

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAIS YGLÉCIAS MATTOS ORTEGA

EFICÁCIA TERAPÊUTICA PRÉ-CLÍNICA TÓPICA DE UM NOVO ÓLEO DE  
CANNABIS *FULL SPECTRUM* PARA O TRATAMENTO DA PSORÍASE

CURITIBA

2023

LAIS YGLÉCIAS MATTOS ORTEGA

EFICÁCIA TERAPÊUTICA PRÉ-CLÍNICA TÓPICA DE UM NOVO ÓLEO DE  
CANNABIS *FULL SPECTRUM* PARA O TRATAMENTO DA PSORÍASE

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Daniela de Almeida Cabrini

Co-orientador: Prof. Dr. Michel Fleith Otuki

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Ortega, Lais Yglécias Mattos

Eficácia terapêutica pré-clínica tópica de um novo óleo de cannabis *full* spectrum para o tratamento de psoríase / Lais Yglécias Mattos Ortega. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Daniela de Almeida Cabrini.

Co-orientador: Prof. Dr. Michel Fleith Otuki.

1. Cannabis. 2. Psoríase. 3. Doenças inflamatórias da pele. I. Cabrini, Daniela de Almeida, 1970. II. Otuki, Michel Fleith. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. IV. Título.

## **ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRA EM FARMACOLOGIA**

No dia vinte e quatro de julho de dois mil e vinte e tres às 13:30 horas, na sala PG, Anexo 1, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de dissertação da mestranda **LAIS YGLÉCIAS MATTOS ORTEGA**, intitulada: **EFICÁCIA TERAPÊUTICA PRÉ-CLÍNICA TÓPICA DE UM NOVO ÓLEO DE CANNABIS FULL SPECTRUM PARA O TRATAMENTO DA PSORÍASE**, sob orientação da Profa. Dra. DANIELA DE ALMEIDA CABRINI. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: DANIELA DE ALMEIDA CABRINI (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), BRUNA DA SILVA SOLEY (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), SERGIO JOSE MACEDO JUNIOR (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de mestra está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, DANIELA DE ALMEIDA CABRINI, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 24 de Julho de 2023.

Assinatura Eletrônica

26/07/2023 10:04:54.0

DANIELA DE ALMEIDA CABRINI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

26/07/2023 10:04:09.0

BRUNA DA SILVA SOLEY

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

26/07/2023 13:52:34.0

SERGIO JOSE MACEDO JUNIOR

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LAIS YGLÉCIAS MATTOS ORTEGA** intitulada: **EFICÁCIA TERAPÊUTICA PRÉ-CLÍNICA TÓPICA DE UM NOVO ÓLEO DE CANNABIS FULL SPECTRUM PARA O TRATAMENTO DA PSORÍASE**, sob orientação da Profa. Dra. DANIELA DE ALMEIDA CABRINI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Julho de 2023.

Assinatura Eletrônica

26/07/2023 10:04:54.0

DANIELA DE ALMEIDA CABRINI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

26/07/2023 10:04:09.0

BRUNA DA SILVA SOLEY

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

26/07/2023 13:52:34.0

SERGIO JOSE MACEDO JUNIOR

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Aos meus filhos e esposo pela compreensão nos momentos de ausência.

A toda minha família que me apoiou e incentivou em todo este ciclo.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Daniela de Almeida Cabrini e Michel Fleith Otuki, por todo ensinamento, auxílio, compreensão e disponibilidade, contribuindo sempre para uma formação de qualidade, estimulando o protagonismo dos alunos, oferecendo oportunidades, conhecimento e auxiliando no desenvolvimento de diversas habilidades. Muito obrigada pela paciência, dedicação e confiança.

Aos amigos do laboratório PELLE, Maria Heloisa Barbieri, Kaue César Sá Justo e Fernando Zonzini por todo o apoio, parceria, pelos ensinamentos e momentos compartilhados. Em especial a Maria Heloisa por sempre estar disposta a ajudar e apoiar cada passo do trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, pelos ensinamentos e apoio.

Aos servidores do Departamento de Farmacologia e Biotério, e todos os colegas de pós-graduação.

Ao meu esposo e aos meus filhos que me deram força e motivação em todos os momentos.

À CAPES, CNPq e INCT-INOVAMED pelo apoio financeiro.

A empresa Aura Pharma pelo fornecimento do novo óleo *full* de cannabis.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto.

Muito obrigada!

## RESUMO

Uma grande variedade de produtos da *Cannabis sativa* está sendo cada vez mais procurada por pacientes e médicos, devido aos estudos científicos na área, como uma possível forma de aprimorar o resultado terapêutico para várias doenças. Alguns estudos destacam o potencial terapêutico de extratos da *C. sativa* e de seus fitocanabinóides para uma variedade de doenças de pele, incluindo acne, dermatite atópica, psoríase, prurido e dor. No entanto, quase nenhum estudo verificou o efeito tópico desses produtos na pele. O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito tópico de um óleo de cannabis de espectro total (OF) em camundongos. Os efeitos do OF foram avaliados topicamente e intraperitonealmente, em modelo de inflamação de pele após múltiplas aplicações tópicas de TPA (12-tetradecanoilforbol-13-acetato), por 9 dias. Foram avaliados ainda os efeitos do OF, por via tópica, em modelo de psoríase induzida por imiquimode (IMQ), por 7 dias, em camundongos C57BL/6, com  $n$  entre 3 e 8 animais por grupo. A droga de referência (controle positivo) utilizada em ambos os modelos foi a hidrocortisona, 0,05 mg/orelha, uma vez ao dia (modelo TPA) e 0,05 mg, uma vez ao dia (modelo IMQ). No modelo de TPA foram avaliados edema de orelha, histologia e bem-estar animal. No modelo IMQ foram analisados a gravidade da psoríase (PASI), prurido espontâneo, bem-estar animal e análise histopatológica. O edema de orelha causado por múltiplas aplicações de TPA (2,5 µg/orelha/20 µL) foi reduzido por OF tópico 10% e 20%, e por OF intraperitoneal (IP) (10 mg/kg) a partir do quarto dia de aplicação e durou até o final do experimento (nono dia). A redução do peso da orelha ao final do experimento foi significativa para OF tópico 20% e hidrocortisona. Espessura da orelha e o infiltrado celular demonstrou melhora significativa em todos os tratamentos, enquanto a espessura da epiderme reduziu significativamente para OF tópico 10 e 20%. A avaliação do bem-estar animal apresentou melhor pontuação de nidificação com OF tópico 20%. No modelo de IMQ, o OF creme 20% causou redução da pontuação em relação ao controle, a partir do quarto dia de protocolo experimental, na avaliação do escore PASI (eritema, descamação e escarificação). As análises histológicas mostraram celularidade e espessura epidérmica mais acentuadas nos grupos IMQ e veículo, enquanto tratamentos com OF creme 20% e droga de referência promoveram menor infiltração celular e redução da hiperplasia epidérmica induzida por IMQ. Na avaliação do bem-estar animal não houve diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto na avaliação de prurido espontâneo houve melhora para grupo tratado com OF creme 20%. Nosso estudo demonstra que o OF foi eficaz em melhorar o bem-estar animal, edema e espessura da orelha no modelo TPA. No modelo IMQ, o OF foi eficaz em melhorar gravidade da inflamação e prurido da pele psoriática, além de melhorar a análise histológica. Em ambos os modelos, o OF usado topicamente, foi capaz de inibir os parâmetros inflamatórios, como infiltração celular e hiperplasia epidérmica. A vantagem terapêutica deste produto de cannabis pode ser cada vez mais evidente e mostra grande potencial para o tratamento de várias condições patológicas da pele por meio de aplicação tópica.

