

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
CURSO DE MEDICINA**

CAMILA FERREIRA PUNTEL

**QUANTIFICAÇÃO DO RECEPTOR CANABINÓIDE TIPO 1 HIPOCAMPAL E
ANÁLISE DE COMPORTAMENTOS TIPO ANSIOSO E DEPRESSIVO EM RATOS
MACHOS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL
TRATADOS COM ÓLEOS DE *CANNABIS SATIVA***

**CHAPECÓ
2026**

CAMILA FERREIRA PUNTEL

**QUANTIFICAÇÃO DO RECEPTOR CANABINÓIDE TIPO 1 HIPOCAMPAL E
ANÁLISE DE COMPORTAMENTOS TIPO ANSIOSO E DEPRESSIVO EM RATOS
MACHOS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL
TRATADOS COM ÓLEOS DE *CANNABIS SATIVA***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito parcial para obtenção do título de Médica.

Orientadora: Prof. Dra. Zuleide Maria Ignácio

Coorientadora: Ma. Maiqueli Eduarda Dama Mingoti

CHAPECÓ

2026

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Puntel, Camila Ferreira
QUANTIFICAÇÃO DO RECEPTOR CANABINÓIDE TIPO 1
HIPOCAMPAL E ANÁLISE DE COMPORTAMENTOS TIPO ANSIOSO E
DEPRESSIVO EM RATOS MACHOS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO
MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL TRATADOS COM ÓLEOS DE
Cannabis sativa / Camila Ferreira Puntel. -- 2026.
58 f.:il.

Orientadora: Doutora Zuleide Maria Ignácio
Co-orientadora: Mestra Maiqueli Eduarda Dama Mingoti
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Chapecó, SC, 2026.

1. Depressão. 2. Ansiedade. 3. Cannabis sativa. I. ,
Zuleide Maria Ignácio, orient. II. Mingoti, Maiqueli
Eduarda Dama, co-orient. III. Universidade Federal da
Fronteira Sul. IV. Título.

	UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL	
	CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA	

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE MEDICINA

No dia onze de junho do ano de dois mil e vinte e seis, em sessão realizada no Auditório do Bloco C, UFFS - Campus Chapecó, deu-se a defesa do Trabalho de Curso (TC) intitulado “QUANTIFICAÇÃO DO RECEPTOR CANABINÓIDE TIPO 1 HIPOCAMPAL E ANÁLISE DE COMPORTAMENTOS TIPO ANSIOSO E DEPRESSIVO EM RATOS MACHOS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL TRATADOS COM ÓLEOS DE *Cannabis sativa*”, elaborado pela acadêmica Camila Ferreira Puntel, orientado pela Prof.^a Dr.^a Zuleide Maria Ignácio e coorientado pela Ma. Maiqueli Eduarda Dama Mingoti. A Banca Avaliadora constituída pela Prof.^a Dra. Margarete Dulce Bagatini e pela Prof.^a Dra. Daniela Zanini, **APROVOU** o referido trabalho, atribuindo NOTA 10 (Dez). A professora de TC do Curso de Medicina registra, publica, assina e dá fé à presente ata.

Chapecó, 11 de junho de 2026.

Documento assinado digitalmente  ZULEIDE MARIA IGNACIO Data: 15/06/2026 17:21:39-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Prof.^a Dr.^a Zuleide Maria Ignácio Orientadora	Documento assinado digitalmente  MAIQUELI EDUARDA DAMA MINGOTI Data: 15/06/2026 20:49:40-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Ma. Maiqueli Eduarda Dama Mingoti Coorientadora
Documento assinado digitalmente  MARGARETE DULCE BAGATINI Data: 16/06/2026 23:19:10-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Prof.^a Dra. Margarete Dulce Bagatini Banca Avaliadora	Documento assinado digitalmente  DANIELA ZANINI Data: 16/06/2026 12:54:21-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Prof.^a Dra. Daniela Zanini Banca Avaliadora
Documento assinado digitalmente  CAMILA FERREIRA PUNTEL Data: 17/06/2026 18:37:03-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Camila Ferreira Puntel Acadêmica	Documento assinado digitalmente  SAMIRA PERUCHI MORETTO Data: 17/06/2026 22:03:33-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Prof.^a Dra. Samira Peruchi Moretto Professora de TC do Curso de Medicina

Dedico este trabalho ao Grupo de Pesquisa em
Neurociência Translacional, Clínica e
Epidemiológica (NeuroTCE), espaço de
formação científica, colaboração e construção
compartilhada do conhecimento, no qual me
descobri pesquisadora. Este trabalho reafirma
o princípio de que a pesquisa científica se
constrói de forma coletiva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Jeane Elvandra Puntel e César Ferreira da Silva que sempre acreditaram em mim e colocaram todos os seus esforços na minha criação e educação, garantindo todas as oportunidades e vivências que tive e que me tornaram quem sou hoje.

Não poderia deixar de destacar e valorizar o apoio do meu marido, Bruno, que, nessa última década, foi muito mais que um apoiador de todos os meus sonhos: foi a pessoa que me incentivou, me engrandeceu e me encorajou a lutar por tudo o que conquistei até o presente momento. Obrigada, meu bem, por todos os colos, todas as renúncias, todo o suporte que você me oferece todos os dias e por ser meu lar.

Em seguida, agradeço à minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Zuleide Maria Ignácio, que me acolheu desde o meu primeiro semestre de faculdade, me ensinando muito do que sei sobre pesquisa, ética, respeito aos animais de pesquisa, comprometimento com uma medicina baseada em evidências e responsabilidade com o que divulgamos. Eu não poderia concluir a universidade sem ter seu nome atrelado ao trabalho acadêmico mais importante que escrevemos juntas, para mim. Obrigada por acreditar em mim todas as vezes em que eu mesma duvidei que seria capaz de aprender uma ferramenta, protocolo ou teste novo.

Agradeço à Ma. Maiqueli Eduarda Dama Mingoti, minha coorientadora, que, nesses anos de NeuroTCE, foi responsável pelo aprimoramento de técnicas, implementação de tecnologias e exemplo de qualidade inegociável. Por isso, obrigada por me conceder o privilégio de caminhar um pouco da minha trajetória ao seu lado.

Além de dedicar este trabalho ao Grupo de Pesquisa NeuroTCE, preciso dedicar um agradecimento a esse grupo fantástico, inundado de competência, acolhimento e compromisso. É uma honra ter a oportunidade de aprender o que é pesquisa acadêmica com pessoas tão capacitadas e dedicadas. Agradeço, em especial, à Brunna Varela, por me incentivar a escrever meu primeiro trabalho; à Amanda Gollo, por acreditar que eu era capaz de participar dos meus primeiros artigos e por me ensinar muito do que sei sobre escrita; e a todos os demais técnicos, acadêmicos, mestrandos e doutorandos, pela dedicação diária aos protocolos, pelo compromisso com uma pesquisa ética e responsável e por todas as risadas e momentos compartilhados. Obrigada por me ensinarem, na prática, que ciência não se faz sozinha.

Agradeço aos meus amigos, que comemoram minhas vitórias como se fossem suas, me ensinando diariamente o que é parceria.

Não posso deixar de agradecer a todos os projetos e professores que acreditaram em mim nesses últimos anos, me proporcionando oportunidades e aprendizados que nenhuma sala de aula seria capaz de oferecer. Aqui, destaco a Liga Acadêmica de Saúde Coletiva e a Prof.^a Dr.^a Daniela Savi Geremia, que me ensinou a valorizar o trabalho que realizo e me aproximou ainda mais de uma área da saúde pela qual tenho um carinho tão grande.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio financeiro que fizeram esse projeto acontecer e por investir em pesquisa pública de qualidade. Agradeço também à Universidade Federal da Fronteira Sul pelo ensino de excelência e por me fazer entender que eu queria viver muito mais que Medicina ao entrar na universidade e por me permitir concretizar isso.

Sou igualmente grata aos projetos e financiamentos que tornaram possível o desenvolvimento das pesquisas com *Cannabis sativa* no biotério, em especial ao Multilab FAPESC (2023TR001508), ao FAPESC Universal (2024TR002554), ao projeto UFFS PES-2024-0533 e à Bolsa de Produtividade em Pesquisa do CNPq – Nível C (Processo nº 306331/2025-0), fundamentais para a consolidação da infraestrutura, do suporte científico e da continuidade das investigações realizadas.

Por fim, agradeço a todos aqueles cujos nomes não consigo citar, mas que, em algum momento da minha trajetória, acreditaram nesse sonho comigo e me ajudaram a chegar até aqui.

“Disciplina é liberdade; compaixão é fortaleza; ter bondade é ter coragem” (Russo, 1989).

RESUMO

O transtorno depressivo maior (TDM) é um transtorno psiquiátrico multifatorial associado a alterações neurobiológicas decorrentes da interação entre fatores genéticos e ambientais. Experiências adversas, como a privação de cuidado materno e o isolamento social, podem promover alterações persistentes em circuitos relacionados à regulação emocional, incluindo modificações no sistema endocanabinoide. Nesse contexto, compostos derivados da *Cannabis sativa* têm sido investigados devido ao seu potencial terapêutico sobre alterações comportamentais e neurobiológicas relacionadas ao estresse. O presente estudo avaliou os efeitos do tratamento crônico com óleo de canabidiol isolado e óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo (full spectrum) sobre comportamentos tipo ansioso e depressivo e sobre a concentração hipocampal do receptor canabinóide tipo 1 (CB1R) em ratos Wistar machos submetidos à privação maternal (PM) e ao isolamento social (IS). Foram utilizados 55 ratos distribuídos em cinco grupos experimentais: Controle + veículo (C+CT); Estresse + veículo (E+CT); Estresse + escitalopram (E+ESC; 10 mg/kg); Estresse + óleo full spectrum (E+FS; 1 mg/kg); e Estresse + CBD isolado (E+CBD; 30 mg/kg). A PM foi realizada nos primeiros 10 dias de vida, enquanto o IS ocorreu na fase adulto jovem por 30 dias consecutivos. Após o protocolo de estresse, os animais receberam tratamento por via oral durante 14 dias. Os comportamentos exploratórios e locomotores foram avaliados no teste de campo aberto, os comportamentos tipo ansioso no labirinto em cruz elevado e os comportamentos tipo depressivo no teste de natação forçada. A concentração hipocampal de CB1R foi determinada por ensaio ELISA. Os resultados demonstraram que a exposição combinada à PM e ao IS promoveu alterações comportamentais, caracterizadas pelo aumento de comportamentos tipo ansioso e depressivo, além da redução da concentração hipocampal de CB1R quando comparada ao grupo controle. O tratamento com CBD isolado foi capaz de reverter essas alterações, promovendo redução dos comportamentos tipo ansioso e depressivo, além de restaurar os níveis hipocampais de CB1R. Por outro lado, o tratamento com óleo full spectrum promoveu aumento da concentração de CB1R no hipocampo, indicando efeito sobre a modulação do sistema endocanabinoide, porém não foi capaz de reverter os prejuízos comportamentais induzidos pelo estresse nas condições avaliadas. Os achados indicam que o CBD isolado apresenta potencial terapêutico na modulação das alterações comportamentais e neurobiológicas associadas ao estresse precoce.

Palavras-chave: Depressão, Ansiedade, Experiências Adversas da Infância, *Cannabis sativa*.

ABSTRACT

Major depressive disorder (MDD) is a multifactorial psychiatric disorder associated with neurobiological alterations resulting from the interaction between genetic and environmental factors. Adverse experiences, such as maternal deprivation and social isolation, may induce persistent alterations in circuits involved in emotional regulation, including modifications in the endocannabinoid system. In this context, Cannabis sativa-derived compounds have been investigated due to their therapeutic potential in modulating stress-related behavioral and neurobiological alterations. The present study evaluated the effects of chronic treatment with isolated cannabidiol (CBD) oil and full-spectrum Cannabis sativa oil on anxiety-like and depressive-like behaviors and hippocampal cannabinoid receptor type 1 (CB1R) levels in male Wistar rats subjected to maternal deprivation (MD) and social isolation (SI). Fifty-five rats were distributed into five experimental groups: Control + vehicle (C+CT); Stress + vehicle (E+CT); Stress + escitalopram (E+ESC; 10 mg/kg); Stress + full-spectrum oil (E+FS; 1 mg/kg); and Stress + isolated CBD (E+CBD; 30 mg/kg). MD was performed during the first 10 days of life, whereas SI occurred during young adulthood for 30 consecutive days. Following the stress protocol, animals received oral treatment for 14 days. Exploratory and locomotor behaviors were evaluated using the open field test, anxiety-like behaviors using the elevated plus maze, and depressive-like behaviors using the forced swimming test. Hippocampal CB1R levels were determined by ELISA assay. The results demonstrated that combined exposure to MD and SI induced behavioral alterations, characterized by increased anxiety-like and depressive-like behaviors, as well as reduced hippocampal CB1R levels compared with the control group. Treatment with isolated CBD was able to reverse these alterations, reducing anxiety-like and depressive-like behaviors and restoring hippocampal CB1R levels. In contrast, full-spectrum oil treatment increased hippocampal CB1R levels, suggesting modulation of the endocannabinoid system; however, it was unable to reverse stress-induced behavioral impairments under the evaluated conditions. These findings indicate that isolated CBD has therapeutic potential for modulating behavioral and neurobiological alterations associated with early-life stress.

Keywords: Depression, Anxiety, Adverse Childhood Experiences, *Cannabis sativa*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Consequências neurobiológicas das experiências adversas na infância	17
Figura 2 – Sistema endocanabinóide e mecanismos neurobiológicos da <i>Cannabis sativa</i>	20
Figura 3 – Desenho do estudo	23
Figura 4 – Gaiolas ventiladas individualmente e gaiolas abertas	25
Figura 5 – Teste de campo aberto	28
Figura 6 – Teste de labirinto em cruz elevado	29
Figura 7 – Teste de nado forçado	30
Figura 8 – Atividade locomotora dos ratos machos no campo aberto	34
Figura 9 – Resultados do teste de labirinto em cruz elevado	36
Figura 10 – Resultados do teste de nado forçado	38
Figura 11 – Níveis de CB1R no hipocampo de ratos machos	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT1A	Subtipo do Receptor de Serotonina
5-HT	Serotonina
5-HIAA	Ácido 5-hidroxiindolacético
ANOVA	Analysis of Variance
BCA	Ácido Bicinconínico
BIOCHUFFS	Biotério Setorial da Universidade Federal da Fronteira Sul
C	Grupo Controle
CB1R	Receptor Canabinóide Tipo 1
CB2R	Receptor Canabinóide Tipo 2
CBD	Canabidiol
CT	Controle (veículo)
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CIUCA	Cadastro de Instituições de Uso Científico de Animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CO ₂	Dióxido de Carbono
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Fifth Edition
E	Grupo Estresse
EAI	Experiências Adversas na Infância
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPM	Erro Padrão da Média
ESC	Escitalopram
FS	Full Spectrum
GABA	Ácido gama-aminobutírico
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IS	Isolamento Social
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
IVC	Individually Ventilated Cage
MCT	Triglicerídeos de Cadeia Média
p	Valor de Significância Estatística
PM	Privação Maternal
PSU	Polisulfona

SEC	Sistema Endocanabinóide
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizada
TDM	Transtorno Depressivo Maior
THC	Δ 9-tetrahydrocannabinol
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo geral	21
2.2 Objetivos específicos	21
3 METODOLOGIA	22
3.1 Modelos Animais	23
3.2 Tratamentos Farmacológicos	26
3.3 Testes Comportamentais	28
3.1.1 Teste de campo aberto	28
3.1.2 Teste de labirinto em cruz elevado	29
3.1.3 Teste de nado forçado	30
3.4 Eutanásia e Coleta de Amostras	31
3.5 Análises Bioquímicas	31
3.6 Análise Estatística	32
3.7 Uso de Ferramentas de Inteligência Artificial	32
4 RESULTADOS	33
4.1 Teste de Campo Aberto	33
4.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado	34
4.3 Teste de Nado Forçado	37
4.4 Quantificação de CB1R no Hipocampo	38
5 DISCUSSÃO	41
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO CEUA	55
ANEXO B – CERTIFICADO DE ANÁLISE ÓLEO DE CANABIDIOL	56
ANEXO C – CERTIFICADO DE ANÁLISE ÓLEO DE ESPECTRO COMPLETO	57

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno Depressivo Maior (TDM), popularmente conhecido como depressão, é um transtorno mental caracterizado principalmente por humor deprimido persistente e perda de interesse ou prazer em atividades anteriormente consideradas significativas, condição denominada anedonia (WHO, 2025). Estima-se que a depressão acomete aproximadamente 4% da população mundial, configurando-se como um importante problema de saúde pública, devido ao impacto sobre a qualidade de vida, funcionalidade e mortalidade dos indivíduos acometidos (WHO, 2025). Além disso, trata-se de uma condição multifatorial associada à interação entre fatores biológicos, psicológicos e ambientais, especialmente experiências estressoras e adversidades ao longo da vida (Jamil et al., 2025).

