

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/08/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Laura Luciana de Melo Moreira Silva

**Ação do óleo de *Cannabis sativa* na expressão de genes e proteínas
envolvidas na via inflamatória PTGS2**

São José do Rio Preto
2023

Laura Luciana de Melo Moreira Silva

**Ação do óleo de *Cannabis sativa* na expressão de genes e proteínas
envolvidas na via inflamatória PTGS2**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES
FAPERP

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Regina Bonini
Domingos

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Flávia Cristina Rodrigues
Lisoni

São José do Rio Preto
2023

S586a

Silva, Laura Luciana de Melo Moreira

Ação do óleo de Cannabis sativa na expressão de genes e proteínas envolvidas na via inflamatória PTGS2 / Laura Luciana de Melo Moreira Silva. -- São José do Rio Preto, 2023
55 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Claudia Regina Bonini-Domingos

Coorientadora: Flavia Cristina Rodrigues-Lisoni

1. Inflamação. 2. PTGS2. 3. Cannabis medicinal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Laura Luciana de Melo Moreira Silva

**Ação do óleo de *Cannabis sativa* na expressão de genes e proteínas
envolvidas na via inflamatória PTGS2**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES
FAPERP

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Claudia Regina Bonini Domingos
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Tiago Henrique
FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Ana Paula Girol
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
28 de agosto de 2023

À minha família, que sempre esteve ao meu lado, sendo meu suporte e acreditando no meu potencial. À minha mãe Leonice, minha base, maior incentivadora e inspiração. Aos meus irmãos, Luan e Leonardo, companheiros em todas as fases da vida. E, ao meu noivo Guilherme, por todo o amor, compreensão e por cada sonho que nos move.

Dedico este trabalho a todos que entendem
ciência e educação como ferramentas para
construção de uma sociedade igualitária.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, à qual agradeço, a bolsa de estudos foi imprescindível durante toda a minha trajetória de formação.

À Fundação de Apoio à Pesquisa e Extensão de São José do Rio Preto (FAPERP) pelo custeio de materiais de insumo essenciais para a execução do trabalho.

Ao IBILCE, não só pela estrutura física, mas também pela rede de profissionais que tornam a ciência possível, como a equipe do restaurante universitário, os técnicos-administrativos, e os profissionais de limpeza.

Ao programa de pós-graduação em Biociências, que me proporcionou tanto aprendizado, o contato com professores incríveis, e a participação em eventos científicos.

Às minhas orientadoras, Prof^a. Dr^a Cláudia Bonini e Prof^a. Dr^a Flávia Lisoni, que gentilmente me receberam e encararam esse desafio comigo, por todos os ensinamentos e por terem aberto esse caminho da genética humana na minha formação.

Aos orientadores que tive durante a graduação, Fabrício do Nascimento e Karina Martins, por estarem comigo nos meus primeiros passos acadêmicos, sempre farão parte do que me constrói como educadora e cientista.

À todos os meus amigos. Aos amigos de longa data que mesmo à distância me proporcionam todo suporte e amor, especialmente Natália Woppe, Tainara Holanda, Vitor Talaia, Sheila Nepomuceno e Lucas Waughan, que já compartilharam comigo tantas fases nessa vida. Às amigas que fiz durante esse percurso, Dayla Geraldini e Vitória Soares, por cada conversa e momento.

Ao grupo de pesquisa, Luana Cardoso, Juliana Gusson, Stefanie Sousa, Julia Ricci e Ingrid Iris, que para além de todas as discussões científicas também serão lindas amizades, fizeram parte de cada nova técnica e análise que aprendi e do meu crescimento profissional com cada comentário e discussão. A cada membro do Laboratório de Hemoglobinas e Genética de Doenças Hematológicas pelas reuniões científicas semanais e por todo suporte.

A todos que possibilitaram a realização desse trabalho, como a Associação Para Pesquisa e Desenvolvimento da Cannabis medicinal no Brasil (CANNAB) e o laboratório Grüne Labs Uruguai, que participaram de todos os trâmites para a obtenção do óleo de *Cannabis*.

À Prof^a. Dr^a Sonia Oliani, por permitir a execução da pesquisa no laboratório de Imunomorfologia, e pelas reuniões científicas semanais.

Ao Prof. Dr. Anderson Ferreira da UFSCar e à Prof^a. Dr^a. Nicola Conran da UNICAMP, que gentilmente cederam alíquotas da linhagem celular K562. E à Dr^a. Carla Peres de Paula que me deu orientações sobre como trabalhar com células em suspensão.

À Prof^a. Dr^a Cláudia Carareto, por permitir a utilização do NanoDrop para quantificação de ácidos nucleicos, além do uso da sala escura para revelação das membranas de *western blotting*.

RESUMO

Inflamação é um mecanismo acionado por complexas vias como resposta protetiva ao organismo, contudo, a inflamação crônica gera uma desregulação no metabolismo. O uso medicinal da *Cannabis* ganhou notoriedade devido ao conhecimento sobre Sistema Endocanabinoide (ECS), sistema endógeno relacionado à homeostasia. Os canabinoides da planta (fitocanabinoides) interagem com o ECS em receptores associados ao sistema nervoso e imunológico; dois desses fitocanabinoides são o Canabidiol (CBD) e o Tetrahydrocannabinol (THC). Há correlação entre ligantes do ECS e a via da Ciclooxygenase (PTGS2), mediadora de processos inflamatórios. Sendo assim, pode-se explorar essa relação e a potencial ação anti-inflamatória. Neste trabalho, analisamos o óleo de *Cannabis full spectrum* atuando nas linhagens celulares HUVEC (células endoteliais da veia umbilical humana), e K562 (células eritroecêmicas humanas). Foi utilizado o óleo na proporção de 2:1 de CBD/THC, calculando concentrações entre 1 e 100 μM a partir dos dados do THC, por 4, 24, 48 e 72 horas nos ensaios de morfologia, proliferação celular e viabilidade. Nos ensaios de apoptose; migração; análise de citocinas; expressão dos genes da via inflamatória (*PTGS2*, *MMP2*, *MMP9*) e dos receptores canabinoides (*CNR1* e *CNR2*); e expressão proteica (*PTGS2*), foi utilizado [10 μM] por 24 horas. Observou-se que, o tratamento não alterou a morfologia da HUVEC no tempo de 24 horas, mas para K562 houve uma redução da proliferação à [10 μM]. Para o ensaio de migração, as células K562 tratadas apresentaram aumento na migração. Enquanto para análise de citocinas, foi reduzida IL-8 para K562 e IL-1 β para a linhagem HUVEC. Não houve alteração significativa na análise da apoptose e na expressão dos genes *PTGS2*, *MMP2* e *MMP9*, mas os genes *CNR1* e *CNR2* encontram-se negativamente expressos para K562 tratada. Quanto à expressão proteica, foi demonstrado aumento de *PTGS2* para as duas linhagens. Nosso trabalho evidenciou os benefícios da utilização do óleo de *Cannabis sativa full spectrum* em baixas concentrações ao demonstrar que, esse não alterou a morfologia, proliferação e viabilidade da célula normal, mas teve ação na K562. Sabe-se que o uso de compostos isolados ou sintéticos da *Cannabis* induz à apoptose, e o resultado de não indução traz indícios da ação sinérgica de óleos *full spectrum*, bem como a redução encontrada na expressão de *CNR1* e *CNR2*, super expressos em condições de doença. Portanto, há perspectiva futura para aplicação do óleo de *Cannabis sativa full spectrum* em doenças inflamatórias. Contudo, mais estudos são necessários, para entender os efeitos cumulativos, residuais e de tempo de exposição.

Palavras-chave: Inflamação. *PTGS2*. *Cannabis* medicinal.

ABSTRACT

Inflammation is a mechanism triggered by complex pathways as a protective response to the body; however, chronic inflammation generates a dysregulation in metabolism. The medicinal use of cannabis has gained notoriety due to knowledge about the Endocannabinoid System (ECS), an endogenous system related to homeostasis. The plant's cannabinoids (phytocannabinoids) interact with the ECS at receptors associated with the nervous and immune systems; two of these phytocannabinoids are Cannabidiol (CBD) and Tetrahydrocannabinol (THC). There is a correlation between ECS ligands and the Cyclooxygenase (PTGS2) pathway, which mediates inflammatory processes. Therefore, this relationship and potential anti-inflammatory action could be explored. In this study, we analyzed the effects of *full spectrum Cannabis* oil on HUVEC (human umbilical vein endothelial cells) and K562 (human erythroid leukemia cells) cell lines. The oil was used in a ratio of 2:1 CBD/THC, calculating concentrations between 1 and 100 μ M from the THC data, for 4, 24, 48 and 72 hours in the morphology, cell proliferation and viability assays. In the apoptosis; migration; cytokine analysis; expression of inflammatory pathway genes (*PTGS2*, *MMP2*, *MMP9*) and cannabinoid receptors (*CNR1* and *CNR2*); and protein expression (*PTGS2*) assays, [10 μ M] was used for 24 hours. It was observed that the treatment did not alter HUVEC morphology at 24 hours, but for K562 there was a reduction in proliferation at [10 μ M]. For the migration assay, treated K562 cells showed increased migration. While for cytokine analysis, IL-8 was reduced for K562 and IL-1 β for the HUVEC strain. There was no significant change in the analysis of apoptosis and in the expression of the *PTGS2*, *MMP2* and *MMP9* genes, but the *CNR1* and *CNR2* genes were downregulated for treated K562. As for protein expression, an increase in *PTGS2* was demonstrated for both strains. Our work showed the benefits of using *Cannabis sativa full spectrum* oil in low concentrations by demonstrating that it did not alter the morphology, proliferation and viability of the normal cell, but did act on K562. The use of isolated or synthetic *Cannabis* compounds is known to induce apoptosis, and the result of non-induction is indicative of the synergistic action of *full spectrum* oils, as well as the reduction found in the expression of *CNR1* and *CNR2*, which are upregulated in disease conditions. Therefore, there are future prospects for the application of *full spectrum Cannabis sativa* oil in inflammatory diseases. However, more studies are needed to understand the cumulative, residual and exposure time effects.

