

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/06/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ESTUDO COMPARADO DOS EFEITOS ANTITUMORAIS DOS  
EXTRATOS DE *CANNABIS SATIVA* RICO EM THC E CBD EM CÉLULAS DE  
CARCINOMA PROSTÁTICO CANINO E HUMANO

LUÍS GUSTAVO RAMOS DE MORAES CALHEIROS

Botucatu – SP  
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ESTUDO COMPARADO DOS EFEITOS ANTITUMORAIS DOS  
EXTRATOS DE *CANNABIS SATIVA* RICO EM THC E CBD EM CÉLULAS DE  
CARCINOMA PROSTÁTICO CANINO E HUMANO

LUÍS GUSTAVO RAMOS DE MORAES CALHEIROS

Dissertação apresentada  
junto ao Programa de Pós-  
Graduação em Medicina  
Veterinária como requisito para  
obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Titular  
Renée Laufer Amorim

Nome do Autor: Luís  
Gustavo Ramos de Moraes  
Calheiros

Botucatu – SP

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Calheiros, Luís Gustavo Ramos de Moraes.

Estudo comparado dos efeitos antitumorais dos extratos de *Cannabis sativa* rico em THC e CBD em células de carcinoma prostático canino e humano / Luís Gustavo Ramos de Moraes Calheiros. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Renée Laufer Amorim

Capes: 50503006

1. Cães - Doenças. 2. Próstata - Câncer. 3. Canabinóides.  
4. Medicamento fitoterápico. 5. Maconha. 6. *Cannabis*.  
7. Antineoplásicos.

Palavras-chave: Canabinoide; Câncer de próstata;  
Fitoterápico.

ESTUDO COMPARADO DOS EFEITOS ANTITUMORAIS DOS  
EXTRATOS DE *CANNABIS SATIVA* RICO EM THC E CBD EM CÉLULAS DE  
CARCINOMA PROSTÁTICO CANINO E HUMANO

Comissão examinadora:

---

Profª Drª Renée Laufer Amorim Orientadora - Departamento de Clínica  
Veterinária - FMVZ – UNESP – Botucatu – São Paulo

Presidente e orientadora

---

Profª Drª Flávia Karina Delella – Instituto de Biociências - UNESP –  
Botucatu – São Paulo

Membro banca

---

Profº Drº Enio Ferreira - Instituto de Ciências Biológicas - UFMG – Minas  
Gerais

Membro banca

**Data da defesa:** 23/06/2023

“Quanto mais nos elevamos, menores parecemos aos olhos daqueles que não sabem voar.”

**Friedrich Nietzsche**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me dar saúde, paciência e entendimento das situações adversas, sempre acreditando que tudo isso é para um bem maior.

Agradeço a minha família que mesmo distante sempre foram meu porto seguro. Aos meus pais Maria e Genival, minha irmã Larissa, por todo apoio, amor, e segurança que me propuseram para que eu pudesse me graduar apenas me preocupando com o estudo. Aos meus cães Biu e Thor que trazem alegria, vitalidade e companheirismo. Agradeço a minha companheira Rayane por toda cumplicidade, amor e amizade, por ter sido minha base, por sempre acreditar em mim e no meu sucesso, por sua companhia em Botucatu e por todo o amor durante todos esses anos.

Agradeço a minha orientadora professora Renée Laufer Amorim, por toda atenção, confiança e orientação, por estar sempre e disposta a resolver qualquer situação. Agradeço também pela oportunidade que me foi dada, e por ter aceitado o desafio de me orientar, obrigado pelo aceite e por me melhorar como pessoa e como profissional.

Agradeço a toda equipe do laboratório de pesquisa celular avançada, Beatriz, Lucas, Thayná, Alexandre, Mayara, Vinicius, Paulo e Natiely, por todo apoio, ajuda no experimento, compartilhar suas vitórias e também frustrações diárias, sempre estando dispostos a ajudar em situações adversas.

Agradeço aos meus amigos André e Neusvaldo Júnior por toda a amizade, parceria e apoio, vocês são pessoas muito importantes na minha vida profissional e pessoal, obrigado por tudo.

Agradeço a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia por ter disponibilizado a estrutura necessária para a realização deste projeto de pesquisa, bem como seus setores que ajudaram a realizar esta pesquisa com o apoio técnico e teórico sempre que necessário.

Agradeço à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo por ter outorgado o processo nº 2021/01181-5, o qual possibilitou a minha vinda a São Paulo, manutenção do bolsa e contribuiu com a execução desta pesquisa durante todo o período.

Agradeço aos professores compositores da minha banca da minha qualificação e defesa, por auxiliarem com suas ideias e visões, por compartilharem de seus conhecimentos e acrescentar melhorias ao trabalho.

CALHEIROS, L. G. R. M. **Estudo comparado dos efeitos antitumorais dos extratos de *Cannabis sativa* rico em thc e cbd em células de carcinoma prostático canino e humano.** Botucatu, 2023. 75 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

O carcinoma de próstata é o segundo tipo de neoplasia maligna mais comum entre os homens no Brasil, e relatado em cães entre 8 a 10 anos de idade, com rápida evolução podendo metastatizar para linfonodos regionais, pulmões e ossos. O CBD já foi relatado na literatura como agente antineoplásico em modelos *in vitro* de neoplasias do homem e do cão. Nós investigamos o efeito citotóxico dos extratos de dois extratos de *Cannabis sativa*, um rico em CBD (ERCBD) e outro rico em THC (ERTHC), em linhagens de células de carcinoma prostático canino (PC1 e PC2) e humano (LNCAP), bem como sua avaliação para a indução a apoptose de células cancerígenas. Para avaliação da citotoxicidade foi utilizado o ensaio de MTT, com as doses 2,5 $\mu$ M, 5 $\mu$ M, 7,5 $\mu$ M e 10 $\mu$ M de ambos os compostos nas linhagens caninas e 10 $\mu$ M, 20 $\mu$ M, 30 $\mu$ M e 40 $\mu$ M de ambos os compostos na linhagem humana, As linhagens foram incubadas por 24 horas, em placas de 96 poços em condições de cultura *in vitro* padrão. Após esse período determinou-se o IC50 através da atividade metabólica das células. Logo após foi realizado o ensaio da Anexina-V-FITC/ Iodeto de propídio nas linhagens caninas, avaliando através da citometria de fluxo as células com apoptose mediata e tardia. Com os resultados obtidos obtiveram uma concentração inibitória média de ERCBD (3,437; 3,577) e ERTHC (4,909;4,486) em PC1 e PC2 respectivamente, e ERCBD (21,49) e ERTHC (18,69) na linhagem LNCAP. Ainda, foi realizado ensaio de apoptose nas linhagens de carcinoma prostático canino, após o tratamento. Mais estudos devem ser feitos, para avaliar o mecanismo de morte celular e seu potencial de uso *in vivo*.

