metionina (Met)-encefalinas; e a preprodinorfina (PDYN), que é o precursor das dinorfinas (incluindo dinorfinas A e B, e neoendorfinas). Outros dois peptídeos opioides endógenos, endomorfina-1 e -2 também foram identificados, mas sua função ainda não é completamente compreendida.

Existe uma organização diferencial das vias opioides endógenas no SNC. De modo que os neurônios POMC que sintetizam β -endorfina são restritos a dois locais, o núcleo arqueado do hipotálamo e o núcleo do trato solitário na medula dorsal, e fornecem projeções por todo o SNC. Os neurônios POMC do trato do núcleo arqueado projetam-se para todas as áreas do prosencéfalo e mesencéfalo límbicos, incluindo o NAc, amígdala, hipotálamo, substância cinzenta periaquedutal (PAG) e VTA; os neurônios POMC do núcleo do trato solitário projetam-se principalmente para o tronco encefálico e a medula espinhal. Em contraste, PENK, PDYN e PNOC são expressos em neurônios locais distribuídos em vários níveis do SNC, incluindo gânglios da base, hipocampo, tálamo, hipotálamo, PAG, VTA, porção ventromedial rostral da medula (RVM); e camadas superficiais do corno dorsal e do núcleo caudal do trigêmeo. Esses neurônios opioidérgicos locais têm uma distribuição heterogênea; por exemplo, PENK é abundantemente expresso no tálamo e PDYN no hipocampo, hipotálamo e NAc. Em muitas regiões, os opioides são coexpressos com outros neurotransmissores. Por exemplo, PENK e PDYN são expressos em duas subpopulações diferentes de neurônios GABAérgicos espinhosos médios no estriado enquanto a encefalina pode ser coexpressa em neurônios GABAérgicos ou glutamatérgicos nas lâminas superficiais do corno dorsal da medula espinhal (BENARROCH, 2012).

A farmacologia dos receptores opioides é complexa. A família de receptores opioides inclui o receptor μ (MOR, MOP ou OP2), codificado pelo gene OPRM1; o receptor δ (DOR, DOP, OP3), codificado pelo gene OPRD1; e o receptor κ (KOR, KOP, OP2), codificado pelo gene OPRK1. Enquanto todos os três tipos de receptores opioides são definidos farmacologicamente por seu bloqueio pela naloxona, esses receptores incluem diferentes subtipos, conforme definidos por sua afinidade diferente a uma variedade de agonistas e antagonistas. Por exemplo, os receptores opioides μ incluem receptores μ_1 , responsáveis pela analgesia supraespinhal, e receptores μ_2 , que medeiam a depressão respiratória e a miose desencadeadas por opioides. Estudos farmacológicos mostram que a β -endorfina atua principalmente por meio dos receptores μ e δ , as encefalinas por meio dos receptores δ e as dinorfinas por meio dos receptores κ . A nociceptina se liga ao ORL1 (receptor opioide semelhante a 1), também denominado receptor de nociceptina (NOP), que está intimamente relacionado aos receptores opioides tradicionais, mas tem baixa afinidade de ligação para agonistas e antagonistas opioides seletivos (Benarroch, 2012).

Os receptores opioides são amplamente em todo o SNC incluindo o córtex cerebral, sistema límbico, gânglios da base, tronco encefálico e corno dorsal, bem como no gânglio da raiz dorsal (GRD) e sistema nervoso entérico. Contudo, a distribuição dos seus subtipos é diferenciada. O receptor μ é o receptor mais abundante na amígdala, tálamo e tronco encefálico; o receptor δ é principalmente expresso no córtex cerebral, sistema olfatório, estriado e córtex límbico; e o receptor κ no claustró, estriado e hipotálamo. Todos os três subtipos de receptores são expressos nas lâminas superficiais do corno dorsal e no núcleo caudal do trigêmeo. A distribuição anatômica geral de peptídeos e receptores indica que existem dois sistemas ligantes/receptores opioides funcionalmente distintos, um sistema β -endorfina-encefalina/ μ - δ e um sistema dinorfina/ κ e nociceptina/NOP. Esses dois sistemas têm efeito diferencial na modulação nociceptiva e comportamental (Benarroch, 2012).

A administração exógena de compostos opioides clássicos, como a morfina, ativa o sistema de recompensa mesolímbico principalmente pela estimulação de receptores opioides na ATV e no NAc. Mais especificamente, os opioides facilitam a liberação de DA ativando os receptores opioides μ e δ no NAc e diminuindo a inibição de GABA via receptores opioides μ na ATV. Nessa estrutura cerebral, os receptores opioides μ estão localizados principalmente nos interneurônios GABA (Steffensen *et al.*, 2006). Estudos em animais mostraram um envolvimento diferencial dos receptores μ , δ e κ nas propriedades de recompensa dos opioides. Em contraste com os agonistas opioides μ e δ , os agonistas κ aumentaram os limiares de recompensa cerebral para autoestimulação intracraniana (Béguin *et al.*, 2008) e induzem efeitos aversivos no paradigma da preferência condicionada ao lugar (Land *et al.*, 2008). As dinorfinas são altamente expressas no NAc), onde regulam a atividade dos neurônios dopaminérgicos mesolímbicos, atuando nos receptores opioides κ localizados no NAc e na ATV (Shippenberg *et al.*, 2007).

Sabe-se que os opioides e os canabinoides compartilham vários efeitos farmacológicos, incluindo antinocicepção, hipotermia, inibição da atividade locomotora, hipotensão e sedação. Além disso, diversas evidências sugerem uma forte ligação entre os sistemas endocanabinoide e opioide. Por exemplo, os receptores canabinoides e opioides são frequentemente colocalizados em muitas estruturas cerebrais, incluindo ATV e estriado, as quais modulam comportamentos motores e de recompensa. Além disso, observa-se a formação de heterodímeros entre

os receptores CB1 e opioides (μ e δ) sugere uma cooperação entre os dois sistemas. Os receptores opioides são amplamente distribuídos no cérebro, especialmente em estruturas envolvidas na regulação da motivação e do estresse, e existe uma interação entre os sistemas canabinoide e opioide, particularmente na regulação da motivação de comportamentos de busca por recompensa (Carvalho *et al.*, 2014).

3.1.4 Neuroplasticidade e aprendizado

A dopamina, além de neurotransmissor, modula sensibilidade de neurônios a outros sistemas, como a acetilcolina, modulando neurotransmissões glutamatérgicas e GABAérgicas (Gerfen *et al.*, 2011; Nicola *et al.*, 2000), essenciais para respostas funcionais aos estímulos ambientais. No estriado, a dopamina controla a atividade dos neurônios de entrada liberadores de glutamato e dos neurônios de saída liberadores de GABA. Esse processo facilita modificações celulares duradouras que potencializam ou deprimem a influência do glutamato, determinando a eficácia dos preditores de recompensa em controlar comportamentos de busca futuros (Schultz, 2016).

A neuroplasticidade induzida por drogas envolve alterações significativas em diversas áreas do cérebro, incluindo o córtex pré-frontal e os circuitos de recompensa mesolímbicos. Um importante fenômeno de plasticidade é o hipofrontalismo, caracterizado pela hipoatividade dopaminérgica no córtex pré-frontal, resultante da interação entre dopamina, receptores D2 e diversas drogas de abuso (Fernandez-Espejo *et al.*, 2018). Essa condição afeta a resposta ao estresse e a resiliência, com os endocanabinoides (eCBs) desempenhando um papel mediador crucial. Além disso, a sensibilização aditiva envolve um aumento progressivo da resposta dopaminérgica nas principais áreas do circuito mesolímbico, reforçada pelo consumo crônico de drogas. Esse fenômeno está relacionado à LTP, com o aumento da transmissão de glutamato, regulação positiva dos receptores NMDA e D1, e hiperatividade da via da proteína-quinase A e do AMPc. Embora os eCBs tenham um papel mais discreto na sensibilização aditiva, são fundamentais na sensibilização de incentivo, facilitando a associação comportamental com sinais ambientais produzidos por drogas como cocaína, nicotina e álcool (Fernandez-Espejo *et al.*, 2018).

Estudos indicam que animais sem dopamina exibem apenas reflexos incondicionados, enquanto o disparo fásico dos neurônios dopaminérgicos reforça o

aprendizado, ao passo que o disparo tônico controla a motivação (Wheeler *et al.*, 2018). A administração de substâncias como sacarina e cocaína em contextos experimentais revela que a aversão aprendida à sacarina, que prevê a autoadministração retardada de cocaína, está correlacionada com o rápido consumo de droga no início da sessão. Além disso, as pistas preditivas de drogas como a cocaína são aversivas quando apresentadas na ausência da droga, aumentando autorrelatos de raiva, confusão, tensão e depressão em humanos e induzindo um estado de desejo afetivo negativo (Blaine *et al.*, 2018). É importante destacar que a liberação tônica de dopamina e o disparo fásico do sistema dopaminérgico desempenham papéis cruciais na excitação motivacional e na vontade de exercer esforço para obter uma recompensa. O disparo fásico refere-se a uma série de descargas individuais, desencadeadas por uma corrente de despolarização lenta nos neurônios dopaminérgicos, que descarregam de forma algo irregular (Bunney *et al.*, 1991). Nesse contexto, torna-se relevante investigar substâncias com potencial para modular os mecanismos neurobiológicos envolvidos na neuroplasticidade induzida por drogas, especialmente no circuito dopaminérgico e nos processos de aprendizado associativo. Uma dessas substâncias é o β -cariofileno (BCP), um fitocomposto com propriedades farmacológicas específicas sobre o sistema endocanabinoide, particularmente por sua ação seletiva nos receptores CB2. A seguir, são discutidas as principais características bioquímicas e funcionais do BCP, bem como sua relevância como agente modulador em modelos de dependência.

3.1.5 Propriedades Farmacológicas do β -cariofileno

O β -cariofileno, também conhecido pela nomenclatura IUPAC como (1R,4E,9S)-4,11,11-trimetil-8-metilidenobiciclo[7.2.0]undec-4-ene, é um líquido oleoso amarelado com um odor pungente, característico do cravo-da-índia. Sua fórmula molecular é $C_{15}H_{24}$, com peso molecular de 204,36 g/mol. O que realmente se destaca sobre esse composto é a sua estrutura rara, que inclui um anel ciclobutano e um anel de nove átomos com duas ligações duplas trans. Esse sesquiterpeno bicíclico ocorre naturalmente em óleos essenciais de várias plantas, incluindo a *Cannabis sativa*, o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (Dos Santos Barbosa *et al.*, 2023).

A ligação do BCP ao CB2 ativa a subunidade Gai/o, promovendo várias conformações do receptor que modulam diversas vias de sinalização: (i) Supressão da adenilato ciclase, redução da produção de AMP cíclico e menor estimulação da PKA, resultando na inibição dos canais de K⁺ do tipo A e na regulação de expressão gênica específica; (ii) Ativação das vias de sinalização da Akt/PKB, favorecendo a sobrevivência, migração e crescimento celular; (iii) Indução da síntese de ceramida e inibição da cascata MAPK, promovendo apoptose; e (iv) Recrutamento de β -arrestina, levando à dessensibilização e/ou internalização do receptor CB2 e possível ativação da sinalização mediada por arrestina (Hashiesh *et al.*, 2021).

A ação do BCP como agonista seletivo do receptor canabinoide CB2 é de particular interesse, uma vez que a ativação deste receptor não está associada aos efeitos psicoativos mediados pelo receptor CB1. Isso torna o BCP um candidato promissor para o desenvolvimento de novas terapias que visam doenças inflamatórias e condições relacionadas à dor sem os efeitos colaterais adversos associados aos canabinoides que ativam CB1. Além disso, o BCP foi aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos para uso como um agente aromatizante, aditivo alimentar e intensificador de sabor em alimentos. Numerosos benefícios terapêuticos e ausência de efeitos psicotrópicos tornam o BCP um candidato promissor para uso terapêutico, incluindo o tratamento de múltiplas doenças inflamatórias crônicas. Algumas evidências experimentais indicam o potencial terapêutico do β -cariofileno no tratamento da dependência de drogas (Al Mansouri *et al.*, 2014; He *et al.*, 2020, 2021; Galaj *et al.*, 2021). Por exemplo, a administração sistêmica de β -cariofileno, diminui o consumo de álcool e a preferência condicionada ao lugar induzida por etanol em camundongos (Al Mansouri *et al.*, 2014), reduz a autoadministração operante de cocaína, nicotina e metanfetamina, bem como a motivação e os comportamentos de busca pelas drogas em roedores (HE *et al.*, 2020; 2021; Gala *et al.*, 2021). Esses efeitos do β -cariofileno sobre os comportamentos reforçadores induzidos por diferentes drogas de abuso parecem envolver a supressão da sinalização dopaminérgica na via de recompensa (Zhang *et al.*, 2014).

O β -cariofileno se liga seletivamente aos receptores CB2, e tem atividade de ligação insuficiente ao receptor CB1 humano (hCB1), ou seja, não é capaz de substituir agonistas de alta afinidade do hCB1. O BCP se liga ao receptor CB2 humano com uma constante inibitória pKi de 155 nM, com uma afinidade de ligação ao receptor

cerca de 150 vezes menor do que o potente ligante canabinoide de alta afinidade WIN55,212-2 (pKi do hCB2R é 1,2 nM).

As evidências atuais indicam que o β -cariofileno (BCP) possui um potencial significativo como um agente vegetal com propriedades seletivas para o receptor CB2R, justificando sua aplicação em tratamentos farmacoterapêuticos e seu desenvolvimento como um medicamento. Além disso, dada sua ampla presença em plantas comestíveis e uso seguro na dieta, sem toxicidade, o BCP tem potencial para ser promovido como um nutracêutico e alimento funcional, contribuindo para a saúde e o bem-estar geral. É necessário que mais estudos sejam conduzidos para explorar as oportunidades farmacológicas e farmacêuticas do BCP para aplicações terapêuticas e preventivas em diversas doenças humanas (Hashiesh *et al.*, 2021).

4 METODOLOGIA

4.1. ANIMAIS

Foram utilizados 195 ratos Wistar adultos (2-3 meses), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram alojados em gaiolas plásticas (42 x 34 x 17 cm), com condição controlada de temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas, fase clara das 6:00 às 18:00 h) e com livre acesso a água e ração. Os protocolos experimentais foram conduzidos de acordo com as recomendações internacionais de manipulação e experimentação animal. Todos os procedimentos experimentais empregados neste projeto de pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da UFSC sob o CEUA nº 1312041022, sob a responsabilidade de Cristiane Ribeiro de Carvalho e equipe.

