



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

Fernanda De Souza Guterres

**Análise de uma estratégia farmacológica combinada para modular o processo de
desestabilização-reconsolidação de uma memória traumática em ratos e ratas**

Florianópolis

2026

Fernanda De Souza Guterres

**Análise de uma estratégia farmacológica combinada para modular o processo de
desestabilização-reconsolidação de uma memória traumática em ratos e ratas**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Leandro José Bertoglio

Florianópolis

2026

Guterres, Fernanda de Souza

Análise de uma estratégia farmacológica combinada para modular o processo de desestabilização-reconsolidação de uma memória traumática em ratos e ratas / Fernanda de Souza Guterres ; orientador, Leandro José Bertoglio, 2026.

71 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Memórias aversivas. 3. Reconsolidação. 4. Estratégia multimodal. I. Bertoglio, Leandro José. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título.

Fernanda de Souza Guterres

Análise de uma estratégia farmacológica combinada para modular o processo de desestabilização-reconsolidação de uma memória traumática em ratos e ratas

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 23 de fevereiro de 2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Antonio Pádua Carobrez, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Prof.(a) Cristiane Ribeiro de Carvalho, Dr.(a)
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Prof.(a) Alexandre Giusti-Paiva, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Prof.(a) Cristiane Ribeiro de Carvalho, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

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

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof. Dr. Leandro José Bertoglio – Orientador

Florianópolis, 2026.

Dedico este trabalho a todos que ousaram seguir outro caminho.

AGRADECIMENTOS

Realizar o mestrado tem sido um sonho meu há bastante tempo e, entre os andares do bloco D, as idas ao prédio novo e as incontáveis trocas com professores, funcionários e alunos, encontrei as pessoas e os ambientes necessários para que esse sonho se tornasse realidade. É a todos eles que estendo estes agradecimentos.

Agradeço aos meus professores, tanto àqueles que me ensinaram em sala de aula quanto os que conheci em meio a reuniões da representação discente, cada um, à sua maneira, contribuiu para que eu compreendesse não apenas que tipo de ciência desejo fazer, mas também que tipo de cientista almejo me tornar. Um agradecimento especial às professoras doutoras Luísa Motta e Helena Cimarosti, que acompanhei durante o estágio em docência e que me fizeram, pela primeira vez, ansiar por estar dentro de uma sala de aula.

Aos professores Dr. Antônio Pádua Carobrez e Dr. Alexandre Giusti-Paiva que me acompanharam durante todo o mestrado e aceitaram em conjunto com as Dras. Cristina Stern e Cristiane Carvalho compor a banca de avaliação, meu muito obrigada! Suas contribuições serão fundamentais para aprimorar esse trabalho.

Ao professor Dr. Leandro Bertoglio, que abriu as portas de seu laboratório para acolher uma gremista ainda sem experiência, deixo minha gratidão pela orientação, pela confiança e pelo incentivo constante que foram fundamentais para que eu me apaixonasse pelo estudo da memória. As minhas colegas de laboratório Isabel, Luciane, Marina, Maria Eduarda e Madu agradeço por tudo o que me ensinaram dentro ou fora das salas de experimento.

Aos meus colegas de mestrado, e todos os outros pós-graduandos que encontrei durante essa etapa, obrigada por todas as vezes que vocês me ouviram falar de memória aversiva. Já a Michelle e ao Tainã meu agradecimento por sempre me trazerem de volta ao planeta Terra quando eu acabava ficando imersa demais no meu próprio planeta.

Especialmente, agradeço a minha mãe, Nirza, que acreditou quando eu duvidei, que me encorajou quando eu pensei em desistir e que acima de tudo me apoiou quando eu simplesmente quis. Obrigada também a minha irmã, Patrícia, que esteve ao meu lado durante todas as etapas desse processo e na qual me apoiei quando mais precisava, também ao meu irmão Fernando e ao meu afilhado Bernardo por serem o incentivo para continuar conquistando mais sonhos.

À Bruna e ao Choppinho, agradeço por serem meu lar em Florianópolis e pelos momentos de leveza, essenciais para recarregar as energias no dia a dia.

Por fim, agradeço o apoio financeiro da CAPES e todo o suporte prestado pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

RESUMO

Memórias associadas a eventos traumáticos são adquiridas sob condições de estresse, o que pode conferir maior robustez e menor flexibilidade ao traço mnemônico. Essas características podem comprometer a eficácia de abordagens farmacológicas que dependem da indução de um estado lábil para promover sua modificação, como as baseadas no bloqueio da reconsolidação por canabidiol (CBD) ou clonidina (CLO). Como agonista parcial do receptor NMDA, hipotetizamos que a D-cicloserina (DCS) favoreceria a labilização, criando uma janela temporal em que a memória estaria sujeita a modificações subsequentes decorrentes da administração combinada de CBD+CLO. Ratos Wistar machos e fêmeas na idade adulta foram condicionados ao contexto A (CTX A) com 3 choques nas patas (1,3 mA) e no dia seguinte receberam tratamento sistêmico com DCS (15 mg/kg) ou salina 30 minutos antes da sessão de reativação (CTX A), e a combinação de CBD+CLO (10 mg/kg + 0,3 mg/kg) ou veículo imediatamente após a sessão, aproveitando a janela de reconsolidação. O tempo de congelamento em cada sessão foi utilizado como medida do comportamento de medo dos animais. Nas fêmeas, a DCS administrada antes da evocação da memória foi essencial para que os bloqueadores de reconsolidação atenuassem o congelamento entre as sessões de teste, enquanto, nos machos, apenas a combinação de CBD+CLO foi suficiente para atenuar significativamente o comportamento de congelamento, com a coadministração da DCS não interferindo nesse efeito. Mesmo favorecendo a labilização da memória, a administração da DCS não viabilizou a redução das doses de CBD+CLO pela metade (5 mg/kg e 0,15 mg/kg) não havendo diferenças entre os grupos experimentais e entre os sexos. Embora o condicionamento com choques de 1,3 mA tenha produzido níveis elevados de congelamento em um contexto novo (CTX B), quando a sessão de reativação foi realizada nesse contexto, os efeitos atenuadores observados com a combinação de DCS e CBD+CLO não foram reproduzidos. Durante os testes, fêmeas apresentaram menor valor de congelamento do que os machos, evidenciando diferenças no engajamento de comportamentos defensivos. Em conjunto, os dados indicam que memórias traumáticas geram disfuncionalidades capazes de interferir na sua modulação, principalmente em fêmeas, exigindo o emprego de estratégias farmacológicas combinadas e direcionadas à atenuação de tais características.

Palavras-chave: Estratégia combinada; Reconsolidação; Desestabilização; Condicionamento aversivo contextual;

ABSTRACT

Memories associated with traumatic events are acquired under conditions of stress, which may confer greater robustness and reduced flexibility to the memory trace. These characteristics may compromise the efficacy of pharmacological approaches that rely on inducing a labile state to promote memory modification, such as those based on reconsolidation blockade with cannabidiol (CBD) or clonidine (CLO). As a partial agonist of the NMDA receptor, we hypothesized that D-cycloserine (DCS) would facilitate the labilization process, creating a temporal window in which the memory would be susceptible to subsequent modifications induced by the combined administration of CBD+CLO. Adult male and female Wistar rats were conditioned to context A (CTX A) with three footshocks (1.3 mA), and on the following day received systemic treatment with DCS (15 mg/kg) or saline 30 minutes prior to the reactivation session (CTX A), and the combination of CBD+CLO (10 mg/kg + 0.3 mg/kg) or vehicle immediately after the session, taking advantage of the reconsolidation window. Freezing time in each session was used as a measure of fear-related behavior. In females, DCS administered prior to memory retrieval was essential for reconsolidation blockers to attenuate freezing across test sessions, whereas in males, the combination of CBD+CLO alone was sufficient to significantly reduce freezing behavior, and DCS co-administration did not alter this effect. Although it facilitated memory labilization, DCS administration did not allow for a dose reduction of CBD+CLO by half (5 mg/kg and 0.15 mg/kg), as no differences were observed between experimental groups or between sexes. Although conditioning with 1.3 mA footshocks produced high levels of freezing in a novel context (CTX B), when the reactivation session was conducted in this context, the attenuating effects observed with the combination of DCS and CBD+CLO were not reproduced. During testing, females exhibited lower freezing levels than males, indicating differences in the engagement of defensive behaviors. Overall, these findings suggest that traumatic memories produce dysfunctions that interfere with their modulation, particularly in females, requiring combined and targeted pharmacological strategies to mitigate these characteristics.

Keywords: Multimodal strategy; Reconsolidation; Destabilization; Contextual fear conditioning;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Protocolo experimental.....	27
Figura 2. Pré-tratamento com D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg, i.p.) atenuou a ação dos bloqueadores de reconsolidação (CLO; 0,3 mg/kg, i.p.) e do canabidiol (CBD; 10 mg/kg, i.p.) em fêmeas, mas não em machos.....	32
Figura 3. Pré-tratamento com D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg, i.p.) não atenuou os efeitos dos bloqueadores de reconsolidação em doses reduzidas.....	36
Figura 4. Pré-tratamento com D-cicloserina e pós-tratamento com clonidina e canabidiol não atenuaram o comportamento defensivo quando a memória foi evocada em um contexto não condicionado.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ciclo estral por tratamento no experimento 1	33
Tabela 2. Ciclo estral por tratamento no experimento 2	36
Tabela 3. Ciclo estral por tratamento experimento 3	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG - 2-arachidonoylglycerol;
5-HT1A - Receptor serotoninérgico;
AEA – Anandamida;
AMPA - Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazol propiônico;
AMPc - Adenosina monofosfato cíclico;
ANOVA - Análise de variância;
BDNF - Fator neurotrófico derivado do encéfalo;
BLA - Amígdala basolateral;
CAC - Condicionamento Aversivo Contextual;
CB1R - Receptor canabinoide tipo 1;
CB2R - Receptor canabinoide 2;
CBD – Canabidiol;
CLO – Clonidina;
CP-55,940 - Agonista sintético não seletivo de receptores canabinoides (CB1/CB2);
CPFm - Córtex pré-frontal medial;
CREB - Proteína de ligação do elemento responsivo ao AMPc;
CYP450 – citocromo P450;
DCS – D-cicloserina;
E.P.M. - Erro padrão da média;
Egr1 - Early growth response 1;
ERK – Quinase regulada por sinais extracelulares;
FAAH – fatty acid amide hydrolase (hidrolase de amidas de ácidos graxos);
FABPs – fatty acid-binding proteins (proteínas ligantes de ácidos graxos);
Gi – proteína G inibitória;
GluN2A – subunidade GluN2A do receptor NMDA;
GluN2B – subunidade GluN2B do receptor NMDA;
GPR55 – Receptor acoplado à proteína G 55;
h – Hora;
HD – Hipocampo dorsal;
Hz – hertz (unidade de frequência);
i.p. – via intraperitoneal;

Kg – Quilogramas;

mA – Miliampere;

MAPK – Quinase ativada por mitógenos;

Mg – Miligramas

MK-801 - Antagonista não competitivo do receptor NMDA;

mL – Mililitros;

N – Número;

NMDA - N-metil D-Aspartato;

PKA – protein kinase A (proteína quinase A);

PPAR- γ – Receptor ativado por proliferadores de peroxissomo gama;

s – Segundo;

TEPT - Transtorno de estresse pós-traumático;

THC – Δ^9 -tetraidrocanabinol;

TRPV1 – Receptor potencial transitório vaniloide tipo 1;

VEI – Veículo;

Zif268 - Zinc finger-inducing factor 268;

$\alpha 2$ – receptor adrenérgico alfa-2

SUMARIO

1.	INTRODUÇÃO	8
1.1	MEMÓRIAS COMO OBJETO DE ESTUDO.....	8
1.2	MEMÓRIA AVERSIVA E SUAS DISFUNCIONALIDADES	10
1.3	ALVOS FARMACOLÓGICOS.....	14
1.1.1	Sistema Noradrenérgico.....	14
1.1.2	Sistema Endocanabinóide	16
1.1.3	Sistema Glutamatérgico	19
1.4	ESTRATÉGIA MULTIMODAL	22
2.	HIPÓTESE.....	23
3.	OBJETIVO GERAL	23
4.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
5.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5.1	ANIMAIS	24
5.2	DROGAS.....	24
5.3	APARATO DE CONDICIONAMENTO AVERSIVO AO CONTEXTO	25
5.4	COLETA E ANÁLISE DO CICLO ESTRAL	27
5.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
5.6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
6.	RESULTADOS	30

6.1	D-CICLOSERINA POTENCIALIZA A AÇÃO DOS BLOQUEADORES DE RECONSOLIDAÇÃO COMBINADOS EM UM MODELO DE MEMÓRIA AVERSIVA DISFUNCIONAL.....	30
6.2	EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO COM D-CICLOSERINA SOBRE A AÇÃO DE DOSES REDUZIDAS DE CLONIDINA E CANABIDIOL NA RECONSOLIDAÇÃO DE UMA MEMÓRIA AVERSIVA DISFUNCIONAL.....	34
6.3	EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO COM D-CICLOSERINA SOBRE A AÇÃO DOS BLOQUEADORES DE RECONSOLIDAÇÃO EM UMA MEMÓRIA REATIVADA EM UM CONTEXTO DIFERENTE.	37
7.	DISCUSSÃO	41
8.	CONCLUSÃO.....	47

1. INTRODUÇÃO

1.1 MEMÓRIAS COMO OBJETO DE ESTUDO

A capacidade de armazenar informações relevantes constitui um componente fundamental para a evolução e o desenvolvimento humanos. A memória representa um mecanismo essencial por meio do qual experiências são codificadas, organizadas e preservadas, possibilitando a utilização dessas informações em contextos futuros de relevância adaptativa (HAN; PARK; CHOI; BLISS; KAANG, 2022). Esse processo depende de alterações duradouras na estrutura e na função do encéfalo, que permitem que experiências passadas influenciem o comportamento futuro.

Em 1904, Richard Semon nomeou as modificações físicas e funcionais induzidas pela experiência no sistema nervoso como engrama. O engrama é formado quando a exposição a um evento específico leva à ativação coordenada de populações neuronais distribuídas em diferentes regiões encefálicas, promovendo o fortalecimento ou o enfraquecimento de suas conexões sinápticas (TONEGAWA; LIU; RAMIREZ; REDONDO, 2015). Essas alterações sustentam o armazenamento de informações relevantes sobre o episódio vivenciado e, posteriormente, possibilitam a evocação da memória correspondente.

Embora os processos envolvidos na formação da memória não ocorram de maneira estritamente separada, foram necessárias décadas de investigação experimental para que diferentes etapas pudessem ser conceitualmente distinguidas como objetos de estudo. A aquisição é geralmente considerada a fase inicial do aprendizado e envolve o recrutamento coordenado de neurônios distribuídos em múltiplas regiões encefálicas, acompanhado de alterações seletivas na força das conexões sinápticas. A ideia de que a coativação neuronal sustenta a formação de traços de memória foi formulada inicialmente por Hebb em 1949, que propôs que padrões específicos de atividade neuronal poderiam dar origem a representações de curto prazo e, se mantidos por tempo suficiente, seriam progressivamente estabilizados como memórias de longa duração. Essa hipótese hebbiana forneceu a base teórica para o desenvolvimento de grande parte da neurociência da memória, embora a demonstração experimental de um mecanismo fisiológico correspondente — a potenciação de longa duração — tenha ocorrido apenas anos depois (BLISS; LOMO, 1973).

Os padrões de conectividade estabelecidos durante a aquisição conferem às memórias suas características específicas e, para que essas representações persistam ao longo do tempo, precisam ser estabilizadas por processos celulares e moleculares adicionais. Estudos clássicos demonstraram que a manutenção da memória depende criticamente da síntese proteica e de

mecanismos de transcrição gênica, fortalecendo o conceito de consolidação como etapa fundamental para a estabilização do traço do engrama (DAVIS; SQUIRE, 1984; FLEXNER; FLEXNER; STELLAR, 1963). Trabalhos subsequentes, particularmente em modelos experimentais menos complexos como *Aplysia*, detalharam como cascatas de sinalização intracelular, ativação gênica e modificações estruturais nas sinapses contribuem para a formação de memórias de longa duração (KANDEL, 2001; KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014).

Por grande parte do século XX, a consolidação foi compreendida como um processo essencialmente unidirecional, após o qual a memória se tornaria estável e resistente a interferências externas. Evidências comportamentais sustentavam essa visão ao demonstrar que intervenções amnésicas eram eficazes apenas quando aplicadas imediatamente após o aprendizado, reforçando a ideia de que memórias consolidadas seriam estruturalmente imutáveis (DAVIS; SQUIRE, 1984; MCGAUGH, 2004). No entanto, já no início do século, Müller e Pilzecker haviam observado que um novo aprendizado, quando ocorresse logo após uma experiência anterior, podia interferir na retenção da memória original. Esses autores propuseram a existência de um período transitório pós-aprendizado, durante o qual o traço mnêmico ainda não estaria completamente estabilizado e chamaram esse processo de estabilização por consolidação. Essa hipótese foi posteriormente validada por estudos que demonstraram que choques eletroconvulsivos, inibidores da síntese proteica — como puromicina e cicloheximida — ou lesões hipocâmpais aplicadas após o treino eram capazes de induzir amnésia (DUNCAN, 1949; RUSSELL; NATHAN, 1946). Ao longo do século XX, a acumulação dessas evidências consolidou a noção de que a memória possui um substrato físico dependente da síntese proteica e que sua modulação estaria restrita a uma janela temporal limitada após a aquisição.

Apesar dessa concepção dominante, resultados experimentais pontuais começaram a indicar que a estabilidade da memória não era absoluta. Estudos pioneiros demonstraram que a reexposição a pistas associadas à memória poderia reinstaurar um estado de labilidade suficiente para induzir amnésia mesmo em memórias previamente consolidadas (MISANIN; MILLER; LEWIS, 1968). Com base nessas observações, LEWIS (1979) propôs que a memória poderia alternar entre estados funcionalmente distintos, nos quais sua susceptibilidade à modulação dependeria da reativação do traço da memória e estaria associada a processos bioquímicos transitórios, especialmente relacionados à reorganização proteica.

Ainda assim, por muitos anos prevaleceu a interpretação de que a evocação da memória corresponderia apenas a uma leitura passiva da informação armazenada, sem consequências

diretas sobre sua estrutura. Essa visão passou a ser questionada definitivamente a partir da década de 1990, quando evidências experimentais demonstraram que memórias reativadas requerem um novo processo de estabilização. Estudos mostraram que a administração do antagonista de receptores NMDA, MK-801, após a reativação de uma memória consolidada, induzia amnésia, indicando que a memória passou por um processo de reconsolidação e que a evocação pode levar a memória a um estado lábil, passível de modificações (PRZYBYSLAWSKI; SARA, 1997).

Essa ideia foi fortalecida por experimentos que demonstraram que a inibição da síntese proteica após a reativação, especificamente na amígdala basolateral, levava à perda duradoura da memória, um efeito dependente da evocação prévia (NADER; SCHAFE; LE DOUX, 2000). Paralelamente, estudos em nível sináptico mostraram que a reativação de circuitos previamente potenciados induz uma fase transitória de despoteencialização dependente de receptores NMDA, seguida de um processo de restabilização dependente de síntese proteica, que fornece uma base celular para esse fenômeno (FONSECA; NAGERL; BONHOEFFER, 2006).

A integração desses achados levou à formulação do conceito de desestabilização da memória, definido como o conjunto de processos iniciais, desencadeados pela reativação, que tornam a memória temporariamente lábil e suscetível à modulação. Esse processo passou a ser reconhecido como uma etapa distinta e necessária para a reconsolidação, delimitando a janela temporal em que intervenções farmacológicas ou comportamentais podem efetivamente alterar memórias previamente consolidadas (FINNIE; NADER, 2012; HONG; KIM; KIM; LEE *et al.*, 2013).

Décadas de achados científicos possibilitaram a formulação do que hoje se entende por processo de formação e manutenção da memória. Em resumo, o contato com um estímulo relevante ativa simultaneamente diversos neurônios, recrutados para armazenar essa informação. O padrão de ativação leva a características específicas do traço e, nesse processo de fortalecimento e enfraquecimento de sinapses, chamamos de aquisição. Posteriormente, em um processo dependente de tempo, a memória passa de lábil e maleável para estável e inflexível, em um processo chamado consolidação, mas esse estado é transitório, uma vez que pistas que ativam neurônios do traço são capazes de evocar a memória e, posteriormente, levá-la ao processo de reconsolidação.