Além do humor deprimido e da anedonia, segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), indivíduos com depressão podem apresentar sintomas como fadiga persistente, alterações do sono e do apetite, dificuldade de concentração, sentimentos de culpa excessiva, baixa autoestima, desesperança em relação ao futuro e pensamentos recorrentes sobre morte ou suicídio (Association American Psychiatric, 2014). A presença desses sintomas, especialmente quando associada a prejuízo funcional significativo, é fundamental para o reconhecimento clínico do transtorno depressivo maior e sua diferenciação em relação a respostas emocionais transitórias ao estresse cotidiano (Association American Psychiatric, 2014).

Os transtornos de ansiedade, particularmente o transtorno de ansiedade generalizada (TAG), apresentam sobreposição expressiva de sintomas com o TDM, incluindo fadiga, dificuldade de concentração, distúrbios do sono, irritabilidade e comprometimento funcional, o que pode dificultar o diagnóstico diferencial na prática clínica (Association American Psychiatric, 2014). A presença concomitante de sintomas ansiosos em episódios depressivos, frequentemente descrita como depressão com sintomas ansiosos, está associada a maior gravidade clínica, pior resposta terapêutica, maior comprometimento funcional e redução da qualidade de vida (Association American Psychiatric, 2014). Paralelamente, a comorbidade entre TAG e TDM relaciona-se ao aumento do risco de suicídio e ao maior impacto socioeconômico, reforçando a importância da identificação precoce desses quadros sobrepostos para o planejamento de estratégias terapêuticas mais eficazes e individualizadas (Goodwin; Stein, 2021).

A fisiopatologia da depressão envolve alterações em múltiplos sistemas neurobiológicos, incluindo disfunções nos circuitos monoaminérgicos, prejuízos nos

mecanismos de neuroplasticidade e processos neuroinflamatórios centrais e periféricos (Nestler; Carlezon, 2006). A redução da neurotransmissão serotoninérgica, dopaminérgica e noradrenérgica tem sido associada à manifestação de sintomas como humor deprimido, anedonia e prejuízo motivacional, especialmente em decorrência de alterações em circuitos mesocorticolímbicos que conectam a área tegmental ventral, o núcleo accumbens e o córtex pré-frontal, estruturas fundamentais para o processamento de recompensa e regulação emocional (Nestler; Carlezon, 2006). Além disso, alterações estruturais e funcionais em regiões como hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal refletem prejuízos em mecanismos adaptativos relacionados à neuroplasticidade frente ao estresse. Nesse contexto, a resposta ao estresse envolve a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e a liberação de cortisol, bem como a ação rápida de mediadores centrais, como o hormônio liberador de corticotropina, em regiões cerebrais relacionadas à regulação emocional (Menke, 2024). Além do eixo HPA, interações bidirecionais entre cérebro e sistemas periféricos, como os eixos intestino-cérebro, pele-cérebro e coração-cérebro, contribuem para a modulação integrada das respostas fisiológicas e comportamentais ao estresse (Birnie; Baram, 2025).

Dentre as estruturas cerebrais envolvidas na fisiopatologia da depressão, o hipocampo destaca-se como uma região central na regulação das respostas ao estresse, da memória e do comportamento emocional, sendo particularmente sensível a alterações neuroplásticas associadas ao transtorno depressivo (Xu et al., 2020). Evidências indicam que pacientes com depressão apresentam redução do volume hipocampal, alterações no número de sinapses, modificações na plasticidade sináptica, disfunções em receptores glutamatérgicos e prejuízos na neurogênese adulta, alterações que podem ser parcialmente revertidas após intervenções antidepressivas (Xu et al., 2020). Paralelamente, a neurogênese hipocampal adulta tem sido descrita como um possível fator de resiliência ao estresse, contribuindo para efeitos comportamentais semelhantes aos observados com antidepressivos, especialmente em condições adversas, o que evidencia o potencial do hipocampo como alvo terapêutico e como estrutura estratégica para investigação experimental em modelos animais de ansiedade e depressão (Hill; Sahay; Hen, 2015).

A utilização de modelos animais é fundamental para investigação dos efeitos do estresse precoce, especialmente devido às limitações éticas relacionadas à realização de estudos controlados em humanos durante períodos críticos do desenvolvimento (Birnie; Baram, 2025). Grande parte do conhecimento atual sobre os impactos do estresse na primeira infância deriva de modelos pré-clínicos envolvendo roedores e primatas, permitindo

investigar alterações neurobiológicas e comportamentais associadas à evolução de transtornos psiquiátricos ao longo da vida (Birnie; Baram, 2025).

Em modelos experimentais com roedores, a investigação da depressão baseia-se na avaliação de alterações comportamentais análogas a domínios centrais do transtorno em humanos, como anedonia, redução da motivação, aumento de comportamentos do tipo ansioso e alterações na responsividade ao estresse (Heshmati; Russo, 2015). Embora sintomas subjetivos característicos da depressão humana não possam ser diretamente reproduzidos em animais, modelos baseados em estresse crônico têm possibilitado a investigação de mecanismos relacionados à vulnerabilidade e à resiliência ao transtorno depressivo (Heshmati; Russo, 2015)

O estresse na primeira infância, frequentemente descrito como experiências adversas na infância (EAI), compreende eventos potencialmente traumáticos ocorridos durante períodos críticos do desenvolvimento e está associado ao aumento do risco de desfechos negativos em saúde mental ao longo da vida, incluindo ansiedade e depressão (Birnie; Baram, 2025), como destacado na figura 1. Evidências epidemiológicas demonstram que a exposição precoce a adversidades, como negligência, abuso, violência doméstica e uso de substâncias no ambiente familiar, exerce efeitos cumulativos sobre a saúde física e psicológica, de modo que indivíduos expostos a maior número de experiências adversas apresentam aumento progressivo do risco de adoecimento ao longo da vida (Felitti et al., 1998). Inclusive, crianças inseridas em trajetórias caracterizadas por níveis moderados ou elevados de adversidades em diferentes momentos do desenvolvimento apresentam maior risco e maior gravidade de sintomas depressivos, independentemente do período específico de exposição, reforçando o papel do estresse precoce como fator relevante de suscetibilidade para transtornos do humor (Tracy et al., 2019).

Figura 1 – Consequências neurobiológicas das experiências adversas na infância

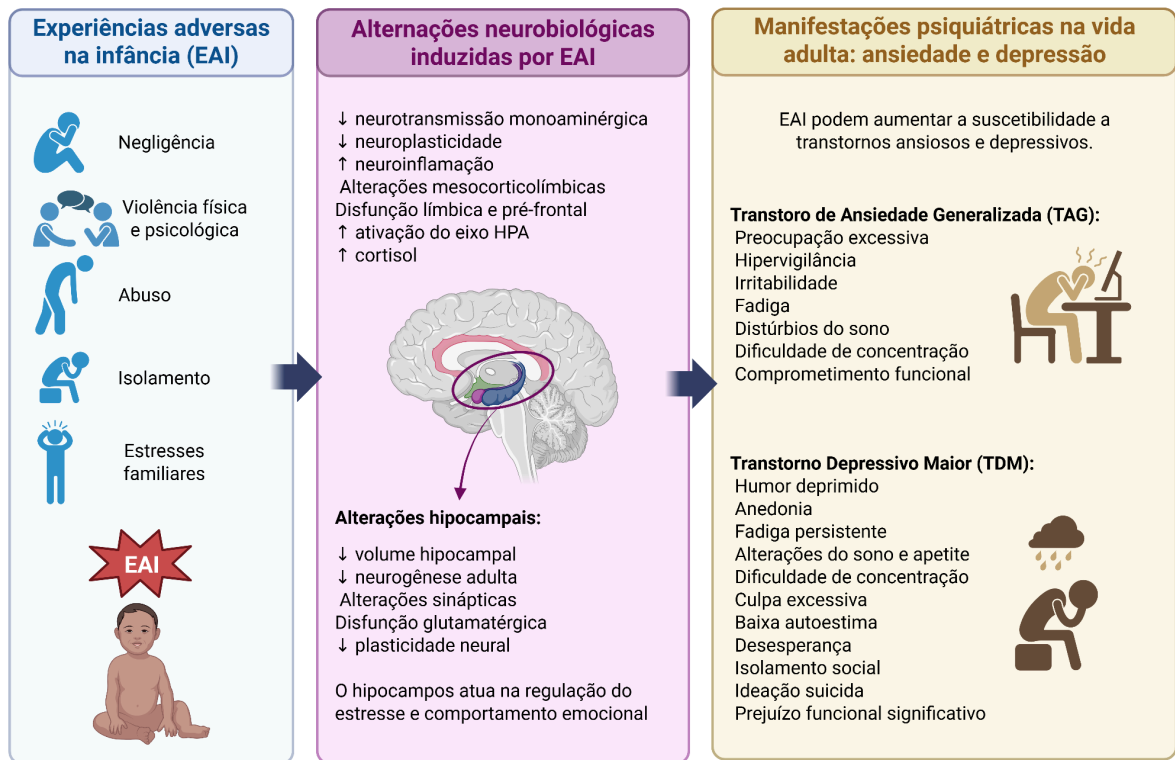


Figura 1. Relação entre as experiências adversas na infância (EAI), as alterações neurobiológicas induzidas por EAI, incluindo disfunções na neurotransmissão monoaminérgica, neuroinflamação, alterações hipocampusais e hiperativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), e o desenvolvimento de manifestações psiquiátricas na vida adulta, como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e o transtorno depressivo maior (TDM).

Fonte: Autoria própria, elaborada com BioRender.

O tratamento do TDM baseia-se tradicionalmente na combinação entre farmacoterapia e psicoterapia, sendo os antidepressivos a principal estratégia terapêutica utilizada na prática clínica (Yin et al., 2023a). Entre esses, os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) são considerados tratamento de primeira linha, destacando-se o escitalopram pela eficácia e segurança. Contudo, esses fármacos apresentam início de ação relativamente lento e não são eficazes para todos os pacientes, o que limita sua efetividade em parte dos casos (Yin et al., 2023a). Estima-se que cerca de um terço dos pacientes não responde adequadamente às terapias disponíveis atualmente (Heshmati; Russo, 2015). Nesse contexto de quadros resistentes a tratamentos e da complexidade clínica associada à doença, o manejo terapêutico da depressão permanece um desafio relevante para os sistemas de saúde (Célem et al., 2024).

A base neurobiológica do tratamento antidepressivo clássico está historicamente associada à hipótese monoaminérgica da depressão, segundo a qual déficits na neurotransmissão serotoninérgica, noradrenérgica e dopaminérgica contribuem para a fisiopatologia do transtorno (Lopez-Munoz; Alamo, 2009). Evidências experimentais

demonstram que a modulação dessas monoaminas influencia diretamente a manifestação dos sintomas depressivos e a resposta terapêutica aos antidepressivos, especialmente em relação à serotonina e à noradrenalina (Andrews et al., 2011). Nesse sentido, a observação de que fármacos capazes de aumentar a disponibilidade sináptica dessas substâncias promovem melhora clínica sustentou o desenvolvimento da hipótese monoaminérgica como um dos principais modelos explicativos da depressão, permanecendo até hoje como um referencial importante na compreensão dos mecanismos farmacológicos envolvidos no tratamento da doença (Krishnan; Nestler, 2010).

A *Cannabis sativa*, conforme apresentado na figura 2, é uma planta utilizada há séculos por suas propriedades medicinais e psicotrópicas, sendo atualmente uma das substâncias naturais mais investigadas devido ao seu potencial terapêutico em diferentes condições neuropsiquiátricas (Radwan et al., 2021). Sua composição química é complexa, incluindo mais de 500 constituintes, entre eles fitocanabinoides, terpenos, flavonoides e alcaloides, destacando-se o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), principal composto psicomimético da planta, e o canabidiol (CBD), associado a efeitos moduladores sobre ansiedade, estresse e regulação emocional (Radwan et al., 2021). Os efeitos farmacológicos desses compostos ocorrem principalmente por meio da interação com o sistema endocanabinoide (SEC), uma extensa rede neuromoduladora envolvida tanto no desenvolvimento do sistema nervoso central quanto na regulação de processos fisiológicos e cognitivos relacionados à homeostase, comportamento emocional, neuroplasticidade e resposta ao estresse (Lu; Mackie, 2021).

O SEC é composto principalmente por endocanabinoides endógenos, como a anandamida e o 2-araquidonoilglicerol, por receptores canabinóides, especialmente os receptores canabinóides do tipo 1 (CB1R) e do tipo 2 (CB2R), e por enzimas responsáveis pela síntese e degradação desses ligantes (Lu; Mackie, 2021). Entre esses componentes, o CB1R destaca-se pela ampla distribuição em regiões límbicas, incluindo hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal, atuando na modulação da liberação de neurotransmissores, especialmente GABA e glutamato, e influenciando processos relacionados à atividade sináptica, plasticidade neural, regulação emocional e resposta ao estresse (Lu; Mackie, 2021). Para além de sua atuação neuronal, o CB1R também participa da comunicação entre neurônios e astrócitos, ampliando sua participação na integração funcional dos circuitos neurais envolvidos no comportamento emocional (Valentino; Volkow, 2024).

Os efeitos do THC estão relacionados principalmente à interação com receptores canabinóides, especialmente o CB1R, que pode formar heterodímeros com outros receptores acoplados à proteína G e interagir com sistemas neurotransmissores adicionais envolvidos na

modulação emocional, incluindo receptores serotoninérgicos (Valentino; Volkow, 2024). Em contrapartida, o CBD apresenta baixa afinidade direta pelos receptores canabinoides, mas exerce efeitos moduladores sobre o SEC e outros sistemas neuroquímicos relacionados à ansiedade e à depressão (Valentino; Volkow, 2024). Evidências indicam que o CBD pode atuar sobre receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} e aumentar indiretamente os níveis de anandamida, mecanismos associados a propriedades ansiolíticas e antidepressivas sem o potencial de abuso observado em agonistas canabinoides diretos (Valentino; Volkow, 2024). Além disso, vale destacar que a farmacocinética do CBD apresenta elevada variabilidade dependente de fatores como o estado nutricional, sendo demonstrado que a ingestão concomitante de lipídios aumenta significativamente sua biodisponibilidade sistêmica e os níveis plasmáticos alcançados, aspecto relevante para sua aplicação experimental e terapêutica (Abbotts et al., 2022).

Em condições de estresse crônico, a ativação persistente do eixo HPA promove alterações neuroendócrinas associadas à desregulação das respostas adaptativas ao estresse (Menke, 2024). Nesse contexto, observa-se redução da expressão de CB₁R e de endocanabinóides em diferentes regiões límbicas, alterações relacionadas ao desenvolvimento de fenótipos comportamentais associados à ansiedade, depressão e prejuízo cognitivo (deRoos-Cassini et al., 2020). De forma consistente, estudos experimentais em roedores, demonstram que alterações induzidas artificialmente no SEC, como a deleção genética de CB₁R, promovem aumento de comportamentos do tipo ansioso e depressivo, redução do consumo de sacarose indicativa de anedonia e déficits de memória, reforçando o papel do sistema endocanabinoide na modulação emocional e cognitiva (Wang et al., 2023).

