

**Avaliação da participação do sistema
endocanabinoide na memória de extinção do medo
condicionado em camundongos**

Larissa Fernanda Matias Werworn

**Ribeirão Preto
2022**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

LARISSA FERNANDA MATIAS WERWORN

Avaliação da participação do sistema endocanabinoide na memória de extinção
do medo condicionado em camundongos

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-graduação em
Ciências Farmacêuticas da Faculdade
de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Área de concentração: Produtos
Naturais e Sintéticos

Orientadora: Prof^a Dr^a Sabrina
Francesca de Souza Lisboa

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 25/08/2022. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Larissa Fernanda Matias Werworn

Avaliação da participação do sistema endocanabinoide na memória de extinção do medo condicionado em camundongos. Ribeirão Preto, 2022.

121 p. il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientador: Lisboa, Sabrina Francesca de Souza

1. Endocanabinoides 2. Medo condicionado contextual 3. Memória de medo

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro (processo nº 2019/19226-5). As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade da autora e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

WERWORN, Larissa Fernanda Matias. **Avaliação da participação do sistema endocanabinoide na memória de extinção do medo condicionado em camundongos**. 2022. 121 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

O transtorno do estresse pós-traumático (TEPT), uma doença psiquiátrica debilitante, pode se desenvolver após exposição a eventos traumáticos. Os tratamentos aprovados possuem baixa eficácia, longa latência para ação e inúmeros efeitos adversos. Portanto, estudos sobre os mecanismos envolvidos no TEPT são importantes para prover novas perspectivas terapêuticas com mais eficácia. Dentre inúmeros sistemas possivelmente envolvidos na fisiopatologia do TEPT está o endocanabinoide (eCB). Inicialmente, o presente projeto testaria a hipótese de que uma disfunção na sinalização eCB induzida pelo estresse de derrota social repetida (EDSR) estaria envolvida em alterações comportamentais relacionadas ao TEPT. Para isso, foram realizados experimentos para padronização dos protocolos de EDSR e de medo condicionado contextual (MCC), empregando diferentes testes comportamentais após o estresse (Estudo 1). Para realização do EDSR, um camundongo CD-1 foi introduzido na caixa-moradia dos camundongos C57Bl/6 a fim de causar perturbações na hierarquia social e ataques físicos nos animais residentes (6 dias consecutivos, 2h por dia). Em um dos experimentos, a AA-5HT (antagonista TRPV1 e inibidor da FAAH; 0,1, 0,3 e 1,0 mg/kg, i.p.) foi administrada 1 hora antes de cada sessão de estresse. Após uma semana, o protocolo de MCC foi realizado. Os animais foram colocados em uma caixa de condicionamento por 7:30 minutos onde receberam 3 choques elétricos (0,75mA, 2 s cada), randômicos, nas patas. Após 24h, foram reexpostos à caixa, sem choques, por 20 minutos (sessão de evocação e aquisição de extinção; Dia 2). Após outras 24h, foram novamente reexpostos à caixa (10 minutos) para a evocação da memória de extinção (Dia 3). Foi observado que o protocolo de EDSR não induziu efeito ansiogênico consistente ou déficits de extinção da memória de MCC, conforme esperado e previamente reportado. No experimento com a AA-5HT, embora o EDSR também não tenha induzido alterações no MCC, os efeitos da droga são inconclusivos devido ao

baixo número de animais utilizado. Devido à ineficácia do estresse e ao fato do protocolo de MCC produzir resultados consistentes, o objetivo do trabalho foi alterado, e passou a ser testar a hipótese de que os receptores CB2 modulariam a extinção do MCC. Para isso, no protocolo de MCC explicado acima, um agonista de receptores CB2 (JWH133) e um antagonista/agonista inverso CB2 (AM630), ambos nas doses de 0,5, 1,0, 2,0 ou 4,0 mg/kg, i.p., foram administrados 30 minutos antes da reexposição à caixa no Dia 2. O JWH133 (2,0 mg/kg) facilitou a aquisição da extinção sem, no entanto, interferir na evocação desta memória, ao menos a curto prazo. O AM630 (2,0 mg/kg) também apresentou discreto efeito facilitador da extinção (Dia 2). Uma possibilidade poderia ser por ação dos eCBs em CB1, portanto foi feita a administração de dose inefetiva de AM251 30 minutos antes do AM630. Não foi observado o efeito esperado. Considerando a importância dos eCBs em situações mais aversivas, realizou-se um experimento com protocolo de choques mais intensos (3x1,5 mA, 2s) com o JWH133 (2,0 e 4,0 mg/kg). O JWH133 (2,0 mg/kg) apresentou efeito facilitador mais robusto na aquisição da memória de extinção, sem interferir na evocação desta memória. Já a maior dose (4,0 mg/kg) não interferiu na aquisição da memória de extinção, mas prejudicou a evocação desta memória no dia seguinte, evidenciando uma resposta dual. Estes resultados sugerem que os receptores CB2 podem estar envolvidos no processo de extinção do MCC, mas de forma complexa, provavelmente envolvendo equilíbrio de ação dos eCBs em diferentes receptores e em receptores com diferentes localizações celulares. Mais estudos, portanto, são necessários para elucidar estas questões.

Palavras-chave: Endocanabinoides; Medo condicionado contextual; Memórias de medo

ABSTRACT

WERWORN, Larissa Fernanda Matias. **Evaluation of the participation of the endocannabinoid system in the extinction of conditioned fear memory of mice**. 2022. 121 p. Dissertation (Master) – School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo, Ribeirao Preto, 2022.

Posttraumatic stress disorder (PTSD), a debilitating psychiatric disorder, can develop after exposure to traumatic events. The approved treatments are little effective, have long latency period to start the action, and numerous adverse effects. Therefore, studies that investigate mechanisms involved in PTSD are importante to provide new therapeutic perspectives more effectively. The endocannabinoid (eCB) system is among the biological systems that can possibly be involved in the PTSD pathophysiology. Initially, the objective was to test the hypothesis that a repeated social defeat stress (RSDS)-induced dysfunction in the eCB signaling would be involved in PTSD-related behavioral changes. For this purpose, we performed experiments aiming at standardizing RSDS and contextual fear conditioning (CFC) protocols, using different behavioral tests after stress (Study 1). To perform the RSDS, a CD-1 mouse was introduced into the homecage of the C57Bl/6 mice, in order to disturb the social hierarchy and attack the residente animals (6 consecutive days, 2 hours a day). In one of the experiments, AA-5HT (TRPV1 antagonist and FAAH inhibitor; 0.1, 0.3 and 1.0 mg/kg, i.p.) was administered 1 hour before each stress session. After 1 week, the CFC protocol was performed, in which the mice were placed in a conditioning chamber for 7:30 minutes, where They received 3 random electric footshocks (0.75 mA, 2s each). After 24 hours, They were re-exposed to the chamber, without footshocks, for 20 minutes (session of evocation and acquisition of extinction; day 2). After another 24 hours, They were re-exposed again to the chamber (10 minutes) to test the evocation of extinction memory (day 3). RSDS protocol did not induce consistente anxiogenic effect or CFC memory extinction déficits, as expected and previously reported. In the experimete with AA-5HT, althought RSDS also did not induce changes in the CFC, the effects of the drug are inconclusive due to the low number of animals used. Due to the lack of efficacy of RSDS and the fact that the MCC protocol produced consistent results, the objective of this work was changed to: test the hypothesis that CB2 receptors

would modulate CFC memory extinction. For this purpose, in the same CFC protocol explained before, a CB2 receptor agonist (JWH133) and a CB2 antagonist/inverse agonist (AM630), both at doses of 0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mg/kg, i.p., were administered 30 minutes prior to box re-exposure on Day 2. JWH133 (2.0 mg/kg) facilitated the acquisition of extinction memory without, however, interfering with the evocation of this memory, at least in short term. AM630 (2.0 mg/kg) also had a slight effect facilitating extinction (Day 2). One possibility could be the action of eCBs on CB1, so an ineffective dose of AM251 was administered 30 minutes before AM630. The expected effect was not observed. Considering the importance of eCBs in more aversive situations, an experiment was carried out with a protocol involving more intense shocks (3x1.5 mA, 2s) with JWH133 (2.0 and 4.0 mg/kg). JWH133 (2.0 mg/kg) had a more robust facilitating effect on the acquisition of extinction memory, without interfering with the evocation of this memory. The highest dose (4.0 mg/kg) did not interfere with the acquisition of extinction memory, but impaired the evocation of this memory on the following day, evidencing a dual response. These results suggest that CB2 receptors may be involved in the CFC memory extinction process, but in a complex way, probably involving balance of action of eCBs in different receptors and in receptors with different cellular locations. Therefore, more studies are needed to elucidate these questions.

Key-words: Endocannabinoids; Contextual fear conditioning; Fear memories

1. INTRODUÇÃO

1.1 TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO

O transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) é uma doença psiquiátrica debilitante que pode se desenvolver após exposição à uma situação intensamente traumática, como violência física ou sexual, guerra, acidente de trânsito, desastre natural, assalto à mão armada, dentre outros (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; GATES et al., 2012).

Para ser diagnosticado com TEPT o indivíduo deve ter sido exposto a episódio concreto ou ameaça de morte, lesão grave ou violência sexual, ou mesmo testemunhar eventos traumáticos com terceiros, e apresentar um certo número de sintomas de cada categoria, por um período de ao menos um mês após a exposição ao evento. Os sintomas são divididos em quatro categorias: intrusivos; de evitação; alterações negativas na cognição e humor; e alterações na excitação e reatividade. Os sintomas intrusivos incluem memórias intrusivas (invasivas, involuntárias) angustiantes, pesadelos, *flashbacks*, e sofrimento ou reatividade fisiológica acentuada após exposição a estímulos relacionados ao trauma (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Os sintomas de evitação incluem a tentativa de se esquivar de situações, lugares ou pensamentos que estejam relacionados ao trauma (BLECHERT et al., 2007). Estes sintomas levam o indivíduo a se afastar do trabalho, família e amigos, levando ao isolamento social (YEHUDA et al., 2015). Na categoria de sintomas associados a alterações negativas na cognição e humor incluem-se a incapacidade de recordar alguns aspectos-chave do trauma, crenças negativas distorcidas e persistentes, emoções negativas relacionadas ao trauma e a inabilidade de experienciar emoções positivas. Já as alterações na excitação e reatividade incluem sintomas de hipervigilância, respostas de sobressalto exageradas, problemas para dormir e se concentrar, e comportamentos agressivos e autodestrutivos (LAPIZ-BLUHM; PETERSON, 2014).

Os dados epidemiológicos sobre o TEPT variam muito conforme a população analisada. A prevalência do TEPT na população geral na vida adulta (prevalência ao longo da vida de pessoas civis) é estimada entre 3,4 e 26,9% (GOLDSTEIN et al., 2016; KESSLER et al., 1995; SCHEIN et al., 2021), sendo que este valor é maior entre os veteranos de guerra/militares, profissionais cuja

ocupação envolve alto risco de exposição a situações traumáticas (por exemplo: profissionais da saúde) e entre pessoas em situação de vulnerabilidade socioeconômica (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Ainda, sabe-se que esta doença é cerca de duas vezes mais provável de se desenvolver em mulheres que em homens (KESSLER et al., 1995).

A gravidade do TEPT é aumentada por outras condições existentes, que podem resultar da exposição ao trauma ou ocorrer concomitantemente a ele. Estas condições incluem o abuso de substâncias, transtornos de humor e de ansiedade, comportamento impulsivo e automutilação (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013), gerando uma sobreposição de sintomas. O TEPT também está associado a comorbidades médicas, como dor crônica, inflamação, doenças cardiovasculares e metabólicas e maior risco de demência (LOHR et al., 2015; MICHOPoulos et al., 2015; ROSENBAUM et al., 2015), além de um maior risco de ideação e tentativas de suicídio (MARSHALL et al., 2001).