1.2 MEMÓRIA AVERSIVA E SUAS DISFUNCIONALIDADES

Embora o conceito de engrama tenha sido formalizado apenas no início do século XX, a ideia de que experiências deixam marcas duradouras na mente antecede em muito o desenvolvimento da neurociência moderna. Antes de se consolidar como campo da ciência experimental, a memória já constituía objeto de investigação filosófica. Na Grécia Antiga, Platão, no diálogo *Teeteto*, empregou metáforas para discutir como as experiências sensoriais produzem impressões duradouras na mente, antecipando a noção de traços mnêmicos (PLATÃO, 427-347 a.C.). Posteriormente, Aristóteles, em seu tratado *De Memoria et Reminiscentia*, aprofundou essa discussão ao propor que a memória está associada a processos de evocação baseados na contiguidade temporal e na associação entre ideias (ARISTÓTELES, 350-330 a.C.). Séculos mais tarde, John Locke, no contexto do empirismo moderno, retomou e sistematizou essas concepções ao integrá-las à sua teoria do conhecimento, defendendo que a mente é moldada pela experiência sensorial ao longo do desenvolvimento (LOCKE, 1689).

Todavia, sabe-se que diferentes componentes envolvidos no processo mnemônico podem interferir diretamente na persistência das memórias ao longo do tempo (TEZANOS; TREJO, 2025). Experiências cotidianas desprovidas de relevância emocional tendem a ser esquecidas progressivamente; assim, embora seja possível recordar o que se consumiu no café da manhã ou os eventos ocorridos no dia anterior, torna-se cada vez mais difícil evocar essas informações à medida que o tempo passa. Em contraste, experiências acompanhadas de um componente emocional significativo tendem a gerar memórias mais duradouras (LEDOUX, 1993; MCGAUGH, 2004; TEZANOS; TREJO, 2025). Se, por exemplo, durante o café da manhã de uma semana atrás ocorreu um evento aversivo, como um acidente com água quente, essa informação tem maior probabilidade de ser preservada e posteriormente evocada. De modo semelhante, memórias associadas a emoções intensas, sejam elas positivas ou negativas, apresentam maior resistência ao esquecimento, evidenciando o papel da emoção na modulação da consolidação e da persistência da memória (WILLIAMS; FORD; KENSINGER, 2022).

Nesse contexto, as memórias aversivas desempenham um papel particularmente relevante. O perigo iminente desencadeia respostas comportamentais adaptativas de luta ou fuga, mediadas por alterações hormonais e por padrões específicos de ativação neural, que permitem ao indivíduo antecipar e responder a potenciais ameaças com base em experiências aversivas prévias (BUCHANAN, 2007). No entanto, quando o aprendizado ocorre em associação a um evento traumático, a elevada carga emocional engaja sistemas noradrenérgicos e glicocorticoides que potencializam a plasticidade sináptica na amígdala e enfraquecem o controle desta região sobre áreas encefálicas como o córtex pré-frontal e o hipocampo (ROOZENDAAL; MCEWEN; CHATTARJI, 2009), resultando em uma hiperresponsividade

duradoura dos circuitos amigdalares (SOSA; COMAS MUTIS; RIVA GARGIULO; MARTIJENA *et al.*, 2026) acompanhada de déficits no controle modulatório exercido pelo hipocampo e pelo córtex pré-frontal ventromedial (vmPFC) sobre essa estrutura (ROOZENDAAL; MCEWEN; CHATTARJI, 2009). Essa desregulação compromete a integração adequada de informações contextuais e temporais, resultando em respostas emocionais exacerbadas e generalizadas diante de estímulos que não representam uma ameaça real (BENDER; OTAMENDI; CALFA; MOLINA, 2018).

A disfunção desses circuitos está diretamente relacionada à manifestação de comportamentos maladaptativos observados no Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) (RAUCH; SHIN; PHELPS, 2006). De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), o TEPT é classificado como um transtorno relacionado a traumas e estressores, caracterizado por respostas comportamentais e fisiológicas intensas diante de estímulos associados ao evento traumático, mesmo quando estes não apresentam valência negativa intrínseca. Esses comportamentos emergem tanto de fatores genéticos e vulnerabilidades individuais — mencionados acima — quanto de processos adquiridos ao longo do transtorno, incluindo déficits de extinção e sintomas dissociativos (FENSTER; LEBOS; RESSLER; SUH, 2018).

Décadas de pesquisa têm se apoiado nos princípios do processo de aprendizado e memória para compreender os mecanismos subjacentes à fisiopatologia do TEPT. Um marco fundamental nesse campo remonta ao início do século XX, quando Ivan Pavlov descreveu o condicionamento clássico, estabelecendo as bases conceituais para diversos paradigmas experimentais posteriormente empregados no estudo da formação e da expressão de memórias associativas. Em seus experimentos, Pavlov observou que cães previamente condicionados a receber alimento passavam a apresentar respostas fisiológicas antecipatórias, como a salivação, diante de estímulos neutros que prediziam a oferta de comida. Esses achados demonstraram que a associação entre estímulos ambientais e eventos biologicamente relevantes é capaz de induzir respostas fisiológicas e comportamentais condicionadas, princípio que se tornou central para a investigação dos processos de aprendizado emocional e, posteriormente, das memórias aversivas e traumáticas (LEDOUX, 2000; NADER; SCHAFE; LE DOUX, 2000; PAVLOV, 1927).

No experimento original de Pavlov, o estímulo inicialmente neutro capaz de evocar respostas fisiológicas condicionadas consistia em um sinal sonoro. Uma adaptação desse princípio deu origem ao paradigma de condicionamento aversivo contextual (CAC), no qual um contexto previamente neutro adquire valência negativa após sua associação a um evento

aversivo de relevância biológica, como a administração de choques elétricos nas patas de animais, em sua maioria, roedores. Esse paradigma experimental permite o acesso controlado a memórias de natureza aversiva e possibilita a avaliação de respostas defensivas, sendo o comportamento de congelamento (*freezing*) uma das medidas mais amplamente utilizadas para inferir a expressão da memória do medo (BLANCHARD; BLANCHARD, 1969a; FANSELOW, 1980; MAREN, 2001). O paradigma de condicionamento aversivo, seja ao contexto, ao odor ou ao tom, tornou-se objeto de investigação em diversos estudos clássicos, anteriormente descritos, voltados à compreensão das etapas envolvidas na formação de memórias.

Os estudos acumulados ao longo das últimas décadas demonstraram que a memória é um processo dinâmico, cuja expressão envolve estados transitórios de plasticidade que permitem sua atualização. Bloqueadores da reconsolidação ganharam destaque por sua capacidade de interferir seletivamente em aspectos específicos da memória reativada, sem necessariamente comprometer sua persistência ou outras funções cognitivas (KROES; SCHILLER; LEDOUX; PHELPS, 2016). Ao longo dos anos, essa estratégia tem sido amplamente explorada em modelos animais e em estudos clínicos, geralmente combinada à breve reexposição a pistas associadas ao evento aversivo. Uma parcela expressiva dessa literatura emprega o paradigma de condicionamento aversivo contextual como ferramenta para avaliar a eficácia dos bloqueadores da reconsolidação na atenuação de comportamentos disfuncionais. Entretanto, muitos desses estudos concentram-se predominantemente na força ou na durabilidade da memória aversiva, não compreendendo as características qualitativas fundamentais do trauma, como a capacidade de desestabilização da memória após a reativação (GAZARINI; STERN; BERTOGLIO, 2023; GUISE; SHAPIRO, 2017). Evidências indicam que memórias traumáticas intensas apresentam resistência considerável à desestabilização, condição indispensável para a indução da reconsolidação e, conseqüentemente, para a ação efetiva dos bloqueadores farmacológicos (LEE; BERTOGLIO; GUIMARAES; STEVENSON, 2017; SEVENSTER; BECKERS; KINDT, 2013).

Além disso, é amplamente reconhecido que o TEPT está associado a déficits na discriminação contextual e à generalização do medo, fenômenos que contribuem para a expressão de respostas defensivas em ambientes neutros (LIBERZON; ABELSON, 2016; MAREN; PHAN; LIBERZON, 2013). Resultados semelhantes têm sido observados em modelos animais de estresse intenso e de condicionamento aversivo, nos quais a generalização do medo e a perda de controle contextual comprometem a especificidade da reativação da memória traumática (SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO,

2024; WANG; STEWART; CORTEZ; WU *et al.*, 2009). Apesar disso, poucos estudos incorporam sistematicamente a avaliação da discriminação contextual ao investigar intervenções baseadas no bloqueio da reconsolidação, o que limita a compreensão de como essas abordagens afetam memórias aversivas complexas e generalizadas, mais próximas do fenótipo observado no TEPT.

Outro aspecto relevante a ser considerado diz respeito à homogeneidade da literatura, uma vez que grande parte dos avanços nas áreas de aprendizagem e memória foi obtida a partir de estudos conduzidos predominantemente com indivíduos do sexo masculino, tanto em modelos animais quanto em humanos (BEERY; ZUCKER, 2011; GAZARINI; STERN; BERTOGLIO, 2023). Essa limitação metodológica é particularmente crítica à luz de evidências que indicam maior vulnerabilidade das mulheres ao desenvolvimento do TEPT, quando comparadas aos homens, sugerindo a existência de diferenças sexuais nos mecanismos neurobiológicos subjacentes à formação, manutenção e modulação de memórias aversivas (BRISCIONE; MICHPOULOS; JOVANOVIĆ; NORRHOLM, 2017; MCGINTY; FOX; BEN-EZRA; CLOITRE *et al.*, 2021)

1.3 ALVOS FARMACOLÓGICOS

1.1.1 Sistema Noradrenérgico

Evidências recentes indicam que a atividade noradrenérgica desempenha um papel central na regulação da plasticidade de memórias aversivas após a reativação, influenciando tanto mecanismos moleculares quanto a dinâmica de circuitos neurais distribuídos. A evocação de memórias aversivas ativa vias intracelulares dependentes de CREB, que quando fosforilado promove a transcrição de genes de resposta imediata e tardia, incluindo *c-fos*, *Arc* e *BDNF*, os quais são essenciais para a síntese proteica necessária à reestabilização da memória após sua entrada em um estado lábil (SAKAMOTO; KARELINA; OBRIETAN, 2011)(MAMIYA; FUKUSHIMA; SUZUKI; MATSUYAMA *et al.*, 2009; TRONSON; TAYLOR, 2007). A modulação farmacológica da sinalização adrenérgica interfere diretamente nesses mecanismos, uma vez que o bloqueio de receptores β -adrenérgicos reduz a ativação molecular associada à reconsolidação e resulta no enfraquecimento da memória reativada (PRZYBYSLAWSKI; ROULLET; SARA, 1999). Tais alterações podem influenciar o padrão de conectividade funcional entre o hipocampo, a amígdala e o córtex pré-frontal (COMAS MUTIS; ESPEJO; MARTIJENA; MOLINA; CALFA, 2021; LEAL SANTOS; STACKMANN; MUNOZ ZAMORA; MASTRODONATO *et al.*, 2021)

Em nível de circuitos, a noradrenalina exerce um controle dinâmico. Em situações de luta e fuga, este neurotransmissor faz parte do principal sistema de ação imediata diante de ameaças e, por lógica, está altamente correlacionado com memórias aversivas. Sua ação depende de um ajuste fino, pois obedece a uma função não linear. Níveis moderados de noradrenalina favorecem a plasticidade e o controle pré-frontal sobre a amígdala, permitindo a atualização da memória, enquanto níveis elevados, associados a estresse intenso, aumentam a atividade da amígdala e prejudicam a modulação da memória evocada (GIUSTINO; MAREN, 2018). Por outro lado, evidências clássicas demonstram que o bloqueio sistêmico de receptores β -adrenérgicos com propranolol, quando realizado após a reativação, compromete a expressão subsequente da memória (DEBIEC; LEDOUX, 2004; PRZYBYSLAWSKI; ROULLET; SARA, 1999). De forma complementar, a redução da liberação de noradrenalina por meio da ativação de receptores α_2 , como observado com a clonidina (CLO), prejudica a reconsolidação em diferentes modelos experimentais, enquanto o aumento da sinalização β -adrenérgica na amígdala fortalece esse processo (DEBIEC; BUSH; LEDOUX, 2011; GAMACHE; PITMAN; NADER, 2012; GAZARINI; STERN; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2013; MARIN; FRANZEN; TROYNER; MOLINA *et al.*, 2020; SAGGU; CHEN; COTTINGHAM; REHMAN *et al.*, 2023; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARAES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024; TROYNER; BERTOGLIO, 2020; 2021).

Além de sua participação na reconsolidação da memória, evidências mais recentes indicam que a sinalização noradrenérgica é necessária para induzir o estado lábil da memória após a reativação. Em particular, a ativação de receptores β -adrenérgicos no hipocampo mostrou-se essencial para a desestabilização da memória, uma vez que o bloqueio desses receptores antes da reativação impede os efeitos amnésicos de inibidores da síntese proteica, como a anisomicina (LIM; KIM; KWAK; LEE *et al.*, 2018). Esses achados reforçam a ideia de que a reativação, por si só, não é suficiente para tornar a memória suscetível à modulação, sendo a neuromodulação noradrenérgica um componente crítico desse processo.

Neste estudo, escolhemos a CLO como agente modulador do sistema noradrenérgico. Em humanos, a CLO apresenta boa absorção por via oral, com biodisponibilidade de 70–80%. Após a administração sistêmica, o fármaco atravessa eficientemente a barreira hematoencefálica, o que é fundamental para seus efeitos centrais. O pico de concentração plasmática ocorre entre 1 e 3 horas após a administração oral, enquanto efeitos centrais podem ser observados mais precocemente após administrações parenterais (BRUNTON, 2024). A CLO é um agonista α_2 -adrenérgicos que, apesar de ativar os subtipos α_2A , α_2B e α_2C , exerce seus principais efeitos centrais via receptores α_2A , que atuam como autorreceptores inibitórios

em neurônios noradrenérgicos, modulando a liberação de noradrenalina. Em nível molecular, esses receptores estão acoplados à proteína Gi, de modo que sua ativação resulta na inibição da adenilato ciclase, na redução dos níveis intracelulares de AMPc e na diminuição da atividade da proteína quinase A (PKA). Como consequência, ocorre a modulação negativa de vias intracelulares associadas à excitabilidade neuronal e à plasticidade sináptica, incluindo as cascatas ERK/MAPK e CREB.(FAIRBANKS; STONE; WILCOX, 2009).

A CLO apresenta ligação moderada a proteínas plasmáticas (cerca de 20–40%) e um volume de distribuição elevado, refletindo sua ampla penetração tecidual, incluindo o sistema nervoso central. Seu metabolismo ocorre parcialmente no fígado, principalmente por meio de reações de oxidação, enquanto uma fração significativa do fármaco é excretada inalterada pelos rins. A meia-vida de eliminação é relativamente longa, variando entre 12 e 16 horas (KHAN; FERGUSON; JONES, 1999).

O uso de CLO como bloqueador de reconsolidação já está bem documentado tanto em contextos clínicos quanto em modelos experimentais de condicionamento ao contexto. Estudos iniciais exploraram a administração de CLO em pessoas com sofrimento traumático ou sintomas relacionados à memória emocional, relatando efeitos na modulação das respostas de estresse e das lembranças associadas (HARMON; RIGGS, 1996; KINZIE; LEUNG, 1989; SOUTHWICK; BREMNER; RASMUSSEN; MORGAN *et al.*, 1999). Em modelos pré-clínicos, evidências mais recentes demonstraram que a ativação de receptores α_2 pela CLO prejudica a reconsolidação de memórias aversivas em paradigmas de condicionamento ao contexto, sugerindo que a redução da liberação de noradrenalina pode enfraquecer traços reativados (GAMACHE; PITMAN; NADER, 2012; GAZARINI; STERN; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2013; SAGGU; CHEN; COTTINGHAM; REHMAN *et al.*, 2023; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARAES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024; ZIEGENHORN; ROEPKE; SCHOMMER; MERKL *et al.*, 2009).

Todavia, apesar do crescente interesse no potencial terapêutico de moduladores noradrenérgicos, como a CLO, a maioria dos estudos até o momento não avaliou de forma específica os efeitos dessa intervenção sobre memórias de caráter maladaptativo, como as observadas em transtornos ansiosos crônicos ou no transtorno de estresse pós-traumático. Em um treino considerado intenso (e. g., choques de 1,3 mA), o uso isolado de CLO pós-reativação não foi suficiente para reduzir o comportamento de congelamento (SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024).

1.1.2 Sistema Endocanabinóide

Os endocanabinoides constituem um sistema neuromodulador fundamental na regulação da plasticidade sináptica, sendo sintetizados sob demanda em neurônios pós-sinápticos e liberados retrogradamente para modular a atividade pré-sináptica, principalmente por meio de mecanismos de *feedback* negativo (PACHER; KOGAN; MECHOULAM, 2020; SCHEYER; YASMIN; NASKAR; PATEL, 2023). No contexto da memória do medo, estudos iniciais que investigaram a participação do receptor canabinoide tipo 1 (CB1R) na reconsolidação apresentaram resultados heterogêneos. Enquanto a administração sistêmica de antagonistas de CB1R não produziu efeitos consistentes sobre a reconsolidação (SUZUKI; JOSSELYN; FRANKLAND; MASUSHIGE *et al.*, 2004), abordagens mais localizadas demonstraram que a ativação de CB1Rs em regiões específicas, como a BLA, córtex insular, HD e CPFm, prejudica a reconsolidação de memórias aversivas (DE OLIVEIRA ALVARES; PASQUALINI GENRO; DIEHL; MOLINA; QUILLFELDT, 2008; KOBILO; HAZVI; DUDAI, 2007; LIN; MAO; GEAN, 2006; SANTANA; SIERRA; HAUBRICH; CRESTANI *et al.*, 2016). Esses efeitos dependem de CB1R, uma vez que são abolidos pela coadministração de antagonistas. No entanto, resultados conflitantes indicam que, em determinadas regiões, tanto agonistas quanto antagonistas de CB1R podem modular a reconsolidação de forma oposta, sugerindo que o sistema endocanabinoide possui papéis distintos e dependentes da região cerebral, do tipo de memória e do estado funcional do circuito (BUCHERELLI; BALDI; MARIOTTINI; PASSANI; BLANDINA, 2006; RATANO; EVERITT; MILTON, 2014; SACHSER; CRESTANI; QUILLFELDT; MELLO; DE OLIVEIRA ALVARES, 2015).

Além de seu papel na reestabilização da memória, evidências indicam que os CB1Rs são componentes críticos do processo de desestabilização da memória, etapa necessária para que a reconsolidação ocorra. O bloqueio de CB1Rs no hipocampo dorsal impede os efeitos amnésicos de inibidores da síntese proteica após a reativação, sem afetar a consolidação inicial, indicando que esses receptores participam especificamente da indução do estado lábil da memória (SUZUKI; JOSSELYN; FRANKLAND; MASUSHIGE *et al.*, 2004). Estudos posteriores demonstraram que a ativação de CB1Rs é necessária em momentos distintos em diferentes estruturas: durante a reativação na BLA e após a reativação no hipocampo (LEE; AMORIM; CASSINI; AMARAL, 2019). Embora a modulação da liberação de glutamato represente um mecanismo central dessas ações, trabalhos recentes sugerem que interações com astrócitos e micróglia, mediadas pelo sistema endocanabinoide, também podem contribuir para a regulação da plasticidade associada à reconsolidação, ampliando a complexidade desse sistema (SCHEYER; YASMIN; NASKAR; PATEL, 2023).

Do ponto de vista translacional, o sistema endocanabinoide tem emergido como um alvo promissor para a modulação terapêutica de memórias traumáticas, especialmente devido à relativa segurança dos fitocanabinoides em humanos (IFFLAND, 2017). Estudos demonstraram que a administração sistêmica de canabidiol, modulador deste sistema, administrado imediatamente após a reativação da memória do medo pode prejudicar sua reconsolidação, reduzindo a expressão comportamental do medo (GAZARINI; STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; STERN; GAZARINI; TAKAHASHI; GUIMARÃES; BERTOGLIO, 2012). Evidências mais recentes indicam que esses efeitos dependem da ativação de CB1 e CB2 no hipocampo dorsal e de CB1 no CPFm sugerindo uma ação distribuída em circuitos associados ao controle emocional e contextual (BAYER; STERN; TROYNER; GAZARINI *et al.*, 2022; FRANZEN; WERLE; VANZ; DE OLIVEIRA *et al.*, 2023). De forma semelhante, o Δ^9 -tetraidrocannabinol (THC) também pode bloquear a reconsolidação via CB1R quando administrado após a reativação; contudo, seus efeitos são mais complexos e potencialmente bidirecionais, variando conforme a dose, o momento da administração e o estado da memória, o que limita seu uso terapêutico direto (RAYMUNDI; BATISTA SOHN; SALEMME; CARDOSO *et al.*, 2023; STERN; GAZARINI; VANVOSSSEN; ZUARDI *et al.*, 2015).

