

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

Avaliação da expressão gênica de citocinas e fatores neurotróficos em células tronco mesenquimais caninas pré-condicionadas com extrato de cannabis rico em canabidiol.

VINICIUS SKAU PERINO

Botucatu - SP
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

Avaliação da expressão gênica de citocinas e fatores neurotróficos em células tronco mesenquimais caninas pré-condicionadas com extrato de canabis rico em canabidiol.

VINICIUS SKAU PERINO

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Unesp, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

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

Perino, Vinicius Skau.

Avaliação da expressão gênica de citocinas e fatores neurotróficos em células tronco mesenquimais caninas pré-condicionadas com extrato de cannabis rico em canabidiol / Vinicius Skau Perino. - Botucatu, 2023

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

Orientador: Rogério Martins Amorim

Capes: 50501062

1. Cães. 2. Células-tronco mesenquimais. 3. Cannabis. 4. Canabidiol. 5. Imunomodulação. 6. Priming de repetição.

Palavras-chave: Célula tronco mesenquimal; Fitocanabinóides; Imunomodulação; Priming; Sistema endocanabinóide.

Título: Avaliação da expressão gênica de citocinas e fatores neurotróficos em células tronco mesenquimais caninas pré-condicionadas com extrato de cannabis rico em canabidiol.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim
Presidente e Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo.

Prof. Dra. Magda Alves de Medeiros
Membro da Banca
Departamento de Clínica Veterinária
UFRRJ – Seropédica – Rio de Janeiro.

Prof. Dra. Percília Giaquinto
Membro da Banca
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional – IB - Botucatu - UNESP
FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo.

Data da defesa: 24/05/2023

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Inicialmente gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Rogério Martins Amorim, por toda orientação fornecida desde o meu estágio curricular até o presente momento, por todo apoio, incentivo, ensinamentos proporcionados e pela imensa oportunidade de fazer parte da Unesp – FMVZ.

Gostaria de agradecer ao meu colega de profissão, Felipe Jacques Sanchez, por ter sido uma fonte de inspiração desde minha graduação, por me proporcionar momentos de aprendizado, oportunidades, pela incrível amizade e parceria durante todo trajeto.

Agradeço imensamente aos meus colegas de trabalho e amigos, Beatriz, Lucas, Natielly, Gustavo, Paulo e Pedro por todo apoio, ajuda e por todos os momentos de aprendizado, parceria e orientações durante a elaboração do meu trabalho. Aos meus amigos, Julia/Alisson/Thiago, pelas orientações, parceria e aprendizado. Amigos que representaram um alicerce essencial para que fosse possível a realização do trabalho, amigos que suportaram momentos bons e ruins ao meu lado e sempre vão estar em meu coração.

Ao Márcio do laboratório LIAI (Unipex) por toda ajuda durante a realização das etapas laboratoriais (qPCR) e auxílio para obtenção dos dados gerados a partir das análises, os quais foram de extrema importância para a realização deste trabalho.

À minha família, por sempre estar ao meu lado, me apoiar a seguir em frente com os estudos desde o colégio até o mestrado e por todo o apoio concedido desde o início de minha graduação até o presente momento.

LISTA DE QUADROS

Tabela 1. Condições de Termociclagem qPCR.....68

Tabela 2. Iniciadores utilizados nas reações de qPCR.....69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Potencial imunomodulador das MSCs frente as células do sistema imune.....	5
Figura 2. Mecanismos e possíveis estratégias para potencializar o deslocamento ou homing das MSCs.....	7
Figura 3. Efeitos anti-inflamatórios exercidos pelas MSC.....	9
Figura 4. Visão geral dos componentes SEC.....	12
Figura 5. Principais vias de sinalização moduladas por CB1R.....	15
Figura 6. Representação esquemática dos principais componentes do SEC....	20
Figura 7. Esquema representando as principais formas de pré-condicionamento para as MSCs.....	24
Figura 8. Pré-condicionamento das MSCs utilizando hipóxia com diferentes agentes.....	25
Figura 9. Representação esquemática do delineamento experimental.....	65
Figura 10. Caracterização da morfologia e viabilidade das Ad-MSCs caninas.....	72
Figura 11. Expressão relativa dos fatores neutróficos BDNF, GDNF e HGF e citocinas IDO, IL-10, TNF- α , INF- γ e PTGEs nas Ad-MSCs caninas estimuladas.....	74

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

μM - Micro Molar

2-AcGs - 2-Aciligliceróis

2-AG - 2-Araquidonoilglicerol

2-AGE - éter 2-araquidonilglicerílico

AA - Ácido araquidônico

AEA - N-Araquidonoiletanolamina

Akt - quinase de proteína B

ANG-1 - Angiopietina 1

AT- Tecido adiposo

AT-MSCs - Células tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo

AVC - acidente vascular cerebral

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro

BM-MSCs - células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea

cAMP - monofosfato de adenosina cíclico

Ca-NAT - N-aciltransferase dependente de cálcio

cAT-MSCs – Células Tronco Mesenquimais derivadas do tecido adiposo canino

CB1R - Receptor canabinóide tipo 1

CB2R - Receptor canabinóide tipo 2

CBD - Canabidiol

CBG - Canabigerol

CBGA - ácido canabigerólico

CBGV - cannabigerovarina

CCL2 - ligante de quimiocina 2

cDNA - DNA complementar

Células NK - Células exterminadoras naturais

CM - Grupo controle

COXs - Cicloxigenases

D1 - Grupo dose 1

D2 - Grupo dose 2

DAGL - Enzima diacilglicerol lipase

DAMPs - Padrões moleculares associados ao dano

DDIV - doença do disco intervertebral

DMEM F12 - Dulbecco's Modified Eagle Medium

DP - Polpa dentária

EA - Etanolamina

eCBs - Endocanabinóides

EMT - Transportador de membrana (genérico)

FAAH - Amida hidrolase de ácido graxo

FABPs - Proteínas de Ligação a Ácidos Graxos

GAPDH - Gliceraldeído-3- fosfato desidrogenase

GNF - Fator neurotrófico derivado da linhagem das células da glia

GPCRs - Receptores acoplados a proteína G

HGF - Fator de crescimento de hepatócitos

hGMSCs - células-tronco mesenquimais da gengiva humana

HLA - moléculas de histocompatibilidade leucocitária

HLA-DR - Antígeno leucocitário humano-DR

HLA-G5 - antígeno Leucocitário Humano G5

IDO - Indoleamina-pirrol 2,3-dioxigenase

IL-10 - Interleucina 10

iNAT - N-Aciltransferase independente de cálcio

INF- γ - Interferon Gama

ISCT - International Society for Cellular Therapy

LIF - fator inibitório da leucemia

LPS - Lipopolissacarídeos

MAGL - Lipase Monoacilglicerol

MAPK - Proteino-quinases ativadas por mitógenos

MO - Medula óssea

MSCs - Células tronco mesenquimais

MTT - brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio

MUO - meningoencefalomielite de origem desconhecida

NADA - N- N-araquidonoil dopamina

NAEs - N-Aciletanolaminas

NAPE - N-Acilfosfatidiletanolaminas

NAPE-PLD - N-Acilfosfatidiletanolamina fosfolipase D

NK – Células natural killer

nM - Nano Molar

NO - Óxido nítrico

NPCs - células progenitoras neurais

OAE - O-araquidonoil etanolamina

OCT-4 - Fator de transcrição de homeodomínio da família POU

PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos

PB - Sangue periférico

PCR - Reação em cadeia da polimerase

PDL-1 - ligantes de morte celular programada 1

PG - Prostaglandina

PGE2 - Prostaglandina E2

PI3K - fosfoinosítídeo 3-quinase

PKA - proteína quinase A

PL - Placenta

PLC - Fosfolipase C

PPARs - Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma

PRP - Plasma rico em plaquetas

PRRs - Receptores de reconhecimento de padrões

PtdCho - Fosfatidilcolina

PtdEt - Fosfatidiletanolamina

PTGES - Prostaglandina E sintase

PTGES 2 - Prostaglandina E sintase 2

PUFAs - Ácidos graxos poliinsaturados

qPCR - Reação em cadeia da polimerase em tempo real

RNA - Ácido Ribonucleico

RPS19 - proteína ribossomal S19

RPS5 - proteína ribossomal S5

SEC - Sistema Endocanabinóide

SF - Líquido sinovial

SFB - Soro fetal bovino

SNC - Sistema nervoso central

TGF - Fator de crescimento de fibroblasto

TGF- β 1 - Fator de transformação do crescimento β 1

Th17 - Células T auxiliares 17

THC - Δ 9-tetrahidrocannabinol

THCV - tetra-hidrocanabivarina

TNF- α - Fator necrose tumoral alfa

TRPV1 - Receptores de potencial transitório do tipo vanilóide 1

TSG 6 - Proteína do gene 6 estimulada por TNF

UC - Cordão umbilical

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

VGCC - canal de cálcio dependente de voltagem

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Células Tronco Mesenquimais	3
2.2 Cannabis.....	10
2.3 Sistema Endocanabinóide.....	12
2.3.1 Receptores Canabinóides.....	13
2.3.2 Endocanabinóides.....	16
2.3.3 Biossíntese dos eCBs.....	17
2.3.4 Transporte e Degradação eCBs.....	19
2.4 Fitocanabinóides.....	21
2.5 Pré-condicionamento MSCs.....	22
3 HIPÓTESE.....	27
4 OBJETIVOS.....	27
4.1 Objetivos gerais.....	27
4.2 Objetivos específicos.....	27
5 BIBLIOGRAFIA.....	28
CAPÍTULO 2 – Trabalho Científico.....	66
Resumo.....	61
Introdução.....	63
Material e métodos.....	65
Resultados.....	71
Discussão.....	76
Conclusão.....	79
Bibliografia.....	81

Perino, V. S. **Avaliação da expressão gênica de citocinas e fatores neurotróficos em células tronco mesenquimais caninas pré-condicionadas com extrato de cannabis rico em canabidiol.** Botucatu, 2023. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

As células-tronco mesenquimais (MSCs) são caracterizadas como um tipo de célula-tronco multipotente conhecidas por possuir a capacidade de diferenciação em diversas linhagens celulares, modulação da secreção de moléculas bioativas (fatores neurotróficos, citocinas, entre outros), atua na reparação e regeneração tecidual, características que permitem sua aplicação em doenças degenerativas, imunomediadas e expressa seu enorme potencial dentro da medicina regenerativa. O uso terapêutico da cannabis tem experimentado um crescimento significativo ao longo dos anos, em grande parte devido aos efeitos benéficos dos fitocanabinóides, como o canabidiol (CBD) e o $\Delta 9$ -tetrahidrocannabinol (THC), dentre outros componentes da planta como os terpenos e flavonóides. Estudos têm demonstrado que o sistema endocanabinoide é responsável por funções biológicas cruciais, como neuroproteção, imunomodulação, modulação da dor e inflamação. O pré-condicionamento das células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo canino (cAT-MSCs) utilizando extrato de cannabis rico em CBD é uma área emergente de pesquisa que explora os potenciais efeitos dos fitocanabinóides de aprimorar suas propriedades terapêuticas (imunomodulação/ efeitos anti-inflamatórios/ viabilidade e sobrevivência celular/ diferenciação e potencial Regenerativo). O CBD e o THC são os componentes mais estudados e desempenham um importante papel na proliferação, migração, diferenciação e modulação de citocinas e fatores neurotróficos das MSCs *in vitro*. O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a morfologia e viabilidade celular, assim como a expressão gênica de fatores neurotróficos (BDNF, GDNF e HGF) e citocinas (IL-10, IDO, TNF- α , INF- γ e PTGE2) após a estimulação das cAT-MSCs com extrato de cannabis rico em CBD. Cinco amostras diferentes de cAT-MSCs, previamente isoladas, caracterizadas imunofenotipicamente (CD44+, CD90+,

CD105+, CD34-, CD45-, MHC-II) e diferenciadas (osteogênica, adipogênica e condrogênica), foram pré-condicionadas com concentrações altas (2,25 μ M) e baixas (225 nM) do extrato de cannabis rico em CBD por 24 horas. As cAT-MSCs estimuladas com baixa e alta concentração de CBD não apresentaram alterações na morfologia ou na atividade metabólica. O presente trabalho sugere que o perfil de expressão dos fatores neurotróficos (HGF e BDNF) das cAT-MSCs pode ser modulado pelos fitocanabinóides presentes no extrato de cannabis rico em CBD, no entanto, o pré-condicionamento das cAT-MSCs com extrato de cannabis rico em CBD é uma área de pesquisa relativamente nova, sendo necessário a realização de novos estudos para uma melhor análise do comportamento das cAT-MSCs frente a diferentes extratos, doses e tempo de estimulação *in vitro*.

Palavras-Chave: Fitocanabinóides; Sistema endocanabinóide; Imunomodulação; Priming; Célula Tronco Mesenquimal.

Perino, V. S. **Priming canine adipose-derived mesenchymal stem cells with CBD-rich cannabis extract modulates neurotrophic factors expression profile**. Botucatu, 2023. Dissertation (Master's) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University.

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (MSCs) are characterized as a type of multipotent stem cell known for their ability to differentiate into various cell lineages and modulate the secretion of bioactive molecules (neurotrophic factors, cytokines, among others). They also play a role in tissue repair and regeneration, making them applicable to degenerative and immune-mediated diseases, and showcasing their enormous potential in regenerative medicine. The therapeutic use of cannabis has experienced significant growth over the years, largely due to the beneficial effects of phytocannabinoids such as cannabidiol (CBD) and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), as well as other components of the plant like terpenes and flavonoids. Studies have demonstrated that the endocannabinoid system is responsible for crucial biological functions such as neuroprotection, immunomodulation, pain modulation, and inflammation. Preconditioning canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (cAT-MSCs) using CBD-rich cannabis extract is an emerging area of research that explores the potential effects of phytocannabinoids in enhancing their therapeutic properties (immunomodulation, anti-inflammatory effects, viability and cell survival, differentiation, and regenerative potential). CBD and THC are the most studied components and play an important role in the proliferation, migration, differentiation, and modulation of cytokines and neurotrophic factors of MSCs in vitro. The objective of this in vitro study was to evaluate the cellular morphology and viability, as well as the gene expression of neurotrophic factors (BDNF, GDNF, and HGF) and cytokines (IL-10, IDO, TNF- α , INF- γ , and PTGE2) after stimulating cAT-MSCs with CBD-rich cannabis extract. Five different samples of cAT-MSCs, previously isolated, immunophenotypically characterized (CD44+, CD90+, CD105+, CD34-, CD45-, MHC-II), and differentiated (osteogenic,

adipogenic, and chondrogenic), were preconditioned with high (2.25 μ M) and low (225 nM) concentrations of CBD-rich cannabis extract for 24 hours. The cAT-MSCs stimulated with low and high concentrations of CBD showed no changes in morphology or metabolic activity. This study suggests that the expression profile of neurotrophic factors (HGF and BDNF) in cAT-MSCs can be modulated by the phytocannabinoids present in CBD-rich cannabis extract. However, preconditioning cAT-MSCs with CBD-rich cannabis extract is a relatively new area of research, and further studies are needed to better analyze the behavior of cAT-MSCs in response to different extracts, doses, and duration of in vitro stimulation.

Keywords: Phytocannabinoids; Endocannabinoid system; Immunomodulation; Priming; Mesenchymal Stem Cell.

1 INTRODUÇÃO

O uso terapêutico da Cannabis, tanto para humanos quanto para os animais, vem crescendo ao longo dos anos (CITAL et al., 2021). A planta da cannabis contém uma mistura complexa de fitocanabinóides (Δ^9 -tetrahydrocannabinol, Canabidiol, Canabigerol, dentre outros), terpenos e flavonóides, sendo os mais estudados o delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD) (HESAMI et al., 2023; KLAHN, 2020). O SEC é um sistema complexo de sinalização celular composto por três componentes, endocanabinoides (eCBs), receptores canabinoides (CB1 e CB2) e enzimas responsáveis pela síntese e degradação dos endocanabinoides (WOODHAMS et al., 2015). Está presente em todos os mamíferos e desempenha um papel crucial na regulação de diversos processos biológicos e metabólicos como a neuroproteção (DURANTI et al., 2022), neuroregeneração (VALERI; MAZZON, 2021), metabolização da glicose/lipídios (D'ANIELLO et al., 2019) e capacidade de imunomodulação (COMPTON et al., 2022).

O CBD tem sido cada vez mais utilizado na medicina veterinária devido aos seus benefícios terapêuticos em animais domésticos, não possui propriedades psicoativas (JONES et al., 2012) e interage com SEC (KILARU; CHAPMAN, 2020) influenciando diversos processos como controle da dor (CASEY; VAUGHAN, 2018; SOLIMAN et al., 2020), redução da ansiedade e do estresse (GARCÍA-GUTIÉRREZ et al., 2020; MELAS et al., 2021), epilepsia e controle de convulsões (POTSCHKA et al., 2022), efeitos anti-inflamatórios (KLEIN, 2005; YU; RUPASINGHE, 2021) e também influência nos níveis de endocanabinoides (BARANOWSKA-KUCZKO et al., 2021).

As MSCs são células com característica de multipotencialidade que possuem a capacidade de diferenciação *in vitro* em diferentes linhagens celulares (condrogênica, osteogênica e adipogênica), secretam fatores bioativos (CAPLAN; DENNIS, 2006), possuem propriedades imunomodulatórias (SHI et al., 2018) e regenerativas (SHAMMAA et al., 2020). Tais características que as torna candidatas promissoras para sua utilização em distúrbios imunomediados, regeneração e reparação tecidual (HARRELL; DJONOV; VOLAREVIC, 2021;

QIN; ZHANG, 2017; RADMANESH et al., 2020; VOGA; KOVAČ; MAJDIC, 2021; WANG; YUAN; XIE, 2018).

O pré-condicionamento das MSCs refere-se ao processo de exposição dessas células frente a diversos fatores como os fatores de crescimento (PARK et al., 2020a), citocinas (BARRACHINA et al., 2017), compostos bioativos (KOWALCZUK et al., 2022), fatores mecânicos (MATHEW; CHANDRAVANSI; BHONDE, 2017) e culturas 3D (BARTOSH; YLOSTALO, 2019). MSCs pré-condicionadas com óleo/extrato de cannabis mostraram um aumento em seu potencial terapêutico como por exemplo na doença de Alzheimer (LIBRO et al., 2016b), na diferenciação celular (CHANG et al., 2022; PETRESCU et al., 2020), viabilidade e migração celular (FELLOUS et al., 2020; MILLER et al., 2021a) e reparação tecidual (KAMALI et al., 2019; MAEDA, 2020).

Neste contexto, este estudo tem como objetivo avaliar *in vitro* a expressão gênica dos fatores neurotróficos (BDNF, GDNF e HGF) e das citocinas (IL-10, IDO, TNF- α , INF- γ e PTGE2) após o pré-condicionamento das cAT-MSCs com extrato de cannabis rico em CBD nas concentrações de 225nM e 2,25 μ M por um período de 24 horas. Os potenciais efeitos do pré-condicionamento das cAT-MSCs caninas com o extrato de cannabis rico em CBD é de suma importância para a melhor compreensão da interação dos fitocanabinóides com as cAT-MSCs caninas (cAT-MSCs) e se há uma potencialização em seus efeitos imunomodulatórios e neuroregenerativos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Células Tronco Mesenquimais (MSCs)

As células-tronco mesenquimais (MSCs) são um tipo de célula consideradas multipotentes que podem se diferenciar em vários tipos celulares (GALIPEAU et al., 2016) e devem possuir critérios necessários para a confirmação e identificação como célula-tronco multipotente, de acordo com a International Society for Cellular Therapy (ISCT), as células devem possuir:

- Capacidade de aderência ao plástico em condições de cultura celular (DEANS; MOSELEY, 2000; HORWITZ et al., 2005);

- Expressão de marcadores de superfície que podem variar dependendo da fonte/tecido e das condições de cultura utilizadas para isolar e expandir as células (DALEY et al., 2016; WILSON et al., 2021). Marcadores comumente usados para caracterização das MSCs incluem os antígenos de superfície com expressão positiva para CD73, CD90 e CD105 e expressão negativa para marcadores hematopoiéticos como CD45, CD34, CD14 e antígeno leucocitário humano-DR (HLA-DR) (ANCANS, 2012; DOMINICI et al., 2006; HASAN et al., 2017; MURRAY et al., 2014; PITTENGER et al., 1999).

- Capacidade de diferenciação *in vitro* sob condições de cultura definidas em três principais linhagens celulares, adipócitos, osteoblastos e condrócitos. Diferenciação caracterizada por métodos de colorações específicas, respectivamente, utilizando Vermelho óleo O, Vermelho Alizarina S e Azul Alciano ou Safranina O (ou coloração imuno-histoquímica de colágeno II) e controle positiva de marcadores específicos para cada tipo celular diferenciado (IZADPANA et al., 2005; VATER; KASTEN; STIEHLER, 2011).

A terminologia relacionada às MSCs pode ser confusa e há um debate em curso sobre a nomenclatura apropriada a ser utilizada para essas células, alguns pesquisadores preferem o termo "células-tronco mesenquimais" para enfatizar seu potencial de se diferenciar em vários tipos celulares, enquanto outros preferem o termo "células estromais mesenquimais" para enfatizar seu papel na reparação de tecidos e na modulação imunológica (CAPLAN, 2017;

SIPP; ROBEY; TURNER, 2018; VISWANATHAN et al., 2019). Podem ser isoladas de diversos locais, porém, os mais comuns estão entre medula óssea (MO), tecido adiposo (AT), cordão umbilical (UC) e algumas outras fontes de tecido como polpa dentária (DP), endométrio, sangue periférico (PB), pele, placenta (PL), líquido sinovial (SF) e músculo que também apresentam diferenciação multipotente característica *in vitro* (DING; SHYU; LIN, 2011; JONES et al., 2020; MUSHAHARY et al., 2018; TAVAKOLI et al., 2020).

As MSCs são capazes de interagir com células imunes e modular as respostas imunes, tornando-as candidatas promissoras para uso em terapias celulares para doenças mediadas pelo sistema imune, como doenças autoimunes, e rejeição de transplante (CHEN et al., 2015; DIMARINO; CAPLAN; BONFIELD, 2013; GUERROUAHEN et al., 2019; MARKOV et al., 2021; MÚZES; SIPOS, 2022). Além de suas propriedades imunomoduladoras, as MSCs também secretam fatores bioativos que podem promover a reparação e regeneração de tecidos inibindo apoptose, estimulando angiogênese e a mitose tecidual (CAPLAN, 2007; FU et al., 2017), tornando-as agentes terapêuticos potenciais para uma variedade de condições, como alterações ósseas (artrite reumatoide) e cartilaginosas (ALDRICH et al., 2021; KOENDERS; VAN DEN BERG, 2015; LIEN et al., 2009; SU et al., 2018), doenças cardíacas (GUO et al., 2020), doença do enxerto contra o hospedeiro e lesões da medula espinhal (ZHOU; HE; REN, 2014).

A secreção de citocinas pelas MSCs depende do equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias presentes no microambiente ao qual elas estão expostas, possuindo a capacidade de modular a resposta imune inata (CONTRERAS et al., 2016) e adaptativa (CAO et al., 2015) (Fig. 1). Em resposta a liberação das citocinas, o sistema imune pode ser suprimido a partir de vários métodos, um deles é pela modulação da expressão da indoleamina 2,3 deoxigenase (IDO), a qual irá catabolizar o L-triptofano na área circundante (microambiente), acumulando o metabólito L-Quinurenina (CERVENKA; AGUDELO; RUAS, 2017).

O acúmulo de L-Quinurenina levará a inibição da ativação de células T (MÁNDI; VÉCSEI, 2012), diminuição da proliferação e atividade funcional de células T, células dendríticas e células NK (SONG et al., 2011), bem como

modulação negativa da diferenciação de Th17, evitando o efeito de lise celular (ANKRUM; ONG; KARP, 2014; TRIVEDI; HEMATTI, 2008; YAGI et al., 2010; YEN et al., 2009).

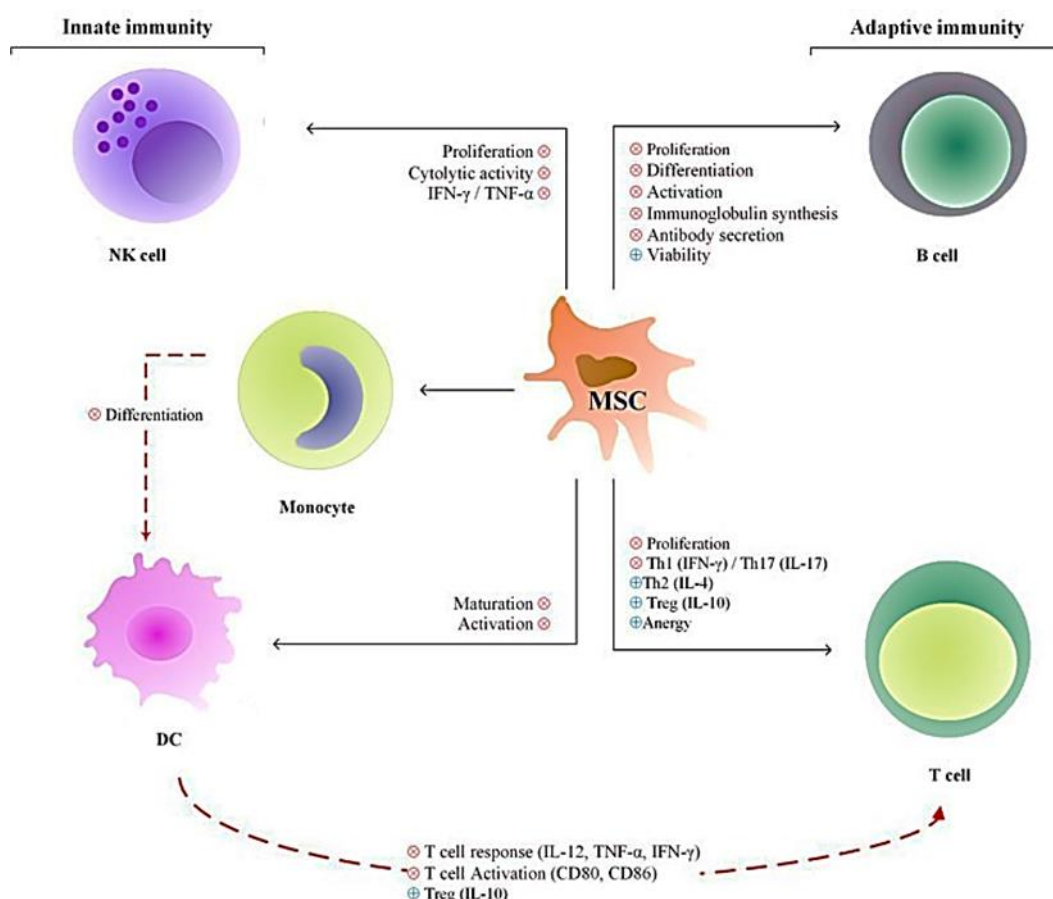


Figura 1. Potencial imunomodulador das MSCs frente as células do sistema imune. As MSCs possuem capacidade de inibir a proliferação, diferenciação e maturação sobre as células do sistema imune, sendo ela por secreção de fatores solúveis ou contato célula-célula, incluindo: (A) inibição da proliferação e funções das células B e NK; (B) supressão da proliferação das células T e diferenciação de Th1, indução de células TH2 e Treg; (C) inibição da maturação e ativação de células dendríticas e monócitos. (SADATPOOR et al., 2020).

Diversos fatores bioativos são secretados pelas MSCs *in vitro* (KRAWCZENKO et al., 2020), entre eles podemos ter :

- Fatores de crescimento: fator de crescimento de fibroblasto (TGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de transformação do crescimento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), os quais estimulam a proliferação e a diferenciação de células-tronco e células progenitoras (LEE et al., 2012), além de promover a angiogênese e a regeneração tecidual (DOBACZEWSKI; CHEN; FRANGOIANNIS, 2011; REINDERS et al., 2003).

- Fatores neurotróficos: Fator de crescimento de hepatócitos (HGF), Fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), Fator de crescimento de Glia (GDNF), no geral possuem capacidade de promover a sobrevivência (LIPSKY; MARINI, 2007), o crescimento e a diferenciação de células neuronais (KOWIAŃSKI et al., 2018), bem como proteger neurônios contra danos e estimular a regeneração neural (SCHEPER et al., 2019).

- Citocinas e quimiocinas: interleucina 1-alfa (IL-1 α), interleucina 1-beta (IL1- β), interleucina 6 (IL6), interleucina 10 (IL10), interleucina 17 (IL17), prostaglandina E₂ (PGE₂), fator de Necrose tumoral-alfa (TNF-alfa), antígeno Leucocitário Humano G5 (HLA-G5), fator de migração de macrófagos (MCP-1), moléculas responsáveis pela modulação da resposta imune, promovendo a imunossupressão, a regulação da inflamação e a atração de células do sistema imunológico para o local da lesão (BENAVIDES et al., 2021; CARRADE; BORJESSON, 2013; GAO et al., 2016; HAN et al., 2014; LIU; LIU; CHEN, 2020).

As MSCs também possuem a capacidade de gerar e expandir células reguladoras imunológicas, sendo outra forma de suprimir ou modular o sistema imunológico (EGGENHOFER et al., 2014; GORE et al., 2015; NAJAR et al., 2016). Além disso, as MSCs podem alterar o microambiente nos locais de lesão de um estado pró-inflamatório para um estado anti-inflamatório por meio da secreção de fatores tróficos e moléculas anti-apoptóticas, o que pode fornecer um mecanismo chave responsável por seus efeitos terapêuticos (ESPAGNOLLE et al., 2017; YU; ZHANG; LI, 2014).

O antagonista do receptor de IL-1 secretado pelas MSCs pode induzir a polarização de macrófagos para o fenótipo tipo 2 (ABUMAREE et al., 2013; LUZ-CRAWFORD et al., 2016). Macrófagos do tipo 2 estão envolvidos na reparação e regeneração tecidual e possuem propriedades anti-inflamatórias (MOSSER; EDWARDS, 2008). Ao polarizar os macrófagos para esse fenótipo tipo 2, as

MSCs podem promover a cicatrização dos tecidos e reduzir a inflamação nos locais de lesão (KIGERL et al., 2009; LIU et al., 2020; MAGGINI et al., 2010).

O direcionamento das MSCs aos locais de lesão, conhecido também como “homing”, é um processo complexo que envolve várias etapas, incluindo a ativação e liberação das MSCs do seu nicho, adesão ao endotélio dos vasos sanguíneos, transmigração através do endotélio e migração em direção ao local da lesão ou inflamação e pode ser influenciado por diversos fatores, como as quimiocinas e fatores de crescimento secretados pelos tecidos lesionados ou inflamados (CROFT et al., 2021; DA SILVA MEIRELLES et al., 2009), assim como a expressão de moléculas de adesão na superfície das MSCs e células endoteliais (ULLAH; LIU; THAKOR, 2019). Além disso, o processo de direcionamento pode ser modulado por vários estímulos externos, como hipóxia, inflamação e forças mecânicas (CHENG et al., 2008; DAS et al., 2010; HOSOGANE et al., 2010a; LUO et al., 2018).

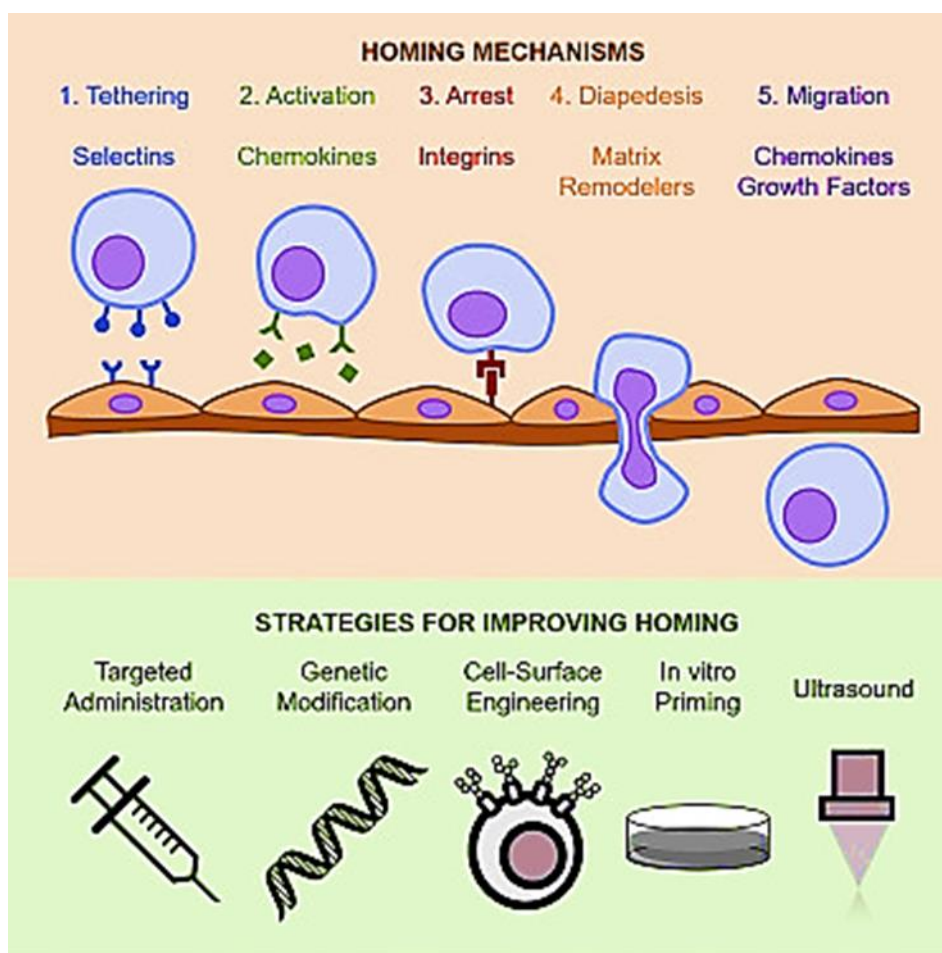


Figura 2. Mecanismos e possíveis estratégias para potencializar o deslocamento ou homing das MSCs. O direcionamento das MSCs se sustenta em um modelo de vários estágios, como : (1) ancoragem inicial pelas selectinas, (2) ativação por citocinas, (3) interrupção pela ação dos integrinas, (4) diapedese ou transmigração utilizando remodeladores da matriz, e (5) migração extravascular em direção a gradientes químicos. (ULLAH; LIU; THAKOR, 2019).