**Palavras-chave:** Cannabis. *Cannabis sativa*. Psoríase. Inflamação de pele. Óleo *full* de cannabis.

## ABSTRACT

A wide variety of *Cannabis sativa* products are being increasingly sought after by patients and doctors, due to scientific studies in the area, as a possible way to improve the therapeutic result for various diseases. Some studies highlight the therapeutic potential of *C. sativa* extracts and its phytocannabinoids for a variety of skin conditions, including acne, atopic dermatitis, psoriasis, itching and pain. However, almost no studies have verified the topic effect of these products on the skin. The present study was carried out with the aim of evaluating the topic effect of a full-spectrum (OF) cannabis oil in mice. The effects of OF were evaluated topically and intraperitoneally, in a model of skin inflammation after multiple topic applications of TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate), for 9 days. The effects of OF, topically, were also evaluated in a model of psoriasis induced by imiquimod (IMQ), for 7 days, in C57BL/6 mice, with *n* between 3 and 8 animals per group. The reference drug (positive control) used in both models was hydrocortisone, 0.05 mg/ear once a day (TPA model) and 0.05 mg once a day (IMQ model). In the TPA model, ear edema, histology and animal welfare were evaluated. In the IMQ model, psoriasis severity (PASI), spontaneous pruritus, animal welfare and histopathological analysis were analyzed. Ear edema caused by multiple applications of TPA (2.5 µg/ear/20 µL) was reduced by topic OF 10% and 20%, and by intraperitoneal (IP) OF (10 mg/kg) from the fourth day onwards of application and lasted until the end of the experiment (ninth day). The reduction in ear weight at the end of the experiment was significant for topic OF 20% and hydrocortisone. Ear thickness and cellular infiltrate showed significant improvement in all treatments, while epidermal thickness significantly reduced for topic OF 10 and 20%. The evaluation of animal welfare showed a better nesting score with topic OF 20%. In the IMQ model, the 20% OF cream caused a reduction in the score in relation to the control, from the fourth day of the experimental protocol, in the evaluation of the PASI score (erythema, desquamation and scarification). Histological analyzes showed more pronounced epidermal cellularity and thickness in IMQ and vehicle groups, while treatments with OF cream 20% and reference drug promoted less cellular infiltration and reduction of epidermal hyperplasia induced by IMQ. In the evaluation of animal welfare, there were no significant differences between treatments, while in the evaluation of spontaneous pruritus, there was improvement for the group treated with OF cream 20%. Our study demonstrates that the OF was effective in improving animal welfare, edema and ear thickness in the TPA model. In the IMQ model, the OF was effective in improving the severity of inflammation and itching of the psoriatic skin, in addition to improving the histological analysis. In both models, the OF used topically was able to inhibit inflammatory parameters, such as cellular infiltration and epidermal hyperplasia. The therapeutic advantage of this cannabis product may be increasingly evident and it shows great potential for the treatment of various pathological skin conditions through topic application.

**Keywords:** Cannabis. *Cannabis sativa*. Psoriasis. Skin inflammation. Full spectrum cannabis oil.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> – Representação esquemática da imunopatogênese da Psoríase.....	17
<b>FIGURA 2</b> – Representação esquemática do delineamento experimental do modelo de inflamação induzida por TPA.....	26
<b>FIGURA 3</b> – Representação esquemática do delineamento experimental do modelo de psoríase induzida por IMQ.....	27
<b>FIGURA 4</b> – Representação esquemática da avaliação do bem-estar animal a partir do teste de construção de ninho.....	29
<b>FIGURA 5</b> – Representação esquemática da avaliação do prurido espontâneo.....	30
<b>FIGURA 6</b> – Representação esquemática da avaliação do labirinto em cruz elevada .....	31
<b>FIGURA 7</b> – Efeito do OF no edema de orelha induzido por TPA.....	35
<b>FIGURA 8</b> – Efeito do OF tópico 10 e 20% na inflamação crônica da pele.....	36
<b>FIGURA 9</b> – Avaliação do bem-estar animal após múltiplas aplicações de TPA e tratamentos (OF 10 e 20%, OF IP, hidrocortisona) na orelha de camundongos.....	37
<b>FIGURA 10</b> – Avaliação do efeito do creme OF no desenvolvimento e progressão do escore PASI induzido pelo IMQ.....	39
<b>FIGURA 11</b> – Efeito do OF no modelo de psoríase induzida por IMQ.....	40
<b>FIGURA 12</b> – Avaliação do bem-estar animal e prurido espontâneo após modelo de psoríase induzida por IMQ com prurido espontâneo e tratamento com OF creme 20%.....	41
<b>FIGURA 13</b> – Avaliação da ansiedade animal após modelo de psoríase induzida por IMQ.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AEA - Anandamida;

AEs - anti-inflamatório esteroidal;

2-AG - 2-Araquidonoilglicerol;

ALFAC - Solução de álcool, formaldeído e ácido acético glacial;

AMPs - peptídeos antimicrobianos;

ANOVA – Análise de variância;

ARRIVE - Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments Guidelines;

CEUA/BIO - Comitê de Ética em Uso de Animais da Seção de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná;

CAA - Células apresentadoras de antígenos;

CB1 – Receptor canabinóide 1;

CB2 – Receptor canabinóide 2;

CBD - canabidiol;

CCL20 - CC- Ligante de quimiocina 20;

CD – Células dendríticas;

CDm - Células dendríticas mielóides;

CDp - Células dendríticas plasmocitóides;

CL - Células de Langerhans;

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal;

DNA - Ácido desoxirribonucleico;

EPM – Erro padrão da média;

H&E – Hematoxilina e Eosina;

IP – intraperitoneal;

IL-11- Interleucina 11;

IL-12 - Interleucina 12;

IL-17 - Interleucina 17;

IL-23 - Interleucina 23;

IMQ – Imiquimod;

IP – Administração intraperitoneal;

LPS – lipopolisacarídeo;

NO – óxido nítrico;

OF – Óleo *full* espectro de Cannabis;

PASI - Área de Psoríase e Índice de Gravidade (do inglês, "*Psoriasis Area Severity Index*");

PGA - avaliação global do médico;

SALT - Tecido linfóide associado à pele;

SNC - Sistema nervoso central;

Th1 - Célula T helper 1;

Th2 - Célula T helper 2;

Th9 - Célula T helper 9;

Th17- Célula T helper 17;

Th22 - Célula T helper 22;

THC -  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol;

TLRs - Receptores *toll-like*;

TNF - Fator de necrose tumoral;

TPA - 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato;

UV – ultravioleta;

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1 Pele e processos inflamatórios.....	11
1.2 Psoríase.....	13
1.3 Mecanismo fisiopatológico da psoríase.....	15
1.4 <i>Cannabis sativa</i> .....	17
1.5 Canabinóides.....	18
1.6 Sistema Endocanabinóide da pele.....	20
1.7 Papel anti-inflamatório dos canabinóides.....	21
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	21
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	22
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	23
4.1 Animais.....	23
4.2 Óleo <i>full</i> espectro de Cannabis.....	24
4.3 Modelo de inflamação de pele induzida por TPA.....	25
4.4 Modelo de psoríase induzida por IMQ.....	26
4.5 Gravidade da inflamação induzida por IMQ.....	27
4.6 Teste de construção de ninho.....	28
4.7 Teste de prurido espontâneo.....	29
4.8 <i>Plus maze</i> - Teste do labirinto em cruz elevada.....	30
4.9 Avaliação histológica da epiderme e derme.....	31
4.10 Análise estatística.....	32
<b>5. RESULTADOS</b> .....	32
5.1 Efeito do OF no processo inflamatório cutâneo agudo e crônico no edema de orelha induzido por TPA.....	32
5.2 Efeito do OF no processo inflamatório induzido por IMQ.....	38
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	42
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	50
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Pele e processos inflamatórios

A pele é responsável por muitos processos complexos e dinâmicos na manutenção de funções de barreira e imunológicas, além de produção de melanina, síntese de vitamina D, sensações, regulação térmica, proteção contra traumas e composição estética (BOHJANEN, 2017). A epiderme compreende as barreiras físicas, químicas/bioquímicas (antimicrobianas, imunidade inata) e imunológicas adaptativas (PROKSCH *et al.*, 2008). A barreira epidérmica, criada pela diferenciação dos queratinócitos, protege a pele de microrganismos, substâncias químicas, traumatismos físicos e perda de água. As células epiteliais na interface entre a pele e o meio ambiente representam a primeira linha de defesa via sistema imune inato. A ativação mediada por receptores semelhantes ao *toll* (TLRs) das células epiteliais também está associada à produção de defensinas e catelicidinas, famílias de peptídeos antimicrobianos. Células dendríticas (CDs) fazem a ponte entre o sistema imune inato e o adaptativo. As CDs dérmicas podem induzir a auto proliferação de células T e a produção de citocinas (BOHJANEN, 2017).

Durante a evolução, a pele desenvolveu um ambiente imunológico específico conhecido como tecido linfóide associado à pele (SALT). O SALT consiste principalmente em células de Langerhans (CL) e células apresentadoras de antígenos dérmicos (CAA), que circulam entre a pele e os gânglios linfáticos; queratinócitos e células endoteliais, que produzem uma ampla gama de citocinas imunes e reguladoras do crescimento; e linfócitos, que extravasam da circulação para a pele. Todos os componentes trabalham em conjunto para otimizar a detecção de antígenos ambientais (DE BENEDICTIS *et al.*, 1993)

A inflamação da pele pode ser induzida por vários estímulos externos (radiação UV, exposição a alérgenos, infecção, contato com irritantes ou estímulos mecânicos), bem como devido a fatores intrínsecos, por exemplo, respostas autoimunes, mutações hereditárias, etc. Distúrbios inflamatórios da pele são caracterizadas pela ativação do sistema imune inato e/ou adaptativo, aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e mudança da expressão gênica e

programa comportamental em queratinócitos e fibroblastos para o fenótipo de cicatrização de feridas. Dependendo da citocina, da prevalência de células imunológicas específicas e da extensão da reação, diferentes tipos de inflamação na pele podem se desenvolver (SHUTOVA *et al.*, 2022).