Palavras chave: fitoterápico; câncer de próstata; canabinoide;

CALHEIROS, L. G. R. M. **Comparative study of the antitumor effects of extracts of *Cannabis sativa* rich in the and cbd in canine and human prostatic carcinoma cells.** Botucatu, 2023. 75 p. Dissertation (Master's) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

#### ABSTRACT

Prostate carcinoma is the second most common type of cancer among men in Brazil, and is reported in dogs between 8 and 10 years of age, with rapid evolution and metastatic potential to regional lymph nodes, lungs and bones. CBH and THC showed an anti-tumoral effect in human and canine cell lines. We investigated the cytotoxic effect of extracts from two *Cannabis sativa* extracts, one rich in CBD (ERCBD) and the other rich in THC (ERTHC), on malignant prostatic cell lines from dogs (PC1 and PC2) and men (LNCAP), as well as the effect evaluation for the induction of apoptosis in the two canine cell lines. To evaluate the cytotoxicity, the MTT assay was used, with doses of 2.5 $\mu$ M, 5 $\mu$ M, 7.5 $\mu$ M and 10 $\mu$ M of both compounds in the canine cells line and 10 $\mu$ M, 20 $\mu$ M, 30 $\mu$ M and 40 $\mu$ M of both compounds in the human cell line. Both were incubated for 24 hours in 96-well plates. The IC<sub>50</sub> was determined through the metabolic activity of the cells. Soon after, the Annexin-V-FITC/propidium iodide assay was performed in the canine PC cell lines, evaluating cells with mediate and late apoptosis through flow cytometry. We showed that ERCBD and ERTHC obtained an average inhibitory concentration of 3.437; 3.577 and 4.909;4.486 in PC1 and PC2 respectively, and ERCBD (21.49) and ERTHC (18 ,69) in the LNCAP cell line. , We also observed an apoptotic effect on the canine cell lines for both cannabis extracts. Further research should be made to evaluate the cell death mechanism as well as the in vitro use as an anti neoplastic agent.

Keywords: herbal medicine; prostate cancer; cannabinoid;

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Localização anatômica prostática canina. Fonte: <https://hospital.vetmed.wsu.edu/2022/01/04/cat-and-dog-anatomy/> ..... 19
- Figura 2** Localização anatômica prostática humana. Fonte: <https://www.todamateria.com.br/prostata/>..... 19
- Figura 3** Constituição histológica da próstata. Fonte: <https://www.sanarmed.com/cancer-de-prostata>..... 20
- Figura 4** Fotomicrografia próstata canina. A) Histomorfologia normal. Epitélio com uma única camada de células cúbicas e colunares, sustentado por delicado estroma fibrovascular. B) PIA discreta. Ácinos atróficos e células inflamatórias intersticiais esparsas. C) PIA moderada. Atrofia acinar e agregados de células mononucleares. D) PIA acentuada. Predominância de linfócitos intersticiais dispostos em folículos. HE. Fonte: TOLEDO et al. (2010)..... 21
- Figura 5** 1. Nesta visão de menor aumento da neoplasia intraepitelial prostática humana há um aglomerado de estruturas glandulares com células hipercromáticas contrastando com as glândulas normais adjacentes (hematoxilina-eosina, objetiva 4X). 2. PIN Observa-se estratificação nuclear, aumento nuclear e presença de nucléolos proeminentes na maioria das células (hematoxilina-eosina, objetiva 40X). 3. Esta biópsia mostra envolvimento parcial de uma glândula por PIN (hematoxilina-eosina, objetiva 10X). Fonte: AYALA (2007). ..... 22
- Figura 6** Diagrama esquemático do sistema de graduação de Gleason modificado. Em comparação com o sistema convencional, a maioria dos padrões cribriformes e também as glândulas mal definidas estão incluídas no padrão 4. Fonte: (PALMIERE; GRIECO, 2015)..... 25
- Figura 7** Cannabis sativa. Fonte: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/canabinoides> ..... 33
- Figura 8** Fórmula estrutural do Canabidiol. Fonte: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/canabinoides>. ..... 34
- Figura 9** Fórmula estrutural do Tetra-hidrocanabinol. Fonte: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/canabinoides>. ..... 34
- Figura 10** Representação esquemática do Sistema Endocanabinóide. A anandamida (AEA) é sintetizada pelas enzimas N-acetiltransferase (NAT) e uma fosfolipase específica (“arachidonoylphosphatidylethanolamine-phospholipase D”;

NAPE-PLD). O 2-araquidonoilglicerol (2-AG) é sintetizado através de uma outra lipase (“diacylglycerol lipase”; DAGL). Uma vez sintetizados a AEA e o 2-AG ligam-se ao transportador membranar dos endocanabinóides (EMT) ficando disponíveis para atuar nos recetores canabinóides. O transportador remove rapidamente estes compostos sendo a AEA degradada por uma hidrólase das amidas dos ácidos gordos (“fatty acid amide hydrolase”; FAAH) resultando ácido araquidónico (AA) e etanolamina (EtNH<sub>2</sub>), enquanto o 2 - AG é degradado pela FAAH ou por uma lipase de gliceróis (“monoacylglycerol lipase”; MAGL) a AA e glicerol. Um mecanismo alternativo é mediado pela ciclooxygenase-2 (COX-2) que converte a AEA aprostalandinaetanolaminas. Fonte: FONSECA et al. (2013). ..... 35

**Figura 11** Esquema representativo da distribuição dos receptores canabinóides CB1 e CB2 e das funções fisiológicas que os mesmos exercem no organismo. Adaptação. Fonte: CARDOSO (2019)..... 36

**Figure 1** Fotomicrografia celular da linhagem carcinoma prostático canino PC1 (A) e PC2 (B) 100x; Fotomicrografia celular da linhagem carcinoma prostático LNCAP (C), 100x..... 52

**Figure 2** Viabilidade celular das linhagens PC1 (A e D), PC2 (B e E) e LNCAP (C e F) de carcinoma de próstata canino e humano. Curva de regressão não-linear e definição da IC<sub>50</sub>, comparando as doses entre si, após 24 horas de exposição tratamento com extrato rico em CBD. O teste t de Student foi usado para comparar dois grupos; ANOVA com teste estatístico de kruskall-wallis de comparações múltiplas de Tukey foi usado para comparar cinco grupos. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*\* p < 0,0001. .... 48

**Figure 3** Viabilidade celular das linhagens PC1 (A e D), PC2 (B e E) e LNCAP (C e F) de carcinoma de próstata canino e humano. Curva de regressão não-linear e definição da IC<sub>50</sub>, comparando as doses entre si, após 24 horas de exposição tratamento com extrato rico em THC. O teste t de Student foi usado para comparar dois grupos; ANOVA com teste estatístico de kruskall-wallis de comparações múltiplas de Tukey foi usado para comparar cinco grupos. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*\* p < 0,0001. .... 49