Atualmente, o órgão de regulamentação de alimentos e drogas nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA), indica como primeira opção de tratamento do TEPT os medicamentos sertralina e paroxetina, ambos inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) (YEHUDA et al., 2015). No entanto, os ISRS são pouco efetivos para este transtorno, possuem um considerável período de latência para o início do efeito, além de possuírem inúmeros efeitos adversos, o que pode levar o paciente a desistir do tratamento. Ainda, outros medicamentos também são prescritos de forma *off label* para o tratamento dos sintomas do TEPT, como antipsicóticos, anticonvulsivantes (estabilizadores de humor) e beta-bloqueadores (YEHUDA et al., 2015). Um fator importante para a falta de opções eficazes de tratamento do TEPT é o fato de os mecanismos neurais envolvidos na fisiopatologia dessa doença ainda não estarem bem elucidados (RICHTER-LEVIN; STORK; SCHMIDT, 2019).

A maioria dos indivíduos, em algum momento da vida, passa por ao menos uma situação intensamente traumática, o que resulta em uma resposta de estresse pós-traumática, como entorpecimento emocional ou hiperemocionalidade, pesadelos, hipervigilância, dentre outros, mas conseguem superar esta resposta sem grandes consequências. No entanto, uma parcela da população (cerca de 10-20%, a depender do evento traumático) não consegue

se recuperar e apresenta a persistência destes sintomas, desenvolvendo então o TEPT (ROSS et al., 2017; SOUTHWICK; CHARNEY, 2012).

Em humanos, a exposição do indivíduo ao estresse na infância ou mesmo na idade adulta (RESSLER et al., 2022; YEHUDA; LEDOUX, 2007), o tipo e a intensidade da situação traumática vivenciada (KESSLER et al., 2017), além de fatores genéticos (STEIN et al., 2002, 2016) e epigenéticos (ANACKER; O'DONNELL; MEANEY, 2014; ZANNAS; WEST, 2014), têm sido considerados fatores preditivos para o desenvolvimento do TEPT. Ademais, no contexto atual da pandemia da COVID-19, o desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos, inclusive o TEPT, é uma preocupação bastante grande, e que tem sido amplamente discutida (GREENE et al., 2021; JANIRI et al., 2021).

Sintomas neuropsiquiátricos como depressão, ansiedade e TEPT são bem descritos em pacientes sobreviventes da COVID-19 que foram internados na UTI, de uma forma geral (TEIXEIRA et al., 2021). Somado a isso, existem evidências de que a Covid-19 pode causar danos neurológicos nos sobreviventes, ainda não completamente conhecidos, que poderiam predispor ao desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos, conforme já relatado (RASS et al., 2022).

Segundo o DSM-V, a exposição repetida ou extrema a detalhes aversivos de situações de morte (por exemplo, socorristas que recolhem restos de corpos humanos), ameaça de morte ou lesão em terceiros também configura exposição a um trauma (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Conforme já descrito anteriormente, sabe-se que profissionais da saúde que trabalham em setores de terapia intensiva, urgência e emergência, de um modo geral, possuem maior risco de desenvolvimento de TEPT por estarem lidando com situações de morte e/ou quase morte de vários pacientes (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; LIMA; ASSUNÇÃO, 2011). De fato, já foi descrito anteriormente a relação entre TEPT e outros transtornos em epidemias anteriores de SARS, MERS, ebola, dentre outras (BROOKS et al., 2018; PRETI et al., 2020). A pandemia de COVID-19 causou superlotação em hospitais, aumento no número de mortes, além de um grande estresse físico e psicológico nestes profissionais, que enfrentaram exaustivas jornadas de trabalho e o temor de serem infectados também (VEDOVATO et al., 2021).

No entanto, não são apenas as pessoas envolvidas direta ou indiretamente com a infecção pelo SARS-Cov-2, o vírus causador da COVID-19,

que apresentam maior risco para o desenvolvimento de TEPT. A pandemia também expôs a população mundial a diversas outras situações extremamente estressantes, tais como as medidas de isolamento social impostas como forma de conter o avanço do contágio, o medo de se contaminar ou de pessoas próximas se contaminarem, bem como os impactos econômicos decorrentes da crise. Em suma, podemos esperar o relato de aumento significativo na prevalência mundial de TEPT durante a pandemia de COVID-19, bem como nos anos posteriores ao seu término.

1.1.1 Neurobiologia do TEPT

Ainda não se sabe ao certo qual a etiologia deste transtorno, porém diversos estudos levam a crer que o TEPT é uma desordem heterogênea, multissistêmica e multifatorial, que se desenvolve quando há uma consolidação exagerada das memórias de medo e a dificuldade de extingui-las, resultando em sensibilização do indivíduo a pistas sensoriais e contextuais condicionadas relacionadas ao medo e na falha em recuperar-se da situação traumática (MORRISON; RESSLER, 2014).

Em humanos, uma redução no volume do hipocampo (O'DOHERTY et al., 2015; WANG et al., 2010) e do córtex cingulado anterior, mas não da amígdala (O'DOHERTY et al., 2015) são descritos no TEPT. Além disso, também foram observadas alterações no eixo neuroimunoendócrino, caracterizadas por disfunção na liberação e ação do cortisol, níveis elevados de mediadores inflamatórios e exacerbação de resposta inflamatória, inclusive no sistema nervoso central (SNC), sendo o mesmo observado após a exposição a estímulos estressores em modelos animais (GRIFFIN; CHARRON; AL-DACCAK, 2014; RAVINDRAN; STEIN, 2009; ROHLER et al., 2004; YEHUDA, 2009).

Diversos sistemas de neurotransmissão parecem estar envolvidos na fisiopatologia do TEPT, tais como serotoninérgico (GRESSIER et al., 2013), GABAérgico (ROSSO et al., 2014), dopaminérgico (HOEXTER et al., 2012), adrenérgico (LIBERZON et al., 2014; TAYLOR et al., 2006; ZOLADZ et al., 2014) e o sistema endocanabinoide (LU et al., 2008; NEUMEISTER et al., 2013; PARDINI et al., 2012), o qual será abordado separadamente em uma seção adiante.

1.2 MODELOS ANIMAIS

Alterações fenotípicas observadas em diversos transtornos psiquiátricos podem ser modeladas em animais, por exemplo roedores de laboratório. Os modelos animais são utilizados para estudar a neurobiologia e mecanismos fisiopatológicas de transtornos psiquiátricos, bem como drogas que podem intervir nestes, sendo que os conhecimentos gerados podem, mais tarde, serem extrapolados para a clínica em humanos (BORGHANS; HOMBERG, 2015; NESTLER; HYMAN, 2010). No entanto, para serem utilizados para esses fins, os modelos animais precisam ser avaliados quanto à similaridade com as patologias observadas nos humanos. Os modelos animais costumam ser, de forma bastante simplista, baseados em 3 requisitos de validade: validade preditiva; validade de face; e validade de construto (BORGHANS; HOMBERG, 2015). No entanto, é importante ressaltar que os modelos não se limitam a estes critérios, e que tampouco atender a estes critérios significa que o modelo reflete exatamente toda a complexidade de alterações em um transtorno neuropsiquiátrico.

Em relação à validade de construto, seu princípio é avaliar se o desenvolvimento da condição/fenótipo no modelo animal resulta de processos similares aos que ocorrem em humanos que possuem este transtorno, por exemplo, genes de vulnerabilidade e fatores ambientais como o estresse.

Já a validade de face corresponde a quanto o fenótipo apresentado pelo animal é similar ao apresentado por humanos que têm a doença. Por exemplo: muitos pacientes com depressão exibem anedonia, então o modelo animal deve apresentar este comportamento, detectado através de testes comportamentais. Entretanto, vale ressaltar que muitos sintomas não são exclusivos de um transtorno, demonstrando a complexidade de se tirar respostas conclusivas apenas com base em modelos animais.

A validade preditiva se refere à responsividade específica e seletiva do animal a intervenções farmacológicas e não-farmacológicas que são efetivas para a doença em humanos. Por exemplo, se uma droga é efetiva no transtorno de ansiedade generalizada em humanos sob certas condições, ela deve agir da mesma forma.

Além de ser relativamente ainda pouco elucidado, o TEPT se apresenta nos pacientes com uma sintomatologia variada, tornando mais difícil a

compreensão da neurobiologia deste transtorno. Como é de se esperar, obter um modelo animal para o estudo da fisiopatologia do TEPT é igualmente desafiador, e é praticamente impossível recriar todos os aspectos das patologias humanas em animais. De um modo geral, os pesquisadores procuram mimetizar grupos específicos de sintomas ao elaborar um modelo animal de TEPT (BORGHANS; HOMBERG, 2015).

A validade de face dos modelos animais de TEPT costuma ser avaliada através de testes comportamentais, como o labirinto em cruz elevado (LCE), teste do campo aberto (TCA) e resposta de sobressalto, visto que indivíduos com TEPT apresentam ansiedade generalizada e hiperexcitação, que têm fenótipos similares observados nestes testes. Já a validade preditiva é mais difícil de ser acessada, uma vez que os tratamentos farmacológicos disponíveis para o TEPT são pouco efetivos. Apesar de não haver um padrão ouro, a validade preditiva pode ser avaliada através do uso de inibidores seletivos da recaptação da serotonina, que devem melhorar ao menos em parte, ou em parte dos animais, as características tipo-TEPT exibidas pelo animal (SIEGMUND; WOTJAK, 2006).

Um aspecto fundamental do TEPT é a exposição ao trauma. Para atender à validade do construto, o modelo animal de TEPT deve conter a apresentação de um estressor potencialmente traumático. No entanto, o TEPT não afeta todas as pessoas que passam por uma situação traumática. Além disso, este transtorno se apresenta através de sintomas variados entre os indivíduos. Desta forma, o modelo animal ideal de TEPT deveria também apresentar estas características (BORGHANS; HOMBERG, 2015).

Os estressores em modelos animais de TEPT podem ser divididos em físicos, sociais e psicológicos, e alguns podem ser utilizados em associação. Os estressores físicos se baseiam no uso de estímulos aversivos para estressar os animais diretamente, podendo ser comparados com experiências de quase-morte ou acidentes sofridos por humanos. Estes incluem o estresse único prolongado, estresse de restrição, trauma subaquático, aprendizado de medo potenciado pelo estresse, choques elétricos (que podem incluir testes para a extinção do medo no paradigma do medo condicionado, assunto que será abordado mais adiante), dentre outros (BORGHANS; HOMBERG, 2015). Já os estressores sociais são baseados no comportamento social natural dos animais, e são relevantes considerando que os humanos são responsivos a experiências

sociais traumáticas, tais como estupro e outros tipos de abuso. Estes estressores incluem instabilidade habitacional, isolamento social, estresse no início da vida e o estresse de derrota social (BORGHANS; HOMBERG, 2015). Os estressores psicológicos comumente envolvem a exposição a predadores naturais ou ao odor deles, o que pode ser instintivamente estressante para o animal em estudo. Esta categoria inclui o estresse psicossocial baseado em exposição ao predador e o estresse de exposição ao odor do predador (BORGHANS; HOMBERG, 2015).