Figura 2 – Sistema endocanabinoide e mecanismos neurobiológicos da *Cannabis sativa*

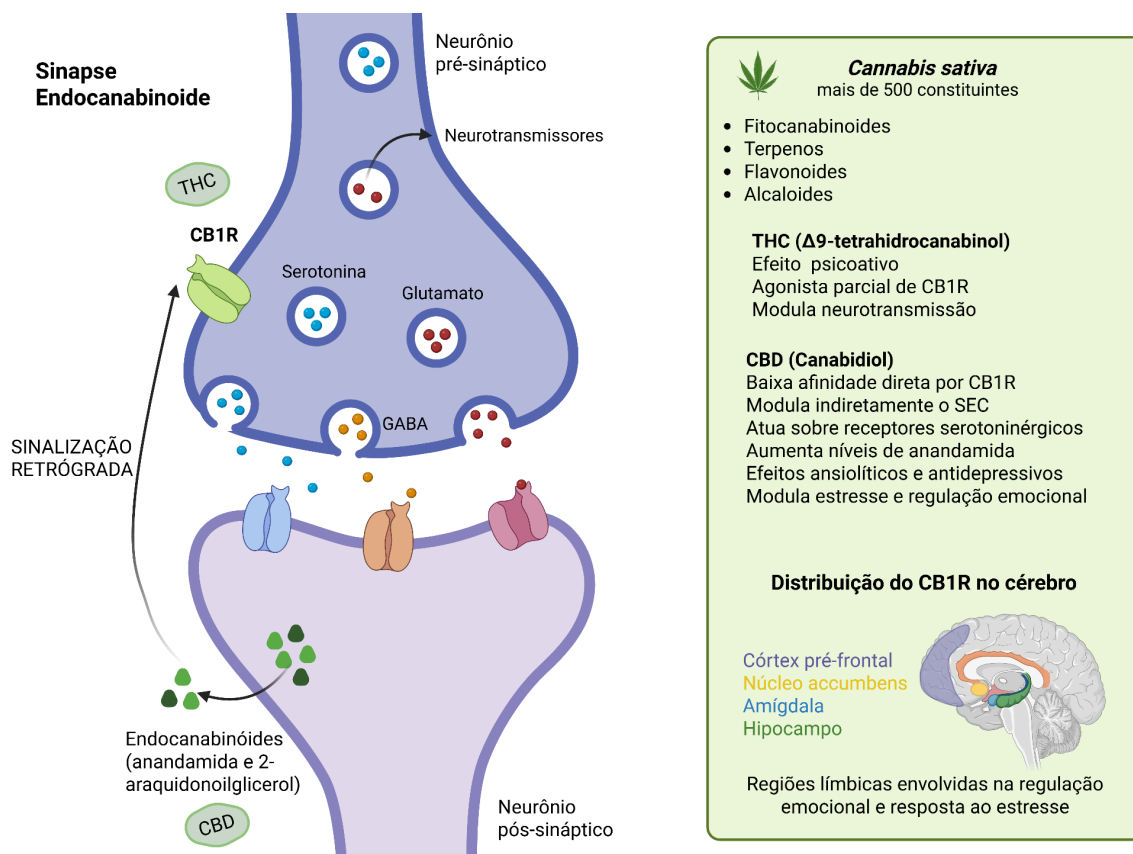


Figura 2. Representação da sinapse endocanabinoide e da atuação dos fitocanabinóides da *Cannabis sativa* no sistema endocanabinoide (SEC), destacando a modulação da neurotransmissão pelo tetrahydrocannabinol (THC) e canabidiol (CBD) por meio da interação com o receptor canabinoide tipo 1 (CB1R), além da distribuição do CB1R em regiões cerebrais relacionadas à regulação emocional e resposta ao estresse.

Fonte: Autoria própria, elaborada com BioRender.

Nesse contexto, o presente trabalho avaliou o potencial terapêutico do óleo de CBD isolado e do óleo de CBD de espectro completo (*full spectrum*), que se diferenciam pela presença, neste último, de múltiplos fitocanabinóides, terpenos e flavonóides capazes de atuar de forma sinérgica no chamado efeito entourage, potencializando os efeitos terapêuticos e permitindo a obtenção de respostas biológicas com menores concentrações do composto isolado (Marinotti; Sarill, 2020). Considerando a relevância do estresse precoce como fator de vulnerabilidade para transtornos do humor, a participação do hipocampo e do sistema endocanabinoide na fisiopatologia da depressão e os potenciais efeitos moduladores do CBD sobre respostas comportamentais e neurobiológicas relacionadas ao estresse, esse estudo buscou investigar os efeitos da privação maternal associada ao isolamento social sobre comportamentos do tipo ansioso e depressivo e sobre a concentração hipocampal de CB1R em ratos machos, bem como avaliar o potencial terapêutico de diferentes formulações derivadas de *Cannabis sativa* nesse modelo experimental.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do estresse de privação maternal (PM) e do isolamento social (IS), bem como o potencial terapêutico do tratamento crônico com óleos de canabidiol isolado e de espectro completo (*full spectrum*) da *Cannabis sativa*, administrados por via oral, sobre a concentração proteica hipocampal de CB1R e sobre comportamentos tipo ansioso e depressivo em ratos adultos machos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar o comportamento exploratório e motor em ratos machos submetidos à privação maternal, ao isolamento social e ao tratamento crônico com óleo de canabidiol isolado e óleo de espectro completo;

Verificar o comportamento tipo ansioso em ratos machos submetidos à privação maternal, ao isolamento social e ao tratamento crônico com óleo de canabidiol isolado e óleo de espectro completo;

Examinar comportamento tipo depressivo em ratos machos submetidos à privação maternal, ao isolamento social e ao tratamento crônico com óleo de canabidiol isolado e óleo de espectro completo;

Investigar o efeito do estresse de privação maternal e do isolamento social, bem como do tratamento crônico com óleo de canabidiol isolado e óleo de espectro completo, sobre a concentração proteica hipocampal de CB1R em ratos machos adultos.

3 METODOLOGIA

Este estudo adotou uma abordagem quantitativa com delineamento experimental *in vivo*, utilizando alocação aleatória dos animais nos grupos experimentais. O objetivo principal foi investigar os efeitos do estresse precoce, induzido por privação maternal e isolamento social na fase jovem da vida adulta, bem como do tratamento crônico com óleos de *Cannabis sativa*, sobre comportamentos do tipo ansioso e depressivo e sobre alterações neuroquímicas associadas ao sistema endocanabinoide. A análise da concentração proteica hipocampal de CB1R permitiu investigar possíveis mecanismos biológicos subjacentes às alterações comportamentais observadas.

A estrutura metodológica do estudo foi organizada conforme a estratégia PICOT, descrita a seguir:

População: ratos Wistar machos.

Intervenção: privação maternal, isolamento social e tratamento crônico com óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo, óleo de canabidiol isolado, escitalopram ou veículo (módulo de triglicerídeos de cadeia média - MCT).

Comparação: ratos não submetidos ao estresse e tratados com veículo; ratos submetidos ao estresse e tratados com veículo; ratos submetidos ao estresse e tratados com escitalopram (10 mg/kg); ratos submetidos ao estresse e tratados com óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo (1 mg/kg); ratos submetidos ao estresse e tratados com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg).

Desfechos (outcomes): avaliação de comportamento exploratório e motor por meio do teste de campo aberto, de comportamentos do tipo ansioso por meio do labirinto em cruz elevado, e de comportamentos do tipo depressivo por meio do teste de natação forçada, além da quantificação da concentração proteica hipocampal de CB1R.

Tempo: o estudo foi conduzido ao longo de 24 meses.

Figura 3 – Desenho do estudo

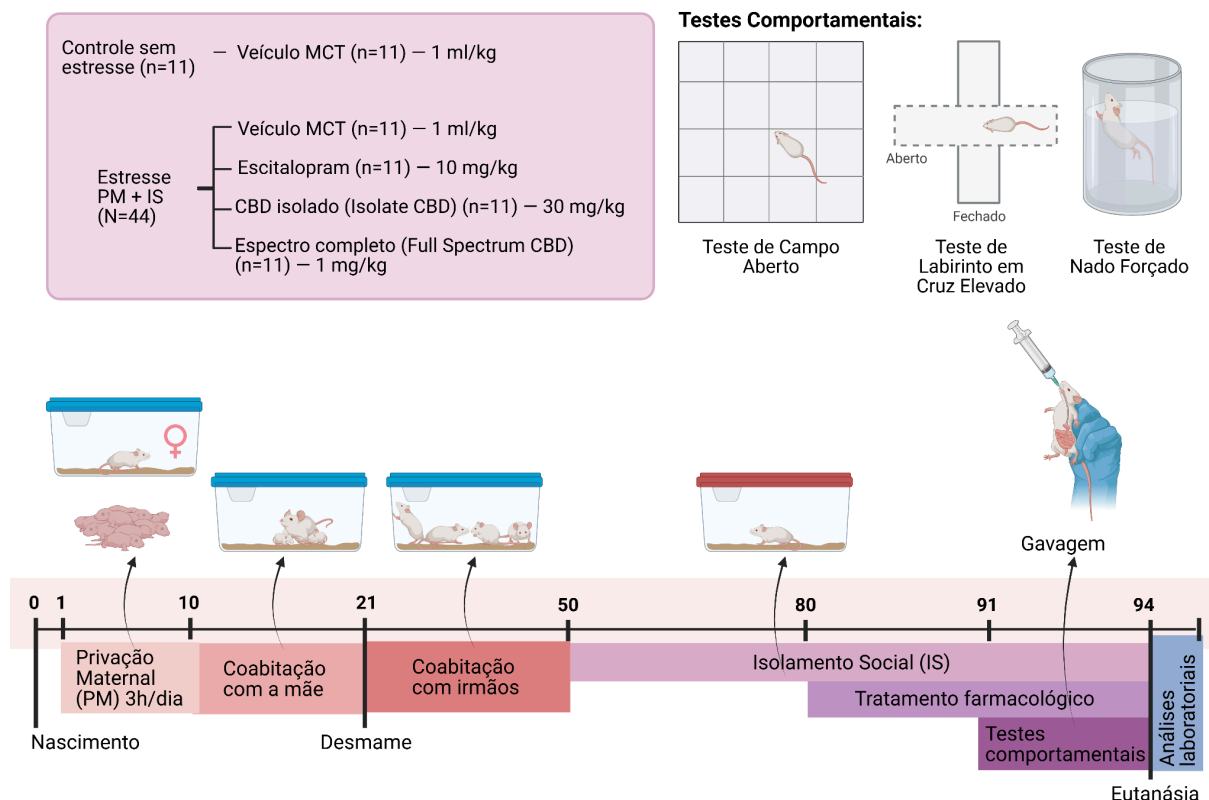


Figura 3. Delineamento experimental do estudo.

Fonte: Autoria própria, elaborada com BioRender.

3.1 MODELOS ANIMAIS

Os animais utilizados neste estudo foram provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus Chapecó* (BIOCHUFFS), local onde também foram conduzidos os procedimentos experimentais. O biotério possui infraestrutura registrada no Cadastro de Instituições de Uso Científico de Animais (CIUCA), sob o número CIAEP/CONCEA nº 02.0118.2019, atualizado pelo CIAEP número 0301182025, atendendo às diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com licença CONCEA/MCTI número 03.0118.2025-04.01.13.2025. O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFFS (CEUA nº 5042181124).

Os ratos foram mantidos em sistema convencional de biotério, sendo alojados em gaiolas abertas ou em gaiolas individualmente ventiladas (IVC). Na sala de alojamento coletivo, utilizou-se sistema de ventilação individual, no qual cada rack possui mecanismos independentes de insuflação e exaustão de ar, garantindo remoção eficiente de gases como

amônia e CO₂, controle adequado da umidade e redução do crescimento microbiano. Além disso, esse sistema contribuiu para a diminuição de ruídos e odores ambientais, reduzindo possíveis estímulos estressores externos não previstos no delineamento experimental.

Os mini-isoladores utilizados são confeccionados em polisulfona (PSU), material de alta resistência térmica, com sistema de ventilação capaz de assegurar a distribuição uniforme do ar filtrado. As gaiolas apresentavam dimensões de 26,4 × 34,1 × 50,1 cm, área total de piso de 1154 cm², grade aramada em aço inoxidável, comedouro e suporte para dois bebedouros, que eram substituídos periodicamente. As tampas continham suportes para filtros e eram fixadas por presilhas de fechamento rápido. As gaiolas foram substituídas semanalmente priorizando o bem-estar animal.

Durante o protocolo de isolamento social, os animais foram mantidos em gaiolas abertas confeccionadas em polipropileno, com dimensões de 30 × 20 × 19 cm e capacidade para um animal por gaiola, contendo tampa aramada em aço inoxidável com comedouro e suporte para bebedouro. Essas gaiolas não possuíam tampa-filtro e foram mantidas em estantes abertas, sendo o controle de temperatura, umidade e filtragem do ar realizado no ambiente da sala. A troca das gaiolas também ocorreu semanalmente.

Todos os membros da equipe responsável por manusear os animais foram capacitados, obrigatoriamente, com cursos de Manejo de Animais de Laboratório ou similares, além de capacitação interna sobre as regras e protocolos específicos do BIOCHUFFS. A pesquisa contou também, com voluntários para outras funções que não envolviam o manejo direto dos animais, mas que eram relevantes para o desenvolvimento do estudo. Todos os procedimentos foram realizados considerando princípios éticos de bem-estar animal, com utilização do número mínimo necessário de animais para obtenção de resultados estatisticamente confiáveis, assegurando condições adequadas de alojamento, alimentação e higiene durante todo o período experimental.

As condições de alojamento consideraram fatores como crescimento dos animais e densidade populacional nas gaiolas, respeitando as recomendações da Resolução CONCEA nº 15, de 16 de dezembro de 2013, referente ao espaço mínimo por animal. Durante o período de alojamento coletivo, os animais foram mantidos em grupos de até quatro indivíduos por gaiola, exceto aqueles submetidos ao protocolo de isolamento social.

Os animais permaneceram sob ciclo claro/escuro de 12 horas (07:00h às 19:00h), com acesso liberado a água e ração, em ambiente com temperatura controlada de 22 ± 2 °C. Todos os procedimentos experimentais seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de

Experimentação Animal (COBEA) e foram realizados somente após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da UFFS.

Figura 4 – Gaiolas ventiladas individualmente e gaiolas abertas



Figura 4. Fotos reais de gaiolas ventiladas individualmente e gaiolas abertas do BIOCHUFFS.

Fonte: Autoria própria.

O estudo utilizou 55 ratos Wistar machos (N=55). Destes, foram constituídos cinco grupos de animais, sendo eles:

- Grupo C+CT = animais sem estresse + veículo;
- Grupo E+CT = PM + IS + veículo;
- Grupo E+ESC = PM + IS + Escitalopram (10mg/kg);
- Grupo E+CBD = PM + IS + Óleo de *Cannabis sativa* com Canabidiol isolado (CBD 30 mg/kg);
- Grupo E+FS = PM + IS + Óleo de *Cannabis sativa* full spectrum (CBD FS 1 mg/kg)

O protocolo de privação maternal (PM) foi realizado por meio da separação dos filhotes da mãe durante 3 horas diárias nos primeiros 10 dias de vida dos animais. Durante esse período, os filhotes permaneceram juntos em uma mesma gaiola e, ao término das 3

horas, foram devolvidos à gaiola materna. Os animais do grupo controle não submetidos ao estresse permaneceram continuamente com a mãe durante esse período. Após o décimo dia de privação maternal, os filhotes permaneceram com suas respectivas mães até o 21º dia de vida, quando ocorreu o desmame.