As doenças inflamatórias da pele podem ser produzidas por causas exógenas ou endógenas. Na dermatite de contato, o rompimento da barreira por irritantes e alérgenos é o evento primário, seguido de sensibilização, inflamação, aumento da proliferação epidérmica e alterações na diferenciação. Na dermatite atópica e na psoríase, é discutível se a ruptura da barreira de permeabilidade é seguida por inflamação ou se a inflamação leva a alterações epidérmicas, incluindo disfunção da barreira (PROKSCH *et al.*, 2008). A integridade da barreira epidérmica e sua eficiência são importantes na regulação da síntese do DNA epidérmico. Quando há uma interferência na integridade da função da barreira da pele, desenvolve-se uma hiperplasia epidérmica, sendo um estímulo para doenças cutâneas hiperproliferativas, como a psoríase (WOLF *et al.*, 2012).

Os queratinócitos compreendem 90% das células encontradas na epiderme e são capazes de desencadear uma resposta imune. Além de seu papel na manutenção da barreira de queratina, os queratinócitos são bioquimicamente ativos por dar suporte a outros componentes celulares do microambiente epitelial (DE BENEDICTIS *et al.*, 1993). Os queratinócitos desempenham um papel ativo na geração e expressão de respostas imunes protetoras e imunopatológicas. Em doenças de pele geneticamente determinadas, como dermatite atópica e psoríase, os queratinócitos podem ter anormalidades intrínsecas na capacidade de responder ou produzir moduladores imunológicos (ALBANESI, 2005).

Os neutrófilos desempenham um papel fundamental na defesa antimicrobiana do hospedeiro (principalmente na imunidade inata) reconhecendo microrganismos através de seus vários sistemas de receptores e formando uma das primeiras linhas de defesa contra os microrganismos invasores (NEMETH *et al.*, 2012). O acúmulo de neutrófilos é uma característica de doenças inflamatórias cutâneas e a presença destes em lesões de pele pode ter relação com a fisiopatologia do processo. Durante a infecção, os neutrófilos podem reverter ou acentuar o processo inflamatório. Em ambos os casos, a quantidade de neutrófilos

na pele pode ser tomada como uma medida da intensidade do processo da doença (BRADLEY *et al.*, 1982).

A maioria das condições inflamatórias crônicas da pele, como psoríase, não têm etiologia e fisiopatologia elucidadas. Desta forma, tratamentos terapêuticos atuais não são eficazes ou podem mostrar efeitos colaterais indesejáveis quando eficaz. A falta de terapia ideal defende a necessidade de buscar intervenções seguras e eficazes que previnam o edema, o extravasamento de plasma e o recrutamento de mediadores inflamatórios para combater reações inflamatórias excessivas (STERN *et al.*, 2004).

## 1.2 Psoríase

A psoríase é uma doença da pele, inflamatória e crônica que possui uma fisiopatologia complexa e se caracteriza por um distúrbio do sistema imunológico. Afeta mais de 120 milhões de pessoas no mundo todo e confere sofrimento físico e psicológico significativo, resultando em um impacto prejudicial na qualidade de vida do paciente (AYALA-FONTANÉZ, *et al.*, 2016). Mulheres e homens são afetados igualmente e a doença pode se manifestar em qualquer idade, mas o início geralmente ocorre entre 18 e 39 anos ou entre 50 e 69 anos (GREB, *et al.*, 2016).

Diversos fatores podem desencadear a psoríase, como traumas, infecções, medicamentos, predisposição genética, queimaduras solares, lesões, estresse severo e deficiência de vitamina D (HARSHA, 2021). A doença se caracteriza pelo aparecimento de lesões na pele resultantes do acúmulo de células da epiderme, causando manchas, placas, escamas e espessamento da superfície da pele. Além disso, pode causar edema, coceira, dor, queimação e as vezes até sangramento. Os locais mais comuns de ocorrência da psoríase são nos joelhos, couro cabeludo, cotovelos e pernas (HARSHA, 2021). No entanto, pode ocorrer em qualquer outra parte do corpo (BOLOGNIA, 2015).

A gravidade das placas é quantificada por dois sistemas de pontuação principais: o índice de área e gravidade da psoríase (PASI) e a avaliação global do médico (PGA). A escala PASI permite quantificar a extensão da doença como medida

de área e intensidade (eritema, endurecimento, descamação e área de superfície corporal). O PGA calcula uma avaliação global estática ou dinâmica da gravidade da lesão (AYALA-FONTANÉZ, 2016).

A psoríase é caracterizada também por ser uma doença sistêmica, associada a outras comorbidades, como artrite psoriática, doenças cardiovasculares, doenças autoimunes, doenças psiquiátricas, ansiedade, depressão e desconforto social. A doença aumenta a liberação de citocinas pró-inflamatórias e a ativação de células relacionadas ao sistema imunológico inato e adaptativo, que causam danos a longo prazo a vários tecidos e órgãos (GREB *et al*, 2016).

O tratamento do paciente psoriático precisa focalizar não apenas a pele, mas também as comorbidades existentes e as que possam vir a se desenvolver. Um regime de tratamento adequado para um paciente específico é selecionado a partir da medicação sistêmica e tópica disponível, além de fototerapia (BOLOGNIA, 2015).

Atualmente a psoríase leve é geralmente tratada com terapia tópica isolada ou em combinação com outros agentes. As principais classes de terapias tópicas na psoríase são por exemplo: alcatrão de carvão, ditranol (antralina), análogos da vitamina D, corticosteroides, ceratolíticos, inibidores de calcineurina e retinóides (AYALA-FONTANÉZ, 2016). O alcatrão de carvão tem sido usado no tratamento da psoríase há mais de cem anos, no entanto, os efeitos adversos do alcatrão de carvão incluem baixa tolerância em pacientes devido ao seu odor e coloração, irritação da pele, dermatite de contato, foliculite e fotossensibilidade, além disso, potencial carcinogênico em humanos, bem como em vários modelos animais (MENTER, 2009). A antraciclina seu uso diminuiu a alguns efeitos secundários que incluem irritação e descoloração da pele, bem como bolhas e necrose quando usado em excesso. Os análogos da vitamina D atualmente disponíveis para o tratamento da psoríase são calcitriol, tacalcitol e calcipotriol (LAWS, *et al*, 2009). A irritação da pele e a fotossensibilidade são os efeitos colaterais mais comuns dos análogos da vitamina D (NAST, *et al*, 2006).

Os corticosteroides incluem os medicamentos tópicos mais importantes e frequentemente utilizados para a psoríase. Eles são usados para todos os graus de psoríase em placas como monoterapia ou como complemento de terapias sistêmicas. O efeito no metabolismo celular pode variar e a resposta terapêutica é mediada por

efeitos vasoconstritores, anti-inflamatórios e imunossupressores. A eficácia e efeitos colaterais dependem da potência, veículo, oclusão e adesão do paciente (LAWS, *et al*, 2009). Alguns efeitos colaterais sistêmicos observados após terapias com corticosteroides incluem hipertensão, osteoporose, catarata, glaucoma e diabetes, entre outros (AYALA-FONTÁNEZ, 2016).

Pacientes com psoríase moderada a grave são geralmente tratados com fototerapia e produtos biológicos sistêmicos, mas o uso de medicamentos tópicos em combinação com essas terapias pode ser útil na redução da quantidade de outras terapias necessárias para atingir o controle da doença (AYALA-FONTÁNEZ, 2016). Ainda existe a terapia sistêmica para pacientes com psoríase moderada a grave e podem ser utilizados medicamentos como o metotrexato e ciclosporina (BOLOGNIA, 2015).

Até o momento, nenhum tratamento demonstrou curar a doença, por isso é aconselhada orientação psicológica ao paciente e à família sobre a evolução da doença e as estratégias de tratamento (BOLOGNIA, 2015). O tratamento da psoríase precisa ser individualizado, levando em consideração o grau da psoríase e seus efeitos na qualidade de vida do paciente, os benefícios prováveis e os efeitos colaterais em potencial de tratamentos específicos. A natureza crônica da psoríase requer uma abordagem de longo prazo que evite “curas” de curto prazo que podem resultar em um estágio mais reativo da doença (GREB, *et al*, 2016).

### **1.3 Mecanismo fisiopatológico psoríase**

Na psoríase algumas populações de células têm papéis centrais, como os queratinócitos, as CD8 e as células T. A patogênese da psoríase tem a fase de iniciação que desencadeia a inflamação patológica, seguido por uma fase inflamatória crônica e sinais de amplificação (GREB, *et al*, 2016).

Os principais mediadores de doenças incluem peptídeos antimicrobianos (AMPs), que auxiliam na proteção contra patógenos, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, como TNF, IL-23, IL-17, IL-11 e CC- ligante de quimiocina 20 (CCL20), entre vários outros (GREB, *et al*, 2016).

Diversos fatores podem desencadear a psoríase e por alguma razão podem causar a liberação de auto nucleotídeos que vão formar complexos com os AMPs (TAKAHASHI, T., YAMASAKI, K, 2020). Os AMPs são liberados dos queratinócitos e juntamente com auto nucleotídeos vão se ligar a receptores na superfície de CDs, que são as células apresentadoras de antígeno. As CDs são essenciais, não apenas como apresentadoras de antígenos, mas também são produtoras de citocinas, ativando uma expansão clonal de células T CD8+. Este processo ativa também células residentes e células T de nódulos linfáticos (AYALA-FONTÁNEZ, 2016; GREB, 2016; LOWES, 2014).