4.2 MODELOS EXPERIMENTAIS

4.2.1 Preferência condicionada ao lugar

Os protocolos envolvendo a PCL têm sido extensamente utilizados para investigar as bases neuroquímicas da reconsolidação das memórias associadas à droga (Prus; *et al.*, 2009). O paradigma da PCL é baseado na capacidade do animal em associar o “efeito da droga” com dicas do ambiente. Tal associação leva o animal a apresentar um comportamento de busca pelo efeito da droga, quando ele não está sob o efeito desta. Assim, um efeito reforçador positivo induzido pela droga manifesta-se através de um relativo aumento no tempo gasto no ambiente pareado à droga, e um efeito reforçador negativo manifesta-se através de uma redução relativa no tempo gasto no ambiente pareado à droga. As sessões de PCL foram conduzidas em uma sala com iluminação baixa (aproximadamente 10 Lux) em quatro caixas retangulares idênticas feitas de madeira revestida com material adesivo com cores e texturas distintas.

Foram utilizados, dois tipos de aparatos ambos feitos de madeira revestida com fórmica, um deles (**Figura 4**) com três compartimentos conforme descrito

previamente (Carvalho *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2017), o outro com dois compartimentos grandes de dimensões iguais ao primeiro (**Figura 5**). O comportamento de cada animal foi registrado através de uma câmera de vídeo posicionada acima do aparato e monitorado em uma sala adjacente por um circuito fechado de TV.

Figura 4 - Imagem da caixa de PCL de três compartimentos.



Fonte: Retirada da Tese de Doutorado (Carvalho, 2014).

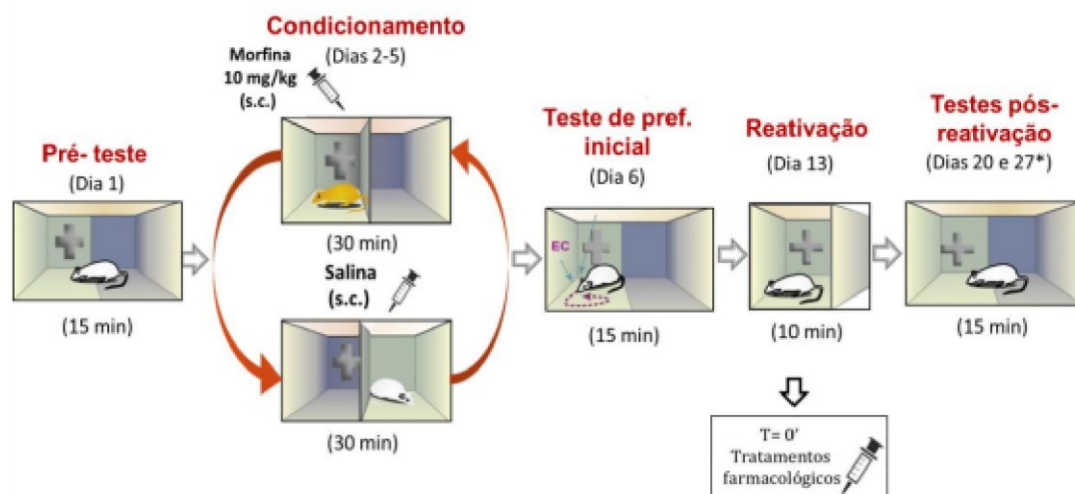
Figura 5- Imagem da caixa de PCL de dois compartimentos



Fonte: Foto da autora.

Por conta dos aparatos diferentes, houve pequenas variações de protocolos de preferência condicionadas ao lugar induzida pela morfina. A Figura 6 representa um esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à droga, utilizado na maioria dos experimentos, que consiste na aquisição (pré-teste, condicionamento e teste de preferência inicial), reativação e testes pós-reativação da PCL induzida pela droga.

Figura 6- Protocolo de reconsolidação da preferência condicionada ao lugar.



Fonte: Retirada da Tese de Doutorado (Carvalho, 2014).

Legenda da figura 6: Esquema representativo do protocolo de PCL. Representação esquemática das etapas do protocolo de condicionamento de preferência de lugar (PCL).

4.2.2 Aquisição da preferência condicionada ao lugar

O protocolo de aquisição da PCL consistiu em pré-teste (dia 1), condicionamento (dias 2-5) e teste de preferência inicial (dia 6). No pré-teste, cada animal foi colocado em um dos compartimentos e, aproximadamente, após 10 segundos a porta guilhotina foi aberta e o animal teve livre acesso aos compartimentos A e B, por 15 minutos. Foi feito o registro do tempo gasto em ambos os compartimentos em cada um dos animais. Os animais que apresentaram preferência “não-condicionada” por qualquer um dos compartimentos, ou seja, os animais que permaneceram por 540 segundos ou mais em um dos compartimentos, foram eliminados do experimento (Carvalho *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2017), sempre condicionados com a droga no compartimento em que permaneceram menos tempo no pré-teste. Em cada sessão de condicionamento, o animal recebeu uma injeção subcutânea (s.c.) de morfina 10 mg/kg e foi imediatamente confinado no

compartimento de condicionamento por 30 min. Na sessão seguinte, o animal recebeu uma injeção de solução salina e foi confinado no compartimento

oposto. O condicionamento foi conduzido em duas sessões diárias com intervalo de 6h entre elas. A ordem das injeções foi contrabalanceada entre os grupos e entre os dias de condicionamento. Cada animal recebeu 4 pareamentos com salina alternados com 4 pareamentos com a droga, exceto para o grupo controle (do teste) que recebeu apenas injeções de salina em todas as sessões do condicionamento. Posteriormente, 24h após a última sessão de condicionamento, foi avaliada a expressão da PCL induzida pela droga (teste de preferência inicial) pela medida do tempo gasto em cada um dos compartimentos durante 15 minutos de livre acesso aos dois compartimentos do aparato. O parâmetro comportamental utilizado como índice de preferência foi obtido pela diferença em segundos entre o tempo gasto no compartimento pareado à droga nos testes após o condicionamento e o tempo gasto no mesmo compartimento durante o pré-teste. Em geral, os animais condicionados com morfina permanecem mais tempos no compartimento pareado com a droga no dia do teste de preferência inicial (tempo gasto no compartimento pareado à droga – tempo gasto no compartimento pareado à salina > 0). Ademais, os animais que não apresentaram um aumento de pelo menos 10% (90 s) no tempo gasto no compartimento pareado com a droga no teste de preferência inicial, comparado com tempo gasto no mesmo compartimento durante o pré-teste, foram excluídos do estudo. Este critério de exclusão tem sido usado para garantir uma maior robustez da PCL induzida pela droga (Carvalho *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2017), uma vez que o intuito do estudo é investigar o efeito da manipulação farmacológica sobre a memória associativa induzida pela droga, é imprescindível que os animais expressem o comportamento preditivo de busca pela droga que sugere que adquiriram um aprendizado e memória associativa ligada à droga.

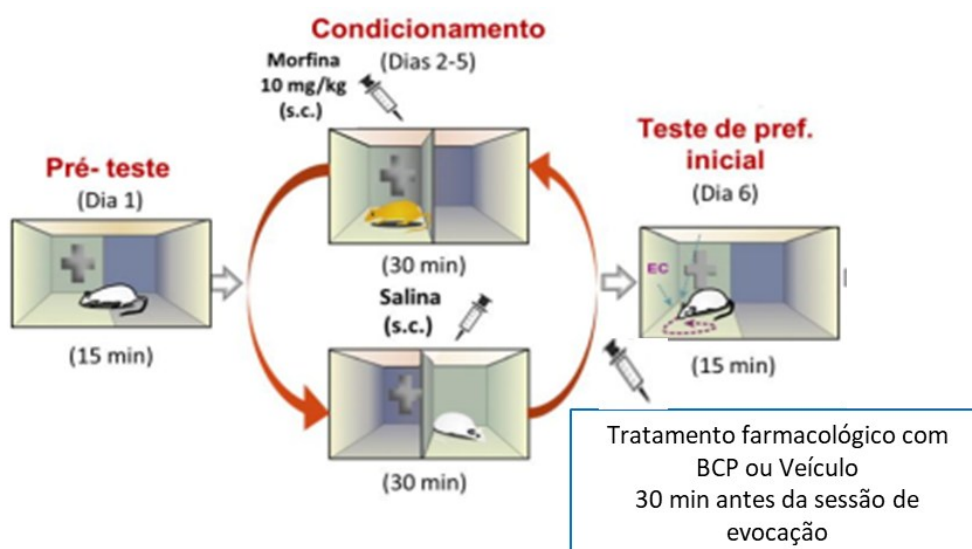
4.2.3 Reconsolidação da PCL

O protocolo de reconsolidação utilizado neste estudo foi o mesmo utilizado em estudos prévios (Carvalho *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2017). A reconsolidação é o processo pelo qual as memórias formadas podem ser novamente estabilizadas ou desestabilizadas após a evocação (i.e., reexposição a estímulos previamente associados com a droga), conforme anteriormente citado. O protocolo de

reconsolidação da PCL foi constituído pela aquisição da PCL, reativação da PCL e testes pós-reativação para avaliar a reconsolidação da memória condicionada à droga. A etapa de aquisição consistiu em pré-teste (dia 1), condicionamento (dias 2-5) e teste de preferência inicial (dia 6). Uma semana após o teste de preferência inicial, foi realizada a reativação da memória associada à droga, onde cada rato foi confinado por 10 minutos no compartimento em que foi condicionado à droga durante a aquisição da PCL, para reativar seletivamente a memória hedônica condicionada à droga (na ausência do efeito da droga) (Carvalho *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2017).

Nos experimentos de evocação e reconsolidação, os grupos experimentais receberam o tratamento farmacológico sistêmico uma única vez, imediatamente antes ou após a sessão de reativação. Após a reativação, os animais permaneceram em suas gaiolas de moradia até os dias em que foram retestados para avaliação da reconsolidação da memória. Assim como nos demais testes (pré-teste e teste de preferência inicial), os testes pós-reativação foram conduzidos na ausência de qualquer tratamento farmacológico. Durante os diferentes testes, cada rato teve livre acesso aos 2 compartimentos da caixa de PCL por 15 min, e foi registrado o tempo de permanência com as 4 patas em cada um dos compartimentos. Conforme descrito anteriormente, o parâmetro de PCL em cada teste foi determinado pela diferença (em segundos) entre o tempo gasto no compartimento pareado com salina e o tempo gasto no compartimento pareado com morfina no dia do teste.

Figura 7- Esquema representativo do protocolo de PCL na evocação da memória condicionada à morfina

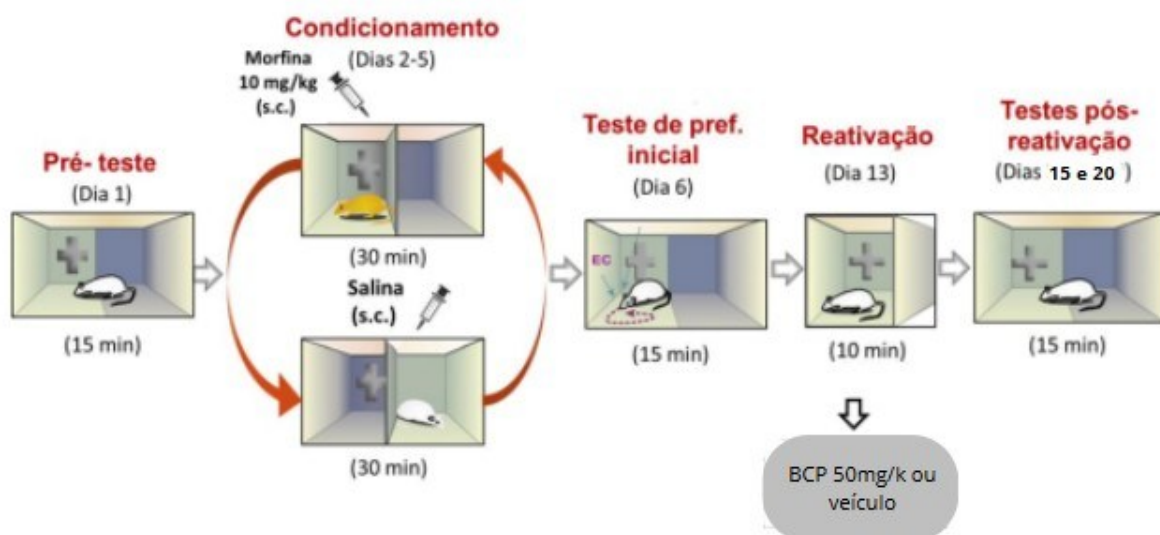


Fonte: Retirada da Tese de Doutorado (Carvalho, 2014).

Legenda da figura 7: Esquema representativo do protocolo de PCL na evocação da memória condicionada à morfina, utilizado no experimento 1. A figura representa o protocolo de etapas de aquisição da PCL induzida pela administração s.c. de morfina que inclui o pré-teste, condicionamento e o teste de preferência inicial, o tratamento farmacológico com o agonista CB2 (BCP) foi realizado antes da sessão de teste de preferência inicial, com o intuito de avaliar o efeito do tratamento sobre a evocação da memória associada à morfina.

A etapa de reconsolidação da memória hedônica associada à morfina foi conduzida seguindo protocolos estabelecidos em estudos prévios (Carvalho *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2017). Esse processo ocorre quando uma memória previamente consolidada é reativada e pode passar por modificações antes de se reestabilizar. No presente experimento, após a aquisição da Preferência Condicionada ao Lugar (PCL), os animais foram submetidos à reativação da memória, sendo confinados por 10 minutos no compartimento previamente associado à morfina, na ausência da droga. Imediatamente após essa reativação, foi administrado β -cariofileno (BCP) de forma sistêmica, com o objetivo de avaliar seu impacto na reconsolidação da memória associada à morfina. Essa intervenção farmacológica se baseia em evidências de que agonistas seletivos do CB2 podem modular a plasticidade sináptica envolvida no reforço da memória hedônica.