1.2.1 Estresse de derrota social repetida

Respostas imunes e comportamentais ao estresse podem ser modeladas em camundongos através do estresse de derrota social repetido (EDSR) (WOHLEB et al., 2011). Neste protocolo, os camundongos são expostos a um camundongo reprodutor aposentado, maior e mais agressivo, durante um determinado período. Neste período é possível observar a presença de dominância e ataques por parte do camundongo agressor, e comportamento submisso dos camundongos testados, alterando a hierarquia social previamente existente na caixa-moradia dos camundongos testados. Podemos considerar então que este protocolo de estresse envolve tanto um componente físico, decorrente dos ataques diretos do camundongo agressor, quanto um componente social (NAKATAKE et al., 2020).

Um aspecto que distingue o EDSR de outros estressores ambientais é a sua capacidade de ativar continuamente o eixo hipófise-adrenal durante os confrontos repetidos (COVINGTON; MICZEK, 2005; KOOLHAAS et al., 1997).

O EDSR aumenta a mielopoiese, promove o tráfego de macrófagos da periferia para o cérebro, ativação da micróglia e neuronal no encéfalo, e induz comportamento tipo-ansioso (ENGLER et al., 2004; WOHLEB et al., 2011). Ainda, altera a resposta imune a desafios virais e bacterianos subsequentes (BAILEY et al., 2009; MAYS et al., 2010). McKim e colaboradores demonstraram que o desenvolvimento de ansiedade após o EDSR foi causado pelo recrutamento de monócitos produtores de IL-1 β à neurovasculatura de áreas cerebrais relacionadas à resposta ao estresse (MCKIM et al., 2018). Ainda, o EDSR promove o tráfego de células mieloides periféricas (CD11b⁺) resistentes a

glicocorticoides da medula óssea para o baço e pulmões (ENGLER et al., 2004). Além disso, o antagonismo de receptores β -adrenérgicos bloqueia o tráfego de células mieloides, ativação microglial e comportamento tipo-ansioso induzidos por EDSR (HANKE et al., 2012; WOHLEB et al., 2011).

Ademais, a exposição ao EDSR promove alterações na responsividade a estímulos condicionados subsequentes, sendo que esta e muitas das alterações descritas acima são atenuadas pelo tratamento com um agonista de receptores canabinoides CB1/CB2 durante o estresse (LISBOA et al., 2018). Estas alterações são abordadas a seguir.

1.2.2 Medo condicionado contextual

A formação de memória é um processo complexo, altamente dinâmico e de compreensão ainda limitada. De forma bem resumida, ao adquirirmos uma memória, esta é lábil e facilmente modificada, denominada memória de curto prazo (do inglês, *short-term memory*, STM). Através do processo de consolidação, a STM pode se transformar em uma memória mais estável e difícil de ser modificada, chamada memória de longo prazo (do inglês *long-term memory*, LTM). A reapresentação de uma pista adequada relacionada a esta memória (evocação da memória) pode causar a sua desestabilização (labilização). Neste processo, a memória estável e consolidada torna-se lábil novamente e, portanto, é passível de ser modificada, reforçada e consolidada novamente, ou sua expressão pode ser enfraquecida, através do processo de extinção (NADEL et al., 2012). Portanto, algumas modificações possíveis podem ser: reestabilização ou reconsolidação, onde a memória é consolidada novamente, possivelmente em uma forma mais forte do que anteriormente; atualização, que é a incorporação de novas informações ao traço de memória original a partir de novas experiências vividas; e extinção, que não é o apagamento da memória, mas sim a formação de uma nova memória, capaz de sobrepor-se à memória original e suprimi-la (MAREN; HOLMES, 2016). Entretanto, a memória de extinção parece ser mais fraca do que o traço original da memória adquirida e, por isso, sua manutenção a longo-prazo é mais difícil, e com o passar do tempo pode haver recuperação espontânea (MAREN; HOLMES, 2016).

O medo condicionado contextual (MCC) é baseado no condicionamento Pavloviano, e envolve memória aversiva associativa, condicionada, e estruturas encefálicas como a amígdala, o hipocampo e o córtex pré-frontal (LEDOUX, 2000). O paradigma consiste na exposição do animal a um estímulo aversivo (estímulo não-condicionado – do inglês, *unconditioned stimulus*, US), normalmente choques nas patas, em determinado contexto (estímulo neutro), sendo que o contexto passa a ser o estímulo condicionado (do inglês, *conditioned stimulus*, CS). Quando o animal é re-exposto ao CS, sem apresentação do US, evoca a memória associativa e apresenta a resposta de medo, quantificada, por exemplo, pelo parâmetro comportamental de congelamento (FANSELOW, 1990).

O condicionamento de medo é um processo de aprendizado normal e possui caráter evolutivo, sendo importante para a sobrevivência animal (FRIJDA, 1986; RICHTER-LEVIN; STORK; SCHMIDT, 2019). Pode-se dizer, portanto, que esse medo vem de uma resposta emocional “normal”. Porém, perturbações em diversas vias e mecanismos podem alterar o processamento destas memórias, tornando as respostas ao medo patológicas, como é observado no TEPT e outros transtornos relacionados ao medo ou ansiedade. O medo patológico é caracterizado por altos níveis de medo subjetivo, incompatíveis com o perigo real, e uma resposta condicionada exacerbada, bem como outras alterações (BARLOW, 2002). Diversos fatores (ambientais, genéticos, epigenéticos, dentre outros) podem causar estas perturbações. Então, apesar de possuir essa natureza adaptativa, o condicionamento ao medo tem um papel fundamental no desenvolvimento destes transtornos quando se torna mal adaptativo (BECKERS et al., 2013).

Ao associar um estresse prévio com o paradigma de medo condicionado, podemos ter um modelo animal que mimetiza melhor alterações patológicas no processamento de memórias. É sabido que diversos protocolos de estresse, tanto agudos como crônicos, são capazes de causar déficit na extinção de memória em modelos animais que utilizam o paradigma de medo condicionado (MAREN; HOLMES, 2016), tais como o estresse de derrota social repetido em camundongos C57, no medo condicionado ao contexto (LISBOA et al., 2018), isolamento social em ratos Long Evans, avaliados no medo condicionado à luz (SKELLY et al., 2015), estresse de restrição em ratos Sprague-Dawley, avaliados no medo condicionado ao som (ZHANG; ROSENKRANZ, 2013), estresse único

prolongado em ratos Sprague-Dawley, avaliados no medo condicionado contextual (IWAMOTO et al., 2007), dentre outros.

Pacientes com TEPT apresentam alterações em mecanismos relacionados à memória, particularmente a memória aversiva. Normalmente, um sujeito que passa por um evento traumático associa a memória deste trauma (US), que naturalmente induz respostas de medo, a outros estímulos neutros, como fatores do ambiente, que normalmente não induzem respostas de medo por si só (CS). Após esse pareamento, apenas a apresentação do CS é capaz de evocar resposta de medo. Esta memória de medo pareada, assim como outras memórias, passa pelo processo de consolidação, e se tornam LTM (ENOMOTO; KATO, 2021). Na maioria das vezes, após repetidas e longas apresentações do CS, sem a presença do US, a expressão da resposta de medo é gradualmente reduzida, ocorrendo o fenômeno de extinção da memória que, como explicado anteriormente, não é o apagamento da memória de medo, mas sim a formação de uma nova memória (BOUTON, 1993). No entanto, a apresentação do CS por curto período, sem a presença do US pode reativar a memória aversiva original, tornando-a mais estável novamente, através do processo de reconsolidação (NADER; SCHAFE; LE DOUX, 2000). Ainda, devido ao fato do traço de memória original, do trauma, ser mais forte do que a memória de extinção, não é incomum que este processo de extinção não seja duradouro e que ocorra recuperação espontânea (MAREN; HOLMES, 2016). Nesse sentido, o déficit na extinção do medo tem sido considerado um ponto chave do TEPT, contribuindo para a persistência das memórias e das respostas de medo características deste transtorno (MAREN; HOLMES, 2016). Anormalidades em circuitos cerebrais envolvendo hipocampo, amígdala, córtex pré-frontal medial (mPFC), giro cingulado e ínsula, parecem estar associadas às alterações observadas no TEPT (ETKIN; WAGER, 2007; SARTORY et al., 2013; TABER et al., 2003).

Frente a estas alterações descritas no TEPT, uma abordagem para o estudo de mecanismos neurobiológicos envolvidos neste transtorno é justamente a avaliação do comportamento animal em paradigmas de medo condicionado contextual. Uma vez que este paradigma permite a avaliação de componentes da memória aversiva (aquisição, consolidação, evocação, reconsolidação e extinção), mecanismos que podem estar alterados no TEPT, o entendimento destes mecanismos podem ajudar na compreensão da sua

neurobiologia. Ainda, a administração de drogas que tenham como alvo estes processos constitui uma abordagem interessante para o estudo dos mecanismos neuroquímicos envolvidos na fisiopatologia do TEPT (LISBOA et al., 2019; STEARDO et al., 2021).

1.3 SISTEMA ENDOCANABINOIDE

1.3.1 Histórico

A *Cannabis sativa* L., popularmente conhecida como maconha, é uma planta cultivada e usada pelos humanos há milênios como medicamento, droga de abuso e fonte de fibra têxtil (JIANG et al., 2006).

Quando fumada (principal forma de consumo recreativo), a maconha produz efeitos psicotrópicos de euforia, alteração na percepção do tempo, sedação, prejuízo na atenção, tempo de reação e controle motor, amnésia, dentre outros (MILLER; BRANCONNIER, 1983).

Dentre os diversos metabólitos secundários encontrados na maconha, a classe dos fitocanabinoides é a de maior relevância, visto que compreende as principais substâncias responsáveis pelos efeitos típicos causados por esta planta. Esta classe possui mais de 100 compostos identificados até então, sendo o Δ 9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC), o canabidiol (CBD) e o canabinol (CBN) os mais importantes e encontrados em maior quantidade na planta. O Δ 9-THC, fitocanabinoide mais estudado, é responsável pelos principais efeitos psicotrópicos da maconha, incluindo a euforia, efeitos psicomotores, e seu potencial de abuso (CURRAN et al., 2002; HART et al., 2002; RAMAEKERS et al., 2009).

Por outro lado, o CBD não produz efeitos psicotomiméticos, mas é psicoativo e mostrou efeito ansiolítico em humanos e animais (GUIMARÃES et al., 1990; ZUARDI et al., 1993), além de efeito antidepressivo (SARTIM; GUIMARÃES; JOCA, 2016; ZANELATI et al., 2010), antiepiléptico (CUNHA et al., 1980), e atenuou o comportamento agressivo induzido pelo isolamento social (HARTMANN et al., 2019) em animais de laboratório, dentre outros efeitos. As evidências pré-clínicas e clínicas sugerem que o CBD é uma alternativa promissora para o tratamento de transtornos neuropsiquiátricos. Em 2019, a

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) autorizou a produção de medicamentos à base de *Cannabis* no Brasil (BRASIL, 2019), e o CBD passou a ser produzido e comercializado pela indústria farmacêutica.

Em 1988, William Devane em seu grupo de pesquisa, liderado pela Professora Allyn Howlett, mostraram pela primeira vez que o Δ^9 -THC se ligava a um “novo” receptor, presente na superfície de células neuronais. Este receptor foi denominado inicialmente apenas receptor canabinoide (DEVANE et al., 1988). Essa descoberta levou à sugestão de que o organismo de mamíferos deveria produzir algo que se ligasse a esses receptores. Assim, pouco tempo depois, o mesmo pesquisador, agora no grupo do Professor Raphael Mechoulam, em Israel, isolou de tecido cerebral a primeira substância endógena capaz de se ligar a esses receptores, a que deram o nome de anandamida (ananda em sânscrito significa felicidade suprema). Mais de 30 anos depois, sabe-se que os receptores canabinoides e compostos endógenos, os endocanabinoides (eCBs), são responsáveis por uma gama de funções regulatórias no organismo e são alvos de extrema importância no estudo de transtornos neuropsiquiátricos (LUTZ, 2009; VIVEROS et al., 2007).