Na medicina veterinária o uso das MSCs para o tratamento de lesões musculoesqueléticas (BRONDEEL et al., 2021), vem sendo bastante utilizado pois sabe-se que as MSCs possuem propriedades imunomodulatórias através da secreção de diversas moléculas bioativas (Fig. 3) (KIM et al., 2021; THEEUWES et al., 2021). Na osteoartrite, uma doença degenerativa das articulações caracterizada pela quebra da cartilagem e inflamação (WIELAND et al., 2005), as MSCs têm mostrado um potencial promissor no tratamento devido às suas propriedades regenerativas e anti-inflamatórias (SHAH; ZHAO; SUMER, 2018).

A utilização das MSCs para lesões de tendões, ligamentos e fraturas é considerada uma opção terapêutica promissora para promover a regeneração e reparação de tecidos danificados (MARX et al., 2014; SASAKI et al., 2019; SHARUN et al., 2020). Estudos recentes utilizando culturas 3D têm mostrado resultados encorajadores na regeneração tecidual de tendões e ligamentos (ANSARI et al., 2017; LEONG et al., 2020). No caso de fraturas ósseas, as MSCs desempenham um papel importante na regeneração e reparação do tecido ósseo (MOSHAVERINIA et al., 2013).

Elas podem ser implantadas diretamente no local da fratura ou aplicadas em combinação com enxertos ósseos ou scaffolds, proporcionando um suporte estrutural para a formação do novo tecido ósseo (SAATCIOGLU et al., 2021). Estudos mostram que as MSCs têm a capacidade de diferenciar-se em osteoblastos (GARG et al., 2017), as células responsáveis pela formação de osso, estimulando assim o processo de osteogênese (KELLY; JACOBS, 2010).

Diversas doenças neurológicas podem afetar os cães, como por exemplo a doença do disco intervertebral (DDIV), a epilepsia, a meningoencefalomielite de origem desconhecida (MUO), o acidente vascular cerebral (AVC) e a degeneração neuronal (SPINELLA et al., 2022). Diversos estudos mostram que

a utilização das MSCs nessas condições visa promover a regeneração e reparação do tecido neural (CUI et al., 2018), diminuir a inflamação (KUWAHARA et al., 2021) e modular a resposta imunológica (KIM et al., 2016; LARONI; ROSBO; UCCELLI, 2015; ZEIRA et al., 2015).

Também existem estudos explorando o uso das MSCs para o tratamento de outras condições em animais, como a doença renal crônica, doença cardíaca e tratamento de feridas (FAN et al., 2018; GHORBEL et al., 2019; POOMANI et al., 2022; YUN; LEE, 2019; ZHOU et al., 2023).

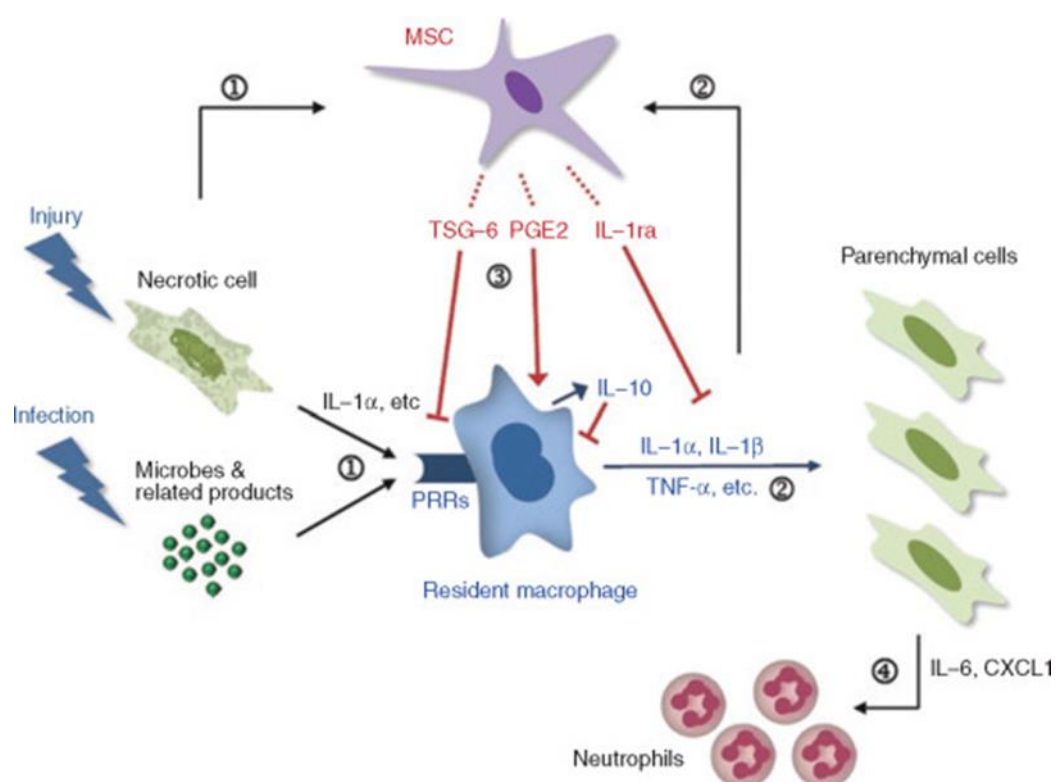


Figura 3. Efeitos anti-inflamatórios exercidos pelas MSCs. (1) DAMPs (Padrões moleculares associados ao dano) e IL-1α liberados por lesão estéril ou PAMPs (Padrões moleculares associados a patógenos) liberados por lesão infecciosa modulam positivamente os macrófagos residentes por meio dos PRRs (Receptores de reconhecimento de padrões). (2) Após ativados os macrófagos produzem citocinas pró-inflamatórias como IL-1α, IL-1β ou fator de necrose tumoral-α (TNF-α), iniciando a fase aguda da inflamação. (3) As MSCs serão ativadas pelos sinais das citocinas pró-inflamatórias e outros sinais associados a lesão celular, levando as MSCs a secretarem fatores anti-inflamatórios como

proteína 6 estimulada por TNF- α (TSG-6), PGE2 e IL-1 que vão modular os macrófagos e consequentemente reduzir os efeitos das citocinas pró-inflamatórias. (4) O efeito líquido representa a liberação de fatores como IL-6, CXCL1 visando diminuir o recrutamento de neutrófilos e assim controlar a amplificação da resposta inflamatória pelas células do parênquima. (PROCKOP; YOUN OH, 2012).

2.2 *Canabis spp.*

Cannabis, também conhecida como maconha, erva, erva daninha ou cânhamo, entre outros nomes é um gênero de plantas com flores da família Cannabaceae (ANDRE; HAUSMAN; GUERRIERO, 2016; HILLIG, 2005). Ele engloba várias espécies, sendo as mais conhecidas *Cannabis sativa* e *Cannabis indica*, são caracterizadas por suas folhas, flores distintas e pela presença de compostos químicos conhecidos como fitocanabinóides (A. DOUGLAS KINGHORN et al., 2017), que desempenham um papel fundamental em seus efeitos medicinais e psicoativos. (BOIVIN, 2021; HAZEKAMP; FISCHEDICK, 2012; NAIM-FEIL et al., 2023; VAN BAKEL et al., 2011).

O principal composto psicoativo encontrado na cannabis é o THC, responsável pelos diversos efeitos psicológicos e fisiológicos (GOULLÉ; SAUSSEREAU; LACROIX, 2008). Os efeitos do THC podem variar dependendo de fatores como a dosagem, a tolerância individual e a variedade de cannabis utilizada (BOGGS et al., 2018; CHILDS; LUTZ; DE WIT, 2017). Os efeitos comuns do consumo de THC incluem euforia (MCDONALD et al., 2003), alteração da percepção do tempo e espaço (FADDA et al., 2004), aumento do apetite (RIGGS et al., 2012), antiemético (ABRAMS; GUZMAN, 2015), efeitos anti-inflamatórios (LI et al., 2022a) e modulação da dor (WALTER et al., 2016).

Um dos canabinóides mais estudados é CBD, que ao contrário do THC, não produz efeitos psicoativos significativos (BURSTEIN, 2015). O CBD tem despertado um interesse significativo devido ao seu potencial terapêutico em uma variedade de condições médicas por possuir efeitos analgésicos (FIANI et al., 2020), anti-inflamatórios (SUNDA; AROWOLO, 2020), ansiolíticos e anticonvulsivantes (REDDY; GOLUB, 2016; SHARPE et al., 2020). O CBD

também pode ter propriedades neuroprotetoras e antioxidantes (KOPUSTINSKIENE et al., 2022; WATT; KARL, 2017).

Outro canabinóide relevante é o cannabigerol (CBG), que é não psicoativo e tem demonstrado propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e neuroprotetoras (ECHEVERRY et al., 2021; PEREZ et al., 2022). Além do THC, CBD e CBG, existem diversos outros fitocannabinóides presentes na cannabis em menor quantidade, como o cannabigerovarina (CBGV), tetra-hidrocanabivarina (THCV) e o ácido canabigerólico (CBGA) (DEIANA et al., 2012).

É importante ressaltar que a proporção e a concentração desses fitocannabinóides podem variar amplamente entre diferentes cepas de cannabis, bem como em produtos derivados da planta (PROCACCIA et al., 2022; STEFKOV et al., 2022). Além disso, a cannabis contém outros compostos, como terpenos e flavonoides, que contribuem para seu aroma e também podem ter propriedades terapêuticas adicionais (NAMDAR et al., 2019).

A cannabis é utilizada para fins medicinais e espirituais há milhares de anos, seu uso remonta às civilizações antigas da China, Índia, Oriente Médio, onde a planta era utilizada por suas fibras, sementes e por suas propriedades medicinais, sendo mencionada em textos chineses já em 2700 a.C. como tratamento para várias condições, incluindo malária, prisão de ventre e distúrbios menstruais, porém, existem relatos que sugerem seu uso há mais de 12000 anos (BRIDGEMAN; ABAZIA, 2017; PISANTI; BIFULCO, 2019; ZUARDI, 2006).

Na Índia, a cannabis era usada como um sacramento espiritual e como remédio para tratar uma variedade de condições, incluindo asma, epilepsia e reumatismo (KUDDUS; GINAWI; ALHAZIMI, 2013). Durante a colonização, a cannabis foi levada para as Américas e seu uso inicial se baseava na extração das fibras para fabricação de tecidos, no entanto, a associação aos imigrantes mexicanos e afro-americanos (KORAM, 2022), fato que levou a uma estigmatização da planta pelo uso recreativo, e até o início do século XX, período em que muitos países já haviam proibido o uso da cannabis (BONINI et al., 2018; CROCQ, 2020).

2.3 Sistema Endocanabinóide (SEC)

O sistema endocanabinoide (SEC) é um sistema complexo de sinalização e regulação encontrado no corpo humano e em outros mamíferos (MORENA et al., 2016). Ele consiste em um conjunto de receptores (CBR1/CBR2/TRPVs/PPARs, dentre outros), endocanabinoides (eCBs) e enzimas responsáveis por sua síntese (NAPE-PLD e DAGL), transporte, degradação (FAAH e MAGL) (Fig. 4) (CHIURCHIÙ; LEUTI; MACCARRONE, 2018; PETROCELLIS; CASCIO; MARZO, 2004; RODRÍGUEZ DE FONSECA et al., 2005). O SEC desempenha um papel fundamental na regulação de várias funções fisiológicas e na manutenção do equilíbrio interno do organismo, conhecido como homeostase (BELLOCCHIO et al., 2008; MECCARIELLO, 2020).

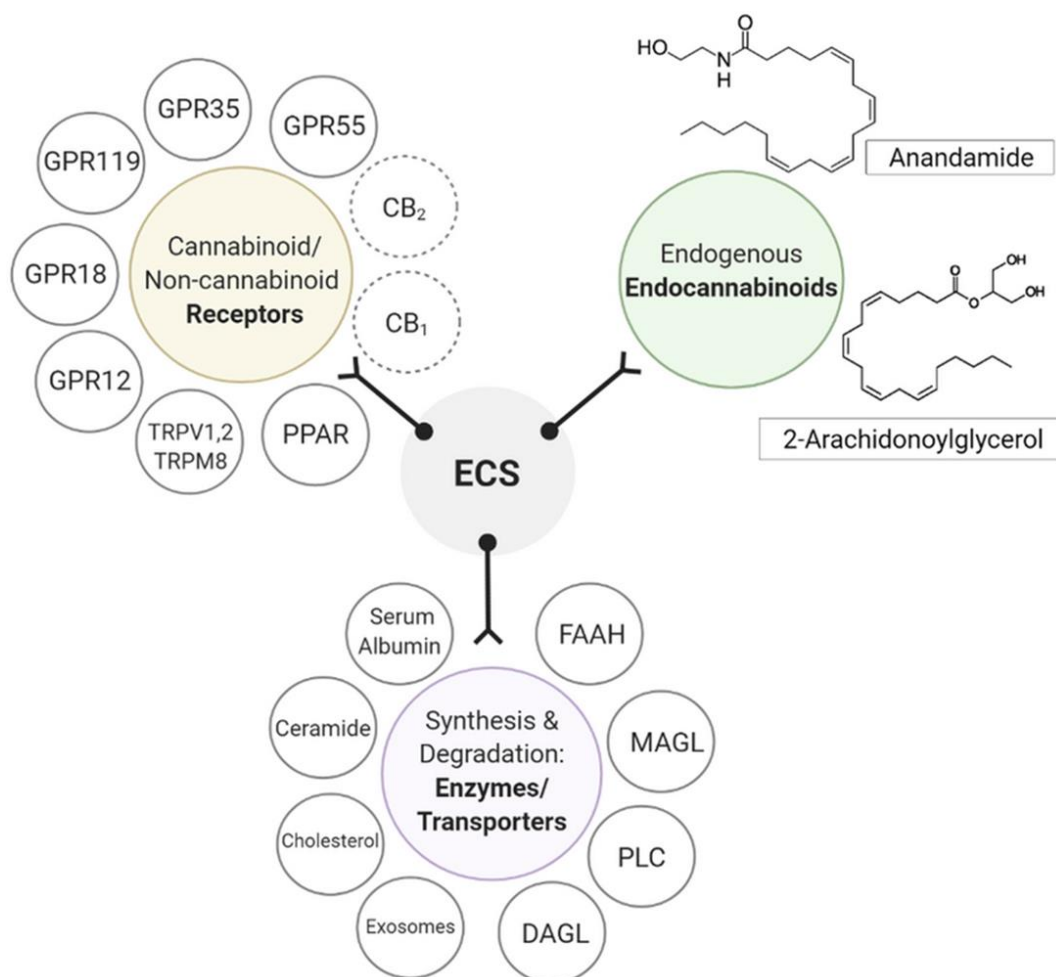


Figura 4. Visão geral dos componentes SEC, que incluem eCBs endógenos (AEA e 2-AG), seus principais receptores (CB1R E CB2R), receptores não canabinoides (GPR55, GPR35, GPR119, GPR18, GPR12), canais iônicos

incluindo membros da subfamília vanilóide TRPV (TRPM8, TRPV1 e TRPV2) e PPARs. Um terceiro componente do sistema são as enzimas/transportadores responsáveis pela síntese e degradação dos endocanabinóides, incluindo DAGL, PLC, MAGL e a FAAH. (MANGAL et al., 2021).

A descoberta do sistema endocanabinoide e a compreensão de sua importância têm implicado avanços significativos na medicina e na pesquisa científica, já que estudos relacionam esse sistema a várias condições médicas, como a epilepsia, dor crônica, distúrbios do humor, doenças neurodegenerativas, distúrbios do sono, entre outros. (BEHL et al., 2021; I. KHAN et al., 2016; KWAN CHEUNG et al., 2019; MAURYA; VELMURUGAN, 2018; PACHER; STEFFENS, 2009). Além de interagir com receptores canabinóides (CBRs), os eCBs e os fitocanabinóides (THC e CBD) possuem a capacidade de modular uma variedade de receptores como os canais TRP do tipo vanilóide 1 (TRPV1), Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs), canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCC), dentre diversos outros. Essa interação multimodal diversos receptores, enzimas e metabólitos é denominada de endocanabinoidoma, ou seja, SEC expandido (CASTONGUAY-PARADIS et al., 2020; DI MARZO; SILVESTRI, 2019; MORRIS et al., 2021).

2.3.1 Receptores Canabinóides

CB1R e CB2R pertencem a família dos receptores acoplados a proteína G, após a descoberta dos eCBs esses receptores passaram a ser intensamente estudados (PACHER; BÁTKEI; KUNOS, 2006; PERTWEE et al., 2010). Em humanos, os receptores CB1 estão altamente concentrados em regiões do cérebro envolvidas na cognição, memória, emoção e controle motor, em áreas de hipocampo, gânglios da base, cerebelo e tálamo (HERKENHAM et al., 1991; HOWLETT; ABOOD, 2017; IBSEN; CONNOR; GLASS, 2017; MATSUDA; BONNER; LOLAIT, 1993; MOLDRICH; WENGER, 2000).

No entanto, em cães, os receptores CB1 estão mais amplamente distribuídos por todo o cérebro, incluindo áreas envolvidas no processamento sensorial, olfação e regulação de funções (CHIOCCHETTI et al., 2019; FREUNDT-REVILLA et al., 2017; HERKENHAM et al., 1990). A expressão dos

receptores CB1 em tecidos periféricos também difere entre humanos e cães, nos humanos, os receptores CB1 são encontrados em vários tecidos periféricos, como trato gastrointestinal, fígado, tecido adiposo e células do sistema imunológico, no entanto, em cães os receptores CB1 também estão presentes nesses tecidos, mas sua distribuição exata e abundância podem ser diferentes (CAMPORA et al., 2012; GALIAZZO et al., 2018; RINALDI et al., 2022).

Por estar expresso em maior parte no SNC o CB1R tem um importante papel na transmissão sináptica e na excitabilidade neuronal (DJEUNGOUE-PETGA; HEBERT-CHATELAIN, 2017; LUTZ, 2004). Sabe-se também que ele possui interação com os sistemas colinérgico, dopaminérgico, noradrenérgico, neurônios corticais GABAérgicos, assim evidenciando que o envolvimento do SEC na modulação da secreção de neurotransmissores como a dopamina, serotonina, GABA e acetilcolina (HÄRING et al., 2007; KIRILLY; HUNYADY; BAGDY, 2013; NYÍRI et al., 2005).

CB1R possui um papel importante na regulação da neurotransmissão com maior foco de atuação no SNC, atuando na modulação da dor crônica, neuropática e inflamatória (IGNATOWSKA-JANKOWSKA et al., 2015; WILSON-POE et al., 2021; ZOGOPOULOS et al., 2013), ansiedade (RUBINO et al., 2007, 2008), obesidade (RAVINET TRILLOU et al., 2004), doença de Parkinson (CERRI et al., 2014; GARCIA-ARENCIBIA; GARCIA; FERNANDEZ-RUIZ, 2009), esclerose múltipla (PRYCE; BAKER, 2007) e também na sobrevivência/morte celular através da modulação de várias quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), incluindo ERK1/2, p38 e JNK, fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K)/proteína quinase B (Akt) (Fig. 5) (KHOURY; COHEN; BAR-SELA, 2022).

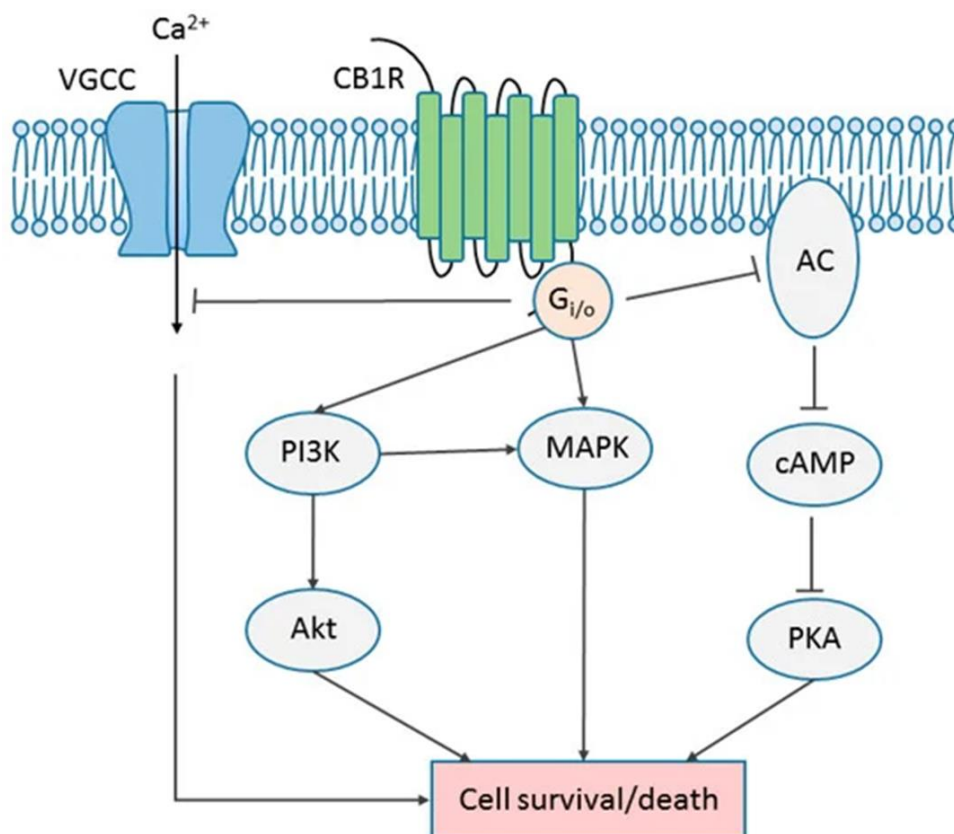


Figura 5. Principais vias de sinalização moduladas por CB1R. Normalmente, o CB1R está acoplado à proteína $G_{i/o}$ e inibe a atividade da adenilil ciclase, levando inibição de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) e a atividade da proteína quinase A (PKA). Em algumas circunstâncias, o CB1R pode trocar sua ligação com a proteína G de $G_{i/o}$ para G_s ou G_q . O CB1R é capaz de suprimir a entrada de cálcio via canal de cálcio dependente de voltagem (VGCC). Várias vias são ativadas pelo CB1R, as quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), incluindo ERK1/2, p38, JNK e a via da fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K)/quinase de proteína B (Akt). Dependendo do ligante e do microambiente, a sinalização mediada pelo CB1R pode levar a promoção da sobrevivência celular ou da morte celular. As setas indicam estimulação; setas atenuadas indicam inibição. (ZOU; KUMAR, 2018).

CB2R está expresso em maior parte no baço, tonsilas, timo, sistema linfático, células do sistema imune (linfócitos, macrófagos, mastócitos, células NK, micróglia e células dendríticas) e pode ser encontrado no SNC em menor quantidade (GONG et al., 2006). Pesquisas sugerem que quando ativado o receptor CB2R é capaz de modular a expressão de citocinas, suprimindo a

liberação de interferon Gama (IFN- γ), fator necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6), inibindo a ativação das micróglia, potencialmente reduzindo a inflamação, atuando na neuroproteção e neuroregeneração (ASHTON; GLASS, 2007; BELTRAMO et al., 2006; DAVIS, 2014; LOMBARD; NAGARKATTI; NAGARKATTI, 2007; PERTWEE, 2001; RAHN; HOHMANN, 2009; STELLA, 2009).

A ativação dos receptores CB2R localizados no sistema imune vai permitir a regulação de diversas vias inflamatórias como a inibição das células T pró-inflamatórias, apoptose das células T e na modulação da secreção de citocinas pró-inflamatórias levando a uma supressão de citocinas e quimiocinas (CONDIE et al., 1996; MEERAN et al., 2021; TURCOTTE et al., 2016). Os GPCRs CB1 e CB2 quando ativados possuem a capacidade de modular a ativação da via MAP quinase ou também conhecida como MAPK (Proteino-quinases ativadas por mitógenos), inibindo a adenil-ciclase através das proteínas Gi/o (CHEN et al., 2010; GLASS; NORTHUP, 1999; RAMER; SCHWARZ; HINZ, 2019).

Os eCBs e fitocanabinóides (CBD e THC) possuem a capacidade de ativar TRPV1, receptores que estão localizados no SNP, mais precisamente nas terminações nervosas aferentes dos neurônios sensoriais (PREMKUMAR; SIKAND, 2008; WINTER, 2005), sendo responsáveis pela modulação dos estímulos nociceptivos, inflamação periférica e modulação da dor (BEVAN; QUALLO; ANDERSSON, 2014; CORTRIGHT; SZALLASI, 2009). Os receptores PPARs participam da modulação de uma diversidade de processos biológicos como a homeostase lipídica e glicêmica, diferenciação celular (metabolismo lipídico), modulação da inflamação, dor e na liberação de fator antienvelhecimento chamado Klotho (BOUGARNE et al., 2018; OKINE; GASPAR; FINN, 2019; STRAUS; GLASS, 2007; XU et al., 2016; ZHANG; ZHENG, 2008).

2.3.2 Endocanabinóides

Os eCBs são considerados ligantes endógenos dos receptores canabinóides e dentre eles os mais estudados e de maior importância são a N-araquidonoiletanolamina ou Anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-

AG), ambos com ampla distribuição corpórea, encontrados em todos os tecidos, órgãos e fluidos corporais, incluindo SNC/SNP e são considerados agonistas dos receptores CB1R e CB2R (ALGER, 2013; JOSHI; ONAIVI, 2019; MÜLLER-VAHL et al., 2020; ZOU; KUMAR, 2018). Sabe-se que o AEA e 2-AG ativam diversas GPCRs. (DI MARZO, 2018; LU; MACKIE, 2021). Por meio da ativação dos CBRs os eCBs possuem a capacidade de interagir de forma direta e indireta na modulação do TRPV1, umas das isoformas dos receptores de potencial transitório (CAVUOTO et al., 2007; RYSKAMP et al., 2014; VAN DER STELT; DI MARZO, 2004).

A AEA pertence à família das N-aciletanolaminas (NAEs), proveniente do metabolismo do Ácido Araquidônico (AA) e pode ser caracterizada como um neurotransmissor endógeno lipofílico (DEVANE et al., 1992). A AEA atua como agonista de CB1R / CB2R e agonista dos subtipos da família dos PPARs (HILLARD, 2018; LIU et al., 2006; O'SULLIVAN, 2007; PAGANO; ROSSATO; VETTOR, 2008). A interação da AEA com as isoformas dos PPARs (α , γ) produz efeitos anti-inflamatórios atuando na modulação da secreção da citocina IL-2, diferenciação dos adipócitos assim como na metabolização dos lipídeos e do açúcar (MACCARRONE et al., 2010; MACCARRONE; DAINESE; ODDI, 2010; ROCKWELL; KAMINSKI, 2004).

O 2-AG pertence à família dos 2-acilgliceróis (2-AcGs) e atua como um neurotransmissor endógeno de diversos GPCRs e canais de íons relacionados ao sistema endocanabinóide (BRADSHAW; WALKER, 2005; SUGIURA; WAKU, 2000). 2-AG também participa no metabolismo dos lipídios e pode ser considerado uma fonte de AA na síntese da prostaglandina (NOMURA et al., 2011).

2.3.3 Biossíntese dos eCBs

Os eCBs são produzidos internamente na membrana celular, ou seja, para que eles atuem nas células ao redor é necessário haver um processo de liberação e assim realizar suas funções (ADERMARK; LOVINGER, 2007; CHEVALEYRE; TAKAHASHI; CASTILLO, 2006; HAJOS et al., 2004). A síntese da AEA pode ocorrer por vias distintas e a produção dos eCBs acontece "sob demanda", ou seja, após ativação de algumas enzimas, caracterizadas como

lipases, por estímulos específicos como por exemplo a ativação das GPCRs ou alteração da concentração intracelular de cálcio (MUCCIOLI, 2010; NYILAS et al., 2008; WELLNER et al., 2013).

Estudos sugerem duas principais propostas para a síntese da AEA, a primeira pode ser observada pela atuação reversa da enzima responsável pela degradação da AEA, a amida hidrolase de ácido graxo (FAAH), a qual vai sintetizar NAEs quando em alta concentração (LIN et al., 2017a), porém, essa reação requer pH, concentrações de substrato otimizados e microambiente específico (ARREAZA et al., 1997; DEUTSCH; CHIN, 1993; DEVANE; AXELROD, 1994; KRUSZKA; GROSS, 1994).

Outra proposta é a "via N-Acilação Fosfodiesterase", neste caso a obtenção de N-acilfosfatidiletanolaminas (NAPE) pela enzima N-aciltransferase dependente de cálcio (Ca-NAT) ocorre mediante ao processo de troca nas posições SN-1 e no grupo amina de uma cadeia do grupo Acil proveniente de um Glicerofosfolípídeo como a Fosfatidilcolina (PtdCho) para a Fosfatidiletanolamina (PtdEt), resultando na obtenção do NAPE (BATTISTA et al., 2012; HILLARD, 2015; RAHMAN et al., 2014). Após a sua formação, o NAPE tende a passar por uma clivagem através de uma enzima chamada fosfolipase D (NAPE-PLD), resultando na formação do ácido fosfatídico e NAE (OKAMOTO et al., 2004; SCHMID; SCHMID; NATARAJAN, 1990).

A descoberta da N-aciltransferase independente de cálcio (iNAT) demonstrou a existência de diversas enzimas na síntese do NAPE, porém, a síntese pela enzima Ca-NAT continua sendo a de maior importância na síntese da AEA e outros NAEs existentes (JIN et al., 2007; OKAMOTO; TSUBOI; UEDA, 2009). Estudos mostram que a concentração de cálcio intracelular, concentração da proteína sintetizadora e o pH (6-8) estão diretamente relacionados com a atividade biológica da NAT (CADAS; DI TOMASO; PIOMELLI, 1997; EPPS et al., 1979; REDDY et al., 1983). Alguns estudos demonstraram que os metabólitos gerados a partir da degradação dos eCBs possuem a capacidade de ativar os PPARs e suas demais isoformas (α , γ e δ), as quais demonstraram a capacidade de atuar na modulação da inflamação, participar na metabolização lipídica e atuar também na diferenciação celular (KOZAK et al., 2002; RAMAN et al., 2011; YU et al., 2014).

O 2-AG é sintetizado a partir da ativação da fosfolipase C (PLC) nas células que tendem a expressar a enzima diacilglicerol lipase (DAGL), essa pode ser encontrada em duas isoformas, a DAG lipase α e DAG lipase β (BISOGLNO et al., 2003; PIOMELLI, 2014; REISENBERG et al., 2012). A DAGL- β e a DAGL- α estão localizadas e expressas em maior quantidade no cérebro, porém, a DAGL- β participa na síntese e manutenção das células da micróglia e a DAGL- α atua nas vias da sinapse, responsável pela produção e manutenção sináptica, ambas as isoformas α e β estão relacionadas ao 2-AG (UCHIGASHIMA et al., 2007; VIADER et al., 2016; YOSHIDA, 2006; ZHANG et al., 2014).

2.3.4 Transporte e Degradação dos eCBs

Estudos sugerem que devido a polaridade molecular e lipossolubilidade dos eCBs eles passam através das membranas por difusão simples e sugere-se também difusão mediada por carreador como transporte mais provável, porém, podemos citar outros mecanismos como tráfego e sequestro intracelular, endocitose, absorção mediada pela hidrolase de ácido graxo (FAAH) e difusão facilitada (MOORE et al., 2005; ODDI et al., 2010; YATES; BARKER, 2009). Diversos pesquisadores acreditam que os eCBs (AEA e 2-AG) possuem em comum o mesmo transportador de membrana (EMT), porém, devido a escassa identificação dos EMTs e mecanismos envolvidos no transporte, há um grande debate sobre esse tema (FOWLER, 2013; NICOLUSSI; GERTSCH, 2015).

O transporte dos endocanabinoides é um processo complexo que envolve a atividade de proteínas de transporte especializadas, enzimas e outras moléculas. Algumas das proteínas-chave envolvidas no transporte de endocanabinoides incluem as proteínas de ligação a ácidos graxos (FAAH), a monoacilglicerol lipase (MAGL), que degrada os endocanabinoides depois que eles são utilizados (FEGLEY et al., 2004; KACZOCHA; HAJ-DAHMANE, 2022) e as FABPs (Proteínas de Ligação a Ácidos Graxos) que atuam como transportadores intracelulares que torna a AEA "solúvel", transportando-a para a FAAH, essa interação entre as FABPs e a AEA auxilia na regulação da atividade e sinalização dos endocanabinoides no organismo (DEUTSCH, 2016; LOWE et al., 2021).