**Figure 4** Ensaio de apoptose por Anexina V/Fitc e iodeto de propídio da linhagem PC1 de carcinoma de próstata canino. Comparação das doses de IC<sub>50</sub> (ERCBD e ERTHC), Controle (DMEM), Veiculo (DMSO), comparando as doses entre si, após 24 horas de exposição tratamento com extrato rico em THC. O teste t de Student foi usado

para comparar os quatro grupos, com base no grupo controle; ANOVA com teste estatístico de kruskall-wallis de comparações múltiplas foi usado para comparar quatro grupos. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01..... 51

**Figure 5** Ensaio de apoptose por Anexina V/Fitc e iodeto de propídio da linhagem PC2 de carcinoma de próstata canino. Comparação das doses de IC50 (ERCBD e ERTHC), Controle (DMEM), Veiculo (DMSO), comparando as doses entre si, após 24 horas de exposição tratamento com extrato rico em THC. O teste t de Student foi usado para comparar os quatro grupos, com base no grupo controle; ANOVA com teste estatístico de kruskall-wallis de comparações múltiplas foi usado para comparar quatro grupos. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01..... 52

**LISTA DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1</b> Classificação histológica de acordo com o escore de Gleason adaptado de HUMPREY (2004). .....              | 24 |
| <b>Tabela 2</b> Os padrões arquitetônicos em próstata canina, de acordo com o sistema de graduação Gleason modificado..... | 24 |
| <b>Tabela 3</b> Classificação do sistema TNM para câncer de próstata humano.....   | 26 |

**LISTA DE ABREVIACOES**

$\mu$ L - Microlitro

$\mu$ M – Micro molar

CB 1 – Receptor Canabinide do tipo 1

CB 2 – Receptor Canabinide do tipo 2

CBD – Canabidiol

CO<sup>2</sup> - Dioxido de carbono

CP – Câncer de próstata

DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO - Dimetilsulfóxido

ERCBD – Extrato rico em CBD

ERTHC – Extrato rico em THC

FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

INCA – Instituto nacional do câncer

RT-PCR – PCR em tempo real

SP – São Paulo

THC –  $\Delta$ -9-Tetrahydrocannabinol

UNESP – Universidade Estadual Paulista

**LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1 – Exame sorológico negativo de mycoplasma sp., nos sobrenadantes das células do projeto;

Anexo 2 – Relatório da análise de cromatografia líquida de alta eficiência, do extrato rico em CBD.

Anexo 3 – Relatório da análise de cromatografia líquida de alta eficiência, do extrato rico em THC.

## Sumário

|  |           |
|--|-----------|
| <b>RESUMO</b> .....  | <b>6</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | <b>7</b>  |
| <b>CAPÍTULO I</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | <b>18</b> |
| Próstata .....   | 18        |
| Hiperplasia prostática .....   | 20        |
| Atrofia inflamatória proliferativa.....  | 21        |
| Neoplasia intraepitelial prostática.....   | 22        |
| Classificação histológica do carcinoma prostático.....   | 23        |
| Diagnóstico do câncer de próstata canino .....   | 27        |
| Tratamento .....   | 27        |
| Marcadores tumorais .....  | 28        |
| Cannabis sativa .....  | 33        |
| <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>38</b> |
| OBJETIVOS GERAIS .....   | 38        |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....   | 38        |
| <b>*REFERÊNCIAS</b> .....  | <b>38</b> |
| <b>CAPÍTULO II</b> .....   | <b>47</b> |
| <b>RESUMO</b> .....  | <b>48</b> |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | <b>49</b> |
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>49</b> |
| <b>MATERIAL E MÉTODOS:</b> .....   | <b>51</b> |
| Linhagens celulares e cultura celular .....  | 51        |
| Obtenção dos extratos.....   | 52        |
| Tratamento e avaliação da atividade metabólica celular .....   | 52        |
| Ensaio anexina V-fitc/iodeto de propídeo.....  | 53        |
| <b>RESULTADOS</b> .....  | <b>54</b> |
| Tratamento e avaliação da atividade metabólica celular por MTT e<br>determinação de IC50 após tratamentos..... | 54        |
| Ensaio anexina V-fitc/iodeto de propídeo para tratamento das linhagens PC1<br>e PC2.....                       | 50        |

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| <b>DISCUSSÃO .....</b>    | <b>53</b> |
| <b>CONCLUSÃO.....</b>     | <b>54</b> |
| <b>CAPÍTULO III .....</b> | <b>55</b> |
| <b>*REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>57</b> |

em diferentes estados do Brasil, bem como a recente aprovação pela Assembleia Legislativa do Estado de São Paulo (ALESP) de uma lei que institui a política estadual de fornecimento gratuito de medicamentos à base de canabidiol (Lei 17618/2023), o que encoraja o desenvolvimento de pesquisas em oncologia comparada com o uso de *Cannabis sativa* e seus compostos.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVOS GERAIS**

Avaliar a resposta antitumoral do extrato rico em canabidiol (CBD) e extrato rico em tetrahydrocannabinol (THC), em linhagens tumorais de carcinoma prostático canino e humano.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar o efeito na viabilidade (IC50) de cultura de carcinoma prostático canino e humano após 24 horas de exposição aos extratos rico em CBD e THC.

Avaliar o potencial indutor apoptótico nas linhagens de carcinoma prostático canino e humano após 24 horas de exposição aos extratos rico em CBD e THC.

## **\*REFERÊNCIAS**

ALONGE, S. et al. Advances in prostatic diagnostics in dogs: The role of canine prostatic specific esterase in the early diagnosis of prostatic disorders. **Topics in companion animal medicine**, v. 33, n. 4, p. 105-108, 2018.

ARMBRUSTER, D. A. Prostate-specific antigen: biochemistry, analytical methods, and clinical application. **Clinical Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 181-195, 1993.

AYALA, A. G.; RO, J. Y. Prostatic intraepithelial neoplasia: recent advances. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 131, n. 8, p. 1257-1266, 2007.

BATTISTA, N. *et al.* The endocannabinoid system: an overview. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, p. 9, 2012.

BERTHOLD, D. R. *et al.* Survival and PSA response of patients in the TAX 327 study who crossed over to receive docetaxel after mitoxantrone or vice versa. **Annals of Oncology**, v. 19, n. 10, p. 1749-1753, 2008.

BODINE, M.; KEMP, A. K. Medical cannabis use in oncology. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2022.

BOOKSTEIN, R. *et al.* p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. **Cancer Research**, v. 53, n. 14, p. 3369-3373, 1993.

BOSTWICK, D. G.; RAMNANI, D.; QIAN, J. Prostatic intraepithelial neoplasia: animal models 2000. **The Prostate**, v. 43, n. 4, p. 286-294, 2000.

CAIRNS, P. *et al.* Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. **Cancer Research**, v. 57, n. 22, p. 4997-5000, 1997.

CAMPBELL, K. J.; LEUNG, H. Y. Evasion of cell death: A contributory factor in prostate cancer development and treatment resistance. **Cancer Letters**, v. 520, p. 213-221, 2021.