1.3.2 Visão geral

O sistema endocanabinoide (eCB) é composto pelos seus receptores (CB1 e CB2), os ligantes endógenos (eCBs) e pelo aparato bioquímico responsável por sintetizar e degradar estas substâncias. Os principais eCBs conhecidos são a araquidonoil-etanolamina (ou anandamida, AEA) (DEVANE et al., 1992), e o 2-araquidonoil-glicerol (2-AG) (MECHOULAM et al., 1995).

Os receptores são do tipo acoplado à proteína G, sendo que CB1 foram os primeiros a serem descobertos, e estão primariamente localizados nos terminais nervosos pré-sinápticos no sistema nervoso central (DEVANE et al., 1988). Inicialmente, acreditava-se que os receptores CB2 eram expressos apenas em células do sistema imune periférico, mas não no encéfalo (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993). No entanto, estudos biomoleculares e genéticos posteriores mostraram que estes receptores podem ser encontrados em neurônios do córtex pré-frontal (PFC), hipocampo, e outras estruturas cerebrais (GONG et al., 2006; SIERRA et al., 2015). Mais recentemente, a localização pós-

sináptica destes receptores foi descrita no encéfalo (BRUSCO et al., 2008; STEMPEL et al., 2016). Os receptores CB2 também são expressos nas células da micróglia (CARLISLE et al., 2002), onde exercem diversas funções imunes; dentre elas, sua ativação em condições neuro-inflamatórias é importante a fim de proteger o cérebro de um possível dano e repará-lo, caso aconteça (MECHA et al., 2016). Além disso, as células da micróglia têm importância no controle da proliferação e diferenciação neuronal, bem como na formação de novas sinapses (MECHA et al., 2016). De modo geral, a expressão de receptores CB1 no sistema nervoso central é muito maior do que a de receptores CB2 e, enquanto CB1 parece ter uma expressão primariamente constitutiva, CB2 parece ter uma expressão induzida (MACKIE, 2008; VAN SICKLE et al., 2005). Tanto AEA quanto o 2-AG se ligam preferencialmente aos receptores CB1, com seletividade de cerca de 5 e 2 vezes maior em relação aos receptores CB2, respectivamente (GERTSCH; RADUNER; ALTMANN, 2006).

O sistema eCB é considerado um sistema neurotransmissor atípico, pois os eCBs são sintetizados sob demanda após o influxo de cálcio e consequente ativação de fosfolipases (que convertem os fosfolípidios das membranas em eCBs), não sendo armazenados em vesículas (PIOMELLI, 2003). A enzima N-acil fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD) é responsável pela síntese da AEA, enquanto a diacilglicerol lipase (DAGL) está envolvida na síntese do 2-AG (PIOMELLI, 2003). Majoritariamente, a transferência de informações ocorre de forma retrógrada, dos terminais pós-sinápticos aos terminais pré-sinápticos. Após serem liberados na fenda sináptica, os eCBs difundem-se livremente para interferir com a atividade de células vizinhas, ligando-se aos receptores canabinoides destas células, resultando na diminuição no influxo de cálcio, e consequentemente, na diminuição da liberação dos neurotransmissores (PATEL et al., 2017). Além disso, também podem aumentar o influxo de potássio, contribuindo ainda mais para a hiperpolarização das células (FELDER et al., 1995).

No entanto, os eCBs podem se ligar aos receptores vaniloide de potencial transitório do tipo 1 (TRPV1). Estes receptores são canais catiônicos não-seletivos que podem ser ativados pela capsaicina (substância encontrada na pimenta malagueta), temperaturas acima de 43 °C, baixo pH, voltagem (CLAPHAM; RUNNELS; STRÜBING, 2001; ROSS, 2003), além da AEA (DI MARZO; DE PETROCELLIS, 2012). De maneira contrária à sinalização via

receptores CB, a ligação de AEA aos receptores TRPV1, leva ao aumento no influxo de cálcio e, conseqüentemente, na despolarização dos neurônios. Ainda não está claro se essa ativação leva ao aumento da liberação de neurotransmissores, mas o que se supõe é que a ativação de TRPV1 parece ser uma forma de balancear os efeitos causados pela inibição via receptores CB (FENWICK et al., 2017; PATEL et al., 2017), incluindo comportamentos de medo e ansiedade (AGUIAR et al., 2014; MOREIRA et al., 2012)

Os eCBs produzidos e liberados nos terminais pós-sinápticos podem também agir sobre receptores canabinoides expressos em células da micróglia (MECHA et al., 2016; STELLA, 2009) e astrócitos (NAVARRETE; ARAQUE, 2008), interferindo na sinalização neurônio-glia. Ademais, a maquinaria bioquímica necessária para a síntese de eCBs é encontrada em astrócitos, micróglia (HEGYI et al., 2012) e oligodendrócitos (GOMEZ et al., 2010), o que pode conferir a essas células um papel importante na modulação da função sináptica.

Nas células da micróglia, a expressão de CB2 é significativamente maior que a de CB1, e aumenta ainda mais em condições inflamatórias (CABRAL; MARCIANO-CABRAL, 2005; HOWLETT et al., 2002; STELLA, 2009). A ativação de receptores CB2 nestas células resulta em redução da ativação destas e conseqüentemente, da liberação de mediadores do sistema imune, exercendo, desta forma, efeitos anti-inflamatórios (revisado por MECHA et al., 2016). Alterações em células da micróglia e ativação do sistema imune estão envolvidos em respostas ao estresse (FRANK et al., 2007; MCKIM et al., 2018; WOHLEB et al., 2011), o que pode ser modulado pelo sistema eCB (LISBOA et al., 2018). A modulação das células da micróglia pelos eCBs é sugerida como um possível alvo em diferentes transtornos neuropsiquiátricos (LISBOA et al., 2016).

Similarmente ao que acontece nos neurônios, a ativação de receptores TRPV1 em células da micróglia pode ativar estas células e induzir a liberação de mediadores do sistema imune (HUANG et al., 2015). Assim, as ativações do CB1 e do TRPV1 parecem exercer efeitos opostos tanto na liberação de neurotransmissores (EGERTOVÁ et al., 1998) quanto na ação de células da micróglia.

Por fim, a sinalização eCB (ao menos via AEA) pode ocorrer de maneira não-retrógrada através da ativação de receptores canabinoides (BACCI; HUGUENARD; PRINCE, 2004) e TRPV1 (STELT; DI MARZO, 2005) localizados

nos terminais pós-sinápticos da própria célula que os produziu (sinalização autócrina). Esta forma de sinalização parece ser outro mecanismo do sistema eCB com a finalidade de modular a função neural e transmissão sináptica (CASTILLO et al., 2012).

Após realizar suas ações, os eCBs são internalizados e então sofrem catabolismo. As principais enzimas responsáveis por este processo são a amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) para a AEA (CRAVATT et al., 1996), e a monoacilglicerol lipase (MAGL) para o 2-AG (DINH et al., 2002). Estas enzimas são alvos muito importantes para a modulação farmacológica do sistema eCB e estão envolvidas em respostas de estresse, medo e ansiedade, por exemplo (HARTLEY et al., 2016; LLORENTE-BERZAL et al., 2015; MORENA et al., 2018; TEN-BLANCO et al., 2022) como será discutido adiante.

1.3.3 Sistema endocanabinoide e endovaniloide na memória, no medo e nas respostas ao estresse

Através de experimentos com animais nocautes ou com antagonistas, diversos trabalhos mostraram que o sistema eCB pode estar envolvido no condicionamento ao medo contextual ou a pistas, no comportamento tipo-ansioso e nas respostas ao estresse, como será discutido.

Marsicano e colaboradores, em uma clássica publicação de 2002, mostraram que animais nocautes para os receptores CB1 (CB1 KO) apresentaram prejuízo na extinção de memórias aversivas no medo condicionado ao som (MARSICANO et al., 2002). O déficit na extinção de memórias aversivas também foi observado no paradigma do medo condicionado ao som ou ao contexto através do antagonismo CB1 com as drogas rimonabant (ao som: MARSICANO et al., 2002); contextual: (PAMPLONA; BITENCOURT; TAKAHASHI, 2008; SUZUKI et al., 2004), AM281 (LISBOA et al., 2015) e AM251 (ao som) (REICH; MOHAMMADI; ALGER, 2008). O rimonabant, quando administrado antes da re-exposição ao contexto aversivo, também foi capaz de aumentar a expressão do medo (KAMPRATH et al., 2009). No entanto, o agonista CB1 CP55,940, em dose alta e repetida (50 µg/kg, 3 dias), de forma similar ao bloqueio de CB1 causou aumento do *freezing* durante os treinamentos de extinção, embora não tenha afetado a sua evocação a longo prazo.

Entretanto, na dose de 1 µg/kg, que é bem menor, por 3 dias, esse mesmo agonista não mostrou efeito (LLORENTE-BERZAL et al., 2015). A dualidade de efeito (ou efeito bidirecional) dos canabinoides será melhor discutida mais adiante.

O envolvimento do sistema eCB na extinção de memórias aversivas também foi mostrado através do aumento de eCBs e consequente ativação indireta de receptores canabinoides. Morena e colaboradores (2018) mostraram que a inibição da hidrólise da AEA através da droga URB597 (0,1 e 0,3 mg/kg) após as sessões de treinamento de extinção melhorou a consolidação da memória de extinção. No entanto, quando administrada antes das sessões de extinção, a droga não teve efeito (MORENA et al., 2018). Quando administrada antes da re-exposição, mas em diferentes doses, essa mesma droga reduziu a expressão do medo no paradigma do medo condicionado contextual (3 mg/kg, agudo) (LISBOA et al., 2015) e ao som (1 mg/kg, repetido) (LLORENTE-BERZAL et al., 2015).

Em se tratando do 2-AG, Morena e colaboradores (2018) mostraram que a administração em ratos de JZL184 (inibidor da enzima monoacilglicerol lipase-MAGL, responsável por degradar o 2-AG), nas doses de 0,5 e 1,0 mg/kg, antes das sessões de extinção, reduziu a porcentagem de *freezing* global no medo condicionado ao contexto (MORENA et al., 2018). No entanto, esta mesma droga em dose mais elevada (8 mg/kg) prejudicou a extinção da memória aversiva no medo condicionado ao som, conforme demonstrado por Hartley e colaboradores (2016). Os autores sugerem que esse prejuízo se deve pelo aumento de 2-AG na amígdala basolateral, uma vez que a infusão de JZL184 nesta região encefálica produziu resultados similares. Interessantemente, o pré-tratamento com rimonabant foi capaz de prevenir o déficit de extinção induzido pelo JZL184 (HARTLEY et al., 2016). Em conformidade, Ten-Blanco e colaboradores, em uma recente publicação (2022) mostraram que o JZL184 (8 mg/kg), mas não o URB597 (3 mg/kg), quando administrados imediatamente após cada sessão de extinção, prejudicou a extinção no medo condicionado contextual (TEN-BLANCO et al., 2022). Já Llorente-Berzal e colaboradores (2015) mostraram o JZL 184 (4 e 8 mg/kg) aumentou a expressão do medo no paradigma do medo condicionado ao som, e que possivelmente esse efeito depende da sinalização CB1 em neurônios GABAérgicos (LLORENTE-BERZAL et al., 2015).