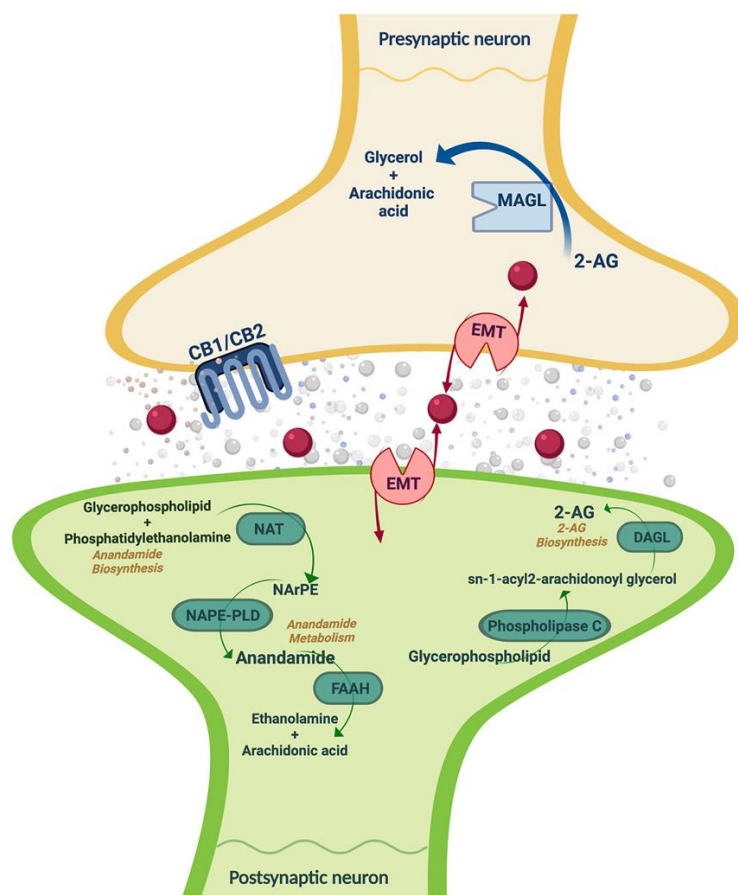


Figura 6. Representação esquemática dos principais componentes do SEC, incluindo as vias de metabolização dos eCBs, CB1R e CB2R, eCBs, enzimas responsáveis pelo transporte e degradação (FAAH, MAGL, DAGL, EMT, NAT, NAPE, NAPE-PLD e DAGL). (NAVARRETE et al., 2020).

A degradação dos eCBs ocorre com a hidrólise do grupo araquidônico presente em suas moléculas, sendo o 2-AG é degradado por uma enzima chamada Lipase Monoacilglicerol (MAGL) e a AEA pela FAAH (Fig.6) (AHN; MCKINNEY; CRAVATT, 2008; BLANKMAN; SIMON; CRAVATT, 2007; DEUTSCH et al., 2001). Com a liberação do AA pela hidrólise dos eCBs a produção de prostaglandinas (PG) pelas cicloxigenases (COXs) é otimizada, pois o AA serve de substrato para as mesmas (KOZAK; PRUSAKIEWICZ; MARNETT, 2004; SIMMONS; BOTTING; HLA, 2004). A AEA após ser hidrolisada pela FAAH vai gerar AA e EA e o 2-AG após ser hidrolisado pela MAGL vai originar AA e glicerol (CRAVATT et al., 1996; UEDA et al., 2011).

2.4 Fitocanabinóides

As moléculas bioativas caracterizadas como fitocanabinóides são considerados policetídeos que possuem em sua estrutura um núcleo de resorcinol que está normalmente ligado a uma cadeia lateral de isoprenil, alquil ou aralquil (HANUŠ et al., 2016). O termo fitocanabinóides é utilizado para descrever as diversas moléculas bioativas que são produzidas pela planta *cannabis* como o Δ^9 -THC, CBD, CBG, CBN, dentre outros, adicionalmente, podemos encontrar outras substâncias químicas na *cannabis* como os terpenos, flavonóides e alcaloides (BAUTISTA; YU; TIAN, 2021; GÜLCK; MØLLER, 2020). Os fitocanabinóides possuem uma distribuição limitada e suas fontes na natureza podem ser filogeneticamente distintas, ou seja, podem estar presentes nas Ericáceas (YANG et al., 2018), Hepaticophytas (CHICCA et al., 2018; HUSSAIN et al., 2019) e fungos (ASAKAWA et al., 2005; HELLWIG et al., 2003; QUAGHEBEUR et al., 1994).

Entre os diversos compostos biologicamente ativos que a planta da *cannabis* produz, os fitocanabinóides THC e CBD estão entre os mais estudados, pois possuem uma gama de efeitos terapêuticos decorrentes das interações com o sistema endocanabinoide (ANTONELLI et al., 2020; CITTI et al., 2020). A identificação e caracterização dessas moléculas permitiram a descoberta de receptores canabinoides (CB1 e CB2) e ligantes endógenos como a AEA e 2-AG, sendo os eCBs mais estudados, mais também podemos encontrar N- N-araquidonoil dopamina (NADA), éter 2-araquidonilglicerílico (2-AGE) e O-araquidonoil etanolamina (OAE, vidrodamina) associados ao sistema endocanabinóide (FILIPUIC et al., 2021; KHAVANDI; RAO; BEAZELY, 2023; PORTER et al., 2002).

O THC ou Tetraidrocanabinol é normalmente o termo usado para se referir ao isômero Δ^9 -THC, molécula bastante estudada por possuir grande capacidade terapêutica e um dos principais compostos da *cannabis* que possui efeitos psicoativos e analgésicos, efeitos mediados por provável agonismo com os receptores CB1 (ELSOHLY et al., 2017; RADWAN et al., 2021). Seu uso na medicina vem se ampliando cada vez mais, estudos mostram que ele possui a capacidade de modular a inflamação e atividade antioxidante através de sua interação com os receptores CB1 e CB2 (HACKE et al., 2019; YUAN et al., 2002).

O THC é considerado um agonista parcial de CB1 e CB2, possuindo grande afinidade por estes receptores. O CB2 é responsável por modular os efeitos imunomodulatórios relacionados ao THC e este fitocanabinóide ainda possui a capacidade de atuar como agonista de PPARs (PPAR γ), TRPVs (TRPV1, TRPV2, TRPV3 e TRPV4) e antagonizar receptores como o 5-HT3 (ALMOGHAZAN; OR, 2020; MECHOULAM et al., 1988; SHAHBAZI et al., 2020; TURNER et al., 2017).

O segundo fitocanabinóide mais abundante na planta da cannabis é o CBD, por não possuir efeitos psicoativos é um grande aliado terapêutico no tratamento de diversos distúrbios como ansiedade (PATEL et al., 2017; SKELLEY et al., 2020), depressão (SHBIRO et al., 2019), dependência de diversas drogas (CALPE-LÓPEZ; GARCÍA-PARDO; AGUILAR, 2019), epilepsia (BOLETI et al., 2022; FRANCO; PERUCCA, 2019), entre muitas outras (PREMOLI et al., 2019). Possui pouca afinidade com os receptores CB1 e CB2, porém, pode atuar como modulador alostérico negativo desses receptores e possui capacidade de ser um agonista dos receptores TRPV1, PPAR γ , 5-HT1A e modulam diversos canais de íons e enzimas (ESPOSITO et al., 2011; IANNOTTI et al., 2014; JOCA et al., 2021; RUSSO et al., 2005; RYAN et al., 2009). É considerado uma molécula com enorme capacidade terapêutica por possuir diversos mecanismos de ação, o qual se deve pela enorme variedade de interações com receptores acoplados a proteína G (CB1 e CB2), receptores vanilóides (TRPVs), canais de íons, enzimas, PPARs e por não apresentar efeitos psicoativos pode ser utilizado com maior segurança (ALMEIDA; DEVI, 2020).

2.5 Pré-condicionamento MSCs

O pré-condicionamento consiste na exposição das MSCs frente a diversos fatores, entre eles as citocinas, fatores de crescimento, proteínas da matriz extracelular, estímulos físicos, agentes farmacológicos e químicos e culturas 3D (HUNG et al., 2016). Estudos mostram que o pré-condicionamento pode aumentar a capacidade de migração, proliferação e diferenciação das MSCs, bem como melhorar suas propriedades imunomoduladoras (Fig. 7) (BALDARI et

al., 2017; LI et al., 2016; LIM et al., 2017; NAJAR et al., 2012, 2018; NORONHA et al., 2019; TAKEDA et al., 2018; ZHANG et al., 2019).

Por exemplo, a preparação de MSCs com plasma rico em plaquetas (PRP) demonstrou melhorar sua capacidade de se diferenciar em células de cartilagem, o que pode ser útil no tratamento de lesões articulares e doenças articulares degenerativas (ANDIA; MAFFULLI, 2021; ANDIA; MARTIN; MAFFULLI, 2018). Estudos sobre o pré-condicionamento das MSCs demonstraram o potencial da técnica para melhorar a sua eficácia terapêutica em distúrbios musculoesqueléticos (KAY et al., 2021; MAUMUS et al., 2016), doenças cardiovasculares (KANG et al., 2015; RUAN et al., 2018), distúrbios neurológicos (PARK et al., 2021; TELI; KALE; VAIDYA, 2021), reparação de tecidos (BORNES; ADESIDA; JOMHA, 2018), cicatrização de feridas (TI et al., 2015) e imunomodulação (LIN et al., 2017b; SHOWALTER et al., 2019).

Estudos mostram que MSCs pré-condicionadas com IFN- γ vão expressar um aumento em sua capacidade de suprimir o sistema imunológico (KIM et al., 2018), isso ocorre devido ao aumento da expressão de moléculas imunomoduladoras, como PGE2, HGF, TGF- β e ligante de quimiocina 2 (CCL2), além de aumentar a expressão de moléculas de histocompatibilidade leucocitária (HLA) de classe I e II (DE WITTE et al., 2016; GRAU-VORSTER et al., 2019; WHELAN; CAPLICE; CLOVER, 2020). Além disso, as MSCs pré-condicionadas com IFN- γ inibem as funções efectoras das células T através da regulação positiva dos ligantes de morte celular programada 1 (PDL-1), independentemente do aumento da expressão da IDO (CHINNADURAI et al., 2014; DI TINCO et al., 2021).

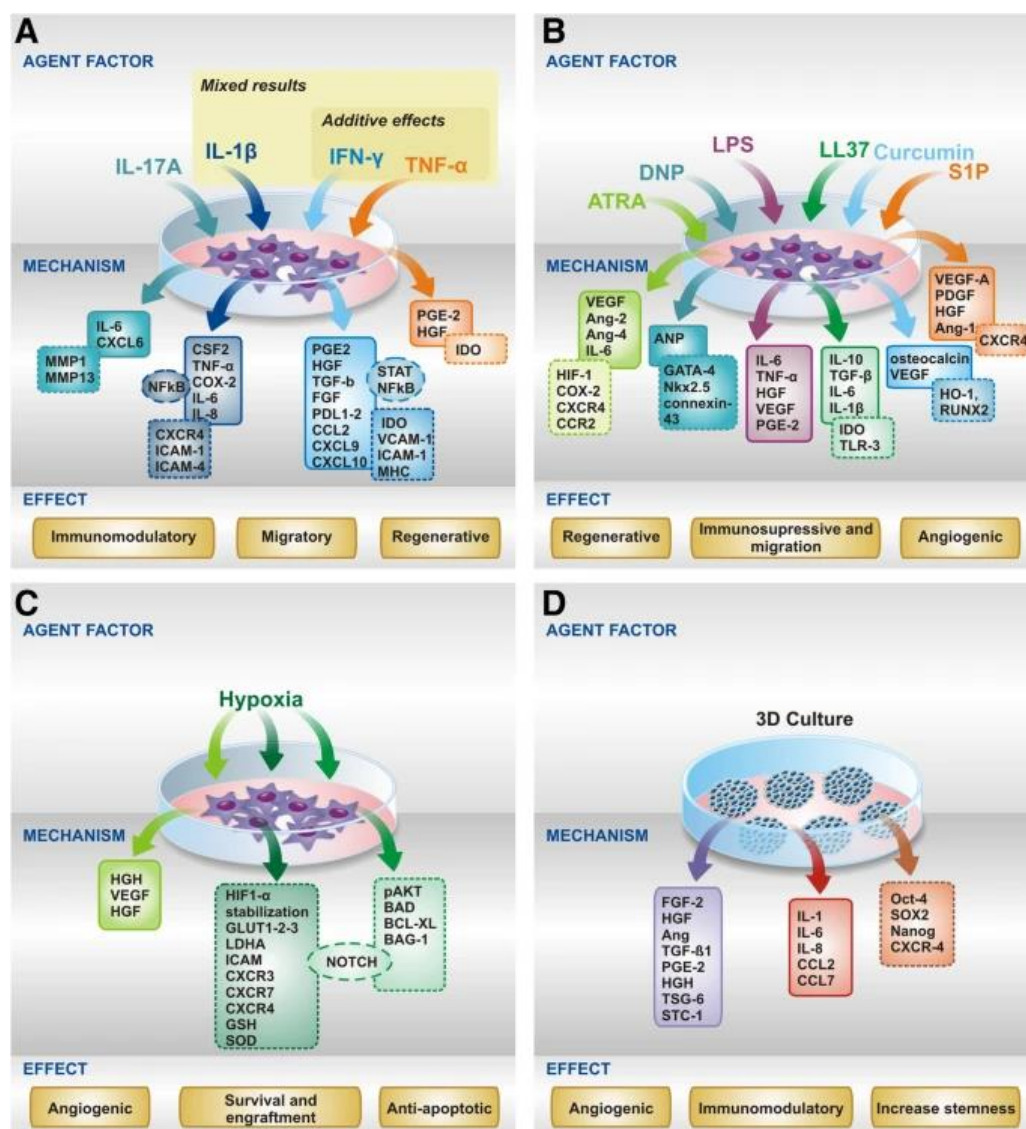


Figura 7. Esquema representando as principais formas de pré-condicionamento para as MSCs. (a) citocinas e fatores de crescimento; (b) agentes farmacológicos ou químicos; (c) hipóxia; (d) cultivo em 3D; Os fatores/agentes do pré-condicionamento e seus respectivos mecanismos de ação estão representados por setas e caixas interligadas da mesma cor. Os fatores solúveis liberados são representados em caixas de linha contínua, enquanto outras moléculas reguladas positivamente (como os fatores de transcrição, metaloproteínas, receptores de quimiocinas e enzimas) são representadas em caixas de linha tracejada. Os efeitos do pré-condicionamento das MSCs, desencadeados pelo fator/agente de pré-condicionamento estão indicados em caixas amarelas na parte inferior de cada figura.(NORONHA et al., 2019).

Quando as MSCs são pré-condicionadas com $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IFN-}\gamma$, elas podem produzir o fator H, que inibe potencialmente a ativação do complemento de maneira dose e tempo-dependente (DAI; GUPTA, 1990; TU et al., 2010). A produção de fator H é suprimida pela inibição de PGE_2 e IDO , porém, os efeitos supressores das MSCs em relação a proliferação das células T variam entre diferentes doadores, possivelmente devido ao aumento da atividade da IDO (CHON; HASSANAIN; GUPTA, 1996; FRANÇOIS et al., 2012; LE BLANC; DAVIES, 2015). MSCs pré-condicionadas com $\text{TNF-}\alpha$ promove o aumento da expressão de fatores associados a imunorregulação, como PGE_2 , IDO e HGF em MSCs (DUNN et al., 2022; MEAD et al., 2020; PRASANNA et al., 2010).

A hipóxia, outra abordagem em potencial de pré-condicionamento, consiste em privar/reduzir o oxigênio das MSCs, fator que aumenta sua capacidade de proliferação, diferenciação e potencial regenerativo via secreção de fatores como Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), Angiopietina 1 (Ang-1), Fator de transcrição de homeodomínio da família POU (Oct-4), dentre outros (Fig. 8), sendo particularmente relevante para aplicações em cicatrização de feridas, onde as MSCs precisam ser capazes de sobreviver e funcionar em ambientes com pouco oxigênio (AHANI-NAHAYATI et al., 2018; BÉTOUS et al., 2017; FORRESTER; MAKKAR; MARBÁN, 2009).

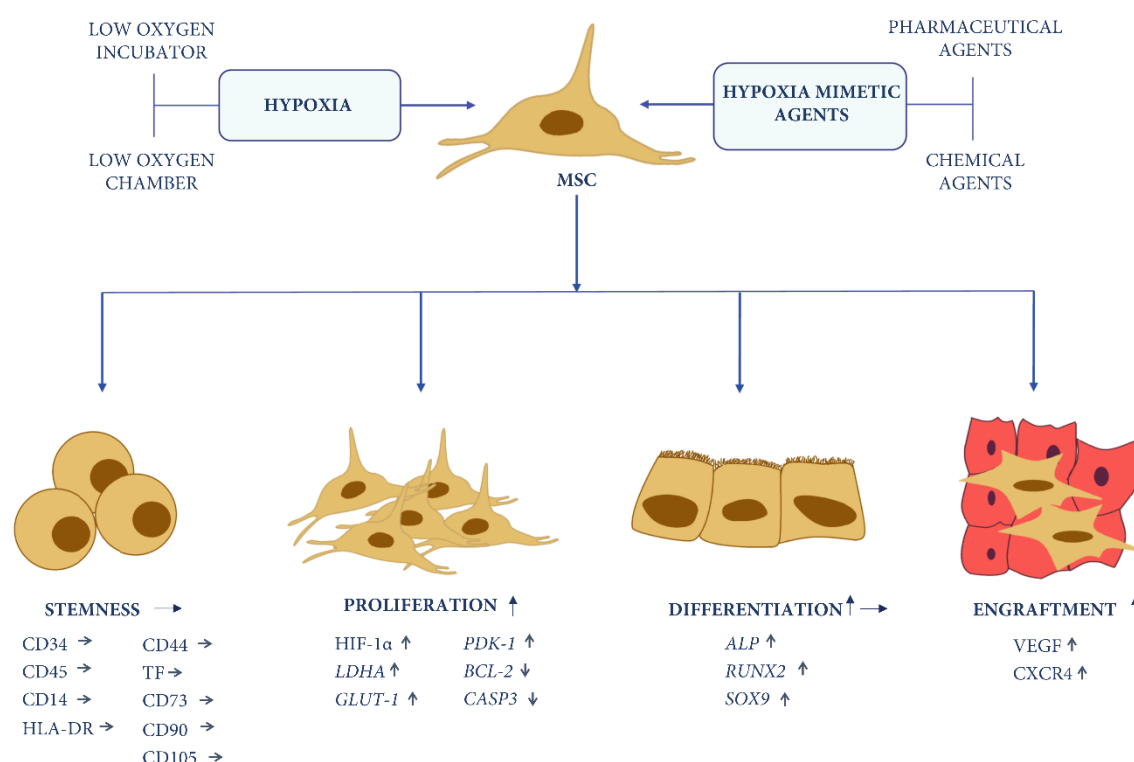


Figura 8. Pré-condicionamento das MSCs utilizando hipóxia com diferentes agentes. Ambos os agentes (hipóxia e agentes que mimetizam hipóxia) influenciam homeostase das MSCs, preservando sua capacidade de diferenciação e proliferação. Apenas as principais proteínas e genes relacionados são apresentados. (NOWAK-STĘPNIOWSKA et al., 2022).

Foi demonstrado que as células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (OM-MSCs) expressam os receptores CB1 e CB2 (KÖSE et al., 2018) e pré-condicionar essas células com THC aumenta sua capacidade de modular a expressão de citocinas (SUN et al., 2015; XIE et al., 2016). Além disso, em um modelo de camundongo com lesão de constrição crônica, o pré-condicionamento das MSCs com THC aumentou sua capacidade de modular o sistema imunológico, levando à melhora da hiperalgesia térmica e da alodinia mecânica (KALVALA et al., 2023).

Estudos utilizando células-tronco mesenquimais da gengiva humana (hGMSCs) mostram que o CBD induz as hGMSCs a se diferenciarem em células progenitoras neurais (NPCs) e a promover a neurogênese (LIBRO et al., 2016a), sugerindo que o pré-condicionamento das hGMSCs com CBD tenha a capacidade de acelerar a neuroproteção na medicina regenerativa para doenças neurodegenerativas (REGMI et al., 2022; SOUNDARA RAJAN et al., 2017). Pesquisas sugerem que os receptores endocanabinoides CB1 e CB2 afetam o potencial regenerativo das AT-MSCs, implicando que a ativação desses receptores pode ter um impacto significativo na capacidade das AT-MSCs de regenerar tecidos lesionados ou danificados (RUHL et al., 2020, 2021).

3 HIPÓTESE

O priming das AT-MSCs caninas com extrato de cannabis rico em CBD promove a modulação da expressão gênica dos fatores neurotróficos e citocinas.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo Geral

Avaliar in vitro a expressão gênica dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF, HGF e das citocinas IL-10, IDO, TNF- α , INF- γ e PTGE2 após priming das AT-MSCs caninas com extrato de cannabis rico em CBD em diferentes concentrações (225 nM e 2,25 μ M).

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar morfologia celular após estimulação com extrato de cannabis rico em CBD nas doses 225 nM e 2,5 μ M por 24h;
- Avaliar viabilidade celular com Azul Tripiano ® após estimulação com extrato de cannabis rico em CBD nas doses 225 nM e 2,5 μ M por 24h;
- Avaliar expressão gênica dos fatores neurotróficos (BDNF, GDNF e HGF) e citocinas (IDO, TNF, INF, PTGES2 e IL-10) após estimulação com extrato de cannabis rico em CBD nas doses 225 nM e 2,5 μ M por 24h;

5. BIBLIOGRAFIA

A. DOUGLAS KINGHORN et al. **Phytocannabinoids**. 1. ed. Cham: Springer International Publishing, 2017. v. 103

ABAME, M. A. et al. Chronic administration of synthetic cannabidiol induces antidepressant effects involving modulation of serotonin and noradrenaline levels in the hippocampus. **Neuroscience Letters**, v. 744, p. 135594, jan. 2021.

ABRAMS, D.; GUZMAN, M. Cannabis in cancer care. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 97, n. 6, p. 575–586, jun. 2015.

ABUMAREE, M. H. et al. Human Placental Mesenchymal Stem Cells (pMSCs) Play a Role as Immune Suppressive Cells by Shifting Macrophage Differentiation from Inflammatory M1 to Anti-inflammatory M2 Macrophages. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 9, n. 5, p. 620–641, 28 out. 2013.

ADERMARK, L.; LOVINGER, D. M. Retrograde endocannabinoid signaling at striatal synapses requires a regulated postsynaptic release step. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 51, p. 20564–20569, 18 dez. 2007.

AHANI-NAHAYATI, M. et al. Promoter Methylation Status of Survival-Related Genes in MOLT- 4 Cells Co-Cultured with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells under Hypoxic Conditions. **Cell journal**, v. 20, n. 2, p. 188–194, jul. 2018.

AHN, K.; MCKINNEY, M. K.; CRAVATT, B. F. Enzymatic Pathways That Regulate Endocannabinoid Signaling in the Nervous System. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 5, p. 1687–1707, 1 maio 2008.

AHN, S. et al. A Cannabinoid Receptor Agonist N-Arachidonoyl Dopamine Inhibits Adipocyte Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 23, n. 3, p. 218–224, 31 maio 2015.

AIRAKSINEN, M. S.; SAARMA, M. The GDNF family: Signalling, biological functions and therapeutic value. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 3, n. 5, p. 383–394, maio 2002.

ALDRICH, E. D. et al. Allogeneic Mesenchymal Stromal Cells for Cartilage Regeneration: A Review of in Vitro Evaluation, Clinical Experience, and Translational Opportunities. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 10, n. 11, p. 1500–1515, 1 nov. 2021.

ALGER, B. E. Getting high on the endocannabinoid system. **Cerebrum : the Dana forum on brain science**, v. 2013, p. 14, nov. 2013.

ALIZADEH, E. et al. The effect of dimethyl sulfoxide on hepatic differentiation of mesenchymal stem cells. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 44, n. 1, p. 157–164, 2 jan. 2016.

ALMEIDA, D. L.; DEVI, L. A. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 8, n. 6, 9 dez. 2020.

ALMOGI-HAZAN, O.; OR, R. Cannabis, the Endocannabinoid System and Immunity—the Journey from the Bedside to the Bench and Back. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 12, p. 4448, 23 jun. 2020.

ANAND, U. et al. Dose-Related Inhibition of Capsaicin Responses by Cannabinoids CBG, CBD, THC and their Combination in Cultured Sensory Neurons. **Journal of Pain Research**, v. Volume 14, p. 3603–3614, nov. 2021.

ANCANS, J. Cell therapy medicinal product regulatory framework in Europe and its application for MSC-based therapy development. **Frontiers in Immunology**, v. 3, 2012.

ANDIA, I.; MAFFULLI, N. Mesenchymal stromal cell products for intra-articular knee injections for conservative management of osteoarthritis. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, v. 13, p. 1759720X2199695, 18 jan. 2021.

ANDIA, I.; MARTIN, J. I.; MAFFULLI, N. Platelet-rich Plasma and Mesenchymal Stem Cells: Exciting, But ... are we there Yet? **Sports Medicine and Arthroscopy Review**, v. 26, n. 2, p. 59–63, jun. 2018.

ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J.-F.; GUERRIERO, G. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 4 fev. 2016.

ANKRUM, J. A.; ONG, J. F.; KARP, J. M. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 3, p. 252–260, 23 mar. 2014.

ANSARI, S. et al. Human Periodontal Ligament- and Gingiva-derived Mesenchymal Stem Cells Promote Nerve Regeneration When Encapsulated in Alginate/Hyaluronic Acid 3D Scaffold. **Advanced Healthcare Materials**, v. 6, n. 24, p. 1700670, dez. 2017.

ANTONELLI, M. et al. New insights in hemp chemical composition: a comprehensive polar lipidome characterization by combining solid phase enrichment, high-resolution mass spectrometry, and cheminformatics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 2, p. 413–423, 23 jan. 2020.

ARREAZA, G. et al. The cloned rat hydrolytic enzyme responsible for the breakdown of anandamide also catalyzes its formation via the condensation of arachidonic acid and ethanolamine. **Neuroscience Letters**, v. 234, n. 1, p. 59–62, set. 1997.

ASAKAWA, Y. et al. Isolation, Synthesis and Biological Activity of Grifolic Acid Derivatives from the Inedible Mushroom *Albatrellus dispansus*. **HETEROCYCLES**, v. 65, n. 10, p. 2431, 2005.

ASHTON, J.; GLASS, M. The Cannabinoid CB2 Receptor as a Target for Inflammation-Dependent Neurodegeneration. **Current Neuropharmacology**, v. 5, n. 2, p. 73–80, 1 jun. 2007.

AWAN, M. et al. Dimethyl sulfoxide: a central player since the dawn of cryobiology, is efficacy balanced by toxicity? **Regenerative Medicine**, v. 15, n. 3, p. 1463–1491, mar. 2020.

AZIZ, A. et al. Cannabinoids as Immune System Modulators: Cannabidiol Potential Therapeutic Approaches and Limitations. **Cannabis and Cannabinoid Research**, 22 nov. 2022.

BACALIA, K. M. A. et al. Cannabidiol Decreases Intestinal Inflammation in the Ovariectomized Murine Model of Postmenopause. **Biomedicines**, v. 11, n. 1, p. 74, 28 dez. 2022.

BALDARI, S. et al. Challenges and Strategies for Improving the Regenerative Effects of Mesenchymal Stromal Cell-Based Therapies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 10, p. 2087, 2 out. 2017.

BARANOWSKA-KUCZKO, M. et al. Vasoprotective Endothelial Effects of Chronic Cannabidiol Treatment and Its Influence on the Endocannabinoid System in Rats with Primary and Secondary Hypertension. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 11, p. 1120, 31 out. 2021.

BARRACHINA, L. et al. Priming Equine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells with Proinflammatory Cytokines: Implications in Immunomodulation–Immunogenicity Balance, Cell Viability, and Differentiation Potential. **Stem Cells and Development**, v. 26, n. 1, p. 15–24, jan. 2017.

BARTOSH, T. J.; YLOSTALO, J. H. Efficacy of 3D Culture Priming is Maintained in Human Mesenchymal Stem Cells after Extensive Expansion of the Cells. **Cells**, v. 8, n. 9, p. 1031, 5 set. 2019.

BASWAN, S. M. et al. <p>Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD) for Skin Health and Disorders</p>. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. Volume 13, p. 927–942, dez. 2020.

BATTISTA, N. et al. The endocannabinoid system: an overview. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 6, 2012.

BAUTISTA, J. L.; YU, S.; TIAN, L. Flavonoids in *Cannabis sativa* : Biosynthesis, Bioactivities, and Biotechnology. **ACS Omega**, v. 6, n. 8, p. 5119–5123, 2 mar. 2021.

BEHL, T. et al. Understanding the possible role of endocannabinoid system in obesity. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 152, p. 106520, fev. 2021.

BELLOCCHIO, L. et al. The Endocannabinoid System and Energy Metabolism. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. 6, p. 850–857, jun. 2008.

BELTRAMO, M. et al. CB2 receptor-mediated antihyperalgesia: possible direct involvement of neural mechanisms. **European Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 6, p. 1530–1538, mar. 2006.

BENAVIDES, F. P. et al. Intrathecal Transplantation of Autologous and Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Dogs. **Cell Transplantation**, v. 30, p. 096368972110344, 1 jan. 2021.

BERARDIS, S. et al. Use of mesenchymal stem cells to treat liver fibrosis: Current situation and future prospects. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 3, p. 742, 2015.

BERCIK, P. et al. Chronic Gastrointestinal Inflammation Induces Anxiety-Like Behavior and Alters Central Nervous System Biochemistry in Mice. **Gastroenterology**, v. 139, n. 6, p. 2102- 2112.e1, dez. 2010.

BÉTOUS, R. et al. Human Adipose-Derived Stem Cells Expanded Under Ambient Oxygen Concentration Accumulate Oxidative DNA Lesions and Experience Procarcinogenic DNA Replication Stress. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 6, n. 1, p. 68–76, 1 jan. 2017.

BEVAN, S.; QUALLO, T.; ANDERSSON, D. A. TRPV1. Em: [s.l: s.n.]. p. 207–245.

BIEBACK, K. et al. Human Alternatives to Fetal Bovine Serum for the Expansion of Mesenchymal Stromal Cells from Bone Marrow. **Stem Cells**, v. 27, n. 9, p. 2331–2341, 1 set. 2009.

BIELAWIEC, P. et al. Attenuation of Oxidative Stress and Inflammatory Response by Chronic Cannabidiol Administration Is Associated with Improved n-6/n-3 PUFA Ratio in the White and

Red Skeletal Muscle in a Rat Model of High-Fat Diet-Induced Obesity. **Nutrients**, v. 13, n. 5, p. 1603, 11 maio 2021.

BISOGNO, T. et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. **British Journal of Pharmacology**, v. 134, n. 4, p. 845–852, out. 2001.

BISOGNO, T. et al. Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. **Journal of Cell Biology**, v. 163, n. 3, p. 463–468, 10 nov. 2003.

BLANKMAN, J. L.; SIMON, G. M.; CRAVATT, B. F. A Comprehensive Profile of Brain Enzymes that Hydrolyze the Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol. **Chemistry & Biology**, v. 14, n. 12, p. 1347–1356, dez. 2007.

BOGGS, D. L. et al. The dose-dependent psychomotor effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) in humans. **Journal of Psychopharmacology**, v. 32, n. 12, p. 1308–1318, 26 dez. 2018.

BOIVIN, M. Cannabis Strains to Chemovars. Em: **Cannabinoids and Pain**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 129–134.

BOLETI, A. P. DE A. et al. Biochemical aspects and therapeutic mechanisms of cannabidiol in epilepsy. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 132, p. 1214–1228, jan. 2022.

BONINI, S. A. et al. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 227, p. 300–315, dez. 2018.

BORNES, T. D.; ADESIDA, A. B.; JOMHA, N. M. Articular Cartilage Repair with Mesenchymal Stem Cells After Chondrogenic Priming: A Pilot Study. **Tissue Engineering Part A**, v. 24, n. 9–10, p. 761–774, maio 2018.

BOUGARNE, N. et al. Molecular Actions of PPAR α in Lipid Metabolism and Inflammation. **Endocrine Reviews**, v. 39, n. 5, p. 760–802, 1 out. 2018.

BRADSHAW, H. B.; WALKER, J. M. The expanding field of cannabimimetic and related lipid mediators. **British Journal of Pharmacology**, v. 144, n. 4, p. 459–465, fev. 2005.

BRIDGEMAN, M. B.; ABAZIA, D. T. Medicinal Cannabis: History, Pharmacology, And Implications for the Acute Care Setting. **P & T : a peer-reviewed journal for formulary management**, v. 42, n. 3, p. 180–188, mar. 2017.

BRONDEEL, C. et al. Review: Mesenchymal Stem Cell Therapy in Canine Osteoarthritis Research: “Experientia Docet” (Experience Will Teach Us). **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 19 maio 2021.

BURSTEIN, S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 7, p. 1377–1385, abr. 2015.

BUTOWSKI, N. Novel and Prospective Molecular Targets for Therapy of Intracranial Gliomas. Em: [s.l.: s.n.]. p. 66–78.

CADAS, H.; DI TOMASO, E.; PIOMELLI, D. Occurrence and Biosynthesis of Endogenous Cannabinoid Precursor, *N*-Arachidonoyl Phosphatidylethanolamine, in Rat Brain. **The Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 4, p. 1226–1242, 15 fev. 1997.