Keywords: Inflammation. *PTGS2*. Medicinal *Cannabis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Esquema da ação dos receptores canabinoides	17
Figura 2- Representação da estrutura química do Canabidiol e Tetrahidrocanabinol	18
Figura 3- Fitocanabinoides e PTGS2	19
Figura 4- Fotomicrografia de morfologia celular de HUVEC e K562	29
Figura 5- Gráfico de proliferação celular das linhagens HUVEC e K562	30
Figura 6- Gráfico do ensaio de viabilidade celular das linhagens HUVEC e K562	32
Figura 7- Gráficos da análise de morte celular apoptótica	34
Figura 8- Ensaios de Migração celular <i>Transwell</i> HUVEC e K562.	36
Figura 9- Gráficos do ensaio colorimétrico ELISA das células HUVEC e K562.	38
Figura 10- Gráficos de expressão gênica e proteica em HUVEC e K562	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- *Primers* utilizados na qPCR

26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-Araquidonilglicerol
AEA	Anandamida
ANOVA	Análise de variância a dois critérios
ATCC	<i>American Tissue Cell Culture</i>
Ca⁺	Cálcio
CBG	cannabigerol
CBVN	Cannabidivarin
cAMP	Adenosina monofosfato cíclica (do inglês, <i>Cyclicadenosine monophosphate</i>)
CBD	Canabidiol
CB1	Receptor Canabinoide 1
CB2	Receptor Canabinoide 2
CDC	Center for Disease Control and Prevention
cDNA	DNA complementar
CNR1	Gene do Receptor Canabinoide 1
CNR2	Gene do Receptor Canabinoide 2
DAMP'S	Padrões moleculares associados ao dano (do inglês, <i>Damage associated molecular pattern</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECL	Kit quimioluminescente
ECS	Sistema endocanabinoide (do inglês, <i>Endocannabinoid system</i>)
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática (do inglês, <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>)
FAAH	Amida hidrolase de ácido graxo (do inglês, <i>Fatty acid amide hydrolase</i>)
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GPCR	Receptores acoplados à proteína G (do inglês, <i>G protein coupled receptor</i>)
HRP	Peroxidase Horseradish

HUVEC	Células endoteliais da veia umbilical humana (do inglês, <i>Human umbilical vein endothelial cells</i>)
IgG	Imunoglobulina G
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
LCM	Leucemia mieloide Crônica
K562	Células eritroleucêmicas humanas
MAGL	Monoacilglicerol lipase
MAPK	Proteínas quinase dependentes de mitógeno (do inglês, <i>mitogen-activated protein kinase</i>)
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos 1 (do inglês, <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>)
MMP	Metaloproteinases de matriz
MMP9	Metaloproteinase de matriz 9
MTS	(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -5-(3-carboximetoxifenil) -2-(4-sulfofenil) -2H-tetrazólio)
MTT	1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl) -3,5-diphenylformazan
PAMP'S	Padrões moleculares associados a patógenos (do inglês, <i>Phatogen associated molecular pattern</i>)
PBS	Tampão salino-fosfato (do inglês, <i>Phosphate buffer saline</i>)
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PG	Prostaglandinas
PGE2	Prostaglandina E2
PKA	Proteína quinase A (do inglês, <i>Protein kinasse A activity</i>)
POS	Preparação para o estresse oxidativo (do inglês, <i>Preparation for oxidative stress</i>)
PTGS2	Ciclooxigenase-2 (do inglês, <i>Prostaglandin-endoperoxide synthase</i>)
PTGER	Receptor de prostaglandina E (do inglês, <i>Prostaglandin E Receptor</i>)
RCF	Força centrífuga relativa (do inglês, <i>Relative centrifugal force</i>)

ROS	Espécies reativas de oxigénio (do inglês, <i>Reactive oxygen species</i>)
RT-qPCR	PCR quantitativo em tempo real (do inglês, <i>Real Time Quantitative PCR</i>)
RIPA	Radioimunoprecipitação
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SFB	Soro fetal bovino
TBS	Solução Salina Tamponada com Tris
TBS-T	TBS-T com tween
TCM	Triglicerídeo de cadeia média
THC	Tetrahydrocannabinol
TNF-α	Fator de necrose tumoral α (do inglês, <i>Tumor necrosis factor α</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

μM Micromolar

μL Microlitro

μm Micrômetro

μg Micrograma

M Molar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Inflamação	13
1.2 Inflamação crônica e tratamentos	14
1.3 Cannabis e Sistema Endocanabinoide	15
1.4 PTGS2 e Sistema endocanabinoide	18
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo geral	21
2.2 Objetivos específicos	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 Materiais	22
3.1.1 Linhagens celulares	22
3.1.2 Óleo de Cannabis	22
3.2 Métodos	23
3.2.1 Cultivo e análise da morfologia celular	23
3.2.2 Ensaio de proliferação	23
3.2.3 Viabilidade celular	24
3.2.4 Análise de Apoptose	24
3.2.5 Ensaio de migração	24
3.2.6 Ensaio de imun absorção enzimática (ELISA)	25
3.2.7 Análise da expressão gênica	25
3.2.7.1 Extração de RNAs	25
3.2.7.2 Genes escolhidos	25
3.2.7.3 PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR)	26
3.2.8 Análise da expressão proteica	26
3.2.8.1 Extração e quantificação de proteínas	26
3.2.8.2 Western Blotting	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
4.1 Morfologia, proliferação, e viabilidade celular	28

4.2 Ensaio de Apoptose	34
4.3 Ensaio de migração	35
4.4 Ensaio colorimétrico ELISA	37
4.5 Expressão de genes e proteínas	38
5 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 Inflamação

A inflamação é um mecanismo de proteção aos danos causados no organismo, onde há o acionamento de complexas vias de sinalização. De forma geral, é desencadeada devido a lesões das células/tecidos ou quando há invasão por microrganismos, resultando no envio de células e moléculas de defesa para os locais onde é necessária a reação. Compõem o processo inflamatório as células do sistema imune, os mediadores inflamatórios e a interação desses com os vasos sanguíneos. Além disso, existe o papel de balanço da resposta inflamatória realizado pela classe de moléculas denominadas de lipídeos bioativos, entre eles os eicosanoides e os endocanabinoides (ABBAS, 2019; LEUTI *et al.*, 2020). São células do sistema imunológico os fagócitos, os mastócitos, os basófilos, os eosinófilos, os linfócitos, as células *natural killer* e as células linfoides inatas, secretoras de citocinas. Entre os mediadores estão as prostaglandinas, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. O papel do sistema circulatório é dado pela dilatação das vênulas e arteríolas, com a necessidade do aumento do fluxo e permeabilidade dos vasos sanguíneos (ABBAS, 2019).

Contudo, os quadros inflamatórios podem ser classificados entre agudos ou crônicos. A inflamação aguda é uma resposta em curto prazo, seu acionamento ocorre via resposta imune inata. Esse tipo de reação ocorre quando há o reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (*Pathogen Associated Molecular Patterns*, PAMPs) ou de padrões moleculares associados a danos (*Damage-associated molecular pattern*, DAMPs). Essa cascata envolve a liberação de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1 β (IL-1 β), o fator de necrose tumoral α (*Tumor necrosis factor*, TNF- α) e eicosanoides pró-inflamatórios derivados do ácido araquidônico, essas moléculas amplificam o sinal inflamatório e recrutam células do sistema imune. Para finalização dessa resposta as células endoteliais e imunes param a produção de eicosanoides e passam a produzir mediadores lipídicos pró-resolução (LEVY *et al.*, 2001; MEDZHITOV *et al.*, 2008; DENNIS, NORRIS, 2015; LEUTI *et al.*, 2020).