Figura 8- Esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à morfina, utilizado nos experimentos 2

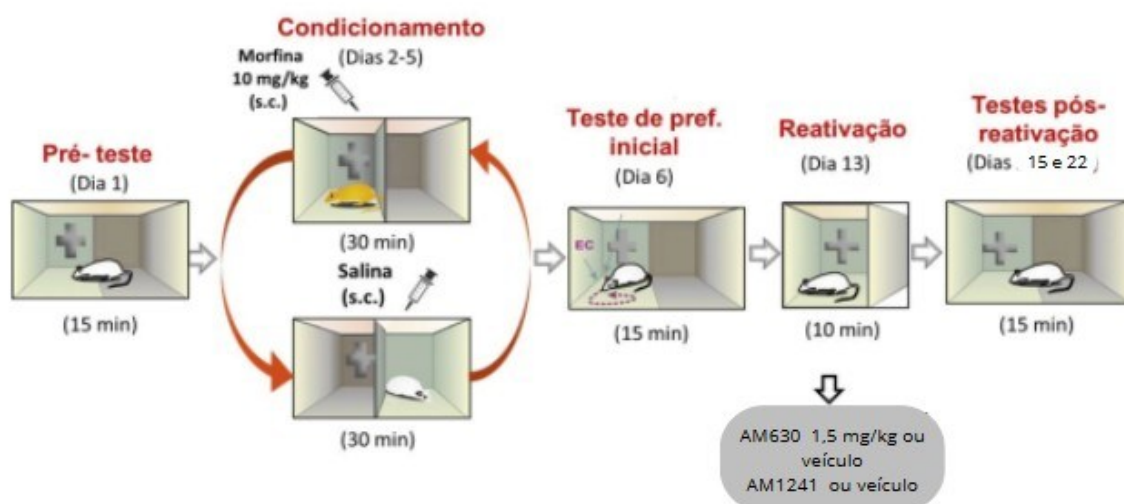


Fonte: Retirada da Tese de Doutorado (Carvalho, 2014).

Legenda da figura 8: Esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à morfina, utilizado nos experimentos 2. A figura representa o protocolo de PCL e o tratamento farmacológico com o agonista CB2 (BCP), imediatamente após a ativação da memória e teste de preferência inicial.

O efeito do BCP foi monitorado em testes realizados 48 horas e 7 dias após a reativação, permitindo a análise da estabilidade e persistência da memória condicionada à droga. O experimento 3 foi realizado com a interferência do antagonista CB2 AM630 na reconsolidação da memória associada à morfina. Para investigar se o pré-tratamento com um antagonista seletivo dos receptores CB2 poderia suprimir os efeitos do agonista AM1241 sobre a reconsolidação da memória associada à morfina, os animais foram distribuídos em diferentes grupos experimentais. Sete dias após o teste de preferência inicial, ratos que apresentaram uma resposta robusta de preferência condicionada ao lugar foram submetidos à reativação da memória hedônica associada à droga. Logo após a reativação, os animais foram subdivididos em quatro grupos experimentais: Morfina/Veículo/Veículo (controle), Morfina/AM630/Veículo (antagonista CB2) e Morfina/Veículo/AM1241 (agonista CB2). Os ratos nos grupos que receberam AM630 (1,5 mg/kg) foram tratados 30 minutos antes da administração intraperitoneal de AM1241 (10 mg/kg). Esse protocolo permitiu avaliar se o antagonismo seletivo dos CB2 interferiria na reconsolidação da memória hedônica associada à morfina. Como controle adicional, um Grupo Salina foi mantido ao longo de todo o experimento sem exposição à droga. Os efeitos do tratamento foram analisados em testes realizados 48 horas e 7 dias após a reativação da memória.

Figura 9- Esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à morfina, utilizado nos experimentos 3.



Fonte: Retirada da Tese de Doutorado (Carvalho, 2014).

Legenda da figura 9: Esquema ilustrativo do protocolo de reconsolidação da memória condicionada à morfina, utilizado nos experimentos 3: Os animais receberam tratamentos farmacológicos específicos para avaliar a interferência do antagonista seletivo de CB2 (AM630) na ação do agonista CB2 (AM1241) sobre a reconsolidação da memória associada à morfina.

4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados com Statistica 7 (Statsoft, Inc., EUA) e os gráficos foram feitos com o GraphPad 5 (GraphPad Inc., EUA). Os dados dos testes da preferência condicionada ao lugar foram analisados através da análise de variância (ANOVA) de uma via ou de duas vias com medidas repetidas quando apropriado, seguido de um teste *post hoc* de Newman–Keuls para múltiplas comparações. O nível de significância admitido teve valor de $\alpha = 0,05$ para todos os testes.

4.3.1 Delineamento experimental

4.3.1.1 Testes comportamentais

Experimento 1: Avaliar se a administração aguda e sistêmica β -cariofileno pode interferir na evocação (expressão) da preferência condicionada ao lugar induzida pela morfina em ratos Wistar. Para isso, os animais previamente condicionados com morfina, após transcorridos 7 dias do teste de preferência inicial, receberam uma única injeção intraperitoneal de veículo ou β -cariofileno, na dose de 50 mg/kg, 30 minutos antes do teste de preferência inicial, com intuito de avaliar os efeitos do β -cariofileno sobre a evocação da preferência condicionada à morfina. O Grupo Salina, recebeu solução salina durante todo o protocolo experimental.

Experimento 2: Avaliar o efeito da administração aguda do β -cariofileno (50 mg/kg) imediatamente após a reativação da memória (breve reexposição do animal ao contexto previamente pareado à morfina) sobre a reconsolidação da memória associada à morfina em ratos treinados na tarefa de preferência condicionada ao lugar. Para isso, 7 dias após o teste de preferência inicial, os animais que apresentaram uma preferência condicionada ao lugar robusta (que apresentaram comportamento de PCL), foram submetidos à reativação da PCL, e imediatamente, após a reexposição ao contexto previamente associado à morfina, receberam uma única injeção de veículo ou β -cariofileno. O Grupo Salina, recebeu solução salina durante todo o protocolo experimental. Em seguida foram levados até a sua gaiola de moradia, onde permaneceram até dos testes que ocorreram 48h e 7 dias após a reativação.

Experimento 3: Avaliar se o pré-tratamento com o antagonista dos receptores CB2 suprime os efeitos a administração aguda do agonista CB2, AM1241, sobre a reconsolidação da memória associada à morfina em ratos treinados na tarefa de preferência condicionada ao lugar. Para isso, 7 dias após o teste de preferência inicial, os animais que apresentaram uma preferência condicionada ao lugar robusta, foram submetidos à reativação da memória condicionada à morfina, e imediatamente, após a reexposição ao contexto previamente associado à morfina (reativação), eles foram subdivididos em 4 grupos: Morfina/Veículo/Veículo; Morfina/AM630/Veículo; Morfina/Veículo/AM1241; Morfina/AM630/AM1241, os quais receberam uma única injeção do antagonista seletivo dos receptores CB2 (AM630, na dose de 1,5 mg/kg) ou veículo 30 minutos antes da injeção intraperitoneal do agonista CB2 AM1241 (10

mg/kg) ou veículo. Os tratamentos farmacológicos iniciaram imediatamente após a reativação da memória condicionada à morfina. O Grupo Salina, recebeu solução salina durante todo o protocolo experimental. Em seguida foram levados até a sua gaiola de moradia, onde permaneceram até dos testes que ocorreram 48h e 7 dias após a reativação.

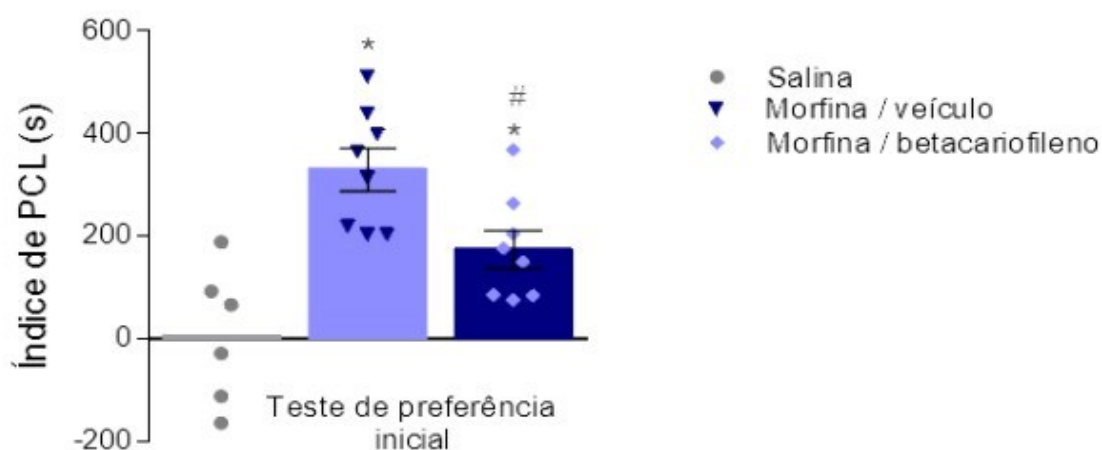
5 RESULTADOS

5.1 A ADMINISTRAÇÃO AGUDA E SISTÊMICA DO B-CARIOFILENO NA DOSE DE 50 MG/KG DIMINUI A EXPRESSÃO (EVOCAÇÃO) DA PREFERÊNCIA CONDICIONADA AO LUGAR INDUZIDA PELA MORFINA EM RATOS WISTAR.

O experimento foi realizado para avaliar se a administração sistêmica do β -cariofileno, 30 minutos antes do teste de preferência inicial, poderia modificar a expressão da preferência condicionada ao lugar induzido pela morfina. A ANOVA de uma via comparando o índice de PCL no teste de preferência inicial revelou efeito significativo do grupo experimental ($F_{2, 22} = 22,625$, $p < 0,05$). O teste *post hoc* de Newman–Keuls para múltiplas comparações revelou diferenças significativas ($p < 0,001$, para ambos) dos dois grupos que receberam morfina quando comparados com o grupo Controle que recebeu salina durante todo o protocolo. O grupo que recebeu o β -cariofileno apresentou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no índice de PCL no teste de preferência inicial comparado ao grupo Morfina/veículo (Figura 11).

No primeiro experimento, após o estabelecimento da PCL, os testes foram realizados como foram descritos anteriormente, com os grupos de animais já divididos e cada qual recebeu, trinta minutos antes, uma injeção intraperitoneal de 50 mg/kg de BCP ou salina antes da exposição no aparato em que o animal havia associado os efeitos da morfina ao ambiente, porém sem a presença da mesma no momento da testagem, por 10 minutos, e registrou-se o tempo em que circulava com livre acesso aos dois compartimentos que compõem o aparato. Após o teste denominado pré-teste, os animais foram submetidos ao protocolo de PCL e, no sexto dia, ocorreu a evocação da memória por exposição ao ambiente associado à memória da morfina após terem recebido, anteriormente, o BCP. Realizamos o teste de preferência inicial para as comparações com o pré-teste, conforme já descrito na metodologia e mostrado na Figura 10.

Figura 10- Efeitos do agonista CB2 betacariofileno na evocação da memória.



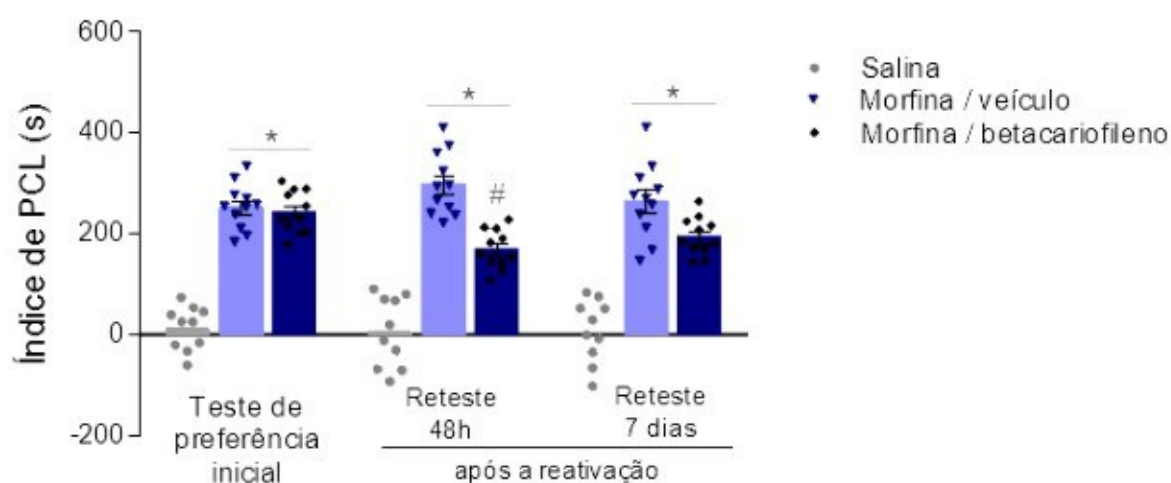
Legenda da figura 10: O agonista CB2, β - A administração sistêmica do β -cariofileno, 30 minutos antes do teste de preferência inicial: animais controle (cinza), condicionados com morfina; animais, foi administrado na dose de 50 mg/kg pela via i.p. 30 minutos antes do teste de preferência inicial. O índice de PCL está representado pelas barras que indicam os valores das médias $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.), enquanto os símbolos indicam os valores de cada indivíduo nos diferentes grupos experimentais, incluindo salina (controle do protocolo experimental), e os dois grupos condicionados com o opioide: Morfina / veículo e Morfina / β -cariofileno ($n=9-10$ /grupo). * indica diferença significativa comparado com grupo salina e # indica diferença significativa em relação ao grupo Morfina / veículo ($P < 0,05$ através da ANOVA de uma via / teste de Newman–Keuls).

5.2 A ADMINISTRAÇÃO AGUDA E SISTÊMICA DO AGONISTA CB2, B-CARIOFILENO, NA DOSE DE 50 MG/KG SOBRE A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA ASSOCIADA À MORFINA DOS RATOS TREINADOS NA PREFERÊNCIA CONDICIONADA AO LUGAR INDUZIDA PELO OPIOIDE.