O canabidiol, (CBD), escolhido neste estudo como modulador do sistema endocanabinoide, atravessa membranas biológicas com relativa facilidade; entretanto, sua baixa solubilidade aquosa (inferior a 6%) limita sua dissolução no trato gastrointestinal (MILLAR; STONE; YATES; O'SULLIVAN, 2018). Além disso, o extenso metabolismo de primeira passagem desencoraja o uso por via oral, uma vez que aproximadamente 70–75% da dose administrada é metabolizada no fígado antes de atingir a circulação sistêmica (PERUCCA; BIALER, 2020). O fígado e o intestino constituem os principais sítios de biotransformação, mediada por enzimas do complexo do citocromo P450. Após administração intravenosa, a meia-vida de eliminação do CBD é estimada em cerca de 22 horas, embora haja uma fase inicial de distribuição rápida, com meia-vida de aproximadamente 6 minutos (OHLSSON; LINDGREN; ANDERSSON; AGURELL *et al.*, 1986). Atualmente, estima-se que o CBD possa modular cerca de 65 alvos moleculares distintos (ELSAID; LE FOLL, 2020; SILVESTRO; SCHEPICI; BRAMANTI; MAZZON, 2020).

No sistema nervoso central, o CBD apresenta propriedades anticonvulsivantes, antidepressivas, ansiolíticas, antipsicóticas e neuroprotetoras (BRITCH; BABALONIS; WALSH, 2021; CRIPPA; GUIMARÃES; CAMPOS; ZUARDI, 2018; PATEL; HILL; CHEER; WOTJAK; HOLMES, 2017). Esses efeitos decorrem principalmente de sua interação

com diferentes alvos moleculares, incluindo os receptores canabinoides CB1 e CB2, GPR55, TRPV1, PPAR- γ e o receptor serotoninérgico 5-HT1A (PISANTI; MALFITANO; CIAGLIA; LAMBERTI *et al.*, 2017). O CBD apresenta baixa afinidade pelo sítio ortostérico dos receptores CB1 e CB2; contudo, evidências mais recentes indicam que sua principal ação sobre o CB1 ocorre por meio da modulação alostérica negativa, regulando indiretamente a sinalização canabinoide.

Apesar da baixa afinidade pelo receptor CB2, o CBD pode exercer um fraco efeito de agonismo inverso, antagonizando agonistas canabinoides clássicos, como o CP-55,940 (THOMAS; BAILLIE; PHILLIPS; RAZDAN *et al.*, 2007). Nos receptores CB1 e CB2, o CBD pode atuar como agonista indireto por meio da inibição da amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) e das proteínas de ligação de ácidos graxos (FABPs). A inibição da FAAH eleva os níveis sinápticos dos endocannabinoides anandamida (AEA) e 2-AG, enquanto o bloqueio das FABPs reduz sua recaptação e transporte intracelular. Além disso, o CBD, por ser estruturalmente análogo à capsaicina, atua como agonista do receptor TRPV1 e é considerado agonista dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT1A (JURKUS *et al.*, 2016; PACHER *et al.*, 2020).

1.1.3 Sistema Glutamatérgico

A grande maioria das sinapses excitatórias do cérebro utiliza o glutamato como neurotransmissor. Nesse contexto, durante a evocação da memória, a ativação de receptores NMDA promove a entrada de cálcio nos neurônios, desencadeando cascatas de sinalização intracelular que culminam na transcrição gênica e na síntese proteica. Esses eventos são fundamentais para induzir a labilidade da memória e, por isso, constituem uma etapa crítica para a reconsolidação (COLLINGRIDGE; KEHL; MCLENNAN, 1983; KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014).

Entre as respostas moleculares precoces associadas à reativação da memória, destaca-se a indução de genes de expressão imediata, em especial o fator de transcrição *Egr1/Zif268*. A expressão desse gene é rapidamente aumentada em subpopulações neuronais do hipocampo e da amígdala, de forma dependente da ativação dos receptores NMDA (ABRAHAM; DRAGUNOW; TATE, 1991; HALL; THOMAS; EVERITT, 2001; WORLEY; CHRISTY; NAKABEPPU; BHAT *et al.*, 1991). Evidências experimentais demonstram que a expressão de *Egr1* é necessária para a reconsolidação de memórias aversivas e que variações quantitativas em seus níveis modulam diferencialmente os processos de consolidação e de reconsolidação.

Esses achados indicam que o Egr1/Zif268 atua como um componente crítico na transição do traço de um estado estável para um estado lábil após a reativação (BESNARD; CABOCHE; LAROCHE, 2013; BOZON; DAVIS; LAROCHE, 2003; LEE; DI CIANO; THOMAS; EVERITT, 2005).

A evocação de memórias aversivas desencadeia modificações rápidas na sinalização glutamatérgica que vão além da mera expressão comportamental do traço. A evocação do medo depende da ativação de receptores AMPA, enquanto a desestabilização da memória requer a interação coordenada entre receptores AMPA e NMDA (BEN MAMOU; GAMACHE; NADER, 2006; MILTON; MERLO; RATANO; GREGORY *et al.*, 2013). Esse processo envolve a endocitose de receptores AMPA impermeáveis ao cálcio (CI) e a inserção transitória de receptores AMPA permeáveis ao cálcio (CP), associada à ativação de receptores NMDA contendo a subunidade GluN2B, permitindo a mobilização do traço. Após esse período de labilidade, a reestabilização da memória envolve o restabelecimento da razão CI-/CP-AMPA e a ativação preferencial de receptores NMDA contendo GluN2A (BAYER; BERTOGLIO; MAREN; STERN, 2025).

A importância dos receptores NMDA ao longo desse processo é reforçada por evidências que indicam uma dissociação funcional entre suas subunidades. Em particular, demonstrou-se que, na amígdala basolateral, no hipocampo, e no córtex pré-frontal, receptores NMDA contendo a subunidade GluN2B são necessários para a indução da desestabilização da memória de medo, enquanto receptores NMDA contendo a subunidade GluN2A participam predominantemente da fase de restabilização do traço mnemônico após a reativação (ASHOURPOUR; JAFARI; BABAEI, 2022; COUTO-PEREIRA; LAMPERT; VIEIRA; LAZZARETTI *et al.*, 2019; FERREIRA; SCHMIDT; RIO; AGUAS *et al.*, 2015; KIM; LEE; KIM; SUNG *et al.*, 2025; LEE; POTHULA; WU; KANG *et al.*, 2022; LESUIS; LUCASSEN; KRUGERS, 2019; MILTON; MERLO; RATANO; GREGORY *et al.*, 2013; RADISKE; GONZALEZ; NOGA; ROSSATO *et al.*, 2021).

De forma consistente, estudos farmacológicos demonstram que antagonistas de receptores NMDA comprometem a reconsolidação de memórias aversivas, enquanto agonistas podem facilitar esse processo, dependendo do momento da intervenção, da intensidade da memória original e dos parâmetros de reativação empregados (LEE; MILTON; EVERITT, 2006; MILTON; MERLO; RATANO; GREGORY *et al.*, 2013; SUZUKI; JOSSELYN; FRANKLAND; MASUSHIGE *et al.*, 2004; VANVOSEN; PORTES; SCOZ-SILVA; REICHMANN *et al.*, 2017). Notavelmente, a ativação não seletiva dos receptores NMDA durante a evocação parece facilitar a desestabilização de memórias aversivas particularmente

fortes, reforçando a ideia de que esses receptores são especialmente críticos nas etapas iniciais da reconsolidação.

Nesse contexto, a DCS surge como uma ferramenta farmacológica relevante para a modulação da reconsolidação da memória. A DCS é um aminoácido cíclico de baixo peso molecular, hidrossolúvel, inicialmente desenvolvido como agente antimicrobiano, amplamente utilizado em neurociência e já aplicado na clínica devido à sua ação como agonista parcial dos receptores NMDA (BOTH; VAN VEEN; BROM; WEIJENBORG, 2020). Após administração sistêmica, a DCS apresenta rápida absorção, especialmente por via oral ou intraperitoneal, com boa biodisponibilidade (VAN BERCKEL; LIPSCH; TIMP; GISPEN-DE WIED *et al.*, 1997). Suas características físico-químicas conferem elevada permeabilidade de membrana, permitindo acesso eficiente ao sistema nervoso central; em modelos animais, os picos plasmáticos e cerebrais ocorrem tipicamente entre 30 e 60 minutos após a administração, variando conforme a via e a dose empregadas (BOTH; VAN VEEN; BROM; WEIJENBORG, 2020; WALKER; RESSLER; LU; DAVIS, 2002).

A distribuição da DCS no sistema nervoso central é relativamente ampla, abrangendo regiões críticas para a formação e a modulação da memória, como o hipocampo, a amígdala e o córtex pré-frontal (ROUAUD; BILLARD, 2003; TORREGROSSA; SANCHEZ; TAYLOR, 2010). Seu metabolismo é limitado, sendo a maior parte da droga excretada inalterada pelos rins, o que resulta em meia-vida curta a moderada e baixo risco de acúmulo após administrações agudas (VAN BERCKEL; LIPSCH; TIMP; GISPEN-DE WIED *et al.*, 1997). Do ponto de vista farmacodinâmico, a DCS atua como agonista parcial do sítio para glicina do receptor NMDA, ligando-se ao sítio coagonista necessário à ativação funcional do receptor (HOOD; SUN; COMPTON; MONAHAN, 1989). Ao ocupar esse sítio, a DCS facilita a abertura do canal NMDA na presença de glutamato, promovendo o aumento do influxo de cálcio e a ativação de cascatas de sinalização intracelular dependentes de Ca^{2+} (QUARTERMAIN; MOWER; RAFFERTY; HERTING; LANTHORN, 1994).

Por ser um agonista parcial, o efeito da DCS depende criticamente do estado funcional basal do receptor e da disponibilidade endógena de glicina ou de D-serina. Em condições de baixa ativação dos receptores NMDA, a DCS atua como facilitadora da neurotransmissão glutamatérgica; em contrapartida, em estados de alta ativação, seus efeitos podem ser limitados ou até mesmo funcionalmente antagonistas, ao competir com agonistas endógenos de maior eficácia intrínseca (HOOD; SUN; COMPTON; MONAHAN, 1989). No contexto da memória, a DCS tem sido consistentemente associada à facilitação da plasticidade sináptica e da labilidade do traço mnemônico durante a evocação, atuando sobretudo nas fases iniciais da

reconsolidação (LEE; MILTON; EVERITT, 2006; MILTON; MERLO; RATANO; GREGORY *et al.*, 2013). Contudo, seus efeitos são altamente dependentes da dose, do momento de administração e dos parâmetros de reativação, podendo também resultar no fortalecimento da memória quando administrada em condições que favorecem predominantemente a consolidação ou a restabilização do traço (LEE; MILTON; EVERITT, 2006; QUARTERMAIN; MOWER; RAFFERTY; HERTING; LANTHORN, 1994). Estudos que utilizaram a DCS antes da reativação demonstram seu efeito de auxiliar a desestabilização e a ação dos bloqueadores de reconsolidação (AHAMED; RAUT; JAMES; CANALES *et al.*, 2025; BERTOTTO; BUSTOS; MOLINA; MARTIJENA, 2006; BUSTOS; GIACHERO; MALDONADO; MOLINA, 2010; GAZARINI; STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; ORTIZ; GIACHERO; ESPEJO; MOLINA; MARTIJENA, 2015; RAUT; JOLY; HAASS; ERI *et al.*, 2024; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARAES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024; SOSA; COMAS MUTIS; RIVA GARGIULO; MARTIJENA *et al.*, 2026).

1.4 ESTRATÉGIA MULTIMODAL

Efeitos sinérgicos constituem um dos principais fundamentos para o uso de múltiplos agentes farmacológicos no tratamento de diversas condições neuropsiquiátricas. Conforme discutido anteriormente, a formação, a desestabilização e a reconsolidação da memória não dependem de um único mecanismo molecular, mas resultam da integração coordenada de diferentes sistemas de neurotransmissão e de cascatas de sinalização intracelular. Dessa forma, memórias que adquirem um caráter disfuncional ou patológico tendem a ser resistentes a intervenções direcionadas a um único alvo. No entanto, essa abordagem pode aumentar o risco de efeitos colaterais (especialmente quando doses elevadas são administradas) e de potenciais interações medicamentosas. Uma alternativa para mitigar esses desafios seria investigar a administração de fármacos em doses reduzidas quando combinados, avaliando se os efeitos de atenuação da memória traumática são mantidos. Isso poderia ajudar a equilibrar os benefícios terapêuticos da combinação de fármacos, com uma redução dos riscos associados a efeitos colaterais e interações medicamentosas.

No estudo de Soares et al. (2024), que foi utilizado como base para este trabalho, é proposta uma estratégia de duas etapas com a DCS auxiliando o efeito bloqueador do CBD ou da CLO. Foi observado nesse estudo que, sozinhos, os bloqueadores não atenuavam o comportamento disruptivo, sendo a potencialização da desestabilização uma etapa fundamental

para que se observassem efeitos significativos. Neste estudo, buscamos contribuir para o entendimento desse tópico testando outros esquemas de tratamento para essas drogas, além de analisar possíveis ajustes e reduções de doses.

2. HIPÓTESE

Este trabalho baseia-se na hipótese de que em um modelo animal que mimetize uma memória traumática com características disfuncionais, a administração da DCS antes da evocação favoreceria a labilização do traço mnemônico, permitindo as modificações subsequentes causadas pela combinação dos bloqueadores de reconsolidação CBD e CLO, resultando na diminuição do comportamento defensivo durante os testes tanto em machos quanto em fêmeas.

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo é investigar a eficácia de uma estratégia farmacológica combinada na atenuação de memórias aversivas disfuncionais em um modelo animal, por meio da análise da expressão do comportamento defensivo em indivíduos machos e fêmeas.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar, em um modelo que mimetiza uma memória com características disfuncionais, se a combinação de dois bloqueadores de reconsolidação: CBD e CLO, é capaz de atenuar o comportamento defensivo durante as sessões de teste em ratos Wistar machos e fêmeas.

Investigar se a administração de DCS 30 minutos antes da sessão de evocação favoreceria a labilização da memória disfuncional, possibilitando o bloqueio da reconsolidação pela combinação de CBD e CLO administrados durante a janela de reconsolidação, avaliando o comportamento defensivo durante as sessões de testes em ratos Wistar machos e fêmeas.

Avaliar se, ao administrar a DCS e favorecer a labilização da memória traumática durante a evocação, a dose necessária dos bloqueadores de reconsolidação CBD e CLO poderia ser reduzida pela metade, avaliando o comportamento defensivo durante as sessões de testes em ratos Wistar machos e fêmeas.

Investigar se ao favorecer a labilização, a DCS permitiria que a memória disfuncional evocada em um contexto neutro, fosse modulada pelos bloqueadores de reconsolidação combinados CBD e CLO, avaliando o comportamento defensivo de roedores machos e fêmeas.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados 221 ratos Wistar (120 machos e 111 fêmeas), com idade entre 90 e 105 dias, pesando entre 300 e 450 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina, mantidos em uma mesma sala no biotério do Laboratório de Neuropsicofarmacologia à temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ com livre acesso a água e à ração, em ciclo claro/escuro de 12:12 h iniciando às 7:00 h, agrupados em quatro por caixa. Todas as manipulações foram realizadas durante o ciclo claro. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSC, sob o número 5436230624, em conformidade com a legislação brasileira vigente, com o Guia para Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do National Institutes of Health (NIH Publication nº 80-23, revisado em 1996) e com as diretrizes ARRIVE.

5.2 DROGAS

D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg; Cat. No. 30020. Sigma-Aldrich. USA), um agonista parcial dos receptores NMDA, especificamente no sítio de glicina desse receptor. Seu emprego na psicofarmacologia vem sendo discutido extensamente, principalmente como adjuvante potencial em terapias para transtornos de ansiedade, fobias específicas e TEPT (HOFMANN; POLLACK; OTTO, 2006). A dose escolhida seguiu a literatura (BUSTOS; GIACHERO; MALDONADO; MOLINA, 2010; ESPEJO; ORTIZ; MARTIJENA; MOLINA, 2017; ORTIZ; GIACHERO; ESPEJO; MOLINA; MARTIJENA, 2015; SARTORI; MAURER; MURPHY; SCHMUCKERMAIR *et al.*, 2016; SOSA; COMAS MUTIS; RIVA GARGIULO; MARTIJENA *et al.*, 2026; VISHNOI; RAISUDDIN; PARVEZ, 2015) e experimentos prévios do laboratório (GAZARINI; STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARAES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024). O composto foi diluído em cloreto de sódio a 0,9% (NaCl) e administrado de forma sistêmica por injeção intraperitoneal (i.p.) em volume de 1,0 mL/kg.

Cloridrato de clonidina (CLO; 0,3 ou 0,15 mg/kg; Sigma-Aldrich, EUA), um agonista dos receptores α_2 e bloqueador da reconsolidação de memórias por meio da diminuição de noradrenalina (GAMACHE; PITMAN; NADER, 2012; SAGGU; CHEN; COTTINGHAM; REHMAN *et al.*, 2023). A dose utilizada baseia-se no que foi descrito na literatura e em trabalhos prévios do laboratório (GAMACHE; PITMAN; NADER, 2012; GAZARINI; STERN; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2013; GAZARINI; STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; MARIN; FRANZEN; TROYNER; MOLINA *et al.*, 2020;

TROYNER; BERTOGLIO, 2020; 2021). A droga foi dissolvida em solução salina 0,9% (NaCl) e administrada por injeção intraperitoneal (i.p.) em volume de 1,0 mL/kg.

Canabidiol (CBD; 10 ou 5 mg/kg, 99,6% de pureza, BioSynthesis Pharma Group – BSPG, Reino Unido) é um composto com ação farmacológica complexa, atuando como modulador alostérico negativo do receptor CB1 e como inibidor das enzimas responsáveis pela degradação dos endocanabinoides. Há uma literatura extensa e consistente que descreve seus múltiplos mecanismos de ação e seus potenciais efeitos terapêuticos em diferentes transtornos psiquiátricos, incluindo ansiedade, estresse e alterações relacionadas à memória emocional (LIRIO; GASPARI; CAMPOS, 2024). A dose escolhida seguiu os trabalhos prévios do laboratório (BAYER; STERN; TROYNER; GAZARINI *et al.*, 2022; FRANZEN; VANZ; WERLE; GUIMARAES; BERTOGLIO, 2022; FRANZEN; WERLE; VANZ; DE OLIVEIRA *et al.*, 2023; GAZARINI; STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARAES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024; STERN; GAZARINI; TAKAHASHI; GUIMARAES; BERTOGLIO, 2012; STERN; DA SILVA; RAYMUNDI; DE SOUZA *et al.*, 2017). O CBD foi incorporado com 5% de polissorbato 80 (Tween 80; Vetec, Brasil), um surfactante que auxilia na dissolução e na estabilização da alíquota. As alíquotas foram solubilizadas em cloreto de sódio a 0,9% (NaCl) e administradas sistemicamente (i.p.) no volume de 1 ml/kg.

As soluções controle/veículo (VEI) foram preparadas com a mesma composição de diluentes e/ou tensoativos das soluções de teste, exceto que, nas primeiras, nenhuma droga foi veiculada. Logo, as soluções de controle diferiram entre os experimentos, conforme o modo de preparo de cada solução de teste. O mesmo volume, proporcional ao veículo e à solução de teste, foi injetado.

5.3 APARATO DE CONDICIONAMENTO AVERSIVO AO CONTEXTO

Para a realização desse estudo, foram utilizados dois aparatos: o primeiro, denominado contexto A (CTX-A), foi o contexto utilizado para o condicionamento aversivo. Tratava-se de uma caixa retangular (35 x 20 x 30 cm), com paredes laterais e traseira de alumínio, parede frontal e tampa removível de acrílico, e piso gradeado. O piso do CTX-A foi composto por barras de aço inoxidável de 3 mm de diâmetro com espaçamento entre as barras de 9 mm (Insight, Ribeirão Preto, Brasil). Junto ao CTX-A, um gerador de choques acoplado foi utilizado para o pareamento neste ambiente (apenas no dia do condicionamento, estímulo incondicionado, EI), para a aplicação de choques elétricos nas patas dos animais.