Entretanto, quando a inflamação progride de forma exacerbada ou há a permanência do estímulo inflamatório, ocorre o desequilíbrio dos sinais anti e pró-inflamatórios levando ao cenário precedente da inflamação crônica, sendo este um estado geralmente associado e/ou precursor de doenças. Esse processo pode ser caracterizado pela produção ininterrupta de citocinas e eicosanoides pró-inflamatórios, pela insuficiência da biossíntese de lipídeos pró-resolução ou ainda pela produção desbalanceada de esfingolipídios e endocanabinoides

(CHIURCHIÙ, LEUTI, MACCARRONE, 2018; LEUTI *et al.*, 2020). Desse modo, ocorre o contínuo recrutamento de células imunes como, por exemplo, os macrófagos pró-inflamatórios, células T efectoras, linfócitos B, ou ainda a inativação de células T regulatórias (LEUTI *et al.*, 2020). Nesse caso a resposta desregulada e prolongada ocasiona o dano tecidual. Alguns exemplos de doenças e condições associadas a inflamação crônica são: Alergias, aterosclerose, câncer, artrite, doenças autoimunes (WEISS, 2008), diabetes, doenças cardiovasculares, distúrbios oculares, obesidade, doença inflamatória intestinal (ARULSELVAN *et al.*, 2015) e doença falciforme (KATO, 2018; SUNDD, GLADWIN, NOVELLI, 2019).

Porém, doenças como a anemia falciforme apresentam uma forma específica de inflamação crônica, denominada de inflamação estéril. Esse tipo de inflamação ocorre no lúmen dos vasos sanguíneos em razão da alteração da reologia dos eritrócitos, é caracterizada pela agregação de neutrófilos, plaquetas e hemácias ao endotélio dos vasos; causando danos por reperfusão e o quadro de dor pela crise vaso-oclusiva (BUNN, 1997; RESS, WILLIAMS, GLADIN, 2010; NOVELLI, GLADWIN, 2016; SUNDD, GLADWIN, NOVELLI, 2019).

Os mediadores inflamatórios estão intimamente relacionados à indução da nocicepção, ou seja, sinalizam o estímulo nocivo aos neurônios sensoriais ocasionando dor. O estímulo à dor quando crônico é prejudicial, sendo este mais um dos componentes agravantes do estado inflamatório crônico (MATSUDA; HUH; JI, 2019). Portanto, é recorrente a busca por medicações que atenuem as manifestações de inflamação crônica, com a necessidade de maior qualidade de vida para pacientes com doenças associadas, considerando um menor efeito colateral possível e maior efetividade de ação.

1.2 Inflamação crônica e tratamentos

Como exemplo da busca por novas medicações em doenças associadas ao estado inflamatório crônico, destaca-se a anemia falciforme. Esses pacientes podem sofrer crises agudas de dor como consequência da inflamação, e até o momento, as melhores medicações disponíveis para o controle dessas crises são a base de opioides, sendo esses pacientes erroneamente associados com a epidemia do uso de opioides (BALLAS, 2020). Conforme Brousseau e colaboradores (2010), a população afro-americana é a mais afetada pela anemia falciforme, e segundo Crowley-Matoka (2013), é a faixa mais estigmatizada diante da epidemia de opioides.

Sinha *et al.* (2019) trazem a problemática da epidemia em decorrência do uso abusivo de medicamentos opioides nos Estados Unidos e quais as implicações para pacientes que necessitam dessas medicações. Os autores observaram que, para os entrevistados, o impacto

das novas diretrizes estabelecidas pelo *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) dos Estados Unidos, diante da epidemia de uso de opioides no país, tem seus pontos de impacto negativos. São mencionadas, a dificuldade na aquisição dos medicamentos, a estigmatização dos pacientes em atendimentos públicos e o crescente interesse na busca por terapias alternativas. Discute-se quanto ao uso de compostos oriundos da *Cannabis sativa* como uma das possibilidades. Zhang & Ho (2015), apontam que, apesar da necessidade de mais estudos, são obtidas cada vez mais evidências sobre os benefícios do uso clínico da *Cannabis*, e mencionam a viabilidade de compostos da planta aplicados ao tratamento de alguns tipos de transtornos de desenvolvimento e comportamento (HADLAND; KNIGHT; HARRIS, 2015), e certas condições neurológicas (BENBADIS, 2014).

A medicina tradicional tem sido uma fonte para busca de novos fármacos investigando as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos produtos naturais (CHOPRA; DHINGRA, 2021). Os medicamentos fitoterápicos tradicionais foram utilizados em diferentes culturas, sendo a *Cannabis sativa* um dos mais antigos; esses não necessariamente substituem o tratamento convencional, mas possibilitam o alívio dos sintomas com redução dos efeitos colaterais, e melhora na qualidade de vida dos pacientes (RUSSO, 2011; ZHANG *et al.*, 2021) O uso terapêutico da *Cannabis* é proposto nesse sentido.

1.3 Cannabis e Sistema Endocanabinoide

Apesar de haver registros milenares sobre seu uso em diversas culturas, em países como Índia e China (MECHOULAM, 1986; RUSSO, 2008), o potencial medicinal da *Cannabis* está em maior evidência nas últimas décadas, principalmente pelo destaque obtido a partir da descoberta do Sistema Endocanabinoide (*Endocannabinoid system*, ECS). O ECS é um sistema endógeno, que forma uma rede intracelular de sinalização, sua ação está relacionada a homeostasia do organismo e processos fisiológicos como a dor e inflamação. Possui três componentes principais: (a) Os receptores canabinoides; (b) os canabinoides endógenos, com seus dois exemplos mais bem descritos sendo a anandamida (*N-arachidonylethanolamine*, AEA) e a 2-araquidonilglicerol (2-AG), pequenos lipídeos derivados do ácido araquidônico; (c) e o aparato enzimático de degradação e síntese, com destaque para a amida hidrolase de ácido graxo (*Fatty acid amide hydrolase*, FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL) (MARZO, BIFULCO, PETROCELLIS, 2004; AGGARWAL, 2009; BRUSTON, WOODHAMS, 2014; JARVIS, RASSMUSSEN, WINTERS, 2017).

Quanto aos receptores, os dois subtipos mais estudados são os canabinoides do tipo 1 (CB1) e canabinoides do tipo 2 (CB2), dos quais são distintos tanto pelas sequências de

aminoácidos como pela ação e proporção na qual estão distribuídos nos diferentes tecidos. Os receptores CB1 encontram-se no cérebro, sistema cardiovascular, pulmões, músculos, trato gastrointestinal, sistema reprodutivo, fígado, medula óssea e pâncreas; enquanto os receptores CB2 prevalecem no sistema imune, ossos, baço, pele, fígado, medula óssea e pâncreas (PERTWEE, 1997; KHANOLKAR, PALMER, MAKRIYANNIS, 2000; HOWLETT, ABOOD, 2017, REZENDE, 2023).

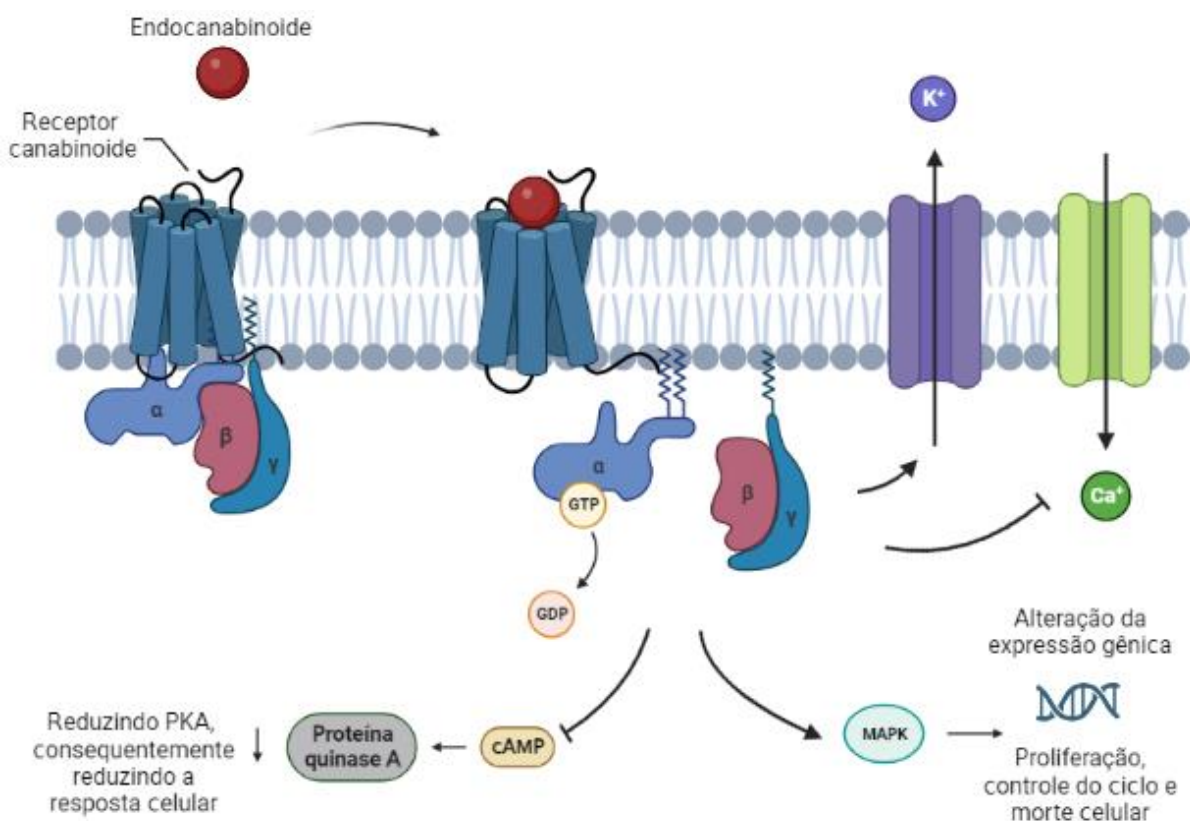
Ambos fazem parte da família de receptores acoplados ao complexo de proteínas G (*G protein-coupled receptors*, GPCR), geralmente encontrados na membrana plasmática. Esses receptores inibem a adenilato ciclase, diminuindo a disponibilidade de monofosfato cíclico de adenosina (*Cyclic adenosine monophosphate*, cAMP) e de proteína quinase A (*Protein kinase A activity*, PKA), e, conseqüentemente, atuam na resposta celular (MCCARBERG; BARKIN, 2007; PERTWEE *et al.* 2010). Além disso, outros efeitos são o acúmulo de cálcio (Ca^{+}) intracelular (KANO *et al.*, 2009) e o estímulo a via de sinalização por proteínas quinase dependentes de mitógeno (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK), sendo este último, um mecanismo associado majoritariamente aos receptores CB1 (TURU; HUNYADY, 2010; ZOU; KUMAR, 2018).