Após o desmame, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas contendo de dois a quatro indivíduos por gaiola. Com exceção do grupo controle sem estresse, os animais permaneceram em coabitação até a idade definida no protocolo experimental, quando foram submetidos ao isolamento social. O protocolo de isolamento social (IS) foi iniciado quando os animais atingiram aproximadamente 50 dias de idade, período correspondente à puberdade em ratos Wistar (Arellano; Duque; Rakic, 2024). Esse procedimento consistiu na manutenção dos animais em alojamento individual por 30 dias consecutivos (Serra et al., 2005), modelo experimental amplamente descrito como indutor de comportamentos do tipo ansioso e depressivo nessa espécie (Djordjevic et al., 2012).

Os animais não submetidos ao isolamento social permaneceram em gaiolas coletivas com até quatro indivíduos por gaiola. Ao final do período de isolamento social e dos tratamentos experimentais, os animais apresentavam aproximadamente 94 dias de idade, fase em que já haviam ultrapassado o período puberal, que ocorre entre os dias 36 e 66 após o nascimento, sendo classificados como jovens adultos (Sengupta, 2013). Nesse estágio do desenvolvimento, o sistema serotoninérgico encontra-se plenamente estabelecido, com níveis de serotonina (5-HT) e ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) comparáveis aos observados em ratos adultos (Herregodts et al., 1990).

3.2 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS

Após 30 dias de isolamento social, os animais foram submetidos ao tratamento crônico por um período de 14 dias. As administrações foram realizadas por via oral, utilizando o método de gavagem. Um total de 55 animais foi distribuído em cinco grupos experimentais (N=11 por grupo), com cada grupo composto por 11 machos.

O grupo controle recebeu triglicerídeos de cadeia média por via oral, utilizado como veículo, uma vez que os tratamentos à base de CBD são compostos lipofílicos e, portanto, foram diluídos nesse meio.

A dose de escitalopram utilizada neste estudo foi de 10 mg/kg, conforme descrito na literatura científica, na qual essa posologia demonstrou efeitos antidepressivos significativos em modelos experimentais (De Michelis Mograbi et al., 2026; White et al., 2024). Em

modelos animais de depressão induzida por estresse crônico leve, o escitalopram apresentou eficácia comprovada, destacando-se pelo início relativamente mais rápido de ação quando comparado a outros antidepressivos disponíveis (Arroll, 2005). O fármaco foi adquirido na forma líquida, em frascos de 15 mL, contendo concentração de 20 mg/mL do princípio ativo, produzido pela Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., localizada em Guarulhos, São Paulo, Brasil.

O óleo de canabidiol isolado e o óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo (*full spectrum*) apresentam diferenças relevantes em sua composição química. Enquanto o CBD isolado consiste exclusivamente na forma purificada do canabidiol, o óleo *full spectrum* contém uma combinação de diversos compostos naturais da planta, incluindo outros canabinóides, terpenos e flavonoides. Essa associação promove o chamado efeito entourage, caracterizado pela ação sinérgica entre os componentes, o que pode potencializar os efeitos terapêuticos e permitir a utilização de doses menores do composto principal (Cohen et al., 2022; Marinotti; Sarill, 2020). Considerando essas características, ambos os tipos de óleo foram utilizados neste estudo.

Evidências experimentais indicam que a administração crônica de óleo de *Cannabis sativa full spectrum* em baixas doses, como 1 mg/kg, produz efeitos antidepressivos em modelos animais, reduzindo comportamentos do tipo anedônico e depressivo (Ferrarini et al., 2022). Dessa forma, a dose de 1 mg/kg foi selecionada com o objetivo de equilibrar eficácia terapêutica e segurança experimental, minimizando possíveis efeitos adversos relacionados principalmente à presença de THC. Além disso, diferentes doses de óleo de *Cannabis sativa* têm demonstrado potencial na redução de comportamentos relacionados à ansiedade e à depressão em modelos experimentais (De Assis et al., 2021).

O óleo de canabidiol isolado corresponde à forma purificada do CBD, obtida por meio da remoção de outros compostos presentes na planta, incluindo demais canabinóides, através de processos bioquímicos específicos. No óleo de espectro completo, embora o CBD esteja presente em maior proporção, diversos outros canabinóides podem atuar de forma integrada no organismo. Estudos experimentais demonstraram que a administração oral de canabidiol em ratos submetidos a modelos de depressão produziu efeitos antidepressivos tanto em protocolos agudos quanto crônicos, sendo a dose de 30 mg/kg associada à redução do tempo de imobilidade e aumento do tempo de natação em testes comportamentais. Assim, a dose de 30 mg/kg de CBD isolado foi adotada neste estudo com base em evidências previamente descritas na literatura científica (Shbiro et al., 2019).

3.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

Testes comportamentais em roedores são amplamente empregados na investigação de fenótipos relacionados à ansiedade e à depressão. Com base nisso, os procedimentos comportamentais deste estudo foram realizados no período da manhã, entre 8h e 12h, iniciando-se 60 minutos após a administração dos tratamentos.

3.1.1 Teste de campo aberto

O teste de campo aberto (Open-Field Test) foi utilizado para avaliar a atividade exploratória e locomotora dos animais. O experimento foi realizado em uma arena de 40×60 cm, composta por três paredes de madeira, uma parede frontal de vidro e piso dividido em nove retângulos iguais por linhas pretas. Cada animal foi colocado individualmente no aparato por cinco minutos, sendo registrados o número de cruzamentos entre os quadrantes e os episódios de exploração vertical (levantamentos). Entre um animal e outro, a caixa era higienizada com álcool a fim de minimizar odores potencialmente estressantes. As sessões foram gravadas com webcam C270 HD (720p, 30 fps, 0,9 MP) para posterior análise comportamental por meio do software X-PloRat, que permite a divisão virtual da arena em quadrantes e o registro automatizado de deslocamentos e comportamentos exploratórios, incluindo posturas de alongamento-atenção (Antiorio et al., 2022; Çevik et al., 2025).

Figura 5 – Teste de campo aberto

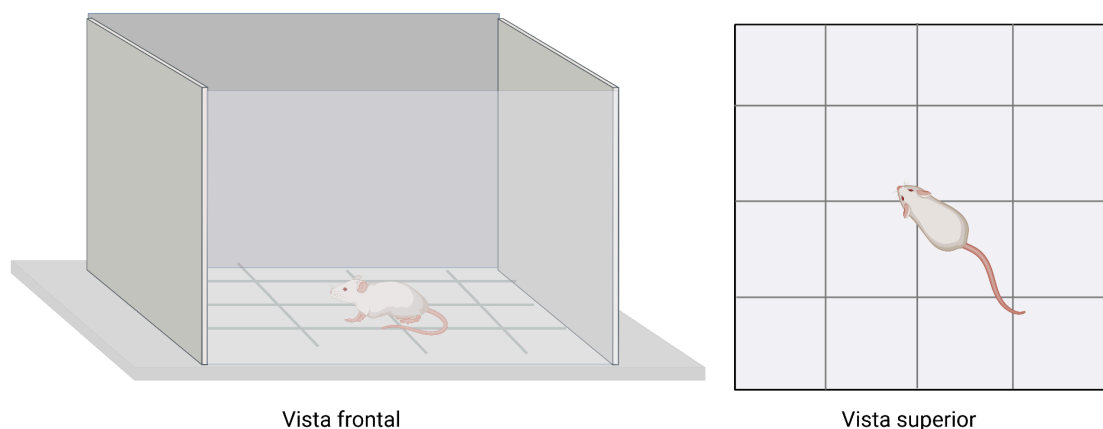


Figura 5. Representação do teste de campo aberto.

Fonte: Autoria própria, elaborada com BioRender.

3.1.2 Teste de labirinto em cruz elevado

O teste do labirinto em cruz elevado (Elevated Plus-Maze Test) foi utilizado para avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade (Danduga; Kola, 2024; Iglesias et al., 2023). O aparato experimental é composto por dois braços abertos (36×5 cm) e dois braços fechados de madeira ($36 \times 5 \times 18$ cm), conectados por uma plataforma central (5×5 cm) e posicionados a 50 cm de altura em relação ao solo. Entre um animal e outro, o labirinto era higienizado com álcool a 10% a fim de minimizar odores potencialmente estressantes. Cada animal foi colocado individualmente na plataforma central, orientado em direção a um dos braços fechados, e permaneceu livre para explorar o equipamento durante cinco minutos. A iluminação da sala foi mantida apenas com luz vermelha, com o objetivo de reduzir interferências relacionadas ao estresse ambiental. As sessões foram registradas com a mesma webcam utilizada no teste de campo aberto para posterior análise comportamental.

A quantificação do comportamento exploratório entre os braços abertos e fechados foi realizada com auxílio do software X-PloRat, que permitiu registrar o número de entradas e o tempo de permanência em cada área do aparato. O presente estudo analisou, como parâmetro principal, o tempo de permanência dos ratos nos braços abertos, braços fechados e centro do equipamento, além de considerar a porcentagem de preferência dos braços abertos, que foi calculada pela razão entre o tempo despendido nesses braços e o tempo total de permanência nos braços abertos e fechados. A menor permanência nos braços abertos é interpretada como comportamento relacionado à ansiedade, associado à aversão à novidade e à altura do aparato (Kruk-Slomka; Dzik; Biala, 2025).

Figura 6 – Teste de labirinto em cruz elevado

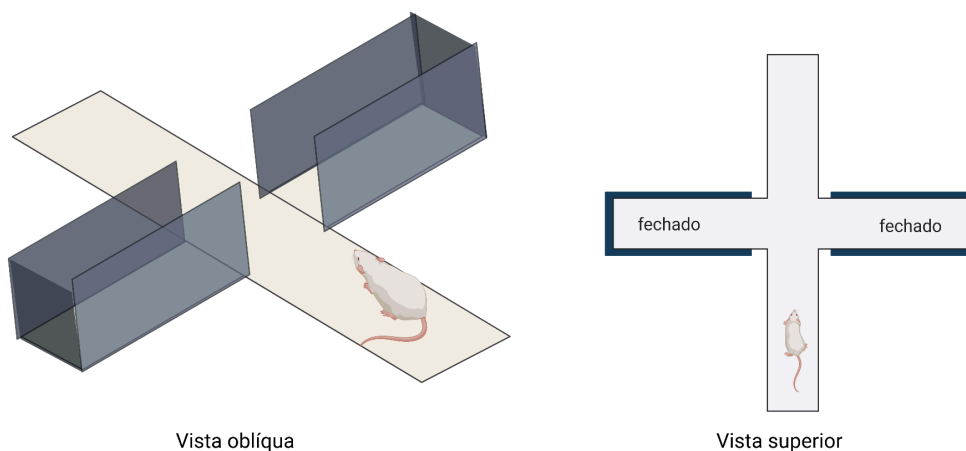


Figura 6. Representação do teste de labirinto em cruz elevado

Fonte: Autoria própria, elaborada com BioRender.

3.1.3 Teste de nado forçado

O teste de natação forçada (Forced Swim Test), originalmente descrito por Porsolt (Porsolt; Bertin; Jalfre, 1977), foi utilizado para avaliação de comportamentos do tipo depressivo e da eficácia de potenciais agentes antidepressivos. No primeiro dia do procedimento (13º dia de tratamento farmacológico), cada animal foi colocado individualmente em um cilindro contendo água à temperatura de 23 ± 2 °C, com profundidade suficiente para impedir o apoio das patas no fundo, permanecendo em sessão de pré-teste com duração de 15 minutos. Após 24 horas (14º dia de tratamento), os animais foram novamente submetidos ao teste por cinco minutos.

Durante a sessão experimental, foram analisados os parâmetros de imobilidade, caracterizados por movimentos mínimos necessários para manter a cabeça fora da água, sem tentativa ativa de escape, e de mobilidade, definidos pelo tempo gasto nadando ou realizando movimentos de escalada nas paredes do cilindro. Imediatamente após a realização do teste, os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação para coleta de amostras sanguíneas e de tecido cerebral.

Figura 7 – Teste de nado forçado

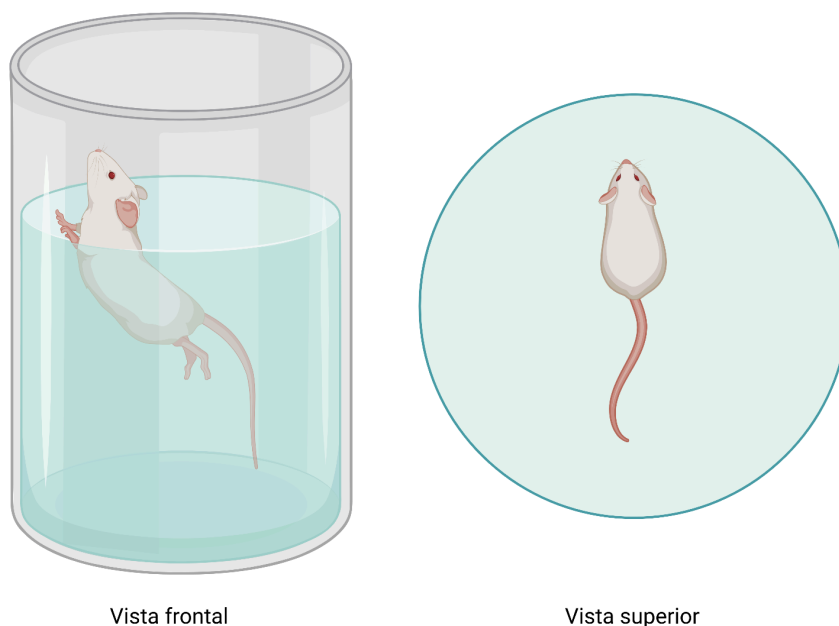


Figura 7. Representação do teste de nado forçado

Fonte: Autoria própria, elaborada com BioRender.

3.4 EUTANÁSIA E COLETA DE AMOSTRAS

Após a conclusão dos testes comportamentais, os animais foram submetidos à uma sedação inalatória rápida com isoflurano (3 mL), administrado em sistema aberto por meio de algodão embebido. O isoflurano foi utilizado devido à sua rápida indução anestésica e à eficiente promoção de relaxamento muscular (Otto; Von Thaden, 2012) com o objetivo de minimizar o estresse e facilitar a contenção física. Em seguida, procedeu-se à eutanásia por decapitação, método que possibilita rapidez no procedimento e preservação da integridade das respostas biológicas avaliadas.

O sangue foi coletado diretamente do tronco dos animais em tubos contendo heparina para obtenção de plasma e em tubos secos para obtenção de soro. Posteriormente, o encéfalo foi removido e dissecado em caixa resfriada para isolamento de regiões específicas, incluindo hipocampo, córtex pré-frontal, núcleo accumbens e amígdala, conforme referências anatômicas descritas por Paxinos e Watson (Paxinos; Watson, 2013). Os tecidos cerebrais foram acondicionados individualmente em tubos tipo Eppendorf e armazenados imediatamente em ultracongelador a -80°C para posterior análise bioquímica.

3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A concentração proteica de CB1R foi determinada por meio do ensaio imunoenzimático ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante do kit. Antes da realização do ensaio, a concentração total de proteínas das amostras foi determinada pelo método do ácido bicinconínico (BCA), utilizando kit comercial da ELK Biotechnology (Cat: BC016), com a finalidade de normalização dos resultados.

O princípio do ensaio baseou-se na redução de íons Cu^{2+} a Cu^{+} por proteínas em meio alcalino, formando um complexo púrpura com o reagente BCA, cuja absorbância foi medida a 562 nm, com faixa de detecção entre 25 e 2000 $\mu\text{g/mL}$ (Elk Biotechnology, 2026a). Para a quantificação de CB1R, foi utilizado o kit ELK Biotechnology (Cat: ELK6228), com sensibilidade de 0,108 ng/mL e faixa de detecção entre 0,32 e 20 ng/mL (Elk Biotechnology, 2026b).