Outro contexto, denominado contexto B (CTX-B), uma caixa quadrada medindo 30 x 30 x 30 cm cujas paredes e piso são de vidro transparentes e cuja tampa é gradeada. Este contexto é diferente, porém apresenta semelhanças ao contexto condicionado e foi utilizado para mimetizar se a memória formada é capaz de fazer com que o animal apresente comportamentos defensivos em um ambiente neutro, ou generalização excessiva da memória traumática. Os aparatos experimentais utilizados no CAC são ilustrados na **Figura 1**.

Os experimentos comportamentais foram realizados sob condições de luminosidade controlada (70 lux) e ocorreram entre as 09:00 e as 17:00. Cada animal passou por uma sessão de familiarização, na qual foi permitido explorar o contexto A livremente por 3 minutos. No dia seguinte, ocorreu a sessão de condicionamento ou pareamento, durante a qual o animal recebeu, após 30 s de livre exploração, 3 choques elétricos nas patas (1,3 mA, 60 Hz, por 3 segundos), com intervalo de 30 segundos entre cada choque (SOARES; NASCIMENTO; GUIMARAES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024).

Neste mesmo ambiente, no dia seguinte, na ausência do EI, foram realizadas as sessões de reativação e os tratamentos. No quarto e no quinto dia do protocolo, foram realizados os testes A (CTX-A) e B (CTX-B), que foram repetidos após uma semana para analisar a duração do efeito do tratamento sobre o comportamento defensivo. Apenas durante a sessão de reexposição dos Testes A e B, o comportamento de congelamento foi quantificado. Esse comportamento é definido como a ausência total de movimentos do corpo, exceto os necessários à respiração do animal, e é descrito na literatura como uma estratégia defensiva (BLANCHARD; BLANCHARD, 1969b). Durante estas sessões, foi realizada a contagem do tempo total de congelamento, e posteriormente, transformado em porcentagem média do tempo. Para isso, as sessões foram gravadas e, posteriormente, analisadas por um observador cego quanto ao tratamento.

O esquema de tratamento seguiu o protocolo desenvolvido no laboratório (SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024), em que, 30 minutos antes da sessão de reativação no contexto A, os animais receberam o pré-tratamento com DCS ou VEI e, imediatamente após a sessão, receberam CBD+CLO ou VEI+VEI. No experimento 3, o esquema de tratamento seguiu o mesmo formato, porém, a reativação foi realizada no contexto não condicionado (CTX-B) (Figura 1B). O tratamento foi realizado de forma sistêmica, por meio de injeção intraperitoneal e com leve contenção do animal durante o processo.

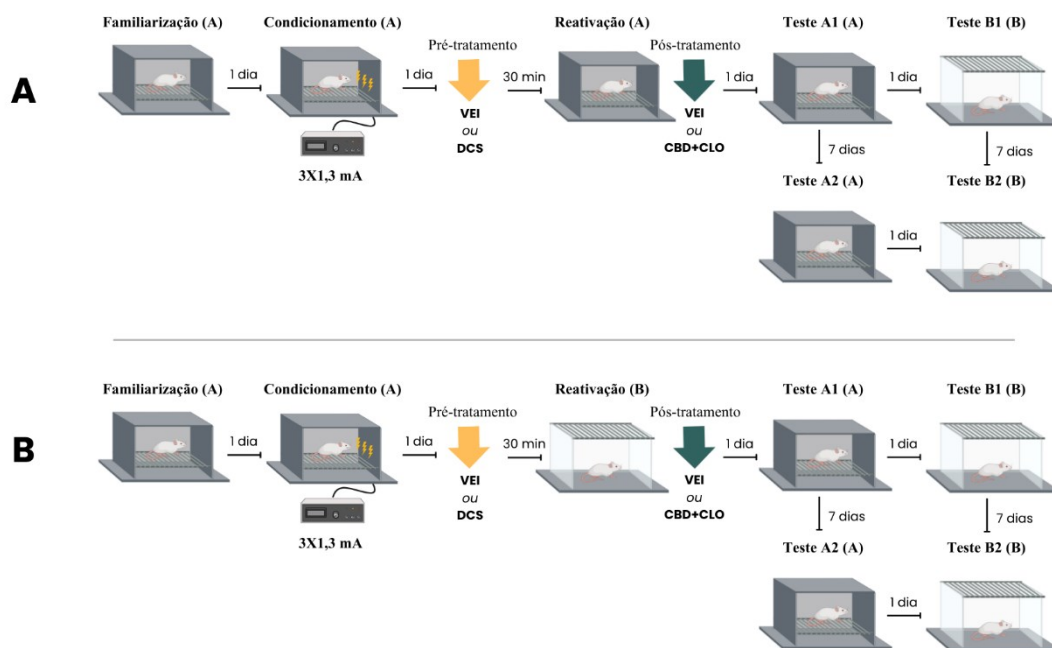


Figura 1. Protocolo experimental. A figura ilustra o delineamento experimental utilizado nos experimentos 1 e 2 (A) e no experimento 3 (B). Todas as sessões, com exceção da do condicionamento, tiveram duração de três minutos. A letra entre parênteses indica o contexto utilizado em cada teste. Fonte: elaborado pela autora.

5.4 COLETA E ANÁLISE DO CICLO ESTRAL

Testes comportamentais baseados em estímulos aversivos ou de valência negativa são significativamente modulados pela fase do ciclo estral, com evidências de maior responsividade comportamental na fase de diestro (LOVICK; ZANGROSSI, 2021). Considerando que o presente estudo não empregou um protocolo de estresse prévio ao condicionamento, optou-se por não alocar as fêmeas experimentalmente de acordo com a fase do ciclo estral no momento do tratamento. Em vez disso, o ciclo estral foi monitorado e, posteriormente, correlacionado às respostas comportamentais observadas, permitindo avaliar sua influência sem introduzir fatores adicionais de estresse experimental.

As fases do ciclo estral foram determinadas por meio da análise do fluido vaginal, conforme descrito por MARCONDES et al. (2002). A amostra foi obtida imediatamente após a sessão de reativação e pós-tratamento, para excluir possíveis alterações relacionadas ao tratamento. A amostra foi coletada inserindo-se a ponta de uma micropipeta na vagina da rata, injetando-se solução salina e aspirando-se o fluido vaginal, que foi então depositado em lâminas de vidro para observação da morfologia celular sob objetiva de 10x. Três fases (proestro, estro e diestro) foram consideradas e identificadas com base na proporção de leucócitos, células nucleadas e células cornificadas em cada amostra.

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tamanho amostral foi determinado por meio de análise de poder estatístico, utilizando o software G*Power 3.1, com um mínimo de oito animais por grupo ($\alpha = 0,05$; $\beta = 0,10$; tamanho de efeito padronizado, d de Cohen = 1,0). Inicialmente, todos os grupos experimentais foram constituídos com o mesmo número de animais; entretanto, ao longo do desenvolvimento dos experimentos, perdas decorrentes de questões técnicas e relacionadas aos próprios animais resultaram em tamanhos amostrais desiguais entre os grupos.

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Após a verificação dos pressupostos de normalidade dos dados por meio do teste de Shapiro–Wilk e da homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas. Foram consideradas variáveis independentes o pré-tratamento, o pós-tratamento e o sexo, enquanto as variáveis dependentes corresponderam à porcentagem de tempo em congelamento durante a sessão de reativação e nos testes A, A2, B e B2.

Quando foi identificado um efeito estatisticamente significativo na ANOVA ($p < 0,05$), procedeu-se à estimativa do tamanho do efeito de cada variável independente por meio do eta-quadrado parcial (η^2), sendo valores superiores a 0,14 interpretados como indicativos de grande efeito. Para as comparações múltiplas post hoc, empregou-se o teste de Newman–Keuls, adotando-se o nível de significância estatística de $p < 0,05$. Adicionalmente, o tamanho do efeito entre grupos foi calculado com base na estatística g de Hedges, a fim de estimar a diferença média padronizada entre duas condições experimentais.

O índice de discriminação foi calculado considerando a diferença entre a porcentagem de tempo em congelamento durante os Testes A1 e B1 (ou Testes A2 e B2), dividida pela soma das duas porcentagens, foi analisado por ANOVA com as variáveis independentes: sexo, tratamento pré-evocação, tratamento pós-evocação e/ou testes repetidos.

As análises estatísticas foram realizadas no software TIBCO Statistica® versão 13.5 e os gráficos foram elaborados no GraphPad Prism versão 9.0.

5.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Experimento 1: Efeitos do sexo e do pré-tratamento com D-cicloserina sobre a ação da clonidina e do canabidiol na reconsolidação de uma memória aversiva com característica disfuncional.

Neste experimento, foram utilizados quarenta e cinco ratos machos e quarenta e duas ratas fêmeas, que foram submetidos ao condicionamento aversivo ao contexto por meio da aplicação de choques elétricos de 1,3 mA. Após o condicionamento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, de acordo com o pré-tratamento administrado antes da sessão de reativação (VEI ou DCS, 15 mg/kg, i.p.) e com o pós-tratamento administrado imediatamente após a reativação (VEI ou combinação de CBD, 10 mg/kg, e CLO, 0,3 mg/kg, i.p.).

O número de animais por grupo variou em função do sexo e da condição experimental, sendo, respectivamente, 11, 11, 13, 10, 12, 10, 9 e 11 machos e fêmeas. As sessões de teste A1, B1, A2 e B2 foram realizadas um, dois, nove e dez dias após a sessão de reativação, respectivamente.

Experimento 2: Efeitos do sexo e do pré-tratamento com D-cicloserina sobre a ação de doses reduzidas de clonidina e de canabidiol na reconsolidação de uma memória aversiva com característica disfuncional

Neste experimento, foram utilizados trinta e quatro ratos machos e trinta e seis ratas fêmeas, que foram submetidos ao condicionamento aversivo ao contexto por meio da aplicação de choques elétricos de 1,3 mA nas patas. Após o condicionamento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, de acordo com o pré-tratamento administrado antes da sessão de reativação (VEI ou DCS, 15 mg/kg, i.p.) e com o pós-tratamento administrado imediatamente após a reativação (VEI ou a combinação de CLO, 0,15 mg/kg, e CBD, 5 mg/kg, i.p.).

Os grupos apresentaram tamanhos amostrais distintos em função do sexo e da condição experimental, sendo, respectivamente, 10, 8, 7, 9, 10, 12, 7 e 7 animais machos e fêmeas. As sessões de teste A1, B1, A2 e B2 foram realizadas um, dois, nove e dez dias após a sessão de reativação, respectivamente.

Experimento 3: Efeitos do sexo e do pré-tratamento com D-cicloserina sobre a ação da clonidina e do canabidiol na reconsolidação de uma memória aversiva com característica disfuncional reativada em um contexto incondicionado

Neste experimento, foram utilizados quarenta e um ratos machos e trinta e três ratas fêmeas, que foram submetidos ao condicionamento aversivo contextual por meio da aplicação de choques elétricos nas patas (1,3 mA). Após o condicionamento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, de acordo com o pré-tratamento

administrado antes do teste (VEI ou DCS, 15 mg/kg) e com o pós-tratamento administrado imediatamente após a reativação no contexto não pareado (CTX-B) (VEI ou a combinação de CBD, 10 mg/kg, e CLO, 0,3 mg/kg, i.p.).

Os tamanhos amostrais de cada grupo, considerando machos e fêmeas separadamente, foram, respectivamente, 11, 11, 9, 10, 9, 8, 8 e 8 animais. As sessões de teste A1, B1, A2 e B2 foram realizadas um, dois, nove e dez dias após a sessão de reativação, respectivamente.

6. RESULTADOS

6.1 D-CICLOSERINA POTENCIALIZA A AÇÃO DOS BLOQUEADORES DE RECONSOLIDAÇÃO COMBINADOS EM UM MODELO DE MEMÓRIA AVERSIVA DISFUNCIONAL

Durante a sessão de reativação, Teste A1 e Teste A2, houve interação entre o pré-tratamento vs. sexo vs. repetição [$F_{(2,158)} = 6,84$, $p = 0,00141$; $\eta^2p = 0,079$], pós-tratamento vs. repetição [$F_{(2,158)} = 21,53$, $p = 0,000001$; $\eta^2p = 0,021$], pré-tratamento vs. repetição [$F_{(2,158)} = 3,31$, $p = 0,038$; $\eta^2p = 0,04$] e sexo vs. pós-tratamento [$F_{(1,79)} = 16,66$, $p = 0,00011$; $\eta^2p = 0,17$] para o tempo total de congelamento.

Conforme mostrado na **Figura 2B**, todos os grupos apresentaram níveis comparáveis de congelamento durante a sessão de reativação, e o pré-tratamento com DCS não afetou significativamente o comportamento de congelamento em relação aos controles. No Teste A1, tanto os machos ($p = 0,00089$) quanto às fêmeas ($p = 0,047$) do grupo DCS-CBD+CLO apresentaram redução do congelamento em comparação ao grupo controle. Além disso, os machos do grupo VEI-CBD+CLO apresentaram congelamento significativamente menor do que os do grupo VEI-VEI+VEI ($p = 0,00019$). No Teste A2, os machos dos grupos DCS-CBD+CLO e VEI-CBD+CLO, novamente, apresentaram diminuição do congelamento em comparação com o grupo controle ($p = 0,02$) e ($p = 0,001$). Além disso, as fêmeas do grupo DCS-CBD+CLO apresentaram um congelamento significativamente menor do que as do grupo VEI-VEI+VEI ($p = 0,029$) e do grupo VEI-CBD+CLO ($p = 0,016$).

Durante os testes B1 e B2, houve interação entre o pós-tratamento e a repetição dos testes [$F_{(1,79)} = 6,87$, $p = 0,10$; $\eta^2p = 0,080$], sexo vs pré-tratamento vs pós-tratamento [$F_{(1,79)} = 4,20$, $p = 0,04$; $\eta^2p = 0,050$] e um efeito geral do sexo [$F_{(1,79)} = 38,09$, $p = 0,00001$; $\eta^2p = 0,032$]. Conforme mostrado na **Figura 2C**, durante os Testes B1 ($p = 0,002$) e B2 ($p = 0,003$), as fêmeas do grupo DCS-CBD+CLO apresentaram valores de congelamento mais baixos do

que os machos; as fêmeas do grupo DCS-CBD+CLO também apresentaram menos congelamento do que as do grupo VEI-CBD+CLO no teste B2 ($p = 0,02$).

O índice de discriminação (**Figura 2D**) foi significativamente influenciado pela interação entre sexo, pós-tratamento e repetição [$F(1,79) = 7,16$, $p = 0,009$, $\eta^2p = 0,083$]. Efeitos principais do sexo, do pré-tratamento e do pós-tratamento também foram observados [$F(1,79) = 5,32$, $p = 0,023$, $\eta^2p = 0,063$]. Para os machos, observaram-se diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo DCS-CBD+CLO tanto no Teste A1-B1 ($p = 0,004$) quanto no Teste A2-B2 ($p = 0,006$). No Teste A2-B2, os machos tratados com DCS-CBD+CLO apresentaram um índice de discriminação mais elevado do que os do grupo DCS-VEI+VEI ($p = 0,01$). Por outro lado, no mesmo teste, as fêmeas do grupo DCS-CBD+CLO apresentaram um índice de discriminação inferior ao dos machos do mesmo grupo de tratamento ($p = 0,001$).

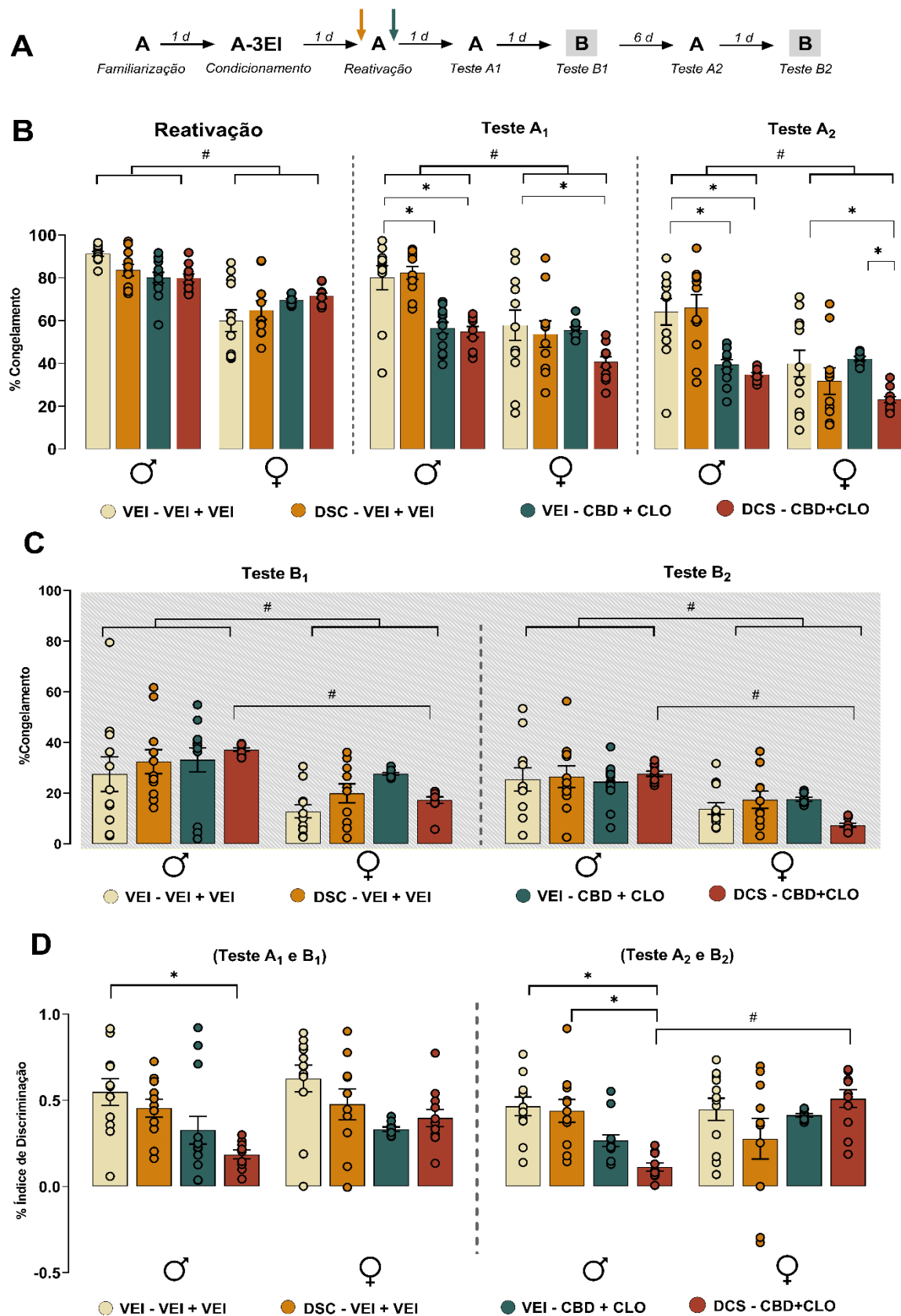


Figura 2. Pré-tratamento com D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg, i.p.) atenuou a ação dos bloqueadores de reconsolidação (CLO; 0,3 mg/kg, i.p.) e do canabidiol (CBD; 10 mg/kg, i.p.) em fêmeas, mas não em machos. (A) Desenho experimental, a flecha amarela indica o

momento do pré-tratamento e a flecha verde do pós-tratamento. (B) Nos Testes A1 e A2, as fêmeas do grupo DCS–CBD+CLO apresentaram menores níveis de congelamento em comparação ao grupo controle (VEI–VEI+VEI), enquanto os machos do grupo DCS–CBD+CLO e VEI–CBD+CLO exibiram valores inferiores aos do grupo VEI–VEI+VEI em ambos os testes. (C) Durante os Testes B1 e B2, as fêmeas do grupo DCS–CBD+CLO apresentaram menor congelamento do que os machos submetidos ao mesmo tratamento, além de ter sido observado efeito do sexo sobre o comportamento no contexto novo. (D) O índice de discriminação entre os contextos diferiu entre o grupo controle e o grupo DCS–CBD+CLO nos machos, e essa diferença se manteve uma semana após a testagem. Os dados são apresentados como valores individuais e como $\pm$ erro padrão da média (EPM) ($n = 9\text{--}13$ por grupo). # indica efeitos significativos do sexo; * indica efeitos significativos do tratamento pré- ou pós-reativação; & indica efeitos significativos da repetição das sessões ($p \leq 0,05$; ANOVA de medidas repetidas seguida do teste de Newman–Keuls).