CALPE-LÓPEZ, C.; GARCÍA-PARDO, M. P.; AGUILAR, M. A. Cannabidiol Treatment Might Promote Resilience to Cocaine and Methamphetamine Use Disorders: A Review of Possible Mechanisms. **Molecules**, v. 24, n. 14, p. 2583, 16 jul. 2019.

CAMPORA, L. et al. Cannabinoid receptor type 1 and 2 expression in the skin of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 7, p. 988–995, jul. 2012.

CAO, W. et al. Mesenchymal stem cells and adaptive immune responses. **Immunology Letters**, v. 168, n. 2, p. 147–153, dez. 2015.

CAPLAN, A. I. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. **Journal of Cellular Physiology**, v. 213, n. 2, p. 341–347, nov. 2007.

CAPLAN, A. I. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! **Stem Cells Translational Medicine**, v. 6, n. 6, p. 1445–1451, 1 jun. 2017.

CAPLAN, A. I.; DENNIS, J. E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 98, n. 5, p. 1076–1084, 1 ago. 2006.

CARNIEL, B. P.; DA ROCHA, N. S. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inflammatory markers: Perspectives for the management of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 108, p. 110151, jun. 2021.

CARRADE, D. D.; BORJESSON, D. L. Immunomodulation by mesenchymal stem cells in veterinary species. **Comparative medicine**, v. 63, n. 3, p. 207–17, jun. 2013.

CASEY, S.; VAUGHAN, C. Plant-Based Cannabinoids for the Treatment of Chronic Neuropathic Pain. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 67, 1 jul. 2018.

CASTONGUAY-PARADIS, S. et al. Dietary fatty acid intake and gut microbiota determine circulating endocannabinoidome signaling beyond the effect of body fat. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 15975, 29 set. 2020.

CAVUOTO, P. et al. The expression of receptors for endocannabinoids in human and rodent skeletal muscle. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 364, n. 1, p. 105–110, dez. 2007.

CERRI, S. et al. Neuroprotective Potential of Adenosine A_{2A} and Cannabinoid CB₁ Receptor Antagonists in an Animal Model of Parkinson Disease. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 73, n. 5, p. 414–424, 1 maio 2014.

CERVENKA, I.; AGUDELO, L. Z.; RUAS, J. L. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. **Science**, v. 357, n. 6349, 28 jul. 2017.

CHANG, R. C. et al. Cannabidiol promotes adipogenesis of human and mouse mesenchymal stem cells via PPAR γ by inducing lipogenesis but not lipolysis. **Biochemical Pharmacology**, v. 197, p. 114910, mar. 2022.

- CHEN, L. et al. Correction: Conditioned Medium from Hypoxic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Enhances Wound Healing in Mice. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0145565, 18 dez. 2015.
- CHEN, X. et al. Structural determinants in the second intracellular loop of the human cannabinoid CB1 receptor mediate selective coupling to Gs and Gi. **British Journal of Pharmacology**, v. 161, n. 8, p. 1817–1834, dez. 2010.
- CHENG, Z. et al. Targeted Migration of Mesenchymal Stem Cells Modified With CXCR4 Gene to Infarcted Myocardium Improves Cardiac Performance. **Molecular Therapy**, v. 16, n. 3, p. 571–579, mar. 2008.
- CHEVALEYRE, V.; TAKAHASHI, K. A.; CASTILLO, P. E. ENDOCANNABINOID-MEDIATED SYNAPTIC PLASTICITY IN THE CNS. **Annual Review of Neuroscience**, v. 29, n. 1, p. 37–76, 21 jul. 2006.
- CHICCA, A. et al. Uncovering the psychoactivity of a cannabinoid from liverworts associated with a legal high. **Science Advances**, v. 4, n. 10, 5 out. 2018.
- CHILDS, E.; LUTZ, J. A.; DE WIT, H. Dose-related effects of delta-9-THC on emotional responses to acute psychosocial stress. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 177, p. 136–144, ago. 2017.
- CHINNADURAI, R. et al. IDO-Independent Suppression of T Cell Effector Function by IFN- γ -Licensed Human Mesenchymal Stromal Cells. **The Journal of Immunology**, v. 192, n. 4, p. 1491–1501, 15 fev. 2014.
- CHIOCCETTI, R. et al. Cellular Distribution of Canonical and Putative Cannabinoid Receptors in Canine Cervical Dorsal Root Ganglia. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 19 set. 2019.
- CHIURCHIÙ, V.; LEUTI, A.; MACCARRONE, M. Bioactive Lipids and Chronic Inflammation: Managing the Fire Within. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 29 jan. 2018.
- CHON, S. Y.; HASSANAIN, H. H.; GUPTA, S. L. Cooperative Role of Interferon Regulatory Factor 1 and p91 (STAT1) Response Elements in Interferon- γ -inducible Expression of Human Indoleamine 2,3-Dioxygenase Gene. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 29, p. 17247–17252, jul. 1996.
- CITAL, S. et al. (EDS.). **Cannabis Therapy in Veterinary Medicine**. Cham: Springer International Publishing, 2021.
- CITTI, C. et al. Pitfalls in the analysis of phytocannabinoids in cannabis inflorescence. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 17, p. 4009–4022, 14 jul. 2020.
- COMPTON, A. C. et al. The immunomodulatory role of phytocannabinoids in an *in vitro* peri-implantitis model. **Journal of Dental Implant Research**, v. 41, n. 4, p. 102–112, 30 dez. 2022.
- CONDIE, R. et al. Cannabinoid Inhibition of Adenylate Cyclase-mediated Signal Transduction and Interleukin 2 (IL-2) Expression in the Murine T-cell Line, EL4.IL-2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 22, p. 13175–13183, maio 1996.
- CONTRERAS, R. A. et al. Mesenchymal Stem Cells Regulate the Innate and Adaptive Immune Responses Dampening Arthritis Progression. **Stem Cells International**, v. 2016, p. 1–10, 2016.
- CORTRIGHT, D.; SZALLASI, A. TRP Channels and Pain. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 15, p. 1736–1749, 1 maio 2009.

CRAVATT, B. F. et al. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. **Nature**, v. 384, n. 6604, p. 83–87, nov. 1996.

CROCQ, M.-A. History of cannabis and the endocannabinoid system^{[P]_{SEP}}. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 22, n. 3, p. 223–228, 30 set. 2020.

CROFT, A. S. et al. The Application of Mesenchymal Stromal Cells and Their Homing Capabilities to Regenerate the Intervertebral Disc. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3519, 29 mar. 2021.

CUI, Y. et al. Functional collagen conduits combined with human mesenchymal stem cells promote regeneration after sciatic nerve transection in dogs. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 12, n. 5, p. 1285–1296, maio 2018.

DA SILVA MEIRELLES, L. et al. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 20, n. 5–6, p. 419–427, out. 2009.

DAI, W.; GUPTA, S. L. Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase gene expression in human fibroblasts by interferon-gamma. Upstream control region discriminates between interferon-gamma and interferon-alpha. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 32, p. 19871–19877, nov. 1990.

DALEY, G. Q. et al. Setting Global Standards for Stem Cell Research and Clinical Translation: The 2016 ISSCR Guidelines. **Stem Cell Reports**, v. 6, n. 6, p. 787–797, jun. 2016.

D'ANIELLO, E. et al. Identification and characterization of phytocannabinoids as novel dual PPAR α / γ agonists by a computational and in vitro experimental approach. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1863, n. 3, p. 586–597, mar. 2019.

DAS, R. et al. The Role of Hypoxia in Bone Marrow–Derived Mesenchymal Stem Cells: Considerations for Regenerative Medicine Approaches. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 16, n. 2, p. 159–168, abr. 2010.

DAVIS, M. P. Cannabinoids in pain management: CB1, CB2 and non-classic receptor ligands. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 23, n. 8, p. 1123–1140, 16 ago. 2014.

DE WITTE, S. F. H. et al. Toward Development of iMesenchymal Stem Cells for Immunomodulatory Therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 6, 6 jan. 2016.

DEANS, R. J.; MOSELEY, A. B. Mesenchymal stem cells. **Experimental Hematology**, v. 28, n. 8, p. 875–884, ago. 2000.

DEIANA, S. et al. Plasma and brain pharmacokinetic profile of cannabidiol (CBD), cannabidivarin (CBDV), Δ^9 -tetrahydrocannabivarin (THCV) and cannabigerol (CBG) in rats and mice following oral and intraperitoneal administration and CBD action on obsessive–compulsive behaviour. **Psychopharmacology**, v. 219, n. 3, p. 859–873, 28 fev. 2012.

DEUTSCH, D. G. et al. The Cellular Uptake of Anandamide Is Coupled to Its Breakdown by Fatty-acid Amide Hydrolase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 10, p. 6967–6973, mar. 2001.

DEUTSCH, D. G. A Personal Retrospective: Elevating Anandamide (AEA) by Targeting Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) and the Fatty Acid Binding Proteins (FABPs). **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, 13 out. 2016.

- DEUTSCH, D. G.; CHIN, S. A. Enzymatic synthesis and degradation of anandamide, a cannabinoid receptor agonist. **Biochemical Pharmacology**, v. 46, n. 5, p. 791–796, set. 1993.
- DEVANE, W. A. et al. Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. **Science**, v. 258, n. 5090, p. 1946–1949, 18 dez. 1992.
- DEVANE, W. A.; AXELROD, J. Enzymatic synthesis of anandamide, an endogenous ligand for the cannabinoid receptor, by brain membranes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 14, p. 6698–6701, 5 jul. 1994.
- DI MARZO, V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 17, n. 9, p. 623–639, 17 set. 2018.
- DI MARZO, V.; SILVESTRI, C. Lifestyle and Metabolic Syndrome: Contribution of the Endocannabinoidome. **Nutrients**, v. 11, n. 8, p. 1956, 20 ago. 2019.
- DI TINCO, R. et al. Role of PD-L1 in licensing immunoregulatory function of dental pulp mesenchymal stem cells. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 12, n. 1, p. 598, 4 dez. 2021.
- DIMARINO, A. M.; CAPLAN, A. I.; BONFIELD, T. L. Mesenchymal Stem Cells in Tissue Repair. **Frontiers in Immunology**, v. 4, 2013.
- DING, D.-C.; SHYU, W.-C.; LIN, S.-Z. Mesenchymal Stem Cells. **Cell Transplantation**, v. 20, n. 1, p. 5–14, 1 fev. 2011.
- D'IPPOLITO, G. et al. Isolation and characterization of marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells. **Experimental Hematology**, v. 34, n. 11, p. 1608–1610, nov. 2006.
- DJEUNGOUE-PETGA, M.-A.; HEBERT-CHATELAIN, E. Linking Mitochondria and Synaptic Transmission: The CB1 Receptor. **BioEssays**, v. 39, n. 12, p. 1700126, dez. 2017.
- DOBACZEWSKI, M.; CHEN, W.; FRANGOIANNIS, N. G. Transforming growth factor (TGF)- β signaling in cardiac remodeling. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 51, n. 4, p. 600–606, out. 2011.
- DOMINICI, M. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 8, n. 4, p. 315–317, 2006.
- DUNN, C. M. et al. Interferon-Gamma Primed Human Clonal Mesenchymal Stromal Cell Sheets Exhibit Enhanced Immunosuppressive Function. **Cells**, v. 11, n. 23, p. 3738, 23 nov. 2022.
- DURANTI, A. et al. The Endocannabinoid System as a Target for Neuroprotection/Neuroregeneration in Perinatal Hypoxic–Ischemic Brain Injury. **Biomedicines**, v. 11, n. 1, p. 28, 22 dez. 2022.
- ECHEVERRY, C. et al. A Comparative In Vitro Study of the Neuroprotective Effect Induced by Cannabidiol, Cannabigerol, and Their Respective Acid Forms: Relevance of the 5-HT_{1A} Receptors. **Neurotoxicity Research**, v. 39, n. 2, p. 335–348, 4 abr. 2021.
- EGGENHOFER, E. et al. The Life and Fate of Mesenchymal Stem Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 5, 19 maio 2014.
- ELBATSH, M. M. et al. Anxiogenic-like effects of chronic cannabidiol administration in rats. **Psychopharmacology**, v. 221, n. 2, p. 239–247, 15 maio 2012.

- ELMES, M. W. et al. Fatty Acid-binding Proteins (FABPs) Are Intracellular Carriers for Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) and Cannabidiol (CBD). **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 14, p. 8711–8721, abr. 2015.
- ELSOHLY, M. A. et al. Phytochemistry of Cannabis sativa L. Em: [s.l: s.n.]. p. 1–36.
- EPPS, D. E. et al. N-acyl ethanolamine accumulation in infarcted myocardium. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 90, n. 2, p. 628–633, set. 1979.
- ESPAGNOLLE, N. et al. CD54-Mediated Interaction with Pro-inflammatory Macrophages Increases the Immunosuppressive Function of Human Mesenchymal Stromal Cells. **Stem Cell Reports**, v. 8, n. 4, p. 961–976, abr. 2017.
- ESPOSITO, G. et al. Cannabidiol Reduces A β -Induced Neuroinflammation and Promotes Hippocampal Neurogenesis through PPAR γ Involvement. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, p. e28668, 5 dez. 2011.
- ESPOSITO, L. G. A. et al. Immune Responses Are Differentially Regulated by Root, Stem, Leaf, and Flower Extracts of Female and Male CBD Hemp (Cannabis sativa L.) Plants. **Immuno**, v. 1, n. 4, p. 369–379, 22 out. 2021.
- FADDA, P. et al. Differential effects of THC- or CBD-rich cannabis extracts on working memory in rats. **Neuropharmacology**, v. 47, n. 8, p. 1170–1179, dez. 2004.
- FAN, M. et al. Current Perspectives on Role of MSC in Renal Pathophysiology. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 20 set. 2018.
- FEGLEY, D. et al. Anandamide transport is independent of fatty-acid amide hydrolase activity and is blocked by the hydrolysis-resistant inhibitor AM1172. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 23, p. 8756–8761, 8 jun. 2004.
- FELLOUS, T. et al. Phytocannabinoids promote viability and functional adipogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells through different molecular targets. **Biochemical Pharmacology**, v. 175, p. 113859, maio 2020.
- FIANI, B. et al. Current application of cannabidiol (CBD) in the management and treatment of neurological disorders. **Neurological Sciences**, v. 41, n. 11, p. 3085–3098, 16 nov. 2020.
- FILIPIUC, L. E. et al. Major Phytocannabinoids and Their Related Compounds: Should We Only Search for Drugs That Act on Cannabinoid Receptors? **Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, p. 1823, 1 nov. 2021.
- FORRESTER, J. S.; MAKKAR, R. R.; MARBÁN, E. Long-Term Outcome of Stem Cell Therapy for Acute Myocardial Infarction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 24, p. 2270–2272, jun. 2009.
- FOWLER, C. J. Transport of endocannabinoids across the plasma membrane and within the cell. **FEBS Journal**, v. 280, n. 9, p. 1895–1904, maio 2013.
- FRANCO, V.; PERUCCA, E. Pharmacological and Therapeutic Properties of Cannabidiol for Epilepsy. **Drugs**, v. 79, n. 13, p. 1435–1454, 1 set. 2019.
- FRANÇOIS, M. et al. Human MSC Suppression Correlates With Cytokine Induction of Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Bystander M2 Macrophage Differentiation. **Molecular Therapy**, v. 20, n. 1, p. 187–195, jan. 2012.

- FREUNDT-REVILLA, J. et al. Spatial distribution of cannabinoid receptor type 1 (CB1) in normal canine central and peripheral nervous system. **PLOS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0181064, 10 jul. 2017.
- FU, Y. et al. Trophic Effects of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 23, n. 6, p. 515–528, dez. 2017.
- GABRYŠOVÁ, L. et al. The Regulation of IL-10 Expression. *Em: [s.l: s.n.]*. p. 157–190.
- GALIAZZO, G. et al. Localization of cannabinoid receptors CB1, CB2, GPR55, and PPAR α in the canine gastrointestinal tract. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 150, n. 2, p. 187–205, 7 ago. 2018.
- GALIPEAU, J. et al. International Society for Cellular Therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials. **Cytotherapy**, v. 18, n. 2, p. 151–159, fev. 2016.
- GALVE-ROPERH, I. et al. Mechanisms of Control of Neuron Survival by the Endocannabinoid System. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, n. 23, p. 2279–2288, 1 ago. 2008.
- GAO, F. et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. **Cell Death & Disease**, v. 7, n. 1, p. e2062–e2062, 21 jan. 2016.
- GARCIA-ARENCIBIA, M.; GARCIA, C.; FERNANDEZ-RUIZ, J. Cannabinoids and Parkinsons Disease. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 8, n. 6, p. 432–439, 1 dez. 2009.
- GARCÍA-GUTIÉRREZ, M. S. et al. Cannabidiol: A Potential New Alternative for the Treatment of Anxiety, Depression, and Psychotic Disorders. **Biomolecules**, v. 10, n. 11, p. 1575, 19 nov. 2020.
- GARG, P. et al. Prospective Review of Mesenchymal Stem Cells Differentiation into Osteoblasts. **Orthopaedic Surgery**, v. 9, n. 1, p. 13–19, fev. 2017.
- GAUR, U.; AGGARWAL, B. B. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. **Biochemical Pharmacology**, v. 66, n. 8, p. 1403–1408, out. 2003.
- GHORBEL, M. T. et al. Reconstruction of the pulmonary artery by a novel biodegradable conduit engineered with perinatal stem cell-derived vascular smooth muscle cells enables physiological vascular growth in a large animal model of congenital heart disease. **Biomaterials**, v. 217, p. 119284, out. 2019.
- GIACOPPO, S. et al. Target regulation of PI3K/Akt/mTOR pathway by cannabidiol in treatment of experimental multiple sclerosis. **Fitoterapia**, v. 116, p. 77–84, jan. 2017.
- GLASS, M.; NORTHUP, J. K. Agonist Selective Regulation of G Proteins by Cannabinoid CB₁ and CB₂ Receptors. **Molecular Pharmacology**, v. 56, n. 6, p. 1362–1369, 1 dez. 1999.
- GONG, J.-P. et al. Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. **Brain Research**, v. 1071, n. 1, p. 10–23, fev. 2006.
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, M. L. et al. Study on viability and chondrogenic differentiation of cryopreserved adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells for future use in regenerative medicine. **Cryobiology**, v. 71, n. 2, p. 256–263, out. 2015.
- GORE, A. V. et al. Mesenchymal stem cells increase T-regulatory cells and improve healing following trauma and hemorrhagic shock. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. 79, n. 1, p. 48–52, jul. 2015.

GOULLÉ, J.-P.; SAUSSEREAU, E.; LACROIX, C. Pharmacocinétique du delta-9-tétrahydrocannabinol (THC). **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 66, n. 4, p. 232–244, ago. 2008.

GRAU-VORSTER, M. et al. HLA-DR expression in clinical-grade bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells: a two-site study. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 10, n. 1, p. 164, 13 dez. 2019.

GROUX, H. et al. Inhibitory and Stimulatory Effects of IL-10 on Human CD8+ T Cells. **The Journal of Immunology**, v. 160, n. 7, p. 3188–3193, 1 abr. 1998.

GU, Z. et al. Marijuana-Derived Cannabinoids Trigger a CB2/PI3K Axis of Suppression of the Innate Response to Oral Pathogens. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 15 out. 2019.

GUERROUAHEN, B. S. et al. Enhancing Mesenchymal Stromal Cell Immunomodulation for Treating Conditions Influenced by the Immune System. **Stem Cells International**, v. 2019, p. 1–11, 5 ago. 2019.

GÜLCK, T.; MØLLER, B. L. Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 10, p. 985–1004, out. 2020.

GUO, Y. et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cells for cardiovascular diseases. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 5, p. 349, 11 maio 2020.

GUO, Y. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase (Ido) inhibitors and their nanomedicines for cancer immunotherapy. **Biomaterials**, v. 276, p. 121018, set. 2021.

HACKE, A. C. M. et al. Probing the antioxidant activity of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in *Cannabis sativa* extracts. **The Analyst**, v. 144, n. 16, p. 4952–4961, 2019.

HAJOS, N. et al. Endocannabinoid transport tightly controls 2-arachidonoyl glycerol actions in the hippocampus: effects of low temperature and the transport inhibitor AM404. **European Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 11, p. 2991–2996, jun. 2004.

HAN, D. et al. Activation of cannabinoid receptor type II by AM1241 protects adipose-derived mesenchymal stem cells from oxidative damage and enhances their therapeutic efficacy in myocardial infarction mice *via* Stat3 activation. **Oncotarget**, v. 8, n. 39, p. 64853–64866, 12 set. 2017.

HAN, X. et al. Interleukin-17 enhances immunosuppression by mesenchymal stem cells. **Cell Death & Differentiation**, v. 21, n. 11, p. 1758–1768, 18 nov. 2014.

HANUŠ, L. O. et al. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 12, p. 1357–1392, 2016.

HÄRING, M. et al. Identification of the cannabinoid receptor type 1 in serotonergic cells of raphe nuclei in mice. **Neuroscience**, v. 146, n. 3, p. 1212–1219, maio 2007.

HARRELL, C. R.; DJONOV, V.; VOLAREVIC, V. The Cross-Talk between Mesenchymal Stem Cells and Immune Cells in Tissue Repair and Regeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, p. 2472, 1 mar. 2021.

HASAN, A. et al. Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Traumatic Brain Injury. **Frontiers in Neurology**, v. 8, 20 fev. 2017.

- HASSAN, S. et al. Cannabidiol enhances microglial phagocytosis via transient receptor potential (TRP) channel activation. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, n. 9, p. 2426–2439, maio 2014.
- HAZEKAMP, A.; FISCHEDICK, J. T. Cannabis - from cultivar to chemovar. **Drug Testing and Analysis**, v. 4, n. 7–8, p. 660–667, jul. 2012.
- HELLMANN, J. et al. Atf3 negatively regulates Ptg2/Cox2 expression during acute inflammation. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 116–117, p. 49–56, jan. 2015.
- HELLWIG, V. et al. Activities of Prenylphenol Derivatives from Fruitbodies of *Albatrellus* spp. on the Human and Rat Vanilloid Receptor 1 (VR1) and Characterisation of the Novel Natural Product, Confluentin. **Archiv der Pharmazie**, v. 336, n. 2, p. 119–126, abr. 2003.
- HEMATTI, P. Mesenchymal stromal cells and fibroblasts: a case of mistaken identity? **Cytotherapy**, v. 14, n. 5, p. 516–521, maio 2012.
- HERKENHAM, M. et al. Cannabinoid receptor localization in brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 5, p. 1932–1936, mar. 1990.
- HERKENHAM, M. et al. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. **The Journal of Neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 563–583, 1 fev. 1991.
- HESAMI, M. et al. Current status and future prospects in cannabinoid production through in vitro culture and synthetic biology. **Biotechnology Advances**, v. 62, p. 108074, jan. 2023.
- HILLARD, C. J. The Endocannabinoid Signaling System in the CNS. Em: [s.l: s.n.]. p. 1–47.
- HILLARD, C. J. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 155–172, 27 jan. 2018.
- HILLIG, K. W. Genetic evidence for speciation in *Cannabis* (Cannabaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 52, n. 2, p. 161–180, mar. 2005.
- HORWITZ, E. M. et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 7, n. 5, p. 393–395, 2005.
- HOSOGANE, N. et al. Stromal derived factor-1 regulates bone morphogenetic protein 2-induced osteogenic differentiation of primary mesenchymal stem cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42, n. 7, p. 1132–1141, jul. 2010a.
- HOSOGANE, N. et al. Stromal derived factor-1 regulates bone morphogenetic protein 2-induced osteogenic differentiation of primary mesenchymal stem cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42, n. 7, p. 1132–1141, jul. 2010b.
- HOWLETT, A. C.; ABOOD, M. E. CB 1 and CB 2 Receptor Pharmacology. Em: [s.l: s.n.]. p. 169–206.
- HUNG, K.-C. et al. Water-based polyurethane 3D printed scaffolds with controlled release function for customized cartilage tissue engineering. **Biomaterials**, v. 83, p. 156–168, mar. 2016.
- HUSSAIN, T. et al. Demystifying the liverwort *Radula marginata*, a critical review on its taxonomy, genetics, cannabinoid phytochemistry and pharmacology. **Phytochemistry Reviews**, v. 18, n. 3, p. 953–965, 10 jun. 2019.

- I. KHAN, M. et al. The Therapeutic Aspects of the Endocannabinoid System (ECS) for Cancer and their Development: From Nature to Laboratory. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 12, p. 1756–1766, 29 mar. 2016.
- IANNOTTI, F. A. et al. Nonpsychotropic Plant Cannabinoids, Cannabidiol (CBDV) and Cannabidiol (CBD), Activate and Desensitize Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1) Channels in Vitro: Potential for the Treatment of Neuronal Hyperexcitability. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 5, n. 11, p. 1131–1141, 19 nov. 2014.
- 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, jan. 2017.
- IDO, A. et al. Translational research on HGF: A phase I/II study of recombinant human HGF for the treatment of fulminant hepatic failure. **Hepatology Research**, v. 38, p. S88–S92, nov. 2008.
- IGNATOWSKA-JANKOWSKA, B. M. et al. A Cannabinoid CB₁ Receptor-Positive Allosteric Modulator Reduces Neuropathic Pain in the Mouse with No Psychoactive Effects. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 13, p. 2948–2959, 8 dez. 2015.
- IP, W. K. E. et al. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. **Science**, v. 356, n. 6337, p. 513–519, 5 maio 2017.
- IZADPANAH, R. et al. Characterization of Multipotent Mesenchymal Stem Cells from the Bone Marrow of Rhesus Macaques. **Stem Cells and Development**, v. 14, n. 4, p. 440–451, ago. 2005.
- JENNY, M. et al. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and cannabidiol modulate mitogen-induced tryptophan degradation and neopterin formation in peripheral blood mononuclear cells in vitro. **Journal of Neuroimmunology**, v. 207, n. 1–2, p. 75–82, fev. 2009.
- JIN, X.-H. et al. Discovery and Characterization of a Ca²⁺-independent Phosphatidylethanolamine N-Acyltransferase Generating the Anandamide Precursor and Its Congeners. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 6, p. 3614–3623, fev. 2007.
- JOCA, S. et al. Putative effects of cannabidiol in depression and synaptic plasticity. Em: **The Neuroscience of Depression**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 459–467.
- JONES, F. K. et al. Syndecan-3 regulates MSC adhesion, ERK and AKT signalling in vitro and its deletion enhances MSC efficacy in a model of inflammatory arthritis in vivo. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 20487, 24 nov. 2020.
- JONES, N. A. et al. Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. **Seizure**, v. 21, n. 5, p. 344–352, jun. 2012.
- JOSHI, N.; ONAIVI, E. S. Endocannabinoid System Components: Overview and Tissue Distribution. Em: [s.l.: s.n.]. p. 1–12.
- JULIEN, B. et al. Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB₂ in the liver. **Gastroenterology**, v. 128, n. 3, p. 742–755, mar. 2005.
- KACZOCHA, M.; HAJ-DAHMANE, S. Mechanisms of endocannabinoid transport in the brain. **British Journal of Pharmacology**, v. 179, n. 17, p. 4300–4310, 27 set. 2022.
- KADLE, R. L. et al. Microenvironmental cues enhance mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation and regulatory T-cell expansion. **PLOS ONE**, v. 13, n. 3, p. e0193178, 7 mar. 2018.

KALVALA, A. K. et al. Cannabidiol-Loaded Extracellular Vesicles from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Alleviate Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 554, 7 fev. 2023.

KAMALI, A. et al. Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. **Materials Science and Engineering: C**, v. 101, p. 64–75, ago. 2019.

KANG, H. et al. The Therapeutic Effects of Human Mesenchymal Stem Cells Primed with Sphingosine-1 Phosphate on Pulmonary Artery Hypertension. **Stem Cells and Development**, v. 24, n. 14, p. 1658–1671, 15 jul. 2015.

KANG, M.; LEE, J.; PARK, S. Cannabidiol induces osteoblast differentiation via angiopoietin1 and p38 MAPK. **Environmental Toxicology**, v. 35, n. 12, p. 1318–1325, 13 dez. 2020.

KAY, A. G. et al. Therapeutic Effects of Hypoxic and Pro-Inflammatory Priming of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in Inflammatory Arthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 126, 23 dez. 2021.

KE, J. et al. Prostaglandin E2 (PGE2) promotes proliferation and invasion by enhancing SUMO-1 activity via EP4 receptor in endometrial cancer. **Tumor Biology**, v. 37, n. 9, p. 12203–12211, 26 set. 2016.

KELLY, D. J.; JACOBS, C. R. The role of mechanical signals in regulating chondrogenesis and osteogenesis of mesenchymal stem cells. **Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews**, v. 90, n. 1, p. 75–85, mar. 2010.

KHAN, I.; MAHFOOZ, S.; HATIBOGLU, M. A. Herbal Medicine for Glioblastoma: Current and Future Prospects. **Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 8, p. 1022–1043, 23 nov. 2020.

KHAVANDI, M.; RAO, P. P. N.; BEAZELY, M. A. Differential Effects of Endocannabinoids on Amyloid-Beta Aggregation and Toxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, p. 911, 4 jan. 2023.

KHOURY, M.; COHEN, I.; BAR-SELA, G. “The Two Sides of the Same Coin”—Medical Cannabis, Cannabinoids and Immunity: Pros and Cons Explained. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 2, p. 389, 10 fev. 2022.

KIGERL, K. A. et al. Identification of Two Distinct Macrophage Subsets with Divergent Effects Causing either Neurotoxicity or Regeneration in the Injured Mouse Spinal Cord. **The Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 43, p. 13435–13444, 28 out. 2009.

KILARU, A.; CHAPMAN, K. D. The endocannabinoid system. **Essays in Biochemistry**, v. 64, n. 3, p. 485–499, 23 set. 2020.

KIM, D. S. et al. Enhanced Immunosuppressive Properties of Human Mesenchymal Stem Cells Primed by Interferon- γ . **EBioMedicine**, v. 28, p. 261–273, fev. 2018.

KIM, M. et al. Exosomes from IL-1 β -Primed Mesenchymal Stem Cells Inhibited IL-1 β - and TNF- α -Mediated Inflammatory Responses in Osteoarthritic SW982 Cells. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 18, n. 4, p. 525–536, 25 ago. 2021.

KIM, Y. et al. Transplantation of adipose derived mesenchymal stem cells for acute thoracolumbar disc disease with no deep pain perception in dogs. **Journal of Veterinary Science**, v. 17, n. 1, p. 123, 2016.

KIRILLY, E.; HUNYADY, L.; BAGDY, G. Opposing local effects of endocannabinoids on the activity of noradrenergic neurons and release of noradrenaline: relevance for their role in depression and in the actions of CB1 receptor antagonists. **Journal of Neural Transmission**, v. 120, n. 1, p. 177–186, 19 jan. 2013.

KLAHN, P. Cannabinoids-Promising Antimicrobial Drugs or Intoxicants with Benefits? **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 297, 2 jun. 2020.

KLEIN, T. W. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 5, p. 400–411, maio 2005.

KOENDERS, M. I.; VAN DEN BERG, W. B. Novel therapeutic targets in rheumatoid arthritis. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 4, p. 189–195, abr. 2015.

KOGAN, N. M.; MECOULAM, R. Cannabinoids in health and disease. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 9, n. 4, p. 413–430, 31 dez. 2007.

KONGKADEE, K. et al. Anti-inflammation and gingival wound healing activities of Cannabis sativa L. subsp. sativa (hemp) extract and cannabidiol: An in vitro study. **Archives of Oral Biology**, v. 140, p. 105464, ago. 2022.

KOPUSTINSKIENE, D. M. et al. Cannabis sativa L. Bioactive Compounds and Their Protective Role in Oxidative Stress and Inflammation. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, p. 660, 29 mar. 2022.

KORAM, K. The Legalization of Cannabis and the Question of Reparations. **Journal of International Economic Law**, v. 25, n. 2, p. 294–311, 9 ago. 2022.

KÖSE, S. et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells secrete endocannabinoids that stimulate in vitro hematopoietic stem cell migration effectively comparable to beta-adrenergic stimulation. **Experimental Hematology**, v. 57, p. 30–41.e1, jan. 2018.

KOWALCZUK, A. et al. Cannabidiol (CBD) Protects Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (ASCs) against Endoplasmic Reticulum Stress Development and Its Complications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 17, p. 10864, 31 ago. 2022.

KOWIAŃSKI, P. et al. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 38, n. 3, p. 579–593, 16 abr. 2018.

KOZAK, K.; PRUSAKIEWICZ, J.; MARNETT, L. Oxidative Metabolism of Endocannabinoids by COX-2. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 6, p. 659–667, 1 fev. 2004.

KOZAK, K. R. et al. 15-Lipoxygenase Metabolism of 2-Arachidonylglycerol. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 26, p. 23278–23286, jun. 2002.

KOZELA, E. et al. Cannabinoids Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol Differentially Inhibit the Lipopolysaccharide-activated NF- κ B and Interferon- β /STAT Proinflammatory Pathways in BV-2 Microglial Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 3, p. 1616–1626, jan. 2010.

KOZELA, E. et al. Cannabinoids Decrease the Th17 Inflammatory Autoimmune Phenotype. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 8, n. 5, p. 1265–1276, 28 dez. 2013.

KRAWCZENKO, A. et al. Microvesicles from Human Immortalized Cell Lines of Endothelial Progenitor Cells and Mesenchymal Stem/Stromal Cells of Adipose Tissue Origin as Carriers of Bioactive Factors Facilitating Angiogenesis. **Stem Cells International**, v. 2020, p. 1–17, 15 jun. 2020.