CAPELOZZI, V. L. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. **Jornal de Pneumologia**, v. 27, p. 321-328, 2001.

CARDOSO, S. R.. Canabidiol: estado da arte e os caminhos para a regulamentação no Brasil. 2019.

CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 55, p. 314-317, 2006.

CASTRO, H. A. S. de *et al.* Contribuição da densidade do PSA para predizer o câncer da próstata em pacientes com valores de PSA entre 2, 6 e 10, 0 ng/ml. **Radiologia Brasileira**, v. 44, p. 205-209, 2011.

CAVALCA, A. M. B. *et al.* P-Glycoprotein and Androgen Receptor Expression Reveals Independence of Canine Prostate Cancer from Androgen Hormone Stimulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1163, 2022.730, 2022.

CHUNG, S. C. *et al.* A high cannabinoid CB1 receptor immunoreactivity is associated with disease severity and outcome in prostate cancer. **European Journal of Cancer**, v. 45, n. 1, p. 174-182, 2009.

CORREIA-DA-SILVA, Georgina *et al.* Canábis e canabinóides para fins medicinais. **Revista Portuguesa De Farmacoterapia**, v. 11, n. 1, p. 21-31, 2019.

CORSATO ALVARENGA, Isabella *et al.* Scientific Validation of Cannabidiol for Management of Dog and Cat Diseases. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 11, p. 227-246, 2023.

CUNTO, M.; BALLOTTA, G.; ZAMBELLI, D. Benign prostatic hyperplasia in the dog. **Animal Reproduction Science**, v. 247, p. 107096, 2022.

CZIFRA, G. *et al.* Increased expressions of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1 in human prostate carcinoma. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 135, p. 507-514, 2009.

DALECK, C. R. *et al.* **Oncologia em cães e gatos** . Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2016. 825-830.

DE ALMEIDA, J. R. C. *et al.* Marcadores tumorais: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 305-316, 2007.

DE MARZO, A. M. *et al.* A working group classification of focal prostate atrophy lesions. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 30, n. 10, p. 1281-1291, 2006.

DE MARZO, A. M. *et al.* Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. **The American Journal of Pathology**, v. 155, n. 6, p. 1985-1992, 1999.

DEMARZO, A. M. *et al.* Pathological and molecular aspects of prostate cancer. **The Lancet**, v. 361, n. 9361, p. 955-964, 2003.

DEVANE, W. A. *et al.* Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular Pharmacology**, v. 34, n. 5, p. 605-613, 1988.

DEWHIRST, M. W.; PAGE, R. L. Emerging Translational Opportunities in Comparative Oncology with Companion Canine Cancers. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 270, 2020.

FASKHOUDI, M. A. *et al.* Molecular landscape of c-Myc signaling in prostate cancer: A roadmap to clinical translation. **Pathology-Research and Practice**, p. 153851, 2022

FONSECA, B. M. *et al.* O Sistema Endocanabinóide—uma perspectiva terapêutica. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 2, n. 2, p. 37-44, 2013.

FONSECA-ALVES, C. E. *et al.* Alterations of C-MYC, NKX3. 1, and E-cadherin expression in canine prostate carcinogenesis. **Microscopy research and technique**, v. 76, n. 12, p. 1250-1256, 2013.

GARCIA, M. *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses tumour progression of prostate cancer bone metastases in nude mice. **BJU International**, v. 113, n. 5b, p. E164-E177, 2014.

GARG, R. *et al.* COX-2 mediates pro-tumorigenic effects of PKC $\epsilon$  in prostate cancer. **Oncogene**, v. 37, n. 34, p. 4735-4749, 2018.

GERDES, J. *et al.* Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. **The American Journal of Pathology**, v. 138, n. 4, p. 867, 1991.

GERDES, J. *et al.* Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. **International Journal of Cancer**, v. 31, n. 1, p. 13-20, 1983.

GRASSINGER, J. M. *et al.* Detection of BRAF mutation in canine prostatic diseases. **Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/heimtiere**, v. 47, n. 5, p. 313-320, 2019.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, Florian R.; KARIN, Michael. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883-899, 2010.

GROSS, C. *et al.* Cannabidiol induces apoptosis and perturbs mitochondrial function in human and canine glioma cells. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 725136, 2021.

GUZMAN, M. Cannabinoids: potential anticancer agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 10, p. 745-755, 2003.

HENRY, J. G. *et al.* The effect of cannabidiol on canine neoplastic cell proliferation and mitogen-activated protein kinase activation during autophagy and apoptosis. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 19, n. 2, p. 253-265, 2021.

HERMANSON, D. J.; MARNETT, L. J. Cannabinoids, endocannabinoids, and cancer. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 30, p. 599-612, 2011.

HINZ, B.; RAMER, R. Anti-tumour actions of cannabinoids. **British journal of pharmacology**, v. 176, n. 10, p. 1384-1394, 2019.

HOROSZEWICZ, J. S. The LNCaP cell line-a new model for studies on human prostatic carcinoma. **Prog Clin Biol Res**, v. 37, p. 115-132, 1980.

INKOL, J. M.; HOCKER, S. E.; MUTSAERS, A. J. Combination therapy with cannabidiol and chemotherapeutics in canine urothelial carcinoma cells. **Plos One**, v. 16, n. 8, p. e0255591, 2021.

JM, A A *et al.* PSA and hK2 in the diagnosis of prostate cancer. **Actas Urologicas Espanolas**, v. 32, n. 6, p. 575-588, 2008.

KAMIYAMA, M. *et al.* Distribution and Possible Function of Cannabinoid Receptor Subtype 1 in the Human Prostate. 2013.

KOBAYASHI, M *et al.* Establishment of a BRAF V595E-mutant canine prostate cancer cell line and the antitumor effects of MEK inhibitors against canine prostate cancer. **Veterinary and Comparative Oncology**, 2023.

KOBAYASHI, P. E. *et al.* Transcriptome of two canine prostate cancer cells treated with Toceranib phosphate reveals distinct antitumor profiles associated with the PDGFR pathway. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 561212, 2020.

KRAKOWSKI, L. *et al.* Assessment of the possibility of using biomarkers (CCL11 and TGF-beta 1) in the diagnosis of prostate gland hyperplasia in dogs. **Theriogenology**, v. 192, p. 9-13, 2022.

KRISTIANSEN, Glen. Diagnostic and prognostic molecular biomarkers for prostate cancer. **Histopathology**, v. 60, n. 1, p. 125-141, 2012.

L DEAN, J.; E KNUDSEN, K. The role of tumor suppressor dysregulation in prostate cancer progression. **Current drug targets**, v. 14, n. 4, p. 460-471, 2013.

LANDA, L.; SULCOVA, A.; GBELEC, P. The use of cannabinoids in animals and therapeutic implications for veterinary medicine: a review. **Veterinární Medicína**, v. 61, n. 3, 2016.