O ensaio seguiu o princípio do método sanduíche, no qual as amostras foram incubadas em microplacas previamente sensibilizadas com anticorpos específicos, seguidas da adição de anticorpo biotilado e do complexo estreptavidina-HRP. A reação foi revelada com substrato TMB e interrompida com solução de parada, sendo a leitura da densidade óptica

realizada em espectrofotômetro a 450 nm. Os valores finais foram expressos em relação à massa total de proteína (pg/mg) (Elk Biotechnology, 2026a, 2026b).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro–Wilk. Para comparação entre os grupos experimentais, foi utilizada análise de variância de uma via (one-way ANOVA), seguida do teste post hoc de Tukey para comparações múltiplas, adotando-se nível de significância de $p < 0,05$.

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM), sendo os níveis de significância representados por $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ e $p < 0,0001$. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 9.0.0.

3.7 USO DE FERRAMENTAS DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Seguindo a Portaria CNPq N° 2.664, de 6 de março de 2026, os autores declaram que foram utilizadas ferramentas de inteligência artificial generativa como apoio auxiliar na concepção textual, revisão gramatical e refinamento da escrita acadêmica. Não houve geração integral automatizada do conteúdo científico, sendo toda a interpretação, análise crítica, redação final e validação das informações realizadas pelos autores. O uso da ferramenta seguiu os princípios de transparência e integridade científica recomendados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), garantindo o compromisso com a ética acadêmica, a autoria intelectual e a confiabilidade das informações apresentadas.

4 RESULTADOS

Inicialmente, todas as variáveis obtidas nos testes comportamentais foram avaliadas quanto à normalidade da distribuição por meio do teste de Shapiro–Wilk. Para aquelas que não apresentaram distribuição normal, foi aplicada transformação dos dados utilizando a fórmula $[= \sqrt{Y}]$. As variáveis que permaneceram sem distribuição normal mesmo após a transformação foram excluídas das análises estatísticas subsequentes.

4.1 TESTE DE CAMPO ABERTO

Os efeitos da privação maternal e do isolamento social, bem como dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg), óleo *full spectrum* (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg), foram avaliados no teste de campo aberto em ratos machos, conforme apresentado na Figura X. A análise de variância de uma via (one-way ANOVA) não demonstrou diferenças significativas entre o grupo controle (sem exposição ao estresse) e os grupos submetidos aos protocolos de PM e IS. De forma semelhante, nem os procedimentos de estresse nem os tratamentos farmacológicos promoveram alterações estatisticamente significativas na atividade locomotora, avaliada pelo número de cruzamentos ($F = 1,255$; $p = 0,3025$) e pelo número de levantamentos ($F = 0,9869$; $p = 0,4248$). Esses resultados indicam que, nas condições experimentais adotadas, os protocolos de estresse precoce e as intervenções farmacológicas não exerceram efeito relevante sobre o comportamento exploratório e motor dos animais.

Figura 8 – Atividade locomotora dos ratos machos no campo aberto

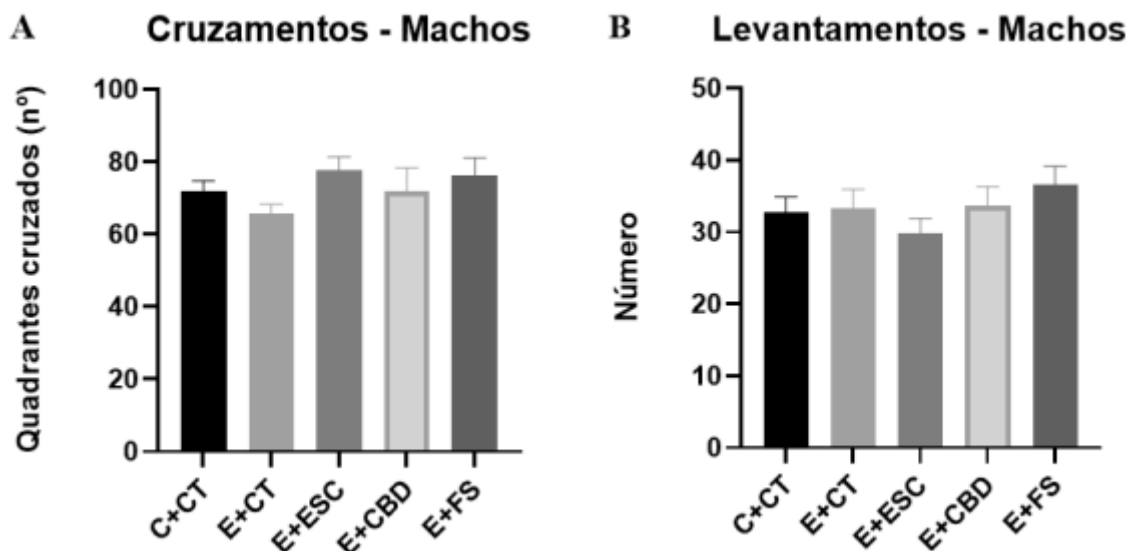


Figura 8. Atividade locomotora dos ratos machos no campo aberto. Efeitos do estresse induzido por PM e IS e dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg), óleo *full spectrum* (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) na atividade motora exploratória de ratos machos. A - Número médio de quadrantes cruzados por animal. Sem significância ($F = 1,255$; $p = 0,3025$). B - Número médio de levantamentos por animal. Sem significância ($F = 0,9869$; $p = 0,4248$). Dados expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Grupos ($n = 11$ /grupo): C = Controle; e E = Estresse; Tratamentos: CT = veículo; ESC = escitalopram (10 mg/kg); CBD = óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg); e FS = óleo *full spectrum* (1 mg/kg).

4.2 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

Os efeitos da privação materna e do isolamento social, bem como dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg), óleo *full spectrum* (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg), foram avaliados por meio do teste do labirinto em cruz elevado. A análise de variância de uma via (one-way ANOVA) revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos no tempo de permanência nos braços abertos ($F = 6,119$; $p = 0,0015$), no tempo de permanência no centro ($F = 5,018$; $p = 0,0023$) e na porcentagem de preferência pelos braços abertos ($F = 5,389$; $p = 0,0027$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no tempo de permanência nos braços fechados ($F = 0,9179$; $p = 0,4623$).

A análise post hoc de Tukey demonstrou que o grupo controle (C+CT) permaneceu significativamente mais tempo nos braços abertos em comparação ao grupo estressado tratado com veículo (E+CT) ($p = 0,0259$), indicando redução do tempo de permanência nessa região após a exposição à PM e ao IS. O grupo controle também apresentou maior tempo de permanência nos braços abertos em relação ao grupo tratado com escitalopram (E+ESC) ($p = 0,0480$), sugerindo que esse tratamento não foi suficiente para reverter completamente os

efeitos do estresse. Por outro lado, o tratamento com óleo de canabidiol isolado (E+CBD) aumentou significativamente o tempo de permanência nos braços abertos em comparação ao grupo E+CT ($p = 0,0112$), além de apresentar efeito superior ao escitalopram ($p = 0,0233$) e ao óleo *full spectrum* ($p = 0,0272$). Não foram observadas diferenças entre os grupos C+CT e E+CBD ($p = 0,9974$), indicando normalização do comportamento ansioso. O óleo *full spectrum* não apresentou diferenças significativas em relação aos grupos E+CT ($p = 0,9997$) e E+ESC ($p = 0,9995$), sugerindo efeito limitado na reversão dos efeitos do estresse.

Em relação ao tempo de permanência na região central do aparato, o grupo controle permaneceu significativamente menos tempo nessa área em comparação ao grupo E+CT ($p = 0,0011$), indicando aumento desse parâmetro após exposição à PM e ao IS. O grupo controle também apresentou menor tempo de permanência no centro em comparação ao grupo E+FS ($p = 0,0490$). Não foram observadas diferenças significativas entre o grupo controle e os grupos tratados com escitalopram (E+ESC) ($p = 0,4628$) ou CBD isolado (E+CBD) ($p = 0,5980$). Da mesma forma, não foram observadas diferenças entre o grupo E+CT e os grupos tratados com escitalopram ($p = 0,1057$), CBD isolado ($p = 0,1199$) ou óleo *full spectrum* ($p = 0,6569$), nem entre os grupos tratados entre si ($p > 0,9999$; $p = 0,7700$; $p = 0,7548$). Em conjunto, esses resultados indicam aumento do tempo de permanência no centro após a exposição ao estresse.

Quanto à porcentagem de preferência pelos braços abertos, a análise post hoc revelou que o grupo controle apresentou valores significativamente maiores em comparação ao grupo E+CT ($p = 0,0386$), indicando redução da exploração dessa região após a exposição à PM e ao IS. O grupo controle também apresentou maior preferência pelos braços abertos em relação ao grupo E+ESC ($p = 0,0301$), sugerindo ausência de reversão completa do comportamento ansioso com esse tratamento. Em contraste, o tratamento com óleo de canabidiol isolado (E+CBD) aumentou significativamente a preferência pelos braços abertos em comparação ao grupo E+CT ($p = 0,0255$), além de apresentar efeito superior ao escitalopram ($p = 0,0195$). Não foram observadas diferenças entre os grupos C+CT e E+CBD ($p > 0,9999$), indicando normalização do comportamento após o tratamento com CBD isolado. O óleo *full spectrum* não apresentou diferenças significativas em relação aos grupos C+CT ($p = 0,1318$), E+CT ($p = 0,9834$) ou E+ESC ($p = 0,9660$), sugerindo efeito limitado na reversão dos efeitos do estresse.

Figura 9 – Resultados do teste de labirinto em cruz elevado

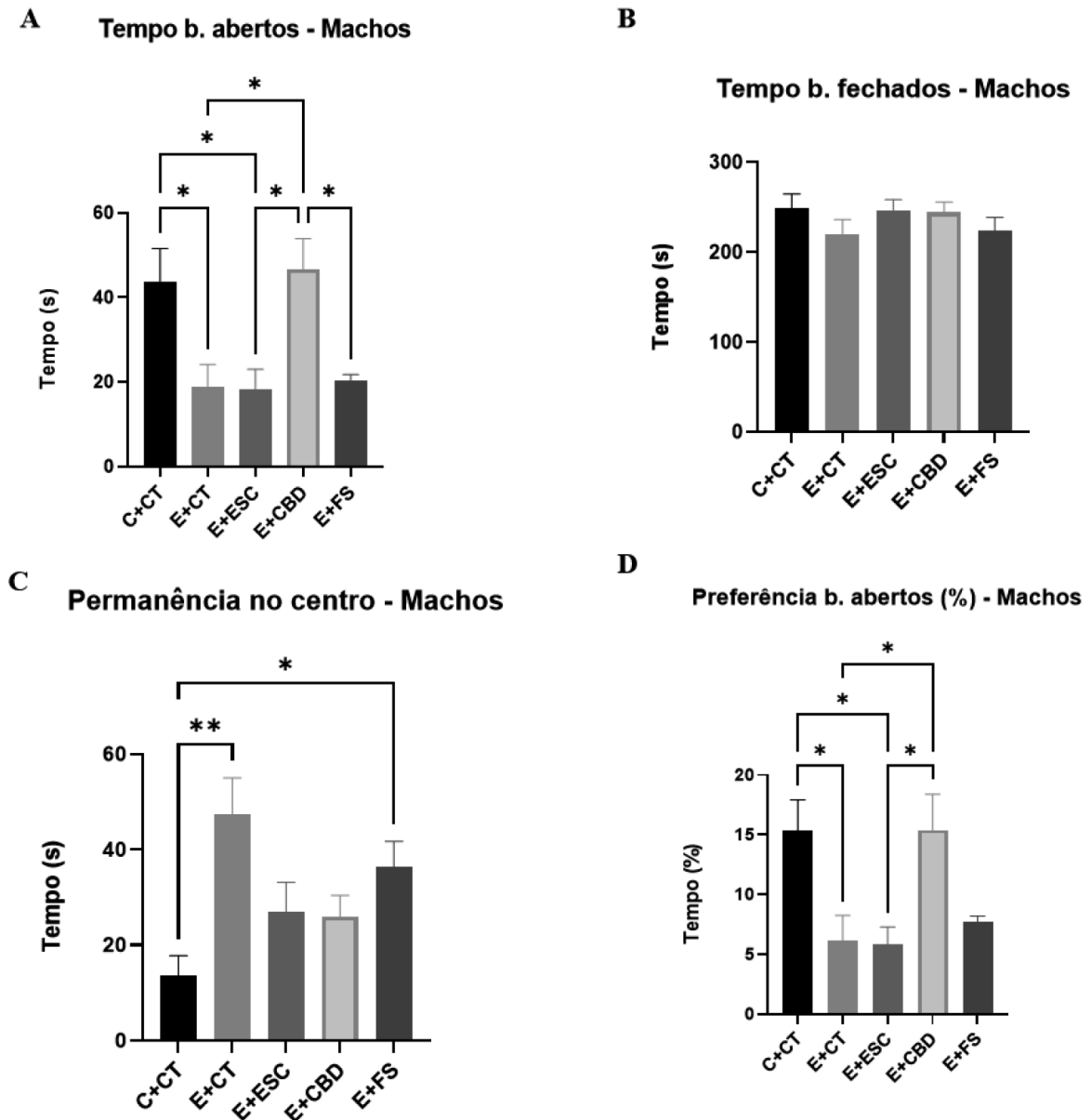


Figura 9. Teste de labirinto em cruz elevado. Efeitos do estresse induzido por privação maternal (PM) e isolamento social (IS) e dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg), óleo *full spectrum* (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) no comportamento exploratório e ansioso dos ratos machos. A - Tempo de permanência nos braços abertos. Diferença significativa entre os grupos ($F = 6,119$; $p = 0,0015$). PM e IS reduziram o tempo (C+CT vs. E+CT, $p = 0,0259$). CBD isolado aumentou o tempo (E+CBD vs. E+CT, $p = 0,0112$); escitalopram e óleo *full spectrum* não tiveram efeito significativo. B - Tempo de permanência nos braços fechados. Sem diferenças significativas entre os grupos ($F = 0,9179$; $p = 0,4623$). C - Tempo de permanência no centro. Diferença significativa entre os grupos ($F = 5,018$; $p = 0,0023$). PM e IS aumentaram significativamente o tempo de permanência no centro em comparação ao grupo controle (C+CT vs. E+CT, $p = 0,0011$). Nenhum tratamento (escitalopram, CBD isolado ou óleo *full spectrum*) alterou significativamente o tempo de permanência no centro em relação ao grupo controle ou ao grupo estressado tratado com veículo. D - Preferência por braços abertos (%). Diferença significativa entre os grupos ($F = 5,389$; $p = 0,0027$). PM e IS reduziram a preferência (C+CT vs. E+CT, $p = 0,0386$). CBD isolado aumentou a preferência (E+CBD vs. E+CT, $p = 0,0255$); escitalopram e óleo *full spectrum* não tiveram efeito significativo.

4.3 TESTE DE NADO FORÇADO

Os efeitos da privação maternal e do isolamento social, bem como dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg), óleo *full spectrum* (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg), foram avaliados por meio do teste de natação forçada em ratos machos. A análise de variância de uma via (one-way ANOVA) demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos no tempo de imobilidade ($F = 4,503$; $p = 0,0062$). A análise post hoc de Tukey indicou aumento significativo do tempo de imobilidade no grupo submetido à PM e ao IS em comparação ao grupo controle (C+CT vs. E+CT, $p = 0,0157$).

Em relação aos tratamentos, observou-se redução significativa do tempo de imobilidade nos grupos tratados com escitalopram ($p = 0,0145$) e com óleo de canabidiol isolado ($p = 0,0049$), quando comparados ao grupo estressado tratado com veículo (E+CT), com valores aproximando-se daqueles observados no grupo controle. Por outro lado, o tratamento com óleo *full spectrum* não promoveu redução significativa desse parâmetro ($p = 0,1497$).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para os parâmetros de escalada ($F = 0,1284$; $p = 0,9714$) e tempo de nado ativo ($F = 0,6669$; $p = 0,6205$). Esses resultados indicam que os efeitos observados estiveram restritos ao comportamento de imobilidade, sem alterações nos demais componentes motores avaliados no teste.