KRUEGER, T. E. G. et al. Concise Review: Mesenchymal Stem Cell-Based Drug Delivery: The Good, the Bad, the Ugly, and the Promise. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 7, n. 9, p. 651–663, 1 set. 2018.

KRUSZKA, K. K.; GROSS, R. W. The ATP- and CoA-independent synthesis of arachidonylethanolamide. A novel mechanism underlying the synthesis of the endogenous ligand of the cannabinoid receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 20, p. 14345–14348, maio 1994.

KUDDUS, M.; GINAWI, I.; ALHAZIMI, A. Cannabis sativa: An ancient wild edible plant of India. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 736, 2013.

KUWAHARA, Y. et al. Extracellular Vesicles Derived From Canine Mesenchymal Stromal Cells in Serum Free Culture Medium Have Anti-inflammatory Effect on Microglial Cells. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 28 abr. 2021.

KWAN CHEUNG, K. A. et al. The Interplay between the Endocannabinoid System, Epilepsy and Cannabinoids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 6079, 2 dez. 2019.

LAHA, D. et al. The Role of Tumor Necrosis Factor in Manipulating the Immunological Response of Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 27 abr. 2021.

LANKFORD, L. Early gestation chorionic villi-derived stromal cells for fetal tissue engineering. **World Journal of Stem Cells**, v. 7, n. 1, p. 195, 2015.

LARONI, A.; ROSBO, N. K. DE; UCCELLI, A. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurological diseases: Immunoregulation beyond neuroprotection. **Immunology Letters**, v. 168, n. 2, p. 183–190, dez. 2015.

LE BLANC, K.; DAVIES, L. C. Mesenchymal stromal cells and the innate immune response. **Immunology Letters**, v. 168, n. 2, p. 140–146, dez. 2015.

LEE, H.-J.; JUNG, H.; KIM, D.-K. IDO and CD40 May Be Key Molecules for Immunomodulatory Capacity of the Primed Tonsil-Derived Mesenchymal Stem Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5772, 28 maio 2021.

LEE, J.-H. et al. Effects of VEGF and FGF-2 on proliferation and differentiation of human periodontal ligament stem cells. **Cell and Tissue Research**, v. 348, n. 3, p. 475–484, 23 jun. 2012.

LEONG, N. L. et al. Tendon and Ligament Healing and Current Approaches to Tendon and Ligament Regeneration. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 38, n. 1, p. 7–12, 30 jan. 2020.

LI, D. et al. Low levels of TGF- β 1 enhance human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell fibronectin production and extend survival time in a rat model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury. **Molecular Medicine Reports**, v. 14, n. 2, p. 1681–1692, ago. 2016.

LI, D. et al. Analysis of Anti-Cancer and Anti-Inflammatory Properties of 25 High-THC Cannabis Extracts. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 6057, 16 set. 2022a.

LI, L. et al. Cannabidiol Promotes Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in the Inflammatory Microenvironment via the CB2-dependent p38 MAPK Signaling Pathway. **International Journal of Stem Cells**, v. 15, n. 4, p. 405–414, 30 nov. 2022b.

LI, W. et al. The role of TNF- α in the fate regulation and functional reprogramming of mesenchymal stem cells in an inflammatory microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 6 fev. 2023.

LIBRO, R. et al. Cannabidiol Modulates the Immunophenotype and Inhibits the Activation of the Inflammasome in Human Gingival Mesenchymal Stem Cells. **Frontiers in Physiology**, v. 7, 24 nov. 2016a.

LIBRO, R. et al. Cannabidiol Modulates the Expression of Alzheimer's Disease-Related Genes in Mesenchymal Stem Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 26, 23 dez. 2016b.

LIEN, C.-Y. et al. Restoration of Bone Mass and Strength in Glucocorticoid-Treated Mice by Systemic Transplantation of CXCR4 and Cbfa-1 Co-Expressing Mesenchymal Stem Cells. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 24, n. 5, p. 837–848, maio 2009.

LIM, J. et al. Valproic acid enforces the priming effect of sphingosine-1 phosphate on human mesenchymal stem cells. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 40, n. 3, p. 739–747, set. 2017.

LIN, L. et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) regulates hypercapnia/ischemia-induced increases in n-acylethanolamines in mouse brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 142, n. 5, p. 662–671, set. 2017a.

LIN, L.-F. H. et al. GDNF: a Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor for Midbrain Dopaminergic Neurons. **Science**, v. 260, n. 5111, p. 1130–1132, 21 maio 1993.

LIN, T. et al. Preconditioning of murine mesenchymal stem cells synergistically enhanced immunomodulation and osteogenesis. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 8, n. 1, p. 277, 6 dez. 2017b.

LIPSKY, R. H.; MARINI, A. M. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Neuronal Survival and Behavior-Related Plasticity. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1122, n. 1, p. 130–143, dez. 2007.

LIU, J. et al. A biosynthetic pathway for anandamide. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 36, p. 13345–13350, 5 set. 2006.

LIU, J.; LIU, Q.; CHEN, X. The Immunomodulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells on Regulatory B Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 14 ago. 2020.

LIU, W. et al. Exosome-shuttled miR-216a-5p from hypoxic preconditioned mesenchymal stem cells repair traumatic spinal cord injury by shifting microglial M1/M2 polarization. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 47, 4 dez. 2020.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, dez. 2001.

LOMBARD, C.; NAGARKATTI, M.; NAGARKATTI, P. CB2 cannabinoid receptor agonist, JWH-015, triggers apoptosis in immune cells: Potential role for CB2-selective ligands as immunosuppressive agents. **Clinical Immunology**, v. 122, n. 3, p. 259–270, mar. 2007.

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

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

LUKOMSKA, B. et al. Challenges and Controversies in Human Mesenchymal Stem Cell Therapy. **Stem Cells International**, v. 2019, p. 1–10, 9 abr. 2019.

LUO, Y. et al. Co-culture with TM4 cells enhances the proliferation and migration of rat adipose-derived mesenchymal stem cells with high stemness. **Cytotechnology**, v. 70, n. 5, p. 1409–1422, 21 out. 2018.

LUTZ, B. On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. **Biochemical Pharmacology**, v. 68, n. 9, p. 1691–1698, nov. 2004.

LUZ-CRAWFORD, P. et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Interleukin 1 Receptor Antagonist Promotes Macrophage Polarization and Inhibits B Cell Differentiation. **Stem Cells**, v. 34, n. 2, p. 483–492, 1 fev. 2016.

MA, H. et al. A Network Pharmacology Approach to Identify Potential Molecular Targets for Cannabidiol's Anti-Inflammatory Activity. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 6, n. 4, p. 288–299, 1 ago. 2021.

MACCARRONE, M. et al. The Endocannabinoid System and Its Relevance for Nutrition. **Annual Review of Nutrition**, v. 30, n. 1, p. 423–440, 1 jul. 2010.

MACCARRONE, M.; DAINESE, E.; ODDI, S. Intracellular trafficking of anandamide: new concepts for signaling. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 35, n. 11, p. 601–608, nov. 2010.

MAEDA, A. Recruitment of Mesenchymal Stem Cells to Damaged Sites by Plant-Derived Components. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 9 jun. 2020.

MAGGINI, J. et al. Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Turn Activated Macrophages into a Regulatory-Like Profile. **PLoS ONE**, v. 5, n. 2, p. e9252, 16 fev. 2010.

MÁNDI, Y.; VÉCSEI, L. The kynurenine system and immunoregulation. **Journal of Neural Transmission**, v. 119, n. 2, p. 197–209, 9 fev. 2012.

MANGAL, N. et al. Cannabinoids in the landscape of cancer. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 147, n. 9, p. 2507–2534, 14 set. 2021.

MANGIERI, C. W. et al. Perioperative hepatocyte growth factor (HGF) infusions improve hepatic regeneration following portal branch ligation (PBL) in rodents. **Surgical Endoscopy**, v. 31, n. 7, p. 2789–2797, 17 jul. 2017.

MARKOV, A. et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a valuable source for the treatment of immune-mediated disorders. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 12, n. 1, p. 192, 18 mar. 2021.

- MARTIN, I. et al. Challenges for mesenchymal stromal cell therapies. **Science Translational Medicine**, v. 11, n. 480, 20 fev. 2019.
- MARTINELLO, T. et al. Canine adipose-derived-mesenchymal stem cells do not lose stem features after a long-term cryopreservation. **Research in Veterinary Science**, v. 91, n. 1, p. 18–24, ago. 2011.
- MARX, C. et al. Acupoint Injection of Autologous Stromal Vascular Fraction and Allogeneic Adipose-Derived Stem Cells to Treat Hip Dysplasia in Dogs. **Stem Cells International**, v. 2014, p. 1–6, 2014.
- MATHEW, S. A.; CHANDRAVANSI, B.; BHONDE, R. Hypoxia primed placental mesenchymal stem cells for wound healing. **Life Sciences**, v. 182, p. 85–92, ago. 2017.
- MATSUDA, L. A.; BONNER, T. I.; LOLAIT, S. J. Localization of cannabinoid receptor mRNA in rat brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 327, n. 4, p. 535–550, 22 jan. 1993.
- MAUMUS, M. et al. Utility of a Mouse Model of Osteoarthritis to Demonstrate Cartilage Protection by IFN γ -Primed Equine Mesenchymal Stem Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 7, 27 set. 2016.
- MAURYA, N.; VELMURUGAN, B. K. Therapeutic applications of cannabinoids. **Chemico-Biological Interactions**, v. 293, p. 77–88, set. 2018.
- MCDONALD, J. et al. Effects of THC on Behavioral Measures of Impulsivity in Humans. **Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 7, p. 1356–1365, 3 jul. 2003.
- MEAD, B. et al. TNF α -Mediated Priming of Mesenchymal Stem Cells Enhances Their Neuroprotective Effect on Retinal Ganglion Cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 61, n. 2, p. 6, 7 fev. 2020.
- MECCARIELLO, R. Endocannabinoid System in Health and Disease: Current Situation and Future Perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3549, 18 maio 2020.
- MECHOULAM, R. et al. Enantiomeric cannabinoids: stereospecificity of psychotropic activity. **Experientia**, v. 44, n. 9, p. 762–764, set. 1988.
- MEERAN, M. F. et al. CB₂ receptor-selective agonists as candidates for targeting infection, inflammation, and immunity in SARS-CoV-2 infections. **Drug Development Research**, v. 82, n. 1, p. 7–11, 15 fev. 2021.
- MEISEL, R. et al. Human but not murine multipotent mesenchymal stromal cells exhibit broad-spectrum antimicrobial effector function mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. **Leukemia**, v. 25, n. 4, p. 648–654, 18 abr. 2011.
- MELAS, P. A. et al. Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety and Mood Disorders: Molecular Targets and Epigenetic Insights from Preclinical Research. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1863, 13 fev. 2021.
- MELLOR, A. L.; LEMOS, H.; HUANG, L. Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Tolerance: Where Are We Now? **Frontiers in Immunology**, v. 8, 27 out. 2017.
- MILLER, H. et al. Role of marijuana components on the regenerative ability of stem cells. **Cell Biochemistry and Function**, v. 39, n. 3, p. 432–441, 21 abr. 2021.

- MOLDRICH, G.; WENGER, T. Localization of the CB1 cannabinoid receptor in the rat brain. An immunohistochemical study☆. **Peptides**, v. 21, n. 11, p. 1735–1742, nov. 2000.
- MOORE, S. A. et al. Identification of a high-affinity binding site involved in the transport of endocannabinoids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 49, p. 17852–17857, 6 dez. 2005.
- MORELLI, M. B. et al. The transient receptor potential vanilloid-2 cation channel impairs glioblastoma stem-like cell proliferation and promotes differentiation. **International Journal of Cancer**, v. 131, n. 7, p. E1067–E1077, 1 out. 2012.
- MORELLI, M. B. et al. The effects of cannabidiol and its synergism with bortezomib in multiple myeloma cell lines. A role for transient receptor potential vanilloid type-2. **International Journal of Cancer**, v. 134, n. 11, p. 2534–2546, 1 jun. 2014.
- MORENA, M. et al. Neurobiological Interactions Between Stress and the Endocannabinoid System. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 1, p. 80–102, 12 jan. 2016.
- MORI, M. A. et al. Cannabidiol reduces neuroinflammation and promotes neuroplasticity and functional recovery after brain ischemia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 75, p. 94–105, abr. 2017.
- MORRIS, G. et al. The endocannabinoidome in neuropsychiatry: Opportunities and potential risks. **Pharmacological Research**, v. 170, p. 105729, ago. 2021.
- MOSHAVERINIA, A. et al. Bone Regeneration Potential of Stem Cells Derived from Periodontal Ligament or Gingival Tissue Sources Encapsulated in RGD-Modified Alginate Scaffold. **Tissue Engineering Part A**, p. 131106060201007, 6 nov. 2013.
- MOSSER, D. M.; EDWARDS, J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 12, p. 958–969, dez. 2008.
- MUCCIOLI, G. G. Endocannabinoid biosynthesis and inactivation, from simple to complex. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 11–12, p. 474–483, jun. 2010.
- MÜLLER-VAHL, K. R. et al. Cerebrospinal fluid endocannabinoid levels in Gilles de la Tourette syndrome. **Neuropsychopharmacology**, v. 45, n. 8, p. 1323–1329, 9 jul. 2020.
- MURRAY, I. R. et al. Natural history of mesenchymal stem cells, from vessel walls to culture vessels. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 8, p. 1353–1374, 25 abr. 2014.
- MUSHAHARY, D. et al. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. **Cytometry Part A**, v. 93, n. 1, p. 19–31, jan. 2018.
- MÚZES, G.; SIPOS, F. Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome: A Potential Therapeutic Option for Autoimmune and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. **Cells**, v. 11, n. 15, p. 2300, 26 jul. 2022.
- NABISSI, M. et al. Cannabidiol stimulates Aml-1a-dependent glial differentiation and inhibits glioma stem-like cells proliferation by inducing autophagy in a TRPV2-dependent manner. **International Journal of Cancer**, v. 137, n. 8, p. 1855–1869, 15 out. 2015.
- NAIM-FEIL, E. et al. The Cannabis Plant as a Complex System: Interrelationships between Cannabinoid Compositions, Morphological, Physiological and Phenological Traits. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 493, 21 jan. 2023.

NAJAR, M. et al. Immune-Related Antigens, Surface Molecules and Regulatory Factors in Human-Derived Mesenchymal Stromal Cells: The Expression and Impact of Inflammatory Priming. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 8, n. 4, p. 1188–1198, 15 dez. 2012.

NAJAR, M. et al. Mesenchymal stromal cells and immunomodulation: A gathering of regulatory immune cells. **Cytotherapy**, v. 18, n. 2, p. 160–171, fev. 2016.

NAJAR, M. et al. Insights into inflammatory priming of mesenchymal stromal cells: functional biological impacts. **Inflammation Research**, v. 67, n. 6, p. 467–477, 23 jun. 2018.

NAMDAR, D. et al. Terpenoids and Phytocannabinoids Co-Produced in Cannabis Sativa Strains Show Specific Interaction for Cell Cytotoxic Activity. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 3031, 21 ago. 2019.

NAVARRETE, F. et al. Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry. **Frontiers in Psychiatry**, v. 11, 27 abr. 2020.

NICOLUSSI, S.; GERTSCH, J. Endocannabinoid Transport Revisited. Em: [s.l: s.n.]. p. 441–485.

NIE, Y. et al. Defective phenotype of mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 19, n. 7, p. 850–859, 1 jun. 2010.

NIZZOLI, G. et al. IL-10 promotes homeostatic proliferation of human CD8⁺ memory T cells and, when produced by CD1c⁺ DCs, shapes naïve CD8⁺ T-cell priming. **European Journal of Immunology**, v. 46, n. 7, p. 1622–1632, jul. 2016.

NOMURA, D. K. et al. Endocannabinoid Hydrolysis Generates Brain Prostaglandins That Promote Neuroinflammation. **Science**, v. 334, n. 6057, p. 809–813, 11 nov. 2011.

NORONHA, N. DE C. et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 10, n. 1, p. 131, 2 dez. 2019.

NOWAK-STĘPNIEWSKA, A. et al. Insight in Hypoxia-Mimetic Agents as Potential Tools for Mesenchymal Stem Cell Priming in Regenerative Medicine. **Stem Cells International**, v. 2022, p. 1–24, 26 mar. 2022.

NYILAS, R. et al. Enzymatic Machinery for Endocannabinoid Biosynthesis Associated with Calcium Stores in Glutamatergic Axon Terminals. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 5, p. 1058–1063, 30 jan. 2008.

NYÍRI, G. et al. GABA_B and CB₁ cannabinoid receptor expression identifies two types of septal cholinergic neurons. **European Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 11, p. 3034–3042, jun. 2005.

ODDI, S. et al. Pitfalls and solutions in assaying anandamide transport in cells. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n. 8, p. 2435–2444, ago. 2010.

ODDI, S.; SCIPIONI, L.; MACCARRONE, M. Endocannabinoid system and adult neurogenesis: a focused review. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 50, p. 25–32, fev. 2020.

OKAMOTO, Y. et al. Molecular Characterization of a Phospholipase D Generating Anandamide and Its Congeners. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 7, p. 5298–5305, fev. 2004.

OKAMOTO, Y.; TSUBOI, K.; UEDA, N. Chapter 1 Enzymatic Formation of Anandamide. Em: [s.l: s.n.]. p. 1–24.

OKINE, B. N.; GASPAR, J. C.; FINN, D. P. PPARs and pain. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 10, p. 1421–1442, maio 2019.

O'SULLIVAN, S. E. Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 5, p. 576–582, nov. 2007.

PACHER, P.; BÁTKEI, S.; KUNOS, G. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. **Pharmacological Reviews**, v. 58, n. 3, p. 389–462, set. 2006.

PACHER, P.; STEFFENS, S. The emerging role of the endocannabinoid system in cardiovascular disease. **Seminars in Immunopathology**, v. 31, n. 1, p. 63–77, 9 jun. 2009.

PACINI, S. Deterministic and stochastic approaches in the clinical application of mesenchymal stromal cells (MSCs). **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 2, 12 set. 2014.

PAGANO, C.; ROSSATO, M.; VETTOR, R. Endocannabinoids, Adipose Tissue and Lipid Metabolism. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. s1, p. 124–129, maio 2008.

PAGANO, S. et al. Biological effects of Cannabidiol on normal human healthy cell populations: Systematic review of the literature. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 132, p. 110728, dez. 2020.

PAN, H. et al. Cannabidiol Attenuates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Decreasing Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammation, and Cell Death. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 328, n. 3, p. 708–714, mar. 2009.

PARK, B.-W. et al. In vivo priming of human mesenchymal stem cells with hepatocyte growth factor–engineered mesenchymal stem cells promotes therapeutic potential for cardiac repair. **Science Advances**, v. 6, n. 13, 27 mar. 2020a.

PARK, H.-S. et al. Anti-microbial and anti-inflammatory effects of Cheonwangbosim-dan against *Helicobacter pylori*-induced gastritis. **Journal of Veterinary Science**, v. 21, 2020b.

PARK, S. E. et al. Exposure of Mesenchymal Stem Cells to an Alzheimer's Disease Environment Enhances Therapeutic Effects. **Stem Cells International**, v. 2021, p. 1–14, 16 mar. 2021.

PARK, Y.; WATKINS, B. A. Endocannabinoids and aging—Inflammation, neuroplasticity, mood and pain. *Em*: [s.l.: s.n.]. p. 129–172.

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

PEREZ, E. et al. In Vitro and Clinical Evaluation of Cannabigerol (CBG) Produced via Yeast Biosynthesis: A Cannabinoid with a Broad Range of Anti-Inflammatory and Skin Health-Boosting Properties. **Molecules**, v. 27, n. 2, p. 491, 13 jan. 2022.

PERTWEE, R. G. Cannabinoid receptors and pain. **Progress in Neurobiology**, v. 63, n. 5, p. 569–611, abr. 2001.

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, 15 dez. 2010.

PETRESCU, N. B. et al. Cannabidiol and Vitamin D3 Impact on Osteogenic Differentiation of Human Dental Mesenchymal Stem Cells. **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 607, 12 nov. 2020.

PETROCELLIS, L. DE; CASCIO, M. G.; MARZO, V. DI. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. **British Journal of Pharmacology**, v. 141, n. 5, p. 765–774, mar. 2004.

PEYRAVIAN, N. et al. The Anti-Inflammatory Effects of Cannabidiol (CBD) on Acne. **Journal of Inflammation Research**, v. Volume 15, p. 2795–2801, maio 2022.

PIOMELLI, D. More surprises lying ahead. The endocannabinoids keep us guessing. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 228–234, jan. 2014.

PISANTI, S.; BIFULCO, M. Medical *Cannabis* : A plurimillennial history of an evergreen. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 6, p. 8342–8351, 11 jun. 2019.

PITTENGER, M. F. et al. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. **Science**, v. 284, n. 5411, p. 143–147, 2 abr. 1999.

POOMANI, M. S. et al. Mesenchymal Stem Cell (MSCs) Therapy for Ischemic Heart Disease: A Promising Frontier. **Global Heart**, v. 17, n. 1, 3 mar. 2022.

PORTER, A. C. et al. Characterization of a Novel Endocannabinoid, Virodhamine, with Antagonist Activity at the CB1 Receptor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 301, n. 3, p. 1020–1024, 1 jun. 2002.

POTSCHKA, H. et al. Cannabidiol in canine epilepsy. **The Veterinary Journal**, v. 290, p. 105913, dez. 2022.

PRASANNA, S. J. et al. Pro-Inflammatory Cytokines, IFN γ and TNF α , Influence Immune Properties of Human Bone Marrow and Wharton Jelly Mesenchymal Stem Cells Differentially. **PLoS ONE**, v. 5, n. 2, p. e9016, 2 fev. 2010.

PREMKUMAR, L.; SIKAND, P. TRPV1: A Target for Next Generation Analgesics. **Current Neuropharmacology**, v. 6, n. 2, p. 151–163, 1 jun. 2008.

PREMOLI, M. et al. Cannabidiol: Recent advances and new insights for neuropsychiatric disorders treatment. **Life Sciences**, v. 224, p. 120–127, maio 2019.

PROCACCIA, S. et al. Cannabis for Medical Use: Versatile Plant Rather Than a Single Drug. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 25 abr. 2022.

PROCKOP, D. J.; YOUNG, J. Mesenchymal Stem/Stromal Cells (MSCs): Role as Guardians of Inflammation. **Molecular Therapy**, v. 20, n. 1, p. 14–20, jan. 2012.

PRYCE, G.; BAKER, D. Control of Spasticity in a Multiple Sclerosis Model is mediated by CB₁, not CB₂, Cannabinoid Receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, n. 4, p. 519–525, fev. 2007.

QI, X. et al. Investigation of in vitro odonto/osteogenic capacity of cannabidiol on human dental pulp cell. **Journal of Dentistry**, v. 109, p. 103673, jun. 2021.

QIN, Y.; ZHANG, C. Endothelial progenitor cell-derived extracellular vesicle-mediated cell-to-cell communication regulates the proliferation and osteoblastic differentiation of bone mesenchymal stromal cells. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 5, p. 7018–7024, maio 2017.

QUAGHEBEUR, K. et al. Cannabiorcin- and 8-chlorocannabiorcinic acid as fungal antagonists from *Cylindrocarpum olidum*. **Phytochemistry**, v. 37, n. 1, p. 159–161, jan. 1994.

- RADMANESH, F. et al. The immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cell-based therapy in human and animal models of systemic lupus erythematosus. **IUBMB Life**, v. 72, n. 11, p. 2366–2381, 2 nov. 2020.
- RADWAN, M. M. et al. Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2774, 8 maio 2021.
- RAHMAN, I. A. S. et al. New players in the fatty acyl ethanolamide metabolism. **Pharmacological Research**, v. 86, p. 1–10, ago. 2014.
- RAHN, E. J.; HOHMANN, A. G. Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: From the bench to the bedside. **Neurotherapeutics**, v. 6, n. 4, p. 713–737, out. 2009.
- RAMAN, P. et al. 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂-Glycerol Ester, a Putative Metabolite of 2-Arachidonyl Glycerol, Activates Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ . **Molecular Pharmacology**, v. 80, n. 1, p. 201–209, jul. 2011.
- RAMER, R.; SCHWARZ, R.; HINZ, B. Modulation of the Endocannabinoid System as a Potential Anticancer Strategy. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 9 maio 2019.
- RAUSCH, S. M. et al. SNPs in PTGS2 and LTA predict pain and quality of life in long term lung cancer survivors. **Lung Cancer**, v. 77, n. 1, p. 217–223, jul. 2012.
- RAVINET TRILLOU, C. et al. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. **International Journal of Obesity**, v. 28, n. 4, p. 640–648, 10 abr. 2004.
- REDDY, D. S.; GOLUB, V. M. The Pharmacological Basis of Cannabis Therapy for Epilepsy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 357, n. 1, p. 45–55, 1 mar. 2016.
- REDDY, P. V. et al. N-acylation of dog heart ethanolamine phospholipids by transacylase activity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism**, v. 750, n. 3, p. 472–480, mar. 1983.
- REGMI, S. et al. Mesenchymal stromal cells for the treatment of Alzheimer's disease: Strategies and limitations. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 15, 6 out. 2022.
- REINDERS, M. E. J. et al. Proinflammatory functions of vascular endothelial growth factor in alloimmunity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 11, p. 1655–1665, 1 dez. 2003.
- REISENBERG, M. et al. The diacylglycerol lipases: structure, regulation and roles in and beyond endocannabinoid signalling. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1607, p. 3264–3275, 5 dez. 2012.
- REN, J. et al. Mesenchymal Stem Cells and their Exosomes: Promising Therapeutics for Chronic Pain. **Current Stem Cell Research & Therapy**, v. 14, n. 8, p. 644–653, 27 nov. 2019.
- RENNICK, D. M.; FORT, M. M.; DAVIDSON, N. J. Studies with IL-10-/- mice: an overview. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 61, n. 4, p. 389–396, 1 abr. 1997.
- RIGGS, P. K. et al. A pilot study of the effects of cannabis on appetite hormones in HIV-infected adult men. **Brain Research**, v. 1431, p. 46–52, jan. 2012.
- RINALDI, V. et al. Expression of cannabinoid receptors CB1 and CB2 in canine cutaneous mast cell tumours. **Research in Veterinary Science**, v. 152, p. 530–536, dez. 2022.

RIVERA, P. et al. Obesity-dependent cannabinoid modulation of proliferation in adult neurogenic regions. **European Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 9, p. 1577–1586, maio 2011.

ROCKWELL, C. E.; KAMINSKI, N. E. A Cyclooxygenase Metabolite of Anandamide Causes Inhibition of Interleukin-2 Secretion in Murine Splenocytes. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 311, n. 2, p. 683–690, nov. 2004.

RODRIGUES DA SILVA, N. et al. Cannabidiol attenuates behavioral changes in a rodent model of schizophrenia through 5-HT_{1A}, but not CB₁ and CB₂ receptors. **Pharmacological Research**, v. 156, p. 104749, jun. 2020.

RODRÍGUEZ DE FONSECA, F. et al. THE ENDOCANNABINOID SYSTEM: PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY. **Alcohol and Alcoholism**, v. 40, n. 1, p. 2–14, 1 jan. 2005.

RODRÍGUEZ MESA, X. M. et al. Therapeutic Prospects of Cannabinoids in the Immunomodulation of Prevalent Autoimmune Diseases. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 6, n. 3, p. 196–210, 1 jun. 2021.

RODRÍGUEZ SÁNCHEZ, D. N. et al. Canine Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells Enhance Neuroregeneration in a Rat Model of Sciatic Nerve Crush Injury. **Cell Transplantation**, v. 28, n. 1, p. 47–54, 28 jan. 2019.

ROSSI, F. et al. The Cannabinoid Receptor Type 2 as Mediator of Mesenchymal Stromal Cell Immunosuppressive Properties. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e80022, 27 nov. 2013.

RUAN, X. et al. Exosomes from Suxiao Jiuxin pill-treated cardiac mesenchymal stem cells decrease H3K27 demethylase UTX expression in mouse cardiomyocytes in vitro. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 39, n. 4, p. 579–586, 15 abr. 2018.

RUBINO, T. et al. Cellular Mechanisms Underlying the Anxiolytic Effect of Low Doses of Peripheral Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in Rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 9, p. 2036–2045, 7 set. 2007.

RUBINO, T. et al. CB₁ receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behaviour. **Neuropharmacology**, v. 54, n. 1, p. 151–160, jan. 2008.

RUHL, T. et al. The endocannabinoid receptors CB₁ and CB₂ affect the regenerative potential of adipose tissue MSCs. **Experimental Cell Research**, v. 389, n. 1, p. 111881, abr. 2020.

RUHL, T. et al. Genetic deletion of the cannabinoid receptors CB₁ and CB₂ enhances inflammation with diverging effects on skin wound healing in mice. **Life Sciences**, v. 285, p. 120018, nov. 2021.

RUHL, T.; KIM, B.-S.; BEIER, J. P. Cannabidiol restores differentiation capacity of LPS exposed adipose tissue mesenchymal stromal cells. **Experimental Cell Research**, v. 370, n. 2, p. 653–662, set. 2018.

RURALI, E. et al. New Strategies to Enhance Myocardial Regeneration: Expectations and Challenges from Preclinical Evidence. **Current Stem Cell Research & Therapy**, v. 15, n. 8, p. 696–710, 10 nov. 2020.

RUSSO, E. B. et al. Agonistic Properties of Cannabidiol at 5-HT_{1a} Receptors. **Neurochemical Research**, v. 30, n. 8, p. 1037–1043, ago. 2005.

- RYAN, D. et al. Cannabidiol Targets Mitochondria to Regulate Intracellular Ca^{2+} Levels. **The Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 7, p. 2053–2063, 18 fev. 2009.
- RYSKAMP, D. et al. TRPV1 and Endocannabinoids: Emerging Molecular Signals that Modulate Mammalian Vision. **Cells**, v. 3, n. 3, p. 914–938, 12 set. 2014.
- SAATCIOGLU, E. et al. Design and fabrication of electrospun polycaprolactone/chitosan scaffolds for ligament regeneration. **European Polymer Journal**, v. 148, p. 110357, abr. 2021.
- SADATPOOR, S. OMID et al. Manipulated Mesenchymal Stem Cells Applications in Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Stem Cells**, v. 13, n. 1, p. 24–45, 30 mar. 2020.
- SÁNCHEZ, G. B.; AMORIM, R. M. **TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ALOGÊNICAS EM CÃES COM MENINGOENCEFALOMIELE DE ORIGEM DESCONHECIDA**. Clínica veterinária—Botucatu: Universidade Estadual Paulista (Unesp), 5 fev. 2021.
- SANTONI, G. et al. Transient Receptor Potential Cation Channels in Cancer Therapy. **Medical Sciences**, v. 7, n. 12, p. 108, 30 nov. 2019.
- SASAKI, A. et al. Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration in dogs. **World Journal of Stem Cells**, v. 11, n. 5, p. 254–269, 26 maio 2019.
- SCHEPER, V. et al. BDNF-overexpressing human mesenchymal stem cells mediate increased neuronal protection *in vitro*. **Journal of Neuroscience Research**, v. 97, n. 11, p. 1414–1429, 30 nov. 2019.
- SCHMID, H. H. O.; SCHMID, P. C.; NATARAJAN, V. N-Acylated glycerophospholipids and their derivatives. **Progress in Lipid Research**, v. 29, n. 1, p. 1–43, jan. 1990.
- SCHMUHL, E. et al. Increase of mesenchymal stem cell migration by cannabidiol via activation of p42/44 MAPK. **Biochemical Pharmacology**, v. 87, n. 3, p. 489–501, fev. 2014.
- SCHOUTEN, M.; DALLE, S.; KOPPO, K. Molecular Mechanisms Through Which Cannabidiol May Affect Skeletal Muscle Metabolism, Inflammation, Tissue Regeneration, and Anabolism: A Narrative Review. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 7, n. 6, p. 745–757, 1 dez. 2022.
- SELTZER, E. S. et al. Cannabidiol (CBD) as a Promising Anti-Cancer Drug. **Cancers**, v. 12, n. 11, p. 3203, 30 out. 2020.
- SHAH, K.; ZHAO, A. G.; SUMER, H. New Approaches to Treat Osteoarthritis with Mesenchymal Stem Cells. **Stem Cells International**, v. 2018, p. 1–9, 16 set. 2018.
- SHAHBAZI, F. et al. Cannabinoids and Cannabinoid Receptors: The Story so Far. **iScience**, v. 23, n. 7, p. 101301, jul. 2020.
- SHAMMAA, R. et al. Mesenchymal Stem Cells Beyond Regenerative Medicine. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 18 fev. 2020.
- SHARPE, L. et al. Cannabis, a cause for anxiety? A critical appraisal of the anxiogenic and anxiolytic properties. **Journal of Translational Medicine**, v. 18, n. 1, p. 374, 2 dez. 2020.
- SHARUN, K. et al. Clinical evaluation following the percutaneous transplantation of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells (aBM-MS) in dogs affected by vertebral compression fracture. **Veterinary and Animal Science**, v. 10, p. 100152, dez. 2020.

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

SHI, J. et al. Demineralized Bone Matrix Scaffolds Modified by CBD-SDF-1 α Promote Bone Regeneration via Recruiting Endogenous Stem Cells. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 8, n. 41, p. 27511–27522, 19 out. 2016.

SHI, Y. et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, n. 8, p. 493–507, 12 ago. 2018.