Esse experimento foi realizado para avaliar se a administração sistêmica do β -cariofileno, imediatamente após a reativação da preferência (pela breve exposição ao contexto previamente associado ao opioide), poderia impactar na reconsolidação da memória associativa da preferência condicionada ao lugar induzida pela betacariofileno morfina. Os animais foram previamente treinados e a memória associativa foi verificada no teste de preferência no teste inicial, e 48 depois foi realizada a sessão de reativação da memória. Imediatamente após a reativação,

grupos independentes de ratos previamente condicionados com morfina foram tratados com o agonista canabinoide CB2, betacariofileno na dose de 50 mg/kg ou veículo. Os animais do grupo Salina receberam solução salina. A ANOVA de uma via com medidas repetidas comparando o índice de PCL através dos diferentes testes revelou efeito significativo do fator Grupo Experimental ($F_{2, 29} = 157,4$; $P < 0,0001$) e uma interação entre os fatores Grupo Experimental vs. Repetição R1 ($F_{2, 58} = 0,7137$; $P < 0,01$), mas não foi detectado um efeito significativo do fator repetição R1 ($F_{4, 58} = 3,78$; $P = 0,49$). A análise *post hoc* através do teste de Newman–Keuls para múltiplas comparações revelou que ambos os grupos que receberam morfina, apresentam índices de PCL significativamente maiores do que o grupo salina nos três testes ($P < 0,0001$, teste de preferência inicial e testes pós-reativação), o que indica que a preferência se manteve ao longo do tempo. O grupo que recebeu o betacariofileno apresentou uma redução significativa da PCL nos testes 48 h ($P < 0,004$) e 7 dias ($P < 0,03$) após a reativação quando comparado com o próprio desenho no teste de preferência inicial. Também foi observado que o grupo que recebeu o β -cariofileno teve o índice de PCL significativamente diferente no grupo Morfina / veículo, nos dois testes 48 h ($P < 0,001$) e 7 dias ($P < 0,05$) após a reativação. Tomados juntos, estes resultados indicam que a administração aguda e sistêmica do β -cariofileno na dose de 50 mg/kg, imediatamente após a reativação da memória, atenuou a reconsolidação da memória associada à morfina em ratos treinados na tarefa de PCL (Figura 11).

Figura 11- Efeito do agonista CB2, betacariofileno sobre a reconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina



Legenda da figura 11: Efeito da administração do agonista CB2, β -cariofileno, na dose de 50 mg/kg sobre a reconsolidação da preferência condicionada induzida pela morfina.

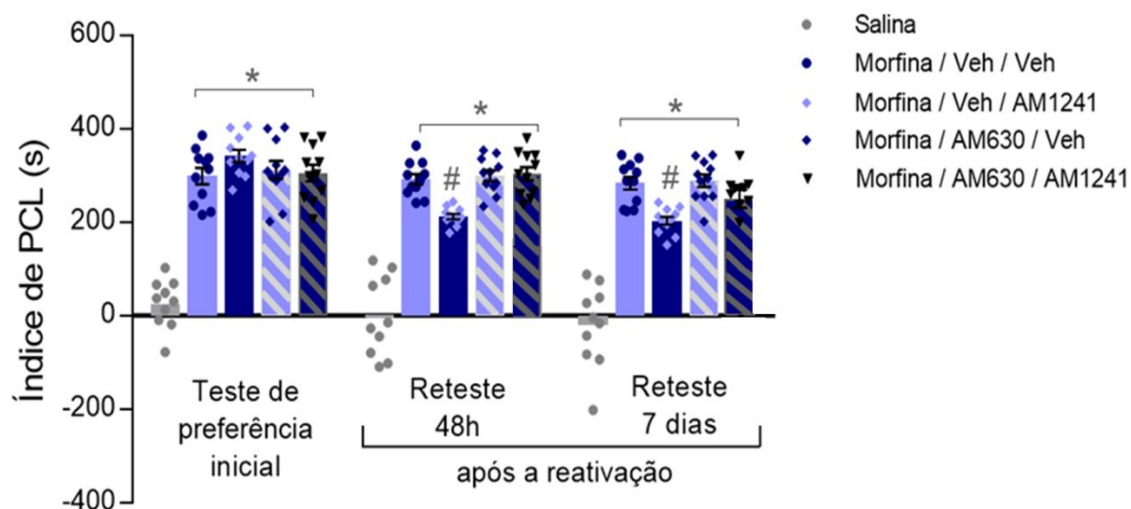
A administração sistêmica do agonista dos receptores CB2, β -cariofileno, reconsolidação da memória condicionada à morfina em ratos treinados na PCL. Imediatamente após a reativação, grupos independentes foram administrados na dose de 50 mg/kg pela via i.p. com betacariofileno. Todos os grupos foram reavaliados 48 horas e 7 dias após tratamento. Os dados estão expressos como índice de PCL que representa a diferença entre o tempo gasto no compartimento pareado à droga no dia do teste e durante o pré-teste, sendo que as barras que indicam os valores das médias $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.), enquanto os símbolos indicam os valores de cada indivíduo nos diferentes grupos experimentais, incluindo salina (controle do protocolo experimental), e os dois grupos condicionados com o opioide: Morfina / veículo e Morfina / β -cariofileno (n=9-10/grupo). * $P < 0,05$ vs grupo Salina; # $P < 0,05$ vs grupo Morfina/Veículo (ANOVA de uma via com repetição / teste de Newman–Keuls).

5.3 A ADMINISTRAÇÃO AGUDA E SISTÊMICA DO AGONISTA CB2 AM1241 SUPRIME A RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA ASSOCIADA À MORFINA DOS RATOS TREINADOS NA PREFERÊNCIA CONDICIONADA INDUZIDA PELO OPIOIDE E OS EFEITOS PARECEM SER MEDIADOS PELA ATIVAÇÃO DOS RECEPTORES CANABINOIDES CB2.

Este experimento teve como objetivo confirmar se a ativação dos receptores CB2 pode atenuar a reconsolidação da memória associada à morfina. Para isso, os animais foram previamente treinados na PCL, a memória associativa foi verificada no teste de preferência no teste inicial, e 48 depois foi realizada a sessão de reativação da memória. Aqui utilizamos outro agonista seletivo dos receptores CB2, o AM1241, cujo efeito já tinha sido demonstrado anteriormente utilizando o mesmo protocolo (Carvalho *et al.*, 2014. Tese de Doutorado). Realizamos o pré-tratamento com o antagonista dos receptores CB2, AM630, a fim de bloquear previamente os receptores CB2 e confirmar o envolvimento dos receptores CB2. Para isso, imediatamente após a reativação da memória, grupos independentes de ratos previamente condicionados com morfina foram randomizados em quatro grupos, onde dois grupos receberam pré-

tratamento com o antagonista dos receptores CB2, AM630 (na dose de 1,5 mg/kg) e os outros dois grupos receberam veículo. Após 30 minutos, metade dos animais que receberam o AM630, recebeu o AM1241 e a outra metade recebeu veículo. Os dois grupos que receberam veículo no pré-tratamento metade dos animais receberam o AM1241 e a outra metade recebeu veículo. A ANOVA de uma via com medidas repetidas comparando o índice de PCL através dos diferentes testes revelou efeito significativo do fator Grupo Experimental ($F_{4, 49} = 110,57$; $P < 0,00001$), do fator Repetição R1 ($F_{2, 98} = 36,60$; $P < 0,0001$), e uma interação entre os fatores Grupo Experimental vs. Repetição R1 ($F_{8, 98} = 6,74$; $P < 0,0001$). A análise post-hoc revelou que todos os grupos condicionados com a morfina apresentaram índices de preferência significativamente maiores do que o grupo salina nos três testes, independente do tratamento ($P < 0,05$). O grupo que recebeu após a sessão de reativação recebeu injeções com veículo e AM1241, apresentou uma redução significativa ($P < 0,05$) do índice de preferência nos retestes realizados 48h ou sete dias após o tratamento quando comparados com os demais grupos condicionados com morfina: Veículo / Veículo vs. AM630 / Veículo vs AM630 / AM1241. Além disso, não foi detectada diferença significativa entre esses grupos condicionados com morfina nos retestes após a reativação. Os resultados demonstram que a administração aguda do agonista AM1241 na dose de 10 mg/kg reduziu a preferência condicionada ao lugar, que a administração aguda do antagonista CB2 (AM630) na dose de 1,5 mg/kg na janela de reconsolidação não altera o índice preferência, mas o pré-tratamento foi capaz de reverter o decréscimo da preferência produzida pelo agonista AM1241. Isso sugere que os efeitos do AM1241 sobre a reconsolidação da memória condicionada à morfina são mediados pela ativação dos receptores CB2 (Figura 13).

Figura 12 - Efeito do agonista AM1241 e do antagonista AM630 sobre a reconsolidação da memória



Legenda da figura 12: Os quatro treinados na tarefa de PCL induzida pela morfina, foram randomizados em 4 grupos após o teste de preferência inicial. Imediatamente após a reativação da memória, os grupos independentes receberam uma injeção de veículo (dois grupos) ou o antagonista AM630 na dose de 1,5 mg/kg pela via i.p., subsequentemente foram tratados com o agonista AM1241 ou veículo. Os animais foram testados 48 horas e 7 dias após tratamento. Os dados estão expressos como índice de PCL que representa a diferença entre o tempo gasto no compartimento pareado à droga no dia do teste e durante o pré-teste, sendo que as barras que indicam os valores das médias $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.), enquanto os símbolos indicam os valores de cada animal nos diferentes grupos experimentais, incluindo salina (controle do protocolo experimental) (n=9-10/grupo). * indica diferença significativa ($P<0,001$) comparado ao grupo Salina no mesmo teste; # indica diferença entre os grupos $P<0,01$ vs grupo Morfina/Veh/Veh nos dois retestes e $P<0,05$ Morfina/AM630/AM1241 *versus* Morfina/AM630/AM1241 no reteste 7 dias após o tratamento (ANOVA de uma via com repetição / teste de Newman-Keuls).

6 DISCUSSÃO

O nosso protocolo experimental de preferência condicionada ao lugar (PCL) induzida pela morfina, um potente reforçador positivo, para estudar a memória associativa induzida por opioide já está bem estabelecido na literatura, conforme demonstrado por Galaj et al., (2024) e Paliarin, (2020). A PCL é uma abordagem experimental consolidada para estudo de memórias associativas relacionadas à recompensa de drogas de abuso, incluindo a morfina. Este modelo tem sido amplamente empregado para investigar os mecanismos neurobiológicos subjacentes ao aprendizado associativo por drogas, bem como para avaliar intervenções farmacológicas capazes de modular a evocação ou reconsolidação dessas memórias (Tzschentke, 2007; Bardo & Bevins, 2000). Essa indução foi realizada através da associação entre pistas contextuais e a percepção de recompensa proporcionada pela droga. O estudo teve como objetivo avaliar se a ativação dos receptores CB2 poderia prejudicar as memórias associativas condicionadas à morfina em ratos Wistar. Neste estudo, a investigação dos efeitos da ativação dos receptores CB2 foi focada na evocação e na reconsolidação da PCL induzida pela morfina. No primeiro experimento, o agonista CB2, o BCP foi administrado 30 minutos antes da exposição ao compartimento pareado com a morfina. Observou-se uma diminuição na preferência por este compartimento, sugerindo que a administração aguda do BCP suprimiu a expressão da memória associada à morfina. No segundo experimento, o BCP foi administrado de maneira aguda, imediatamente após a reativação da memória associada à morfina. Houve uma redução na preferência condicionada ao lugar (PCL) após 48 horas, mas não após sete dias após o tratamento, indicando que a administração do BCP após a evocação teve um efeito temporário. No terceiro experimento, investigou-se a eficácia do pré-tratamento com o antagonista dos receptores CB2, AM630, em suprimir os efeitos do agonista CB2, AM1241, sobre a reconsolidação da memória associada à morfina. Observou-se uma redução significativa na PCL nos ratos tratados com Morfina/AM630/AM1241, tanto 48 horas quanto sete dias após a reativação da memória, sugerindo que o antagonista AM630 bloqueia efetivamente os efeitos do agonista AM1241. Nossos resultados sugerem que a ativação dos receptores CB2 pode atenuar a expressão e a manutenção da memória associativa condicionada à morfina em ratos.

A administração aguda e sistêmica do β -cariofileno antes da evocação da memória associada à morfina promoveu uma diminuição significativa na preferência pelo compartimento pareado com a morfina, indicando que o BCP atenuou a preferência. Nossos resultados se assemelham em parte aos achados do recente estudo utilizando a heroína como droga reforçadora. No estudo de Galaj e coautores, a administração aguda de BCP nas doses de 25 ou 50/kg atenuou a evocação da PCL induzida pela heroína em camundongos C57BL/6 fêmeas, mas não em machos (Galaj *et al.*, 2024). É possível que as diferenças observadas em ambos tenham sido decorrentes das diferenças entre as espécies utilizadas, bem como dos protocolos experimentais. De todo modo, o presente estudo também sugere que a administração aguda do BCP suprime a expressão da PCL induzida pela morfina em ratos Wistar.

Os resultados do protocolo de reconsolidação corroboram, ao menos em parte, os achados prévios do nosso grupo. Previamente, foi reportado que a injeção aguda a administração do agonista CB2 AM1241 na dose de 10 mg/kg, atenuou a reconsolidação da PCL induzida pela morfina, em ratos Wistar submetidos ao mesmo protocolo experimental desse estudo (dados publicados na Tese de doutorado Carvalho *et al.*, 2014). Contudo, a administração aguda do antagonista CB2 AM630 nas doses de 1,5 ou 5,0 mg/kg não afetou a reconsolidação da PCL induzida pela morfina (DE CARVALHO *et al.*, 2014). De um modo geral, observamos que os efeitos da manipulação farmacológica dos receptores CB2 parece não produzir efeitos tão pronunciados quanto aqueles produzidos pelo uso de antagonista CB1 rimonabanto (Carvalho *et al.*, 2014) ou pelo fitocanabinoide canabidiol (Carvalho *et al.*, 2017). Ademais, se consideramos a questão da diferença sexual em relação às propriedades anti-recadas do BCP apontadas pelo recente estudo de Galaj e coautores (2024), é possível que os animais do sexo masculino sejam menos sensíveis aos efeitos farmacológicos do BCP, uma vez que a administração de outro agonista seletivo estruturalmente diferente (AM1241) apresentou efeito farmacológico que permaneceu estável ao longo dos testes após a reativação. Naturalmente, são necessários estudos para investigar com afinco essa diferença sexual, bem como explorar vias de administração que sejam mais comumente usadas na clínica.

PCL induzida pela morfina são inéditos, mas parecem estar alinhados com outros estudos pré-clínicos que demonstraram que o BCP foi capaz de diminuir comportamentos ligados ao consumo de drogas e a motivação induzida por diferentes classes de drogas de abuso, incluindo drogas depressoras como o etanol (Al Mansouri

et al., 2014; Oppong-Damoah *et al.*, 2019) e heroína (Galaj *et al.*, 2024) ou psicoestimulantes como a cocaína (Galaj *et al.*, 2021), metanfetamina (He *et al.*, 2021) e nicotina (He *et al.*, 2020). As propriedades farmacológicas do BCP foram investigadas em diferentes modelos animais de dependência induzida por etanol, heroína, cocaína, nicotina e metanfetamina. Contudo, o nosso estudo é o primeiro a investigar os efeitos do BCP em um modelo clássico que avalia as memórias associativas induzidas pela administração do opioide morfina em ratos. Galaj e coautores (2024) demonstraram que a administração aguda do BCP falhou em prejudicar a PCL induzida por heroína em camundongos machos, mas atenuou a PCL em camundongos fêmeas. Além disso, a administração repetida de BCP por 5 dias acelerou a extinção da CPP em camundongos fêmeas, mas não em machos. A administração sistêmica de BCP reduziu de forma dependente da dose a autoadministração de heroína em ratos mantidos sob um esquema progressivo de reforço e bloqueou parcialmente a recompensa de estimulação cerebral aumentada por heroína em camundongos transgênicos DAT-cre, mantidos em regime de alta frequência de estimulação óptica de neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo. No ensaio de placa quente, o pré-tratamento com as mesmas doses de BCP não alterou a antinocicepção induzida por opioides. Por fim, em um protocolo de autoadministração operante, a substituição de BCP por heroína falhou em manter a autoadministração intravenosa de BCP, sugerindo que o próprio BCP não tem propriedades reforçadoras.