L'EPLATTENIER, H. F. *et al.* Regulation of COX-2 expression in canine prostate carcinoma: Increased COX-2 expression is not related to inflammation. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 21, n. 4, p. 776-782, 2007.

LEROY, B. E.; NORTHROP, N. Prostate cancer in dogs: comparative and clinical aspects. **The Veterinary Journal**, v. 180, n. 2, p. 149-162, 2009.

LIN, H.-Y.; PALMIERI, C. Is STAT3 and PTEN expression altered in canine prostate cancer?. **Journal of Comparative Pathology**, v. 155, n. 2-3, p. 185-189, 2016.

LOEB, Stacy; CARTER, Herbert Ballentine. Early detection, diagnosis, and staging of prostate cancer. **Campbell-Walsh Urology**, v. 10, p. 2763-70, 2012.

MAIA, R. *et al.* Podemos usar a expressão de Ki67 para prever a agressividade do câncer de próstata? **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 49, 2022.

MARZO, V. Di; B., Maurizio; PETROCELLIS, L. De. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 9, p. 771-784, 2004.

MATSUDA, L. A. *et al.* Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, v. 346, n. 6284, p. 561-564, 1990.

MIGITA, N. Cultivo celular in vitro: importância para a pesquisa biomédica e dimensão da problemática de autenticação de linhagens celulares. 2012.

MOCHIZUKI, H. *et al.* BRAF mutations in canine cancers. **PloS One**, v. 10, n. 6, p. e0129534, 2015.

MORRIS, S. M. A role for p53 in the frequency and mechanism of mutation. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 511, n. 1, p. 45-62, 2002.

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

NAVONE, Nora M. *et al.* p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, n. 20, p. 1657-1669, 1993.

PACKEISER, E. M. *et al.* Characterization of six canine prostate adenocarcinoma and three transitional cell carcinoma cell lines derived from primary tumor tissues as well as metastasis. **PLoS One**, v. 15, n. 3, p. e0230272, 2020.

PACLIKOVA, K.; KOHOUT, P.; VLASIN, M. Diagnostic possibilities in the management of canine prostatic disorders. **VETERINARNI MEDICINA-PRAHA-**, v. 51, n. 1, p. 1, 2006.

PALMIERI, C.; FONSECA-ALVES, C. E.; LAUFER-AMORIM, R. A Review on Canine and Feline Prostate Pathology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 2022.

PELLATI, F. *et al.* *Cannabis sativa L.* and nonpsychoactive cannabinoids: their chemistry and role against oxidative stress, inflammation, and cancer. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

PEREIRA, k. G. Et al. Fatores associados à masculinidade no diagnóstico precoce do câncer de próstata: revisão narrativa. **Revista nursing**: v. 24, n. 277, p. 5803-5810, 2021.

PEREIRA, P. G. *et al.* O Uso do canabidiol em Paciente com Epilepsia. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 9, p. 424-433, 2021.

PERTWEE, R. G. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicines. **British Journal of Pharmacology**, v. 156, n. 3, p. 397-411, 2009.

PIOMELLI, D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 11, p. 873-884, 2003.

POLLAK, M. N.; SCHERNHAMMER, E. S.; HANKINSON, S. E. Insulin-like growth factors and neoplasia. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 7, p. 505-518, 2004.

PROGRAMA DE PLANTAS MEDICINAIS E TERAPIAS NÃO CONVENCIONAIS. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2015. Fitoterapia. Disponível em: <https://www.ufjf.br/proplamed/atividades/fitoterapia/>. Acesso: fevereiro de 2022.

QIU, X. *et al.* MYC drives aggressive prostate cancer by disrupting transcriptional pause release at androgen receptor targets. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 2559, 2022..

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC N° 26, DE 13 DE MAIO DE 2014.

RICHARDSEN, E. *et al.* COX-2 is overexpressed in primary prostate cancer with metastatic potential and may predict survival. A comparison study between COX-2, TGF- $\beta$ , IL-10 and Ki67. **Cancer Epidemiology**, v. 34, n. 3, p. 316-322, 2010.

RODRIGUES, M. M. P. *et al.* Neoplasia intra-epitelial prostática: aspectos morfológicos e moleculares. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 1, p. 19-25, 2010.

SÁNCHEZ, C. *et al.*  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol induces apoptosis in C6 glioma cells. **FEBS letters**, v. 436, n. 1, p. 6-10, 1998.

SARFARAZ, S. *et al.* Cannabinoid receptor as a novel target for the treatment of prostate cancer. **Cancer Research**, v. 65, n. 5, p. 1635-1641, 2005.

SEKHOACHA, M. *et al.* Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5

SHRIVASTAVA, A. *et al.* Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and Autophagy CBD induces programmed cell death in breast cancer cells. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 10, n. 7, p. 1161-1172, 2011.

SIEGEL, R. *et al.* Cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014.

SMITH, J. Canine prostatic disease: a review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 375-383, 2008.

SORENMO, K. U. *et al.* Immunohistochemical characterization of canine prostatic carcinoma and correlation with castration status and castration time. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 1, n. 1, p. 48-56, 2003.

TODARO, M. *et al.* Apoptosis resistance in epithelial tumors is mediated by tumor-cell-derived interleukin-4. **Cell Death & Differentiation**, v. 15, n. 4, p. 762-772, 2008.

TOLEDO, D. C. *et al.* Caracterização histomorfológica da atrofia inflamatória proliferativa na próstata canina. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1372-1377, 2010.

UMBAS, R. *et al.* Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. **Cancer Research**, v. 52, n. 18, p. 5104-5109, 1992

VLIETSTRA, R. J. *et al.* Frequent inactivation of PTEN in prostate cancer cell lines and xenografts. **Cancer Research**, v. 58, n. 13, p. 2720-2723, 1998.

WANG, X. S. *et al.* Characterization of KRAS Rearrangements in Metastatic Prostate Cancer KRAS Rearrangements in Prostate Cancer. **Cancer Discovery**, v. 1, n. 1, p. 35-43, 2011.

WATERS, D. J. *et al.* Workgroup 4: spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. **The Prostate**, v. 36, n. 1, p. 64-67, 1998.

WU, M. J. *et al.* Targeting KDM4B that coactivates c-Myc-regulated metabolism to suppress tumor growth in castration-resistant prostate cancer. **Theranostics**, v. 11, n. 16, p. 7779, 2021.

XU, F. et al. Cannabidiol promotes apoptosis of osteosarcoma cells in vitro and in vivo by activating the SP1-CBX2 axis. **American Journal of Translational Research**, v. 14, n. 2, p. 1188, 2022.

ZAMAN, A.; WU, Wei; BIVONA, Trever G. Targeting oncogenic BRAF: past, present, and future. **Cancers**, v. 11, n. 8, p. 1197, 2019.

ZIPS, D.; THAMES, H. D.; BAUMANN, M. New anticancer agents: in vitro and in vivo evaluation. **in vivo**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2005.