O efeito do JZL184 em direções contrárias poderia ser explicado pelas diferentes doses utilizadas, sugerindo que possa haver uma “faixa de concentração ideal” de 2-AG para modular as memórias condicionadas (assim como ocorre com outros eCBs). Em conformidade com essa ideia de faixa de concentração ideal, Cavener e colaboradores (2018), mostraram que a depleção quase total de 2-AG com a droga DO34, inibidor da DAGL, também prejudicou a extinção da memória de medo condicionado ao som. Ou seja: tanto o excesso quanto a falta de 2-AG parecem ser prejudiciais para a extinção do medo condicionado. Ainda, o aumento de AEA através da inibição da enzima FAAH pelo PF-3845 não foi capaz de reverter os déficits de extinção induzidos pelo aumento de 2-AG (CAVENER et al., 2018).

Em se tratando de receptores TRPV1, Gobira e colaboradores (2017) mostraram que araquidonoil-serotonina (AA-5HT), uma droga que simultaneamente inibe a enzima FAAH (que hidrolisa a AEA) e bloqueia os receptores TRPV1, inibiu a expressão da memória de medo condicionado contextual, e que possivelmente esse efeito anti-aversivo ocorreu pelo aumento de ativação de CB1 pela AEA, que estava aumentada (GOBIRA et al., 2017).

De fato, há evidências de que o TRPV1 tem papel na regulação das respostas relacionadas ao medo e à ansiedade (AGUIAR et al., 2014; CASAROTTO et al., 2012; MARSCH et al., 2007; TERZIAN et al., 2009; ULIANA et al., 2016). Patel e colaboradores, em uma revisão de 2017, sugeriram que estas respostas resultam de um equilíbrio entre a inibição (via CB1) e excitação (via TRPV1) de circuitos específicos, e que uma desregulação deste equilíbrio poderia resultar em respostas de medo e ansiedade exacerbadas (PATEL et al., 2017). Animais nocaute para TRPV1 mostraram redução da resposta de medo condicionada ao som e ao contexto em relação aos seus pares selvagens (MARSCH et al., 2007). Ainda, a microinfusão de 6-iodo-capsaicina, um antagonista TRPV1, na substância cinzenta periaquedutal dorsolateral foi capaz de prevenir o aumento da resposta emocional condicionada induzida pelo AM251 (ULIANA et al., 2016).

Canabinoides (endógenos ou sintéticos) em geral podem apresentar efeitos comportamentais em direções opostas, a depender da dose utilizada (efeitos bifásicos ou bidirecionais, como comentado anteriormente). Estes efeitos têm sido extensamente reportados, não apenas na extinção do medo condicionado (LLORENTE-BERZAL et al., 2015), mas também em outros

comportamentos, como o tipo-ansioso (ONAIVI; GREEN; MARTIN, 1990; REY et al., 2012; SCHERMA et al., 2008; VIVEROS; MARCO; FILE, 2005) e sobre os efeitos comportamentais e hormonais do estresse de forma mais geral (HILLARD; BEATKA; SARVAIDEO, 2016; SIMONE et al., 2015), por exemplo.

Alguns canabinoides que se ligam e ativam preferencialmente CB1, quando em altas concentrações podem acabar ativando outros receptores, como o TRPV1, por exemplo, que exerce função oposta (VIVEROS; MARCO; FILE, 2005). Além de outros receptores, há ainda a possibilidade de diferentes localizações de um mesmo receptor. Llorente-Berzal e colaboradores (2015) sugerem que os eCBs promoveriam o alívio do medo condicionado via ativação de CB1 em neurônios glutamatérgicos, enquanto promoveriam o aumento da expressão do medo via ativação de CB1 em neurônios GABAérgicos (LLORENTE-BERZAL et al., 2015). Ou seja: altas concentrações de agonistas CB1 poderiam acabar ativando também receptores em outras populações de neurônios, que em doses menores não seriam ativadas. Ainda, é necessário considerar que uma mesma dose de uma droga, em um mesmo animal, pode ter efeitos diferentes e aparentemente contraditórios em diferentes testes comportamentais, o que pode ser explicado por diferentes quantidades e sensibilidade de receptores canabinoides de uma região encefálica para outra (SIMONE et al., 2015).

Em conformidade com os achados em estudos com animais experimentais, o sistema eCB também parece estar envolvido na modulação das respostas emocionais em humanos. Trabalhos envolvendo indivíduos saudáveis mostraram que polimorfismos em genes do sistema eCB parecem estar associados a alterações no processamento de memórias de medo (HEITLAND et al., 2012; MAYO et al., 2020, 2022). Ainda, baixa dose de THC administrada a adultos saudáveis antes do treinamento de extinção foi capaz de melhorar a evocação da memória de extinção do medo (KLUMPERS et al., 2012; RABINAK et al., 2013). Em indivíduos com TEPT também foram encontradas evidências de alterações no sistema eCB, o que contribuiu para a ideia da importância deste sistema na modulação das respostas aversivas (LU et al., 2008; PARDINI et al., 2012). Neumeister e colaboradores (2013) demonstraram que há um aumento nos sítios de ligação de receptores CB1 em áreas específicas do cérebro de pacientes com TEPT, além de uma redução nos níveis de AEA e cortisol periféricos (NEUMEISTER et al., 2013). Hill e colaboradores (2013) também

demonstraram menores níveis de AEA periféricos em indivíduos com TEPT que exibiram sintomas mais intrusivos (HILL et al., 2013). Já Wilker e colaboradores (2016) mostraram que indivíduos com TEPT tinham menores concentrações de outro eCB, oleoiletanolamida (OEA), nos cabelos que indivíduos saudáveis, e encontraram uma correlação negativa entre as concentrações dos eCBs analisados e a severidade dos sintomas (WILKER et al., 2016). Outro fato que corrobora com a ideia de envolvimento do sistema eCB nas respostas de estresse é o fato de que a droga rimonabant, ao inibir os receptores CB1, produziu efeitos como ansiedade e depressão em humanos (BERGAMASCHI et al., 2014; MOREIRA; CRIPPA, 2009).

Em resumo, o papel dos eCBs no processamento de memórias aversivas no paradigma do medo condicionado é complexo, finamente regulado, e provavelmente de caráter modulatório, visando manter o equilíbrio do sistema. No entanto, apesar da complexidade, os receptores canabinoides e TRPV1 parecem ser interessantes alvos farmacológicos para o desenvolvimento de tratamentos para transtornos relacionados ao estresse, tais como o TEPT (KRYSTAL et al., 2017).

1.3.4 Receptores CB2 no comportamento, na memória e no medo

Existem evidências de que os receptores CB2 são importantes na modulação de respostas emocionais. No entanto, os estudos existentes, com abordagens genéticas e farmacológicas, apresentam resultados aparentemente inconsistentes e conflitantes.

Camundongos nocaute para CB2 (CB2 KO) apresentaram aumento de vulnerabilidade frente a estímulos estressantes (atividade motora espontânea reduzida e comportamento tipo-ansioso) (ORTEGA-ALVARO et al., 2011). Em conformidade, camundongos transgênicos que superexpressavam CB2 (CB2xP) exibiram redução no comportamento tipo-ansioso (GARCÍA-GUTIÉRREZ; MANZANARES, 2011), indicando que os receptores CB2 também poderiam ser importantes para a modulação de respostas emocionais. No entanto, Li e Kim (2015) não encontraram alterações no comportamento tipo-ansioso e a atividade locomotora (teste do campo aberto e do labirinto em zero elevado) em animais CB2 KO (LI; KIM, 2015).

De forma similar, resultados contraditórios são observados com intervenção farmacológica. O beta-cariofileno, agonista CB2, quando administrado de forma aguda induziu ações tipo-ansiolíticas (teste do campo aberto e labirinto em cruz elevado) e tipo-antidepressivas (BAHI et al., 2014). No entanto, em outro trabalho o tratamento agudo com o agonista CB2 JWH133 não alterou o comportamento observado no teste da caixa claro-escuro (GARCÍA-GUTIÉRREZ et al., 2012).

Ainda, García-Gutiérrez e colaboradores (2012) mostraram que o tratamento agudo com AM630, um agonista inverso/antagonista CB2, induziu comportamento tipo-ansioso (teste da caixa claro-escuro), o que foi bloqueado com o pré-tratamento com o JWH133 (GARCÍA-GUTIÉRREZ et al., 2012). Por outro lado, Li & Kim (2015) mostraram que o tratamento agudo com AM630 não causou alteração no comportamento tipo-ansioso ou atividade motora (LI; KIM, 2015). Apesar destes resultados contraditórios, é necessário mencionar que existem diferenças na metodologia e animais, por exemplo, utilizados pelos dois grupos de pesquisa, o que poderia ser responsável pelas diferenças observadas.

Em se tratando de tratamentos crônicos, o AM630 reduziu o comportamento tipo-ansioso, aumentou a expressão gênica e reduziu a expressão proteica dos receptores CB2 no córtex e amígdala, enquanto o tratamento crônico com o agonista JWH133 causou efeitos opostos (GARCÍA-GUTIÉRREZ et al., 2012).

O envolvimento dos receptores CB2 nos processos de memórias, particularmente as de medo condicionado, é pouco descrito. Em um trabalho do nosso grupo, observamos que 24h após o condicionamento contextual, no momento da evocação da memória aversiva, os camundongos apresentaram uma redução da expressão do mRNA de CB2, mas não de CB1, no hipocampo (Lisboa et al., 2015). Li e Kim (2015) mostraram que animais CB2 KO apresentaram prejuízo na expressão da memória de medo contextual de longo prazo (dependente do hipocampo), mas não da memória de medo relacionada a pistas (independente do hipocampo), e melhora na memória espacial (LI; KIM, 2015). De forma similar, Ortega-Álvaro e colaboradores (2011) mostraram que animais CB2 KO apresentaram prejuízo na memória de curto e longo prazo no teste de esquiva inibitória do tipo *step-down*, um outro protocolo para avaliar memórias aversivas, além de menor inibição por pré-pulso (ORTEGA-ALVARO et al., 2011). Ao contrário dos dados com os animais CB2 KO no trabalho de Li

e Kim, o bloqueio agudo de receptores CB2 com AM630 (3 mg/kg) não causou efeitos na memória (LI; KIM, 2015).

Recentemente, um elegante trabalho utilizando edição genômica, realizado pelo mesmo grupo de pesquisa acima mencionado, mostrou que o aumento e a diminuição da expressão de receptores CB2 nas células da micróglia da área hipocampal CA1 melhorou e piorou, respectivamente, a memória de medo contextual (LI; KIM, 2017). Importante frisar que em ambos os trabalhos citados os autores avaliaram apenas a expressão da memória de medo condicionada, que é realizada através de re-exposição curta ao contexto aversivo (5 minutos) no dia seguinte ao condicionamento, mas não a extinção da memória de medo condicionada contextual. Já em um trabalho recente, de outro grupo de pesquisa, o tratamento com o agonista JWH133 após cada sessão de treinamento de extinção resultou em déficit na extinção da memória de medo condicionado contextual, enquanto o tratamento com AM630 não alterou a resposta de medo (TEN-BLANCO et al., 2022).

Dessa forma, os efeitos da modulação de receptores CB2 parecem bastante complexos, o que poderia envolver, por exemplo, diferentes localizações celulares (neurônios e glia) destes receptores. Ainda, os efeitos divergentes podem estar associados a condições experimentais, como diferentes linhagens animais, drogas utilizadas nos diferentes estudos, e comparação entre estudos genéticos e farmacológicos. Assim, devido à participação controversa do receptor CB2 em comportamentos relacionados a emoções e memória aversiva, além de escassez de estudos nessa área, novos estudos são necessários para melhor esclarecer seu envolvimento nestas respostas.

1.4 HIPÓTESE DO TRABALHO

Visto que o TEPT é uma doença grave e debilitante e que suas opções de tratamento são limitadas e pouco efetivas, é de extrema importância o estudo da fisiopatologia e mecanismos neurais envolvidos no TEPT, para que novos medicamentos mais eficazes possam ser desenvolvidos.