O receptor CB1 foi clonado em 1990, inicialmente encontrado em ratos e somente depois foi descrito em tecidos humanos (MATSUDA *et al.*, 1990; GÉRARD *et al.*, 1990; GÉRARD *et al.*, 1991); é ativado pelo gene *CNR1*, sendo expressos principalmente nos neurônios, e em menor proporção nos astrócitos, oligodendrócitos e micróglia (HERKENHAM *et al.*, 1991; TAO *et al.*, 2020).

Quanto ao receptor CB2, foi primeiramente clonado em 1993, em linhagem celular de leucemia promielocítica (HL-60) (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993); é expresso pelo gene *CNR2*, e sua sequência de aminoácidos possui cerca de 44% de homologia à sequência de CB1 (ZHANG *et al.*, 2015a); modulam analgesia e nocicepção, e ocorrem principalmente em células do sistema imune, como neutrófilos, eosinófilos, *natural killer*, linfócitos, mas podem ser encontrados em neurônios, microglia, macrófagos e em células endoteliais vasculares (RAJESH *et al.*, 2007; RAJESH, *et al.* 2008; CHIURCHIÙ, BATTISTINI, MACCARRONE, 2015; ZOU; KUMAR, 2018; LI *et al.*, 2020).

O mecanismo de ação dos receptores é evidenciado na Figura 1:

Figura 1- Esquema da ação dos receptores canabinoides.



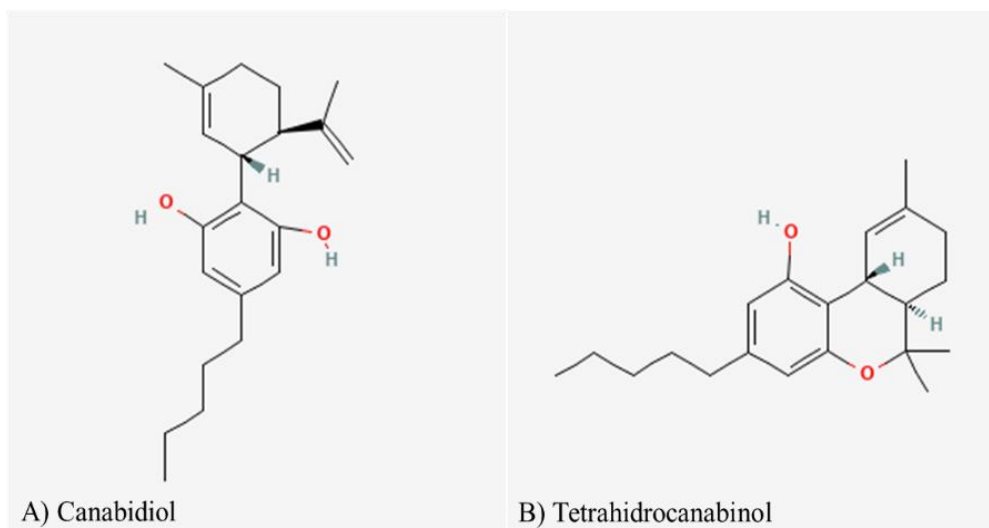
Subtítulo: Os receptores endógenos ou endocanabinoides (AEA e 2-AG), interagem com seus receptores (respectivamente, CB1 e CB2), acionando GPCR, o que acarreta no desprendimento das subunidades α de β/γ , desencadeando na inibição de cAMP, reduzindo a resposta celular pela redução de PKA. Esse mecanismo nos receptores CB1 associados ao sistema nervoso interrompe a liberação de neurotransmissores. O desprendimento da subunidade β/γ altera o balanço de canais iônicos, levando ao acúmulo de Ca^{2+} nas células. Além disso, essa cascata aciona a via MAPK, envolvida no controle de ciclo e morte celular. Fonte: ELABORADA PELA AUTORA, 2023.

Trabalhos sugerem a ação de moléculas do ECS em outros receptores além de CB1 e CB2, como em receptores vaniloides (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1 e TRPM8) e em receptores metabotrópicos (GPR55, GPR3, GPR6, GPR12 e GPR19) (PETROCELLIS, 2011; MULLER, MORALES, REGGIO, 2019; YE, 2019; REZENDE, 2023). Recentemente foi proposto o termo endocanabinoidoma para abranger todo o conjunto de enzimas, proteínas e lipídios que estejam envolvidos na modulação do ECS (LEUTI *et al.*, 2020)

A *Cannabis* contém moléculas denominadas fitocanabinoides, essas possuem afinidade aos receptores do ECS. Dois desses fitocanabinoides mais amplamente descritos e estudados são o canabidiol (CBD) e o tetrahydrocannabinol (THC), sendo que o segundo possui propriedades psicoativas. O THC teve sua estrutura descoberta em 1964, sendo essencial na descoberta do ECS em razão da proposição de um receptor para essa molécula (MCCARBERG,

BARKIN, 2007; CRISTINO, BECKER, MARZO, 2014; REZENDE, 2023). Suas estruturas são representadas a seguir:

Figura 2- Representação da estrutura química do Canabidiol e Tetrahydrocannabinol.



Fonte: NCBI, 2023a; NCBI, 2023b.

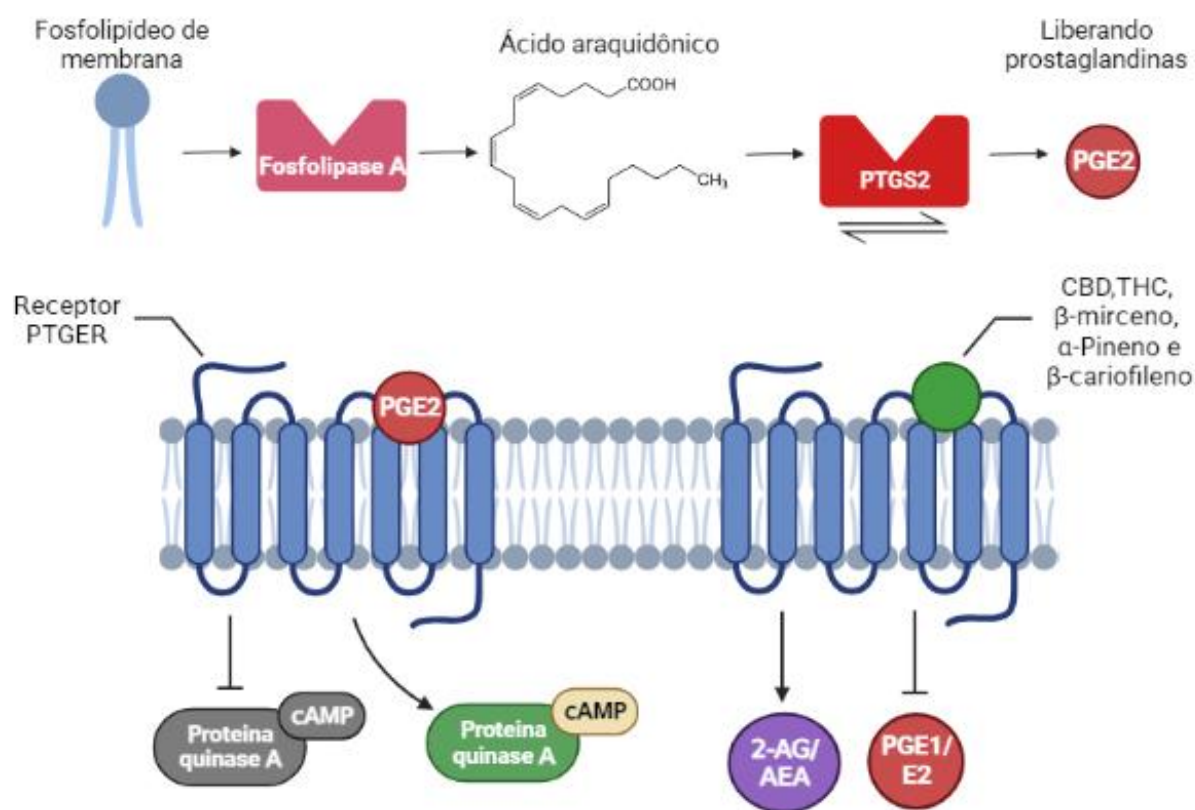
O potencial analgésico e anti-inflamatório da *Cannabis* é relatado, sendo essa a principal via de interesse deste trabalho. São descritos, na literatura, o papel da sinalização do receptor canabinoide como regulador da expressão gênica de células imunes (KLEIN *et al.*, 2003), e sua influência sobre adesão de leucócitos, ativação de mastócitos e no estresse oxidativo (ELIKKOTTIL, GUPTA, GUPTA, 2009; VINCENT *et al.*, 2016). E, apesar de necessária maior investigação, tem-se descoberto a relação entre ligantes do ECS com a via da ciclooxigenase-2 (*Prostaglandin-endoperoxide synthase*, PTGS2), sendo esta responsável por acionar uma cascata mediadora de processos inflamatórios (KOZAK *et al.*, 2002; FOWLER, 2007). As evidências da relação podem ser um dos pontos de partida para explorar a ação da *Cannabis* na inflamação.