Em relação aos efeitos do BCP em modelos animais de dependência de etanol, Al Mansouri e colaboradores (2014) descobriram que o BCP reduziu de forma dependente da dose o consumo de etanol e a preferência em camundongos C57BL/6 no teste de livre escolha de duas garrafas, além de diminuir a aquisição de PCL induzida por etanol. Notavelmente, o AM630, o antagonista potente e seletivo dos receptores CB2, inibiu ambos os efeitos do BCP, sugerindo o papel da ativação dos receptores CB2 na ação do BCP. Em contrapartida, o BCP exacerbou a sensibilidade a doses muito baixas de etanol no teste de perda do reflexo de endireitamento, além de induzir um aumento na latência para camundongos recuperarem o comprometimento da coordenação motora induzida pelo etanol (Al Mansouri *et al.*, 2014). Esses resultados são corroborados por um segundo estudo que investigou apenas os efeitos do BCP no teste de perda do reflexo de endireitamento induzido por etanol em camundongos Swiss-Webster (Oppong-Damoah *et al.*, 2019). Neste artigo,

uma alta dose de BCP (300 mg/kg) aumentou a sensibilidade ao efeito sedativo do etanol e o tempo de recuperação do reflexo. Portanto, os efeitos do BCP nos modelos animais de dependência ao etanol parecem ser dependentes da dose e do teste comportamental. Embora o BCP tenha promovido resultados positivos no consumo voluntário de etanol e na aquisição da PCL de maneira dependente de ativação dos receptores CB2, ele não foi capaz de melhorar a perda do reflexo de endireitamento induzida por etanol.

Um estudo focou nos efeitos do BCP em modelos animais de dependência à cocaína (Galaj *et al.*, 2021). Esse estudo foi reportado que a injeção intraperitoneal de BCP inibiu a autoadministração operante de cocaína e deslocou a curva dose-resposta de cocaína para baixo. Enquanto a administração intragástrica de BCP apresentou uma resposta menos eficaz contra a autoadministração de cocaína em ratos Long-Evans. O BCP também foi capaz de prejudicar a reinstalação do comportamento de busca por cocaína induzida por uma injeção de uma dose desafio da droga em ratos que haviam previamente sido submetidos a um protocolo de extinção da autoadministração induzida pela cocaína, além de reduzir a aquisição de PCL induzida por cocaína (Galaj *et al.*, 2021). Para avaliar o envolvimento dos receptores CB2 nos efeitos do BCP, os autores utilizaram camundongos nocautes para os receptores CB2 (CB2-KO). No entanto, os testes com os camundongos com deleção do gene dos receptores CB2 desafiaram a concepção de que os efeitos do BCP na autoadministração de cocaína poderiam ser mediados por receptores canabinoides, uma vez que os camundongos CB2-KO não mostraram atenuação dos efeitos do BCP. Em contraste, os receptores ativados pelo proliferador de peroxissomo α e γ (PPAR α ou PPAR γ) foram sugeridos como envolvidos nos mecanismos do BCP para reduzir a autoadministração de cocaína. Portanto, o efeito do BCP na dependência de cocaína parece não ser modulado apenas pela ativação dos CB2 (Galaj *et al.*, 2021). No estudo de He e colaboradores 2020 usaram abordagens farmacológicas, optogenética e animais transgênicos para avaliar os efeitos do BCP em modelos animais de dependência de nicotina (He *et al.*, 2020). A administração sistêmica de BCP inibiu de forma dependente da dose a autoadministração operante de nicotina e a motivação para a busca de nicotina em ratos Long-Evans e camundongos C57BL/6J. Este estudo sugeriu que o envolvimento dos receptores CB2 no mecanismo de ação do BCP depende da dose do BCP, uma vez que a inibição genética do CB2 nos camundongos nocautes de CB2 bloqueou os efeitos da dose de

25, mas não de 50 mg/kg de BCP. O BCP também atenuou a recompensa (efeito reforçador mediado pela estimulação elétrica do feixe prosencefálico medial) no teste de autoestimulação intracraniana em camundongos e em um modelo de estimulação de neurônios dopaminérgicos da área tegmentar ventral por optogenética. Este resultado sugere o envolvimento da dopamina na redução do efeito na supressão dos efeitos de recompensa cerebral induzidos pelo BCP. De modo que a ação do BCP de reduzir os comportamentos preditivos de dependência de nicotina pode envolver tanto mecanismos dependentes da ativação dos receptores CB2, quanto não dependentes de CB2.

Finalmente, He *et al.* (2021) avaliaram os efeitos do BCP nas respostas relacionadas à metanfetamina em roedores. Os autores usaram ratos Long-Evans e camundongos C57BL/6J em testes de autoadministração operante e recompensa induzida pela autoestimulação elétrica cerebral. O BCP atenuou a autoadministração de metanfetamina e a reinstalação do comportamento de busca por drogas induzido por uma dose desafio de metanfetamina. Os efeitos do BCP nas infusões de metanfetamina e no nível de ponto de interrupção da razão progressiva para autoadministração de metanfetamina (que indica o esforço que o animal faz para conseguir a infusão da droga) foram prejudicados pelo pré-tratamento com o antagonista CB2, AM630, sugerindo o envolvimento dos receptores CB2. No entanto, a dose mais alta de BCP também inibiu a autoadministração de metanfetamina em camundongos nocautes para CB2. Por fim, o BCP diminuiu a recompensa de estimulação cerebral aumentada pela metanfetamina. Analisando esses estudos, podemos inferir que nos modelos animais de dependência à cocaína, os efeitos os efeitos do BCP podem ser mediados pela ativação de CB2 de maneira dependente da dose, enquanto no estudo com comportamentos reforçadores induzidos pela metanfetamina são o mecanismo de ação do BCP parece parcialmente mediado pela ativação dos receptores CB2.

Em relação ao efeito do BCP sobre a reconsolidação da PCL induzida pela morfina, nossos resultados são inéditos, mas parecem estar alinhados com outros estudos pré-clínicos que demonstraram que o BCP foi capaz de diminuir comportamentos ligados ao consumo de drogas e a motivação induzida por diferentes classes de drogas de abuso, incluindo drogas depressoras como o etanol (AL MANSOURI *et al.*, 2014; Oppong-Damoah *et al.*, 2019) e heroína (Galaj *et al.*, 2024) ou psicoestimulantes como a cocaína (Galaj *et al.*, 2021), metanfetamina (He *et al.*,

2021) e nicotina (He *et al.*, 2020). As propriedades farmacológicas do BCP foram investigadas em diferentes modelos animais de dependência induzida por etanol, heroína, cocaína, nicotina e metanfetamina.

Contudo, o presente estudo foi o primeiro a investigar os efeitos do BCP sobre a reconsolidação da memória associativa induzida pela morfina em ratos. Recentemente, Galaj e coautores (2024) demonstraram que a administração aguda do BCP falhou em prejudicar a PCL induzida por heroína em camundongos machos, mas atenuou a PCL em camundongos fêmeas. Além disso, a administração repetida de BCP por 5 dias acelerou a extinção da CPP em camundongos fêmeas, mas não em machos. A administração sistêmica de BCP reduziu de forma dependente da dose a autoadministração de heroína em ratos mantidos sob um esquema progressivo de reforço e bloqueou parcialmente a recompensa de estimulação cerebral aumentada por heroína em camundongos transgênicos DAT-cre, mantidos em regime de alta frequência de estimulação óptica de neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo.

Porém, no teste da placa quente, o pré-tratamento com as mesmas doses de BCP falhou em aumentar ou prolongar a antinocicepção induzida por opioides. Por fim, em um protocolo de autoadministração operante, a substituição de BCP por heroína falhou em manter a autoadministração intravenosa de BCP, sugerindo que o próprio BCP não tem propriedades reforçadoras.

Os efeitos do BCP em modelos animais de dependência de etanol foram avaliados por Al Mansouri e colaboradores (2014), onde os autores demonstraram que o BCP reduziu de forma dependente da dose o consumo de etanol e a preferência em camundongos C57BL/6 no teste de livre escolha de duas garrafas, além de diminuir a aquisição de PCL induzida por etanol. Notavelmente, o AM630, o antagonista potente e seletivo dos receptores CB2, inibiu ambos os efeitos do BCP, sugerindo o papel da ativação dos receptores CB2 na ação do BCP. Em contrapartida, o BCP exacerbou a sensibilidade a doses muito baixas de etanol no teste de perda do reflexo de endireitamento, além de induzir um aumento na latência para camundongos recuperarem o comprometimento da coordenação motora induzida pelo etanol (AL MANSOURI *et al.*, 2014). Esses resultados são corroborados por um segundo estudo que investigou apenas os efeitos do BCP no teste de perda do reflexo de endireitamento induzido por etanol em camundongos Swiss-Webster (Oppong-Damoah *et al.*, 2019). Neste artigo, uma alta dose de BCP (300 mg/kg) aumentou a sensibilidade ao efeito sedativo do etanol e o tempo de recuperação do reflexo.

Portanto, os efeitos do BCP nos modelos animais de dependência ao etanol parecem ser dependentes da dose e do teste comportamental. Embora o BCP tenha promovido resultados positivos no consumo voluntário de etanol e na aquisição da PCL de maneira dependente de ativação dos receptores CB2, ele não foi capaz de melhorar a perda do reflexo de endireitamento induzida por etanol.

Um estudo focou nos efeitos do BCP em modelos animais de dependência à cocaína (Galaj *et al.*, 2021). Esse estudo foi reportado que a injeção intraperitoneal de BCP inibiu a autoadministração operante de cocaína e deslocou a curva dose-resposta de cocaína para baixo. Enquanto a administração intragástrica de BCP apresentou uma resposta menos eficaz contra a autoadministração de cocaína em ratos Long-Evans. O BCP também foi capaz de prejudicar a reinstalação do comportamento de busca por cocaína induzida por uma injeção de uma dose desafio da droga em ratos que haviam previamente sido submetidos a um protocolo de extinção da autoadministração induzida pela cocaína, além de reduzir a aquisição de PCL induzida por cocaína (Galaj *et al.*, 2021). Para avaliar o envolvimento dos receptores CB2 nos efeitos do BCP, os autores utilizaram camundongos nocautes para os receptores CB2 (CB2-KO). No entanto, os testes com os camundongos nocaute para o gene dos receptores CB2 desafiaram a concepção de que os efeitos do BCP na autoadministração de cocaína poderiam ser mediados por receptores canabinoides, uma vez que os camundongos CB2-KO não mostraram atenuação dos efeitos do BCP. Em contraste, os receptores ativados pelo proliferador de peroxissomo α e γ (PPAR α ou PPAR γ) foram sugeridos como envolvidos nos mecanismos do BCP para reduzir a autoadministração de cocaína. Portanto, o efeito do BCP na dependência de cocaína parece não ser modulado apenas pela ativação dos CB2 (Galaj *et al.*, 2021). No estudo de He e colaboradores 2020 usaram abordagens farmacológicas, optogenética e animais transgênicos para avaliar os efeitos do BCP em modelos animais de dependência de nicotina (He *et al.*, 2020). A administração sistêmica de BCP inibiu de forma dependente da dose a autoadministração operante de nicotina e a motivação para a busca de nicotina em ratos Long-Evans e camundongos C57BL/6J. Este estudo sugere que o envolvimento dos receptores CB2 no mecanismo de ação do BCP depende da dose do BCP, uma vez que a inibição genética do CB2 nos camundongos nocautes de CB2 bloqueou os efeitos da dose de 25, mas não de 50 mg/kg de BCP. O BCP também atenuou a recompensa (efeito reforçador mediado pela estimulação elétrica do feixe prosencefálico medial) no teste

de autoestimulação intracraniana em camundongos e em um modelo de estimulação de neurônios dopaminérgicos da área tegmentar ventral por optogenética. Este resultado sugere o envolvimento da dopamina na redução do efeito na supressão dos efeitos de recompensa cerebral induzidos pelo BCP. De modo que a ação do BCP de reduzir os comportamentos preditivos de dependência de nicotina pode envolver tanto mecanismos dependentes da ativação dos receptores CB2 quanto não dependente de CB2.

A ativação do PPAR α ou PPAR γ também pode contribuir com os efeitos do BCP observados no nosso estudo, uma vez que a ativação desses receptores é capaz de reduzir o consumo e os efeitos reforçadores induzidos por várias drogas de abuso (Matheson *et al.*, 2020), como a heroína (Guglielmo *et al.*, 2017), etanol (Haile *et al.*, 2017; Rial.Vera-Meza *et al.*, 2017; DIEPERINK *et al.*, 2021), cocaína (Bilbao *et al.*, 2013), nicotina (Mascia *et al.*, 2011; Panlilio *et al.*, 2012; Jones *et al.*, 2017; Domi *et al.*, 2019) em animais e em humanos, possivelmente modulando a liberação de dopamina na via mesolímbica, uma vez que foi demonstrado que a ativação aguda dos receptores CB2 pelo agonista, JWH133, reduz a excitabilidade de neurônios dopaminérgicos na ATV em fatias de mesencéfalo de camundongos (Zhang *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2019). Além disso, foi demonstrado que os receptores CB2 participam da regulação da neurotransmissão dopaminérgica no NAc. A administração sistêmica e intra-NAc do composto JWH133 - agonista seletivo dos receptores CB2 - atenuou o aumento nas concentrações de dopamina no NAc induzido pela autoadministração operante de cocaína em camundongos (Xi *et al.*, 2011). Também outros estudos revelaram que os receptores CB2 colocaliza-se com o receptor dopaminérgico do tipo D2 em neurônios, sugerindo que os receptores CB2 podem cooperar funcionalmente com o sistema dopaminérgico mesolímbico (Zhang *et al.*, 2014; 2017). De fato, estudos de Zhang e colaboradores, empregando uma abordagem multidisciplinar primeiro em camundongos (ZHANG *et al.*, 2014) e depois em ratos (Zhang *et al.*, 2017), confirmaram que os receptores CB2 estão presentes em neurônios dopaminérgicos da ATV projetando-se para o NAc. Vale ressaltar que o antagonismo direto dos receptores dopaminérgicos não mostrou resultados promissores para o tratamento da dependência (nutt *et al.*, 2014). Estratégias indiretas para regular as atividades dopaminérgicas foram investigadas, especialmente para o tratamento da dependência de psicoestimulantes (Solinas *et al.*, 2019). Nesse sentido, a capacidade do BCP de atingir diferentes receptores capazes de modular indiretamente o tônus

dopaminérgico na ATV, pela interação com os receptores CB2 e PPAR α , certamente oferece uma justificativa mecanicista para continuarmos investigando o seu potencial terapêutico para o tratamento da dependência.