O objetivo inicial deste projeto foi testar a hipótese de que uma disfunção na sinalização eCB induzida pelo estresse resultaria em alterações

comportamentais relacionadas ao TEPT, particularmente déficits de extinção da memória de medo condicionada contextual, e que tais alterações seriam prevenidas pelo tratamento com fármacos que modulam o sistema eCB durante o estresse. Devido a problemas que serão melhor explicados nas seções “RESULTADOS” e “DISCUSSÃO”, esta hipótese não pôde ser testada e, portanto, o plano de trabalho foi alterado.

Dessa forma, o novo objetivo do projeto, com base nas evidências apresentadas acima em relação aos receptores CB2, foi testar a hipótese de que os receptores CB2 estariam envolvidos na extinção da memória de medo condicionada contextual, e que a modulação farmacológica destes receptores antes da reexposição ao contexto aversivo poderia facilitar a extinção desta memória.

6. CONCLUSÕES

6.1 ESTUDO 1 - AVALIAÇÃO DAS CONSEQUÊNCIAS COMPORTAMENTAIS DA EXPOSIÇÃO AO ESTRESSE DE DERROTA SOCIAL REPETIDA E DO EFEITO DA AA-5HT NESTAS RESPOSTAS

Uma vez que o protocolo de estresse de derrota social repetida não funcionou, não é possível chegar a alguma conclusão a respeito do efeito da AA-5HT sobre este estresse e conseqüentemente, sobre o medo condicionado contextual.

Embora não tenhamos conseguido obter resultados satisfatórios utilizando este modelo de estresse, e com eles responder nossa hipótese inicial, observamos que a AA-5HT exibiu potencial efeito ansiolítico, podendo ser promissor em estudos futuros.

6.2 ESTUDO 2 - ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES CB2 NO PROCESSAMENTO DA MEMÓRIA DE MEDO CONDICIONADO CONTEXTUAL

A ativação dos receptores canabinoídes CB2 através do JWH133, droga agonista destes receptores, acelerou a extinção do medo condicionado contextual, e não interferiu na evocação no dia seguinte. Já a resposta com o AM630, agonista inverso/antagonista de receptores canabinoídes CB2, aparenta ser complexa, e não foi conclusiva em nossos experimentos.

Nossos dados sugerem que os receptores CB2 poderiam estar de alguma forma envolvidos no processo de extinção das memórias de medo condicionado contextual. Entretanto, mais estudos serão necessários para elucidar melhor a forma como se daria esse envolvimento.

BIBLIOGRAFIA

AGUIAR, D. C. et al. Modulation of defensive behavior by Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 (TRPV1) Channels. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 46, p. 418–428, out. 2014.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. [s.l.] American Psychiatric Association, 2013.

ANACKER, C.; O'DONNELL, K. J.; MEANEY, M. J. Early life adversity and the epigenetic programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 16, n. 3, p. 321–333, 30 set. 2014.

BACCI, A.; HUGUENARD, J. R.; PRINCE, D. A. Long-lasting self-inhibition of neocortical interneurons mediated by endocannabinoids. **Nature**, v. 431, n. 7006, p. 312–316, set. 2004.

BAHI, A. et al. β -Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. **Physiology and Behavior**, 2014.

BAILEY, M. T. et al. Social stress enhances IL-1 β and TNF- α production by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-stimulated CD11b+ cells. **Physiology & Behavior**, v. 98, n. 3, p. 351–358, set. 2009.

BARLOW, D. H. **Anxiety and its Disorders—The Nature and Treatment of Anxiety and Panic**. New York: The Guilford Press, 2002.

BECKERS, T. et al. What's wrong with fear conditioning? **Biological Psychology**, v. 92, n. 1, p. 90–96, jan. 2013.

BERGAMASCHI, M. M. et al. Rimonabant effects on anxiety induced by simulated public speaking in healthy humans: A preliminary report. **Human Psychopharmacology**, 2014.

BERTON, O. et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. **Science**, v. 311, n. 5762, p. 864–868, 2006.

BLECHERT, J. et al. Fear conditioning in posttraumatic stress disorder: Evidence for delayed extinction of autonomic, experiential, and behavioural responses. **Behaviour Research and Therapy**, 2007.

BOLLES, R. C.; COLLIER, A. C. The effect of predictive cues on freezing in rats. **Animal Learning & Behavior**, v. 4, n. 1, p. 6–8, mar. 1976.

BORGHANS, B.; HOMBERG, J. R. Animal models for posttraumatic stress disorder: An overview of what is used in research. **World Journal of Psychiatry**, v. 5, n. 4, p. 387, 2015.

BOUTON, M. E. Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of pavlovian learning. **Psychological Bulletin**, 1993.

BRASIL. RDC nº 327, da 9 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os procedimentos para a concessão da Autorização Sanitária para a fabricação e a importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição, a dispensação, o monitoramento e a fiscalização de produtos de Cannabis para fins medicinais, e dá outras providências. **Diário oficial da União**, 9 dez. 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-327-de-9-de-dezembro-de-2019-232669072>>. Acesso em: 21 abr. 2022

BROOKS, S. K. et al. A Systematic, Thematic Review of Social and Occupational Factors Associated With Psychological Outcomes in Healthcare Employees During an Infectious Disease Outbreak. **Journal of Occupational & Environmental Medicine**, v. 60, n. 3, p. 248–257, mar. 2018.

BRUSCO, A. et al. Postsynaptic localization of CB2 cannabinoid receptors in the rat hippocampus. **Synapse**, 2008.

CABRAL, G. A.; MARCIANO-CABRAL, F. Cannabinoid receptors in microglia of the central nervous system: immune functional relevance. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 78, n. 6, p. 1192–1197, 4 out. 2005.

CARLISLE, S. J. et al. Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation. **International Immunopharmacology**, 2002.

CASAROTTO, P. C. et al. Opposing Roles for Cannabinoid Receptor Type-1 (CB1) and Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 Channel (TRPV1) on the Modulation of Panic-Like Responses in Rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 2, p. 478–486, 21 jan. 2012.

CASTILLO, P. E. et al. Endocannabinoid Signaling and Synaptic Function. **Neuron**, v. 76, n. 1, p. 70–81, out. 2012.

CAVENER, V. S. et al. Inhibition of Diacylglycerol Lipase Impairs Fear Extinction in Mice. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, 31 jul. 2018.

CLAPHAM, D. E.; RUNNELS, L. W.; STRÜBING, C. The trp ion channel family. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 6, p. 387–396, jun. 2001.

COVINGTON, H. E.; MICZEK, K. A. Intense cocaine self-administration after episodic social defeat stress, but not after aggressive behavior: dissociation from corticosterone activation. **Psychopharmacology**, v. 183, n. 3, p. 331–340, 26 dez. 2005.

CRAVATT, B. F. et al. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. **Nature**, 1996.

CUNHA, J. M. et al. Chronic Administration of Cannabidiol to Healthy Volunteers and Epileptic Patients. **Pharmacology**, v. 21, n. 3, p. 175–185, 1980.

CURRAN, V. et al. Cognitive and subjective dose-response effects of acute oral Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) in infrequent cannabis users. **Psychopharmacology**, v. 164, n. 1, p. 61–70, 1 out. 2002.

DEVANE, W. A. et al. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular Pharmacology**, 1988.

DEVANE, W. A. et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, 1992.

DI MARZO, V.; DE PETROCELLIS, L. Why do cannabinoid receptors have more than one endogenous ligand? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1607, p. 3216–3228, 5 dez. 2012.

DINH, T. P. et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2002.

EGERTOVÁ, M. et al. A new perspective on cannabinoid signalling: complimentary localization of fatty acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1410, p. 2081–2085, 7 nov. 1998.

ENGLER, H. et al. Effects of repeated social stress on leukocyte distribution in bone marrow, peripheral blood and spleen. **Journal of Neuroimmunology**, 2004.

ENOMOTO, S.; KATO, T. A. Involvement of microglia in disturbed fear memory regulation: Possible microglial contribution to the pathophysiology of posttraumatic stress disorder. **Neurochemistry International**, 2021.

ETKIN, A.; WAGER, T. D. **Functional neuroimaging of anxiety: A meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. American Journal of Psychiatry**, 2007.

FANSELOW, M. S. Factors governing one-trial contextual conditioning. **Animal Learning & Behavior**, 1990.

FELDER, C. C. et al. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. **Molecular Pharmacology**, 1995.

FENWICK, A. J. et al. Direct Anandamide Activation of TRPV1 Produces Divergent Calcium and Current Responses. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, 21 jun. 2017.

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

FRANK, M. G. et al. Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 21, n. 1, p. 47–59, jan. 2007.

FRIJDA, N. H. **The emotions**. [s.l.] Cambridge University Press, 1986.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, M. S. et al. Chronic blockade of cannabinoid CB 2 receptors induces anxiolytic-like actions associated with alterations in GABA A receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 4, p. 951–964, 2012.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, M. S.; MANZANARES, J. Overexpression of CB2 cannabinoid receptors decreased vulnerability to anxiety and impaired anxiolytic action of alprazolam in mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 25, n. 1, p. 111–120, 13 jan. 2011.

GATES, M. A. et al. **Posttraumatic stress disorder in veterans and military personnel: Epidemiology, screening, and case recognition**. **Psychological Services**, 2012.

GERTSCH, J.; RADUNER, S.; ALTMANN, K.-H. New Natural Noncannabinoid Ligands for Cannabinoid Type-2 (CB 2) Receptors. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 26, n. 5–6, p. 709–730, 10 jan. 2006.

GOBIRA, P. H. et al. N-arachidonoyl-serotonin, a dual FAAH and TRPV1 blocker, inhibits the retrieval of contextual fear memory: Role of the cannabinoid CB1 receptor in the dorsal hippocampus. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, n. 6, p. 750–756, 2017.

GOLDSTEIN, R. B. et al. The epidemiology of DSM-5 posttraumatic stress disorder in the United States: results from the National Epidemiologic Survey on

Alcohol and Related Conditions-III. **Social psychiatry and psychiatric epidemiology**, v. 51, n. 8, p. 1137–48, 2016.

GOMEZ, O. et al. The constitutive production of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol participates in oligodendrocyte differentiation. **Glia**, v. 58, n. 16, p. 1913–1927, dez. 2010.

GONG, J. P. et al. Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. **Brain Research**, 2006.

GREENE, T. et al. Predictors and rates of PTSD, depression and anxiety in UK frontline health and social care workers during COVID-19. **European Journal of Psychotraumatology**, 2021.

GRESSIER, F. et al. The 5-HTTLPR Polymorphism and Posttraumatic Stress Disorder: A Meta-Analysis. **Journal of Traumatic Stress**, v. 26, n. 6, p. 645–653, dez. 2013.

GRIFFIN, G. D.; CHARRON, D.; AL-DACCAK, R. Post-traumatic stress disorder: revisiting adrenergics, glucocorticoids, immune system effects and homeostasis. **Clinical & Translational Immunology**, 2014.

GUIMARÃES, F. S. et al. Antianxiety effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v. 100, n. 4, p. 558–559, abr. 1990.

HANKE, M. L. et al. Beta adrenergic blockade decreases the immunomodulatory effects of social disruption stress. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 26, n. 7, p. 1150–1159, out. 2012.

HART, C. et al. Comparison of smoked marijuana and oral Δ^9 -tetrahydrocannabinol in humans. **Psychopharmacology**, v. 164, n. 4, p. 407–415, 1 dez. 2002.

HARTLEY, N. D. et al. 2-arachidonoylglycerol signaling impairs short-term fear extinction. **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 3, p. e749–e749, 1 mar. 2016.