## TRABALHO CIENTIFICO

Trabalho a ser submetido para a revista **Cannabis and Cannabinoid Research**

### ESTUDO COMPARADO DOS EFEITOS ANTI-TUMORAIS DOS EXTRATOS DE *CANNABIS SATIVA* RICO EM THC E CBD EM CÉLULAS DE CARCINOMA PROSTÁTICO CANINO E HUMANO

Luís G R M Calheiros<sup>1\*</sup>; Thayná O Silva<sup>1</sup>; Paulo C L Eliam<sup>1</sup>; Lucas V O  
Oliveira<sup>1</sup>; Vinicius S Perino<sup>1</sup>; Carlos Eduardo Fonseca-Alves, Rogério M Amorim<sup>1</sup>;  
Renée Laufer-Amorim<sup>1+</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, BRA.

\*Autor correspondente: lgrm.calheiros@unesp.br + Informações de  
financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP:  
Processo FAPESP nº 2021/01181-5

## RESUMO

O carcinoma de próstata é o segundo tipo de neoplasia maligna mais comum entre os homens no Brasil, e relatado em cães entre 8 a 10 anos de idade, com rápida evolução podendo metastatizar para linfonodos regionais, pulmões e ossos. O CBD já foi relatado na literatura como agente antineoplásico em modelos *in vitro* de neoplasias do homem e do cão. Nós investigamos o efeito citotóxico dos extratos de dois extratos de *Cannabis sativa*, um rico em CBD (ERCBD) e outro rico em THC (ERTHC), em linhagens de células de carcinoma prostático canino (PC1 e PC2) e humano (LNCAP), bem como sua avaliação para a indução a apoptose de células cancerígenas. Para avaliação da citotoxicidade foi utilizado o ensaio de MTT, com as doses 2,5µM, 5µM, 7,5µM e 10µM de ambos os compostos nas linhagens caninas e 10µM, 20µM, 30µM e 40µM de ambos os compostos na linhagem humana, As linhagens foram incubadas por 24 horas, em placas de 96 poços em condições de cultura *in vitro* padrão. Após esse período determinou-se o IC50 através da atividade metabólica das células. Logo após foi realizado o ensaio da Anexina-V-FITC/ Iodeto de propídio nas linhagens caninas, avaliando através da citometria de fluxo as células com apoptose mediata e tardia. Com os resultados obtidos constataram uma concentração inibitória média de ERCBD (3,437; 3,577) e ERTHC (4,909;4,486) em PC1 e PC2 respectivamente, e ERCBD (21,49) e ERTHC (18,69) na linhagem LNCAP. Ainda, observamos o efeito apoptótico dos dois extratos

nas células de carcinoma prostático canino. Mais estudos devem ser feitos, para avaliar o mecanismo de morte celular e seu potencial de uso *in vivo*

**Palavras chave:** fitoterápico; câncer de próstata; canabinoide.

## ABSTRACT

Prostate carcinoma is the second most common type of cancer among men in Brazil, and is reported in dogs between 8 and 10 years of age, with rapid evolution and metastatic potential to regional lymph nodes, lungs and bones. CBH and THC showed an anti-tumoral effect in human and canine cell lines. We investigated the cytotoxic effect of extracts from two *Cannabis sativa* extracts, one rich in CBD (ERCBD) and the other rich in THC (ERTHC), on malignant prostatic cell lines from dogs (PC1 and PC2) and men (LNCAP), as well as the effect evaluation for the induction of apoptosis in the two canine cell lines. To evaluate the cytotoxicity, the MTT assay was used, with doses of 2.5 $\mu$ M, 5 $\mu$ M, 7.5 $\mu$ M and 10 $\mu$ M of both compounds in the canine cells line and 10 $\mu$ M, 20 $\mu$ M, 30 $\mu$ M and 40 $\mu$ M of both compounds in the human cell line. Both were incubated for 24 hours in 96-well plates. The IC<sub>50</sub> was determined through the metabolic activity of the cells. Soon after, the Annexin-V-FITC/propidium iodide assay was performed in the canine PC cell lines, evaluating cells with mediate and late apoptosis through flow cytometry. We showed that ERCBD and ERTHC obtained an average inhibitory concentration of 3.437; 3.577 and 4.909;4.486 in PC1 and PC2 respectively, and ERCBD (21.49) and ERTHC (18 ,69) in the LNCAP cell line. , We also observed an apoptotic effect on the canine cell lines for both cannabis extracts. Further research should be made to evaluate the cell death mechanism as well as the *in vitro* use as an anti neoplastic agent.

**Keywords:** herbal medicine; prostate cancer; cannabinoid.

## INTRODUÇÃO

O câncer de próstata é o câncer com maior prevalência entre os homens no mundo ocidental e houve um aumento significativo nos últimos anos, sendo a segunda maior causa de morte (SIEGEL *et al.*, 2020). Para o Brasil, a estimativa para o triênio de 2023 a 2025 aponta que ocorrerão 704 mil casos novos de câncer, sendo 72 mil cânceres de próstata, na região sudeste 77,89 diagnósticos são realizados a cada 100 mil homens (INCA, 2023).

in vivo. Ainda se mantem escassos na literatura estudos a respeito da biodisponibilidade dos extratos nos organismos.

#### **\*REFERÊNCIAS**

ALONGE, S. et al. Advances in prostatic diagnostics in dogs: The role of canine prostatic specific esterase in the early diagnosis of prostatic disorders. **Topics in companion animal medicine**, v. 33, n. 4, p. 105-108, 2018.

ARMBRUSTER, D. A. Prostate-specific antigen: biochemistry, analytical methods, and clinical application. **Clinical Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 181-195, 1993.

AYALA, A. G.; RO, J. Y. Prostatic intraepithelial neoplasia: recent advances. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 131, n. 8, p. 1257-1266, 2007.

BATTISTA, N. *et al.* The endocannabinoid system: an overview. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, p. 9, 2012.

BERTHOLD, D. R. *et al.* Survival and PSA response of patients in the TAX 327 study who crossed over to receive docetaxel after mitoxantrone or vice versa. **Annals of Oncology**, v. 19, n. 10, p. 1749-1753, 2008.

BODINE, M.; KEMP, A. K. Medical cannabis use in oncology. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2022.

BOOKSTEIN, R. *et al.* p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. **Cancer Research**, v. 53, n. 14, p. 3369-3373, 1993.

BOSTWICK, D. G.; RAMNANI, D.; QIAN, J. Prostatic intraepithelial neoplasia: animal models 2000. **The Prostate**, v. 43, n. 4, p. 286-294, 2000.

CAIRNS, P. *et al.* Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. **Cancer Research**, v. 57, n. 22, p. 4997-5000, 1997.

CAMPBELL, K. J.; LEUNG, H. Y. Evasion of cell death: A contributory factor in prostate cancer development and treatment resistance. **Cancer Letters**, v. 520, p. 213-221, 2021.