Figura 10 – Resultados do teste de nado forçado

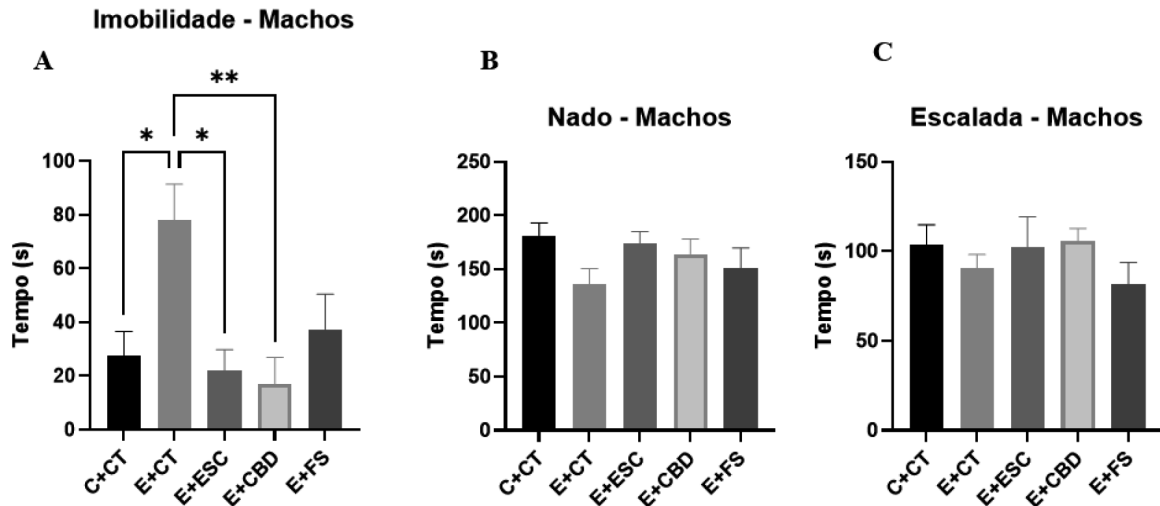


Figura 10. Teste de nado forçado. Efeitos do estresse induzido por privação maternal (PM) e isolamento social (IS) e dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg), óleo *full spectrum* (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) no comportamento de natação forçada dos ratos machos. A - Tempo de imobilidade. Diferença significativa entre os grupos ($F = 4,503$; $p = 0,0062$). PM e IS aumentaram significativamente o tempo de imobilidade em comparação ao grupo controle (C+CT vs. E+CT, $p = 0,0157$). Os tratamentos com escitalopram ($p = 0,0145$) e óleo de canabidiol isolado ($p = 0,0049$) reduziram 48 significativamente o tempo de imobilidade. O óleo *full spectrum* não teve efeito significativo ($p = 0,1497$). B - Tempo de nado ativo. Sem diferenças significativas entre os grupos ($F = 0,6669$; $p = 0,6205$). C - Tempo de escalada. Sem diferenças significativas entre os grupos ($F = 0,1284$; $p = 0,9714$). Dados expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM), e significância estatística definida para valores de p de $*p < 0,05$ e $**p < 0,01$. Grupos ($n = 11/\text{grupo}$): C = Controle; E = Estresse; Tratamentos: CT = veículo; ESC = escitalopram (10 mg/kg); CBD = óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg); FS = óleo *full spectrum* (1 mg/kg).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DE CB1R NO HIPOCAMPO

A análise de variância de uma via (one-way ANOVA) revelou diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos níveis de CB1R no hipocampo de ratos machos ($F = 5,543$; $p = 0,0039$). A análise post hoc de Tukey demonstrou que o grupo controle (C+CT) apresentou níveis significativamente mais elevados de CB1R em comparação ao grupo submetido à privação maternal e ao isolamento social tratado com veículo (E+CT) ($p = 0,0255$), indicando que os protocolos de estresse reduziram a concentração dessa proteína no hipocampo.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controle (C+CT) e os grupos tratados com escitalopram (E+ESC) ($p = 0,8414$), óleo de canabidiol isolado (E+CBD) ($p = 0,8878$) ou óleo *full spectrum* (E+FS) ($p > 0,9999$), sugerindo que esses tratamentos restabeleceram os níveis de CB1R a valores semelhantes aos observados no grupo controle.

Em relação ao grupo estressado tratado com veículo (E+CT), observou-se aumento significativo dos níveis de CB1R nos grupos tratados com óleo de canabidiol isolado (E+CBD) ($p = 0,0024$) e óleo *full spectrum* (E+FS) ($p = 0,0189$). No entanto, o grupo tratado com CBD isolado não diferiu significativamente dos grupos tratados com escitalopram (E+ESC) ($p = 0,2587$) ou óleo *full spectrum* (E+FS) ($p = 0,8474$), indicando eficácia semelhante entre esses tratamentos na modulação da expressão proteica do receptor.

Por outro lado, o grupo tratado com escitalopram (E+ESC) não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo estressado tratado com veículo (E+CT) ($p = 0,1046$), sugerindo que esse tratamento não promoveu reversão significativa dos efeitos do estresse sobre os níveis hipocâmpais de CB1R.

Dessa forma, o óleo de canabidiol isolado e o óleo *full spectrum* foram eficazes na restauração dos níveis de CB1R no hipocampo de machos submetidos ao estresse precoce, enquanto o escitalopram apresentou um efeito não significativo.

Figura 11 – Níveis de CB1R no hipocampo de ratos machos

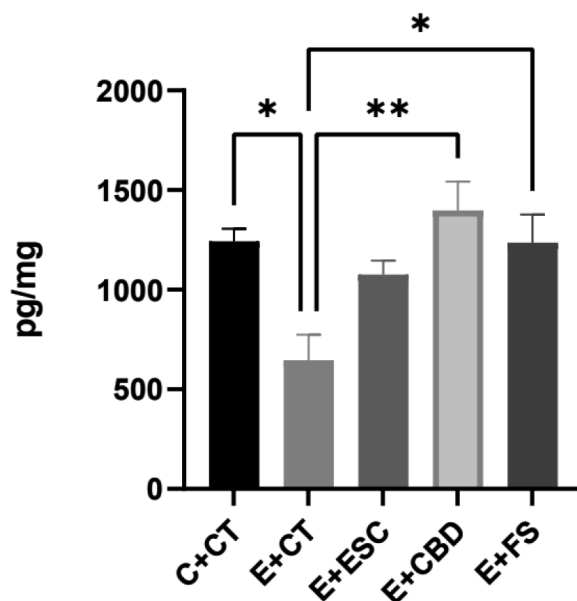
Níveis do CB1R no hipocampo - Machos

Figura 11. Níveis de CB1R no hipocampo de ratos machos. Efeitos do estresse induzido por privação maternal (PM) e isolamento social (IS) e dos tratamentos com óleo de canabidiol isolado (30mg/kg), óleo *full spectrum* (1mg/kg) e escitalopram (10mg/kg) na concentração de CB1R. Diferença significativa entre os grupos ($F = 5,543$; $p = 0,0039$). O grupo estressado tratado com veículo (E+CT) apresentou níveis significativamente reduzidos de CB1R em comparação ao grupo controle (C+CT vs. E+CT, $p = 0,0255$). Os tratamentos com óleo de canabidiol isolado (E+CBD vs. E+CT, $p = 0,0024$) e óleo *full spectrum* (E+FS vs. E+CT, $p = 0,0189$) reverteram significativamente essa redução, restabelecendo níveis proteicos equivalentes aos do grupo controle. O tratamento com escitalopram não promoveu reversão estatisticamente significativa em relação ao grupo estressado com veículo ($p = 0,1046$). Dados expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM), e significância estatística definida para valores de p de $*p < 0,05$ e $**p < 0,01$. Grupos ($n = 5/\text{grupo}$): C = Controle; E = Estresse; Tratamentos: CT = veículo; ESC = escitalopram (10 mg/kg); CBD = óleo de canabidiol isolado (30 mg/kg); FS = óleo *full spectrum* (1 mg/kg).

5 DISCUSSÃO

O presente trabalho investigou os efeitos da privação maternal nos primeiros dias de vida associada ao isolamento social durante a fase jovem adulta sobre fenótipos do tipo ansioso e depressivo, bem como sobre os níveis hipocampais de CB1R em ratos Wistar machos. De forma geral, a exposição aos estressores promoveu alterações consistentes nos animais, evidenciadas principalmente pelo aumento do tempo de imobilidade no teste de natação forçada e pela redução do tempo de permanência nos braços abertos no labirinto em cruz elevado. Associados à ausência de alterações locomotoras no teste de campo aberto, esses achados reforçam a adequação do modelo experimental e das doses farmacológicas utilizadas. Paralelamente, observou-se redução dos níveis hipocampais de CB1R nos animais submetidos ao estresse, associada à reversão parcial desses efeitos após o tratamento com óleo de canabidiol isolado e óleo *full spectrum*. Em conjunto, os resultados corroboram a hipótese de que o estresse precoce promove impactos duradouros sobre o comportamento emocional e sobre sistemas neurobiológicos envolvidos na regulação do estresse (Ding; Dai, 2019).

A associação entre privação maternal e isolamento social configura um modelo experimental robusto para investigação dos efeitos de experiências adversas ao longo do desenvolvimento, especialmente por integrar períodos críticos caracterizados por elevada sensibilidade neurobiológica (Nishi, 2020). Evidências demonstram que alterações no cuidado materno, particularmente quando marcadas por padrões fragmentados e imprevisíveis, podem induzir estresse crônico nos filhotes e promover alterações duradouras em circuitos cerebrais relacionados à emoção, memória e recompensa (Nishi, 2020). Além disso, a exposição precoce a adversidades associada a novos estressores em fases posteriores da vida tem sido consistentemente relacionada ao aumento da vulnerabilidade a transtornos psiquiátricos, especialmente ansiedade e depressão (Gong et al., 2026; Nishi, 2020). Nesse contexto, o modelo utilizado neste estudo permite reproduzir, de forma controlada, alterações comportamentais e neurobiológicas relevantes da fisiopatologia da depressão humana, reforçando o papel do estresse precoce como fator de vulnerabilidade para transtornos do humor (Birnie; Baram, 2025; Shin; Kim, 2023).

No teste de campo aberto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais no número de cruzamentos ou levantamentos. A exposição à privação maternal e ao isolamento social, assim como os tratamentos com óleo de canabidiol isolado, óleo *full spectrum* e escitalopram, não promoveram alterações detectáveis na atividade locomotora ou exploratória dos animais. Esses resultados indicam que, nas condições

experimentais adotadas, nem os protocolos de estresse precoce nem as intervenções farmacológicas exerceram influência relevante sobre a locomoção basal.

A ausência de alterações locomotoras possui relevância importante para a interpretação dos demais testes comportamentais, uma vez que sugere que as alterações observadas posteriormente no labirinto em cruz elevado e no teste de natação forçada não decorreram de déficits motores inespecíficos. Dessa forma, os resultados reforçam a validade interna do modelo experimental utilizado e indicam que os efeitos do estresse precoce se manifestaram predominantemente em domínios emocionais e motivacionais (Birnie; Baram, 2025; Gould; Dao; Kovacsics, 2009).

Paralelamente, os achados sugerem que os efeitos da PM associada ao IS manifestam-se predominantemente em circuitos neurais relacionados à regulação emocional, em detrimento de sistemas motores. Essa dissociação pode ser explicada pelo fato de que o desenvolvimento cerebral nas fases iniciais da vida ocorre em períodos particularmente sensíveis, nos quais processos como sinaptogênese, poda sináptica e maturação de circuitos excitatórios e inibitórios dependem intensamente de estímulos ambientais (Malave; Van Dijk; Anacker, 2022). Nesse contexto, experiências adversas precoces podem induzir alterações duradouras em estruturas límbicas, como hipocampo e amígdala, além de sistemas envolvidos na resposta ao estresse, como o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, impactando principalmente circuitos relacionados ao comportamento afetivo (Malave; Van Dijk; Anacker, 2022).

O fato de os tratamentos com canabidiol isolado e óleo *full spectrum* não alterarem a atividade locomotora, reforçando que os efeitos observados nos demais testes comportamentais não estão relacionados a alterações motoras, é consistente com estudos que demonstram que o canabidiol pode exercer efeitos ansiolíticos e antidepressivos sem impactar significativamente a locomoção, sugerindo ação preferencial sobre circuitos envolvidos na regulação do estresse e da afetividade (Jiang, 2005; Lowe et al., 2021).

Complementarmente, foi realizado o teste do labirinto em cruz elevado, um experimento amplamente utilizado na avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade em roedores, sendo considerado um dos modelos experimentais mais validados para investigação de respostas ansiogênicas e ansiolíticas (Danduga; Kola, 2024). Esse paradigma baseia-se no conflito entre o comportamento exploratório natural dos roedores frente a ambientes novos e a aversão inata a espaços abertos e elevados, de modo que maior permanência nos braços abertos é interpretada como indicativo de redução de comportamento ansioso (Walf; Frye, 2007).

No presente estudo, a associação entre PM e IS reduziu significativamente o tempo de permanência e a preferência pelos braços abertos, indicando aumento do comportamento do tipo ansioso nos animais submetidos ao estresse. Esses achados reforçam evidências de que experiências adversas precoces promovem alterações persistentes em circuitos neurais envolvidos na regulação emocional, especialmente em estruturas límbicas relacionadas ao processamento do medo, da ansiedade e da resposta ao estresse (Malave; Van Dijk; Anacker, 2022). Além disso, a exposição ao estresse durante períodos críticos do neurodesenvolvimento pode induzir alterações duradouras em sistemas neurotransmissores e em mecanismos moleculares associados à plasticidade neural, favorecendo maior vulnerabilidade ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos na vida adulta (Gong et al., 2026; Nishi, 2020).

Em relação aos tratamentos avaliados, o óleo de canabidiol isolado foi o único capaz de aumentar significativamente o tempo de permanência e a preferência pelos braços abertos, demonstrando efeito ansiolítico nos animais submetidos ao estresse. Resultados semelhantes já foram descritos em estudos experimentais utilizando o labirinto em cruz elevado, nos quais o CBD promoveu aumento do tempo gasto nos braços abertos sem alterar a atividade locomotora global, sugerindo ação específica sobre circuitos relacionados à ansiedade (Campos et al., 2013; Guimarães et al., 1990). Evidências indicam que o CBD possui baixa afinidade direta pelos receptores canabinoides, mas pode modular o sistema endocanabinoide por meio da inibição da hidrólise da anandamida, além de atuar sobre receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, mecanismos associados às suas propriedades ansiolíticas e antidepressivas (Melas et al., 2021). Paralelamente, estudos sugerem que os efeitos comportamentais do CBD podem envolver mecanismos epigenéticos relacionados à modulação da expressão gênica e à plasticidade neural (Dennen et al., 2022).

Por outro lado, o escitalopram e o óleo *full spectrum* não promoveram reversão significativa dos parâmetros ansiosos avaliados. A ausência de efeito expressivo do escitalopram pode estar relacionada à complexidade neurobiológica das alterações induzidas pelo estresse precoce, que envolvem não apenas disfunções serotoninérgicas, mas também alterações no sistema endocanabinóide e em mecanismos de neuroplasticidade (Shepard; Nugent, 2021). Em relação ao óleo *full spectrum*, embora canabinóides possam exercer efeitos ansiolíticos em baixas doses, evidências demonstram que compostos presentes na formulação, especialmente o THC, podem produzir respostas bidirecionais dependentes da dose e de características individuais, resultando em efeitos ansiolíticos ou ansiogênicos (Berger; Amminger; McGregor, 2022). Estudos utilizando o labirinto em cruz elevado demonstraram

que o CBD apresenta efeito ansiolítico dentro de uma faixa limitada de doses, sem alterar a atividade exploratória total dos animais, reforçando a importância da dose e da composição dos compostos canabinóides sobre os desfechos comportamentais observados (Guimarães et al., 1990; Melas et al., 2021).