No que tange nosso conhecimento, não há evidências diretas que a ativação de receptores PPAR α ou PPAR γ interfere no processo de reconsolidação da memória induzida por drogas de abuso. Porém, alguns estudos com modelos animais de condicionamento Pavloviano de ameaça indicam que a ativação dos receptores PPAR- α através de agonistas como ácido graxo oleoilethanolamida facilita a consolidação de memórias aversivas em roedores (Campolongo *et al.*, 2009; Provensi *et al.*, 2017), possivelmente através de mecanismos que envolvem a regulação de moléculas envolvidas na plasticidade sináptica, tais como CREB e a subunidade NR-2A receptor glutamatérgico NMDA (Roy *et al.*, 2013). Outros estudos demonstram que a ativação do PPAR γ melhora o desempenho cognitivo de roedores. Por exemplo, foi demonstrado que a pioglitazona, outro agonista do PPAR γ , melhorou o desempenho de camundongos com comprometimento mnemônico induzido pela morfina (Babaei *et al.* 2012). Da mesma forma, que a administração oral de rosiglitazona, agonista do PPAR γ , melhorou o desempenho cognitivo em ratos idosos em comparação com controles jovens expostos ao condicionamento contextual aversivo (Gemma *et al.* 2004). Outros estudos mostraram desempenho cognitivo melhorado em animais tratados com pioglitazona (Babaei *et al.*, 2012; Almasi-Nasrabadi *et al.*, 2014). Nesse sentido, é plausível que o mecanismo envolvido nos efeitos do BCP sobre a evocação e reconsolidação da memória condicionada à morfina envolva outros tais como ativação de CB2 e/ou ativação de PPAR. São necessários mais estudos para investigar essa questão.

Este estudo utilizou modelos animais (ratos) para investigar a reconsolidação da memória associada à morfina e os efeitos do BCP. Embora esses modelos sejam amplamente aceitos e forneçam insights valiosos, a tradução desses resultados para humanos pode ser limitada devido às diferenças nas complexidades neurobiológicas e comportamentais entre as espécies (Leshner, 1997). Embora os achados sejam promissores e contribuam significativamente para a compreensão dos mecanismos de reconsolidação da memória associada à morfina e das propriedades terapêuticas do BCP, é importante reconhecer as limitações do estudo para que futuras pesquisas possam abordar essas questões de maneira mais abrangente e aprofundada. A

extrapolação dos dados obtidos em roedores para contextos humanos exige cautela, e futuras pesquisas devem incluir estudos clínicos para validar nossos achados.

Futuras pesquisas devem se concentrar em desvendar os mecanismos moleculares e celulares subjacentes a essas descobertas. A utilização de técnicas avançadas, como a optogenética e a microscopia de alta resolução, pode proporcionar insights detalhados sobre a localização e a dinâmica dos receptores CB2 durante os processos de reconsolidação da memória. Embora o estudo tenha focado nos receptores CB2, é possível que outros sistemas de receptores também desempenhem papéis cruciais na reconsolidação da memória associada a drogas de abuso. A investigação desses sistemas em conjunto pode oferecer uma visão mais holística dos mecanismos neurobiológicos envolvidos. Estudos futuros poderiam explorar a interação entre esses diferentes sistemas de receptores e como a modulação combinada pode ser utilizada para desenvolver estratégias terapêuticas mais eficazes. Nosso estudo focou na intervenção farmacológica antes e imediatamente após a reativação da memória. No entanto, a exploração de diferentes dosagens do BCP e uma melhor compreensão da sua atuação, pode revelar informações valiosas sobre a dinâmica temporal da reconsolidação.

Embora os achados em modelos animais sejam promissores, é fundamental realizar estudos adicionais para verificar o potencial anti recaída dos agonistas CB2 como BCP utilizando modelos mais translacionais, com tratamento repetido e comparando os possíveis efeitos entre machos e fêmeas. No que diz respeito ao tratamento da dependência, tanto a extinção quanto a reconsolidação da memória oferecem oportunidades significativas para serem manipuladas como estratégias terapêuticas que podem ser úteis para prevenir as recaídas ou promover a abstinência (Sorg, 2012). A terapia de exposição a pistas tem sido empregada na prática clínica. De forma geral, essa abordagem terapêutica consiste em reexpor indivíduos dependentes a estímulos condicionados ao uso da droga a exemplo de ambientes, objetos ou contextos associados ao consumo, com o objetivo de reduzir a fissura (craving) e prevenir recaídas. No entanto, essas memórias associativas relacionadas à droga tendem a ser altamente persistentes e resistentes ao processo de extinção. Por essa razão, as terapias baseadas exclusivamente na extinção apresentam eficácia limitada na prática clínica, uma vez que a reativação espontânea dessas memórias pode reemergir mesmo após períodos prolongados de abstinência. Uma integração entre abordagens neurobiológicas e intervenções psicoterapêuticas torna-

se essencial. Estratégias como a Terapia Cognitivo-Comportamental (TCC), a Terapia de Aceitação e Compromisso (ACT) e intervenções baseadas em mindfulness têm demonstrado potencial para fortalecer a regulação emocional, aumentar a tolerância ao desconforto gerado pela fissura e promover a reestruturação cognitiva de memórias disfuncionais associadas ao uso da droga. Terapias que visam reconsolidar memórias disfuncionais com o uso combinado de psicoterapia e intervenções farmacológicas durante janelas de reativação da memória, representam um campo promissor na prevenção de recaídas. Assim, ao invés de se basearem unicamente na extinção passiva das respostas condicionadas, as psicoterapias modernas podem atuar ativamente sobre os circuitos de memória e motivação, promovendo mudanças mais duradouras no padrão de busca e consumo de substâncias. A tradução desses resultados para contextos clínicos exigirá ensaios rigorosos que considerem a segurança, dosagem e efeitos em longo prazo do BCP em pacientes com dependência de opioides. O estudo sugere que os agonistas CB2 com o BCP podem representar uma nova abordagem terapêutica para o tratamento da dependência de drogas. Futuras pesquisas devem explorar como essa abordagem pode ser integrada a estratégias de tratamento existentes, como terapias comportamentais e programas de reabilitação.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a administração aguda de agonistas com alta afinidade pelos receptores canabinoides CB2 foi capaz de atenuar a preferência condicionada pela morfina em ratos. Se comparado com agonistas sintéticos dos receptores CB2 (tais como o AM1241, JWH133 ou O-1966), a presença de BCP em óleos essenciais de plantas e ervas o torna uma substância mais facilmente acessível com segurança demonstrada em humanos. Nesse sentido, o presente estudo indica seu potencial na modulação das memórias associativas não adaptativas ligadas à experiência prévia com os opioides, que podem levar à recaídas. Além disso, nossos achados contribuem com a crescente literatura apontando para os receptores CB2 como um potencial alvo para o tratamento de transtornos por uso de substâncias. Contudo, são necessários estudos complementares para investigar os mecanismos neuromoleculares que podem estar envolvidos nos potenciais efeitos anti-recaída decorrentes da ativação dos receptores CB2 em etapas críticas na manutenção de memórias associativas condicionada à droga.

REFERÊNCIAS

ADAMS, I. B.; MARTIN, B. R. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction*, v. 91, n. 11, p. 1585-1614, nov. 1996. PMID: 8972919.

ADASME-REYES, S.; FUENTES, J.; GUTIÉRREZ-VEGA, I.; ISLA, E.; PÉREZ, V.; PONCE, C.; QUILAQUEO, M. E.; HERRERA-MARSCHITZ, M.; QUINTANILLA, M. E.; VÁSQUEZ, D.; RIVERA-MEZA, M. Pharmacological activators of ALDH2: a new strategy for the treatment of alcohol use disorders. **International Review of Neurobiology**, v. 178, p. 153–177, 2024. DOI: 10.1016/bs.irn.2024.07.003.

AKINSHOLA, B. E. et al. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. **PLoS One**, v. 3, n. 2, e1640, 2008. DOI: 10.1371/journal.pone.0001640.

AL MANSOURI S, OJHA S, AL MAAMARI E, AL AMERI M, NURULAIN SM, BAHİ A. The cannabinoid receptor 2 agonist, β -caryophyllene, reduced voluntary alcohol intake and attenuated ethanol-induced place preference and sensitivity in mice. **Pharmacol Biochem Behav**. 2014 Sep; 124:260-8. doi: 10.1016/j.pbb.2014.06.025. Epub 2014 Jul 3. PMID: 24999220.

ALBERINI, C. M. The role of reconsolidation and the dynamic process of long-term memory formation and storage. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 5, p. 12, 2011. DOI: [10.3389/fnbeh.2011.00012](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2011.00012)

ALEXANDER, S. P.; MATHIE, A.; PETERS, J. A. Guide to Receptors and Channels (GRAC), 5. ed. British **Journal of Pharmacology**, v. 164, suppl. 1, p. S1-S324, 2011.

ALMASI-NASRABADI M, GHAREDAGHI M. H, REZAZADEH P., DEHPOUR A. R., JAVADI-PAYDAR M. NMDA receptors interact with the retrieval memory enhancing effect of pioglitazone in mice. **Pharmacol Biochem Behav**. 2014 Nov; 126:136-45. doi: 10.1016/j.pbb.2014.09.019. Epub 2014 Oct 2. PMID: 25284130.

ALMASI-NASRABADI, M.; NOROUZI, A.; DEHPOUR, A. R. Involvement of nitric oxide in pioglitazone memory improvement in morphine-induced memory-impaired mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 103, n. 2, p. 313-321, 2012. DOI: 10.1016/j.pbb.2012.08.018. Epub 2012 27 de agosto.

ALVES, M. V. C.; BUENO, O. F. A. Interferência retroativa: o esquecimento como uma interrupção na consolidação da memória. *Trends in Psychology*, v. 25, n. 3, p. 1075–1089, 2017. DOI: [10.9788/TP2017.3-07Pt](https://doi.org/10.9788/TP2017.3-07Pt). Acesso em: 5 out. 2025.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ASTH L, CRUZ L. C, SOYOMBO N, RIGO P, MOREIRA F. A. Effects of β - caryophyllene, A Dietary Cannabinoid, in Animal Models of Drug Addiction. *Curr Neuroparmacol*. 2023;21(2):213-218. doi: 10.2174/1570159X20666220927115811. PMID: 36173065; PMCID: PMC10190141.

BALLEINE, B. W.; O'DOHERTY, J. P. Human and rodent homologues in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action.

Neuropsychopharmacology Reviews, v. 35, p. 48–69, 2010. DOI: 10.1038/npp.2009.131. Acesso em: 5 out. 2025.

BARTSCH T, BUTLER C. Transient amnesic syndromes. *Nat Rev Neurol*. 2013 Feb;9(2):86-97. doi: 10.1038/nrneurol.2012.264. Epub 2013 Jan 8. PMID: 23296343.

BASTOS, F. I.; SCHENKER, M. Abuso e dependência de drogas na perspectiva da saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 4–4, jan. 2016. DOI: 10.1590/1413-81232015211.24512015.

BASTOS, F. I.; SCHENKER, M. **Drogas e saúde pública**. In: GIOVANELLA, L. et al. (Org.). *Políticas e sistema de saúde no Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2016. p. 1183–1210.

BÉGUIN C, *et al.* N-methylacetamide analog of salvinorin A: a highly potent and selective kappa-opioid receptor agonist with oral efficacy. **J Pharmacol Exp Ther**. 2008 Jan;324(1):188-95. doi: 10.1124/jpet.107.129023. Epub 2007 Oct 19. PMID: 17951511.

BÉNARD, G. *et al.* Mitochondrial CB1 receptors regulate neuronal energy metabolism. *Nature Neuroscience*, v. 15, n. 4, p. 558–564, 2012. DOI: [10.1038/nn.3053](https://doi.org/10.1038/nn.3053).

BENARROCH, E. E.; Endogenous opioid systems: current concepts and clinical correlations. **Neurology**. 2012 Aug 21;79(8):807-14. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182662098. PMID: 22915176.

BLAINE SK, NAUTIYAL N, HART R, GUARNACCIA JB, SINHA R. Craving, cortisol and behavioral alcohol motivation responses to stress and alcohol cue contexts and discrete cues in binge and non-binge drinkers. **Addict Biol**. 2019 Sep;24(5):1096-1108. doi: 10.1111/adb.12665. Epub 2018 Aug 9. PMID: 30091823; PMCID: PMC6785022.

BLANDINA, P.; PASSANI, M. B. Histaminergic neurotransmission as a gateway for the cognitive effect of oleoylethanolamide in contextual fear conditioning. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 5, p. 392–399, 2017. DOI: 10.1093/ijnp/pyw110.

BUNNEY BS, C. L. A, Grace A. A. Midbrain dopamine system electrophysiological functioning: a review and new hypothesis. **Synapse**. 1991 Oct;9(2):79-94. doi: 10.1002/syn.890090202. PMID: 1821487.

CANSECO-Alba A, Schanz N, Sanabria B, Zhao J, Lin Z, Liu QR, Onaivi ES. Behavioral effects of psychostimulants in mutant mice with cell-type specific deletion of CB2 cannabinoid receptors in dopamine neurons. **Behav Brain Res**. 2019 Mar 15; 360:286-297. doi: 10.1016/j.bbr.2018.11.043. Epub 2018 Nov 30. PMID: 30508607; PMCID: PMC6327973.

CARVALHO, C. R. de. TAKAHASHI, R. N. Cannabidiol disrupts the reconsolidation of contextual drug-associated memories in Wistar rats. **Addict Biol.** 2017; 22(3): 742-751. Doi: 10.1111/adb.12366.

CARVALHO, C. R. de. Envolvimento do sistema endocanabinoide na reconsolidação de memórias hedônicas em ratos Wistar: potencial efeito do canabidiol. Tese de Doutorado em Farmacologia. UFSC, 2014.