SHOWALTER, M. R. et al. Primed mesenchymal stem cells package exosomes with metabolites associated with immunomodulation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 512, n. 4, p. 729–735, maio 2019.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. **Pharmacological Reviews**, v. 56, n. 3, p. 387–437, set. 2004.

SINGER, N. G.; CAPLAN, A. I. Mesenchymal Stem Cells: Mechanisms of Inflammation. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, n. 1, p. 457–478, 28 fev. 2011.

SIPP, D.; ROBEY, P. G.; TURNER, L. Clear up this stem-cell mess. **Nature**, v. 561, n. 7724, p. 455–457, 26 set. 2018.

SKELLEY, J. W. et al. Use of cannabidiol in anxiety and anxiety-related disorders. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 60, n. 1, p. 253–261, jan. 2020.

SOLIMAN, N. et al. Systematic review and meta-analysis of cannabinoids, cannabis-based medicines, and endocannabinoid system modulators tested for antinociceptive effects in animal models of injury-related or pathological persistent pain. **Pain**, v. 162, p. 26–26, 15 mar. 2020.

SONG, H. et al. I-Kynurenine-induced apoptosis in human NK cells is mediated by reactive oxygen species. **International Immunopharmacology**, v. 11, n. 8, p. 932–938, ago. 2011.

SOUNDARA RAJAN, T. et al. Cannabidiol Activates Neuronal Precursor Genes in Human Gingival Mesenchymal Stromal Cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 118, n. 6, p. 1531–1546, 29 jun. 2017.

SOUSA, B. R. et al. Human adult stem cells from diverse origins: An overview from multiparametric immunophenotyping to clinical applications. **Cytometry Part A**, v. 85, n. 1, p. 43–77, jan. 2014.

SPINELLA, G. et al. Overview of the Current Literature on the Most Common Neurological Diseases in Dogs with a Particular Focus on Rehabilitation. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 8, p. 429, 13 ago. 2022.

STEFKOV, G. et al. Analytical Techniques for Phytocannabinoid Profiling of Cannabis and Cannabis-Based Products—A Comprehensive Review. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 975, 1 fev. 2022.

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

STOTT, C. G. et al. The Proposed Multimodal Mechanism of Action of Cannabidiol (CBD) in Epilepsy: Modulation of Intracellular Calcium and Adenosine-mediated Signalling. **Epilepsy & Behavior**, v. 101, p. 106734, dez. 2019.

STRAUS, D. S.; GLASS, C. K. Anti-inflammatory actions of PPAR ligands: new insights on cellular and molecular mechanisms. **Trends in Immunology**, v. 28, n. 12, p. 551–558, dez. 2007.

SU, P. et al. Mesenchymal Stem Cell Migration during Bone Formation and Bone Diseases Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 2343, 9 ago. 2018.

SUGIURA, T.; WAKU, K. 2-Arachidonoylglycerol and the cannabinoid receptors. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 108, n. 1–2, p. 89–106, nov. 2000.

SUN, Y.; DOLMETSCH, R. E. Investigating the Therapeutic Mechanism of Cannabidiol in a Human Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Based Model of Dravet Syndrome. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 83, p. 185–191, 2018.

SUN, Y.-X. et al. Activation of Cannabinoid Receptor 2 Enhances Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–8, 2015.

SUNDA, F.; AROWOLO, A. A molecular basis for the anti-inflammatory and anti-fibrosis properties of cannabidiol. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 11, p. 14083–14092, 3 nov. 2020.

TAKEDA, K. et al. Activation of p70S6 Kinase-1 in Mesenchymal Stem Cells Is Essential to Lung Tissue Repair. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 7, n. 7, p. 551–558, 1 jul. 2018.

TANAKA, M. et al. Anti-Inflammatory Effects by Pharmacological Inhibition or Knockdown of Fatty Acid Amide Hydrolase in BV2 Microglial Cells. **Cells**, v. 8, n. 5, p. 491, 22 maio 2019.

TAVAKOLI, S. et al. Mesenchymal stromal cells; a new horizon in regenerative medicine. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 12, p. 9185–9210, 26 dez. 2020.

TEJEDA-MARTÍNEZ, A. R. et al. Chronic Inhibition of FAAH Reduces Depressive-Like Behavior and Improves Dentate Gyrus Proliferation after Chronic Unpredictable Stress Exposure. **Behavioural Neurology**, v. 2021, p. 1–14, 24 mar. 2021.

TELI, P.; KALE, V.; VAIDYA, A. Extracellular vesicles isolated from mesenchymal stromal cells primed with neurotrophic factors and signaling modifiers as potential therapeutics for neurodegenerative diseases. **Current Research in Translational Medicine**, v. 69, n. 2, p. 103286, maio 2021.

THEEUWES, W. F. et al. The role of inflammation in mesenchymal stromal cell therapy in osteoarthritis, perspectives for post-traumatic osteoarthritis: a review. **Rheumatology**, v. 60, n. 3, p. 1042–1053, 2 mar. 2021.

TI, D. et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b. **Journal of Translational Medicine**, v. 13, n. 1, p. 308, 19 dez. 2015.

TRIVEDI, P.; HEMATTI, P. Derivation and immunological characterization of mesenchymal stromal cells from human embryonic stem cells. **Experimental Hematology**, v. 36, n. 3, p. 350–359, mar. 2008.

TU, Z. et al. Mesenchymal Stem Cells Inhibit Complement Activation by Secreting Factor H. **Stem Cells and Development**, v. 19, n. 11, p. 1803–1809, nov. 2010.

TURCOTTE, C. et al. The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 23, p. 4449–4470, 11 dez. 2016.

- TURNER, S. E. et al. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids. Em: [s.l: s.n.]. p. 61–101.
- UCHIGASHIMA, M. et al. Subcellular Arrangement of Molecules for 2-Arachidonoyl-Glycerol-Mediated Retrograde Signaling and Its Physiological Contribution to Synaptic Modulation in the Striatum. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 14, p. 3663–3676, 4 abr. 2007.
- UEDA, N. et al. Biosynthesis and degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. **BioFactors**, v. 37, n. 1, p. 1–7, jan. 2011.
- ULLAH, M.; LIU, D. D.; THAKOR, A. S. Mesenchymal Stromal Cell Homing: Mechanisms and Strategies for Improvement. **iScience**, v. 15, p. 421–438, maio 2019.
- VALERI, A.; MAZZON, E. Cannabinoids and Neurogenesis: The Promised Solution for Neurodegeneration? **Molecules**, v. 26, n. 20, p. 6313, 19 out. 2021.
- VAN BAKEL, H. et al. The draft genome and transcriptome of Cannabis sativa. **Genome Biology**, v. 12, n. 10, p. R102, 2011.
- VAN DER STELT, M.; DI MARZO, V. Endovanilloids. Putative endogenous ligands of transient receptor potential vanilloid 1 channels. **European Journal of Biochemistry**, v. 271, n. 10, p. 1827–1834, maio 2004.
- VATER, C.; KASTEN, P.; STIEHLER, M. Culture media for the differentiation of mesenchymal stromal cells. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 2, p. 463–477, fev. 2011.
- VIADER, A. et al. A chemical proteomic atlas of brain serine hydrolases identifies cell type-specific pathways regulating neuroinflammation. **eLife**, v. 5, 18 jan. 2016.
- VIDAL, R. et al. New Strategies in the Development of Antidepressants: Towards the Modulation of Neuroplasticity Pathways. **Current Pharmaceutical Design**, v. 17, n. 5, p. 521–533, 1 fev. 2011.
- VIEIRA, N. M. et al. Isolation, Characterization, and Differentiation Potential of Canine Adipose-Derived Stem Cells. **Cell Transplantation**, v. 19, n. 3, p. 279–289, 1 mar. 2010.
- VISWANATHAN, S. et al. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature. **Cytotherapy**, v. 21, n. 10, p. 1019–1024, out. 2019.
- VOGA, M.; KOVAČ, V.; MAJDIC, G. Comparison of Canine and Feline Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells/Medicinal Signaling Cells With Regard to Cell Surface Marker Expression, Viability, Proliferation, and Differentiation Potential. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 13 jan. 2021.
- WAGNER, W.; HO, A. D. Mesenchymal Stem Cell Preparations—Comparing Apples and Oranges. **Stem Cell Reviews**, v. 3, n. 4, p. 239–248, 18 dez. 2007.
- WALKER, F. C.; SRIDHAR, P. R.; BALDRIDGE, M. T. Differential roles of interferons in innate responses to mucosal viral infections. **Trends in Immunology**, v. 42, n. 11, p. 1009–1023, nov. 2021.
- WALTER, C. et al. Brain Mapping-Based Model of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Effects on Connectivity in the Pain Matrix. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 6, p. 1659–1669, 30 maio 2016.

- WANG, B. et al. New AKT-dependent mechanisms of anti-COVID-19 action of high-CBD Cannabis sativa extracts. **Cell Death Discovery**, v. 8, n. 1, p. 110, 11 mar. 2022.
- WANG, H. et al. Mesenchymal stem cells microvesicles stabilize endothelial barrier function partly mediated by hepatocyte growth factor (HGF). **Stem Cell Research & Therapy**, v. 8, n. 1, p. 211, 29 dez. 2017.
- WANG, M.; YUAN, Q.; XIE, L. Mesenchymal Stem Cell-Based Immunomodulation: Properties and Clinical Application. **Stem Cells International**, v. 2018, p. 1–12, 14 jun. 2018.
- WATT, G.; KARL, T. In vivo Evidence for Therapeutic Properties of Cannabidiol (CBD) for Alzheimer's Disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 3 fev. 2017.
- WEISS, L. et al. Cannabidiol lowers incidence of diabetes in non-obese diabetic mice. **Autoimmunity**, v. 39, n. 2, p. 143–151, 7 jan. 2006.
- WELLNER, N. et al. N-acylation of phosphatidylethanolamine and its biological functions in mammals. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1831, n. 3, p. 652–662, mar. 2013.
- WHELAN, D. S.; CAPLICE, N. M.; CLOVER, A. J. P. Mesenchymal stromal cell derived CCL2 is required for accelerated wound healing. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 2642, 14 fev. 2020.
- WIELAND, H. A. et al. Osteoarthritis — an untreatable disease? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 4, p. 331–344, abr. 2005.
- WILSON, A. J. et al. Characterisation of mesenchymal stromal cells in clinical trial reports: analysis of published descriptors. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 12, n. 1, p. 360, 22 dez. 2021.
- WILSON-POE, A. R. et al. Effects of inflammatory pain on CB1 receptor in the midbrain periaqueductal gray. **PAIN Reports**, v. 6, n. 1, p. e897, jan. 2021.
- WINTER, J. TRPV1 distribution and regulation. Em: **Turning up the Heat on Pain: TRPV1 Receptors in Pain and Inflammation**. Basel: Birkhäuser Basel, 2005. p. 39–51.
- WOODHAMS, S. G. et al. The Role of the Endocannabinoid System in Pain. Em: [s.l: s.n.]. p. 119–143.
- WU, J. et al. Studies of involvement of G-protein coupled receptor-3 in cannabidiol effects on inflammatory responses of mouse primary astrocytes and microglia. **PLOS ONE**, v. 16, n. 5, p. e0251677, 13 maio 2021.
- XIE, J. et al. Up-regulation of immunomodulatory effects of mouse bone-marrow derived mesenchymal stem cells by tetrahydrocannabinol pre-treatment involving cannabinoid receptor CB2. **Oncotarget**, v. 7, n. 6, p. 6436–6447, 9 fev. 2016.
- XU, C. et al. Cross-Talking Between PPAR and WNT Signaling and its Regulation in Mesenchymal Stem Cell Differentiation. **Current Stem Cell Research & Therapy**, v. 11, n. 3, p. 247–254, 3 mar. 2016.
- YAGI, H. et al. Mesenchymal Stem Cells: Mechanisms of Immunomodulation and Homing. **Cell Transplantation**, v. 19, n. 6–7, p. 667–679, 1 jun. 2010.
- YANG, Y. et al. New chromane and chromene meroterpenoids from flowers of *Rhododendron rubiginosum* Franch. var. *rubiginosum*. **Fitoterapia**, v. 127, p. 396–401, jun. 2018.

YATES, M. L.; BARKER, E. L. Chapter 2 Organized Trafficking of Anandamide and Related Lipids. Em: [s.l: s.n.]. p. 25–53.

YEN, B. L. et al. Brief Report—Human Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Progenitors Possess Strong Immunosuppressive Effects Toward Natural Killer Cells as Well as T Lymphocytes. **Stem Cells**, v. 27, n. 2, p. 451–456, 1 fev. 2009.

YOSHIDA, T. Localization of Diacylglycerol Lipase- around Postsynaptic Spine Suggests Close Proximity between Production Site of an Endocannabinoid, 2-Arachidonoyl-glycerol, and Presynaptic Cannabinoid CB1 Receptor. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 18, p. 4740–4751, 3 maio 2006.

YU, B.; ZHANG, X.; LI, X. Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 4142–4157, 7 mar. 2014.

YU, C. H. J.; RUPASINGHE, H. P. V. Cannabidiol-based natural health products for companion animals: Recent advances in the management of anxiety, pain, and inflammation. **Research in Veterinary Science**, v. 140, p. 38–46, nov. 2021.

YU, S. et al. Fatty Acid-binding Protein 5 (FABP5) Regulates Cognitive Function Both by Decreasing Anandamide Levels and by Activating the Nuclear Receptor Peroxisome Proliferator-activated Receptor β/δ (PPAR β/δ) in the Brain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 18, p. 12748–12758, maio 2014.

YUAN, M. et al. Δ 9-Tetrahydrocannabinol regulates Th1/Th2 cytokine balance in activated human T cells. **Journal of Neuroimmunology**, v. 133, n. 1–2, p. 124–131, dez. 2002.

YUN, C.; LEE, S. Potential and Therapeutic Efficacy of Cell-based Therapy Using Mesenchymal Stem Cells for Acute/chronic Kidney Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1619, 1 abr. 2019.

ZEIRA, O. et al. Adult autologous mesenchymal stem cells for the treatment of suspected non-infectious inflammatory diseases of the canine central nervous system: safety, feasibility and preliminary clinical findings. **Journal of Neuroinflammation**, v. 12, n. 1, p. 181, 29 dez. 2015.

ZHAN, X.-S. et al. A Comparative Study of Biological Characteristics and Transcriptome Profiles of Mesenchymal Stem Cells from Different Canine Tissues. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, p. 1485, 25 mar. 2019.

ZHANG, R.; ZHENG, F. PPAR- γ and aging: one link through klotho? **Kidney International**, v. 74, n. 6, p. 702–704, set. 2008.

ZHANG, X. et al. RETRACTED ARTICLE: Overexpressing p130/E2F4 in mesenchymal stem cells facilitates the repair of injured alveolar epithelial cells in LPS-induced ARDS mice. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 10, n. 1, p. 74, 6 dez. 2019.

ZHANG, Y. et al. An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 36, p. 11929–11947, 3 set. 2014.

ZHOU, H. et al. MSC based gene delivery methods and strategies improve the therapeutic efficacy of neurological diseases. **Bioactive Materials**, v. 23, p. 409–437, maio 2023.

ZHOU, X.; HE, X.; REN, Y. Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. **Neural Regeneration Research**, v. 9, n. 20, p. 1787, 2014.

ZOGOPOULOS, P. et al. The role of endocannabinoids in pain modulation. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 27, n. 1, p. 64–80, fev. 2013.

ZOU, C. et al. Identification of a Ferroptosis-Related Prognostic Gene PTGS2 Based on Risk Modeling and Immune Microenvironment of Early-Stage Cervical Cancer. **Journal of Oncology**, v. 2022, p. 1–32, 8 abr. 2022.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 833, 13 mar. 2018.

ZUARDI, A. W. History of cannabis as a medicine: a review. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 28, n. 2, p. 153–157, jun. 2006.

CAPÍTULO 2 – TRABALHO CIENTÍFICO

" Trabalho a ser enviado para a revista Cannabis and Cannabinoid Research "

Evaluation of gene expression of anti-inflammatory cytokines and neurotrophic factors in canine mesenchymal stem cells preconditioned with cannabidiol-rich cannabis extract

Vinicius Skau Perino¹, Beatriz da Costa Kamura¹, Lucas Vinícius de Oliveira Ferreira¹, Natielly Dias Chimenes¹, Márcio de Carvalho², and Rogério Martins Amorim^{1*}

¹Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, SP, Brazil.

²Confocal Microscopy Laboratory, UNIPEX - Experimental Research Unit, Medical School of Botucatu, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil.

Correspondence to Rogério Martins Amorim

Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Prof Doutor Walter Mauricio Correia Street, UNESP Campus de Botucatu, 18618-681-Botucatu, SP, Brazil

Tel.: +55-14-38802082

E-mail: rogerio.amorim@unesp.br

Key words: Phytocannabinoids; Endocannabinoid system; Immunomodulation; Priming; Mesenchymal Stem Cell.

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) are one of the most studied cell-based therapy due their properties such as homing to the injured site, immune-evasive and paracrine signaling which allow their application in immune mediated and degenerative diseases. Studies have shown that the endocannabinoid system is responsible for crucial biological functions, such as neuroprotection, pain modulation, inflammation, and immunomodulation. The therapeutic use of the cannabis has experienced significant growth over the years, largely due to the beneficial effects of phytocannabinoids as cannabidiol (CBD) and other. CBD has been found to interact with the endocannabinoid system promoting modulation of cytokines and neurotrophic factors of MSCs. The aim of this in vitro study is to evaluate the gene expression of neurotrophic factors BDNF, GDNF, HGF, and cytokines IL-10, IDO, TNF- α , INF- γ , and PTGE2 after priming canine adipose-derived mesenchymal stem cells (Ad-MSCs) with CBD-rich cannabis extract. Five different samples of canine Ad-MSCs, previously isolated, immunophenotypically characterized as CD44+, CD90+, CD105+, CD34-, CD45-, MHC-II- and presenting tri-lineage cell differentiation (osteogenic, adipogenic and chondrogenic) were primed with high (2.25 μ M) and low (225 nM) concentrations of CBD for 24 hours. Cell morphology, MTT assay and gene expression of neurotrophic factors BDNF, GDNF, HGF, and cytokines IDO, IL-10, TNF- α , INF- γ , and PTGES2 were evaluated. The canine Ad-MSCs primed with low and high CBD concentration did not show morphology or metabolic activity alterations. The canine Ad-MSCs primed with 2.25 μ M of CBD showed increase in the HGF gene expression. However, we also observed decrease of BDNF gene expression, while the other neurotrophic factors and cytokines did not show significant differential gene expression for both doses. Previously studies have showed that CBD may have positive effects on MSCs by increasing their regenerative capacity, differentiation, colony formation, survival in hostile conditions and modulating the expression of cytokines and growth factors. The priming of canine Ad-MSCs with cannabinoids is a relatively new area of research and our findings suggesting that the neurotrophic factors expression profile of canine Ad-MSCs may be modulated by phytocannabinoids. Further studies

should be performed for better understanding of MSCs priming with phytocannabinoids.

Keywords: Phytocannabinoids; Endocannabinoid system; Immunomodulation; Priming; Mesenchymal Stem Cell.

Introdução

O uso terapêutico da Cannabis, tanto para humanos quanto para os animais, vem crescendo ao longo dos anos ¹. A planta da cannabis contém uma mistura complexa de fitocanabinóides (Δ 9-tetrahidrocannabinol, Canabidiol, Canabigerol, dentre outros), terpenos e flavonóides, sendo os mais estudados o delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD) ^{2,3}. O SEC é um sistema complexo de sinalização celular composto por três componentes, endocanabinoides (eCBs), receptores canabinoides (CB1 e CB2) e enzimas responsáveis pela síntese e degradação dos endocanabinoides ⁴. Está presente em todos os mamíferos e desempenha um papel crucial na regulação de diversos processos biológicos e metabólicos como a neuroproteção ⁵, neuroregeneração ⁶, metabolização da glicose/lipídios ⁷ e capacidade de imunomodulação ⁸.

O CBD tem sido cada vez mais utilizado na medicina veterinária devido aos seus benefícios terapêuticos em animais domésticos, não possui propriedades psicoativas ⁹ e interage com SEC ¹⁰ influenciando diversos processos como controle da dor ^{11,12}, redução da ansiedade e do estresse ^{13,14}, epilepsia e controle de convulsões ¹⁵, efeitos anti-inflamatórios ^{16,17} e também influência nos níveis de endocanabinoides ¹⁸.

As MSCs são células com característica de multipotencialidade que possuem a capacidade de diferenciação *in vitro* em diferentes linhagens celulares (condrogênica, osteogênica e adipogênica), secretam fatores bioativos ¹⁹, possuem propriedades imunomodulatórias ²⁰ e regenerativas ²¹. Tais características que as torna candidatas promissoras para sua utilização em distúrbios imunomediados, regeneração e reparação tecidual ²²⁻²⁶.

O pré-condicionamento das MSCs refere-se ao processo de exposição dessas células frente a diversos fatores como os fatores de crescimento ²⁷, citocinas ²⁸, compostos bioativos ²⁹, fatores mecânicos ³⁰ e culturas 3D ³¹. MSCs pré-condicionadas com óleo/extrato de cannabis mostraram um aumento em seu potencial terapêutico como por exemplo na doença de Alzheimer ³², na diferenciação celular ^{33,34}, viabilidade e migração celular (FELLOUS et al., 2020; MILLER et al., 2021a) e reparação tecidual ^{37,38}.

Neste contexto, este estudo tem como objetivo avaliar *in vitro* a expressão gênica dos fatores neurotróficos (BDNF, GDNF e HGF) e das citocinas (IL-10, IDO, TNF- α , INF- γ e PTGE2) após o pré-condicionamento das cAT-MSCs com extrato de cannabis rico em CBD nas concentrações de 225nM e 2,25 μ M por um período de 24 horas. Os potenciais efeitos do pré-condicionamento das cAT-MSCs caninas com o extrato de cannabis rico em CBD é de suma importância para a melhor compreensão da interação dos fitocanabinóides com as cAT-MSCs caninas (cAT-MSCs) e se há uma potencialização em seus efeitos imunomodulatórios e neuroregenerativos.

Materiais e métodos

Comitê de ética animal

Este estudo teve todas as suas etapas conduzidas em concordância com os Princípios Éticos na Experimentação Animal e aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, UNESP-Botucatu, conforme seguinte protocolo: Número - 0171/2021.

Delineamento experimental

As cAT-MSCs alíquotadas foram descongeladas, plaqueadas em garrafas de cultivo de 75 cm² (KASV e expandidas em meio de cultura DMEM F-12 padrão (1:1), constituído em 90 % de DMEM F-12, 10 % de Soro fetal Bovino (SFB), 1 % penicilina e estreptomicina e 0,5 % Anfotericina B (todos Gibco™, Life Technologies Corporation, Grand Island, USA). Após atingir confluência de 70 % a 80 % as AT-MSCs foram plaqueadas na quantidade de 1x10⁵ células/cm² por poço em placa de 24 poços com área de crescimento 1,93 cm² (Kasvi, São José dos Pinhais, Br), com 500 μ L de volume total de meio de cultura e feito em duplicata. As Ad-MSCs foram divididas em três grupos: (1-CM), (2-D1) e (3-D2), sendo CM o grupo controle meio contendo células não estimuladas cultivadas

em DMEM padrão, D1 o grupo dose 1 contendo células estimuladas unicamente com extrato de cannabis rico em CBD na dose de 2,25 μ M e D2 o grupo dose 2 contendo células estimuladas unicamente com extrato de cannabis rico em CBD na dose de 225 nM. Após aderirem na placa as células foram lavadas e estimuladas durante 24 horas com o extrato de cannabis rico em CBD. Após pré-condicionamento foi retirado e congelado o sobrenadante e os poços foram lavados com DPBS, na sequência foi adicionado 500 μ L de trizol (TRIzol™, Invitrogen™, ThermoFischer Scientific, São Paulo, Brazil) e feita a homogeneização para que as células se soltassem. Logo em seguida as células foram coletadas e criopreservadas a -80°C até subsequente análise da expressão gênica dos fatores neurotróficos e citocinas por qPCR (Fig. 9).

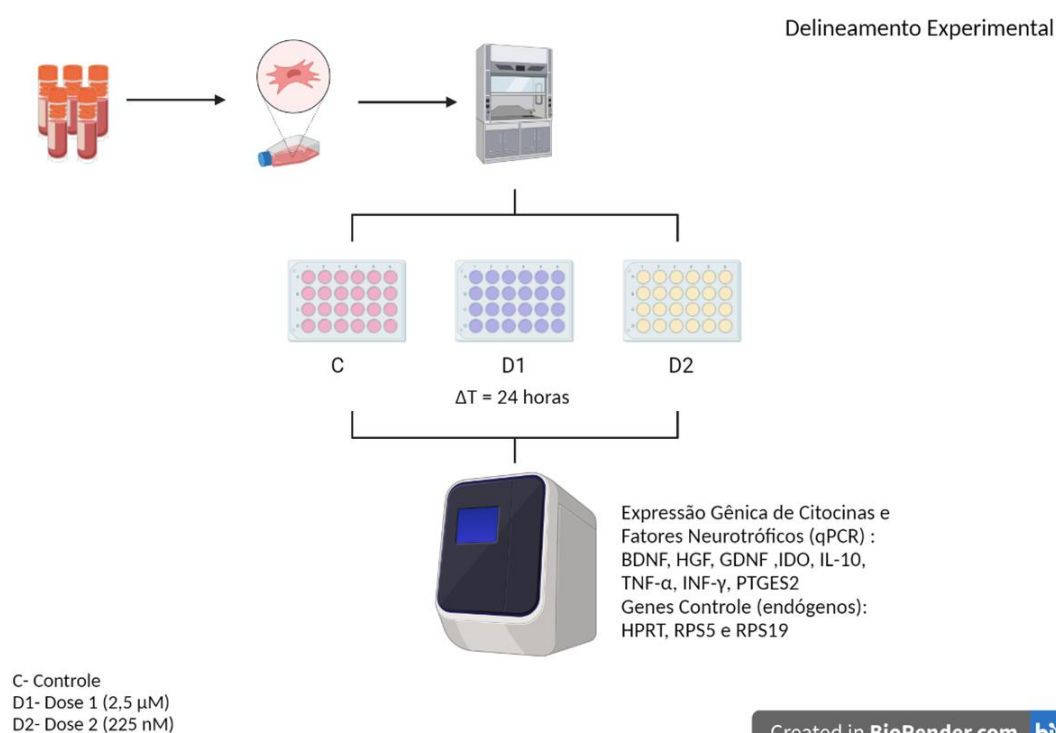


Figura 9. Esquema representando o delineamento experimental. As cAT-MSCs foram descongeladas e cultivadas separadamente em garrafas de cultivo de 75 cm², após atingirem confluência foram plaqueadas em placas de 24 poços para posterior estimulação com extrato de cannabis rico em CBD em diferentes concentrações (2,25 μ M e 225 nM). Após estimulação foram avaliados a viabilidade celular através do teste de Azul Tripano 0,4% e morfologia celular através de fotomicrografias. Posteriormente a expressão gênica de fatores

neurotróficos e citocinas foi quantificada nas cAT-MSCs através da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR). Imagens criadas com o Biorender (<https://biorender.com/>).

Células tronco mesenquimais

cAT-MSCs (P3) derivadas do tecido adiposo (n=5), foram obtidas através do banco de células do nosso grupo de estudo (SÁNCHEZ; AMORIM, 2021). Para a confirmação da multipotencialidade, foi realizada pelo grupo de estudos do nosso laboratório de pesquisa - NUTRAMERE (Núcleo Translacional de Medicina Regenerativa) a diferenciação *in vitro* das MSCs nas linhagens adipogênica, condrogênica e osteogênica (LANKFORD, 2015; VIEIRA et al., 2010; ZHAN et al., 2019), com os conjuntos de diferenciação StemPro adipogenesis®, chondrogenesis® e ostegenesis® (Invitrogen, São Paulo, Brasil) seguindo-se as recomendações do fabricante.

As cAT-MSCs caninas foram avaliadas para o perfil de antígenos CD de superfície através da citometria de fluxo (FACSCalibur, Becton Dickinson Company, San Jose, EUA). Foram utilizados os marcadores: CD34-FITC mouse anti-human (Becton Dickinson Company™), CD45 rat anti-dog (Abd Serotec™), CD44 rat anti-mouse (Sigma-Aldrich), CD90-FITC mouse anti-human (Becton Dickinson Company™), CD105 mouse anti-human (Abcam™) e MHC-II (rat anti-dog – AbdSerotec –MCA1044F). Os anticorpos foram validados utilizando células positivas para o marcador de superfície ao qual estava sendo pesquisado. Por um breve momento foram suspendidas 1×10^6 células em 100µL de solução isotônica (isoton®) por tubo.

Logo após foram adicionados os anticorpos conjugados aos fluorocromos (tubos-testes) e apenas células (tubos autocontrole), deixando-os incubados por um período de 20 minutos, após foi adicionado 500 uL de isoton® ao volume da reação e centrifugados. Em seguida, realizaram-se as análises no citômetro de fluxo BD FACSCalibur (Becton Dickinson Company, San Jose, USA), sendo padronizado um total de 2×10^4 eventos por tubo, foram utilizados os softwares

Cell Quest Pro e FlowJo® (Becton Dickinson Company, San Jose, USA) para a avaliação dos dados (SÁNCHEZ; AMORIM, 2021).

Extrato de cannabis rico em cbd

O extrato utilizado foi obtido através da doação feita pela Associação Alternativa - Imbituba, Santa Catarina. O extrato foi diluído em DMSO na concentração de 1:1 e enviado para DALL - Soluções analíticas e empresariais para a realização da Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Como constatado por análise laboratorial, o extrato de cannabis fullspectrum rico em CBD contém a cada grama do extrato 28,12% de CBD e 0,8% de THC (Anexo 1). Posteriormente para realização do experimento o extrato foi pesado em balança de precisão e submetido a diluição com DMSO para chegar na concentração de 25 mg/ml (solução mãe), após foram realizados cálculos (Anexo 2) para novamente diluir o extrato (solução trabalho) para obter-se as concentrações utilizadas no experimento (2,25µM e 225 nM) (Anexo 2 e 3), doses escolhidas a partir de pilotos realizados pelo grupo do laboratório (MTT).

Morfologia

A morfologia das cAT-MSCs foi obtida através da realização de imagens por microscópio invertido (LEICA DMIRB) e avaliada por fotomicrografias das cAT-MSCs não estimuladas (0 h) e estimuladas (24 h).

Viabilidade celular

Após o pré-condicionamento das cAT-MSCs pelo período de 24 horas, foi realizado o teste de viabilidade celular por Azul Tripano 0,4 %. As cAT-MSCs foram pipetadas em um eppendorf e logo após foi adicionado Azul Tripano (1:1), seguiu-se com a microcentrifugação para homogeneização, em seguida foram pipetadas na câmara de Neubauer para contagem das células viáveis. O resultado foi expresso em porcentagem de células viáveis utilizando a seguinte

fórmula: Viabilidade (%) = células viáveis X 100/Total de células (células viáveis + não viáveis) (RODRÍGUEZ SÁNCHEZ et al., 2019).

Expressão gênica de citocinas e fatores neurotróficos das cAT-MSCs

Foi realizado a lise celular e homogeneização das cAT-MSCs com reagente TRIzol (TRIzol™, Invitrogen™, ThermoFisher Scientific, São Paulo, Brasil), a extração do RNA foi realizada também com o mesmo reagente, seguindo as instruções do fabricante. O RNA foi diluído em solução livre de RNA e seu rendimento foi determinado pela espectrofotometria através do equipamento Thermo Scientific NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific, Wilmington, EUA) para ondas com razões de absorbância de 260/280 nm e 260/230 nm. Foi realizada a síntese do cDNA com os reagentes do High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems™, Life Technologies Corporation, Carlsbad, EUA), seguindo as instruções do fabricante, a transcrição reversa foi feita para obtenção do cDNA com o Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems™, ThermoFisher Scientific), a termociclagem foi realizada nas seguintes condições :

- 40 ciclos (2 minutos a 50°C; 2 minutos a 95°C; 1 segundo a 95°C; e 30 segundos a 60°C) e Contínuo (1 segundo a 1,6°C; 15 segundos a 95°C; 1 segundo a 1,6°C; e 1 minuto a 60°C) (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001). Em seguida Diluiu-se o cDNA obtido com água livre de RNA para um volume total de 110 µL.

As amostras de cDNA foram levadas ao ultra freezer para serem criopreservadas a -80 °C e posteriormente utilizadas como moldes para reações de PCR. Foi utilizado 2 µL do cDNA, a enzima PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Applied Biosystems™, ThermoFisher Scientific Baltics, Vilnius, Lithuania) e o termociclador QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems™, ThermoFisher Scientific). As condições de termociclagem constam no Quadro 1.

QUADRO 1. Condições de Termociclagem qPCR.		
Ciclos	Condições de Termociclagem	
	Temperatura	Tempo

40	50°C	2 minutos
	95°C	2 minutos
	95°C	1 segundo
	60°C	30 segundos
Curva de Fusão		
Contínuo	1,6°C	1 segundo
	95°C	15 segundos
	1,6°C	1 segundo
	60°C	1 minuto

As reações foram feitas em duplicata utilizando-se o cDNA produzido anteriormente com PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Applied Biosystems™, Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), água livre de RNA e primers caninos (Thermo Fisher Scientific, São Paulo, Brasil). Os primers foram projetados com auxílio do programa Primer Express™ Software v3.0.1 (Applied Biosystems™, Thermo Fischer Scientific). Foi feito o desenho individual para cada oligonucleotídeo iniciador canino de acordo com o banco de dados do GeneBank® (NIH, Genetic Sequence Database) (Quadro 2).