Adicionalmente, o teste de natação forçada é um dos paradigmas comportamentais mais utilizados em estudos pré-clínicos para avaliação de comportamentos relacionados à depressão e triagem de potenciais antidepressivos, principalmente devido à sua sensibilidade experimental e facilidade de execução (Unal; Canbeyli, 2019; Yin et al., 2023b). O teste baseia-se na observação do comportamento de imobilidade em uma situação inescapável, sendo esse parâmetro interpretado como um indicativo de desesperança comportamental e retardo psicomotor relacionado à depressão (Unal; Canbeyli, 2019). No presente estudo, a associação entre PM e IS promoveu aumento significativo do tempo de imobilidade nos ratos machos, indicando comportamento compatível com um fenótipo do tipo depressivo. Esses achados corroboram evidências de que experiências adversas precoces podem induzir alterações comportamentais persistentes associadas ao desenvolvimento de transtornos do humor (Jamil et al., 2025).

Em relação aos tratamentos avaliados, tanto o escitalopram quanto o óleo de canabidiol isolado reduziram significativamente o tempo de imobilidade, aproximando os valores observados daqueles encontrados no grupo controle, sugerindo efeito antidepressivo de ambas as intervenções no modelo experimental utilizado. O escitalopram representa um dos antidepressivos mais amplamente utilizados no tratamento do transtorno depressivo maior, atuando principalmente por meio da modulação serotoninérgica (Yin et al., 2023a). Da mesma forma, estudos experimentais e revisões pré-clínicas têm demonstrado que o CBD apresenta propriedades ansiolíticas e antidepressivas em diferentes modelos animais de estresse e depressão, reforçando seu potencial terapêutico em transtornos neuropsiquiátricos (Blessing et al., 2015). Evidências indicam ainda que a administração crônica de canabinóides pode produzir efeitos comportamentais mais consistentes do que administrações agudas, especialmente por meio da modulação de mecanismos relacionados à neuroplasticidade e neurogênese hipocampal (Jiang, 2005). Em contraste, o óleo *full spectrum* não promoveu redução significativa do tempo de imobilidade, sugerindo menor eficácia antidepressiva nas condições experimentais avaliadas.

Os achados relacionados ao CBD isolado estão de acordo com estudos pré-clínicos que demonstram redução do comportamento tipo depressivo sem alterações significativas na atividade locomotora, reforçando a especificidade de seus efeitos sobre circuitos relacionados

à regulação emocional (Brandão et al., 2023). Além disso, estudos demonstram que canabinoides podem promover efeitos ansiolíticos e antidepressivos associados ao aumento da neurogênese hipocampal por meio da ativação de CB1R, especialmente após administração crônica (Jiang, 2005). Esse aspecto é particularmente relevante para o presente estudo, considerando o envolvimento do hipocampo tanto na fisiopatologia da depressão quanto na modulação dos efeitos do estresse precoce (Xu et al., 2020). Nesse contexto, o uso de modelos animais torna-se essencial para investigação de novas alternativas farmacológicas para depressão maior, especialmente considerando que parcela significativa dos pacientes não apresenta remissão adequada com os tratamentos disponíveis atualmente (Brandão et al., 2023). Dessa forma, os resultados observados reforçam o potencial terapêutico do CBD isolado na reversão de alterações comportamentais induzidas pelo estresse precoce.

Em conjunto, os resultados obtidos nos testes comportamentais demonstram que a associação entre privação maternal e isolamento social induziu alterações compatíveis com fenótipos do tipo ansioso e depressivo. A ausência de alterações locomotoras no teste de campo aberto, associada ao aumento do comportamento ansioso no labirinto em cruz elevado e ao aumento do tempo de imobilidade no teste de natação forçada, evidencia a consistência do modelo experimental utilizado. Esses achados sugerem que os efeitos do estresse precoce ocorreram predominantemente sobre circuitos envolvidos na regulação emocional e na resposta ao estresse, e não sobre a atividade motora inespecífica.

Os resultados da quantificação hipocampal de CB1R demonstraram que a associação entre privação maternal e isolamento social promoveu redução significativa dos níveis deste receptor nos animais submetidos ao estresse. Esse achado reforça evidências de que experiências adversas precoces podem induzir alterações persistentes no sistema endocanabinoide, especialmente em regiões límbicas relacionadas à regulação emocional, aos circuitos neurais de recompensa e motivação e à resposta ao estresse (deRoos-Cassini et al., 2020; Shepard; Nugent, 2021). O CB1R participa da modulação da neurotransmissão excitatória e inibitória, além de influenciar processos relacionados à neuroplasticidade e à homeostase emocional, sendo frequentemente associado à fisiopatologia da ansiedade e da depressão (Lowe et al., 2021).

Adicionalmente, os tratamentos com óleo de canabidiol isolado e óleo *full spectrum* promoveram aumento significativo dos níveis hipocampais de CB1R em comparação ao grupo estressado tratado com veículo, sugerindo efeito modulador desses compostos sobre o sistema endocanabinoide. Embora o CBD apresenta baixa afinidade direta pelo CB1R, estudos indicam que ele pode aumentar a sinalização endocanabinoide por meio da inibição

da degradação da anandamida e da modulação indireta da atividade do sistema endocanabinoide (Melas et al., 2021). Dessa forma, a reversão parcial observada nos níveis de CB1R pode estar relacionada à restauração de mecanismos envolvidos na resposta ao estresse e na regulação comportamental induzidos pelo estresse precoce (Jiang, 2005).

Por outro lado, o escitalopram não promoveu aumento significativo dos níveis de CB1R em relação ao grupo estressado tratado com veículo, apesar da melhora observada no teste de natação forçada. Esse resultado sugere que os efeitos antidepressivos do escitalopram ocorreram predominantemente por vias serotoninérgicas, sem atuação direta sobre alterações do sistema endocanabinoide induzidas pelo estresse precoce (Andrews et al., 2011; Yin et al., 2023a). Além disso, embora o óleo *full spectrum* também tenha promovido aumento dos níveis de CB1R, seus efeitos comportamentais mostraram-se menos consistentes quando comparados ao CBD isolado. Esse achado sugere que a presença de múltiplos compostos na formulação pode influenciar de maneira variável os efeitos observados, especialmente considerando possíveis interações entre canabinoides e diferenças relacionadas à dose e composição do extrato (Lichenstein, 2022).

Os resultados observados no presente estudo reforçam o potencial terapêutico do canabidiol e derivados de *Cannabis sativa* na modulação de comportamentos relacionados à ansiedade e à depressão induzidos pelo estresse precoce. Evidências pré-clínicas e clínicas têm demonstrado crescente interesse no CBD como alternativa terapêutica para transtornos neuropsiquiátricos, especialmente devido às suas propriedades ansiolíticas e antidepressivas associadas a um perfil de segurança favorável (Blessing et al., 2015). Paralelamente, estudos em humanos sugerem que o tratamento com produtos ricos em CBD pode reduzir sintomas de ansiedade e promover melhora do humor, sono e qualidade de vida, embora ainda sejam necessários estudos clínicos mais amplos e protocolos de administração crônica (Dahlgren et al., 2022). Nesse contexto, os achados do presente trabalho contribuem para a compreensão do potencial dos óleos de *Cannabis sativa* na redução de alterações comportamentais associadas ao estresse precoce e reforçam a relevância do sistema endocanabinoide como alvo terapêutico em transtornos psiquiátricos.

A modulação de CB1R e do sistema endocanabinoide parece desempenhar papel central nesses efeitos, visto que o sistema endocanabinóide participa da manutenção da homeostase e regula diversos processos relacionados ao comportamento emocional, à resposta ao estresse, à neurogênese e à neuroplasticidade (Lowe et al., 2021). Dessa forma, alterações induzidas pelo estresse precoce nesse sistema podem contribuir para o desenvolvimento de transtornos do humor, enquanto sua modulação farmacológica pode representar estratégia

terapêutica promissora. Embora extratos *full spectrum* apresentem potencial vantagem teórica devido ao chamado efeito entourage, relacionado à interação entre canabinóides, terpenos e flavonoides (Cohen et al., 2022; Marinotti; Sarill, 2020), estudos recentes demonstram resultados ainda heterogêneos em relação aos efeitos ansiolíticos e antidepressivos dos diferentes compostos derivados da *Cannabis sativa*, especialmente considerando dose, tempo de exposição e presença de THC (Lichenstein, 2022). Nesse sentido, os resultados obtidos no presente estudo sugerem que o CBD isolado apresentou maior consistência terapêutica na modulação comportamental observada.

Apesar da relevância dos achados, algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Inicialmente, o estudo foi conduzido exclusivamente em ratos machos, o que impede a generalização dos resultados para fêmeas, considerando as conhecidas diferenças sexuais na resposta ao estresse e na modulação do sistema endocanabinoide influenciadas por fatores hormonais. Além disso, por se tratar de um modelo experimental em roedores, a extrapolação dos resultados para humanos deve ser realizada com cautela, uma vez que comportamentos como tristeza subjetiva e ideação suicida não podem ser diretamente reproduzidos em modelos animais.

Adicionalmente, embora o presente estudo tenha utilizado um protocolo de tratamento crônico, com administração das substâncias ao longo de 14 dias, período relevante considerando o ciclo de vida dos ratos, apenas uma dose foi avaliada para cada tratamento, o que limita a análise de possíveis relações dose-resposta. Por fim, a investigação bioquímica foi restrita ao hipocampo, não contemplando outras regiões cerebrais relevantes para a fisiopatologia da depressão e da ansiedade, como córtex pré-frontal e amígdala, o que limita uma compreensão mais ampla dos mecanismos envolvidos.

Em conjunto, os achados do presente estudo demonstram que a exposição ao estresse precoce por meio da associação entre privação maternal e isolamento social foi capaz de induzir alterações comportamentais e neurobiológicas compatíveis com fenótipos do tipo ansioso e depressivo em ratos Wistar machos. A coerência entre os resultados obtidos nos diferentes testes comportamentais, associada à redução dos níveis hipocampais de CB1R, reforça a participação do sistema endocanabinoide na fisiopatologia das alterações induzidas pelo estresse. Paralelamente, a reversão parcial desses efeitos após o tratamento com óleo de canabidiol isolado sugere que a modulação do sistema endocanabinoide pode representar uma estratégia promissora na atenuação de alterações emocionais relacionadas à exposição a experiências adversas precoces.

Dessa forma, os resultados obtidos contribuem para ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos na relação entre estresse precoce, comportamento emocional e sistema endocanabinoide, destacando o CB1R como potencial alvo terapêutico em transtornos de humor. Embora estudos adicionais ainda sejam necessários para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos e validar esses efeitos em humanos, os achados do presente trabalho reforçam o potencial translacional do canabidiol, especialmente em contextos relacionados à ansiedade e depressão associadas ao estresse precoce.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a associação entre privação maternal nos primeiros dias de vida e isolamento social durante a adolescência foi capaz de induzir alterações comportamentais compatíveis com fenótipos do tipo ansioso e depressivo em ratos Wistar machos. Os animais submetidos ao estresse apresentaram redução do tempo de permanência nos braços abertos no labirinto em cruz elevado e aumento do tempo de imobilidade no teste de natação forçada, sem alterações significativas na atividade locomotora observada no teste de campo aberto. Esses achados reforçam a consistência do modelo experimental utilizado e demonstram que os efeitos do estresse precoce manifestaram-se predominantemente em domínios emocionais e motivacionais.

Além das alterações comportamentais, observou-se redução significativa dos níveis hipocâmpais de CB1R nos animais expostos aos protocolos de estresse, evidenciando o impacto do estresse precoce sobre o sistema endocanabinoide. Os tratamentos com óleo de canabidiol isolado e óleo *full spectrum* promoveram aumento dos níveis de CB1R em relação ao grupo estressado tratado com veículo, enquanto o óleo de canabidiol isolado apresentou os resultados mais consistentes nos testes comportamentais, reduzindo parâmetros relacionados à ansiedade e à depressão. Em conjunto, os resultados reforçam a relevância do sistema endocanabinoide na fisiopatologia dos transtornos do humor e destacam o potencial terapêutico do canabidiol em alterações emocionais associadas a experiências adversas precoces.

Apesar da relevância dos achados, considerando as limitações descritas, estudos futuros poderão ampliar a investigação dos efeitos dos derivados de *Cannabis sativa* em diferentes regiões cerebrais e avaliar possíveis diferenças relacionadas ao sexo e à dose administrada. Ainda assim, os resultados obtidos contribuem para a compreensão das alterações neurobiológicas induzidas pelo estresse precoce e reforçam o potencial translacional da modulação do sistema endocanabinoide em transtornos relacionados à ansiedade e à depressão.

REFERÊNCIAS

- ABBOTTS, Kieran Shay Struebin *et al.* Cannabidiol and Cannabidiol Metabolites: Pharmacokinetics, Interaction with Food, and Influence on Liver Function. **Nutrients**, v. 14, n. 10, p. 2152, 21 maio 2022.
- ANDREWS, Paul W. *et al.* Blue Again: Perturbational Effects of Antidepressants Suggest Monoaminergic Homeostasis in Major Depression. **Frontiers in Psychology**, v. 2, 2011.
- ANTIORIO, Ana Tfb *et al.* Mouse Behavior in the Open-field Test after Meloxicam Administration. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 61, n. 3, p. 270–274, 1 maio 2022.
- ARELLANO, Jon I.; DUQUE, Alvaro; RAKIC, Pasko. A coming-of-age story: adult neurogenesis or adolescent neurogenesis in rodents? **Frontiers in Neuroscience**, v. 18, p. 1383728, 5 mar. 2024.
- ARROLL, B. Efficacy and Tolerability of Tricyclic Antidepressants and SSRIs Compared With Placebo for Treatment of Depression in Primary Care: A Meta-Analysis. **The Annals of Family Medicine**, v. 3, n. 5, p. 449–456, 1 set. 2005.
- ASSOCIATION AMERICAN PSYCHIATRIC. **DSM-5: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. [S.l.]: Artmed Editora, 2014.
- BERGER, Maximus; AMMINGER, G. Paul; MCGREGOR, Iain S. Medicinal cannabis for the treatment of anxiety disorders. **Australian Journal of General Practice**, v. 51, n. 8, p. 586–592, 1 ago. 2022.
- BIRNIE, Matthew T.; BARAM, Tallie Z. The evolving neurobiology of early-life stress. **Neuron**, v. 113, n. 10, p. 1474–1490, maio 2025.
- BLESSING, Esther M. *et al.* Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety Disorders. **Neurotherapeutics**, v. 12, n. 4, p. 825–836, out. 2015.
- BRANDÃO, Aida A. C. *et al.* Nebulized and intraperitoneal ketamine have equivalent antidepressant-like effect in the forced swim and tail suspension tests in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 233, p. 173674, dez. 2023.
- CAMPOS, Alline C. *et al.* The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 16, n. 6, p. 1407–1419, 1 jul. 2013.
- CÉLEM, Júlia Paula *et al.* Avanços no tratamento da Depressão: eficácia de novos antidepressivos e abordagens psicoterapêuticas inovadoras. **Brazilian Journal of Health and Biological Science**, v. 1, n. 2, p. e65–e65, 3 set. 2024.
- ÇEVIK, Özge Selin *et al.* Contribution of distinctive outcome measures to the assessment of anxiety in the open field: A meta-analysis of factors mediating open-field test variability in rodent models of anxiety. **Behavioural Brain Research**, v. 490, p. 115612, jul. 2025.

COHEN, Nathan T. *et al.* Variability in Serum Concentrations and Clinical Response in Artisanal Versus Pharmaceutical Cannabidiol Treatment of Pediatric Pharmacoresistant Epilepsy. **The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 558–563, 2022.

DAHLGREN, Mary Kathryn *et al.* Clinical and cognitive improvement following full-spectrum, high-cannabidiol treatment for anxiety: open-label data from a two-stage, phase 2 clinical trial. **Communications Medicine**, v. 2, n. 1, p. 139, 2 nov. 2022.

DANDUGA, Ravi Chandra Sekhara Reddy; KOLA, Phani Kumar. Elevated Plus Maze for Assessment of Anxiety and Memory in Rodents. *In*: RAY, Swapan K. (Org.). **Neuroprotection**. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer US, 2024. v. 2761 p. 93–96.