1.4 PTGS2 e Sistema endocanabinoide

Como descrito anteriormente, os endocanabinoides atuam na regulação da resposta inflamatória. Sendo assim, este trabalho explorou sua relação com a via da PTGS2, anteriormente conhecida pela sigla COX-2. A PTGS2 é uma enzima oxidante da cascata do ácido araquidônico, sendo responsável por catalisar a produção de prostaglandinas (PG) culminando na liberação de citocinas (ZMIGRODZKA *et al.*, 2018; SCHAEUBLE *et al.*, 2019), sua ação ocorre pela interação de PG, principalmente prostaglandina E2 (PGE2), a

GPCRs específicos (*Prostaglandin E Receptor*, PTGER) (CALLAGHAN; HOUSTON, 2015). A PTGS2 reconhece endocanabinoides que contêm ácidos graxos poli-insaturados (LEUTI *et al.*, 2020). Em tratamentos com óleo de *Cannabis* do tipo *full spectrum* compostos como CBD, THC, e terpenos como β -mirceno, α -Pineno, β -cariofileno também atuam reduzindo PTGS2 (MAAYAH *et al.*, 2020). A interação entre PTGS2 e fitocanabinoides é demonstrada na Figura 3:

Figura 3- Fitocanabinoides e PTGS2.



Subtítulo: A via da PTGS2 faz parte da cascata do ácido araquidônico, onde fosfolipídios de membrana são clivados pela enzima Fosfolipase A, gerando ácido araquidônico que é posteriormente convertido pela enzima PTGS2 em prostaglandina H₂, essa pode formar diferentes isômeros, sendo PGE₂ a mais abundante. PGE₂ atua ligando-se a GPCRs específicos, e sua ação irá depender do receptor ao qual se ligou, podendo tanto diminuir como aumentar adenilato ciclase, bloqueando ou ativando PKA. Já os fitocanabinoides, interagem com seus GPCRs específicos, e afetam a PTGS2 pela inibição de PGE₁/E₂ e produção de endocanabinoides (AEA e 2-AG).
Fonte: ELABORADA PELA AUTORA, 2023.

Na cascata iniciada pela PTGS2, entre os receptores específicos das prostaglandinas encontra-se PTGER₄ (NARUMIYA; FITZGERALD, 2001), regulador da expressão de metaloproteinases da matriz (MMPs). As MMPs são uma família de enzimas, geralmente utilizadas como marcadores inflamatórios, em sua forma extracelular estão ligadas ao desencadeamento e regulação da inflamação ao ter ação proteolítica sobre citocinas e

quimiocinas inflamatórias (MANICONE; MCGUIRE, 2008). São reguladoras metabólicas e possuem capacidade de clivar lipoproteínas e receptores de lipoproteínas, as MMP-2 podem modular vias inflamatórias intracelulares e o metabolismo de lipídeos (FERNANDEZ-PATRON; KASSIRI; LEUNG, 2016). Enquanto as MMP-9 intracelulares podem atuar na imunidade inata e na inflamação mediada por receptor do tipo Toll 4 (ZHANG *et al.*, 2015b). Entre os exemplos de sua atuação, as MMP-2 e 9, demonstram potencial tanto em promover como reprimir a interleucina IL-1 β (ITO *et al.*, 1996); e MMP-9 processa o domínio N-terminal IL-8, produzindo uma molécula capaz de ser quimioatraente (STEEN *et al.*, 2000; STEEN *et al.*, 2003).

Além disso, MMP2 é descrita como moduladora de TNF- α . A TNF- α é uma citocina envolvida com ativação e expressão de MMPs, exercendo um papel de retroalimentação que mantém quadros inflamatórios (VU; WERB, 2000; MCQUIBBAN *et al.*, 2002). TNF- α foi utilizada em estudos *in vivo* como estímulo inflamatório em camundongos (HIDALGO *et al.*, 2009) e para análises da fisiopatologia da dor vaso-oclusiva decorrente do quadro inflamatório crônico da anemia falciforme (LI *et al.*, 2014).

Como exemplo do papel das citocinas no agravamento de doenças inflamatórias crônicas, o estudo de Domingos *et al.* (2020) demonstra os altos níveis de IL-6 e IL-8 em pacientes de anemia falciforme durante crise característica da doença; e a associação ao risco aumentado de desdobramentos como síndrome torácica aguda, osteonecrose e úlceras nas pernas; os autores argumentam sobre a semelhança com feridas crônicas causadas por diabetes e o papel das interleucinas, em que a resposta inflamatória persistente impede uma recuperação adequada. O trabalho de Sesti-Costa *et al.* (2021), encontrou níveis significativos das citocinas IL-6, IL-8 e MCP-1 em pacientes de anemia falciforme, e destaca que isso pode indicar a atuação dessas citocinas no recrutamento de monócitos e neutrófilos no processo inflamatório.

Portanto, é destacada a correlação entre os mediadores relacionados à cascata inflamatória e os mecanismos de atuação do ECS. Este trabalho se propõe a fazer essa análise verificando como o óleo da *Cannabis* atua sobre a expressão de genes e proteínas que fazem parte da cascata de inflamação, em linhagens celulares.

5 CONCLUSÕES

Os resultados de morfologia, proliferação e viabilidade celular evidenciaram que, o óleo em baixas concentrações e no tempo de 24 horas não surtiu efeitos sobre a linhagem normal, mas alterou morfologia e proliferação celular de K562.

Não houve redução significativa da proliferação celular a 10 μ M por 24 horas em ambas as linhagens. A linhagem K562 teve a migração celular aumentada nas células tratadas a 10 μ M por 24 horas.

Para a secreção de citocinas, foi encontrada a diminuição de IL-8 para K562 e HUVEC, redução de IL-1 β para a linhagem HUVEC.

A expressão gênica de *PTGS2*, *MMP2* e *MMP9* não foi significativa nas células HUVEC e K562, enquanto para os receptores canabinoides (*CNR1* e *CNR2*) houve diminuição da expressão nas células K562 tratadas com o óleo.

A expressão proteica de PTGS2 foi aumentada significativamente nas células K562 tratadas com óleo de *Cannabis*.

Sendo assim, foi possível evidenciar a correlação entre a via PTGS2 e o tratamento com óleo de *Cannabis* nos modelos utilizados pela alteração nas citocinas moduladoras da via PTGS2. Contudo, há a necessidade de análises complementares para entender quais vias bioquímicas podem ter sido alteradas pela redução da expressão de CB1 e CB2.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. **Imunologia Celular e Molecular**. Grupo GEN, 2019. 9788595150355.

ABIDI, A. H. *et al.* Phytocannabinoids regulate inflammation in IL -1 β -stimulated human gingival fibroblasts. **Journal of Periodontal Research**, v. 57, n. 6, p. 1127–1138, 2022.

AGGARWAL S; *et al.* Medicinal use of *Cannabis* in the United States: historical perspectives, current trends, and future directions. **Journal of Opioid Management**, v. 5, n. 3, p. 153-168, 2009.

ALMADA, M. *et al.* Synthetic cannabinoids JWH-018, JWH-122, UR-144 and the phytocannabinoid THC activate apoptosis in placental cells. **Toxicology Letters**, v. 319, p. 129–137, 2020.