CAPELOZZI, V. L. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. **Jornal de Pneumologia**, v. 27, p. 321-328, 2001.

CARDOSO, S. R.. Canabidiol: estado da arte e os caminhos para a regulamentação no Brasil. 2019.

CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 55, p. 314-317, 2006.

CASTRO, H. A. S. de *et al.* Contribuição da densidade do PSA para predizer o câncer da próstata em pacientes com valores de PSA entre 2, 6 e 10, 0 ng/ml. **Radiologia Brasileira**, v. 44, p. 205-209, 2011.

CAVALCA, A. M. B. et al. P-Glycoprotein and Androgen Receptor Expression Reveals Independence of Canine Prostate Cancer from Androgen Hormone Stimulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1163, 2022.730, 2022.

CHUNG, S. C. *et al.* A high cannabinoid CB1 receptor immunoreactivity is associated with disease severity and outcome in prostate cancer. **European Journal of Cancer**, v. 45, n. 1, p. 174-182, 2009.

CORREIA-DA-SILVA, Georgina *et al.* Canábis e canabinóides para fins medicinais. **Revista Portuguesa De Farmacoterapia**, v. 11, n. 1, p. 21-31, 2019.

CORSATO ALVARENGA, Isabella *et al.* Scientific Validation of Cannabidiol for Management of Dog and Cat Diseases. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 11, p. 227-246, 2023.

CUNTO, M.; BALLOTTA, G.; ZAMBELLI, D. Benign prostatic hyperplasia in the dog. **Animal Reproduction Science**, v. 247, p. 107096, 2022.

CZIFRA, G. *et al.* Increased expressions of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1 in human prostate carcinoma. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 135, p. 507-514, 2009.

DALECK, C. R. *et al.* **Oncologia em cães e gatos** . Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2016. 825-830.

DE ALMEIDA, J. R. C. *et al.* Marcadores tumorais: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 305-316, 2007.

DE MARZO, A. M. *et al.* A working group classification of focal prostate atrophy lesions. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 30, n. 10, p. 1281-1291, 2006.

DE MARZO, A. M. *et al.* Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. **The American Journal of Pathology**, v. 155, n. 6, p. 1985-1992, 1999.

DEMARZO, A. M. *et al.* Pathological and molecular aspects of prostate cancer. **The Lancet**, v. 361, n. 9361, p. 955-964, 2003.

DEVANE, W. A. *et al.* Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular Pharmacology**, v. 34, n. 5, p. 605-613, 1988.

DEWHIRST, M. W.; PAGE, R. L. Emerging Translational Opportunities in Comparative Oncology with Companion Canine Cancers. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 270, 2020.

FASKHOUDI, M. A. *et al.* Molecular landscape of c-Myc signaling in prostate cancer: A roadmap to clinical translation. **Pathology-Research and Practice**, p. 153851, 2022

FONSECA, B. M. *et al.* O Sistema Endocanabinóide—uma perspectiva terapêutica. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 2, n. 2, p. 37-44, 2013.

FONSECA-ALVES, C. E. *et al.* Alterations of C-MYC, NKX3. 1, and E-cadherin expression in canine prostate carcinogenesis. **Microscopy research and technique**, v. 76, n. 12, p. 1250-1256, 2013.

GARCIA, M. *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses tumour progression of prostate cancer bone metastases in nude mice. **BJU International**, v. 113, n. 5b, p. E164-E177, 2014.

GARG, R. *et al.* COX-2 mediates pro-tumorigenic effects of PKC $\epsilon$  in prostate cancer. **Oncogene**, v. 37, n. 34, p. 4735-4749, 2018.

GERDES, J. *et al.* Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. **The American Journal of Pathology**, v. 138, n. 4, p. 867, 1991.

GERDES, J. *et al.* Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. **International Journal of Cancer**, v. 31, n. 1, p. 13-20, 1983.

GRASSINGER, J. M. *et al.* Detection of BRAF mutation in canine prostatic diseases. **Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/heimtiere**, v. 47, n. 5, p. 313-320, 2019.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, Florian R.; KARIN, Michael. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883-899, 2010.

GROSS, C. *et al.* Cannabidiol induces apoptosis and perturbs mitochondrial function in human and canine glioma cells. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 725136, 2021.

GUZMAN, M. Cannabinoids: potential anticancer agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 10, p. 745-755, 2003.

HENRY, J. G. *et al.* The effect of cannabidiol on canine neoplastic cell proliferation and mitogen-activated protein kinase activation during autophagy and apoptosis. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 19, n. 2, p. 253-265, 2021.

HERMANSON, D. J.; MARNETT, L. J. Cannabinoids, endocannabinoids, and cancer. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 30, p. 599-612, 2011.

HINZ, B.; RAMER, R. Anti-tumour actions of cannabinoids. **British journal of pharmacology**, v. 176, n. 10, p. 1384-1394, 2019.

HOROSZEWICZ, J. S. The LNCaP cell line-a new model for studies on human prostatic carcinoma. **Prog Clin Biol Res**, v. 37, p. 115-132, 1980.

INKOL, J. M.; HOCKER, S. E.; MUTSAERS, A. J. Combination therapy with cannabidiol and chemotherapeutics in canine urothelial carcinoma cells. **Plos One**, v. 16, n. 8, p. e0255591, 2021.

JM, A A *et al.* PSA and hK2 in the diagnosis of prostate cancer. **Actas Urologicas Espanolas**, v. 32, n. 6, p. 575-588, 2008.

KAMIYAMA, M. *et al.* Distribution and Possible Function of Cannabinoid Receptor Subtype 1 in the Human Prostate. 2013.

KOBAYASHI, M *et al.* Establishment of a BRAF V595E-mutant canine prostate cancer cell line and the antitumor effects of MEK inhibitors against canine prostate cancer. **Veterinary and Comparative Oncology**, 2023.

KOBAYASHI, P. E. *et al.* Transcriptome of two canine prostate cancer cells treated with Toceranib phosphate reveals distinct antitumor profiles associated with the PDGFR pathway. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 561212, 2020.

KRAKOWSKI, L. *et al.* Assessment of the possibility of using biomarkers (CCL11 and TGF-beta 1) in the diagnosis of prostate gland hyperplasia in dogs. **Theriogenology**, v. 192, p. 9-13, 2022.

KRISTIANSEN, Glen. Diagnostic and prognostic molecular biomarkers for prostate cancer. **Histopathology**, v. 60, n. 1, p. 125-141, 2012.

L DEAN, J.; E KNUDSEN, K. The role of tumor suppressor dysregulation in prostate cancer progression. **Current drug targets**, v. 14, n. 4, p. 460-471, 2013.

LANDA, L.; SULCOVA, A.; GBELEC, P. The use of cannabinoids in animals and therapeutic implications for veterinary medicine: a review. **Veterinárni Medicína**, v. 61, n. 3, 2016.