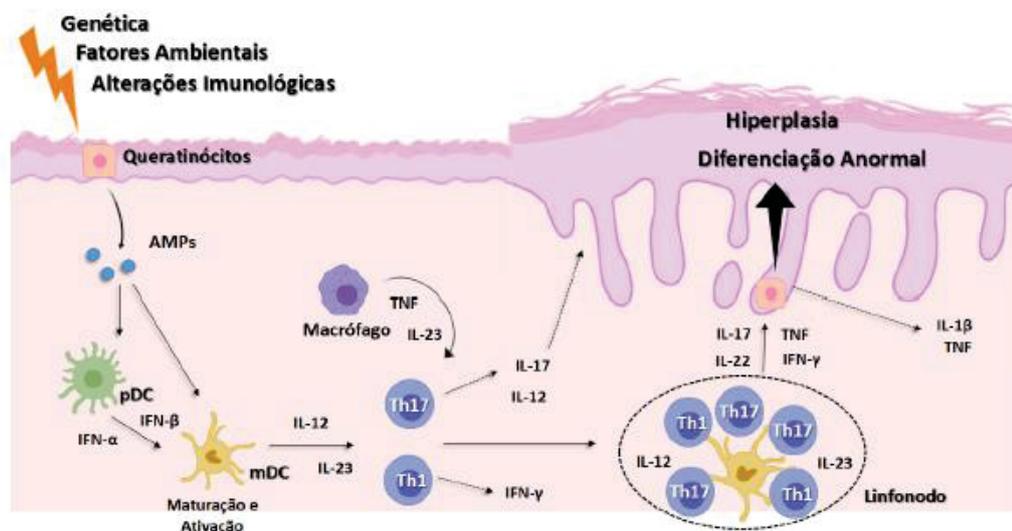
A sinalização de células T é essencial para compreender a patogênese, tratamento e comorbidades associadas à psoríase. Múltiplas linhagens de células T têm sido descritas, incluindo células T helper 1 (Th1), Th2, Th9, Th17, Th22 e células T regulatórias. Cada linhagem de células T produz suas próprias citocinas, por meio de um conjunto de fatores de transcrição (LOWES, 2014; GREB, 2016; SHON, 2019).

Posteriormente, as células T CD8 + ativadas migram até a epiderme, na superfície de queratinócitos e desencadeiam a liberação local de citocinas, quimiocinas e mediadores imunes, que podem aumentar ainda mais a inflamação local e estimular a proliferação de queratinócitos (GREB, 2016; SHON, 2019).

Os queratinócitos são responsáveis pelo estabelecimento e manutenção da barreira da pele, porém eles também produzem citocinas inflamatórias. Eles vão se proliferar de forma irregular e descontrolada, se acumulando nas camadas da epiderme, causando o espessamento do estrato córneo (hiperqueratose), retenção de núcleos nas camadas superiores da pele, causando espessamento da camada de células escamosas (paraqueratose), alongamento de cristas epidérmicas, aumento no número e tamanho dos vasos sanguíneos dérmicos e um aumento do infiltrado de células inflamatórias, consistindo principalmente de neutrófilos no estrato córneo e na epiderme (AYALA-FONTÁNEZ, 2016; GREB, 2016).

As células dendríticas mielóides liberam também os mediadores inflamatórios interferon- $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) e IFN $\beta$ , e vão se diferenciar em células dendríticas plasmocitóides, estimulando a secreção de mediadores pró-inflamatórios adicionais, como IL - 12, IL - 23 e TNF. Estes mediadores estimulam as atividades das principais populações de células T, como células Th1, Th2 e Th17, que liberam citocinas e quimiocinas

adicionais. A célula Th17 libera a IL-17 que vai atuar em queratinócitos, estimulando-os a produzir mais TNF e CCL20 (um quimiotático para células T e CDs). A IL-17 estimula também o recrutamento de mais células inflamatórias na lesão. A IL-22, liberada pela Th22, contribui para o fenótipo histológico da psoríase, como a hiperplasia epidérmica, acantose e paraqueratose (queratinização incompleta com retenção de núcleos) (figura 1). (LOWES, 2014; GREB, 2016; SHON, 2019).



**Figura 1: Representação esquemática da imunopatogênese da Psoríase.** Insultos externos, como trauma, infecção ou medicação, podem causar a liberação de auto nucleotídeos, que podem formar complexos com peptídeos antimicrobianos (AMPs) que são liberados dos queratinócitos. Os complexos formados podem se ligar a receptores em células apresentadoras de antígenos (células dendríticas plasmocitoides - CDp). Estas células ativadas promovem maturação das células dendríticas mielóides (CDm), que migram para os linfonodos mais próximos, ativando e proliferando as células Th1 e Th17, que liberam citocinas e quimiocinas, aumentando ainda mais a inflamação local e estimulando a proliferação de queratinócitos. Uma fase crônica e sintomática de inflamação psoriática é estabelecida. Fonte: SOLEY, 2019.

#### 1.4 *Cannabis sativa*

*Cannabis sativa*, da família *Cannabaceae*, é uma planta herbácea, que geralmente é encontrada em regiões temperadas e tropicais do mundo. É uma planta anual, polinizada, geralmente florida. Muitas variedades diferentes dessa planta se desenvolveram ao longo dos séculos devido à criação e seleção. No entanto, devido à falta de um reconhecimento universal, a classificação taxonômica nos vários grupos de plantas pertencentes ao gênero *Cannabis*, é comumente aceito referenciar todos

os tipos como *C. sativa*. Desde os tempos antigos, esta planta tem sido importante e merece destaque o uso terapêutico, que tem suas raízes na medicina tradicional chinesa há cerca de 5.000 anos como remédio para dores e inflamações (MARTINS *et al* 2022; MARTINELLI *et al* 2022).

Os primeiros usos medicinais da cannabis datam de quando o imperador Chen Nung, o “pai” da agricultura chinesa, elaborou a primeira farmacopeia chinesa, na qual a cannabis era recomendada para fadiga, reumatismo e malária, e suas sementes, devido à sua riqueza em ácido linoleico, foram recomendados para tratar eczema, psoríase e doenças inflamatórias. No entanto, e apesar de todo o conhecimento sobre inúmeras aplicações e efeitos terapêuticos benéficos da cannabis que foram coletados, documentados e compartilhados entre as culturas ao longo da história, a cannabis foi banida no século XX devido aos seus efeitos psicoativos (MARTINS *et al.*, 2022). O aumento do uso recreativo da maconha nos países ocidentais levou à retirada de preparações de cannabis de farmacopeias, no entanto, posteriormente com a identificação de  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol (THC) como principal princípio psicoativo da maconha abriu uma nova era de canabinóides sintéticos como agentes farmacológicos (NAMAZI, 2005).

A *C. sativa* é caracterizada por uma composição química complexa, incluindo terpenos, hidratos de carbono, ácidos graxos e ésteres, amidas, aminas, fitoesteróis, compostos fenólicos, e os compostos específicos desta planta, nomeadamente, os canabinóides (PELLATI, *et al.*, 2018). Aproximadamente 150 canabinóides já foram identificados e os mais estudados são o THC e o canabidiol (CBD) (FERBER, *et al.*, 2020).

## 1.5 Canabinóides

Os canabinóides são conhecidos como compostos ativos da *Cannabis sativa* com fortes atividades anti-inflamatórias e antiangiogênicas. Esses compostos são divididos em três classes principais: endocanabinóides, que são produzidos fisiologicamente no corpo, fitocanabinóides, derivados de plantas e canabinóides sintéticos. (NOROOZNEZHAD *et al.*, 2017). São caracterizados por ser um grande grupo de compostos que são estruturalmente e bioquimicamente semelhante ao composto psicoativo primário derivado de *Cannabis sativa*, o THC (SHERIFF *et al.*,

2020). Os canabinóides são identificados e classificados em diversos tipos, porém, a proporção entre as diferentes classes depende das condições de cultivo, área, métodos de processamento e variedade da planta (MARTINELLI *et al.*, 2022).

Os fitocanabinóides são encontrados em abundância nos tricomas produtores de resina da *Cannabis sativa*. Embora existam muitos cultivares de *C. sativa*, os órgãos reguladores geralmente os segmentam em um dos dois quimiotipos diferentes. O cânhamo industrial é o quimiotipo com uma quantidade mínima de THC e níveis mais altos de CBD, enquanto o quimiotipo da maconha contém altos níveis de THC (por exemplo, acima de 0,3% por peso seco). Em particular, o CBD, um composto não psicoativo da planta cannabis, atraiu atenção significativa nos últimos anos por seu potencial terapêutico anedótico para várias patologias, incluindo distúrbios cutâneos e cosméticos. (BASWAN, *et al.*, 2022).