HARTMANN, A. et al. Cannabidiol attenuates aggressive behavior induced by social isolation in mice: Involvement of 5-HT_{1A} and CB₁ receptors. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 94, p. 109637, ago. 2019.

HEGYI, Z. et al. Differential distribution of diacylglycerol lipase- α and N-acylphosphatidylethanolamine-specific phospholipase d immunoreactivity in the superficial spinal dorsal horn of rats. **Glia**, v. 60, n. 9, p. 1316–1329, set. 2012.

HEITLAND, I. et al. Failure to extinguish fear and genetic variability in the human cannabinoid receptor 1. **Translational Psychiatry**, 2012.

HENRIQUES-ALVES, A. M.; QUEIROZ, C. M. Ethological Evaluation of the Effects of Social Defeat Stress in Mice: Beyond the Social Interaction Ratio. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 9, 3 fev. 2016.

HILL, M. N. et al. Reductions in circulating endocannabinoid levels in individuals with post-traumatic stress disorder following exposure to the world trade center attacks. **Psychoneuroendocrinology**, 2013.

HILLARD, C. J.; BEATKA, M.; SARVAIDEO, J. Endocannabinoid Signaling and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. In: **Comprehensive Physiology**. [s.l.] Wiley, 2016. p. 1–15.

HOEXTER, M. Q. et al. Higher striatal dopamine transporter density in PTSD: an in vivo SPECT study with [99mTc]TRODAT-1. **Psychopharmacology**, v. 224, n. 2, p. 337–345, 15 nov. 2012.

HOWLETT, A. C. et al. **International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. Pharmacological Reviews**, 2002.

HUANG, W. X. et al. TRPV1 promotes repetitive febrile seizures by pro-inflammatory cytokines in immature brain. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2015.

IWAMOTO, Y. et al. Single prolonged stress increases contextual freezing and the expression of glycine transporter 1 and vesicle-associated membrane protein 2 mRNA in the hippocampus of rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 31, n. 3, p. 642–651, abr. 2007.

JANIRI, D. et al. Posttraumatic Stress Disorder in Patients After Severe COVID-19 Infection. **JAMA Psychiatry**, v. 78, n. 5, p. 567, 1 maio 2021.

JIANG, H.-E. et al. A new insight into Cannabis sativa (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n. 3, p. 414–422, dez. 2006.

KAMPRATH, K. et al. Endocannabinoids mediate acute fear adaptation via glutamatergic neurons independently of corticotropin-releasing hormone signaling. **Genes, Brain and Behavior**, 2009.

KESSLER, R. C. et al. Posttraumatic Stress Disorder in the National Comorbidity Survey. **Archives of General Psychiatry**, 1995.

KESSLER, R. C. et al. Trauma and PTSD in the WHO World Mental Health Surveys. **European Journal of Psychotraumatology**, v. 8, n. sup5, p. 1353383, 27 out. 2017.

KLUMPERS, F. et al. Testing the effects of Δ 9-THC and D-cycloserine on extinction of conditioned fear in humans. **Journal of Psychopharmacology**, v. 26, n. 4, p. 471–478, 20 abr. 2012.

KOMADA, M.; TAKAO, K.; MIYAKAWA, T. Elevated Plus Maze for Mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 22, 22 dez. 2008.

KOOLHAAS, J. M. et al. The temporal dynamics of the stress response. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 775–782, nov. 1997.

KRYSTAL, J. H. et al. It Is Time to Address the Crisis in the Pharmacotherapy of Posttraumatic Stress Disorder: A Consensus Statement of the PTSD Psychopharmacology Working Group. **Biological Psychiatry**, v. 82, n. 7, p. e51–e59, out. 2017.

LAPIZ-BLUHM, M. D.; PETERSON, A. L. Neurobehavioral Mechanisms of Traumatic Stress in Post-traumatic Stress Disorder. In: **Brain Imaging in Behavioral Neuroscience**. [s.l: s.n.]. p. 161–190.

LEDOUX, J. E. **Emotion circuits in the brain**. **Annual Review of Neuroscience**, 2000.

LI, Y.; KIM, J. CB2 cannabinoid receptor knockout in mice impairs contextual long-term memory and enhances spatial working memory. **Neural Plasticity**, v. 2016, n. September 2015, 2015.

LI, Y.; KIM, J. Distinct roles of neuronal and microglial CB2 cannabinoid receptors in the mouse hippocampus. **Neuroscience**, 2017.

LIBERZON, I. et al. Interaction of the ADRB2 gene polymorphism with childhood trauma in predicting adult symptoms of posttraumatic stress disorder. **JAMA Psychiatry**, v. 71, n. 10, p. 1174, 1 out. 2014.

LIMA, E. DE P.; ASSUNÇÃO, A. Á. Prevalência e fatores associados ao Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) em profissionais de emergência: uma revisão sistemática da literatura. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 14, n. 2, p. 217–230, jun. 2011.

LISBOA, S. F. et al. Increased contextual fear conditioning in inos knockout mice: Additional evidence for the involvement of nitric oxide in stress-related disorders and contribution of the endocannabinoid system. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 8, p. 1–12, 2015.

LISBOA, S. F. et al. Microglial cells as a link between cannabinoids and the immune hypothesis of psychiatric disorders. **Frontiers in Neurology**, v. 7, n. JAN, 2016.

LISBOA, S. F. et al. Repeated social defeat-induced neuroinflammation, anxiety-like behavior and resistance to fear extinction were attenuated by the cannabinoid receptor agonist WIN55,212-2. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 9, p. 1924–1933, 2018.

LISBOA, S. F. et al. Tempering aversive/traumatic memories with cannabinoids: a review of evidence from animal and human studies. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 201–226, 2019.

LLORENTE-BERZAL, A. et al. 2-AG promotes the expression of conditioned fear via cannabinoid receptor type 1 on GABAergic neurons. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 15, p. 2811–2825, 28 ago. 2015.

LOHR, J. B. et al. Is post-traumatic stress disorder associated with premature senescence? A review of the literature. **American Journal of Geriatric Psychiatry**, 2015.

LU, A. T. et al. Association of the cannabinoid receptor gene (CNR1) with ADHD and post-traumatic stress disorder. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, 2008.

LUTZ, B. Endocannabinoid signals in the control of emotion. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 9, n. 1, p. 46–52, fev. 2009.

MACKIE, K. Signaling via CNS cannabinoid receptors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 286, n. 1–2, p. S60–S65, abr. 2008.

MAREN, S.; HOLMES, A. **Stress and fear extinction. Neuropsychopharmacology**, 2016.

MARSCH, R. et al. Reduced Anxiety, Conditioned Fear, and Hippocampal Long-Term Potentiation in Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 Receptor-Deficient Mice. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 4, p. 832–839, 24 jan. 2007.

MARSHALL, R. D. et al. Comorbidity, impairment, and suicidality in subthreshold PTSD. **American Journal of Psychiatry**, 2001.

MARSICANO, G. et al. The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. **Nature**, 2002.

MAYO, L. M. et al. Elevated Anandamide, Enhanced Recall of Fear Extinction, and Attenuated Stress Responses Following Inhibition of Fatty Acid Amide Hydrolase: A Randomized, Controlled Experimental Medicine Trial. **Biological Psychiatry**, v. 87, n. 6, p. 538–547, 2020.

MAYO, L. M. et al. Targeting the Endocannabinoid System in the Treatment of Posttraumatic Stress Disorder: A Promising Case of Preclinical-Clinical Translation? **Biological Psychiatry**, v. 91, n. 3, p. 262–272, fev. 2022.

MAYS, J. W. et al. Influenza Virus-Specific Immunological Memory Is Enhanced by Repeated Social Defeat. **The Journal of Immunology**, v. 184, n. 4, p. 2014–2025, 15 fev. 2010.

MCKIM, D. B. et al. Microglial recruitment of IL-1 β -producing monocytes to brain endothelium causes stress-induced anxiety. **Molecular Psychiatry**, 2018.

MECHA, M. et al. Microglia activation states and cannabinoid system: Therapeutic implications. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 166, p. 40–55, 2016.

MECHOULAM, R. et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochemical Pharmacology**, 1995.

MICHOPOULOS, V. et al. Association of CRP genetic variation and CRP level with elevated PTSD symptoms and physiological responses in a civilian population with high levels of trauma. **American Journal of Psychiatry**, 2015.

MIKICS, E. et al. The effects of cannabinoids on contextual conditioned fear in CB1 knockout and CD1 mice. **Behavioural Pharmacology**, v. 17, n. 3, p. 223–230, maio 2006.

MILLER, L. L.; BRANCONNIER, R. J. Cannabis: effects on memory and the cholinergic limbic system. **Psychological bulletin**, v. 93, n. 3, p. 441–56, maio 1983.

MOREIRA, F. A. et al. Cannabinoid type 1 receptors and transient receptor potential vanilloid type 1 channels in fear and anxiety—two sides of one coin? **Neuroscience**, v. 204, p. 186–192, mar. 2012.

MOREIRA, F. A.; CRIPPA, J. A. S. The psychiatric side-effects of rimonabant. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 2009.

MORENA, M. et al. Enhancing Endocannabinoid Neurotransmission Augments The Efficacy of Extinction Training and Ameliorates Traumatic Stress-Induced Behavioral Alterations in Rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 6, p. 1284–1296, 21 maio 2018.

MORRISON, F. G.; RESSLER, K. J. **From the neurobiology of extinction to improved clinical treatments.** Depression and Anxiety. **Anais...**2014.

MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p. 61–65, set. 1993.

NADEL, L. et al. Memory formation, consolidation and transformation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 7, p. 1640–1645, ago. 2012.

NADER, K.; SCHAFE, G. E.; LE DOUX, J. E. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. **Nature**, 2000.

NAKATAKE, Y. et al. The effects of emotional stress are not identical to those of physical stress in mouse model of social defeat stress. **Neuroscience Research**, v. 158, p. 56–63, set. 2020.

NAVARRETE, M.; ARAQUE, A. Endocannabinoids Mediate Neuron-Astrocyte Communication. **Neuron**, v. 57, n. 6, p. 883–893, mar. 2008.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders. **Nature Neuroscience**, v. 13, n. 10, p. 1161–1169, 27 out. 2010.

NEUMEISTER, A. et al. Elevated brain cannabinoid CB 1 receptor availability in post-traumatic stress disorder: A positron emission tomography study. **Molecular Psychiatry**, 2013.

NIRAULA, A. et al. Corticosterone production during repeated social defeat causes monocyte mobilization from the bone marrow, glucocorticoid resistance, and neurovascular adhesion molecule expression. **Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 9, p. 2328–2340, 2018.

NIRAULA, A. et al. Interleukin-6 Induced by Social Stress Promotes a Unique Transcriptional Signature in the Monocytes That Facilitate Anxiety. **Biological Psychiatry**, 2019.

O'DOHERTY, D. C. M. et al. A systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging measurement of structural volumes in posttraumatic stress disorder. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 232, n. 1, p. 1–33, abr. 2015.

ONAIWI, E. S.; GREEN, M. R.; MARTIN, B. R. Pharmacological characterization of cannabinoids in the elevated plus maze. **The Journal of**

pharmacology and experimental therapeutics, v. 253, n. 3, p. 1002–9, jun. 1990.

ORTEGA-ALVARO, A. et al. Deletion of CB2 Cannabinoid Receptor Induces Schizophrenia-Related Behaviors in Mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 7, p. 1489–1504, 23 jun. 2011.

PAMPLONA, F. A.; BITENCOURT, R. M.; TAKAHASHI, R. N. Short- and long-term effects of cannabinoids on the extinction of contextual fear memory in rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 90, n. 1, p. 290–293, jul. 2008.