Tabela 1. Ciclo estral por tratamento no experimento 1

Reativação												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI-CBD+CLO			DCS-CBD+CLO		
(N) por fase do ciclo estral	(6) Estro	(4) Diestro	(2) Proestro	(6) Estro	(2) Diestro	(2) Proestro	(1) Estro	(6) Diestro	(2) Proestro	(7) Estro	(3) Diestro	(1) Proestro
Média $\pm$ (EPM)	64 $\pm$ 7%	56 $\pm$ 10%	52 $\pm$ 9%	64 $\pm$ 7%	59 $\pm$ 1%	70 $\pm$ 2%	72%	68 $\pm$ 1%	71 $\pm$ 1,5%	71 $\pm$ 1,6%	72 $\pm$ 3,4%	71%
Teste A1												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI-CBD+CLO			DCS-CBD+CLO		
Média $\pm$ (EPM)	59 $\pm$ 10%	52 $\pm$ 15%	62 $\pm$ 16%	55 $\pm$ 9%	57 $\pm$ 0,1%	48 $\pm$ 10%	64%	55 $\pm$ 1%	50 $\pm$ 1%	44 $\pm$ 2%	34 $\pm$ 5,3%	33%
Teste B1												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI-CBD+CLO			DCS-CBD+CLO		
Média $\pm$ (EPM)	9 $\pm$ 2%	20 $\pm$ 5%	9 $\pm$ 6%	10 $\pm$ 2%	4 $\pm$ 2%	10 $\pm$ 2%	30%	27 $\pm$ 0,4%	27 $\pm$ 0,7%	18 $\pm$ 0,6%	17 $\pm$ 1%	6%

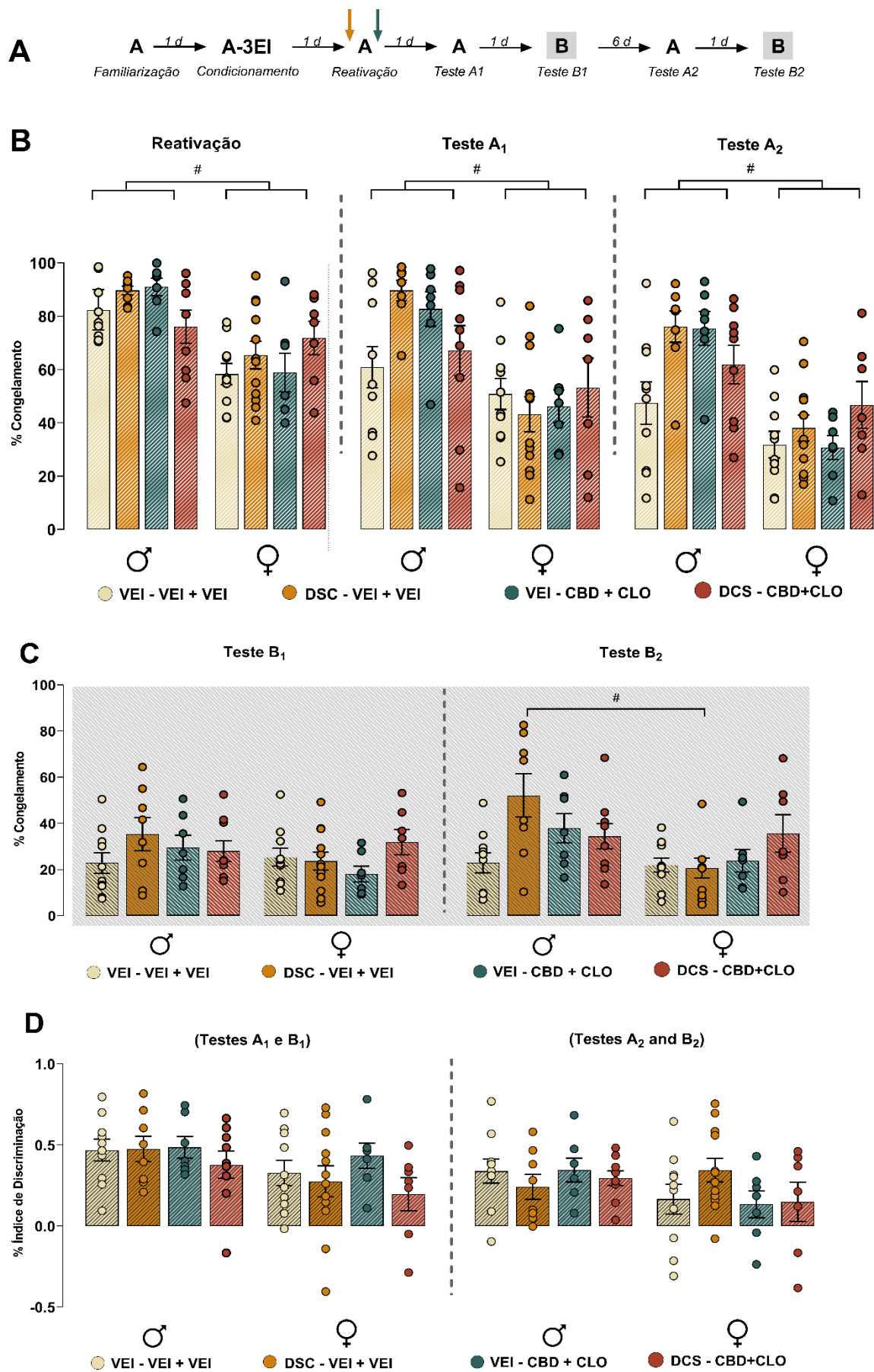
Teste A2												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	46 ± 9%	26 ± 10%	45 ± 13%	34 ± 10%	34 ± 0,7%	20 ± 2%	46%	42 ± 0,9%	39 ± 1,6%	24 ± 2%	20 ± 1,3%	22%

Teste B2												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	14 ± 3%	9 ± 1%	20 ± 10%	23 ± 3%	10 ± 1%	5 ± 2%	21%	16 ± 0,8%	18 ± 1,7%	7 ± 0,6%	7 ± 1,8%	11%

6.2 EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO COM D-CICLOSERINA SOBRE A AÇÃO DE DOSES REDUZIDAS DE CLONIDINA E CANABIDIOL NA RECONSOLIDAÇÃO DE UMA MEMÓRIA AVERSIVA DISFUNCIONAL

Durante a sessão de reativação, bem como nos Testes A1 e A2, observou-se uma interação entre sexo, pré-tratamento e pós-tratamento [$F_{(1,62)} = 9,11$; $p = 0,003$; $\eta^2p = 0,012$] no tempo gasto em congelamento. De modo geral, também foi identificado um efeito de repetição dos testes [$F_{(1,62)} = 57,56$; $p = 0,000001$; $\eta^2p = 0,48$]. Conforme ilustrado na **Figura 3B**, todos os grupos apresentaram valores semelhantes de congelamento durante a sessão de reativação, não se observando diferenças significativas entre os grupos nem entre os respectivos tratamentos.

Durante os Testes B1 e B2, foi identificada uma interação entre sexo, pré-tratamento e pós-tratamento [$F_{(1,62)} = 8,42$; $p = 0,005$; $\eta^2p = 0,011$], além de um efeito significativo da repetição dos testes [$F_{(1,62)} = 5,05$; $p = 0,028$; $\eta^2p = 0,075$]. Machos DCS-CBD+CLO apresentaram maior congelamento do que as fêmeas do mesmo grupo. Em relação ao nível de discriminação entre os contextos, observou-se um efeito significativo da repetição [$F_{(1,62)} = 12,21$; $p = 0,00088$; $\eta^2p = 0,16$], bem como um efeito do sexo [$F_{(1,66)} = 7,06$; $p = 0,0099$; $\eta^2p = 0,10$].



Reativação												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
(N) por fase do ciclo estral	(2) Estro	(3) Diestro	(5) Proestro	(1) Estro	(9) Diestro	(2) Proestro	(0) Estro	(2) Diestro	(5) Proestro	(1) Estro	(2) Diestro	(4) Proestro
Média ± (EPM)	58 ± 17%	55 ± 0,6%	59 ± 6,3%	86%	64 ± 6%	59 ± 11%	N/D	81 ± 12%	50 ± 5%	86%	60 ± 16%	73 ± 7%
Teste A1												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	46 ± 12%	37 ± 5,8%	60 ± 8,8%	20%	46 ± 6%	41 ± 30%	N/D	51 ± 23%	43 ± 4%	39%	41 ± 29%	62 ± 14%
Teste B1												

Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI-CBD+CLO			DCS-CBD+CLO		
Média ± (EPM)	18 ± 3%	26 ± 3%	27 ± 7%	61%	25 ± 4%	18 ± 8%	N/D	10 ± 1,3%	21 ± 4%	19%	23 ± 10%	39 ± 6,7%
Teste A2												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI-CBD+CLO			DCS-CBD+CLO		
Média ± (EPM)	39 ± 3%	20 ± 4%	35 ± 8%	19%	41 ± 6%	32 ± 0,9%	N/D	31 ± 10%	30 ± 5%	60%	21 ± 8,7%	55 ± 10,5%
Teste B2												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI-CBD+CLO			DCS-CBD+CLO		
Média ± (EPM)	29 ± 8%	24 ± 3%	17 ± 4%	4,70%	20 ± 4%	29 ± 18%	N/D	20 ± 3,3%	25 ± 6,8%	27%	39 ± 29%	35 ± 9%

6.3 EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO COM D-CICLOSERINA SOBRE A AÇÃO DOS BLOQUEADORES DE RECONSOLIDAÇÃO EM UMA MEMÓRIA REATIVADA EM UM CONTEXTO DIFERENTE

Durante a sessão de reativação no contexto B (Testes A1 e A2), observou-se uma interação significativa entre sexo e repetição dos testes no tempo de congelamento [$F(2,13) = 11,39$; $p = 0,00003$; $\eta^2p = 0,14$]. Conforme ilustrado na **Figura 4B**, todos os grupos apresentaram níveis semelhantes de congelamento durante a reativação, e, no geral, os machos congelaram mais do que as fêmeas. Não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos nem entre os respectivos tratamentos.

Nos Testes B1 e B2, foram observados efeitos principais da repetição dos testes [$F(1,67) = 6,82$; $p = 0,0111$; $\eta^2p = 0,092$] e do sexo [$F(1,67) = 34,37$; $p < 0,000001$; $\eta^2p = 0,033$]. Em relação à discriminação entre os contextos, não foram identificados efeitos estatisticamente significativos.

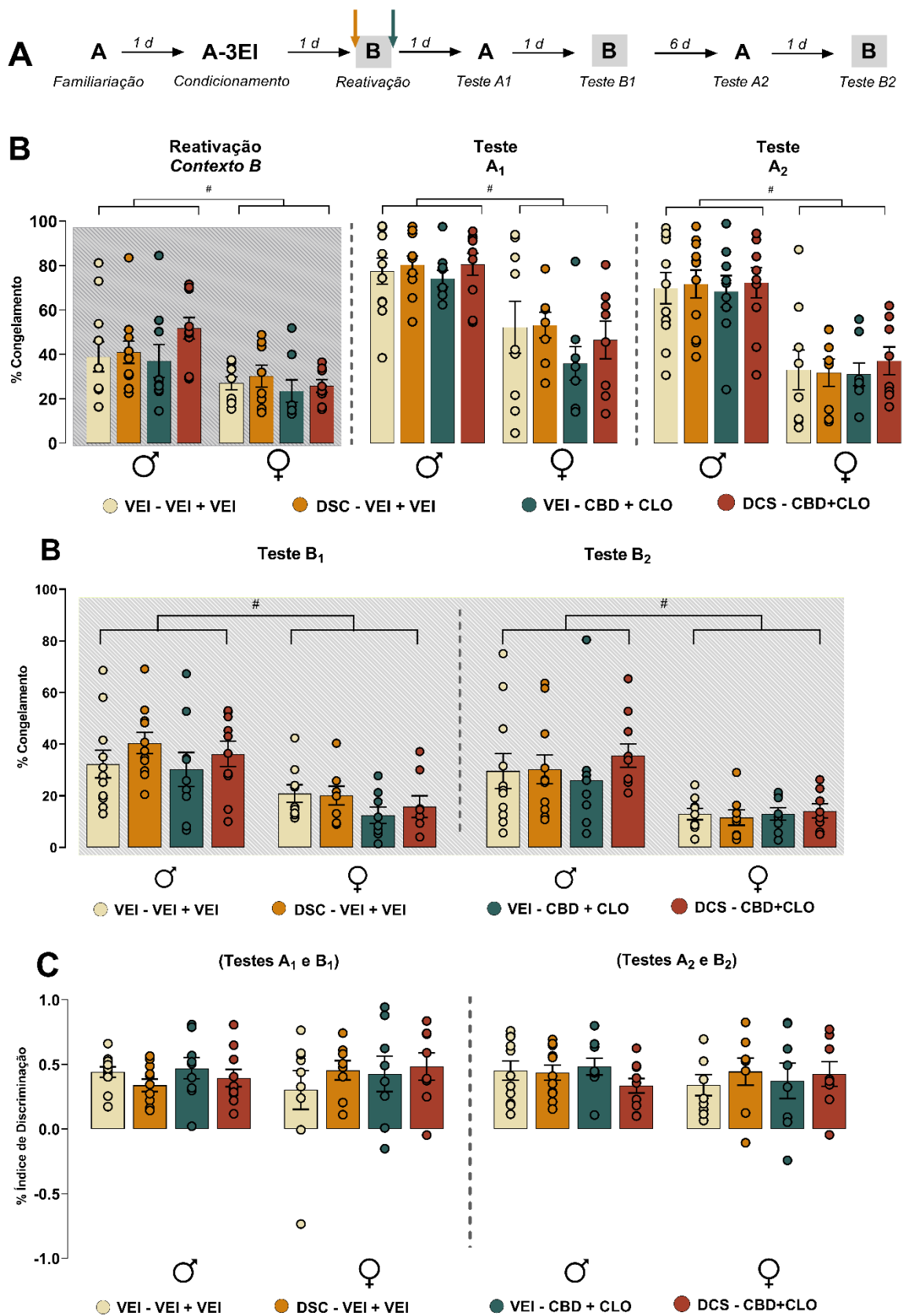


Figura 4. Pré-tratamento com D-cicloserina e pós-tratamento com clonidina e canabidiol não atenuaram o comportamento defensivo quando a memória foi evocada em um contexto não condicionado. (A) Desenho experimental, a flecha amarela indica o momento do

pré-tratamento e a flecha verde do pós-tratamento. (B) Durante a sessão de reativação, no contexto B e nos testes A1 e A2, todos os grupos apresentaram níveis semelhantes de congelamento, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nem entre os respectivos tratamentos. (C) Nos Testes B1 e B2, foram identificados efeitos gerais da repetição das sessões e do sexo, com as fêmeas apresentando, de modo geral, menores níveis de congelamento em comparação aos machos. (D) Não foram detectados efeitos significativos no índice de discriminação entre os contextos, indicando desempenho semelhante na discriminação contextual entre os grupos experimentais. Os valores são apresentados como dados individuais e $\pm$ erro padrão da média (EPM) ($n = 8-11$ por grupo). # indica efeitos estatisticamente significativos do sexo; * indica efeitos estatisticamente significativos dos tratamentos pré- ou pós-recuperação; & indica efeitos estatisticamente significativos da repetição das sessões ($p \leq 0,05$; ANOVA mista seguida do teste de Newman-Keuls).

Tabela 3. Ciclo estral por tratamento experimento 3

Reativação												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
(N) por fase do ciclo estral	(2) Estro	(2) Diestro	(5) Proestro	(3) Estro	(3) Diestro	(2) Proestro	(1) Estro	(5) Diestro	(2) Proestro	(6) Estro	(1) Diestro	(1) Proestro
Média ± (EPM)	31 ± 2%	18 ± 0,5%	28 ± 4,5%	27 ± 9%	27 ± 10%	37 ± 5%	17%	20 ± 5%	34 ± 17%	24 ± 3,2%	36%	22%
Teste A1												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	68 ± 25%	14 ± 4,9%	62 ± 13,6%	53 ± 14%	47 ± 7,2%	60 ± 0,3%	28%	26 ± 5%	64 ± 17%	47 ± 10%	26%	61%
Teste B1												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	11 ± 0,5%	22 ± 7,6%	23 ± 5,1%	20 ± 3,7%	23 ± 9%	15 ± 6%	6,50%	17 ± 3,4%	3 ± 1,9%	14 ± 3%	4%	37%

Teste A2												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	28 ± 7,6%	13 ± 6,8%	42 ± 14,8%	34 ± 12%	20 ± 8,4%	43 ± 7,9%	55%	22 ± 2,7%	39 ± 10%	36 ± 7%	25%	51%

Teste B2												
Subgrupo	VEI-VEI+VEI			DCS-VEI+VEI			VEI- CBD+CLO			DCS- CBD+CLO		
Média ± (EPM)	19 ± 4,4%	8 ± 4,8%	12 ± 2,2%	11 ± 3,4%	12 ± 8%	10 ± 0,4%	5,60%	16 ± 2,3%	7,3 ± 4%	14 ± 2%	6%	22%

7. DISCUSSÃO

A combinação de mais de um fármaco pode constituir uma estratégia eficaz e, no presente trabalho, atenuou o medo condicionado ao contexto induzido por um protocolo de treino intenso (isto é choques de 1,3 mA) tanto em machos quanto em fêmeas. O pré-tratamento com DCS apresentou efeitos distintos entre os sexos, mostrando-se essencial para a ação do CBD e da CLO apenas nas fêmeas, o que contrasta com estudos anteriores em que sua administração manteve a eficácia dos bloqueadores da reconsolidação em ambos os sexos (SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024).

Este agonista do receptor NMDA é amplamente descrito na literatura, com aplicações clínicas e experimentais relevantes para o estudo da memória aversiva (ESPEJO; ORTIZ; MARTIJENA; MOLINA, 2021; HOFMANN; PAPINI; CARPENTER; OTTO *et al.*, 2019; HOFMANN; POLLACK; OTTO, 2006; KURIYAMA; HONMA; SOSHI; FUJII; KIM, 2011; NORBERG; KRYSTAL; TOLIN, 2008; ORTIZ; CALFA; MOLINA; MARTIJENA, 2019; ORTIZ; ESPEJO; MOLINA; MARTIJENA, 2019; SAITOH; AKAGI; OKA; YAMADA, 2017; SOSA; COMAS MUTIS; RIVA GARGIULO; MARTIJENA *et al.*, 2026). A administração de DCS imediatamente após o treino aumenta a retenção da memória (LAND; RICCIO, 1999) e quando administrada antes (DAVIS; WALKER; MYERS, 2003; GARAKANI; MATHEW; CHARNEY, 2006; RICHARDSON; LEDGERWOOD; CRANNEY, 2004) ou após (BERTOTTO; BUSTOS; MOLINA; MARTIJENA, 2006) o aprendizado de extinção, também aumenta a retenção do mesmo. Conforme descrito por Lee (2006), uma única administração de DCS antes da evocação é suficiente para facilitar a reconsolidação, enquanto seus efeitos sobre a extinção mostraram-se dependentes de múltiplas reexposições ao contexto condicionado.

Aqui, buscou-se acessar exclusivamente a etapa de reconsolidação; por essa razão, as sessões de teste foram limitadas a um tempo máximo de 3 minutos de exposição aos contextos condicionado e neutro (FRANZEN; GIACHERO; BERTOGLIO, 2019; KIDA, 2023). Embora a DCS usualmente facilite a diminuição espontânea e progressiva do congelamento ao longo de sessões de extinção, tal efeito não é observado quando a exposição ao contexto é breve (LEE; MILTON; EVERITT, 2006). De acordo, os animais tratados apenas com DCS não diferiram dos animais controle (Experimentos 1, 2 e 3), sugerindo que o protocolo empregado neste estudo não induziu processos de extinção e que o pré-tratamento com DCS não interferiu na evocação da memória. Os achados se alinham e reforçam a ideia de que a DCS, quando não acompanhada de uma intervenção subsequente direcionada aos processos de reconsolidação/extinção, não é suficiente para atenuar a resposta aversiva (GAZARINI;

STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; MAO; HSIAO; GEAN, 2006; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024; WALKER; RESSLER; LU; DAVIS, 2002).