ANDERSON, L. C.; NILSSON, K.; GAHMBERG, C. G. K562 - A human erythroleukemic cell line. **International Journal of Cancer**, v. 23, p. 143-147, 1979.

ARULSELVAN, P.; *et al.* Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation, **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2016, p. 1-15, 2016.

AVRAAMIDOU, E. *et al.* Myeloid but Not Endothelial Expression of the CB2 Receptor Promotes Atherogenesis in the Context of Elevated Levels of the Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol. **Journal of Cardiovascular Translational Research**, v. 16, n. 2, p. 491–501, 2023.

BADOLATO, M.; *et al.* Discovery of 1,4-Naphthoquinones as a New Class of Antiproliferative Agents Targeting GPR55. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, 402-406, 2019.

BALLESTER, P.; MURIEL, J.; PEIRÓ, A. M. CYP2D6 phenotypes and opioid metabolism: the path to personalized analgesia. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 18, n. 4, p. 261-275, 2022.

BALLAS, S. K. Pathophysiology and principles of management of the many faces of the acute vaso-occlusive crisis in patients with sickle cell disease. **European Journal of Haematology**, v. 95, n. 2, p. 113-123, 2015.

BALLAS, S. K. How I treat acute and persistent sickle cell pain. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, 2020.

BENDADIS, S. R.; *et al.* Medical marijuana in neurology. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 14, n. 12, p. 1453–1465, 2014.

BEVILACQUA, M. P.; *et al.* Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: An inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. **Science**, v. 243, n. 4895, p.1160–1165, 1989.

BOOZ, G. W. Cannabidiol as an emergent therapeutic strategy for lessening the impact of inflammation on oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 5, p. 1054–1061, 2011.

BROUSSEAU, D. C.; *et al.* The number of people with sickle-cell disease in the United States: national and state estimates. **American Journal of Hematology**, v. 85, n. 1, p. 77-78, 2010.

BRUNI, N.; *et al.* Cannabinoid Delivery Systems for Pain and Inflammation Treatment. **Molecules**, n. 23, v. 2478, 2018.

BRUSTON, J. J.; WOODHAMS, S. G. Endocannabinoid system and pain: an introduction. **Proceedings of the Nutrition Society**, n. 73, p. 106-117, 2014.

BUNN H. F. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. N. **New England Journal of Medicine**, v. 337, p. 762–69, 1997.

BURNS M. P., DEPAOLA N. Flow-conditioned HUVECs support clustered leukocyte adhesion by coexpressing ICAM-1 and E-selectin. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, p. H194 –H204, 2005.

CAMPOS, A. C.; *et al.* Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, n. 367, n. 1607, p. 3364-3378, 2012.

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

CHIURCHIÙ, V.; BATTISTINI, L.; MACCARRONE, M. Endocannabinoid signalling in innate and adaptive immunity. **Immunology**, v. 144, n. 3, p. 352–364, 2015.

CHIURCHIÙ, V., LEUTI, A., MACCARRONE, M. Bioactive Lipids and Chronic Inflammation: Managing the Fire Within. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 2018.

CHOPRA, B.; DHINGRA, A. K. Natural products: A lead for drug discovery and development. **Phytotherapy research**, v. 35, n. 9, p. 4660-4702, 2021.

CRISTINO, L.; BECKER, T.; MARZO, V. Endocannabinoids and energy homeostasis: an update. **Biofactors**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 389-397, 2014.

CROWLEY-MATOKA, M. How to parse the protective, the punitive and the prejudicial in chronic opioid therapy? **Pain**, v. 154, n.1, p. 5-6, 2013.

DEMUTH, D. G.; MOLLEMAN, A. Cannabinoid signalling. **Life Sciences**, v. 78, n. 6, p. 549–563, 2006.

DENNIS, E., NORRIS, P. Eicosanoid storm in infection and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, p. 511–523, 2015.

DESTA, Z.; *et al.* PharmVar GeneFocus: CYP2B6. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 110, n. 1, p. 82-97, 2021.

DI FORTI, M. *et al.* Proportion of patients in south London with first-episode psychosis attributable to use of high potency cannabis: a case-control study. **The Lancet Psychiatry**, v. 2, n. 3, p. 233–238, 2015.

DINARELLO, C. A. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. **Annual Review of Immunology**, v. 27, n. 1, p. 519–550, abr. 2009.

DOMINGOS, I. F.; *et al.* High levels of proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8 are associated with a poor clinical outcome in sickle cell anemia. **Annals of Hematology**, v. 99, n.5, p.947-953, 2020.

DREXLER, H. G. The Leukaemia–Lymphoma Cell Line Factsbook. **British Journal of Haematology**, v.117, p. 1000–1001, 2002.

ELIKKOTTIL J.; GUPTA P.; GUPTA K. The analgesic potential of cannabinoids. **Journal of Opioid Management**, v. 5, n. 3, p. 341-357, 2009.

ENDSLEY, M. P. *et al.* Diverse roles of 2-arachidonoylglycerol in invasion of prostate carcinoma cells: Location, hydrolysis and 12-lipoxygenase metabolism. **International Journal of Cancer**, v. 121, n. 5, p. 984–991, 1 set. 2007.

FARSANDAJ, N.; GHAHREMANI, M. H.; OSTAD, S. N. Role of cannabinoid and vanilloid receptors in invasion of human breast carcinoma cells. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer**, v. 31, n. 4, p. 377–387, 2012.

FAURSCHOU, M.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 14, p. 1317–1327, 2003.

FERNANDEZ-PATRON, C.; KASSIRI, Z.; LEUNG, D. Modulation of Systemic Metabolism by MMP-2: From MMP-2 Deficiency in Mice to MMP-2 Deficiency in Patients. **Comprehensive Physiology**, v. 6, n. 4, p. 1935–1949, 2016.

FOWLER, C. J. The contribution of cyclooxygenase-2 to endocannabinoid metabolism and action. **British Journal of Pharmacology**, n. 152, p. 594-601, 2007.

FREIMUTH, N.; RAMER, R.; HINZ, B. Antitumorigenic effects of cannabinoids beyond apoptosis. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 332, n. 2, p. 336–344, 2010.

GALVE-ROPERH, I. *et al.* Mechanism of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation by the CB1 Cannabinoid Receptor. **Molecular Pharmacology**, v. 62, n. 6, p. 1385–1392, 2002.

GARCÍA-MORALES, L. *et al.* CBD Reverts the Mesenchymal Invasive Phenotype of Breast Cancer Cells Induced by the Inflammatory Cytokine IL-1 β . **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 7, p. 2429, 2020.

GÉRARD, C.; *et al.* Nucleotide sequence of a human cannabinoid receptor cDNA. **Nucleic Acids Research**, n. 18, v. 7142, 1990.

GÉRARD, C. M.; *et al.* Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. **Biochemical Journal**, n. 279, p. 129-134, 1991.

GERTSCH, M. J.; *et al.* Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 105, v. 26, p. 9099-9104, 2008.

GIRAUD-BILLOUD, M.; *et al.* Twenty years of the “Preparation for Oxidative Stress” (POS) theory: Ecophysiological advantages and molecular strategies. **Comparative Biochemistry and Physiology A-molecular & Integrative Physiology**, v. 234, p. 36–49, 2019.

GHASEMI, M.; *et al.* The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 22, v. 12827, 2021.

GHOLIZADEH, F.; *et al.* Assessment of Cannabinoids Agonist and Antagonist in Invasion Potential of K562 Cancer Cells. **Iranian Biomedical Journal**, v. 23, n. 2, p. 153-158, 2019.

GRECO, R. *et al.* Characterization of CB2 Receptor Expression in Peripheral Blood Monocytes of Acute Ischemic Stroke Patients. **Translational Stroke Research**, 2020.

GUO, W.; *et al.* The Effect of Polyhydroxy Fullerene Derivative on Human Myeloid Leukemia K562 Cells. **Materials**, v. 15, n. 1349, 2022.

HADLAND, S. E.; KNIGHT, J. R.; HARRIS, S. K. Medical marijuana: review of the science and implications for developmental-behavioral pediatric practice. **Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics**, v. 36, n. 2, p. 115–123, 2015.

HERKENHAM, M.; *et al.* Neuronal localization of cannabinoid receptors and second messengers in mutant mouse cerebellum. **Brain Research**, n. 552, p. 301–310, 1991.

HIDALGO, A.; *et al.* Heterotypic interactions enabled by polarized neutrophil microdomains mediate thromboinflammatory injury. **Nature Medicine**, v. 15, n. 4, p. 384-391, 2009.

HOHMANN, T. *et al.* On the influence of cannabinoids on cell morphology and motility of glioblastoma cells. **PLoS One**, v. 14, n. 2, p. e0212037–e0212037, 2019.

HOWLETT, A.; BLUME, L.; DALTON, G. CB1 Cannabinoid Receptors and their Associated Proteins. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 14, p. 1382–1393, 2010.