De acordo com Norooznehad *et al* (2017) a descoberta de receptores de canabinóides enriqueceu muito o conhecimento da base molecular da ação dos canabinóides no sistema nervoso central (SNC) e nos sistemas imunológicos. Receptor canabinóide 1 (CB1) é expresso principalmente por neurônios e o receptor canabinóide 2 (CB2), por células imunes. O CB2 é o principal alvo molecular periférico responsável pelas propriedades inibitórias dos canabinóides no sistema imunológico (BERDYSHEV, 2000).

Endocanabinóides ou canabinóides endógenos, como anandamida (AEA) e 2- araquidonoilglicerol (2-AG) são derivados da membrana celular, fosfolipídios e são os ligantes naturais para CB1 e CB2. Estes receptores, em conjunto com AEA e 2-AG, compreendem o sistema endocanabinóide. CB1 está associado com os efeitos psicoativos dos canabinóides e é altamente concentrado no sistema nervoso central e, em menor grau, nos tecidos periféricos. CB2 está associado com o imunomodulador e efeitos anti-inflamatórios dos canabinóides e é expresso principalmente em órgãos periféricos (SHERIFF *et al.*, 2020).

Segundo a revisão de literatura por Sheriff *et al.* (2020), estudos demonstraram que os canabinóides possuem propriedades anti-inflamatórias, antipruriginosas e antienvelhecimento, por vários mecanismos, proporcionando assim uma alternativa promissora aos tratamentos tradicionais. Um estudo de Wilkinson e Williamson (2007) sugere uma opção terapêutica para a psoríase com os canabinóides, através de efeitos antiproliferativos em queratinócitos humanos, no

entanto, os canabinóides inibem a proliferação de queratinócitos independentemente da ativação do receptor canabinóide.

### **1.6 Sistema endocanabinóide da pele**

O sistema endocanabinóide (SEC) compreende os canabinóides sintetizados endogenamente (endocanabinóides) por muitos organismos, que são produzidos a partir de lipídios da membrana e enzimas responsáveis pela sua síntese, transporte e degradação. Os endocanabinóides mais estudados são a anandamida (N-araquidonoiletanolamina; AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (DEVANE, *et al*, 1992; SUGIURA, *et al*, 1995). Estes endocanabinóides exercem seus efeitos fisiológicos principalmente via CB1 e CB2 (receptores canabinóides de membrana acoplados à proteína G) porém outros receptores de superfície celular e nucleares também têm foram implicados na sinalização canabinóide (ROCWELL, *et al*, 2006; BOUABOULA, *et al*, 2005).

O SEC está envolvido em múltiplas funções biológicas, como aprendizagem e memória, ingestão, percepção da dor, neuroproteção e resposta imunológica, entre outras (DI MARZO, *et al*, 2004). O CB1 foi inicialmente descrito no sistema nervoso central (SNC), mas posteriormente foi descoberto também em outros tecidos como fígado, músculo, endotélio e tecido adiposo (LIU, *et al*, 2000). O CB2 acreditava-se originalmente que sua expressão se limitava às células do sistema imunológico. Novas pesquisas mostraram que o SEC também está presente em tecidos periféricos e está envolvido na função cutânea, regulando, entre outros, o crescimento celular, a diferenciação e a sobrevivência, além disso, respostas imunológicas e inflamatórias e os fenômenos sensoriais. CB1 e CB2 estão distribuídos em queratinócitos humanos, folículos capilares e glândulas sebáceas, e ainda, também foi confirmada em melanócitos, fibroblastos dérmicos e células mioepiteliais de glândulas sudoríparas. CB1 e CB2 foram encontrados em mastócitos e macrófagos presentes na pele, mas também sua expressão em células T e B (STANDER, *et al*, 2005).

A desregulação do SEC pode estar envolvida em doenças de pele e demonstrou estar alterada em condições patológicas da pele. O papel do SEC na regulação imunológica apoia os seus efeitos terapêuticos locais na pele (MANN, *et al*, 2012). Portanto, a grande quantidade de elementos do SEC na pele fornece uma

justificativa para avaliar a terapêutica potencial dos canabinóides em diferentes doenças de pele.

### **1.7 Papel anti-inflamatório dos canabinóides**

Os canabinóides têm sido apreciados como potenciais agentes anti-inflamatórios em um amplo espectro de contextos inflamatórios, no entanto, o mecanismo permanece pouco compreendido (NIEKERK, *et al.*, 2019). *Insights* sobre os mecanismos dos efeitos anti-inflamatórios dos canabinóides foram obtidos muito antes da descoberta dos receptores canabinóides. Os experimentos do início da década de 1970 já demonstravam um efeito antiedematoso e antiartrítico do THC (SOFIA *et al.*, 1973).

A cannabis, no tratamento de doenças inflamatórias da pele, demonstrou ter funções reguladoras nas células da pele, controlando proliferação celular, diferenciação e células imunológicas na pele, dependente ou não do sistema endocanabinóide (NAMDAR *et al.*, 2017). Um estudo piloto em dermatite atópica teve como objetivo avaliar a eficácia e a segurança da aplicação, duas vezes ao dia, de uma emulsão tópica contendo adelmidrol 2% (um análogo de endocanabinóide) em 20 pacientes (11 homens e 9 mulheres, idade média de 8 anos (intervalo 3-16) anos) acometido por dermatite atópica leve. Foi observado resolução completa dos sintomas sem efeitos colaterais em 16 (80%) pacientes após 4 semanas de tratamento, sem recidivas em 8 semanas de acompanhamento (PULVIRENTI *et al.*, 2007).

Em um estudo de Blázquez e colaboradores (2006) foi evidenciado que a ativação do CB1 e CB2, presentes em melanomas humanos e células de melanoma, diminuíram o crescimento, proliferação, angiogênese e metástase e aumentaram a apoptose de melanomas em camundongos, sugerindo uma potencial terapia canabinóide para este tipo de câncer. Em experimentos de cultura celular, a ativação farmacológica de receptores canabinóides induziram a morte apoptótica de células epidérmicas tumorigênicas, enquanto a viabilidade de células epidérmicas não transformadas permaneceram inalteradas. Neste estudo a administração local do agonista CB1, agonista CB2 ou o agonista CB2 seletivo induziu uma inibição considerável do crescimento de tumores malignos gerados pela inoculação de células tumorais epidérmicas em ratos (CASANOVA, *et al.*, 2003).

A regulação de células imunes por canabinóides foi descrita em diversos estudos. Alguns estudos avaliaram que AEA, 2-AG, THC e CBD controlam a função dos macrófagos inibindo a produção de citocinas, a liberação de óxido nítrico e a fagocitose (CORRÊA *et al.*, 2008; FITZPATRICK *et al.*, 2020; CHIURCHIÙ *et al.*, 2016). E ainda, a AEA e o THC inibem a produção de citocinas pró-inflamatórias e a capacidade das CDs de polarizar as respostas Th1 e Th17 (CHIURCHIÙ *et al.*, 2013; HENRIQUEZ *et al.*, 2019; KARMAUS *et al.*, 2013). O THC induz a apoptose em CDs murinas, fornecendo um potencial mecanismo de imunossupressão de células imunes (DO *et al.*, 2004). Os canabinóides suprimem principalmente as respostas adaptativas das células T, inibindo a proliferação e a produção de citocinas (HENRIQUEZ *et al.*, 2020; MARTÍN-FONTECHA *et al.*, 2018).

Diversas outras evidências experimentais convincentes sustentam que os canabinóides exercem poderosos efeitos anti-inflamatórios nas células imunes, mas os mecanismos pelos quais eles exercem tais efeitos precisam ser melhor compreendidos (KLEIN *et al.*, 2005).

## 2. JUSTIFICATIVA

A evidente necessidade de novas ferramentas terapêuticas, eficazes e seguras para o tratamento da psoríase e estudos que busquem desvendar os processos fisiopatológicos dessa doença de maneira a apontar novos alvos terapêuticos são bastante promissores. Uma vez que as evidências apontam para um envolvimento do sistema endocanabinóide na pele e também na fisiopatologia da psoríase, torna-se interessante o estudo do comportamento desse sistema frente a doença, de maneira a apontar possíveis novos alvos de intervenção terapêutica. Estudos na área dermatológica apontam o possível potencial terapêutico da *Cannabis sativa* para o tratamento de doenças inflamatórias da pele, como a psoríase. Os fitocanabinóides são compostos de interesse em dermatologia devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antipruriginosas e antinociceptivas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Testar um novo óleo de cannabis de espectro total (OF) em modelo de inflamação de pele e modelo de psoríase em camundongos.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar o efeito do OF no edema e na espessura da orelha, espessura da epiderme e infiltrado celular em modelo agudo e crônico de inflamação induzida por TPA;
- Testar efeito do OF em diferentes concentrações por via tópica em modelo agudo e crônico de inflamação de orelha por TPA para selecionar dose para uso em modelo crônico (IMQ);
- Testar efeito do OF por via intraperitoneal (IP) em modelo agudo de inflamação de orelha por TPA;
- Avaliar o bem-estar animal em modelos de inflamação por TPA e modelo de psoríase induzida por IMQ;
- Analisar o efeito do OF (em creme), por via tópica, no prurido e sobre a proliferação e diferenciação dos queratinócitos epidérmicos no modelo de psoríase induzida por IMQ em camundongos;

### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1 Animais**

Os experimentos foram conduzidos em camundongos machos adultos (25-35 g, 8-10 semanas de idade), da linhagem C57BL/6, provenientes do biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, em condições padronizadas de laboratório. Os animais foram alojados em sala sob condições

controladas de temperatura ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade ( $60 \pm 10\%$ ) e ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a comida e água. Os camundongos foram mantidos em grupos de quatro a sete animais em caixa de polipropileno com fundo maciço (tamanho: 18 cm  $\times$  34 cm  $\times$  41 cm), com maravalha autoclavada (raspa de madeira picada) e grades em INOX (Insight Equipamentos). Todos os animais foram aclimatados por pelo menos 48 horas antes do experimento e foram utilizados apenas uma vez. Os experimentos foram conduzidos durante a fase clara. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos experimentais. Todos os cuidados com os animais e procedimentos experimentais seguiram as recomendações das diretrizes vigentes para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Seção de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO) sob o número 1479. Além disso, foram levadas em consideração diretrizes experimentais subscritas em ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments Guidelines), com objetivo de reduzir fatores que possam vir a promover variações nos resultados e contribuindo para posteriores replicações (KILKENNY *et al.*, 2011). Os experimentos foram realizados de forma que, o número de animais utilizados e seu sofrimento fossem minimizados.

Os valores de  $n$  foram escolhidos com base em protocolos experimentais anteriores e semelhantes, considerando os princípios dos 3Rs (Substituição, Redução e Refinamento). Além disso, a coleta de dados e a avaliação dos experimentos foram as cegas (prurido, bem-estar animal, PASI, ninho, plus maze).

#### **4.2 Óleo *full* espectro de *Cannabis***

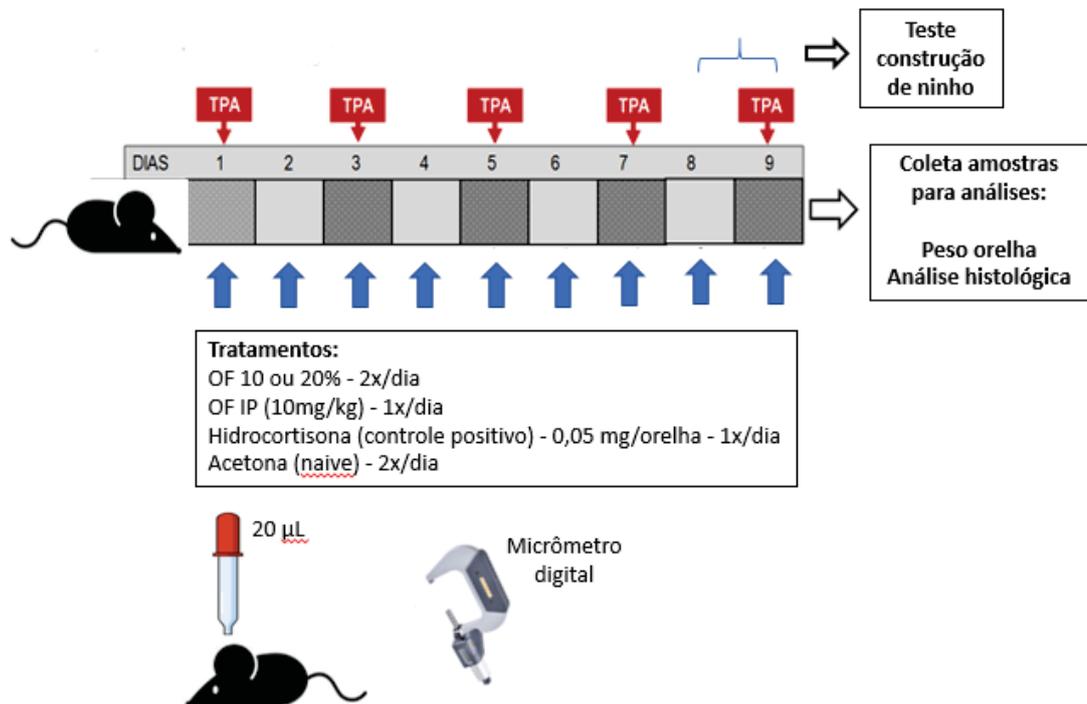
O produto de cannabis testado foi fornecido pela Aura Pharma (Curitiba, Brasil), indústria que produz e fornece produtos à base de canabidiol. O óleo foi elaborado a partir de folhas secas de *Cannabis sativa*, conforme protocolo estabelecido pelo fornecedor. A composição do óleo está em processo de análise e quantificação, para que se possa determinar os principais componentes presentes no

óleo. A extração e manipulação do óleo segue rigorosos padrões de fabricação, oferecendo qualidade e segurança do produto.

#### **4.3 Modelo de inflamação de pele induzida por TPA**

O edema de orelha foi induzido por uma única aplicação tópica de TPA (2,5 µg/orelha/20 µL) diretamente na orelha direita de camundongos, e a resposta inflamatória foi avaliada medindo o aumento na espessura antes da aplicação de TPA (medida basal) e 6 h depois, com auxílio de um micrômetro digital (MT-045B, Shanghai Metal Great Tools Co., Ltd., Xangai, China) (DE YOUNG *et al*, 1989). O edema foi calculado e expresso como a diferença de espessura entre a medida basal e a medição após a aplicação do TPA. Os tratamentos OF e hidrocortisona foram aplicados topicamente imediatamente após a aplicação do agente flogístico, e OF via IP (10 mg/kg, preparado em solução salina) foi injetado 30 min antes da aplicação do TPA. Após avaliar o edema agudo, os experimentos continuaram com objetivo de avaliar a inflamação crônica da pele. Sendo assim, os camundongos foram tratados pelos próximos 9 dias com TPA (2,5 mg/orelha/20 ul), em dias alternados. Os tratamentos foram mantidos todos os dias, com OF tópico 10% ou 20% (duas vezes ao dia), OF IP (10 mg/kg, uma vez ao dia), hidrocortisona (0,05 mg/orelha, uma vez ao dia), ou veículo sozinho (acetona duas vezes ao dia). A resposta inflamatória foi avaliada diariamente através da formação de edema, que foi expresso pelo aumento da espessura da orelha do camundongo (mm). O edema foi medido, diariamente, aproximadamente 6 horas após a aplicação de TPA e/ou tratamentos (STANLEY *et al.*, 1991). Para minimizar variações na técnica, um único investigador sempre realizou os experimentos. No penúltimo dia do protocolo experimental foi preparado o teste de construção de ninho e avaliado no último dia, no início da fase clara. No último dia dos experimentos, foram coletadas biópsias (círculo de 6 mm) das orelhas para pesagem e posterior avaliação histológica.

Essas etapas experimentais, descritas até aqui com TPA, foram utilizadas para selecionar a concentração adequada de OF tópico para etapas posteriores no modelo de IMQ. A concentração de 20% foi selecionada e preparada em um creme-base não iônico.



**Figura 2: Representação esquemática do delineamento experimental do modelo de inflamação induzida por TPA.** Camundongos C57BL/6 foram submetidos a múltiplas aplicações de TPA, durante 9 dias alternados. Diariamente os animais receberam os tratamentos OF tópico 10 e 20%, OF IP, controle positivo e acetona (*naive*). No início da fase clara do último dia do protocolo foi realizada a avaliação da construção do ninho. Ao final (9.º dia), os animais são eutanasiados e amostras teciduais da orelha foram coletadas para pesagem e análise histológica. Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.4 Modelo de psoríase induzida por IMQ

A pele do dorso do camundongo foi raspada 24 h antes de qualquer tratamento (Dia 0). No dia 1, os animais foram tratados topicamente com creme comercial de imiquimode 5% (Ixium, FQM FARMA S.A, São Paulo, SP) na pele raspada do dorso, duas vezes ao dia, por seis dias consecutivos, adaptado de Fitts *et al.* (2009). No terceiro dia de IMQ, iniciou-se a aplicação tópica dos tratamentos com OF creme 20% (duas vezes ao dia), veículo (creme não iônico-duas vezes ao dia) e o creme de hidrocortisona (0,05 mg, uma vez ao dia). Os tratamentos eram aplicados aproximadamente 2 horas após a aplicação do IMQ para não ter interferência na absorção de cada um deles. Ao final dos tratamentos (no sétimo dia), foi realizado teste de prurido espontâneo e construção do ninho para avaliar o bem-estar dos animais. A gravidade da inflamação da pele (PASI) também foi avaliada diariamente

(SOLEY *et al*, 2020). No sétimo dia, os animais foram sacrificados e amostras de pele foram coletadas para análise histológica.