A literatura descreve, a nível molecular, que o CAC induz a inserção de receptores AMPA disponíveis, contendo a subunidade GluA1 na membrana pós-sináptica de neurônios da amígdala e do hipocampo, refletindo processos de plasticidade dependentes de atividade que sustentam a estabilização do traço (FANSELOW; LEDOUX, 1999; LEDOUX, 2003; YEH; MAO; LIN; GEAN, 2006). Nesse contexto, a DCS facilita a labilização ao favorecer a endocitose desses receptores (MAO; HSIAO; GEAN, 2006) sem impactar a persistência do aprendizado aversivo (WOODS; BOUTON, 2006). Mecanicamente, ao potencializar a ativação dos receptores NMDA, facilitando a ligação do glutamato, a DCS aumenta o influxo de Ca^{2+} e favorece a ativação de cascatas dependentes de fosfatases, como a calcineurina e a proteína fosfatase 1 (PP1), culminando na desfosforilação da subunidade GluA1 do receptor AMPA e na sua subsequente endocitose (MALENKA, 2003). Esse processo é transitório e, por si só, não interfere diretamente nos mecanismos responsáveis pela manutenção e persistência da memória (ex.: síntese de proteína e transcrição gênica). À medida que os receptores AMPA são progressivamente reciclados, sintetizados e reinseridos na membrana pós-sináptica, a sinapse é reestabilizada, culminando na preservação do aprendizado.

A ubiquitinação é um mecanismo regulatório fundamental nesse cenário, pois atua como sinal para degradação de proteínas e para a endocitose de receptores de membrana. Achados indicam que a reativação da memória aversiva aumenta o número de proteínas poliubiquitinadas na amígdala, enquanto animais pré-estressados exibem níveis semelhantes aos observados em animais que sequer tiveram a memória reativada. No mesmo estudo, a DCS foi capaz de reverter esse efeito e aumentar o nível de proteínas marcadas (ESPEJO; ORTIZ; MARTIJENA; MOLINA, 2021). Um estudo do mesmo ano, conduzido por Devulapalli e colaboradores (2021), demonstrou que, embora tanto machos quanto fêmeas necessitem de degradação proteica para a formação da memória de medo contextual na amígdala, diferem na forma como esse processo é recrutado e regulado após o aprendizado (DEVULAPALLI; JONES; FARRELL; MUSAUS *et al.*, 2021).

A atividade do proteassoma, responsável pela degradação controlada de proteínas, apresenta uma organização que depende tanto do sexo quanto da região cerebral. Em machos, a atividade do proteassoma é regulada pela PKA na amígdala, enquanto, no hipocampo, essa mesma atividade é predominantemente modulada pela CaMKII. Em contraste, nas fêmeas, a regulação da atividade nuclear do proteassoma na amígdala ocorre principalmente por meio de

CaMKII, não sendo observada modulação equivalente no hipocampo (DEVULAPALLI; NELSEN; ORSI; MCFADDEN et al., 2019). Considerando o papel central da amígdala na expressão do medo condicionado, as diferenças sexuais observadas na regulação da degradação proteica nessa estrutura podem contribuir para explicar a necessidade de estratégias farmacológicas distintas na modulação de memórias maladaptativas em machos e fêmeas neste estudo, especialmente sob condições de estresse (LORENZ; HARP; PIERCE; ANGELETTI; NETA, 2025).

Como a padronização dos modelos experimentais de TEPT foi historicamente baseada em fenótipos predominantemente masculinos, a maioria dos estudos disponíveis foi conduzida com machos, o que limita a compreensão dos mecanismos subjacentes aos efeitos da DCS, especialmente nas fêmeas. De modo geral, fêmeas apresentaram menor índice de congelamento do que os machos independente do tratamento pré ou pós reativação, tanto no contexto condicionado quanto no neutro. Evidências sugerem que as diferenças observadas entre os sexos estão mais relacionadas ao recrutamento de estratégias distintas de enfrentamento diante do estímulo aversivo do que a diferenças qualitativas no processo de aprendizagem em si (DAY; STEVENSON, 2020; POOLEY; BENJAMIN; SREEDHAR; EAGLE *et al.*, 2018). Neste estudo, tais estratégias alternativas, como a expressão de *darting*, não foram avaliadas, o que limita interpretações, como a de que os bloqueadores da reconsolidação não seriam capazes de atenuar outras manifestações comportamentais mais proeminentes nesse sexo.

Além das alterações no comportamento defensivo, o tratamento com as três drogas pareceu reduzir, ao longo do tempo, a discriminação entre os contextos em machos, ao passo que promoveu um aumento dessa discriminação em fêmeas (Figura 2D) (DAY; STEVENSON, 2020). Como a determinação do ciclo estral foi realizada apenas após os tratamentos, não foi possível alocar previamente as fêmeas conforme a fase do ciclo, sem introduzir viés experimental. Essa limitação resultou em uma distribuição desigual do número de animais entre os grupos, não se observando efeitos significativos associados ao ciclo estral. Ainda assim, as evidências sobre o papel dos hormônios gonadais divergem quanto à sua participação nos processos subsequentes de modulação da memória aversiva. O estrógeno prejudica o aprendizado de extinção (MILAD; IGOE; LEBRON-MILAD; NOVALES, 2009), efeito que pode ser modulado farmacologicamente (REY; LIPPS; SHANSKY, 2014). Já na reconsolidação, o efeito desses hormônios parece não interferir na ação dos bloqueadores (FRANZEN; GIACHERO; BERTOGLIO, 2019; SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024). As razões já mencionadas impossibilitam somar evidências para tais proposições; protocolos que incluem desenhos experimentais, que permitem um

número razoável de indivíduos por grupo, fazem-se necessários para entender o verdadeiro efeito desses hormônios sobre esse processo.

A literatura também descreve uma interação entre a DCS e o fator de transcrição de resposta imediata *early growth response 1* (Egr1, também conhecido como Zif268), cuja expressão está diretamente associada à plasticidade sináptica induzida pela evocação da memória. A reexposição ao contexto condicionado promove o aumento da expressão de Egr1/Zif268 na amígdala e no hipocampo (HALL; THOMAS; EVERITT, 2001) de maneira dependente da ativação de receptores NMDA. Assim, a presença de Egr1/Zif268 tem sido utilizada como um marcador molecular da desestabilização da memória, de ativação neural e labilização do traço. Em contraste, mas de acordo com o que já foi discutido, quando se somam estressores a esse sistema, ele se torna disfuncional e resistente a desestabilização. Nesse contexto, a DCS (ESPEJO; ORTIZ; MARTIJENA; MOLINA, 2016) assim como o CBD (BAYER; STERN; TROYNER; GAZARINI *et al.*, 2022; MARIN; FRANZEN; TROYNER; MOLINA *et al.*, 2020), foi capaz de restaurar os níveis de Egr1/Zif268 possibilitando atenuar o comportamento aversivo.

Memórias aversivas perdem seu caráter adaptativo e passam a apresentar características disfuncionais quando adquiridas durante um evento de intensa valência negativa. Treinos de magnitude relativamente alta promovem mudanças qualitativas e quantitativas semelhantes entre protocolos e espécies, o que prejudica a ação isolada de bloqueadores de reconsolidação (GAZARINI; STERN; BERTOGLIO, 2023). Diante desse contexto, um grupo experimental recebeu a associação de dois bloqueadores de reconsolidação distintos – CLO e CBD – previamente reportadas na literatura (BAYER; STERN; TROYNER; GAZARINI *et al.*, 2022; FRANZEN; VANZ; WERLE; GUIMARAES; BERTOGLIO, 2022; GAMACHE; PITMAN; NADER, 2012; GAZARINI; STERN; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2013; GAZARINI; STERN; PIORNEDO; TAKAHASHI; BERTOGLIO, 2014; MARIN; FRANZEN; TROYNER; MOLINA *et al.*, 2020; MURKAR; KENT; CAYER; JAMES *et al.*, 2019; RAYMUNDI; DA SILVA; ZAMPRONIO; GUIMARAES *et al.*, 2020; STERN; GAZARINI; TAKAHASHI; GUIMARAES; BERTOGLIO, 2012; STERN; GAZARINI; VANVOSSSEN; ZUARDI *et al.*, 2015; TROYNER; BERTOGLIO, 2020; 2021; TROYNER; BICCA; BERTOGLIO, 2018; ZAIZAR; PAPINI; O'CONNOR; TELCH, 2022) e observou-se que a combinação desses bloqueadores atenuou o comportamento aversivo apenas em machos (experimento 1) sendo esse efeito dependente das respectivas doses efetivas (Experimento 2).

A ação da CLO e do CBD envolve múltiplos mecanismos e varia conforme a dose administrada, o estado basal do sistema e o contexto em que os fármacos são empregados. O

CBD apresenta uma relação dose–resposta não linear, em formato de U invertido, na qual efeitos disruptivos sobre a expressão do comportamento de medo (STERN; GAZARINI; TAKAHASHI; GUIMARAES; BERTOGLIO, 2012) ou do tipo ansioso (GUIMARAES; CHIARETTI; GRAEFF; ZUARDI, 1990) são observados predominantemente em doses intermediárias (por exemplo, 10 mg/kg), mas não em doses mais baixas (3–5 mg/kg) ou mais elevadas (30–50 mg/kg). Seus efeitos incluem modulação indireta dos receptores canabinoides (CB1/CB2), ativação de TRPV1, modulação dos receptores 5-HT1A, interferência no metabolismo dos endocanabinoides (p. ex., FAAH), além de ações sobre canais iônicos e vias intracelulares. Em doses intermediárias, predominam mecanismos que reduzem a excitabilidade de circuitos aversivos, como a facilitação indireta da sinalização endocanabinoide e a ativação dos receptores 5-HT1A. Em doses baixas, esses sistemas não são ativados de forma suficiente para produzir um efeito comportamental, enquanto em doses mais altas passam a ser recrutadas vias com efeito oposto, como a ativação de canais TRPV1, que podem aumentar a excitabilidade neuronal e neutralizar os efeitos benéficos observados na dose intermediária (ALEXANDER; JEON; NICKERSON; HASSLER; VASEFI, 2025; LINARES; ZUARDI; PEREIRA; QUEIROZ *et al.*, 2019; PORTES, 2025).

A respeito da CLO, embora doses inferiores às utilizadas no presente estudo (0,02–0,05 mg/kg) tenham sido previamente demonstradas como capazes de atenuar o comportamento aversivo condicionado (GAMACHE; PITMAN; NADER, 2012) e a preferência condicionada ao lugar (DENNY; UNTERWALD, 2019), essas doses não haviam sido aplicadas em um protocolo como o presente. O experimento 2 demonstra que a combinação dos dois bloqueadores de reconsolidação (CBD e CLO) não permite reduzir suas respectivas doses, ao mesmo tempo em que a facilitação da desestabilização pela DCS não auxilia nem compensa esse efeito. De acordo com a literatura, a dose utilizada (0,15 mg/kg) no experimento 2 é duas vezes menor do que a necessária para suprimir significativamente o efluxo basal de noradrenalina (ABERCROMBIE; KELLER; ZIGMOND, 1988). A ausência de efeitos observados pode ser explicada, pois, embora os sistemas envolvidos na modulação da memória aversiva operem de maneira integrada, cada um deles apresenta limiares de ativação distintos e requer níveis específicos de modulação para produzir alterações comportamentais detectáveis neste modelo.

A falha na discriminação contextual é uma característica central das memórias traumáticas maladaptativas. A expressão do medo indica que a memória foi evocada, e a recordação dessa memória em ambientes neutros é entendida como generalização do comportamento (DUNSMOOR; PAZ, 2015; GAZARINI; STERN; BERTOGLIO, 2023). No

Experimento 1, confirmamos que o protocolo induziu uma memória de caráter disfuncional, com machos e fêmeas apresentando níveis significativos de congelamento no contexto não pareado (Figura 1C). Como a evocação é um pré-requisito para a desestabilização, mas não informa, por si só, se o traço entrou ou não em um estado lábil, testamos o mesmo esquema de tratamento, mas alteramos a caixa onde a memória foi reativada (CTX-B), porém, não foram observados os mesmos desfechos.

A literatura diverge quanto ao número (ALFEI; FERRER MONTI; MOLINA; DE BUNDEL *et al.*, 2020) ou à duração (BUSTOS; MALDONADO; MOLINA, 2009) das sessões de exposição a um contexto não pareado necessárias para favorecer processos de reconsolidação ou de extinção de memórias aversivas. Duas exposições ao contexto não pareado, seguidas da administração de CLO, foram suficientes para atenuar o comportamento aversivo tanto no contexto condicionado quanto no contexto neutro (MARIN; FRANZEN; TROYNER; MOLINA *et al.*, 2020). Já a adição da DCS no contexto novo, possibilita a administração única da mesma dose de CLO e de CBD pós-reativação (SOARES; NASCIMENTO; GUIMARÃES; GAZARINI; BERTOGLIO, 2024). Ambos os estudos supracitados empregaram modelos que mimetizam memórias de caráter disfuncional, no entanto, as diferenças metodológicas entre os protocolos utilizados, como o número de sessões e o esquema de tratamento farmacológico, podem explicar por que os efeitos sobre a expressão da memória não foram observados no presente estudo.

De modo geral, ainda são escassos os estudos que investigam a especificidade das memórias aversivas, especialmente as que apresentam características disfuncionais. Nesse sentido, são necessárias investigações adicionais para determinar se o efeito observado neste trabalho decorre de uma relação causal específica ou se reflete limitações inerentes à estratégia experimental empregada. Ainda assim, os achados aqui apresentados ressaltam a complexidade dos processos envolvidos, indicando que tratamentos já consolidados na literatura podem produzir resultados distintos quando avaliados sob diferentes condições experimentais. Essas considerações sustentam as escolhas metodológicas adotadas neste estudo, que buscaram mimetizar respostas comportamentais mais próximas às observadas na clínica, como a utilização de protocolos com choques de alta intensidade e a realização de testes em contextos não pareados.

8. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que memórias traumáticas apresentam características disfuncionais que restringem sua modulação farmacológica, particularmente quanto à indução de estados de labilidade após a reativação. O protocolo empregado foi capaz de produzir memórias intensas, evidenciadas por elevados níveis de congelamento tanto no contexto pareado quanto no neutro, e as fêmeas, de modo geral, apresentaram menores níveis de congelamento em comparação aos machos. A combinação dos dois bloqueadores mostrou-se eficaz apenas nos machos, sugerindo que, além das disfuncionalidades inerentes às memórias traumáticas, há diferenças sexo-dependentes que requerem estratégias moduladoras específicas.

Os bloqueadores da reconsolidação mostraram-se eficazes em fêmeas apenas quando administrados em combinação com a D-cicloserina, efeito que não foi observado nos machos. Além disso, essa combinação pareceu favorecer a discriminação entre os contextos nas fêmeas, sem produzir o mesmo efeito nos machos. A escassez de estudos que investiguem especificamente os efeitos da DCS em fêmeas limita interpretações mais precisas e reforça a importância de sua inclusão sistemática em protocolos experimentais.

Embora estratégias de polifarmácia frequentemente permitam ajustes de dose durante a coadministração de fármacos, no presente estudo, tal abordagem comprometeu a eficácia do tratamento. A redução das doses de canabidiol e clonidina aboliu a atenuação do comportamento aversivo, reforçando a noção de que memórias traumáticas envolvem sistemas neurobiológicos disfuncionais que demandam uma modulação farmacológica eficaz.

Embora os animais tenham apresentado níveis elevados de congelamento no contexto não pareado, sugerindo generalização da memória, essa característica não se mostrou adequada como ferramenta de manipulação experimental, uma vez que os efeitos observados não se mantiveram quando a reativação ocorreu em um contexto não condicionado. Esses achados indicam que a simples evocação da memória não garante sua entrada em estado lábil, ressaltando que protocolos baseados na reativação em contextos não pareados devem ser empregados com cautela.

O ciclo estral foi monitorado, porém não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, possivelmente devido ao número desigual de indivíduos por grupo. Ainda assim, os dados reforçam a importância de que futuros protocolos experimentais considerem as particularidades biológicas das fêmeas, incorporando abordagens que permitam uma análise mais sensível das variáveis dependentes do sexo.

REFERÊNCIAS

- ABERCROMBIE, E. D.; KELLER, R. W., JR.; ZIGMOND, M. J. Characterization of hippocampal norepinephrine release as measured by microdialysis perfusion: pharmacological and behavioral studies. **Neuroscience**, 27, n. 3, p. 897-904, Dec 1988.
- ABRAHAM, W. C.; DRAGUNOW, M.; TATE, W. P. The role of immediate early genes in the stabilization of long-term potentiation. **Mol Neurobiol**, 5, n. 2-4, p. 297-314, 1991.
- AHAMED, S. K.; RAUT, S. B.; JAMES, F.; CANALES, J. J. *et al.* Sequential administration of D-cycloserine and MK801 reduces pERK-expressing neurons in the lateral amygdala and disrupts threat memory reconsolidation. **Neuroscience**, 584, p. 382-394, Oct 1 2025.
- ALEXANDER, C.; JEON, J.; NICKERSON, K.; HASSLER, S.; VASEFI, M. CBD and the 5-HT1A receptor: A medicinal and pharmacological review. **Biochem Pharmacol**, 233, p. 116742, Mar 2025.
- ALFEI, J. M.; FERRER MONTI, R. I.; MOLINA, V. A.; DE BUNDEL, D. *et al.* Generalization and recovery of post-retrieval amnesia. **J Exp Psychol Gen**, 149, n. 11, p. 2063-2083, Nov 2020.
- ARISTÓTELES. Da Memória e da Reminiscência 350-330 a.C.
- ASHOURPOUR, F.; JAFARI, A.; BABAEI, P. Co-treatment of AMPA endocytosis inhibitor and GluN2B antagonist facilitate consolidation and retrieval of memory impaired by beta amyloid peptide. **Int J Neurosci**, 132, n. 7, p. 714-723, Jul 2022.
- BAYER, H.; BERTOGLIO, L. J.; MAREN, S.; STERN, C. A. J. Windows of change: Revisiting temporal and molecular dynamics of memory reconsolidation and persistence. **Neurosci Biobehav Rev**, 174, p. 106198, Jul 2025.
- BAYER, H.; STERN, C. A. J.; TROYNER, F.; GAZARINI, L. *et al.* Medial prefrontal cortex mechanisms of cannabidiol-induced aversive memory reconsolidation impairments. **Neuropharmacology**, 205, p. 108913, Mar 1 2022.
- BEERY, A. K.; ZUCKER, I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. **Neurosci Biobehav Rev**, 35, n. 3, p. 565-572, Jan 2011.
- BEN MAMOU, C.; GAMACHE, K.; NADER, K. NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. **Nat Neurosci**, 9, n. 10, p. 1237-1239, Oct 2006.
- BENDER, C. L.; OTAMENDI, A.; CALFA, G. D.; MOLINA, V. A. Prior stress promotes the generalization of contextual fear memories: Involvement of the gabaergic signaling within the basolateral amygdala complex. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 83, p. 18-26, Apr 20 2018.
- BERTOTTO, M. E.; BUSTOS, S. G.; MOLINA, V. A.; MARTIJENA, I. D. Influence of ethanol withdrawal on fear memory: Effect of D-cycloserine. **Neuroscience**, 142, n. 4, p. 979-990, Nov 3 2006.

BESNARD, A.; CABOCHE, J.; LAROCHE, S. Recall and reconsolidation of contextual fear memory: differential control by ERK and Zif268 expression dosage. **PLoS One**, 8, n. 8, p. e72006, 2013.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. Crouching as an index of fear. **J Comp Physiol Psychol**, 67, n. 3, p. 370-375, Mar 1969a.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. **J Comp Physiol Psychol**, 68, n. 1, p. 129-135, May 1969b.

BLISS, T. V.; LOMO, T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. **J Physiol**, 232, n. 2, p. 331-356, Jul 1973.

BOTH, S.; VAN VEEN, R. J. B.; BROM, M.; WEIJENBORG, P. T. M. A randomized, placebo-controlled laboratory study of the effects of D-cycloserine on sexual memory consolidation in women. **Psychopharmacology (Berl)**, 237, n. 5, p. 1291-1303, May 2020.