HOWLETT, A. C.; ABOOD, M. E. CB 1 and CB 2 Receptor Pharmacology. **Cannabinoid Pharmacology**, [S.L.], p. 169-206, 2017.

IRRERA, N.; *et al.* Pros and Cons of the Cannabinoid System in Cancer: Focus on Hematological Malignancies. **Molecules**, n. 26, ed. 3866, 2021.

IBSEN, M. S.; CONNOR, M.; GLASS, M. Cannabinoid CB1 and CB2 Receptor Signaling and Bias. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 2, n. 1, p. 48–60, 2017.

ITO, A. *et al.* Degradation of Interleukin 1 β by Matrix Metalloproteinases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 25, p. 14657–14660, 1996.

IZZO, A. A. *et al.* Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. **Trends in pharmacological sciences**, v. 30, n. 10, p. 515–27, 2009.

JAFFE, E. A. *et al.* Culture of Human Endothelial Cells Derived from Umbilical Veins. Identification By Morphologic and Immunologic Criteria. **Journal of Clinical Investigation**, v. 52, n. 11, p. 2745–2756, 1973.

JARVIS, S.; RASSMUSSEN, S.; WINTERS, B. Role of the Endocannabinoid System and Medical *Cannabis*. **The Journal for Nurse Practitioners**, v. 13, n. 8, p. 525-531, 2017.

JOSEPH, J. *et al.* Anandamide is an endogenous inhibitor for the migration of tumor cells and T lymphocytes. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 53, n. 8, 2004.

KANO, M. *et al.* Endocannabinoid-Mediated Control of Synaptic Transmission. **Physiological Reviews**, v. 89, n. 1, p. 309-380, 2009.

KATO, G. J. Sickle cell disease. **Nature Reviews**, v. 4, n. 18010, 2018.

KATONA, I.; FREUND, T. F. Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. **Nature Medicine**, v. 14, n. 9, p. 923–930, 2008.

KAWASAKI, N; *et al.* Control of Hemoglobin Synthesis in Erythroid Differentiating K562 Cells. **Archives Of Biochemistry and Biophysics**, v. 328, n. 2, p. 289-294, 1996.

KENNY, M. W.; GEORGE, A. J.; STUART J. Platelet hyperactivity in sickle-cell disease: a consequence of hyposplenism. **Journal of Clinical Pathology**, n. 33, p. 622-625, 1980.

KHANOLKAR, A. D.; PALMER, S. L.; MAKRIYANNIS, A. Molecular probes for the cannabinoid Receptors. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 108, n. 1-2, p. 37-52, 2000.

KISHIMOTO, S. Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand Induces the Migration of Human Natural Killer Cells. **Journal of Biochemistry**, v. 137, n. 2, p. 217–223, 2005.

KLEIN, T.W., *et al.* The cannabinoid system and immune modulation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 74, n. 4, p.486-496, 2003.

KOGAN, N. M.; *et al.* A cannabinoid quinone inhibits angiogenesis by targeting vascular endothelial cells. **Molecular Pharmacology**, n. 70, p. 51-59, 2006.

KOGAN, N. M.; *et al.* HU-331, a novel cannabinoid-based anticancer topoisomerase II inhibitor. **Molecular Cancer Therapeutics**, n. 6, 173-183, 2007.

KOKURA S., *et al.* Molecular Mechanisms of Neutrophil-Endothelial Cell Adhesion Induced by Redox Imbalance. **Circulation Research**, v. 84, n. 5, p. 516–524, 1999.

KOZAK, K. R.; *et al.* Metabolism of the endocannabinoids, 2-arachidonylglycerol and anandamide, into prostaglandin, thromboxane, and prostacyclin glycerol esters and ethanolamides. **Journal of Biological Chemistry**, n. 277, p. 44877-44885, 2002.

LEUTI, A. *et al.* Bioactive lipids, inflammation and chronic diseases. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 159, p. 133-169, 2020.

LEVY, B., *et al.* Lipid mediator class switching during acute inflammation: signals in resolution. **Nature Immunology**, v. 2, p. 612-619, 2001.

LI, J., *et al.* Neutrophil AKT2 regulates heterotypic cell-cell interactions during vascular inflammation. **Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 4, p. 1483-1496, 2014.

LI, X.; *et al.* Structural and Functional Insights into Cannabinoid Receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, n. 41, p. 665-677, 2020.

LIU, C. *et al.* Cannabinoids Promote Progression of HPV-Positive Head and Neck Squamous Cell Carcinoma via p38 MAPK Activation. **Clinical Cancer Research**, v. 26, n. 11, p. 2693–2703, 2020.

LOWIN, T. *et al.* Cannabidiol (CBD): a killer for inflammatory rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 8, 2020.

LOZZIO, C. B. LOZZIO, B. B. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. **Blood**, v. 45, n. 3, 1975.

MAAYAH, Z. H.; *et al.* The molecular mechanisms that underpin the biological benefits of full-spectrum cannabis extract in the treatment of neuropathic pain and inflammation. **Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 7, 2020.

MACCARRONE, M. *et al.* Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 5, p. 277–296, 2015.

MANICONE, A.; MCGUIRE, J. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 19, n. 1, p. 34–41, 2008.

MARZĘDA, P. *et al.* Cannabidiol Interacts Antagonistically with Cisplatin and Additively with Mitoxantrone in Various Melanoma Cell Lines—An Isobolographic Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 12, p. 6752, 2022.

MARZO, V.; BIFULCO, M.; PETROCELLIS L. 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, p. 561-564, 1990.

MATSUDA, M.; HUH, Y.; JI, R. R. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain. **Journal of Anesthesia**, v. 33, n. 1, p. 131-139, 2019.

MCCARBERG, B. H.; BARKIN, R. L. The future of cannabinoids as analgesic agents: a pharmacologic, pharmacokinetic, and pharmacodynamic overview. **American Journal of Therapeutics**, v. 14, n. 5, p. 475–483, 2007.

MCKALLIP, R. J.; *et al.* Cannabidiol-induced apoptosis in human leukemia cells: A novel role of cannabidiol in the regulation of p22phox and Nox4 expression. **Molecular Pharmacology**, v. 70, p. 897-908, 2006.

MCQUIBBAN G. A.; *et al.* Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo. **Blood**, v. 100, n. 4, p. 1160-1167, 2002.

MECHOULAM, R. The Pharmacohistory of *Cannabis Sativa*. In: MECHOULAM, R. *et al.* **Cannabinoids as Therapeutic Agents**. 1. Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 1-20, 1986.

MEDINA-LEYTE, D. J. *et al.* Use of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) as a Model to Study Cardiovascular Disease: A Review. **Applied Sciences**, v. 10, n. 3, p. 938, 2020.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.

MILIAM, L., *et al.* Cannabinoid receptor expression in non-small cell lung cancer: Effectiveness of tetrahydrocannabinol and cannabidiol inhibiting cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition in vitro. **PLoS One**, v. 15, n. 2, 2020.

MILLER, L. K.; DEVI, L. A. The highs and lows of cannabinoid receptor expression in disease: mechanisms and their therapeutic implications. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 3, p. 461–470, 2011.

MONTECUCCO, F.; DI MARZO, V. At the heart of the matter: the endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 33, n. 6, p. 331–340, 2012.

MORALES, P.; *et al.* Synthetic cannabinoid quinones: Preparation, in vitro antiproliferative effects and in vivo prostate antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 70, p. 111-119, 2013.

MILLER, A. M.; STELLA, N. CB2 receptor-mediated migration of immune cells: it can go either way. *British Journal of Pharmacology*, v. 153, n. 2, p. 299–308, jan. 2008.

MULLER, C.; MORALES, P.; REGGIO, P. H. Cannabinoid Ligands Targeting TRP channels. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 11, 2019.

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

NARUMIYA, S.; FITZGERALD, G.A. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. **Journal of Clinical Investigation**, v. 108, n. 1, p. 25-30, 2001.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). **PubChem Compound Summary for CID 644019, Cannabidiol**. Disponível em:

<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cannabidiol>>. Acesso em: Maio, 2023a.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). **PubChem Compound Summary for CID 16078, Dronabinol**. Disponível em:

<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dronabinol>>. Acesso em: Maio, 2023b.

NOVELLI E. M., GLADWIN M. T. Crises in sickle cell disease. **Chest**, v. 149, p. 1082-1093, 2016.

O'CALLAGHAN, G.; HOUSTON, A. Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets? **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 22, p. 5239–5250, 2015.

PACHER, P.; STEFFENS, S. The emerging role of the endocannabinoid system in cardiovascular disease. **Seminars in Immunopathology**, v. 31, n. 1, p. 63-77, 2009.

PAGANO, *et al.* Biological effects of Cannabidiol on normal human healthy cell populations: Systematic review of the literature. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 132, 2020.

PARVEZ, M. K.; *et al.* Oncoglabrinol C, a new flavan from *Oncocalyx glabratus* protects endothelial cells against oxidative stress and apoptosis, and modulates hepatic CYP3A4 activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 6, p. 648-656, 2020.