Foram estudados oito genes caninos de referência, sendo eles a: enzima prostaglandina endoperoxidase sintase 2 (PTGES2); citocinas anti-inflamatórias IDO, IL-10, INF- γ , TNF- α ; e fatores neurotróficos BDNF, GDNF e HGF. Foram também utilizados quatro genes caninos endógenos: hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HPRT); gliceraldeído-3- fosfato desidrogenase (GAPDH); proteína ribossomal S5 (RPS5); e proteína ribossomal S19 (RPS19).

QUADRO 2. Iniciadores utilizados nas reações de qPCR.	
Iniciador	Sequência (5' -> 3')
BDNF	(F) GTGTCGAAAGGCCAACTGAAG
	® CGTGTAACCCATGGGATTGC
GDNF	(F) GGTTCGCTACAGCCAGCAGTT
	® CGCACCATGTTCAAAATCCA
HGF	(F) ATGGTTCTTGCGTCATTGTT
	® AATGCCAGGACGATTTGGAA
	(F) TGTGGACCCAAGCACGTTTT

IDO	® AGTTGCCTTTCCAACCAGACA
IL-10	(F) CCCAGGATGGCAACTCTTCTC
	® CGGGATGGTATTTTGCAGATC
INF-γ	(F) CTGTCGCCCCAAGCTAACCT
	® GGCCTCGAAATGGATTCTGA
TNF-α	(F) TTGGATGGGCTGTACCTCATC
	® GGGCAGCCTTGGCCTTT
PTGES2	(F) GCCTGCAGCTGACCCTGTA
	® CACGGACCTTGCTGCAGAA
HPRT	(F) CGGCTTGCTCGAGATGTGAT
	® GCACACAGAGGGCTATGT
RPS5	(F) GAGGCCTCAGGCTGTTCGAT
	® AGCCAAATGGCCTGATTCAC
RPS19	(F) GGGTCCTCCAAGCCCTAGAG
	® CGGCCCCCATCTTGGT

BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro). GDNF (fator neurotrófico derivado da glia). HGF (fator de crescimento de hepatócitos). IDO (indoleamina-2,3-dioxigenase). IL-10 (interleucina – 10). INF- γ (Interferon Gama). TNF- α (Fator Necrose Tumoral Alfa). PTGES2 (prostaglandina-endoperoxidase sintase 2). HPRT (hipoxantina guanina fosforibosiltransferase). GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase). RPS5 (proteína ribossomal S5). RPS19 (proteína ribossomal S19). F – Forward. R – Reverse.

Análise estatística

Os dados de cada variável (HGF/BDNF/GDNF/IDO/IL-10/TNF- α /INF- γ e PTGES2) foram agrupados individualmente para avaliar os valores relacionados a estatística descritiva (média, mediana, desvio padrão e erro padrão), teste de normalidade através do teste de Shapiro-Wilk com a significância entre os grupos estabelecida em $p < 0,05^*$, sendo as diferenças indicadas por um único asterisco ($p < 0,05^*$), identificação de outliers via método ROUT ($Q=1\%$) e análise de variância de um fator (ANOVA). Os dados normalmente distribuídos foram testados por ANOVA. Dados não normalmente distribuídos foram comparados com o teste de Kruskal-Wallis, seguido pela comparação com os testes de Brown-Forsythe e Bartlett's, a significância estatística foi aceita se $p < 0,05$. A

realização da montagem e análise gráfica foram expressos como gráficos de coluna, representando a mediana como a linha central. (GraphPad Prism versão 9.5 para Windows, San Diego, EUA).

RESULTADOS

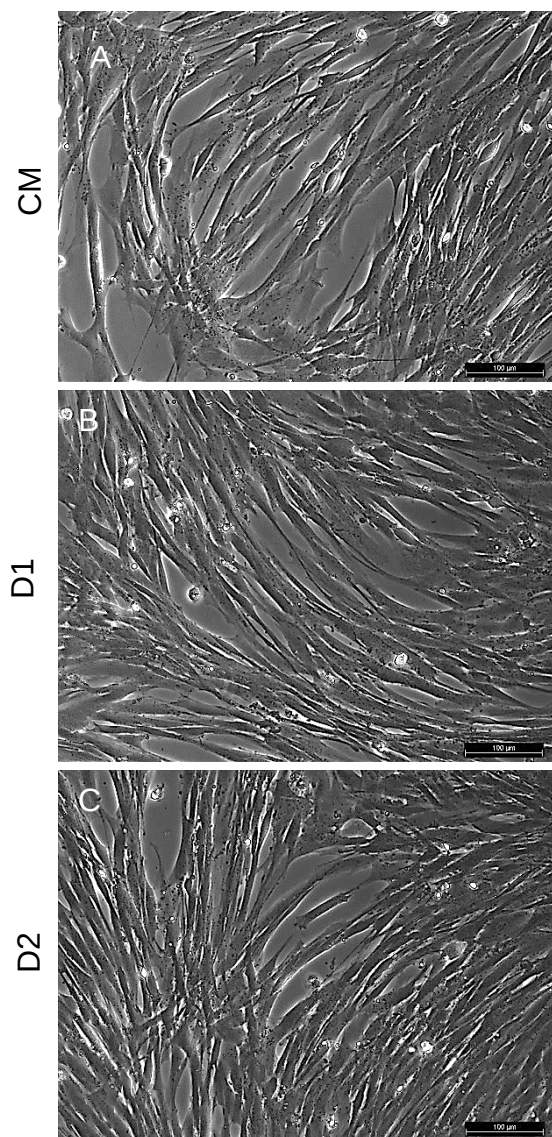
Alterações na morfologia

As cAT-MSCs estimuladas com extrato de canabis rico em CBD apresentaram morfologia fibroblastóide e aderência ao plástico, não apresentaram nenhuma alteração em sua morfologia entre os grupos CM, D1 e D2 (Fig. 10 A-C).

Viabilidade celular

Para avaliar a viabilidade celular das cAT-MSCs foi utilizado o teste de exclusão por meio do uso de Azul Tripiano 0,4 %, foi possível observar uma média de viabilidade celular de 94,6% em CM (Controle Meio), 95,6 % em D1 (Dose 1), 94,4 % em D2 (Dose 2), não houve diferença significativa entre os grupos (Fig. 10 D).

cAT-MSCs



(D) Viabilidade Celular

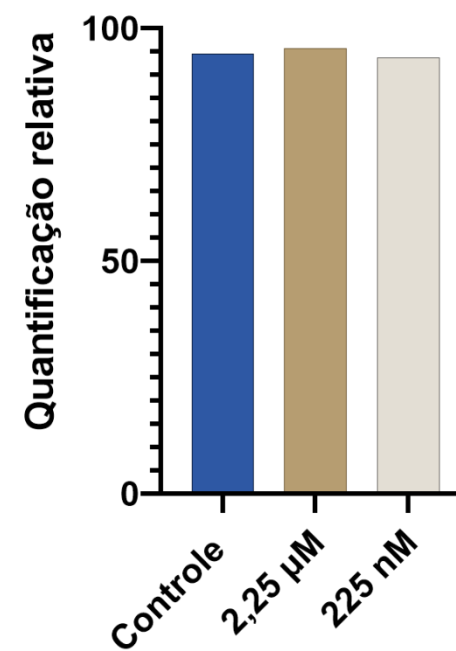


Figura 10. Caracterização da morfologia e viabilidade das cAT-MSCs caninas. cAT-MSCs não estimuladas e estimuladas com extrato de cannabis rico em CBD nas concentrações de 2,25 μ M e 225 nM (A, B e C, respectivamente) mostrando morfologia fibroblastóide sem nenhuma alteração em relação ao CM (Controle Meio). Ampliação, x200. Barra de escala = 100 μ m. Viabilidade celular das cAT-MSCs (D). Os dados estão representados em gráficos de coluna por meio de estatística, utilizando mediana.

Expressão gênica de citocinas e fatores neutróficos

A expressão gênica dos fatores neutróficos BDNF, GDNF, HGF, assim como a expressão das citocinas IDO, IL-10, TNF- α , INF- γ e PTGEs está representada na Fig. 11.

Em relação a expressão gênica dos fatores neurotróficos, foi possível observar que o fator BDNF (Fig. 11 A) apresentou uma diminuição significativa em sua expressão gênica quando comparado ao grupo CM. A expressão gênica do fator GDNF (Fig. 11 B) não apresentou diferença estatística quando comparado aos grupos CM, D1 e D2. Foi observado um aumento significativo na expressão gênica do fator neurotrófico HGF (Fig. 11 C) quando comparado com os demais grupos.

Além disso também foi possível observar que após o pré-condicionamento das cAT-MSCs com o extrato de cannabis rico em CBD as demais citocinas como a IDO (Fig. 11 D), IL-10 (Fig. 11 E), TNF- α (Fig. 11 F), INF- γ (Fig. 11 G) e PTGEs (Fig. 11 H) não apresentaram expressão gênica estatisticamente significativa em relação aos grupos.

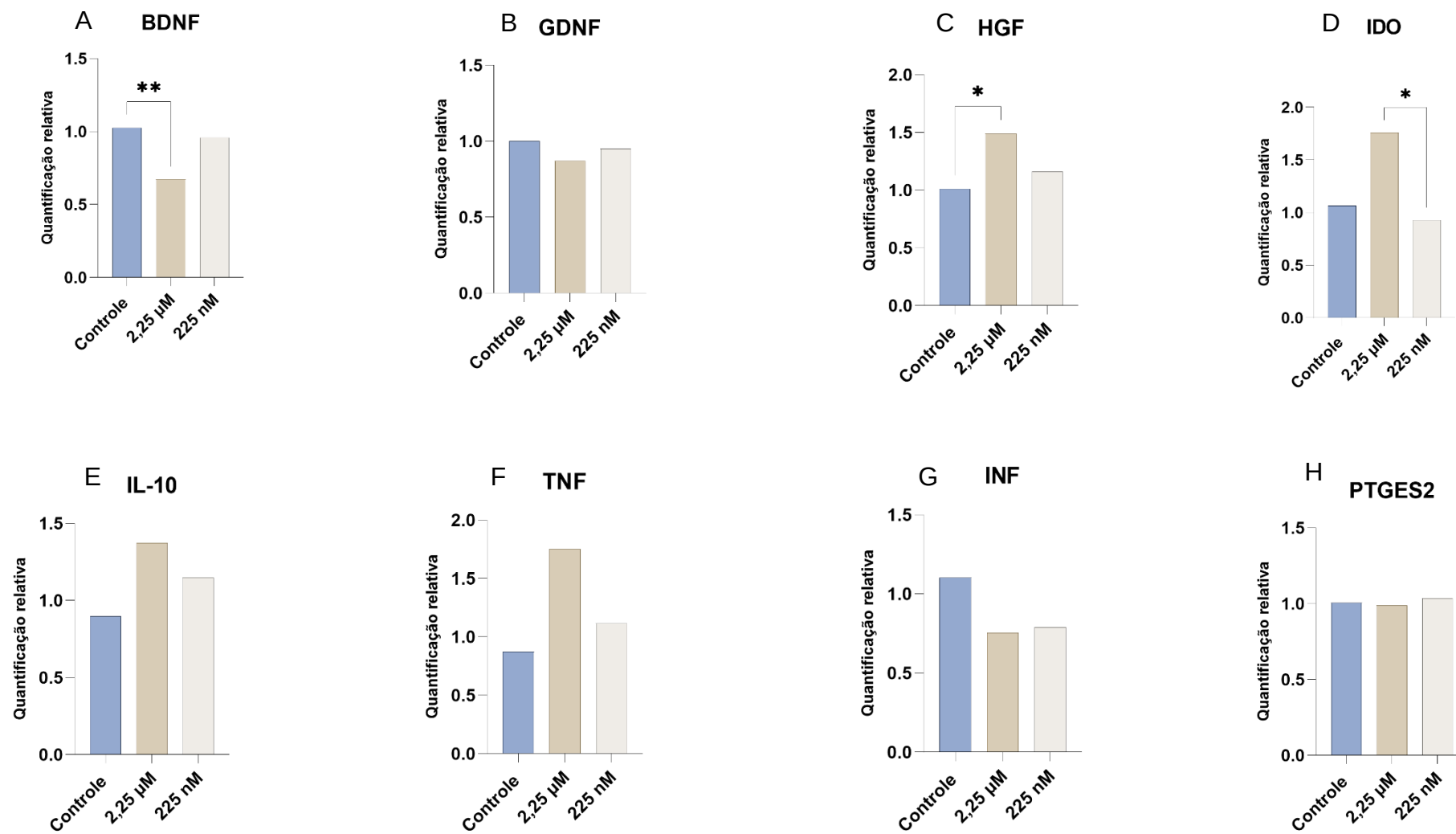


Figura 11. Expressão relativa dos fatores neutróficos BDNF (A), GDNF (B) e HGF (C) e citocinas IDO (D), IL-10 (E), TNF- α (F), INF- γ (G) e PTGEs (H) nas cAT-MSCs caninas estimuladas com extrato de cannabis rico em CBD. Os dados representados nos gráficos acima são representados como mediana, sendo $p < 0,05$ *.

Discussão

Embora o potencial regenerativo e imunomodulador das MSCs seja amplamente reconhecido, o sucesso proveniente das terapias utilizando-as em ensaios *in vitro* tem tido limitações devido a diversas inferências, como a sensibilidade frente a microambientes adversos ¹⁻⁴, perda/diminuição de função após criopreservação ^{5,6}, imunomodulação variada ⁷⁻⁹, diminuição da viabilidade celular devido a superexpansão no cultivo ^{10,11}.

Durante a realização do trabalho foi observado uma grande dificuldade durante a diluição do extrato de cannabis rico em CBD, pois por se tratar de um extrato oleoso e sua diluição foi realizada com dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração máxima de 0,05%. No entanto, estudos mostram que concentrações de 0,05% foram citotóxicas afetando negativamente a viabilidade e a função das MSCs quando cultivo/estimulação por longos períodos de exposição maiores de 7 dias ¹²⁻¹⁴.

Após a pré-estimulação das cAT-MSCs foi possível observar que nas doses utilizadas no experimento não houve alteração na morfologia das cAT-MSCs, mantendo formato fibroblastóide, com corpos celulares alongados e prolongamentos citoplasmáticos finos e longos ^{15,16}. A ativação dos receptores CB2 nas MSCs pode aumentar sua migração e potencial regenerativo, fato atribuído à ativação da via de sinalização MAPK, que está envolvida na proliferação, diferenciação e migração celular ¹⁷. Por outro lado, os receptores CB1, quando ativados, podem prejudicar as MSCs em sua diferenciação nos tipos celulares, como adipócitos e osteoblastos ¹⁸.

No presente estudo foi possível observar que houve interação do extrato de cannabis rico em CBD com as cAT-MSCs. Sabe-se que as MSCs humanas expressam ambos os receptores canabinoides (CB1 e CB2) ¹⁹, receptores que

fazem parte do SEC, o qual participa na modulação de processos fisiológicos, incluindo dor ²⁰, inflamação ^{21,22}, função imunológica ²³, entre outros.

Foram observadas diferentes expressões gênicas dos fatores neurotróficos nas cAT-MSCs após o pré-condicionamento com extrato de cannabis rico em CBD. Foi observado uma redução significativa da expressão gênica de BDNF em relação ao grupo controle após pré-condicionamento com a dose 1 (2,25µM), sabe-se que os mecanismos/vias pelos quais o CBD diminui a expressão de BDNF ainda não são totalmente compreendidos e requerem mais estudos *in vitro*, no entanto, existem algumas hipóteses com base nas evidências disponíveis em relação ao aumento deste fator.

Uma das possibilidades é que o CBD possa regular a expressão de BDNF por meio de sua interação com o SEC, que desempenha um papel na regulação da neuroplasticidade e da sobrevivência neuronal ²⁴⁻²⁷. Foi demonstrado que o CBD modula o SEC inibindo a quebra do eCB anandamida (AEA), que tem a capacidade de ativar os receptores canabinoides (CBR1/CBR2/TRPV1), sugerindo propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras ²⁸⁻³⁰.

A inflamação crônica tem sido associada à diminuição da expressão de BDNF, e o CBD possui propriedades anti-inflamatórias, portanto, pode regular positivamente a expressão de BDNF reduzindo a inflamação ³¹⁻³³. Outra possibilidade segundo estudos, é que o CBD modula positivamente a ativação da sinalização PI3K/Akt/mTOR, juntamente com a redução de mediadores pró-inflamatórios (IFN-γ e IL-17), o aumento de PPARγ e possui a capacidade de promover a sobrevivência neuronal inibindo a via MAPK ^{34,35}.

A expressão gênica do fator neurotrófico GDNF não apresentou diferença estatística em relação aos grupos após o pré-condicionamento das cAT-MSCs com ambas as doses (2,25µM e 225 nM), no entanto, sabe-se que este fator desempenha um papel importante no desenvolvimento e sobrevivência das células nervosas ^{36,37}. Alguns autores mostram que em maiores concentrações (30 µM /50 µM/100 µM) e um pré-condicionamento de 48 horas, o CBD modula positivamente o influxo de cálcio de maneira dependente ^{38,39}.

Foi observado um aumento significativo na expressão gênica de HGF após pré-condicionamento com a dose 1 (2,25µM) em relação ao grupo controle, sabe-se que ele está envolvido em diversos processos biológicos, como crescimento celular, proliferação e diferenciação ^{40,41}, alguns estudos sugerem

que as MSCs tratadas com CBD podem aumentar a expressão de HGF ⁴²⁻⁴⁵, hipótese levantada por alguns autores pois o CBD possui a capacidade de modular a proliferação celular ^{46,47}, diferenciação ^{48,49}, possui propriedades antiinflamatórias ^{50,51} e capacidade de potencializar a regeneração tecidual ^{52,53}.

Alguns estudos *in vitro* mostram que o extrato de cannabis rico em CBD pode interagir com as MSCs, melhorando migração celular, regeneração celular, ação antioxidante, em doses de 10 nM, 3 µM, 5 µM até 15 µM respectivamente ^{17,54,55}. Também há evidências que mostram que a pré-estimulação de AT-MSCs e BM-MSCs utilizando CBD e THC, especialmente em doses mais baixas, potencializa o efeito regenerativo das MSCs ⁵⁶.

Um estudo descobriu que o CBD foi capaz de inibir a proliferação e migração de células induzidas pelo HGF em células de câncer de pulmão humano, sugere-se que esse efeito pode ser mediado pela inibição da via de sinalização ERK1/2, pela regulação negativa do receptor do HGF, o c-Met, e pela inibição da via de sinalização STAT3 ^{57,58}, que se sabe estar envolvida na sinalização do HGF ⁵⁹⁻⁶⁴. Sugere-se também que o CBD é capaz de reduzir a fibrose hepática, pois o receptor CB2 possui capacidade anti-fibrótica ⁶⁵. Assim como acredita-se que o HGF desempenha um papel crítico na regeneração do fígado ^{66,67}, e há evidências que sugerem que o CBD pode ter potenciais benefícios terapêuticos para doenças hepáticas ⁶⁸.

A expressão gênica da IDO não demonstrou diferença significativa entre os grupos após pré-condicionamento da cAT-MSCs, no entanto, existem evidências que sugerem que o CBD pode ter propriedades imunomoduladoras e potenciais efeitos anti-inflamatórios ⁶⁹. Sabe-se que a IDO é uma citocina que desempenha um importante papel na regulação das respostas imunes, está envolvida no catabolismo do aminoácido triptofano, que é essencial para o crescimento e proliferação de células, é possível que o CBD possa ter um impacto indireto na atividade do IDO, mas mais pesquisas *in vitro* são necessárias para estabelecer qualquer relação direta ou específica entre os dois ⁷⁰⁻⁷⁶.

A expressão gênica da citocina antiinflamatória IL-10, também conhecida como fator inibidor da síntese de citocinas humanas, não apresentou diferença significativa entre os grupos após pré-condicionamento em ambas as doses testadas no trabalho, no entanto, existem evidências que sugerem que o CBD

pode influenciar a produção e liberação de IL-10. Vários estudos mostraram que o CBD pode promover a produção de IL-10 e aumentar seus níveis em certos modelos experimentais de inflamação ⁷⁷⁻⁷⁹. A IL-10 é conhecida por seus efeitos anti-inflamatórios ⁸⁰⁻⁸⁴, então a regulação positiva da IL-10 pelo CBD sugere um possível mecanismo pelo qual o CBD pode exercer suas propriedades imunomoduladoras.

TNF- α e IFN- γ não apresentaram expressão gênica significativa após o pré-condicionamento, ambas são consideradas citocinas pró-inflamatórias que estão envolvidas na resposta imune, sendo o TNF- α produzido principalmente por macrófagos e desempenhando um papel fundamental na inflamação, apoptose e regulação imunológica e o IFN- γ é produzido por uma variedade de células em resposta a infecções virais e desempenha um papel fundamental na defesa antiviral ⁸⁵⁻⁸⁹. O CBD possui a capacidade de suprimir a produção de citocinas inflamatórias ⁹⁰ e inibir as vias de sinalização envolvidas na sua liberação, isso inclui a modulação negativa do NF- κ B (fator nuclear kappa B), um fator de transcrição que desempenha um papel chave na produção de citocinas inflamatórias, no entanto, é importante observar que os efeitos específicos do CBD sobre INF e TNF podem variar dependendo do contexto e do modelo experimental específico ^{91,92}.

A PTGES2 não apresentou expressão gênica significativa no presente trabalho, no entanto, sabe-se que é uma enzima envolvida na produção de prostaglandina E2 (PGE2), um mediador lipídico que está associado na inflamação e na dor ⁹³⁻⁹⁵. No geral, estudos sugerem que as MSCs pré-condicionadas com CBD são capazes de reduzir a expressão de PTGES2 devido aos seus efeitos anti-inflamatórios ao inibir a atividade de enzimas envolvidas na síntese de prostaglandinas, como a ciclo-oxigenase-2 (COX-2), ou seja, ao inibir a atividade da COX-2, o CBD pode afetar indiretamente a produção de PGE2 e potencialmente influenciar a atividade da PTGES2 ⁹⁶⁻¹⁰¹.

Conclusão

A conclusão deste estudo é que o pré-condicionamento das cAT-MSCs com o extrato de cannabis rico em CBD foi capaz de aumentar a expressão gênica de HGF e diminuir a expressão gênica de BDNF, especialmente na dose mais alta, embora não tenha sido capaz de influenciar a expressão gênica de GDNF, IDO, IL-10, TNF- α , INF- γ e PTGES2.

Considerações finais

A utilização da cannabis no pré-condicionamento das MSCs no campo da medicina veterinária é uma área de pesquisa relativamente nova, e seus potenciais benefícios e riscos ainda não são totalmente compreendidos, sendo necessário estudos adicionais para avaliar os efeitos *in vitro* a partir de diferentes abordagens de pré-condicionamento, viabilidade das MSCs pré-condicionadas em relação a criopreservação, modificações epigenéticas geradas por diferentes abordagens de pré-condicionamento, eficácia para diferentes aplicações clínicas, as melhores fontes de isolamento e o uso de diferentes doses. No geral, a expressão de receptores canabinoides nas MSCs sugere que o SEC pode ter um papel importante na regulação do seu comportamento e função, e que o pré-condicionamento utilizando canabinoides como CBD podem ter potenciais aplicações terapêuticas no campo da medicina regenerativa.

Bibliografia

1. Cital S, Kramer K, Hughston L, et al., (eds). Cannabis Therapy in Veterinary Medicine. Springer International Publishing: Cham; 2021.; doi: 10.1007/978-3-030-68317-7.
2. Klahn P. Cannabinoids-Promising Antimicrobial Drugs or Intoxicants with Benefits? Antibiotics 2020;9(6):297; doi: 10.3390/antibiotics9060297.
3. Hesami M, Pepe M, Baiton A, et al. Current status and future prospects in cannabinoid production through in vitro culture and synthetic biology. Biotechnol Adv 2023;62:108074; doi: 10.1016/j.biotechadv.2022.108074.
4. Woodhams SG, Sagar DR, Burston JJ, et al. The Role of the Endocannabinoid System in Pain. 2015; pp. 119–143; doi: 10.1007/978-3-662-46450-2_7.
5. Duranti A, Beldarrain G, Álvarez A, et al. The Endocannabinoid System as a Target for Neuroprotection/Neuroregeneration in Perinatal Hypoxic–Ischemic Brain Injury. Biomedicines 2022;11(1):28; doi: 10.3390/biomedicines11010028.
6. Valeri A, Mazzon E. Cannabinoids and Neurogenesis: The Promised Solution for Neurodegeneration? Molecules 2021;26(20):6313; doi: 10.3390/molecules26206313.
7. D’Aniello E, Fellous T, Iannotti FA, et al. Identification and characterization of phytocannabinoids as novel dual PPAR α / γ agonists by a computational and in vitro experimental approach. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects 2019;1863(3):586–597; doi: 10.1016/j.bbagen.2019.01.002.
8. Compton AC, Abhyankar V, Stein S, et al. The immunomodulatory role of phytocannabinoids in an *in vitro* peri-implantitis model. Journal of Dental Implant Research 2022;41(4):102–112; doi: 10.54527/jdir.2022.41.4.102.
9. Jones NA, Glyn SE, Akiyama S, et al. Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. Seizure 2012;21(5):344–352; doi: 10.1016/j.seizure.2012.03.001.
10. Kilaru A, Chapman KD. The endocannabinoid system. Essays Biochem 2020;64(3):485–499; doi: 10.1042/EBC20190086.
11. Soliman N, Haroutounian S, Hohmann AG, et al. Systematic review and meta-analysis of cannabinoids, cannabis-based medicines, and endocannabinoid system modulators tested for antinociceptive effects in animal models of injury-related or pathological persistent pain. Pain 2020;162:26–26; doi: 10.1097/j.pain.0000000000002269.
12. Casey S, Vaughan C. Plant-Based Cannabinoids for the Treatment of Chronic Neuropathic Pain. Medicines 2018;5(3):67; doi: 10.3390/medicines5030067.
13. García-Gutiérrez MS, Navarrete F, Gasparyan A, et al. Cannabidiol: A Potential New Alternative for the Treatment of Anxiety, Depression, and Psychotic Disorders. Biomolecules 2020;10(11):1575; doi: 10.3390/biom10111575.

14. Melas PA, Scherma M, Fratta W, et al. Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety and Mood Disorders: Molecular Targets and Epigenetic Insights from Preclinical Research. *Int J Mol Sci* 2021;22(4):1863; doi: 10.3390/ijms22041863.
15. Potschka H, Bhatti SFM, Tipold A, et al. Cannabidiol in canine epilepsy. *The Veterinary Journal* 2022;290:105913; doi: 10.1016/j.tvjl.2022.105913.
16. Klein TW. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat Rev Immunol* 2005;5(5):400–411; doi: 10.1038/nri1602.
17. Yu CHJ, Rupasinghe HPV. Cannabidiol-based natural health products for companion animals: Recent advances in the management of anxiety, pain, and inflammation. *Res Vet Sci* 2021;140:38–46; doi: 10.1016/j.rvsc.2021.08.001.
18. Baranowska-Kuczko M, Kozłowska H, Kloza M, et al. Vasoprotective Endothelial Effects of Chronic Cannabidiol Treatment and Its Influence on the Endocannabinoid System in Rats with Primary and Secondary Hypertension. *Pharmaceuticals* 2021;14(11):1120; doi: 10.3390/ph14111120.
19. Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem* 2006;98(5):1076–1084; doi: 10.1002/jcb.20886.
20. Shi Y, Wang Y, Li Q, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol* 2018;14(8):493–507; doi: 10.1038/s41581-018-0023-5.
21. Shammaa R, El-Kadiry AE-H, Abusarah J, et al. Mesenchymal Stem Cells Beyond Regenerative Medicine. *Front Cell Dev Biol* 2020;8; doi: 10.3389/fcell.2020.00072.
22. Voga M, Kovač V, Majdic G. Comparison of Canine and Feline Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells/Medicinal Signaling Cells With Regard to Cell Surface Marker Expression, Viability, Proliferation, and Differentiation Potential. *Front Vet Sci* 2021;7; doi: 10.3389/fvets.2020.610240.
23. Radmanesh F, Mahmoudi M, Yazdanpanah E, et al. The immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cell-based therapy in human and animal models of systemic lupus erythematosus. *IUBMB Life* 2020;72(11):2366–2381; doi: 10.1002/iub.2387.
24. Wang M, Yuan Q, Xie L. Mesenchymal Stem Cell-Based Immunomodulation: Properties and Clinical Application. *Stem Cells Int* 2018;2018:1–12; doi: 10.1155/2018/3057624.
25. Qin Y, Zhang C. Endothelial progenitor cell-derived extracellular vesicle-mediated cell-to-cell communication regulates the proliferation and osteoblastic differentiation of bone mesenchymal stromal cells. *Mol Med Rep* 2017;16(5):7018–7024; doi: 10.3892/mmr.2017.7403.
26. Harrell CR, Djonov V, Volarevic V. The Cross-Talk between Mesenchymal Stem Cells and Immune Cells in Tissue Repair and Regeneration. *Int J Mol Sci* 2021;22(5):2472; doi: 10.3390/ijms22052472.
27. Park B-W, Jung S-H, Das S, et al. In vivo priming of human mesenchymal stem cells with hepatocyte growth factor-engineered mesenchymal stem cells promotes therapeutic potential for cardiac repair. *Sci Adv* 2020;6(13); doi: 10.1126/sciadv.aay6994.

28. Barrachina L, Remacha AR, Romero A, et al. Priming Equine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells with Proinflammatory Cytokines: Implications in Immunomodulation–Immunogenicity Balance, Cell Viability, and Differentiation Potential. *Stem Cells Dev* 2017;26(1):15–24; doi: 10.1089/scd.2016.0209.
29. Kowalczyk A, Marycz K, Kornicka-Garbowska K, et al. Cannabidiol (CBD) Protects Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (ASCs) against Endoplasmic Reticulum Stress Development and Its Complications. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19(17):10864; doi: 10.3390/ijerph191710864.
30. Mathew SA, Chandravanshi B, Bhonde R. Hypoxia primed placental mesenchymal stem cells for wound healing. *Life Sci* 2017;182:85–92; doi: 10.1016/j.lfs.2017.06.016.
31. Bartosh TJ, Ylostalo JH. Efficacy of 3D Culture Priming is Maintained in Human Mesenchymal Stem Cells after Extensive Expansion of the Cells. *Cells* 2019;8(9):1031; doi: 10.3390/cells8091031.
32. Libro R, Diomedea F, Scionti D, et al. Cannabidiol Modulates the Expression of Alzheimer’s Disease-Related Genes in Mesenchymal Stem Cells. *Int J Mol Sci* 2016;18(1):26; doi: 10.3390/ijms18010026.
33. Petrescu NB, Jurj A, Sorițău O, et al. Cannabidiol and Vitamin D3 Impact on Osteogenic Differentiation of Human Dental Mesenchymal Stem Cells. *Medicina (B Aires)* 2020;56(11):607; doi: 10.3390/medicina56110607.
34. Chang RC, Thangavelu CS, Joloya EM, et al. Cannabidiol promotes adipogenesis of human and mouse mesenchymal stem cells via PPAR γ by inducing lipogenesis but not lipolysis. *Biochem Pharmacol* 2022;197:114910; doi: 10.1016/j.bcp.2022.114910.
35. Fellous T, De Maio F, Kalkan H, et al. Phytocannabinoids promote viability and functional adipogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells through different molecular targets. *Biochem Pharmacol* 2020;175:113859; doi: 10.1016/j.bcp.2020.113859.
36. Miller H, De Leo N, Badach J, et al. Role of marijuana components on the regenerative ability of stem cells. *Cell Biochem Funct* 2021;39(3):432–441; doi: 10.1002/cbf.3609.
37. Kamali A, Oryan A, Hosseini S, et al. Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. *Materials Science and Engineering: C* 2019;101:64–75; doi: 10.1016/j.msec.2019.03.070.
38. Maeda A. Recruitment of Mesenchymal Stem Cells to Damaged Sites by Plant-Derived Components. *Front Cell Dev Biol* 2020;8; doi: 10.3389/fcell.2020.00437.
39. Nie Y, Lau C, Lie A, et al. Defective phenotype of mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2010;19(7):850–859; doi: 10.1177/0961203309361482.
40. Lukomska B, Stanaszek L, Zuba-Surma E, et al. Challenges and Controversies in Human Mesenchymal Stem Cell Therapy. *Stem Cells Int* 2019;2019:1–10; doi: 10.1155/2019/9628536.
41. Hosogane N, Huang Z, Rawlins BA, et al. Stromal derived factor-1 regulates bone morphogenetic protein 2-induced osteogenic differentiation of primary mesenchymal stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2010;42(7):1132–1141; doi: 10.1016/j.biocel.2010.03.020.