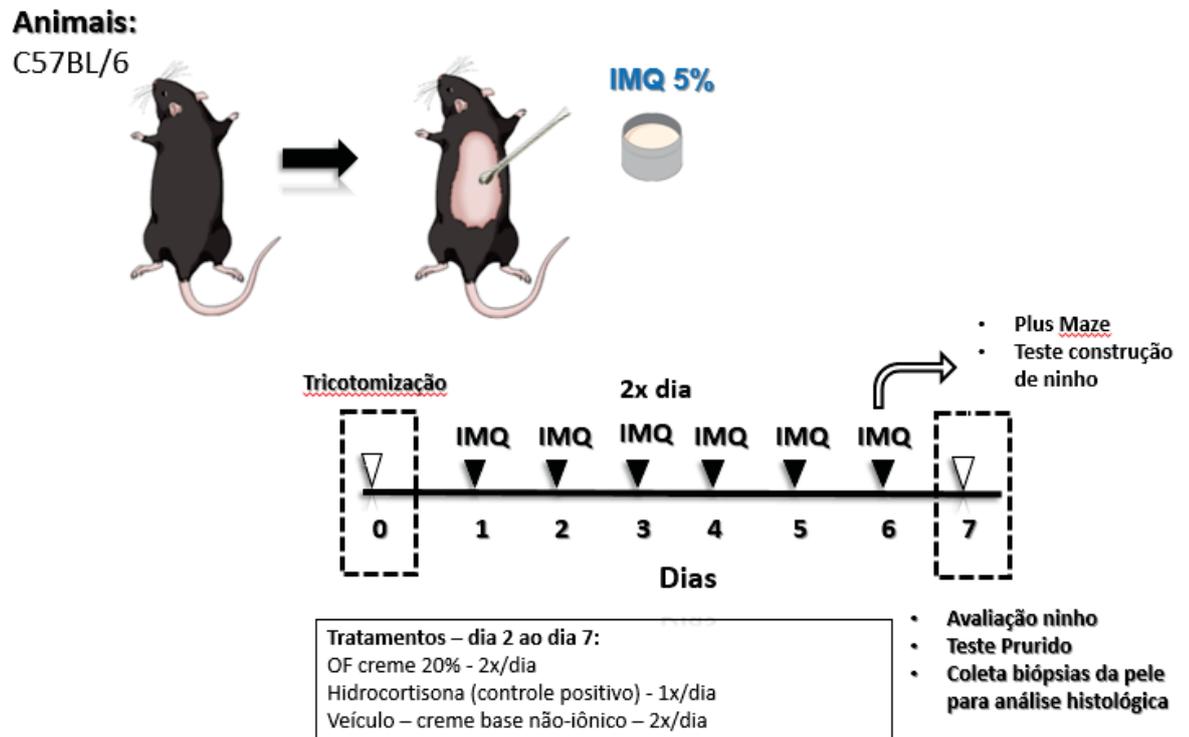


Figura 3: **Representação esquemática do delineamento experimental do modelo de psoríase induzida por IMQ.** No dia 0 do protocolo experimental, os camundongos C57BL/6 foram submetidos tricotomização e, a partir do dia 1 então, receberam diariamente administrações de IMQ 5%, 2 vezes ao dia, por 6 dias consecutivos. A partir do segundo dia do protocolo experimental os animais começam a receber os tratamentos, OF creme 20%, veículo e controle positivo. Ao final (7.º dia), os animais são eutanasiados e amostras teciduais coletadas para análise. Fonte: Adaptado de Soley (2019).

#### 4.5 Gravidade da inflamação induzida por IMQ

No modelo de psoríase induzida por IMQ, um sistema de pontuação é utilizado para avaliar a severidade da inflamação, induzida pelo IMQ, na pele do dorso raspado dos camundongos C57BL/6, com base no PASI (Psoríase Area and Severity Index). O PASI é um índice clínico utilizado para expressar a gravidade da psoríase, onde são analisados o eritema, a escarificação e a descamação da pele, expressos em porcentagem da área afetada. Os animais foram avaliados diariamente e individualmente quanto a eritema, descamação e espessamento. Cada índice foi pontuado independentemente em uma escala de 0 a 4 (0, nenhum; 1, leve; 2,

moderado; 3, acentuado; 4, muito acentuado). A pontuação cumulativa (eritema, descamação e espessamento) foi usada para medir a gravidade da inflamação da pele (escala 0–12; FITS *et al.*, 2009; SOLEY *et al.*, 2020). Todas as avaliações foram realizadas por três a quatro investigadores diferentes de maneira cega. Foi calculada a média da pontuação para cada camundongo e linhas de tendência foram geradas para observar mudanças nas lesões de pele.

#### **4.6 Teste de construção de ninho**

O teste de construção do ninho é um teste comportamental simples e versátil adequado para avaliar mudanças na saúde geral ou bem-estar dos animais. O teste foi realizado sem a presença do experimentador, durante a fase escura, no penúltimo dia de cada modelo animal avaliado (TPA e IMQ). Na véspera do término do experimento, os animais, previamente familiarizados com o material para os ninhos, são transferidos para caixas individuais, com maravalha limpa, cerca de 1 h antes da fase escura com um quadrado de algodão (5 cm x 5 cm) prensado de 3,0 g ou material suficiente para atingir este peso. No início da fase clara, os ninhos formados foram fotografados e posteriormente avaliados em uma escala de 1 a 5 por três a quatro avaliadores diferentes cegos para os tratamentos. A pontuação utilizada foi (0) material intocado; (1) material manuseado, mas espalhado pela gaiola; (2) material usado para fazer o ninho plano; (3) material usado para fazer um ninho de xícara; (4) material finamente moído aninhado com uma cúpula incompleta; e (5) ninho com cúpula completa e fechada (GASKILL, *et al.*, 2013; SOLEY *et al.*, 2020).

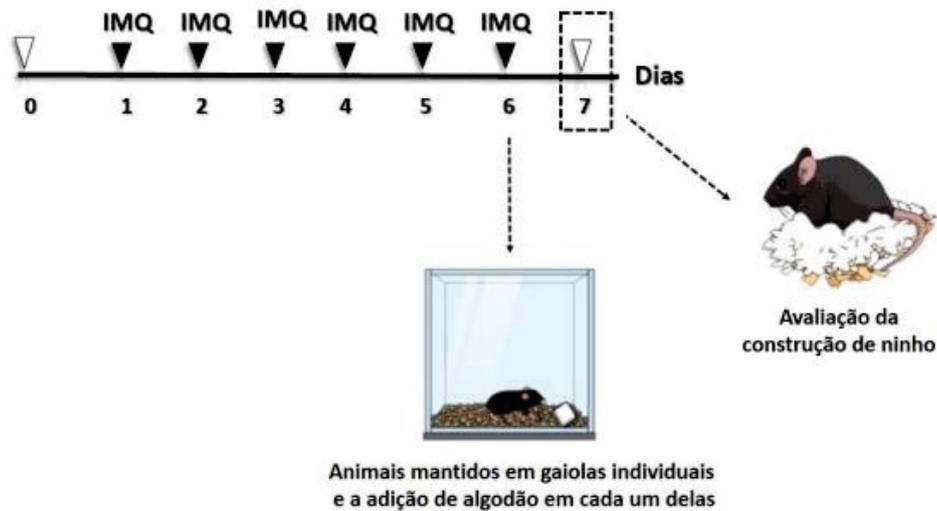


Figura 4: **Representação esquemática da avaliação do bem-estar animal a partir do teste de construção de ninho.** Os camundongos foram submetidos ao modelo de psoríase induzida por IMQ e no 6º dia do protocolo experimental, os animais foram separados e mantidos em gaiolas individuais com um quadrado de algodão em cada gaiola. O teste é iniciado na fase escura e finalizado no último dia (7º) na fase clara, com a avaliação e fotos dos ninhos, posterior análise e pontuação em uma escala de nidificação pré-definida. Fonte: SOLEY, 2019.

#### 4.7 Teste de prurido espontâneo

Vinte e duas horas após a última aplicação do IMQ, os animais foram colocados individualmente em uma arena de acrílico por 60 min (mínimo) para ambientação e em seguida foi realizada a avaliação do prurido. O tempo que o animal gasta coçando a região do dorso foi quantificado, por meio de um cronômetro, por um observador treinado e cego para a condição de tratamento. Um ataque de arranhão é definido como um ou mais movimentos rápidos para frente e para trás da pata traseira direcionados e em contato com a área tratada, terminando com lamber ou morder os dedos ou colocar a pata traseira no chão. Os movimentos das patas traseiras direcionados para longe da área tratada (por exemplo, coçar as orelhas) e os movimentos de limpeza não foram contados. Essa avaliação foi contabilizada, com auxílio de cronômetro, cumulativamente por 15 min e foi analisado o tempo total que o animal gastou coçando a área tratada (SAKAI *et al*, 2016). Três a quatro investigadores diferentes realizaram a avaliação.