PARDINI, M. et al. Fatty-acid amide hydrolase polymorphisms and post-traumatic stress disorder after penetrating brain injury. **Translational Psychiatry**, v. 2, n. 1, p. e75–e75, 31 jan. 2012.

PATEL, S. et al. The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic drugs. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 76, p. 56–66, maio 2017.

PIOMELLI, D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. **Nature Reviews Neuroscience**, 2003.

PRETI, E. et al. The Psychological Impact of Epidemic and Pandemic Outbreaks on Healthcare Workers: Rapid Review of the Evidence. **Current Psychiatry Reports**, v. 22, n. 8, p. 43, 10 ago. 2020.

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

RABINAK, C. A. et al. Cannabinoid facilitation of fear extinction memory recall in humans. **Neuropharmacology**, v. 64, p. 396–402, jan. 2013.

RAMAEKERS, J. et al. Neurocognitive performance during acute THC intoxication in heavy and occasional cannabis users. **Journal of Psychopharmacology**, v. 23, n. 3, p. 266–277, 21 maio 2009.

RASS, V. et al. Neurological outcomes 1 year after COVID-19 diagnosis: A prospective longitudinal cohort study. **European Journal of Neurology**, v. 29, n. 6, p. 1685–1696, 23 jun. 2022.

RAVINDRAN, L. N.; STEIN, M. B. **Pharmacotherapy of PTSD: Premises, principles, and priorities**. **Brain Research**, 2009.

REICH, C.; MOHAMMADI, M.; ALGER, B. Endocannabinoid modulation of fear responses: learning and state-dependent performance effects. **Journal of Psychopharmacology**, v. 22, n. 7, p. 769–777, 1 set. 2008.

RESSLER, KERRY. J. et al. Post-traumatic stress disorder: clinical and translational neuroscience from cells to circuits. **Nature Reviews Neurology**, 29 mar. 2022.

REY, A. A. et al. Biphasic Effects of Cannabinoids in Anxiety Responses: CB1 and GABAB Receptors in the Balance of GABAergic and Glutamatergic Neurotransmission. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 12, p. 2624–2634, 1 nov. 2012.

RIBEIRO, M. A. et al. Spontaneous Activity of CB2 Receptors Attenuates Stress-Induced Behavioral and Neuroplastic Deficits in Male Mice. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 21 jan. 2022.

RICHTER-LEVIN, G.; STORK, O.; SCHMIDT, M. V. Animal models of PTSD: a challenge to be met. **Molecular Psychiatry**, v. 24, n. 8, p. 1135–1156, 2019.

ROHLEDER, N. et al. Hypocortisolism and increased glucocorticoid sensitivity of pro-inflammatory cytokine production in Bosnian war refugees with posttraumatic stress disorder. **Biological Psychiatry**, 2004.

ROSENBAUM, S. et al. **Physical activity in the treatment of Post-traumatic stress disorder: A systematic review and meta-analysis.** **Psychiatry Research**, 2015.

ROSS, D. A. et al. An Integrated Neuroscience Perspective on Formulation and Treatment Planning for Posttraumatic Stress Disorder. **JAMA Psychiatry**, v. 74, n. 4, p. 407, 1 abr. 2017.

ROSS, R. A. et al. Agonist-inverse agonist characterization at CB₁ and CB₂ cannabinoid receptors of L759633, L759656 and AM630. **British Journal of Pharmacology**, v. 126, n. 3, p. 665–672, fev. 1999.

ROSS, R. A. Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 140, n. 5, p. 790–801, nov. 2003.

ROSSO, I. M. et al. Insula and anterior cingulate GABA levels in posttraumatic stress disorder: preliminary findings using magnetic resonance spectroscopy. **Depression and Anxiety**, v. 31, n. 2, p. 115–123, fev. 2014.

SAMUELS, B. A.; HEN, R. Novelty-Suppressed Feeding in the Mouse. In: [s.l: s.n.]. p. 107–121.

SANTARELLI, L. et al. Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the Behavioral Effects of Antidepressants. **Science**, v. 301, n. 5634, p. 805–809, 8 ago. 2003.

SARTIM, A. G.; GUIMARÃES, F. S.; JOCA, S. R. L. Antidepressant-like effect of cannabidiol injection into the ventral medial prefrontal cortex—Possible involvement of 5-HT_{1A} and CB₁ receptors. **Behavioural Brain Research**, v. 303, p. 218–227, abr. 2016.

SARTORY, G. et al. In Search of the Trauma Memory: A Meta-Analysis of Functional Neuroimaging Studies of Symptom Provocation in Posttraumatic Stress Disorder (PTSD). **PLoS ONE**, 2013.

SCHEIN, J. et al. Prevalence of post-traumatic stress disorder in the United States: a systematic literature review. **Current Medical Research and Opinion**, v. 37, n. 12, p. 2151–2161, 2 dez. 2021.

SCHERMA, M. et al. The endogenous cannabinoid anandamide has effects on motivation and anxiety that are revealed by fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition. **Neuropharmacology**, v. 54, n. 1, p. 129–140, jan. 2008.

SIEGMUND, A.; WOTJAK, C. T. Toward an Animal Model of Posttraumatic Stress Disorder. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1071, n. 1, p. 324–334, 1 jul. 2006.

SIERRA, S. et al. Detection of cannabinoid receptors CB₁ and CB₂ within basal ganglia output neurons in macaques: changes following experimental parkinsonism. **Brain Structure and Function**, 2015.

SIMONE, J. J. et al. Differential effects of CB₁ receptor agonism in behavioural tests of unconditioned and conditioned fear in adult male rats. **Behavioural Brain Research**, v. 279, p. 9–16, fev. 2015.

SKELLY, M. J. et al. Adolescent social isolation increases anxiety-like behavior and ethanol intake and impairs fear extinction in adulthood: Possible role of disrupted noradrenergic signaling. **Neuropharmacology**, v. 97, p. 149–159, out. 2015.

SOETHOUDT, M. et al. Cannabinoid CB₂ receptor ligand profiling reveals biased signalling and off-target activity. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 13958, 3 abr. 2017.

SOUTHWICK, S. M.; CHARNEY, D. S. **Resilience**. Cambridge: Cambridge University Press, 2012.

STAFFORD, J. M. et al. Increasing Histone Acetylation in the Hippocampus-Infralimbic Network Enhances Fear Extinction. **Biological Psychiatry**, v. 72, n. 1, p. 25–33, jul. 2012.

STEARDO, L. et al. **Endocannabinoid system as therapeutic target of ptsd: A systematic review.** *Life*, 2021.

STEIN, M. B. et al. Genetic and Environmental Influences on Trauma Exposure and Posttraumatic Stress Disorder Symptoms: A Twin Study. **American Journal of Psychiatry**, v. 159, n. 10, p. 1675–1681, out. 2002.

STEIN, M. B. et al. Genome-wide Association Studies of Posttraumatic Stress Disorder in 2 Cohorts of US Army Soldiers. **JAMA Psychiatry**, v. 73, n. 7, p. 695, 1 jul. 2016.

STELLA, N. Endocannabinoid signaling in microglial cells. **Neuropharmacology**, v. 56, p. 244–253, jan. 2009.

STELT, M. VAN DER; MARZO, V. DI. Anandamide as an intracellular messenger regulating ion channel activity. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 77, n. 1–4, p. 111–122, set. 2005.

STEMPEL, A. V. et al. Cannabinoid Type 2 Receptors Mediate a Cell Type-Specific Plasticity in the Hippocampus. **Neuron**, 2016.

SUZUKI, A. et al. Memory Reconsolidation and Extinction Have Distinct Temporal and Biochemical Signatures. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 20, p. 4787–4795, 19 maio 2004.

TABER, K. H. et al. **Functional magnetic resonance imaging: Application to posttraumatic stress disorder.** *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 2003.

TAYLOR, F. B. et al. Daytime Prazosin Reduces Psychological Distress to Trauma Specific Cues in Civilian Trauma Posttraumatic Stress Disorder. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 7, p. 577–581, abr. 2006.

TEIXEIRA, C. et al. The Burden of Mental Illness Among Survivors of Critical Care—Risk Factors and Impact on Quality of Life. **Chest**, v. 160, n. 1, p. 157–164, jul. 2021.

TEN-BLANCO, M. et al. Amygdalar CB2 cannabinoid receptor mediates fear extinction deficits promoted by orexin-A/hypocretin-1. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 149, p. 112925, maio 2022.

TERZIAN, A. L. B. et al. Modulation of anxiety-like behaviour by Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1) channels located in the dorsolateral periaqueductal gray. **European Neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 3, p. 188–195, mar. 2009.

ULIANA, D. L. et al. Dorsolateral periaqueductal gray matter CB1 and TRPV1 receptors exert opposite modulation on expression of contextual fear conditioning. **Neuropharmacology**, v. 103, p. 257–269, abr. 2016.

VAN SICKLE, M. D. et al. Identification and Functional Characterization of Brainstem Cannabinoid CB₂ Receptors. **Science**, v. 310, n. 5746, p. 329–332, 14 out. 2005.

VEDOVATO, T. G. et al. Trabalhadores(as) da saúde e a COVID-19: condições de trabalho à deriva? **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 46, 2021.

VIVEROS, M.; MARCO, E.; FILE, S. Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 2, p. 331–342, jun. 2005.

VIVEROS, M.-P. et al. Endocannabinoid System and Synaptic Plasticity: Implications for Emotional Responses. **Neural Plasticity**, v. 2007, p. 1–12, 2007.

WANG, Z. et al. Magnetic Resonance Imaging of Hippocampal Subfields in Posttraumatic Stress Disorder. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 3, p. 296, 1 mar. 2010.

WEBER, M. D. et al. The Influence of Microglial Elimination and Repopulation on Stress Sensitization Induced by Repeated Social Defeat. **Biological Psychiatry**, v. 85, n. 8, p. 667–678, 2019.

WILKER, S. et al. Endocannabinoid concentrations in hair are associated with PTSD symptom severity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 67, p. 198–206, maio 2016.

WOHLEB, E. S. et al. β -Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 17, p. 6277–6288, 2011.

WOHLEB, E. S. et al. Re-establishment of anxiety in stress-sensitized mice is caused by monocyte trafficking from the spleen to the brain. **Biological Psychiatry**, v. 75, n. 12, p. 970–981, 2014.

YEHUDA, R. **Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder**. Annals of the New York Academy of Sciences. **Anais...**2009.

YEHUDA, R. et al. Post-traumatic stress disorder. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, n. October, p. 1–22, 2015.

YEHUDA, R.; LEDOUX, J. Response Variation following Trauma: A Translational Neuroscience Approach to Understanding PTSD. **Neuron**, v. 56, n. 1, p. 19–32, out. 2007.

ZANELATI, T. et al. Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT_{1A} receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 159, n. 1, p. 122–128, jan. 2010.

ZANNAS, A. S.; WEST, A. E. Epigenetics and the regulation of stress vulnerability and resilience. **Neuroscience**, v. 264, p. 157–170, abr. 2014.

ZHANG, W.; ROSENKRANZ, J. A. Repeated restraint stress enhances cue-elicited conditioned freezing and impairs acquisition of extinction in an age-dependent manner. **Behavioural Brain Research**, v. 248, p. 12–24, jul. 2013.

ZOLADZ, P. R. et al. ADRA2B deletion variant selectively predicts stress-induced enhancement of long-term memory in females. **Psychoneuroendocrinology**, v. 48, p. 111–122, out. 2014.

ZUARDI, A. W. et al. Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. **Journal of Psychopharmacology**, v. 7, n. 1_suppl, p. 82–88, 29 jan. 1993.