42. Martin I, Galipeau J, Kessler C, et al. Challenges for mesenchymal stromal cell therapies. *Sci Transl Med* 2019;11(480); doi: 10.1126/scitranslmed.aat2189.
43. Bieback K, Hecker A, Kocaömer A, et al. Human Alternatives to Fetal Bovine Serum for the Expansion of Mesenchymal Stromal Cells from Bone Marrow. *Stem Cells* 2009;27(9):2331–2341; doi: 10.1002/stem.139.
44. Pacini S. Deterministic and stochastic approaches in the clinical application of mesenchymal stromal cells (MSCs). *Front Cell Dev Biol* 2014;2; doi: 10.3389/fcell.2014.00050.
45. Krueger TEG, Thorek DLJ, Denmeade SR, et al. Concise Review: Mesenchymal Stem Cell-Based Drug Delivery: The Good, the Bad, the Ugly, and the Promise. *Stem Cells Transl Med* 2018;7(9):651–663; doi: 10.1002/sctm.18-0024.
46. Meisel R, Brockers S, Heseler K, et al. Human but not murine multipotent mesenchymal stromal cells exhibit broad-spectrum antimicrobial effector function mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Leukemia* 2011;25(4):648–654; doi: 10.1038/leu.2010.310.
47. Sousa BR, Parreira RC, Fonseca EA, et al. Human adult stem cells from diverse origins: An overview from multiparametric immunophenotyping to clinical applications. *Cytometry Part A* 2014;85(1):43–77; doi: 10.1002/cyto.a.22402.
48. Wagner W, Ho AD. Mesenchymal Stem Cell Preparations—Comparing Apples and Oranges. *Stem Cell Rev* 2007;3(4):239–248; doi: 10.1007/s12015-007-9001-1.
49. D'Ippolito G, Howard GA, Roos BA, et al. Isolation and characterization of marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells. *Exp Hematol* 2006;34(11):1608–1610; doi: 10.1016/j.exphem.2006.07.016.
50. Awan M, Buriak I, Fleck R, et al. Dimethyl sulfoxide: a central player since the dawn of cryobiology, is efficacy balanced by toxicity? *Regenerative Med* 2020;15(3):1463–1491; doi: 10.2217/rme-2019-0145.
51. Alizadeh E, Zarghami N, Eslaminejad MB, et al. The effect of dimethyl sulfoxide on hepatic differentiation of mesenchymal stem cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2016;44(1):157–164; doi: 10.3109/21691401.2014.928778.
52. González-Fernández ML, Pérez-Castrillo S, Ordás-Fernández P, et al. Study on viability and chondrogenic differentiation of cryopreserved adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells for future use in regenerative medicine. *Cryobiology* 2015;71(2):256–263; doi: 10.1016/j.cryobiol.2015.07.007.
53. Hematti P. Mesenchymal stromal cells and fibroblasts: a case of mistaken identity? *Cytherapy* 2012;14(5):516–521; doi: 10.3109/14653249.2012.677822.
54. Martinello T, Bronzini I, Maccatrozzo L, et al. Canine adipose-derived-mesenchymal stem cells do not lose stem features after a long-term cryopreservation. *Res Vet Sci* 2011;91(1):18–24; doi: 10.1016/j.rvsc.2010.07.024.
55. Schmuhl E, Ramer R, Salamon A, et al. Increase of mesenchymal stem cell migration by cannabidiol via activation of p42/44 MAPK. *Biochem Pharmacol* 2014;87(3):489–501; doi: 10.1016/j.bcp.2013.11.016.

56. Ahn S, Yi S, Seo WJ, et al. A Cannabinoid Receptor Agonist N-Arachidonoyl Dopamine Inhibits Adipocyte Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells. *Biomol Ther (Seoul)* 2015;23(3):218–224; doi: 10.4062/biomolther.2014.137.
57. Kogan NM, Mechoulam R. Cannabinoids in health and disease. *Dialogues Clin Neurosci* 2007;9(4):413–430; doi: 10.31887/DCNS.2007.9.4/nkogan.
58. Ren J, Liu N, Sun N, et al. Mesenchymal Stem Cells and their Exosomes: Promising Therapeutics for Chronic Pain. *Curr Stem Cell Res Ther* 2019;14(8):644–653; doi: 10.2174/1574888X14666190912162504.
59. Li L, Feng J, Sun L, et al. Cannabidiol Promotes Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in the Inflammatory Microenvironment via the CB2-dependent p38 MAPK Signaling Pathway. *Int J Stem Cells* 2022;15(4):405–414; doi: 10.15283/ijsc21152.
60. Ruhl T, Kim B-S, Beier JP. Cannabidiol restores differentiation capacity of LPS exposed adipose tissue mesenchymal stromal cells. *Exp Cell Res* 2018;370(2):653–662; doi: 10.1016/j.yexcr.2018.07.030.
61. Rossi F, Bernardo ME, Bellini G, et al. The Cannabinoid Receptor Type 2 as Mediator of Mesenchymal Stromal Cell Immunosuppressive Properties. *PLoS One* 2013;8(11):e80022; doi: 10.1371/journal.pone.0080022.
62. Vidal R, Pilar-Cuellar F, dos Anjos S, et al. New Strategies in the Development of Antidepressants: Towards the Modulation of Neuroplasticity Pathways. *Curr Pharm Des* 2011;17(5):521–533; doi: 10.2174/138161211795164086.
63. Park Y, Watkins BA. Endocannabinoids and Aging—Inflammation, Neuroplasticity, Mood and Pain. 2021; pp. 129–172; doi: 10.1016/bs.vh.2020.12.007.
64. Oddi S, Scipioni L, Maccarrone M. Endocannabinoid system and adult neurogenesis: a focused review. *Curr Opin Pharmacol* 2020;50:25–32; doi: 10.1016/j.coph.2019.11.002.
65. Galve-Roperh I, Aguado T, Palazuelos J, et al. Mechanisms of Control of Neuron Survival by the Endocannabinoid System. *Curr Pharm Des* 2008;14(23):2279–2288; doi: 10.2174/138161208785740117.
66. Bisogno T, Hanuš L, De Petrocellis L, et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol* 2001;134(4):845–852; doi: 10.1038/sj.bjp.0704327.
67. Rodrigues da Silva N, Gomes FV, Sonogo AB, et al. Cannabidiol attenuates behavioral changes in a rodent model of schizophrenia through 5-HT_{1A}, but not CB₁ and CB₂ receptors. *Pharmacol Res* 2020;156:104749; doi: 10.1016/j.phrs.2020.104749.
68. Elmes MW, Kaczocha M, Berger WT, et al. Fatty Acid-binding Proteins (FABPs) Are Intracellular Carriers for Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) and Cannabidiol (CBD). *Journal of Biological Chemistry* 2015;290(14):8711–8721; doi: 10.1074/jbc.M114.618447.
69. ElBatsh MM, Assareh N, Marsden CA, et al. Anxiogenic-like effects of chronic cannabidiol administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2012;221(2):239–247; doi: 10.1007/s00213-011-2566-z.

70. Carniel BP, da Rocha NS. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inflammatory markers: Perspectives for the management of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2021;108:110151; doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110151.
71. Bercik P, Verdu EF, Foster JA, et al. Chronic Gastrointestinal Inflammation Induces Anxiety-Like Behavior and Alters Central Nervous System Biochemistry in Mice. *Gastroenterology* 2010;139(6):2102-2112.e1; doi: 10.1053/j.gastro.2010.06.063.
72. Giacoppo S, Pollastro F, Grassi G, et al. Target regulation of PI3K/Akt/mTOR pathway by cannabidiol in treatment of experimental multiple sclerosis. *Fitoterapia* 2017;116:77–84; doi: 10.1016/j.fitote.2016.11.010.
73. Mori MA, Meyer E, Soares LM, et al. Cannabidiol reduces neuroinflammation and promotes neuroplasticity and functional recovery after brain ischemia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2017;75:94–105; doi: 10.1016/j.pnpbp.2016.11.005.
74. Lin L-FH, Doherty DH, Lile JD, et al. GDNF: a Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor for Midbrain Dopaminergic Neurons. *Science* (1979) 1993;260(5111):1130–1132; doi: 10.1126/science.8493557.
75. Airaksinen MS, Saarma M. The GDNF family: Signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002;3(5):383–394; doi: 10.1038/nrn812.
76. Anand U, Oldfield C, Pacchetti B, et al. Dose-Related Inhibition of Capsaicin Responses by Cannabinoids CBG, CBD, THC and their Combination in Cultured Sensory Neurons. *J Pain Res* 2021;Volume 14:3603–3614; doi: 10.2147/JPR.S336773.
77. Stott CG, Nichol K, Jones NA, et al. The Proposed Multimodal Mechanism of Action of Cannabidiol (CBD) in Epilepsy: Modulation of Intracellular Calcium and Adenosine-mediated Signalling. *Epilepsy & Behavior* 2019;101:106734; doi: 10.1016/j.yebeh.2019.08.009.
78. Wang H, Zheng R, Chen Q, et al. Mesenchymal stem cells microvesicles stabilize endothelial barrier function partly mediated by hepatocyte growth factor (HGF). *Stem Cell Res Ther* 2017;8(1):211; doi: 10.1186/s13287-017-0662-7.
79. Rurali E, Vinci MC, Bassetti B, et al. New Strategies to Enhance Myocardial Regeneration: Expectations and Challenges from Preclinical Evidence. *Curr Stem Cell Res Ther* 2020;15(8):696–710; doi: 10.2174/1574888X15666200225124451.
80. Han D, Li X, Fan W-S, et al. Activation of cannabinoid receptor type II by AM1241 protects adipose-derived mesenchymal stem cells from oxidative damage and enhances their therapeutic efficacy in myocardial infarction mice *via* Stat3 activation. *Oncotarget* 2017;8(39):64853–64866; doi: 10.18632/oncotarget.17614.
81. Kozela E, Pietr M, Juknat A, et al. Cannabinoids Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol Differentially Inhibit the Lipopolysaccharide-activated NF- κ B and Interferon- β /STAT Proinflammatory Pathways in BV-2 Microglial Cells. *Journal of Biological Chemistry* 2010;285(3):1616–1626; doi: 10.1074/jbc.M109.069294.
82. Baswan SM, Klosner AE, Glynn K, et al. <p>Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD) for Skin Health and Disorders</p>. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2020;Volume 13:927–942; doi: 10.2147/CCID.S286411.

83. Kongkadee K, Wisuitiprot W, Ingkaninan K, et al. Anti-inflammation and gingival wound healing activities of *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* (hemp) extract and cannabidiol: An in vitro study. *Arch Oral Biol* 2022;140:105464; doi: 10.1016/j.archoralbio.2022.105464.
84. Rivera P, Romero-Zerbo Y, Pavón FJ, et al. Obesity-dependent cannabinoid modulation of proliferation in adult neurogenic regions. *European Journal of Neuroscience* 2011;33(9):1577–1586; doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07650.x.
85. Tejeda-Martínez AR, Viveros-Paredes JM, Hidalgo-Franco G V., et al. Chronic Inhibition of FAAH Reduces Depressive-Like Behavior and Improves Dentate Gyrus Proliferation after Chronic Unpredictable Stress Exposure. *Behavioural Neurology* 2021;2021:1–14; doi: 10.1155/2021/6651492.
86. Kang M, Lee J, Park S. Cannabidiol induces osteoblast differentiation via angiopoietin1 and p38 <scp>MAPK</scp>. *Environ Toxicol* 2020;35(12):1318–1325; doi: 10.1002/tox.22996.
87. Qi X, Liu C, Li G, et al. Investigation of in vitro odonto/osteogenic capacity of cannabidiol on human dental pulp cell. *J Dent* 2021;109:103673; doi: 10.1016/j.jdent.2021.103673.
88. Bielawiec P, Harasim-Symbor E, Sztolsztener K, et al. Attenuation of Oxidative Stress and Inflammatory Response by Chronic Cannabidiol Administration Is Associated with Improved n-6/n-3 PUFA Ratio in the White and Red Skeletal Muscle in a Rat Model of High-Fat Diet-Induced Obesity. *Nutrients* 2021;13(5):1603; doi: 10.3390/nu13051603.
89. Hassan S, Eldeeb K, Millns PJ, et al. Cannabidiol enhances microglial phagocytosis via transient receptor potential (TRP) channel activation. *Br J Pharmacol* 2014;171(9):2426–2439; doi: 10.1111/bph.12615.
90. Shi J, Sun J, Zhang W, et al. Demineralized Bone Matrix Scaffolds Modified by CBD-SDF-1 α Promote Bone Regeneration via Recruiting Endogenous Stem Cells. *ACS Appl Mater Interfaces* 2016;8(41):27511–27522; doi: 10.1021/acsami.6b08685.
91. Schouten M, Dalle S, Koppo K. Molecular Mechanisms Through Which Cannabidiol May Affect Skeletal Muscle Metabolism, Inflammation, Tissue Regeneration, and Anabolism: A Narrative Review. *Cannabis Cannabinoid Res* 2022;7(6):745–757; doi: 10.1089/can.2022.0220.
92. Sun Y, Dolmetsch RE. Investigating the Therapeutic Mechanism of Cannabidiol in a Human Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Based Model of Dravet Syndrome. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2018;83:185–191; doi: 10.1101/sqb.2018.83.038174.
93. Pan H, Mukhopadhyay P, Rajesh M, et al. Cannabidiol Attenuates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Decreasing Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammation, and Cell Death. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2009;328(3):708–714; doi: 10.1124/jpet.108.147181.
94. Wu J, Chen N, Liu Y, et al. Studies of involvement of G-protein coupled receptor-3 in cannabidiol effects on inflammatory responses of mouse primary astrocytes and microglia. *PLoS One* 2021;16(5):e0251677; doi: 10.1371/journal.pone.0251677.
95. Seltzer ES, Watters AK, MacKenzie D, et al. Cannabidiol (CBD) as a Promising Anti-Cancer Drug. *Cancers (Basel)* 2020;12(11):3203; doi: 10.3390/cancers12113203.

96. Nabissi M, Morelli MB, Amantini C, et al. Cannabidiol stimulates Aml-1a-dependent glial differentiation and inhibits glioma stem-like cells proliferation by inducing autophagy in a TRPV2-dependent manner. *Int J Cancer* 2015;137(8):1855–1869; doi: 10.1002/ijc.29573.
97. Santoni G, Maggi F, Morelli MB, et al. Transient Receptor Potential Cation Channels in Cancer Therapy. *Medical Sciences* 2019;7(12):108; doi: 10.3390/medsci7120108.
98. Morelli MB, Nabissi M, Amantini C, et al. The transient receptor potential vanilloid-2 cation channel impairs glioblastoma stem-like cell proliferation and promotes differentiation. *Int J Cancer* 2012;131(7):E1067–E1077; doi: 10.1002/ijc.27588.
99. Morelli MB, Offidani M, Alesiani F, et al. The effects of cannabidiol and its synergism with bortezomib in multiple myeloma cell lines. A role for transient receptor potential vanilloid type-2. *Int J Cancer* 2014;134(11):2534–2546; doi: 10.1002/ijc.28591.
100. Butowski N. Novel and Prospective Molecular Targets for Therapy of Intracranial Gliomas. 2018; pp. 66–78; doi: 10.1159/000469681.
101. Khan I, Mahfooz S, Hatiboglu MA. Herbal Medicine for Glioblastoma: Current and Future Prospects. *Med Chem (Los Angeles)* 2020;16(8):1022–1043; doi: 10.2174/1573406416666200130100833.
102. Berardis S, Dwisthi Sattwika P, Najimi M, et al. Use of mesenchymal stem cells to treat liver fibrosis: Current situation and future prospects. *World J Gastroenterol* 2015;21(3):742; doi: 10.3748/wjg.v21.i3.742.
103. Mangieri CW, McCartt JC, Strode MA, et al. Perioperative hepatocyte growth factor (HGF) infusions improve hepatic regeneration following portal branch ligation (PBL) in rodents. *Surg Endosc* 2017;31(7):2789–2797; doi: 10.1007/s00464-016-5288-9.
104. Ido A, Moriuchi A, Marusawa H, et al. Translational research on HGF: A phase I/II study of recombinant human HGF for the treatment of fulminant hepatic failure. *Hepatology Research* 2008;38:S88–S92; doi: 10.1111/j.1872-034X.2008.00432.x.
105. Julien B, Grenard P, Teixeira-Clerc F, et al. Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB2 in the liver. *Gastroenterology* 2005;128(3):742–755; doi: 10.1053/j.gastro.2004.12.050.
106. Aziz A, Nguyen LC, Oumeslakht L, et al. Cannabinoids as Immune System Modulators: Cannabidiol Potential Therapeutic Approaches and Limitations. *Cannabis Cannabinoid Res* 2022; doi: 10.1089/can.2022.0133.
107. Jenny M, Santer E, Pirich E, et al. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and cannabidiol modulate mitogen-induced tryptophan degradation and neopterin formation in peripheral blood mononuclear cells in vitro. *J Neuroimmunol* 2009;207(1–2):75–82; doi: 10.1016/j.jneuroim.2008.12.004.
108. Pagano S, Coniglio M, Valenti C, et al. Biological effects of Cannabidiol on normal human healthy cell populations: Systematic review of the literature. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2020;132:110728; doi: 10.1016/j.biopha.2020.110728.
109. Guo Y, Liu Y, Wu W, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase (Ido) inhibitors and their nanomedicines for cancer immunotherapy. *Biomaterials* 2021;276:121018; doi: 10.1016/j.biomaterials.2021.121018.

110. Kadle RL, Abdou SA, Villarreal-Ponce AP, et al. Microenvironmental cues enhance mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation and regulatory T-cell expansion. *PLoS One* 2018;13(3):e0193178; doi: 10.1371/journal.pone.0193178.
111. Lee H-J, Jung H, Kim D-K. IDO and CD40 May Be Key Molecules for Immunomodulatory Capacity of the Primed Tonsil-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Int J Mol Sci* 2021;22(11):5772; doi: 10.3390/ijms22115772.
112. Mellor AL, Lemos H, Huang L. Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Tolerance: Where Are We Now? *Front Immunol* 2017;8; doi: 10.3389/fimmu.2017.01360.
113. Singer NG, Caplan AI. Mesenchymal Stem Cells: Mechanisms of Inflammation. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2011;6(1):457–478; doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130230.
114. Gu Z, Singh S, Niyogi RG, et al. Marijuana-Derived Cannabinoids Trigger a CB2/PI3K Axis of Suppression of the Innate Response to Oral Pathogens. *Front Immunol* 2019;10; doi: 10.3389/fimmu.2019.02288.
115. Kozela E, Juknat A, Kaushansky N, et al. Cannabinoids Decrease the Th17 Inflammatory Autoimmune Phenotype. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* 2013;8(5):1265–1276; doi: 10.1007/s11481-013-9493-1.
116. Weiss L, Zeira M, Reich S, et al. Cannabidiol lowers incidence of diabetes in non-obese diabetic mice. *Autoimmunity* 2006;39(2):143–151; doi: 10.1080/08916930500356674.
117. Rennick DM, Fort MM, Davidson NJ. Studies with IL-10^{-/-} mice: an overview. *J Leukoc Biol* 1997;61(4):389–396; doi: 10.1002/jlb.61.4.389.
118. Gabryšová L, Howes A, Saraiva M, et al. The Regulation of IL-10 Expression. 2014; pp. 157–190; doi: 10.1007/978-3-662-43492-5_8.
119. Groux H, Bigler M, de Vries JE, et al. Inhibitory and Stimulatory Effects of IL-10 on Human CD8⁺ T Cells. *The Journal of Immunology* 1998;160(7):3188–3193; doi: 10.4049/jimmunol.160.7.3188.
120. Nizzoli G, Larghi P, Paroni M, et al. IL-10 promotes homeostatic proliferation of human CD8⁺ memory T cells and, when produced by CD1c⁺ DCs, shapes naive CD8⁺ T-cell priming. *Eur J Immunol* 2016;46(7):1622–1632; doi: 10.1002/eji.201546136.
121. Ip WKE, Hoshi N, Shouval DS, et al. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science* (1979) 2017;356(6337):513–519; doi: 10.1126/science.aal3535.
122. Li W, Liu Q, Shi J, et al. The role of TNF- α in the fate regulation and functional reprogramming of mesenchymal stem cells in an inflammatory microenvironment. *Front Immunol* 2023;14; doi: 10.3389/fimmu.2023.1074863.
123. Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem Pharmacol* 2003;66(8):1403–1408; doi: 10.1016/S0006-2952(03)00490-8.
124. Laha D, Grant R, Mishra P, et al. The Role of Tumor Necrosis Factor in Manipulating the Immunological Response of Tumor Microenvironment. *Front Immunol* 2021;12; doi: 10.3389/fimmu.2021.656908.

125. Walker FC, Sridhar PR, Baldrige MT. Differential roles of interferons in innate responses to mucosal viral infections. *Trends Immunol* 2021;42(11):1009–1023; doi: 10.1016/j.it.2021.09.003.
126. Rodríguez Mesa XM, Moreno Vergara AF, Contreras Bolaños LA, et al. Therapeutic Prospects of Cannabinoids in the Immunomodulation of Prevalent Autoimmune Diseases. *Cannabis Cannabinoid Res* 2021;6(3):196–210; doi: 10.1089/can.2020.0183.
127. Peyravian N, Deo S, Daunert S, et al. The Anti-Inflammatory Effects of Cannabidiol (CBD) on Acne. *J Inflamm Res* 2022;Volume 15:2795–2801; doi: 10.2147/JIR.S355489.
128. Abame MA, He Y, Wu S, et al. Chronic administration of synthetic cannabidiol induces antidepressant effects involving modulation of serotonin and noradrenaline levels in the hippocampus. *Neurosci Lett* 2021;744:135594; doi: 10.1016/j.neulet.2020.135594.
129. Ma H, Xu F, Liu C, et al. A Network Pharmacology Approach to Identify Potential Molecular Targets for Cannabidiol's Anti-Inflammatory Activity. *Cannabis Cannabinoid Res* 2021;6(4):288–299; doi: 10.1089/can.2020.0025.
130. Zou C, Xu F, Shen J, et al. Identification of a Ferroptosis-Related Prognostic Gene PTGS2 Based on Risk Modeling and Immune Microenvironment of Early-Stage Cervical Cancer. *J Oncol* 2022;2022:1–32; doi: 10.1155/2022/3997562.
131. Rausch SM, Gonzalez BD, Clark MM, et al. SNPs in PTGS2 and LTA predict pain and quality of life in long term lung cancer survivors. *Lung Cancer* 2012;77(1):217–223; doi: 10.1016/j.lungcan.2012.02.017.
132. Ke J, Yang Y, Che Q, et al. Prostaglandin E2 (PGE2) promotes proliferation and invasion by enhancing SUMO-1 activity via EP4 receptor in endometrial cancer. *Tumor Biology* 2016;37(9):12203–12211; doi: 10.1007/s13277-016-5087-x.
133. Bacalia KMA, Tveter KM, Palmer H, et al. Cannabidiol Decreases Intestinal Inflammation in the Ovariectomized Murine Model of Postmenopause. *Biomedicines* 2022;11(1):74; doi: 10.3390/biomedicines11010074.
134. Hellmann J, Tang Y, Zhang MJ, et al. Atf3 negatively regulates Ptgs2/Cox2 expression during acute inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2015;116–117:49–56; doi: 10.1016/j.prostaglandins.2015.01.001.
135. Tanaka M, Yagyu K, Sackett S, et al. Anti-Inflammatory Effects by Pharmacological Inhibition or Knockdown of Fatty Acid Amide Hydrolase in BV2 Microglial Cells. *Cells* 2019;8(5):491; doi: 10.3390/cells8050491.
136. Park H-S, Jeong H-Y, Kim Y-S, et al. Anti-microbial and anti-inflammatory effects of Cheonwangbosim-dan against *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *J Vet Sci* 2020;21; doi: 10.4142/jvs.2020.21.e39.
137. Esposito LGA, Overbaugh E, Xiong J, et al. Immune Responses Are Differentially Regulated by Root, Stem, Leaf, and Flower Extracts of Female and Male CBD Hemp (*Cannabis sativa* L.) Plants. *Immuno* 2021;1(4):369–379; doi: 10.3390/immuno1040025.
138. Wang B, Li D, Fiselier A, et al. New AKT-dependent mechanisms of anti-COVID-19 action of high-CBD Cannabis sativa extracts. *Cell Death Discov* 2022;8(1):110; doi: 10.1038/s41420-022-00876-y.

ANEXO 1

FOR-145v01



Nº 0497.22

1 de 1

RELATÓRIO DE ENSAIO

CLIENTE: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –
DCV/CGA

ORÇAMENTO/PROTOCOLO: 0124.22

ENDEREÇO: Rua Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp Botucatu – CEP 18618-681 - Botucatu

AMOSTRA: Extrato rico em CBD diluído em DMSO (1:1)

LOTE: Não Informado

DATA DE FABRICAÇÃO: 01/2022

DATA DE VALIDADE: Não Informado

AMOSTRAGEM: Realizado pelo Cliente

DATA DE RECEBIMENTO: 04/03/2022

REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS: 16/03/2022

EMIÇÃO DOS RESULTADOS: 21/03/2022

RESULTADOS

Ensaio	Especificação do Cliente ¹	Resultado	Método
Determinação do Teor de CBD e THC por HPLC	Não Informada	CBD: 28,12% THC: 0,80%	BIN, A.; LAYTON, C.; HELMUELLER, S. Separation of 16 Cannabinoids in Cannabis Flower and Extracts using a reversed-phase isocratic HPLC method. Waters Corporation - USA. November, 2018 (POP.401)

1. Referência: Interno

Gustavo Bertol
Gerente Técnico

Observação: A presente análise tem valor restrito à amostra recebida pela DALL.
As informações constantes neste Certificado são confidenciais e pertencentes ao solicitante.
É permitida a reprodução desde que integralmente e sem nenhuma alteração.
Conforme § 2º do Art. 6º da RDC 390 / 2020, a DALL deixa sob a responsabilidade da Contratante a transmissão para a Anvisa dos resultados analíticos presentes neste relatório caso pertençam a produtos monitorados pela agência.

ANEXO 2**PROTOCOLO SOLUÇÃO DE MÃE CBD**

- ✓ Para refazer a solução mãe vamos precisar de alguns dados como as concentrações, peso, massa molecular e volume;
- ✓ [] da solução mãe inicial é de 25 mg/ml;
- ✓ Laboratório de análises mandou que a cada 100 g do extrato vamos ter 28,12 g de CBD – porcentagem em (Pcbd/Pextrato);
- ✓ Portanto em 1 g de extrato vamos ter 0,28 g de CBD;



- ✓ Exemplo:
 - 1- Limpar fluxo e deixar na UV por 30 min;
 - 2- Pegar um pote de vidro e tarar ele na balança de precisão;
 - 3- Colocar dentro dele um tudo de ensaio pequeno e tarar também;
 - 4- No fluxo pipetar com uma pipeta de 200 µL a quantidade que você deseja de extrato no tubo de ensaio;
 - 5- Fechar o tubo e levar esse tudo para dentro do pote na balança de precisão;
 - 6- O peso resultante será do extrato;
 - 7- Após obter o peso vamos realizar regra de três para calcular a diluição de uma nova solução mãe;

- ✓ **Exemplo: Montar uma nova solução mãe na [] de 25 mg/ml;**
- ✓ Coloquei no tubo de ensaio 300 µL, sendo 100 µL de extrato e 200 µL de DMSO para diluir melhor;
- ✓ Peso resultante foi de 0,0807 g;

$$\begin{array}{rcl} 1 \text{ g extrato} & \text{-----} & 0,28 \text{ g de CBD} \\ 0,0807 \text{ g} & \text{-----} & X \end{array}$$

$$X = 0,0226 \text{ g ou } 22,6 \text{ mg de CBD}$$

Portanto no peso que eu obtive de 0,0807 g de extrato eu tenho 0,0226 g ou 22,6 mg de CBD;

$$\begin{array}{rcl} 25 \text{ mg} & \text{-----} & 1000 \text{ µL} \\ 22,6 \text{ mg} & \text{-----} & X \end{array}$$

$$X = 904 \text{ µL}$$

Ou seja, para ter uma nova solução mãe na [] de 25 mg/ml eu preciso pegar esses 0,0807 g de extrato e diluir ele em um total de 904 µL de DMSO, porém, sabemos que esses 0,0807 g de extrato estão em 300 µL, ou seja, temos que subtrair:

$$904 \text{ µL} - 300 \text{ µL} = 604 \text{ µL de DMSO}$$

Então para eu montar uma nova solução mãe na [] de 25 mg/ml vou precisar adicionar mais 604 µL de DMSO na quantidade de extrato que pesei, resultando em uma solução de 904 µL na [] de 25 mg/ml;

OBS: Ao retirar extrato tentar diluir em uma pequena quantidade de DMSO para evitar desperdício na pipeta, pois extrato é oleoso e fica grudado;

ANEXO 3

PROTOCOLO SOLUÇÃO DE TRABALHO CBD



- ✓ Fórmula usada para fazer solução trabalho a partir da solução mãe;

$$M = \frac{m}{MM \cdot V}$$

- ✓ M (concentração da solução trabalho em mol/L);
- ✓ m (massa do soluto em g);
- ✓ MM (massa molar do CBD) – 314,5 g/mol;
- ✓ V (volume da solução trabalho que você deseja fazer) – em L;



- ✓ Exemplo: Fazer solução trabalho na concentração de 100 µmol/L ou 100 µM;

- 100 µM

$$100 = \frac{m}{314,5 \cdot 0,02}$$

- ✓ 100 μM é igual a 100 $\mu\text{mol/L}$ e a unidade de medida de M é em mol/L , ou seja, vamos dividir por 10^6 e o V é em L, por este motivo vamos transformar 20 ml em 0,02 L;

$$0,0001 = \frac{m}{314,5 \cdot 0,02}$$

$$m = 0,000629 \text{ g}$$



- ✓ Vamos utilizar a regra de três para calcular a quantidade em μL precisaremos pipetar da Sol. Mãe para fazer a solução trabalho;
- ✓ Sabemos que a [] da solução mãe é de 25 mg/ml, ou seja, 0,025 g a cada 1000 μL ;

$$\begin{array}{l} 0,025 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \mu\text{L} \\ 0,000629 \text{ g} \text{ ----- } X \end{array}$$

$$X = 25,16 \mu\text{L}$$

Portanto precisarei pipetar 25,16 μL de extrato da solução mãe e diluir isso no que falta para 20 ml, ou seja, adicionar 19.974,84 μL de DMEM. Resultando em uma solução trabalho na concentração de 100 μM .

- ✓ Para extrapolar a solução trabalho de 100 μM para outras concentrações vamos utilizar a fórmula abaixo:

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

- ✓ Exemplos: Extrapolar nas [] de 50 μM , 25 μM , 5 μM e 1 μM ;

- 50 μM

$$100 \mu\text{M} \cdot V1 = 50 \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 2,5 \text{ ml ou } 2500 \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 50 μM vamos precisar pipetar 2500 μL da solução trabalho de 100 μM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 2500 μL de DMEM;**

- 25 μM

$$100 \mu\text{M} \cdot V1 = 25 \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 1,25 \text{ ml ou } 1250 \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 25 μM vamos precisar pipetar 1250 μL da solução trabalho de 100 μM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 3750 μL de DMEM;**

- 5 μM

$$100 \mu\text{M} \cdot V1 = 5 \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml ou } 250 \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 5 μM vamos precisar pipetar 250 μL da solução trabalho de 100 μM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 4750 μL de DMEM;**

- 1 μ M

$$100 \mu\text{M} \cdot V1 = 1 \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,05 \text{ ml ou } 50 \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 1 μ M vamos precisar pipetar 50 μ L da solução trabalho de 100 μ M e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 4950 μ L de DMEM;**



- Para concentrações menores de 1 μ M, fazemos uma nova solução trabalho utilizando a concentração de 900 nM;

$$100 \mu\text{M} \cdot V1 = 0,9 \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,045 \text{ ml ou } 45 \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,9 μ M ou 900 nM vamos precisar pipetar 45 μ L da solução trabalho de 100 μ M e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 4955 μ L de DMEM;**

- Agora utilizando a concentração de 900 nM vamos extrapolar para outras [], como 800 nM, 700 nM, 600 nM, 500 nM, 400 nM, 300 nM, 200 nM e 100 nM;

- 800 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,8 \text{ }\mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 4,44 \text{ ml ou } 4440 \text{ }\mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,8 μ M ou 800 nM vamos precisar pipetar 4440 μ L da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 560 μ L de DMEM;**

- 700 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,7 \text{ }\mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 3,88 \text{ ml ou } 3880 \text{ }\mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,7 μ M ou 700 nM vamos precisar pipetar 3880 μ L da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 1120 μ L de DMEM;**

- 600 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,6 \text{ }\mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 3,33 \text{ ml ou } 3330 \text{ }\mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,6 μ M ou 600 nM vamos precisar pipetar 3330 μ L da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 1670 μ L de DMEM;**

- 500 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,5 \text{ } \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$
$$V1 = 2,77 \text{ ml ou } 2770 \text{ } \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,5 μM ou 500 nM vamos precisar pipetar 2270 μL da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 2230 μL de DMEM;**

- 400 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,4 \text{ } \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$
$$V1 = 2,22 \text{ ml ou } 2220 \text{ } \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,7 μM ou 700 nM vamos precisar pipetar 2220 μL da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 2780 μL de DMEM;**

- 300 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,3 \text{ } \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$
$$V1 = 1,66 \text{ ml ou } 1660 \text{ } \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,6 μM ou 600 nM vamos precisar pipetar 1660 μL da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 3340 μL de DMEM;**

- 200 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,2 \text{ } \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$
$$V1 = 1,11 \text{ ml ou } 1110 \text{ } \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,5 μM ou 500 nM vamos precisar pipetar 1110 μL da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 3890 μL de DMEM;**

- 100 nM

$$0,9 \text{ nM} \cdot V1 = 0,1 \text{ } \mu\text{M} \cdot 5 \text{ ml}$$
$$V1 = 0,55 \text{ ml ou } 550 \text{ } \mu\text{L}$$

Portanto para fazer uma solução na [] de 0,7 μM ou 700 nM vamos precisar pipetar 550 μL da solução trabalho de 900 nM e adicionar o restante para 5 ml de DMEM, ou seja, **adicionar 4450 μL de DMEM;**