DE ASSIS, Pollyana Mendonça *et al.* Broad-spectrum Cannabis oil alleviates behavioral symptoms associated with stress-related anxiety and depression in mice. **Pharmaceutical Sciences**, p. 1, 13 set. 2021.

DE MICHELIS MOGRABI, Karla *et al.* Chronic Unpredictable Stress Impairs Social Behaviour in Adult Male Rats: Correlations with Dopamine and Serotonin Levels. **Molecular Neurobiology**, v. 63, n. 1, p. 26, jan. 2026.

DENNEN, Catherine A. *et al.* Neurogenetic and Epigenetic Aspects of Cannabinoids. **Epigenomes**, v. 6, n. 3, p. 27, 26 ago. 2022.

DEROON-CASSINI, Terri A. *et al.* Meet Your Stress Management Professionals: The Endocannabinoids. **Trends in Molecular Medicine**, v. 26, n. 10, p. 953–968, out. 2020.

DING, Yuqiang; DAI, Jinxia. Advance in Stress for Depressive Disorder. *In*: FANG, Yiru (Org.). **Depressive Disorders: Mechanisms, Measurement and Management**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Singapore: Springer Singapore, 2019. v. 1180 p. 147–178.

DJORDJEVIC, Jelena *et al.* Effects of Chronic Social Isolation on Wistar Rat Behavior and Brain Plasticity Markers. **Neuropsychobiology**, v. 66, n. 2, p. 112–119, 2012.

ELK BIOTECHNOLOGY. **ELK BIOTECHNOLOGY. BCA Protein concentration determination kit: Cat: BC016**. Wuhan, China, 2026a. Disponível em: <<https://elkbiotech.com/pro/BC016>>

ELK BIOTECHNOLOGY. **ELK BIOTECHNOLOGY. Rat CNR1 (Cannabinoid Receptor 1, Brain) ELISA Kit: Cat: ELK6228**. Wuhan, China, 2026b. Disponível em: <<https://www.elkbiotech.com/pro/ELK6228>>

FELITTI, Vincent J. *et al.* Relationship of Childhood Abuse and Household Dysfunction to Many of the Leading Causes of Death in Adults. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 14, n. 4, p. 245–258, maio 1998.

FERRARINI, Eduarda Gomes *et al.* Broad-spectrum cannabis oil ameliorates reserpine-induced fibromyalgia model in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 154, p. 113552, out. 2022.

GONG, Zihan *et al.* The mechanism of depression and anxiety in adulthood after experiencing early adverse experiences: A new two-hit model of depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 405, p. 121529, jul. 2026.

GOODWIN, Guy M.; STEIN, Dan J. Generalised Anxiety Disorder and Depression: Contemporary Treatment Approaches. **Advances in Therapy**, v. 38, n. S2, p. 45–51, set. 2021.

GOULD, Todd D.; DAO, David T.; KOVACSICS, Colleen E. The Open Field Test. *In*: GOULD, Todd D. (Org.). **Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice**. Neuromethods. Totowa, NJ: Humana Press, 2009. v. 42 p. 1–20.

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

HERREGODTS, Patrick *et al.* Development of Monoaminergic Neurotransmitters in Fetal and Postnatal Rat Brain: Analysis by HPLC with Electrochemical Detection. **Journal of Neurochemistry**, v. 55, n. 3, p. 774–779, set. 1990.

HESHMATI, Mitra; RUSSO, Scott J. Anhedonia and the Brain Reward Circuitry in Depression. **Current Behavioral Neuroscience Reports**, v. 2, n. 3, p. 146–153, set. 2015.

HILL, Alexis S.; SAHAY, Amar; HEN, René. Increasing Adult Hippocampal Neurogenesis is Sufficient to Reduce Anxiety and Depression-Like Behaviors. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 10, p. 2368–2378, set. 2015.

IGLESIAS, Lia P. *et al.* Effects of Δ^9 -THC and Type-1 Cannabinoid Receptor Agonists in the Elevated Plus Maze Test of Anxiety: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Cannabis & Cannabinoid Research**, v. 8, n. 1, p. 24–33, 1 fev. 2023.

JAMIL, Subia *et al.* Early life stress and brain development: Neurobiological and behavioral effects of chronic stress. *In*: **Progress in Brain Research**. [S.l.]: Elsevier, 2025. v. 291 p. 49–79.

JIANG, W. Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 11, p. 3104–3116, 1 nov. 2005.

KRISHNAN, Vaishnav; NESTLER, Eric J. Linking Molecules to Mood: New Insight Into the Biology of Depression. **American Journal of Psychiatry**, v. 167, n. 11, p. 1305–1320, nov. 2010.

KRUK-SLOMKA, Marta; DZIK, Agnieszka; BIALA, Grazyna. The Effects of Indirect and Direct Modulation of Endocannabinoid System Function on Anxiety-Related Behavior in Mice Assessed in the Elevated Plus Maze Test. **Molecules**, v. 30, n. 4, p. 867, 13 fev. 2025.

LICHENSTEIN, Sarah D. THC, CBD, and Anxiety: a Review of Recent Findings on the Anxiolytic and Anxiogenic Effects of Cannabis' Primary Cannabinoids. **Current Addiction Reports**, v. 9, n. 4, p. 473–485, 24 out. 2022.

LOPEZ-MUNOZ, Francisco; ALAMO, Cecilio. Monoaminergic Neurotransmission: The History of the Discovery of Antidepressants from 1950s Until Today. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 14, p. 1563–1586, 1 maio 2009.

LOWE, Henry *et al.* The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9472, 31 ago. 2021.

LU, Hui-Chen; MACKIE, Ken. Review of the Endocannabinoid System. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, v. 6, n. 6, p. 607–615, jun. 2021.

MALAVE, Lauren; VAN DIJK, Milenna T.; ANACKER, Christoph. Early life adversity shapes neural circuit function during sensitive postnatal developmental periods. **Translational Psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 306, 1 ago. 2022.

MARINOTTI, Osvaldo; SARILL, Miles. Differentiating Full-Spectrum Hemp Extracts from CBD Isolates: Implications for Policy, Safety and Science. **Journal of Dietary Supplements**, v. 17, n. 5, p. 517–526, 2 set. 2020.

MELAS, Philippe A. *et al.* Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety and Mood Disorders: Molecular Targets and Epigenetic Insights from Preclinical Research. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1863, 13 fev. 2021.

MENKE, Andreas. The HPA Axis as Target for Depression. **Current Neuropharmacology**, v. 22, n. 5, p. 904–915, maio 2024.

NESTLER, Eric J.; CARLEZON, William A. The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1151–1159, jun. 2006.

NISHI, Mayumi. Effects of Early-Life Stress on the Brain and Behaviors: Implications of Early Maternal Separation in Rodents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7212, 29 set. 2020.

OTTO, Klaus; VON THADEN, Anne-Kathrin. Anaesthesia, Analgesia and Euthanasia. *In: The Laboratory Mouse*. [S.l.]: Elsevier, 2012. p. 739–759.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. [S.l.]: Academic Press, 2013.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie**, v. 229, n. 2, p. 327–336, out. 1977.

RADWAN, Mohamed M. *et al.* Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2774, 8 maio 2021.

RUSSO, Renato. **Há Tempos**. , 1989.

SENGUPTA, Pallav. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 4, n. 6, p. 624–630, jun. 2013.

SERRA, M. *et al.* Social isolation-induced changes in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the rat. **Stress**, v. 8, n. 4, p. 259–264, jan. 2005.

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

SHEPARD, Ryan D.; NUGENT, Fereshteh S. Targeting Endocannabinoid Signaling in the Lateral Habenula as an Intervention to Prevent Mental Illnesses Following Early Life Stress: A Perspective. **Frontiers in Synaptic Neuroscience**, v. 13, p. 689518, 28 maio 2021.

SHIN, Sang Ho; KIM, Yong-Ku. Early Life Stress, Neuroinflammation, and Psychiatric Illness of Adulthood. *In*: KIM, Yong-Ku (Org.). **Neuroinflammation, Gut-Brain Axis and Immunity in Neuropsychiatric Disorders**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. v. 1411 p. 105–134.

TRACY, Melissa *et al.* Trajectories of childhood adversity and the risk of depression in young adulthood: Results from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. **Depression and Anxiety**, v. 36, n. 7, p. 596–606, jul. 2019.

UNAL, Gunes; CANBEYLI, Resit. Psychomotor retardation in depression: A critical measure of the forced swim test. **Behavioural Brain Research**, v. 372, p. 112047, out. 2019.

VALENTINO, Rita J.; VOLKOW, Nora D. Cannabis and Cannabinoid Signaling: Research Gaps and Opportunities. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 391, n. 2, p. 154–158, nov. 2024.

WALF, Alicia A.; FRYE, Cheryl A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, p. 322–328, fev. 2007.

WANG, Zitong *et al.* Wistar-Kyoto rats and chronically stressed Wistar rats present similar depression- and anxiety-like behaviors but different corticosterone and endocannabinoid system modulation. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 127, p. 110825, dez. 2023.

WHITE, Abigail G. *et al.* Chronic Stress-Induced Neuroinflammation: Relevance of Rodent Models to Human Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 10, p. 5085, 7 maio 2024.

WHO. **Depressive disorder (depression)**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 11 maio. 2026.

XU, Wenbo *et al.* Changes in Hippocampal Plasticity in Depression and Therapeutic Approaches Influencing These Changes. **Neural Plasticity**, v. 2020, p. 1–16, 26 nov. 2020.

YIN, Juntao *et al.* Escitalopram versus other antidepressive agents for major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **BMC Psychiatry**, v. 23, n. 1, p. 876, 24 nov. 2023a.

YIN, Run *et al.* Lipopolysaccharide-induced depression-like model in mice: meta-analysis and systematic evaluation. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1181973, 8 jun. 2023b.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO CEUA



Universidade Federal da Fronteira Sul

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos do Estresse de Privação Maternal e Isolamento Social em Comportamentos Depressivos e Ansiosos: Potencial Terapêutico dos Óleos de Cannabis sativa em Modelos Animais", protocolada sob o CEUA nº 5042181124 (ID 000763), sob a responsabilidade de **Zuleide Maria Ignácio e equipe; Marina Kipper ; Nicolý Glembotzky; Maiqueli Eduarda Dama Mingoti; Brunna Varela da Silva; Laysa Anacleto Schuh** - 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 da Fronteira Sul (CEUA/UFS) na reunião de 13/02/2025.

We certify that the proposal "Effects of Maternal Deprivation Stress and Social Isolation on Depressive and Anxious Behaviors: Therapeutic Potential of Cannabis sativa Oils in Animal Models", utilizing 110 Heterogenics rats (males and females), protocol number CEUA 5042181124 (ID 000763), under the responsibility of **Zuleide Maria Ignácio and team; Marina Kipper ; Nicolý Glembotzky; Maiqueli Eduarda Dama Mingoti; Brunna Varela da Silva; Laysa Anacleto Schuh** - 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 South Border (CEUA/UFS) in the meeting of 02/13/2025.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 03/2025 a 03/2027 Área: Ciências da Saúde

Origem: Aplicável ao Biotério

Espécie: Ratos heterogênicos

Linhagem: Wistar

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 0 a 95 dias

Quantidade: 110

Peso: 6 a 400 g

Realeza, 06 de fevereiro de 2026

Prof. Dra. Fabíola Dalmolin
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Fronteira Sul

Biol. Cássio Batista Marcon
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Fronteira Sul



ANEXO B – CERTIFICADO DE ANÁLISE ÓLEO DE CANABIDIOL



RELATÓRIO DE ENSAIO



SOLICITANTE	
Identificação do Relatório: 00000463	Município: Campinas UF: SP
Solicitante: Associação Alternativa de Apoio à Cannabis Medicinal do Brasil - AAACMB	Documento: 45.458.633/0001-86
AMOSTRA	
Amostra: Extrato rico em CBD	Identificação da Amostra: C9
Lote: C9	Unidade de Coleta: Associação Alternativa de Apoio à Cannabis Medicinal do Brasil - AAACMB
Data Coleta: 02/07/2024	Data Recebimento: 11/07/2024
Hora Coleta: N.I.	Hora Recebimento: N.I
Data Emissão: 22/07/24	

DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FITOCANABINOIDES (PAINEL COMPLETO)

RESULTADOS

Substâncias	Resultado % (m/m)	LIQ % (m/m)
Canabidiol (CBD)	53,9	1,6
Ácido canabidiólico (CBDA)	< LIQ	1,6
Delta9- tetrahydrocannabinol (THC)	1,7	1,6
Ácido delta9- tetrahydrocannabinólico (THCA)	< LIQ	1,6
Canabidivarina (CBDV)	< LIQ	1,6
Canabigerol (CBG)	< LIQ	1,6
Canabinol (CBN)	< LIQ	1,6
Delta8-tetrahydrocannabinol (delta8-THC)	< LIQ	1,6
Ácido canabigerólico (CBGA)	< LIQ	1,6
Canabicromeno (CBC)	< LIQ	1,6

LIQ: Limite inferior de quantificação

Ensaio: Detecção e quantificação de fitocanabinoides (Painel completo) em extrato bruto

Método: HPLC-DAD - POP LTA MET-402

Data de análise: 22/07/24 16:27 - Ensaio emitido por: Prof. Dr. José Luiz da Costa - Coordenador Executivo - CRF-SP 1027242-6 - Cód. Seg.: fd576db1e6cd3c6e054301ed1dc78d6f

Observações: Os resultados se referem somente aos itens ensaiados.
 Os resultados deste relatório se aplicam à amostra conforme recebida.
 Este relatório de ensaio só poderá ser reproduzido integralmente.
 As análises toxicológicas são realizadas no Laboratório de Toxicologia Analítica do CIATox - Campinas

ANEXO C – CERTIFICADO DE ANÁLISE ÓLEO DE ESPECTRO COMPLETO



RELATÓRIO DE ENSAIO



SOLICITANTE	
Identificação do Relatório: 00000464	Município: Campinas UF: SP
Solicitante: Associação Alternativa de Apoio à Cannabis Medicinal do Brasil - AAACMB	Documento: 45.458.633/0001-86
AMOSTRA	
Amostra: Extrato rico em THC	Identificação da Amostra: T25
Lote: T25	Unidade de Coleta: Associação Alternativa de Apoio à Cannabis Medicinal do Brasil - AAACMB
Data Coleta: 02/07/2024	Data Recebimento: 11/07/2024
Hora Coleta: N.I.	Hora Recebimento: N.I
Data Emissão: 22/07/24	

DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FITOCANABINOIDES (PAINEL COMPLETO)

RESULTADOS		
Substâncias	Resultado % (m/m)	LIQ % (m/m)
Canabidiol (CBD)	< LIQ	1,6
Ácido canabidiólico (CBDA)	< LIQ	1,6
Delta9- tetrahydrocannabinol (THC)	26,6	1,6
Ácido delta9- tetrahydrocannabinólico (THCA)	< LIQ	1,6
Canabidivarina (CBDV)	< LIQ	1,6
Canabigerol (CBG)	< LIQ	1,6
Canabinol (CBN)	< LIQ	1,6
Delta8-tetrahydrocannabinol (delta8-THC)	< LIQ	1,6
Ácido canabigerólico (CBGA)	< LIQ	1,6
Canabicromeno (CBC)	< LIQ	1,6

LIQ: Limite inferior de quantificação

Ensaio: Detecção e quantificação de fitocanabinoides (Painel completo) em extrato bruto

Método: HPLC-DAD - POP LTA MET-402

Data de análise: 22/07/24 16:28 - Ensaio emitido por: Prof. Dr. José Luiz da Costa - Coordenador Executivo - CRF-SP 1027242-6 - Cód. Seg.: a9e2c52dd7cce8429971b5d2c4285ded

Observações: Os resultados se referem somente aos itens ensaiados.
Os resultados deste relatório se aplicam à amostra conforme recebida.
Este relatório de ensaio só poderá ser reproduzido integralmente.
As análises toxicológicas são realizadas no Laboratório de Toxicologia Analítica do CIATox - Campinas