BOZON, B.; DAVIS, S.; LAROCHE, S. A requirement for the immediate early gene zif268 in reconsolidation of recognition memory after retrieval. **Neuron**, 40, n. 4, p. 695-701, Nov 13 2003.

BRISCIONE, M. A.; MICHPOULOS, V.; JOVANOVIC, T.; NORRHOLM, S. D. Neuroendocrine Underpinnings of Increased Risk for Posttraumatic Stress Disorder in Women. **Vitam Horm**, 103, p. 53-83, 2017.

BRITCH, S. C.; BABALONIS, S.; WALSH, S. L. Cannabidiol: pharmacology and therapeutic targets. **Psychopharmacology (Berl)**, 238, n. 1, p. 9-28, Jan 2021.

BRUNTON, L. L. K., B. C. (ORG.). **As Bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 13. ed ed. 2019 2024.

BUCHANAN, T. W. Retrieval of emotional memories. **Psychol Bull**, 133, n. 5, p. 761-779, Sep 2007.

BUCHERELLI, C.; BALDI, E.; MARIOTTINI, C.; PASSANI, M. B.; BLANDINA, P. Aversive memory reactivation engages in the amygdala only some neurotransmitters involved in consolidation. **Learn Mem**, 13, n. 4, p. 426-430, Jul-Aug 2006.

BUSTOS, S. G.; GIACHERO, M.; MALDONADO, H.; MOLINA, V. A. Previous stress attenuates the susceptibility to Midazolam's disruptive effect on fear memory reconsolidation: influence of pre-reactivation D-cycloserine administration. **Neuropsychopharmacology**, 35, n. 5, p. 1097-1108, Apr 2010.

BUSTOS, S. G.; MALDONADO, H.; MOLINA, V. A. Disruptive effect of midazolam on fear memory reconsolidation: decisive influence of reactivation time span and memory age. **Neuropsychopharmacology**, 34, n. 2, p. 446-457, Jan 2009.

COLLINGRIDGE, G. L.; KEHL, S. J.; MCLENNAN, H. Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. **J Physiol**, 334, p. 33-46, Jan 1983.

- COMAS MUTIS, R.; ESPEJO, P. J.; MARTIJENA, I. D.; MOLINA, V. A.; CALFA, G. D. Temporal dynamic of the hippocampal structural plasticity associated with the fear memory destabilization/reconsolidation process. **Hippocampus**, 31, n. 10, p. 1080-1091, Oct 2021.
- COUTO-PEREIRA, N. S.; LAMPERT, C.; VIEIRA, A. D. S.; LAZZARETTI, C. *et al.* Resilience and Vulnerability to Trauma: Early Life Interventions Modulate Aversive Memory Reconsolidation in the Dorsal Hippocampus. **Front Mol Neurosci**, 12, p. 134, 2019.
- CRIPPA, J. A.; GUIMARAES, F. S.; CAMPOS, A. C.; ZUARDI, A. W. Translational Investigation of the Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD): Toward a New Age. **Front Immunol**, 9, p. 2009, 2018.
- DAVIS, H. P.; SQUIRE, L. R. Protein synthesis and memory: a review. **Psychol Bull**, 96, n. 3, p. 518-559, Nov 1984.
- DAVIS, M.; WALKER, D. L.; MYERS, K. M. Role of the amygdala in fear extinction measured with potentiated startle. **Ann N Y Acad Sci**, 985, p. 218-232, Apr 2003.
- DAY, H. L. L.; STEVENSON, C. W. The neurobiological basis of sex differences in learned fear and its inhibition. **Eur J Neurosci**, 52, n. 1, p. 2466-2486, Jul 2020.
- DE OLIVEIRA ALVARES, L.; PASQUALINI GENRO, B.; DIEHL, F.; MOLINA, V. A.; QUILLFELDT, J. A. Opposite action of hippocampal CB1 receptors in memory reconsolidation and extinction. **Neuroscience**, 154, n. 4, p. 1648-1655, Jul 17 2008.
- DEBIEC, J.; BUSH, D. E.; LEDOUX, J. E. Noradrenergic enhancement of reconsolidation in the amygdala impairs extinction of conditioned fear in rats--a possible mechanism for the persistence of traumatic memories in PTSD. **Depress Anxiety**, 28, n. 3, p. 186-193, Mar 2011.
- DEBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. **Neuroscience**, 129, n. 2, p. 267-272, 2004.
- DEVULAPALLI, R.; JONES, N.; FARRELL, K.; MUSAUS, M. *et al.* Males and females differ in the regulation and engagement of, but not requirement for, protein degradation in the amygdala during fear memory formation. **Neurobiol Learn Mem**, 180, p. 107404, Apr 2021.
- DOS SANTOS CORREA, M.; GRISANTI, G. D. V.; FRANCISCATTO, I. A. F.; TARUMOTO, T. S. A. *et al.* Remote contextual fear retrieval engages activity from salience network regions in rats. **Neurobiol Stress**, 18, p. 100459, May 2022.
- DOS SANTOS CORREA, M.; VAZ, B. D. S.; GRISANTI, G. D. V.; DE PAIVA, J. P. Q. *et al.* Relationship between footshock intensity, post-training corticosterone release and contextual fear memory specificity over time. **Psychoneuroendocrinology**, 110, p. 104447, Dec 2019.
- DOS SANTOS CORREA, M.; VAZ, B. D. S.; MENEZES, B. S.; FERREIRA, T. L. *et al.* Corticosterone differentially modulates time-dependent fear generalization following mild or moderate fear conditioning training in rats. **Neurobiol Learn Mem**, 184, p. 107487, Oct 2021.
- DUNCAN, C. P. The retroactive effect of electroshock on learning. **J Comp Physiol Psychol**, 42, n. 1, p. 32-44, Feb 1949.

DUNSMOOR, J. E.; PAZ, R. Fear Generalization and Anxiety: Behavioral and Neural Mechanisms. **Biol Psychiatry**, 78, n. 5, p. 336-343, Sep 1 2015.

ELSAID, S.; LE FOLL, B. The complexity of pharmacology of cannabidiol (CBD) and its implications in the treatment of brain disorders. **Neuropsychopharmacology**, 45, n. 1, p. 229-230, Jan 2020.

ESPEJO, P. J.; ORTIZ, V.; MARTIJENA, I. D.; MOLINA, V. A. GABAergic signaling within the Basolateral Amygdala Complex modulates resistance to the labilization/reconsolidation process. **Neurobiol Learn Mem**, 144, p. 166-173, Oct 2017.

ESPEJO, P. J.; ORTIZ, V.; MARTIJENA, I. D.; MOLINA, V. A. Stress-induced resistance to the fear memory labilization/reconsolidation process. Involvement of the basolateral amygdala complex. **Neuropharmacology**, 109, p. 349-356, Oct 2016.

ESPEJO, P. J.; ORTIZ, V.; MARTIJENA, I. D.; MOLINA, V. A. Stress-induced resistance to fear memory destabilization is associated with an impairment of Lys-48-linked protein polyubiquitination in the Basolateral Amygdala: Influence of D-cycloserine. **Neurobiol Learn Mem**, 179, p. 107386, Mar 2021.

FAIRBANKS, C. A.; STONE, L. S.; WILCOX, G. L. Pharmacological profiles of alpha 2 adrenergic receptor agonists identified using genetically altered mice and isobolographic analysis. **Pharmacol Ther**, 123, n. 2, p. 224-238, Aug 2009.

FANSELOW, M. S. Conditioned and unconditional components of post-shock freezing. **Pavlov J Biol Sci**, 15, n. 4, p. 177-182, Oct-Dec 1980.

FANSELOW, M. S.; LEDOUX, J. E. Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. **Neuron**, 23, n. 2, p. 229-232, Jun 1999.

FENSTER, R. J.; LEBOIS, L. A. M.; RESSLER, K. J.; SUH, J. Brain circuit dysfunction in post-traumatic stress disorder: from mouse to man. **Nat Rev Neurosci**, 19, n. 9, p. 535-551, Sep 2018.

FERREIRA, J. S.; SCHMIDT, J.; RIO, P.; AGUAS, R. *et al.* GluN2B-Containing NMDA Receptors Regulate AMPA Receptor Traffic through Anchoring of the Synaptic Proteasome. **J Neurosci**, 35, n. 22, p. 8462-8479, Jun 3 2015.

FINNIE, P. S.; NADER, K. The role of metaplasticity mechanisms in regulating memory destabilization and reconsolidation. **Neurosci Biobehav Rev**, 36, n. 7, p. 1667-1707, Aug 2012.

FLEXNER, J. B.; FLEXNER, L. B.; STELLAR, E. Memory in mice as affected by intracerebral puromycin. **Science**, 141, n. 3575, p. 57-59, Jul 5 1963.

FONSECA, R.; NAGERL, U. V.; BONHOEFFER, T. Neuronal activity determines the protein synthesis dependence of long-term potentiation. **Nat Neurosci**, 9, n. 4, p. 478-480, Apr 2006.

FRANZEN, J. M.; GIACHERO, M.; BERTOGLIO, L. J. Dissociating retrieval-dependent contextual aversive memory processes in female rats: Are there cycle-dependent differences? **Neuroscience**, 406, p. 542-553, May 15 2019.

FRANZEN, J. M.; VANZ, F.; WERLE, I.; GUIMARAES, F. S.; BERTOGLIO, L. J. Cannabidiol impairs fear memory reconsolidation in female rats through dorsal hippocampus CB1 but not CB2 receptor interaction. **Eur Neuropsychopharmacol**, 64, p. 7-18, Nov 2022.

FRANZEN, J. M.; WERLE, I.; VANZ, F.; DE OLIVEIRA, B. B. *et al.* Cannabidiol attenuates fear memory expression in female rats via hippocampal 5-HT(1A) but not CB1 or CB2 receptors. **Neuropharmacology**, 223, p. 109316, Feb 1 2023.

GAMACHE, K.; PITMAN, R. K.; NADER, K. Preclinical evaluation of reconsolidation blockade by clonidine as a potential novel treatment for posttraumatic stress disorder. **Neuropsychopharmacology**, 37, n. 13, p. 2789-2796, Dec 2012.

GARAKANI, A.; MATHEW, S. J.; CHARNEY, D. S. Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. **Mt Sinai J Med**, 73, n. 7, p. 941-949, Nov 2006.

GAZARINI, L.; STERN, C. A. J.; BERTOGLIO, L. J. On making (and turning adaptive to) maladaptive aversive memories in laboratory rodents. **Neurosci Biobehav Rev**, 147, p. 105101, Apr 2023.

GAZARINI, L.; STERN, C. A.; CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting alpha1- and beta-adrenergic receptors. **Learn Mem**, 20, n. 4, p. 210-219, Mar 19 2013.

GAZARINI, L.; STERN, C. A.; PIORNEDO, R. R.; TAKAHASHI, R. N.; BERTOGLIO, L. J. PTSD-like memory generated through enhanced noradrenergic activity is mitigated by a dual step pharmacological intervention targeting its reconsolidation. **Int J Neuropsychopharmacol**, 18, n. 1, Oct 31 2014.

GIUSTINO, T. F.; MAREN, S. Noradrenergic Modulation of Fear Conditioning and Extinction. **Front Behav Neurosci**, 12, p. 43, 2018.

GUIMARAES, F. S.; CHIARETTI, T. M.; GRAEFF, F. G.; ZUARDI, A. W. Antianxiety effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology (Berl)**, 100, n. 4, p. 558-559, 1990.

GUISE, K. G.; SHAPIRO, M. L. Medial Prefrontal Cortex Reduces Memory Interference by Modifying Hippocampal Encoding. **Neuron**, 94, n. 1, p. 183-192 e188, Apr 5 2017.

HALL, J.; THOMAS, K. L.; EVERITT, B. J. Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. **J Neurosci**, 21, n. 6, p. 2186-2193, Mar 15 2001.

HAN, D. H.; PARK, P.; CHOI, D. I.; BLISS, T. V. P.; KAANG, B. K. The essence of the engram: Cellular or synaptic? **Semin Cell Dev Biol**, 125, p. 122-135, May 2022.

HARMON, R. J.; RIGGS, P. D. Clonidine for posttraumatic stress disorder in preschool children. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, 35, n. 9, p. 1247-1249, Sep 1996.

HOFMANN, S. G.; PAPINI, S.; CARPENTER, J. K.; OTTO, M. W. *et al.* Effect of d-cycloserine on fear extinction training in adults with social anxiety disorder. **PLoS One**, 14, n. 10, p. e0223729, 2019.

HOFMANN, S. G.; POLLACK, M. H.; OTTO, M. W. Augmentation treatment of psychotherapy for anxiety disorders with D-cycloserine. **CNS Drug Rev**, 12, n. 3-4, p. 208-217, Fall-Winter 2006.

HONG, I.; KIM, J.; KIM, J.; LEE, S. *et al.* AMPA receptor exchange underlies transient memory destabilization on retrieval. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 110, n. 20, p. 8218-8223, May 14 2013.

HOOD, W. F.; SUN, E. T.; COMPTON, R. P.; MONAHAN, J. B. 1-Aminocyclobutane-1-carboxylate (ACBC): a specific antagonist of the N-methyl-D-aspartate receptor coupled glycine receptor. **Eur J Pharmacol**, 161, n. 2-3, p. 281-282, Feb 28 1989.

IFFLAND, K. F. GROTENHERMEN. An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. **Cannabis Cannabinoid Res** 2(1): 139-154. (2017).

KANDEL, E. R. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. **Science**, 294, n. 5544, p. 1030-1038, Nov 2 2001.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. The molecular and systems biology of memory. **Cell**, 157, n. 1, p. 163-186, Mar 27 2014.

KHAN, Z. P.; FERGUSON, C. N.; JONES, R. M. alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. **Anaesthesia**, 54, n. 2, p. 146-165, Feb 1999.

KIDA, S. Interaction between reconsolidation and extinction of fear memory. **Brain Res Bull**, 195, p. 141-144, Apr 2023.

KIM, H. J.; LEE, S.; KIM, G. H.; SUNG, K. *et al.* GluN2B-mediated regulation of silent synapses for receptor specification and addiction memory. **Exp Mol Med**, 57, n. 2, p. 436-449, Feb 2025.

KINZIE, J. D.; LEUNG, P. Clonidine in Cambodian patients with posttraumatic stress disorder. **J Nerv Ment Dis**, 177, n. 9, p. 546-550, Sep 1989.

KOBILO, T.; HAZVI, S.; DUDAI, Y. Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in conditioned taste aversion memory. **Eur J Neurosci**, 25, n. 11, p. 3417-3421, Jun 2007.

KROES, M. C.; SCHILLER, D.; LEDOUX, J. E.; PHELPS, E. A. Translational Approaches Targeting Reconsolidation. **Curr Top Behav Neurosci**, 28, p. 197-230, 2016.

KURIYAMA, K.; HONMA, M.; SOSHI, T.; FUJII, T.; KIM, Y. Effect of D-cycloserine and valproic acid on the extinction of reinstated fear-conditioned responses and habituation of fear conditioning in healthy humans: a randomized controlled trial. **Psychopharmacology (Berl)**, 218, n. 3, p. 589-597, Dec 2011.

JURKUS, R *et al.* Cannabidiol regulation of learned fear: implications for treating anxiety-related disorders. *Frontiers in pharmacology*, v. 7, p. 454, 2016.

- LAND, C.; RICCIO, D. C. d-Cycloserine: effects on long-term retention of a conditioned response and on memory for contextual attributes. **Neurobiol Learn Mem**, 72, n. 3, p. 158-168, Nov 1999.
- LEAL SANTOS, S.; STACKMANN, M.; MUNOZ ZAMORA, A.; MASTRODONATO, A. *et al.* Propranolol Decreases Fear Expression by Modulating Fear Memory Traces. **Biol Psychiatry**, 89, n. 12, p. 1150-1161, Jun 15 2021.
- LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. **Annu Rev Neurosci**, 23, p. 155-184, 2000.
- LEDOUX, J. E. Emotional memory systems in the brain. **Behav Brain Res**, 58, n. 1-2, p. 69-79, Dec 20 1993.
- LEDOUX, J. The emotional brain, fear, and the amygdala. **Cell Mol Neurobiol**, 23, n. 4-5, p. 727-738, Oct 2003.
- LEE, B.; POTHULA, S.; WU, M.; KANG, H. *et al.* Positive modulation of N-methyl-D-aspartate receptors in the mPFC reduces the spontaneous recovery of fear. **Mol Psychiatry**, 27, n. 5, p. 2580-2589, May 2022.
- LEE, J. L. C.; AMORIM, F. E.; CASSINI, L. F.; AMARAL, O. B. Different temporal windows for CB1 receptor involvement in contextual fear memory destabilisation in the amygdala and hippocampus. **PLoS One**, 14, n. 1, p. e0205781, 2019.
- LEE, J. L. C.; BERTOGLIO, L. J.; GUIMARAES, F. S.; STEVENSON, C. W. Cannabidiol regulation of emotion and emotional memory processing: relevance for treating anxiety-related and substance abuse disorders. **Br J Pharmacol**, 174, n. 19, p. 3242-3256, Oct 2017.
- LEE, J. L.; DI CIANO, P.; THOMAS, K. L.; EVERITT, B. J. Disrupting reconsolidation of drug memories reduces cocaine-seeking behavior. **Neuron**, 47, n. 6, p. 795-801, Sep 15 2005.
- LEE, J. L.; MILTON, A. L.; EVERITT, B. J. Reconsolidation and extinction of conditioned fear: inhibition and potentiation. **J Neurosci**, 26, n. 39, p. 10051-10056, Sep 27 2006.
- LESUIS, S. L.; LUCASSEN, P. J.; KRUGERS, H. J. Early life stress impairs fear memory and synaptic plasticity; a potential role for GluN2B. **Neuropharmacology**, 149, p. 195-203, May 1 2019.
- LEWIS, D. J. Psychobiology of active and inactive memory. **Psychol Bull**, 86, n. 5, p. 1054-1083, Sep 1979.
- LIBERZON, I.; ABELSON, J. L. Context Processing and the Neurobiology of Post-Traumatic Stress Disorder. **Neuron**, 92, n. 1, p. 14-30, Oct 5 2016.
- LIM, C. S.; KIM, J. I.; KWAK, C.; LEE, J. *et al.* beta-Adrenergic signaling is required for the induction of a labile state during memory reconsolidation. **Brain Res Bull**, 141, p. 50-57, Jul 2018.
- LIN, H. C.; MAO, S. C.; GEAN, P. W. Effects of intra-amygdala infusion of CB1 receptor agonists on the reconsolidation of fear-potentiated startle. **Learn Mem**, 13, n. 3, p. 316-321, May-Jun 2006.

LINARES, I. M.; ZUARDI, A. W.; PEREIRA, L. C.; QUEIROZ, R. H. *et al.* Cannabidiol presents an inverted U-shaped dose-response curve in a simulated public speaking test. **Braz J Psychiatry**, 41, n. 1, p. 9-14, Jan-Feb 2019.

LIRIO, P. H. C.; GASPARI, P. D. M.; CAMPOS, A. C. Cannabidiol: Pharmacodynamics and pharmacokinetic in the context of neuropsychiatric disorders. **Int Rev Neurobiol**, 177, p. 11-27, 2024.

LOCKE, J. Ensaio sobre o entendimento humano. FONTES, M. 1689

LORENZ, T.; HARP, N.; PIERCE, J. E.; ANGELETTI, P.; NETA, M. Chronic Stress May Amplify Gender/Sex Differences in Amygdala Reactivity to Ambiguous Emotional Stimuli. **Stress Health**, 41, n. 2, p. e70035, Apr 2025.

LOVICK, T. A.; ZANGROSSI, H., JR. Effect of Estrous Cycle on Behavior of Females in Rodent Tests of Anxiety. **Front Psychiatry**, 12, p. 711065, 2021.

MALENKA, R. C. Synaptic plasticity and AMPA receptor trafficking. **Ann N Y Acad Sci**, 1003, p. 1-11, Nov 2003.

MAMIYA, N.; FUKUSHIMA, H.; SUZUKI, A.; MATSUYAMA, Z. *et al.* Brain region-specific gene expression activation required for reconsolidation and extinction of contextual fear memory. **J Neurosci**, 29, n. 2, p. 402-413, Jan 14 2009.

MAO, S. C.; HSIAO, Y. H.; GEAN, P. W. Extinction training in conjunction with a partial agonist of the glycine site on the NMDA receptor erases memory trace. **J Neurosci**, 26, n. 35, p. 8892-8899, Aug 30 2006.

MAREN, S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. **Annu Rev Neurosci**, 24, p. 897-931, 2001.