L'EPLATTENIER, H. F. *et al.* Regulation of COX-2 expression in canine prostate carcinoma: Increased COX-2 expression is not related to inflammation. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 21, n. 4, p. 776-782, 2007.

LEROY, B. E.; NORTHRUP, N. Prostate cancer in dogs: comparative and clinical aspects. **The Veterinary Journal**, v. 180, n. 2, p. 149-162, 2009.

LIN, H.-Y.; PALMIERI, C. Is STAT3 and PTEN expression altered in canine prostate cancer?. **Journal of Comparative Pathology**, v. 155, n. 2-3, p. 185-189, 2016.

LOEB, Stacy; CARTER, Herbert Ballentine. Early detection, diagnosis, and staging of prostate cancer. **Campbell-Walsh Urology**, v. 10, p. 2763-70, 2012.

MAIA, R. *et al.* Podemos usar a expressão de Ki67 para prever a agressividade do câncer de próstata? **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 49, 2022.

MARZO, V. Di; B., Maurizio; PETROCELLIS, L. De. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 9, p. 771-784, 2004.

MATSUDA, L. A. *et al.* Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, v. 346, n. 6284, p. 561-564, 1990.

MIGITA, N. Cultivo celular in vitro: importância para a pesquisa biomédica e dimensão da problemática de autenticação de linhagens celulares. 2012.

MOCHIZUKI, H. *et al.* BRAF mutations in canine cancers. **PloS One**, v. 10, n. 6, p. e0129534, 2015.

MORRIS, S. M. A role for p53 in the frequency and mechanism of mutation. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 511, n. 1, p. 45-62, 2002.

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

NAVONE, Nora M. *et al.* p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, n. 20, p. 1657-1669, 1993.

PACKEISER, E. M. *et al.* Characterization of six canine prostate adenocarcinoma and three transitional cell carcinoma cell lines derived from primary tumor tissues as well as metastasis. **PLoS One**, v. 15, n. 3, p. e0230272, 2020.

PACLIKOVÁ, K.; KOHOUT, P.; VLASIN, M. Diagnostic possibilities in the management of canine prostatic disorders. **VETERINARNÍ MEDICINA-PRAHA-**, v. 51, n. 1, p. 1, 2006.

PALMIERI, C.; FONSECA-ALVES, C. E.; LAUFER-AMORIM, R. A Review on Canine and Feline Prostate Pathology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 2022.

PELLATI, F. *et al.* *Cannabis sativa L.* and nonpsychoactive cannabinoids: their chemistry and role against oxidative stress, inflammation, and cancer. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

PEREIRA, k. G. *Et al.* Fatores associados à masculinidade no diagnóstico precoce do câncer de próstata: revisão narrativa. **Revista nursing**: v. 24, n. 277, p. 5803-5810, 2021.

PEREIRA, P. G. *et al.* O Uso do canabidiol em Paciente com Epilepsia. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 9, p. 424-433, 2021.

PERTWEE, R. G. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicines. **British Journal of Pharmacology**, v. 156, n. 3, p. 397-411, 2009.

PIOMELLI, D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 11, p. 873-884, 2003.

POLLAK, M. N.; SCHERNHAMMER, E. S.; HANKINSON, S. E. Insulin-like growth factors and neoplasia. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 7, p. 505-518, 2004.

## PROGRAMA DE PLANTAS MEDICINAIS E TERAPIAS NÃO CONVENCIONAIS.

Universidade Federal de Juiz de Fora. 2015. Fitoterapia. Disponível em: <https://www.ufjf.br/proplamed/atividades/fitoterapia/>. Acesso: fevereiro de 2022.

QIU, X. et al. MYC drives aggressive prostate cancer by disrupting transcriptional pause release at androgen receptor targets. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 2559, 2022..

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC N° 26, DE 13 DE MAIO DE 2014.

RICHARDSEN, E. *et al.* COX-2 is overexpressed in primary prostate cancer with metastatic potential and may predict survival. A comparison study between COX-2, TGF- $\beta$ , IL-10 and Ki67. **Cancer Epidemiology**, v. 34, n. 3, p. 316-322, 2010.

RODRIGUES, M. M. P. *et al.* Neoplasia intra-epitelial prostática: aspectos morfológicos e moleculares. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 1, p. 19-25, 2010.

SÁNCHEZ, C. et al.  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol induces apoptosis in C6 glioma cells. **FEBS letters**, v. 436, n. 1, p. 6-10, 1998.

SARFARAZ, S. *et al.* Cannabinoid receptor as a novel target for the treatment of prostate cancer. **Cancer Research**, v. 65, n. 5, p. 1635-1641, 2005.

SEKHOACHA, M. et al. Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5

SHRIVASTAVA, A. *et al.* Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and Autophagy CBD induces programmed cell death in breast cancer cells. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 10, n. 7, p. 1161-1172, 2011.

SIEGEL, R. *et al.* Cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014.

SMITH, J. Canine prostatic disease: a review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 375-383, 2008.

SORENMO, K. U. *et al.* Immunohistochemical characterization of canine prostatic carcinoma and correlation with castration status and castration time. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 1, n. 1, p. 48-56, 2003.

TODARO, M. et al. Apoptosis resistance in epithelial tumors is mediated by tumor-cell-derived interleukin-4. **Cell Death & Differentiation**, v. 15, n. 4, p. 762-772, 2008.

TOLEDO, D. C. et al. Caracterização histomorfológica da atrofia inflamatória proliferativa na próstata canina. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1372-1377, 2010.

UMBAS, R. et al. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. **Cancer Research**, v. 52, n. 18, p. 5104-5109, 1992

VLIETSTRA, R. J. et al. Frequent inactivation of PTEN in prostate cancer cell lines and xenografts. **Cancer Research**, v. 58, n. 13, p. 2720-2723, 1998.

WANG, X. S. et al. Characterization of KRAS Rearrangements in Metastatic Prostate Cancer. **Cancer Discovery**, v. 1, n. 1, p. 35-43, 2011.

WATERS, D. J. et al. Workgroup 4: spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. **The Prostate**, v. 36, n. 1, p. 64-67, 1998.

WU, M. J. et al. Targeting KDM4B that coactivates c-Myc-regulated metabolism to suppress tumor growth in castration-resistant prostate cancer. **Theranostics**, v. 11, n. 16, p. 7779, 2021.

XU, F. et al. Cannabidiol promotes apoptosis of osteosarcoma cells in vitro and in vivo by activating the SP1-CBX2 axis. **American Journal of Translational Research**, v. 14, n. 2, p. 1188, 2022.

ZAMAN, A.; WU, Wei; BIVONA, Trever G. Targeting oncogenic BRAF: past, present, and future. **Cancers**, v. 11, n. 8, p. 1197, 2019.

ZIPS, D.; THAMES, H. D.; BAUMANN, M. New anticancer agents: in vitro and in vivo evaluation. **in vivo**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2005.