CARVALHO, C. R. de. TAKAHASHI, R. N. A maconha aumenta vulnerabilidade a opioides em animais de laboratório. **Revista da Biologia**, São Paulo, Brasil, v. 13, n. 1, p. 11–19, 2018. DOI: 10.11606/issn.1984-5154.v13p11-19. Disponível em: <https://revistas.usp.br/revbiologia/article/view/109128>. Acesso em: 16 ago. 2024.

CRISTINO L, BISOGNO T, DI MARZO V. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. **Nat Rev Neurol.** 2020;16(1):9-29. Doi: 10.1038/s41582-019-0284-z.

DE GUGLIELMO, G., KALLUPI, M., SCUPPA, G., STOPPONI, S., DEMOPULOS, G., GAITANARIS, G. E CICCOCIOPOPO, R. (2014), PPAR γ regula a tolerância à morfina. **Br J Pharmacol**, 171: 5407-5416. <https://doi.org/10.1111/bph.12851>.

DEVANE, W. A.; DYSARZ, F. A. 3rd, JOHNSON MR, MELVIN LS, HOWLETT AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Mol Pharmacol.** 1988; 34(5): 605-13. PMID: 2848184

DOMI, E.; CAPUTI, F. F.; ROMUALDI, P.; DOMI, A.; SCUPPA, G.; CANDELETTI, S.; ATKINS, A.; HEILIG, M.; DEMÓPULO, G.; GAITANARIS, G.; CICCOCIOPOPO, R.; UBALDI, M. Activation of PPAR γ attenuates the expression of physical and affective nicotine withdrawal symptoms through mechanisms involving amygdala and hippocampus neurotransmission. **Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 49, p. 9864–9875, 2019. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.1922-19.2019](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1922-19.2019). PMID: 31685649; PMCID: PMC6891057.

DOS SANTOS BARBOSA, L. A.; DUTRA, R. C.; MOREIRA, E. L. G.; CARVALHO, C. R. de. β -caryophyllene, a cannabinoid receptor 2 agonist, decreases the motivational salience and conditioning place preference for palatable food in female mice. **Addiction Biology**, v. 28, n. 1, e13249, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/adb.13249>.

EVERITT, B. J.; ROBBINS, T. W. Drug addiction: updating actions to habits to compulsions ten years on. **Annual Review of Psychology**, v. 67, p. 23–50, 2016. DOI: 10.1146/annurev-psych-122414-033457.

FELDER C. C, et al. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. **Mol Pharmacol.** 1995 Sep;48(3):443-50. PMID: 7565624.

FERREIRA, P. Aumento no uso de opioides no Brasil é alarmante após uma década. **Summit Saúde**, 27 mar. 2025. Disponível em:

<https://summitsaude.estadao.com.br/desafios-no-brasil/aumento-no-uso-de-opioides-no-brasil-e-alarmante-apos-uma-decada/>. Acesso em: 5 out. 2025.

GALAJ, E. *et al.* Beta-caryophyllene inhibits cocaine addiction-related behavior by activation of PPAR α and PPAR γ : repurposing a FDA-approved food additive for cocaine use disorder. **Neuropsychopharmacology**, v. 46, n. 4, p. 860-870, 2021.
GALAJ, E.; BI, G.; XI, Z. β -caryophyllene inhibits heroin self-administration, but does not alter opioid-induced antinociception in rodents. **Neuropharmacology**, v. 252, p. 109947, 2024.

GARCÍA-GUTIÉRREZ MS, NAVARRETE F, GASPARYAN A, NAVARRO D, MORCUENDE Á, FEMENÍA T, MANZANARES J. Role of Cannabinoid CB2 Receptor in Alcohol Use Disorders: From Animal to Human Studies. **Int J Mol Sci**. 2022 May 25;23(11):5908. doi: 10.3390/ijms23115908. PMID: 35682586; PMCID: PMC9180470.

GERFEN CR, SURMEIER DJ. Modulation of striatal projection systems by dopamine. **Annu Rev Neurosci**. 2011; 34:441-66. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113641. PMID: 21469956; PMCID: PMC3487690.

GOLD P. E. Revisiting and Revising Memory Consolidation: Personal Reflections on the Research Legacy of Ivan Izquierdo. *Neuroscience*. 2022 Aug 10; 497:4-13. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.05.037. **Epub** 2022 Jun 3. PMID: 35667494.

GORMAN J. M, ROOSE S. P. The neurobiology of fear memory reconsolidation and psychoanalytic theory. **J Am Psychoanal Assoc**. 2011 Dec;59(6):1201-20. doi: 10.1177/0003065111427724. **Epub** 2011 Nov 11. PMID: 22080504.

GRABON W, RHEIMS S, SMITH J, BODENNEC J, BELMEGUENAI A, BEZIN L. CB2 receptor in the CNS: From immune and neuronal modulation to behavior. **Neurosci Biobehav Rev**. 2023 Jul; 150:105226. doi:10.1016/j.neubiorev.2023.105226. **Epub** 2023 May 8. PMID: 37164044.

GRAYBIEL, A. M. The basal ganglia and chunking of action repertoires. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 70, n. 1–2, p. 119–136, 1998. DOI: 10.1006/nlme.1998.3843.

HASHIESH, A.; ABD EL-RAHMAN, R. R.; SALEH, A.; ABD EL-RAHMAN, D.; EL-SAYED, M.; ABD EL-RAHMAN, N. S.; EL-KHORDAGUI, L. K. A focused review on CB2 receptor-selective pharmacological properties and therapeutic potential of β -caryophyllene, a dietary cannabinoid. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 140, p. 111639, 2021. DOI: [10.1016/j.biopha.2021.111639](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111639).

HE, X.; BERTRAND, D.; LIU, Y.; ZHANG, L.; LI, Y.; WANG, X.; ZHANG, Y.; ZHANG, R.; ZHANG, Y.; HEBB, D. O. β -caryophyllene, an FDA-approved food additive, inhibits methamphetamine-taking and methamphetamine-seeking behaviors possibly via CB2 and non-CB2 receptor mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 722476, 2021. DOI: [10.3389/fphar.2021.722476](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.722476). PMID: 34566647; PMCID: PMC8432794.

HEBB, D. O. Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory. New York: Wiley, 1949.

HERKENHAM, M.; LYONS, L. M.; SHARMA, G.; RICHARDSON, J. M.; BIXBY, C. L.; DE COSTA, B. R.; RICE, K. C. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 87, n. 5, p. 1932–1936, 1990. DOI: 10.1073/pnas.87.5.1932. PMID: 2308954; PMCID: PMC53598.

HOU G, HAO M, DUAN J, HAN M. H.; The Formation and Function of the VTA Dopamine System. *Int J Mol Sci*. 2024 Mar 30;25(7):3875. doi: 10.3390/ijms25073875. PMID: 38612683; PMCID: PMC11011984.

HOWLETT, A. C.; ABOOD, M. E. CB1 and CB2 receptor pharmacology. *Advances in Pharmacology*, v. 80, p. 169–206, 2017. DOI: 10.1016/bs.apha.2017.03.007. Acesso em: 5 out. 2025.

INPAD/UNIFESP. III Levantamento Nacional de Álcool e Drogas – LENAD. São Paulo: UNIFESP, 2025. Disponível em: <https://lenad.uniad.org.br/cadernos-lenad/Caderno-Metodologico-LENAD.pdf>. Acesso em: 5 out. 20225.

ITZHAK Y. Role of the NMDA receptor and nitric oxide in memory reconsolidation of cocaine-induced conditioned place preference in mice. *Ann N Y Acad Sci*. 2008; 1139:350-7. doi: 10.1196/annals.1432.051.

IZQUIERDO I, BEVILAQUA L. R, ROSSATO J.I, BONINI J.S, MEDINA J. H, CAMMAROTA M.; Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci*. 2006 Sep;29(9):496-505. doi: 10.1016/j.tins.2006.07.005. Epub 2006 Jul 26. PMID: 16872686.

JONES J. D., COMER S. D., METZ V. E. MANUBAY J. M., MOGALI S, CICCOCIOPO R., MARTINEZ S., MUMTAZ M., BISAGAA. Pioglitazone, a PPAR γ agonist, reduces nicotine craving in humans, with marginal effects on abuse potential. *Pharmacol Biochem Behav*. 2017; 163:90-100. doi: 10.1016/j.pbb.2017.10.002.

JORDAN C. J, CAO J, NEWMAN A. H., XI Z.X. Progress in agonist therapy for substance use disorders: Lessons learned from methadone and buprenorphine. *Neuropharmacology*. 2019 Nov 1; 158:107609. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.04.015. Epub 2019 Apr 19. PMID: 31009632; PMCID: PMC6745247.

KANDEL ER. In search of memory The emergence of a new science of mind. 2006. KAUER J. A, MALENKA R. C. Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2007 Nov;8(11):844-58. doi: 10.1038/nrn2234. PMID: 17948030.

KAUER J. A, MALENKA R. C. Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2007 Nov;8(11):844-58. doi: 10.1038/nrn2234. PMID: 17948030.

KOOB, G. F.; VOLKOW, N. D. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. **The Lancet Psychiatry**, v. 3, n. 8, p. 760–773, 2016. DOI: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8.

LAND B. B, BRUCHAS M. R, LEMOS JC, XU M, MELIEF EJ, CHAVKIN C. The dysphoric component of stress is encoded by activation of the dynorphin kappa-opioid system. **J Neurosci**. 2008 Jan 9;28(2):407-14. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4458-07.2008. PMID: 18184783; PMCID: PMC2612708.

LEE J.L. Memory reconsolidation mediates the strengthening of memories by additional learning. **Nat Neurosci**. 2008 Nov;11(11):1264-6. doi: 10.1038/nn.2205. Epub 2008 Oct 12. PMID: 18849987.

LEMOAL, M.; KOOB, G. F. Drug addiction: pathways to the disease and pathophysiological perspectives. **European Neuropsychopharmacology**, v. 17, n. 6–7, p. 377–393, 2007. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2007.02.009.

LESHNER A. I. Addiction is a brain disease, and it matters. **Science**. 1997 Oct 3;278(5335):45-7. doi: 10.1126/science.278.5335.45. PMID: 9311924.

LOVINGER, D. M. Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. **Alcohol Research & Health**, v. 31, n. 3, p. 196–206, 2008. Disponível em: <https://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh31-3/196-206.htm>. Acesso em: 28 ago. 2025.

LU H.C., MACKIE K. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. **Biol Psychiatry**. 2016 Apr 1;79(7):516-25. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.07.028. Epub 2015 Oct 30. PMID: 26698193; PMCID: PMC4789136.

LUPICA C. R, RIEGEL A.C. Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. **Neuropharmacology**. 2005 Jun;48(8):1105-16. doi: 10.1016/j.neuropharm.2005.03.016. PMID: 15878779.

LUTZ B. Neurobiology of cannabinoid receptor signaling. **Dialogues Clin Neurosci**. 2020 Sep;22(3):207-222. doi: 10.31887/DCNS.2020.22.3/blutz. PMID: 33162764; PMCID: PMC7605026.

MA, Z.; GAO, F.; LARSEN, B.; GAO, M.; LUO, Z.; CHEN, D.; MA, X.; QIU, S.; ZHOU, Y.; XIE, J.; XI, Z.-X.; WU, J. Mechanisms of cannabinoid CB2 receptor-mediated reduction of dopamine neuronal excitability in mouse ventral tegmental area. **EBioMedicine**, v. 42, p. 225–237, abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.03.040>. Acesso em: 5 out. 2025.

MALDONADO R, VALVERDE O, BERRENDERO F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. **Trends Neurosci**. 2006 Apr;29(4):225-32. doi: 10.1016/j.tins.2006.01.008. Epub 2006 Feb 17. PMID: 16483675.

MANZANARES J, CABAÑERO D, PUENTE N, GARCÍA-GUTIÉRREZ MS, GRANDES P, MALDONADO R. Role of the endocannabinoid system in drug

addiction. **Biochem Pharmacol**. 2018 Nov;157:108-121. doi: 10.1016/j.bcp.2018.09.013. Epub 2018 Sep 12. PMID: 30217570.

MASCIA P, Blockade of nicotine reward and reinstatement by activation of alpha-type peroxisome proliferator-activated receptors. **Biol Psychiatry**. 2011 Apr 1;69(7):633-41. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.07.009. PMID: 20801430; PMCID: PMC2994947.

MASCIA P, PISTIS MATHESON J, LE FOLL B. Therapeutic Potential of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) Agonists in Substance Use Disorders: A Synthesis of Preclinical and Human Evidence. **Cells**. 2020 May 12;9(5):1196. doi: 10.3390/cells9051196. PMID: 32408505; PMCID: PMC7291117.

MATHESON, J.; LE FOLL, B. Therapeutic potential of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) agonists in substance use disorders: a synthesis of preclinical and human evidence. **Cells**, Basel: MDPI AG, v. 9, n. 5, p. 1196, maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9051196>.

MATSUDA, L. A.; BONNER, T. I.; BUCKLEY, N. E. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, v. 346, n. 6284, p. 561–564, 9 ago. 1990. DOI: <https://doi.org/10.1038/346561a0>.

MCKENZIE S., EICHENBAUM H. Consolidation and reconsolidation: two lives of memories? **Neuron**. 2011 Jul 28;71(2):224-33. doi: 10.1016/j.neuron.2011.06.037. PMID: 21791282; PMCID: PMC3145971.

MILLER C. A, MARSHALL J. F. Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. **Neuron**. 2005 Sep 15;47(6):873-84. doi: 10.1016/j.neuron.2005.08.006. PMID: 16157281.

MILTON A. L., EVERITT B.J. The persistence of maladaptive memory: addiction, drug memories and anti-relapse treatments. **Neurosci Biobehav Rev**. 2012 Apr;36(4):1119-39. doi: 10.1016/j.neubiorev.2012.01.002. Epub 2012 Jan 24. PMID: 22285426. 22285426.

MIRANDA, M.; ARAOS, P.; VILLEGAS, R.; POBLETE, Y.; SEPÚLVEDA, F.; GONZÁLEZ, M.; GONZÁLEZ, C.; HERRERA-MARSCHITZ, M.; GONZÁLEZ, A.; QUINTANILLA, M. E. Oleoylethanolamide dose-dependently attenuates cocaine-induced behaviours through a PPAR α receptor-independent mechanism. **Addiction Biology**, v. 18, n. 1, p. 78–87, 2012.

MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p. 61–65, 2 set. 1993. DOI: <https://doi.org/10.1038/365061a0>.