PERTWEE, R. G. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 74, n. 2, p. 129-180, 1997.

PERTWEE, R. G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 199-215, 2008.

PERTWEE, R. G. *et al.* International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2. **Pharmacological Reviews**, v. 62, n. 4, p. 588–631, 2010.

PETROCELLIS, L.; *et al.* Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched *Cannabis* extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. **British Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 163, n. 7, p. 1479-1494, 2011.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 9, p. 45e45, 2001.

POTSCHKA, H. *et al.* Cannabidiol in canine epilepsy. *The Veterinary Journal*, p. 105913, 2022.

POWLES, T. Cannabis-induced cytotoxicity in leukemic cell lines: the role of the cannabinoid receptors and the MAPK pathway. **Blood**, v. 105, n. 5, p. 1214-1221, 2005.

PUNZO, F.; *et al.* Effect of CB2 Stimulation on Gene Expression in Pediatric B-Acute Lymphoblastic Leukemia: New Possible Targets. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 23, v. 15, 2022.

QUSHAWY, M. *et al.* Formulation and Characterization of O/W Nanoemulsions of Hemp Seed Oil for Protection from Steatohepatitis: Analysis of Hepatic Free Fatty Acids and Oxidation Markers. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 7, p. 864, 2022.

RAHAMAN, O.; GANGULY, D. Endocannabinoids in immune regulation and immunopathologies. **Immunology**, 2021.

RAMELLA, A. *et al.* Impact of Lipid Sources on Quality Traits of Medical Cannabis-Based Oil Preparations. **Molecules**, v. 25, n. 13, p. 2986, 2020.

RANIERI, R. *et al.* Phytocannabinoids and Cannabimimetic Drugs: Recent Patents in Central Nervous System Disorders. **Recent patents on CNS drug discovery**, v. 10, n. 2, p. 157–177, 2016.

RAJESH, M. *et al.* CB2-receptor stimulation attenuates TNF- α -induced human endothelial cell activation, transendothelial migration of monocytes, and monocyte-endothelial adhesion. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 4, p. H2210–H2218, 2007.

RAJESH, M. *et al.* CB2 cannabinoid receptor agonists attenuate TNF- α -induced human vascular smooth muscle cell proliferation and migration. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 347–357, 2008.

RAJESH, M. *et al.* Cannabidiol attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, inflammatory and cell death signaling pathways in diabetic cardiomyopathy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 56, n. 25, p. 2115–2125, 2010.

RESS, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADIN, M. T. Sick cell disease. **Lancet**, v. 376, n. 9757, p. 2018–2031, 2010.

REZENDE, B. *et al.* Endocannabinoid System: Chemical Characteristics and Biological Activity. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 148, 2023.

RUSSO E., *et al.* Phytochemical and genetic analyses of ancient *Cannabis* from central Asia. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 15, p. 4171–4182, 2008.

RUSSO, E. B. Taming THC: potential *cannabis* synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. **British Journal of Pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1344–1364, 2011.

SAINZ-CORT, A.; MÜLLER-SÁNCHEZ, C.; ESPEL, E. Anti-proliferative and cytotoxic effect of cannabidiol on human cancer cell lines in presence of serum. **BMC Research Notes**, n.13, v. 389, 2020.

SALEEMI, M. A.; *et al.* Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Cannabinoids: An Updated Review with Future Perspectives and Current Challenges. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 10, 2022.

SANTOS, R. G.; HALLAK, J. E. C.; CRIPPA, J. A. S. Neuropharmacological Effects of the Main Phytocannabinoids: A Narrative Review. **Cannabinoids and Neuropsychiatric Disorders**, p. 29–45, 2020.

SESTI-COSTA, R.; *et al.* Inflammatory Dendritic Cells Contribute to Regulate the Immune Response in Sickle Cell Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 4, n. 11, 2021.

SCHAEUBLE K, *et al.* Attenuation of chronic antiviral T-cell responses through constitutive COX2-dependent prostanoid synthesis by lymph node fibroblasts. **PLoS Biology**, v. 17, n. 7, p. e3000072, 2019.

SHRIVASTAVA, A. *et al.* Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and autophagy. **Molecular cancer therapeutics**, v. 10, n. 7, p. 1161–72, 2011.

SIERRA, S.; LUQUIN, N.; NAVARRO-OTANO, J. The endocannabinoid system in cardiovascular function: novel insights and clinical implications. **Clinical Autonomic Research**, v. 28, n. 1, p. 35–52, 2017.

SINHA, C. B.; *et al.* Management of Chronic Pain in Adults Living With Sickle Cell Disease in the Era of the Opioid Epidemic. **JAMA Network Open**, v. 2, n. 5, 2019.

STEEN, P. E. V. D. *et al.* Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO- α and leaves RANTES and MCP-2 intact. **Blood**, v. 96, n. 8, p. 2673–2681, 2000.

STEEN, P. E. V. D. *et al.* Gelatinase B/MMP-9 and neutrophil collagenase/MMP-8 process the chemokines human GCP-2/CXCL6, ENA-78/CXCL5 and mouse GCP-2/LIX and modulate their physiological activities. **European journal of biochemistry**, v. 270, n. 18, p. 3739–3749, 2003.

SUNDD, P.; GLADWIN, M. K.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 14, p. 263–292, 2019.

TAKAMI, M.; TERRY, V.; PETRUZZELLI, L. Signaling Pathways Involved in IL-8-Dependent Activation of Adhesion Through Mac-1. **The Journal of Immunology**, v. 168, n. 9, p. 4559–4566, 2002.

TAO, R.; *et al.* Cannabinoid receptor *CNR1* expression and DNA methylation in human prefrontal cortex, hippocampus and caudate in brain development and schizophrenia. **Translational Psychiatry**, n. 10, v. 158, 2020.

TSIFTSOGLU, A. S.; PAPPAS, I. S.; VIZIRIANAKIS, I. S. Mechanisms involved in the induced differentiation of leukemia cells. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 100, p. 257–290, 2003.

TURNER, M. D. *et al.* Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1843, n. 11, p. 2563–2582, 2014.

TURU, G.; HUNYADY, L. Signal transduction of the CB1 cannabinoid receptor. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 44, n. 2, p. 75–85, 2009.

VANDOLAH, H. J.; *et al.* Clinicians' Guide to Cannabidiol and Hemp Oils. **Mayo Clinic Proceedings**, [S.L.], v. 94, n. 9, p. 1840-1851, 2019.

VINCENT L., *et al.* Cannabinoid receptor-specific mechanisms to alleviate pain in sickle cell anemia via inhibition of mast cell activation and neurogenic inflammation. **Haematologica**, v. 101, n. 5, p. 566-577, 2016.

VOLKOW, N. D. *et al.* Effects of Cannabis Use on Human Behavior, Including Cognition, Motivation, and Psychosis: A Review. **JAMA Psychiatry**, v. 73, n. 3, p. 292, 2016.

VU, T. H.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. **Genes & Development**, v. 14, n. 17, p. 2123-2133, 2000.

WANG, P.; HENNING, S. M.; HEBER, D. Limitations of MTT and MTS-based assays for measurement of antiproliferative activity of green tea polyphenols. **PLoS One**, n. 16, v. 5, 2010.

WEISS, U. Inflammation. **Nature**, v. 454, n.7203, p. 427, 2008.

XIAN, X.-S. *et al.* Effect of a synthetic cannabinoid agonist on the proliferation and invasion of gastric cancer cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, n. 110, v. 2, p. 321-332, 2010.

XU, X.; *et al.* N-Oleoyl ethanolamine Reduces Inflammatory Cytokines and Adhesion Molecules in TNF- α -induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells by Activating CB2 and PPAR- α . **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 68, n. 4, p. 280-291, 2016.

YE, L.; *et al.* New Insights in Cannabinoid Receptor Structure and Signaling. **Current Molecular Pharmacology**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 239-248, 2019.

ZHANG, H. Y.; *et al.* Species Differences in Cannabinoid Receptor 2 and Receptor Responses to Cocaine Self-Administration in Mice and Rats. **Neuropsychopharmacology**, n. 40, p. 1037-1051, 2015a.

ZHANG, M. W.; HO, R. C. M. The *Cannabis* Dilemma: A Review of Its Associated Risks and Clinical Efficacy. **Journal of Addiction**, v. 2015, 2015.

ZHANG, Z. *et al.* Proteolytic Cleavage of AMPK α and Intracellular MMP9 Expression Are Both Required for TLR4-Mediated mTORC1 Activation and HIF-1 α Expression in Leukocytes. **Journal of Immunology**, v. 195, n. 5, p. 2452–2460, 2015b.

ZHANG, J.; *et al.* Traditional herbal medicine and nanomedicine: converging disciplines to improve therapeutic efficacy and human health. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 178, p. 113964, 2021.

ZMIGRODZKA M, *et al.* The cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 pathway and its role in the pathogenesis of human and dog hematological malignancies. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, n. 5, 2018.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 19, v. 833, 2018.