MAREN, S.; PHAN, K. L.; LIBERZON, I. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. **Nat Rev Neurosci**, 14, n. 6, p. 417-428, Jun 2013.

MAREN, S.; PHAN, K. L.; I. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. **Nat Rev Neurosci**, 14, n. 6, p. 417-428, Jun 2013.

MARIN, F. N.; FRANZEN, J. M.; TROYNER, F.; MOLINA, V. A. *et al.* Taking advantage of fear generalization-associated destabilization to attenuate the underlying memory via reconsolidation intervention. **Neuropharmacology**, 181, p. 108338, Dec 15 2020.

MCGAUGH, J. L. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. **Annu Rev Neurosci**, 27, p. 1-28, 2004.

MCGINTY, G.; FOX, R.; BEN-EZRA, M.; CLOITRE, M. *et al.* Sex and age differences in ICD-11 PTSD and complex PTSD: An analysis of four general population samples. **Eur Psychiatry**, 64, n. 1, p. e66, Oct 4 2021.

MILAD, M. R.; IGOE, S. A.; LEBRON-MILAD, K.; NOVALES, J. E. Estrous cycle phase and gonadal hormones influence conditioned fear extinction. **Neuroscience**, 164, n. 3, p. 887-895, Dec 15 2009.

MILLAR, S. A.; STONE, N. L.; YATES, A. S.; O'SULLIVAN, S. E. A Systematic Review on the Pharmacokinetics of Cannabidiol in Humans. **Front Pharmacol**, 9, p. 1365, 2018.

MILTON, A. L.; MERLO, E.; RATANO, P.; GREGORY, B. L. *et al.* Double dissociation of the requirement for GluN2B- and GluN2A-containing NMDA receptors in the destabilization and restabilization of a reconsolidating memory. **J Neurosci**, 33, n. 3, p. 1109-1115, Jan 16 2013.

MISANIN, J. R.; MILLER, R. R.; LEWIS, D. J. Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. **Science**, 160, n. 3827, p. 554-555, May 3 1968.

MURKAR, A.; KENT, P.; CAYER, C.; JAMES, J. *et al.* Cannabidiol and the Remainder of the Plant Extract Modulate the Effects of Delta9-Tetrahydrocannabinol on Fear Memory Reconsolidation. **Front Behav Neurosci**, 13, p. 174, 2019.

NADER, K.; SCHAFE, G. E.; LE DOUX, J. E. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. **Nature**, 406, n. 6797, p. 722-726, Aug 17 2000.

NORBERG, M. M.; KRYSTAL, J. H.; TOLIN, D. F. A meta-analysis of D-cycloserine and the facilitation of fear extinction and exposure therapy. **Biol Psychiatry**, 63, n. 12, p. 1118-1126, Jun 15 2008.

OHLSSON, A.; LINDGREN, J. E.; ANDERSSON, S.; AGURELL, S. *et al.* Single-dose kinetics of deuterium-labelled cannabidiol in man after smoking and intravenous administration. **Biomed Environ Mass Spectrom**, 13, n. 2, p. 77-83, Feb 1986.

ORTIZ, V.; ESPEJO, P. J.; MOLINA, V. A.; MARTIJENA, I. D. Ethanol withdrawal limits fear memory reactivation-induced molecular events associated with destabilization phase: Influence of d-cycloserine. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 89, p. 9-15, Mar 8 2019.

ORTIZ, V.; GIACHERO, M.; ESPEJO, P. J.; MOLINA, V. A.; MARTIJENA, I. D. The effect of Midazolam and Propranolol on fear memory reconsolidation in ethanol-withdrawn rats: influence of d-cycloserine. **Int J Neuropsychopharmacol**, 18, n. 4, Jan 23 2015.

PACHER, P.; KOGAN, N. M.; MECHOULAM, R. Beyond THC and Endocannabinoids. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 60, p. 637-659, Jan 6 2020.

PATEL, S.; HILL, M. N.; CHEER, J. F.; WOTJAK, C. T.; HOLMES, A. The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic drugs. **Neurosci Biobehav Rev**, 76, n. Pt A, p. 56-66, May 2017.

PAVLOV, I. P. Conditioned reflexes. 1, 1927.

PERUCCA, E.; BIALER, M. Critical Aspects Affecting Cannabidiol Oral Bioavailability and Metabolic Elimination, and Related Clinical Implications. **CNS Drugs**, 34, n. 8, p. 795-800, Aug 2020.

PISANTI, S.; MALFITANO, A. M.; CIAGLIA, E.; LAMBERTI, A. *et al.* Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. **Pharmacol Ther**, 175, p. 133-150, Jul 2017.

PLATÃO. Teeteto-Crátilo. VILLAS, R. N. Belém: Universidade Federal do Pará. 1: 177 p. 427-347 a.C.

POOLEY, A. E.; BENJAMIN, R. C.; SREEDHAR, S.; EAGLE, A. L. *et al.* Sex differences in the traumatic stress response: PTSD symptoms in women recapitulated in female rats. **Biol Sex Differ**, 9, n. 1, p. 31, Jul 5 2018.

PORTES, M. W., I; SOARES, L; GUTERRES, F; BERTOGLIO, L. J. Canabidiol, ansiedade e memórias aversivas: uma revisão das evidências pré-clínicas. **Revista Fitos**, 19, p. e1817, 2025.

PRZYBYSLAWSKI, J.; ROULLET, P.; SARA, S. J. Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. **J Neurosci**, 19, n. 15, p. 6623-6628, Aug 1 1999.

PRZYBYSLAWSKI, J.; SARA, S. J. Reconsolidation of memory after its reactivation. **Behav Brain Res**, 84, n. 1-2, p. 241-246, Mar 1997.

QUARTERMAIN, D.; MOWER, J.; RAFFERTY, M. F.; HERTING, R. L.; LANTHORN, T. H. Acute but not chronic activation of the NMDA-coupled glycine receptor with D-cycloserine facilitates learning and retention. **Eur J Pharmacol**, 257, n. 1-2, p. 7-12, May 12 1994.

RADISKE, A.; GONZALEZ, M. C.; NOGA, D. A.; ROSSATO, J. I. *et al.* GluN2B and GluN2A-containing NMDAR are differentially involved in extinction memory destabilization and restabilization during reconsolidation. **Sci Rep**, 11, n. 1, p. 186, Jan 8 2021.

RAO-RUIZ, P.; ROTARU, D. C.; VAN DER LOO, R. J.; MANSVELDER, H. D. *et al.* Retrieval-specific endocytosis of GluA2-AMPA receptors underlies adaptive reconsolidation of contextual fear. **Nat Neurosci**, 14, n. 10, p. 1302-1308, Sep 11 2011.

RATANO, P.; EVERITT, B. J.; MILTON, A. L. The CB1 receptor antagonist AM251 impairs reconsolidation of pavlovian fear memory in the rat basolateral amygdala. **Neuropsychopharmacology**, 39, n. 11, p. 2529-2537, Oct 2014.

RAUCH, S. L.; SHIN, L. M.; PHELPS, E. A. Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research--past, present, and future. **Biol Psychiatry**, 60, n. 4, p. 376-382, Aug 15 2006.

RAUT, S. B.; JOLY, F.; HAASS, N. K.; ERI, R. *et al.* The clinically relevant MEK inhibitor mirdametininib combined with D-cycloserine and prediction error disrupts fear memory in PTSD models. **Transl Psychiatry**, 14, n. 1, p. 492, Dec 18 2024.

RAYMUNDI, A. M.; BATISTA SOHN, J. M.; SALEMME, B. W.; CARDOSO, N. C. *et al.* Effects of delta-9 tetrahydrocannabinol on fear memory labilization and reconsolidation: A putative role of GluN2B-NMDA receptor within the dorsal hippocampus. **Neuropharmacology**, 225, p. 109386, Mar 1 2023.

RAYMUNDI, A. M.; DA SILVA, T. R.; ZAMPRONIO, A. R.; GUIMARAES, F. S. *et al.* A time-dependent contribution of hippocampal CB(1) , CB(2) and PPARgamma receptors to cannabidiol-induced disruption of fear memory consolidation. **Br J Pharmacol**, 177, n. 4, p. 945-957, Feb 2020.

REY, C. D.; LIPPS, J.; SHANSKY, R. M. Dopamine D1 receptor activation rescues extinction impairments in low-estrogen female rats and induces cortical layer-specific activation changes in prefrontal-amygdala circuits. **Neuropsychopharmacology**, 39, n. 5, p. 1282-1289, Apr 2014.

RICHARDSON, R.; LEDGERWOOD, L.; CRANNEY, J. Facilitation of fear extinction by D-cycloserine: theoretical and clinical implications. **Learn Mem**, 11, n. 5, p. 510-516, Sep-Oct 2004.

ROOZENDAAL, B.; MCEWEN, B. S.; CHATTARJI, S. Stress, memory and the amygdala. **Nat Rev Neurosci**, 10, n. 6, p. 423-433, Jun 2009.

ROUAUD, E.; BILLARD, J. M. D-cycloserine facilitates synaptic plasticity but impairs glutamatergic neurotransmission in rat hippocampal slices. **Br J Pharmacol**, 140, n. 6, p. 1051-1056, Nov 2003.

RUSSELL, W. R.; NATHAN, P. W. Traumatic amnesia. **Brain**, 69, n. 4, p. 280-300, Dec 1946.

SACHSER, R. M.; CRESTANI, A. P.; QUILLFELDT, J. A.; MELLO, E. S. T.; DE OLIVEIRA ALVARES, L. The cannabinoid system in the retrosplenial cortex modulates fear memory consolidation, reconsolidation, and extinction. **Learn Mem**, 22, n. 12, p. 584-588, Dec 2015.

SAGGU, S.; CHEN, Y.; COTTINGHAM, C.; REHMAN, H. *et al.* Activation of a novel alpha(2A)AR-spinophilin-cofilin axis determines the effect of alpha(2) adrenergic drugs on fear memory reconsolidation. **Mol Psychiatry**, 28, n. 2, p. 588-600, Feb 2023.

SAITOH, A.; AKAGI, K.; OKA, J. I.; YAMADA, M. Post-reexposure administration of D-cycloserine facilitates reconsolidation of contextual conditioned fear memory in rats. **J Neural Transm (Vienna)**, 124, n. 5, p. 583-587, May 2017.

SAKAMOTO, K.; KARELINA, K.; OBRIETAN, K. CREB: a multifaceted regulator of neuronal plasticity and protection. **J Neurochem**, 116, n. 1, p. 1-9, Jan 2011.

SANTANA, F.; SIERRA, R. O.; HAUBRICH, J.; CRESTANI, A. P. *et al.* Involvement of the infralimbic cortex and CA1 hippocampal area in reconsolidation of a contextual fear memory through CB1 receptors: Effects of CP55,940. **Neurobiol Learn Mem**, 127, p. 42-47, Jan 2016.

SARTORI, S. B.; MAURER, V.; MURPHY, C.; SCHMUCKERMAIR, C. *et al.* Combined Neuropeptide S and D-Cycloserine Augmentation Prevents the Return of Fear in Extinction-Impaired Rodents: Advantage of Dual versus Single Drug Approaches. **Int J Neuropsychopharmacol**, 19, n. 6, Jun 2016.

SCHEYER, A.; YASMIN, F.; NASKAR, S.; PATEL, S. Endocannabinoids at the synapse and beyond: implications for neuropsychiatric disease pathophysiology and treatment. **Neuropsychopharmacology**, 48, n. 1, p. 37-53, Jan 2023.

SEVENSTER, D.; BECKERS, T.; KINDT, M. Prediction error governs pharmacologically induced amnesia for learned fear. **Science**, 339, n. 6121, p. 830-833, Feb 15 2013.

SILVESTRO, S.; SCHEPICI, G.; BRAMANTI, P.; MAZZON, E. Molecular Targets of Cannabidiol in Experimental Models of Neurological Disease. **Molecules**, 25, n. 21, Nov 7 2020.

SOARES, L. A.; NASCIMENTO, L. M. M.; GUIMARAES, F. S.; GAZARINI, L.; BERTOGLIO, L. J. Dual-step pharmacological intervention for traumatic-like memories: implications from D-cycloserine and cannabidiol or clonidine in male and female rats. **Psychopharmacology (Berl)**, 241, n. 9, p. 1827-1840, Sep 2024.

SOSA, M. C.; COMAS MUTIS, R.; RIVA GARGIULO, M.; MARTIJENA, I. D. *et al.* A hyperexcited basolateral amygdala complex state determines the hippocampal structural plasticity associated with the reconsolidation of a fear memory. **Neuroscience**, 592, p. 111-119, Jan 9 2026.

SOUTHWICK, S. M.; BREMNER, J. D.; RASMUSSEN, A.; MORGAN, C. A., 3RD *et al.* Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of posttraumatic stress disorder. **Biol Psychiatry**, 46, n. 9, p. 1192-1204, Nov 1 1999.

STERN, C. A. J.; DA SILVA, T. R.; RAYMUNDI, A. M.; DE SOUZA, C. P. *et al.* Cannabidiol disrupts the consolidation of specific and generalized fear memories via dorsal hippocampus CB(1) and CB(2) receptors. **Neuropharmacology**, 125, p. 220-230, Oct 2017.

STERN, C. A.; GAZARINI, L.; TAKAHASHI, R. N.; GUIMARAES, F. S.; BERTOGLIO, L. J. On disruption of fear memory by reconsolidation blockade: evidence from cannabidiol treatment. **Neuropsychopharmacology**, 37, n. 9, p. 2132-2142, Aug 2012.

STERN, C. A.; GAZARINI, L.; VANVOSSSEN, A. C.; ZUARDI, A. W. *et al.* Delta9-Tetrahydrocannabinol alone and combined with cannabidiol mitigate fear memory through reconsolidation disruption. **Eur Neuropsychopharmacol**, 25, n. 6, p. 958-965, Jun 2015.

SUZUKI, A.; JOSSELYN, S. A.; FRANKLAND, P. W.; MASUSHIGE, S. *et al.* Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. **J Neurosci**, 24, n. 20, p. 4787-4795, May 19 2004.

TEZANOS, P.; TREJO, J. L. Why are threatening experiences remembered so well? Insights into memory strengthening from protocols of gradual aversive learning. **Neurosci Biobehav Rev**, 174, p. 106145, Jul 2025.

THOMAS, A.; BAILLIE, G. L.; PHILLIPS, A. M.; RAZDAN, R. K. *et al.* Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. **Br J Pharmacol**, 150, n. 5, p. 613-623, Mar 2007.

TONEGAWA, S.; LIU, X.; RAMIREZ, S.; REDONDO, R. Memory Engram Cells Have Come of Age. **Neuron**, 87, n. 5, p. 918-931, Sep 2 2015.

TORREGROSSA, M. M.; SANCHEZ, H.; TAYLOR, J. R. D-cycloserine reduces the context specificity of pavlovian extinction of cocaine cues through actions in the nucleus accumbens. **J Neurosci**, 30, n. 31, p. 10526-10533, Aug 4 2010.

TRONSON, N. C.; TAYLOR, J. R. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. **Nat Rev Neurosci**, 8, n. 4, p. 262-275, Apr 2007.

TROYNER, F.; BERTOGLIO, L. J. Nucleus reuniens of the thalamus controls fear memory reconsolidation. **Neurobiol Learn Mem**, 177, p. 107343, Jan 2021.

TROYNER, F.; BERTOGLIO, L. J. Thalamic nucleus reuniens regulates fear memory destabilization upon retrieval. **Neurobiol Learn Mem**, 175, p. 107313, Nov 2020.

TROYNER, F.; BICCA, M. A.; BERTOGLIO, L. J. Nucleus reuniens of the thalamus controls fear memory intensity, specificity and long-term maintenance during consolidation. **Hippocampus**, 28, n. 8, p. 602-616, Aug 2018.

VAN BERCKEL, B. N.; LIPSCH, C.; TIMP, S.; GISPEN-DE WIED, C. *et al.* Behavioral and neuroendocrine effects of the partial NMDA agonist D-cycloserine in healthy subjects. **Neuropsychopharmacology**, 16, n. 5, p. 317-324, May 1997.

VANVOSSSEN, A. C.; PORTES, M. A. M.; SCOZ-SILVA, R.; REICHMANN, H. B. *et al.* Newly acquired and reactivated contextual fear memories are more intense and prone to generalize after activation of prelimbic cortex NMDA receptors. **Neurobiol Learn Mem**, 137, p. 154-162, Jan 2017.

VISHNOI, S.; RAISUDDIN, S.; PARVEZ, S. Modulatory effects of an NMDAR partial agonist in MK-801-induced memory impairment. **Neuroscience**, 311, p. 22-33, Dec 17 2015.

WALKER, D. L.; RESSLER, K. J.; LU, K. T.; DAVIS, M. Facilitation of conditioned fear extinction by systemic administration or intra-amygdala infusions of D-cycloserine as assessed with fear-potentiated startle in rats. **J Neurosci**, 22, n. 6, p. 2343-2351, Mar 15 2002.

WANG, X.; STEWART, L.; CORTEZ, M. A.; WU, Y. *et al.* The circuitry of atypical absence seizures in GABA(B)R1a transgenic mice. **Pharmacol Biochem Behav**, 94, n. 1, p. 124-130, Nov 2009.

WILLIAMS, S. E.; FORD, J. H.; KENSINGER, E. A. The power of negative and positive episodic memories. **Cogn Affect Behav Neurosci**, 22, n. 5, p. 869-903, Oct 2022.

WOODS, A. M.; BOUTON, M. E. D-cycloserine facilitates extinction but does not eliminate renewal of the conditioned emotional response. **Behav Neurosci**, 120, n. 5, p. 1159-1162, Oct 2006.

WORLEY, P. F.; CHRISTY, B. A.; NAKABEPPU, Y.; BHAT, R. V. *et al.* Constitutive expression of zif268 in neocortex is regulated by synaptic activity. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 88, n. 12, p. 5106-5110, Jun 15 1991.

YEH, S. H.; MAO, S. C.; LIN, H. C.; GEAN, P. W. Synaptic expression of glutamate receptor after encoding of fear memory in the rat amygdala. **Mol Pharmacol**, 69, n. 1, p. 299-308, Jan 2006.

ZAIZAR, E. D.; PAPINI, S.; O'CONNOR, P.; TELCH, M. J. Impact of cannabidiol-rich hemp extract oil on reconsolidation disruption of naturalistic interoceptive aversive memory in humans: Protocol for a randomized clinical trial. **Contemp Clin Trials**, 119, p. 106847, Aug 2022.

ZIEGENHORN, A. A.; ROEPKE, S.; SCHOMMER, N. C.; MERKL, A. *et al.* Clonidine improves hyperarousal in borderline personality disorder with or without comorbid posttraumatic stress disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **J Clin Psychopharmacol**, 29, n. 2, p. 170-173, Apr 2009

APÊNDICE A – DECLARAÇÃO DE USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL (IA)

Na preparação deste trabalho, utilizamos o Grammarly e o ChatGPT (OpenAI, 2026), tecnologias de linguagem baseadas em inteligência artificial, para aprimorar a legibilidade, a linguagem e o estilo. Posteriormente, revisamos e editamos o conteúdo para garantir clareza e precisão, e assumimos total responsabilidade pela publicação final.

ANEXO 1 – Parecer do Comitê de Ética e Uso de Animais em Laboratório da Universidade Federal de Santa Catarina.



Universidade Federal de Santa Catarina

*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Análise dos efeitos da potencialização da desestabilização da memória aversiva sobre a modulação farmacológica da reconsolidação ou extinção em ratos", protocolada sob o CEUA nº 5436230624 (ID 002877), sob a responsabilidade de **Leandro Jose Bertoglio e equipe; Fernanda de Souza Guterres** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 05/11/2024.

We certify that the proposal "Analysis of the effects of enhancing aversive memory destabilization on the pharmacological modulation of reconsolidation or extinction in rats", utilizing 868 Heterogenics rats (males or females), protocol number CEUA 5436230624 (ID 002877), under the responsibility of **Leandro Jose Bertoglio and team; Fernanda de Souza Guterres** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 11/05/2024.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 09/2024 a 12/2026 Área: Farmacologia

Origem: Biotério Central

Espécie: Ratos heterogênicos

Linhagem: Wistar

sexo: Machos ou Fêmeas

idade: 80 a 100 dias

Quantidade: 868

Peso: 300 a 400 g

Florianópolis, 31 de março de 2025

Juliano Ferreira

V

Juliano Ferreira
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Vanessa Rafaella Foletto da Silva
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