NADER K. Neuroscience: re-recording human memories. **Nature**. 2003 Oct 9;425(6958):571-2. doi: 10.1038/425571a. Erratum in: **Nature**. 2004 Feb 12;427(6975):598. PMID: 14534572.

NAVARRETE F, *et al*. Role of CB2 cannabinoid receptors in the rewarding, reinforcing, and physical effects of nicotine. **Neuropsychopharmacology**. 2013

Nov;38(12):2515-24. doi: 10.1038/npp.2013.157. Epub 2013 Jul 2. PMID: 23817165; PMCID: PMC3799072.

NICOLA, S. M.; SURMEIER, D. J.; MALENKA, R. C. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. **Annual Review of Neuroscience**, v. 23, p. 185–215, 2000.

NIDA – National Institute on Drug Abuse. Drugs, brains, and behavior: the science of addiction. Bethesda, MD: NIH, 2020. Disponível em: <https://nida.nih.gov/publications/drugs-brains-behavior-science-addiction>. Acesso em: 28 ago. 2025.

NUTT D. J. The role of the opioid system in alcohol dependence. **J Psychopharmacol**. 2014 Jan;28(1):8-22. doi: 10.1177/0269881113504017. Epub 2013 Sep 18. PMID: 24048097.

OHNO-SHOSAKU, T.; KANO, M. Endocannabinoid-mediated retrograde modulation of synaptic transmission. **Current Opinion in Neurobiology**, London: Elsevier, v. 29, p. 1-8, Dec. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.03.017>.

ORTEGA-ÁLVARO, A.; TERNIANO, M.; ARACIL-FERNÁNDEZ, A.; NAVARRO, M.; PAROLARO, D.; VALVERDE, O.; FERRERES-CARBONELL, A.; MURGA, J.; MALDONADO, R. Role of cannabinoid CB2 receptor in the reinforcing actions of ethanol. **Addiction Biology**, v. 20, n. 1, p. 43–55, jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/adb.12076>.

PALIARIN, F.; ESPÍRITO SANTO, M. J. N. *Alterações comportamentais e eletrofisiológicas subjacentes à expressão de preferência e tolerância condicionada ao contexto induzidas por morfina*. 2020. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

PANLILIO, L. V, *at al*. Novel use of a lipid-lowering fibrate medication to prevent nicotine reward and relapse: preclinical findings. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 8, p. 1838–1847, jul. 2012. DOI: 10.1038/npp.2012.31.

PARSONS L. H, HURD Y. L. Endocannabinoid signalling in reward and addiction. **Nat Rev Neurosci**. 2015 Oct;16(10):579-94. doi: 10.1038/nrn4004. Epub 2015 Sep 16. PMID: 26373473; PMCID: PMC4652927.

PERTWEE R. G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. **Br J Pharmacol**. 2008 Jan;153(2):199-215. doi: 10.1038/sj.bjp.0707442. Epub 2007 Sep 10. PMID: 17828291; PMCID: PMC2219532.

PINTO, J.C; SILVA. M. O. A influência da dopamina na motivação e tomada de decisão. **Revista Neurociência em Foco**, v. 7, n. 2, p. 45-58, 2021.
PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A.-S.; MCNAMARA, J. O.; WHITE, L. E. **Neuroscience**. 5. ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2012.

RIVERA-MEZA, M.; MUÑOZ, D.; JEREZ, E.; QUINTANILLA, M. E.; SALINAS-LUYPAERT, C.; FERNANDEZ, K.; KARAHANIAN, E. Fenofibrate administration reduces alcohol and saccharin intake in rats: possible effects at peripheral and central levels. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 11, art. 133, 2017. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00133.

ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Vício em drogas: maus hábitos se somam. **Nature**, v. 398, n. 6728, p. 567-570, 1999; <https://doi.org/10.1038/19208>

ROBINSON, T. E; KOLB, B. Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse. **Neuropharmacology**. 2004;47 Suppl 1:33-46.

<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.06.025>. PMID: 15464124.

RODRÍGUEZ DE FONSECA F. Oleoylethanolamide dose-dependently attenuates cocaine-induced behaviours through a PPAR α receptor-independent mechanism. **Addict Biol**. 2013;18(1):78-87. doi: 10.1111/adb.12006.

ROY A, JANA M, CORBETT GT, RAMASWAMY S, KORDOWER JH, GONZALEZ FJ, PAHAN K. Regulation of cyclic AMP response element binding and hippocampal plasticity-related genes by peroxisome proliferator-activated receptor α . **Cell Rep**. 2013 Aug 29;4(4):724-37. doi: 10.1016/j.celrep.2013.07.028. Epub 2013 Aug 22. PMID: 23972989; PMCID: PMC3804033.

SCHULTZ, W. Dopamine reward prediction error coding. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 23–32, 2016. Disponível em: <https://www.dialogues-cns.org/wp-content/uploads/issues/18-1/18-1-23.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2025.

SHEPARD, P. D.; BUNNEY, B. S. Repetitive firing properties of putative dopamine-containing neurons in vitro: regulation by an apamin-sensitive Ca²⁺-activated K⁺ conductance. **Experimental Brain Research**, v. 86, p. 141-150, ago. 1991

SHIPPENBERG T. S, ZAPATA A, CHEFER V.I. Dynorphin and the pathophysiology of drug addiction. **Pharmacol Ther**. 2007 Nov;116(2):306-21. doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.06.011. Epub 2007 Jul 24. PMID: 17868902; PMCID: PMC2939016.

SHOEMAKER J. L, RUCKLE M. B, MAYEUX P. R, PRATHER P. L. Agonist-directed trafficking of response by endocannabinoids acting at CB2 receptors. **J Pharmacol Exp Ther**. 2005 Nov;315(2):828-38. doi: 10.1124/jpet.105.089474. Epub 2005 Aug 4. PMID: 16081674.

SHOWALTER V. M.; COMPTON D. R, MARTIN B.R, ABOOD M. E.; Evaluation of binding in a transfected cell line expressing a peripheral cannabinoid receptor (CB2): identification of cannabinoid receptor subtype selective ligands. **J Pharmacol Exp Ther**. 1996 Sep;278(3):989-99. PMID: 8819477.

SIDHPURA N., PARSONS L. H. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity and addiction-related behavior. **Neuropharmacology**. 2011 Dec;61(7):1070-87. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.05.034. Epub 2011 Jun 12. PMID: 21669214; PMCID: PMC3176941.

SKOLNICK, Phil. Treatment of overdose in the synthetic opioid era. **Pharmacology & therapeutics**, v. 233, p. 108019, 2022.

SOLINAS M., BELUJON P., FERNAGUT P.O, JABER M, THIRIET N. Dopamine and addiction: what have we learned from 40 years of research. **J Neural Transm** (Vienna). 2019 Apr;126(4):481-516. doi: 10.1007/s00702-018-1957-2. Epub 2018 Dec 19. PMID: 30569209.

SORG, B. A. Reconsolidation of drug memories. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 36, n. 5, p. 1400–1417, maio 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.02.004>>. Acesso em: 5 out. 2025.

SPERANZA L, DI PORZIO U, VIGGIANO D, DE DONATO A, VOLPICELLI F. Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. **Cells**. 2021 Mar 26;10(4):735. doi: 10.3390/cells10040735. PMID: 33810328; PMCID: PMC8066851.

SQUIRE, Larry R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 82, n. 3, p. 171–177, 2004.

STEFFENSEN, S. C.; STOBBS, S. H.; COLAGO, E. E.; LEE, R. S.; KOOB, G. F.; GALLEGOS, R. A.; HENRIKSEN, S. J. Contingent and non-contingent effects of heroin on mu-opioid receptor-containing ventral tegmental area GABA neurons. **Experimental Neurology**, v. 202, n. 1, p. 139–151, nov. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.05.023>>. Acesso em: 5 out. 2025.

STERN, C. A. J.; CARVALHO, C. R. de; BERTOGLIO, L. J.; TAKAHASHI, R. N. Effects of cannabinoid drugs on aversive or rewarding drug-associated memory extinction and reconsolidation. *Neuroscience*, v. 370, p. 62–80, 2018. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2017.07.018](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.07.018). PMID: 28729064.

SUGIURA T, WAKU K. Cannabinoid receptors and their endogenous ligands. **J Biochem**. 2002 Jul;132(1):7-12. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a003200. PMID: 12097154.

TRATADO DAS FUNÇÕES EXECUTIVAS – Vol. 1: Modelos teóricos, desenvolvimento e construtos associados. São Paulo: Ampla, 2023.
TRONSON N. C, TAYLOR J. R. Addiction: a drug-induced disorder of memory reconsolidation. **Curr Opin Neurobiol**. 2013 Aug;23(4):573-80. doi: 10.1016/j.conb.2013.01.022. Epub 2013 Feb 14. PMID: 23415831; PMCID: PMC3677957.

TSE, D. *et al*. Schema-dependent gene activation and memory encoding in neocortex. *Science*, v. 333, n. 6044, p. 891–895, 2011. DOI: [10.1126/science.1205274](https://doi.org/10.1126/science.1205274).

TSOU K, BROWN S, SAÑUDO-PEÑA M. C., Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. **Neuroscience**. 1998 Mar;83(2):393-411. doi: 10.1016/s0306-4522(97)00436-3. PMID: 9460749.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. Relatório Mundial sobre Drogas 2024. Viena: UNODC, 2024. Disponível em: <https://www.unodc.org/lpo-brazil/pt/frontpage/2024/06/relatorio>. Acesso em: 5 out. 2025.

UNITED STATES. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Drug and opioid-involved overdose deaths — United States, 2017–2018. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 43, p. 965–970, 2019. DOI: <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6843a3>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32191688/>. Acesso em: 26 ago. 2025.

VENGELIENE, V.; BILBAO, A.; MOLANDER, A.; SPANAGEL, R. Neuropharmacology of alcohol addiction. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 2, p. 299–315, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.130>.

VOLKOW, N. D.; KOOB, G. F.; McLENNAN, D. Neurobiologic advances from the brain disease model of addiction. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 4, p. 363–371, 2016. DOI: 10.1056/NEJMra1511480.

XI, Z. X.; PENG, X. Q.; LIU, Q. R.; YOU, Z. B.; WU, Y.; GARDNER, E. L. Brain cannabinoid CB₂ receptors modulate cocaine's actions in mice. **Nature Neuroscience**, v. 14, n. 9, p. 1160–1166, 24 jul. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nn.2874>. Acesso em: 5 out. 2025.

YIN, H. H.; KNOWLTON, B. J.; BALLEINE, B. W. Role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 2, p. 513–523, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04218.x>. Acesso em: 5 out. 2025. Zhang H.Y. et. al. Cannabinoid CB2 receptors modulate midbrain dopamine neuronal activity and dopamine-related behavior in mice. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2014 Nov 18;111(46):E5007-15. doi: 10.1073/pnas.1413210111. Epub 2014 Nov 3. PMID: 25368177; PMCID: PMC4246322.

ZHANG, H. Y. et. al. Expression of functional cannabinoid CB2 receptor in VTA dopamine neurons in rats. **Addiction Biology**, v. 22, n. 3, p. 752-765, May 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/adb.12367>.

ZLEBNIK N. E, CHEER J. F. Drug-Induced Alterations of Endocannabinoid-Mediated Plasticity in Brain Reward Regions. **J Neurosci**. 2016 Oct 5;36(40):10230-10238. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1712-16.2016. PMID: 27707960; PMCID: PMC5050322.

ZOU S., KUMAR U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. **Int J Mol Sci**. 2018 Mar 13;19(3):833. doi: 10.3390/ijms19030833. PMID: 29533978; PMCID: PMC5877694.

APÊNDICE A - CONSIDERAÇÕES SOBRE EXPERIMENTOS REALIZADOS, MAS QUE NÃO FORAM INCLUÍDOS NA DISSERTAÇÃO

Durante o desenvolvimento da pesquisa, foram realizados experimentos adicionais que não foram incluídos na análise principal apresentada no corpo do documento. Esses estudos complementares tinham como objetivo investigar fatores que poderiam interferir na eficácia do β -cariofileno (BCP) na modulação da aversão condicionada induzida por morfina em ratos. Embora os resultados tenham fornecido achados relevantes, a ausência de significância estatística observada exige uma análise detalhada sobre os possíveis fatores metodológicos e farmacológicos que podem ter influenciado os dados.

Possíveis fatores que influenciaram a ausência de significância estatística podem estar relacionada a diversos fatores críticos. Um dos principais desafios na utilização de agonistas e antagonistas seletivos é a possibilidade de interação com outros alvos biológicos imprevistos. Embora o BCP demonstre uma alta afinidade pelo receptor CB2 em comparação ao CB1, estudos indicam que ele pode interagir com outros locais de ligação não diretamente relacionados aos receptores canabinoides. Essa interação não prevista pode ter impactado a modulação comportamental esperada, contribuindo para a ausência de efeito estatístico significativo.

Outro fator relevante envolve variações na ação dos agonistas CB2 entre diferentes espécies. Por exemplo, AM1241, um agonista seletivo de CB2, atua como agonista no receptor CB2 humano, porém, em roedores, é agonista inverso desses receptores. Essa diferença na ação pode ter impactado os resultados experimentais obtidos em ratos, gerando potenciais discrepâncias nos efeitos observados.

Além disso, agonistas CB2 que possuem propriedades de ligação semelhantes podem ativar diferentes vias de sinalização, o que pode resultar em respostas fisiológicas distintas (SHOEMAKER et al., 2005). Isso evidencia a importância da seletividade funcional no desenho experimental e na interpretação dos resultados farmacológicos. Variações na ativação de vias de sinalização pelo BCP podem ter contribuído para a inconsistência nos efeitos observados entre os grupos experimentais.

Outro aspecto relevante a ser considerado é o efeito da naltrexona, um antagonista do receptor opioide μ , na modulação da aversão condicionada. Estudos indicam que a naloxona pode bloquear os efeitos analgésicos de certos agonistas CB2, diminuindo sua eficácia na resposta comportamental (Ibrahim et al., 2005; Yao

et al., 2009). Dessa forma, a administração de naltrexona no segundo dia do experimento pode ter interferido negativamente na ação do BCP, comprometendo sua influência na modulação da aversão condicionada.

É fundamental que a interpretação dos resultados obtidos seja realizada com rigor metodológico, considerando controles experimentais precisos e complementando as análises com estudos genéticos e anatômicos adicionais. A ausência de significância estatística pode indicar que o verdadeiro alvo de ação do BCP nos experimentos realizados ainda não foi completamente elucidado, reforçando a necessidade de futuras investigações sobre os mecanismos subjacentes à modulação comportamental mediada por CB2.