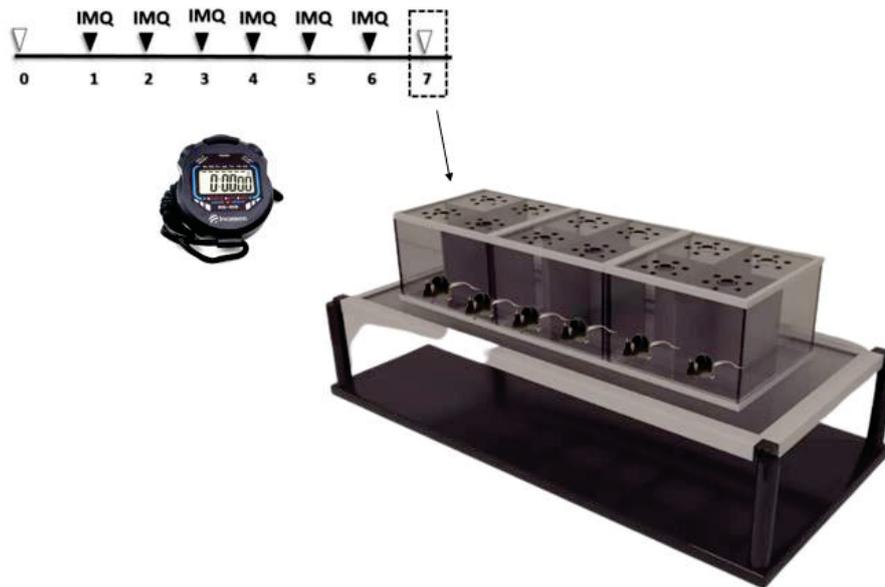


Figura 5: **Representação esquemática da avaliação do prurido espontâneo.** Os camundongos foram submetidos ao modelo de psoríase induzida por IMQ e no 7º dia do protocolo experimental, os animais foram separados e mantidos em caixas de acrílico individuais. O tempo que o animal gasta coçando a região do dorso foi quantificado, por meio de um cronômetro, durante 15 minutos. Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.8 *Plus maze* – Labirinto em cruz elevada

No dia 6 do protocolo experimental, no modelo animal de psoríase induzida por IMQ, foi realizado o teste no labirinto em cruz elevada (*Plus Maze*). Este é um dos testes animais de ansiedade e é baseado no comportamento natural dos animais, não oferecendo nenhum tipo de punição aos mesmos. O aparato utilizado neste teste, é constituído por dois braços abertos unidos perpendicularmente a dois braços circundados por paredes (braços fechados), em madeira. Durante todo o teste foi realizado a filmagem de cada animal, individualmente, para posterior avaliação. Os camundongos foram colocados um a um no labirinto em cruz elevada para que o explorasse livremente durante um período de tempo determinado de 5 minutos. Na sequência, durante e análise dos vídeos, foram avaliados os parâmetros: tempo total de permanência nos braços abertos e fechados, entradas no braço aberto e fechado, avaliação de risco (quando o animal estica o pescoço em direção ao braço aberto). A preferência por estar nos braços abertos em relação aos braços fechados é calculada para medir o comportamento semelhante à ansiedade. Três a quatro investigadores diferentes realizaram a avaliação dos vídeos.

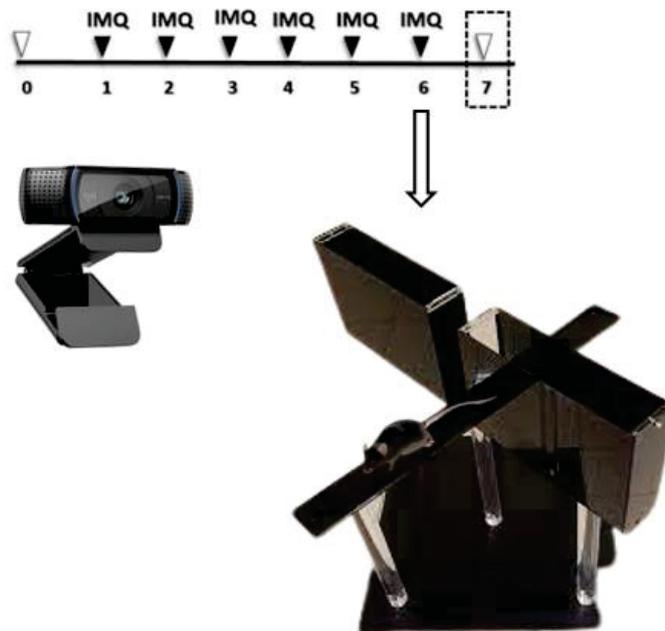


Figura 6: **Representação esquemática da avaliação no labirinto em cruz elevada.** Os camundongos foram submetidos ao modelo de psoríase induzida por IMQ e no 6º dia do protocolo experimental, os animais foram colocados, individualmente, por 5 minutos, no aparato de madeira com braços fechados e abertos. O tempo que o animal permanece em cada braço, o número de entradas em cada braço, avaliação de risco são analisados posteriormente com os vídeos capturados durante o teste. Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.9 Avaliação histológica da epiderme e derme

As amostras coletadas de orelha (modelo TPA) e da pele do dorso dos animais (modelo IMQ) foram fixadas em solução de formol a 4% por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram desidratadas, clarificadas e infiltradas com parafina fundida a 65°C, em aparelho automatizado (processador de tecidos OMA - modelo D40). As amostras foram seccionadas a seco com espessura de 4 µm (Equipamento: American Optical Manual Rotary Microtome - Modelo: 820 - Série: 54637), trançadas em banho histológico contendo água a temperatura de 50° C. Os cortes foram aderidos a um vidro lâmina e enviado para estufa de secagem a 65°C por 30 min. Para a remoção total da parafina, as lâminas foram submersas em solução de xileno a 65° C por 5 min, seguindo as cores HE (Harris Hematoxylin e 2% Eosin-Floxin). Por fim, as lâminas foram seladas com bálsamo do Canadá e lamínula.

Para avaliar a espessura da orelha, espessura e a celularidade da epiderme e derme, os cortes foram fotografados em incrementos de 200x e as fotografias

analisadas com o software Image J versão 1.41 (National Institute of Health (NIH), EUA). Cinco campos foram analisados em cada um dos três cortes de cada lâmina. A espessura da epiderme foi expressa em mm, medindo a distância entre o topo e a base. Foram avaliados os grupos tratados com OF, veículo e hidrocortisona, além dos grupos *naive* e controle.

#### **4.10 Análise estatística**

Os valores para cada grupo foram calculados como média  $\pm$  SEM em comparação com os valores dos grupos de controle. Os conjuntos de dados foram analisados por ANOVA de uma via ou duas vias, seguido por um teste *post-hoc* de *Newman-Keuls*, conforme indicado nas legendas das figuras, usando GraphPad Prism versão 6.0 (GraphPad Software, CA, EUA). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  SEM e o nível de significância aceito para os testes foi  $p < 0,05$ .

Para os dados PASI e Nest Building, três a quatro investigadores diferentes realizaram a avaliação de pontuação.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Efeito do OF no processo inflamatório cutâneo agudo e crônico no edema de orelha induzido por TPA**

A aplicação tópica de TPA, no primeiro dia do protocolo, promoveu um aumento no edema da orelha em  $59 \pm 19,13\%$ , demonstrando uma indução de inflamação cutânea, quando comparado ao grupo acetona. Os tratamentos com OF tópico 10% e 20%, e OF IP (10 mg/kg) não causaram redução no edema de orelha induzido por TPA após 24 horas (dia 1), enquanto o tratamento com hidrocortisona (0,05 mg/orelha), uma vez ao dia (fármaco de referência) apresentou uma diminuição de  $40 \pm 4,37\%$  na espessura da orelha (Fig. 7 a).

As múltiplas aplicações de TPA, por 9 dias, aumentaram o edema de orelha ao longo do tempo (Fig. 7 a) e o peso das orelhas no último dia (Fig. 7 b). O tratamento com OF tópico 10%, OF IP e hidrocortisona tópica, promoveu redução significativa do edema a partir do quarto dia de aplicação até o último dia do experimento (Fig. 7 a). O OF tópico 10% causou uma inibição de  $78 \pm 22,07\%$  e o OF IP  $81 \pm 18,57\%$ , quando comparado ao grupo controle TPA. O grupo OF 20% apresentou pico de inibição do edema no oitavo dia de aplicação, que foi de  $57 \pm 16,09\%$ . O efeito inibitório dos tratamentos foi observado até o final do experimento, para OF tópico 10% e 20%, IP e hidrocortisona (droga referência) (Fig. 7 a).

Conforme ilustrado na figura 7 b, um efeito inibitório significativo foi obtido no peso da orelha. Redução de  $21,5 \pm 0,06\%$  para o grupo tratado com o OF tópico 20% e redução de  $26 \pm 0,06\%$  para o grupo controle positivo hidrocortisona, quando comparado ao grupo TPA. Os tratamentos com OF 10% e OF IP não causaram alteração significativa no peso da orelha. Nos animais do grupo acetona não foi detectada diferença no edema e no peso da orelha (Fig. 7 b).

A análise histológica das amostras de orelha coletadas no último dia do protocolo experimental revelou aumento da espessura da orelha, hiperplasia epidérmica grave e aumento da celularidade no grupo controle TPA, quando comparado ao grupo acetona, enquanto o tratamento tópico com OF 10 e 20%, OF IP ou hidrocortisona melhoraram esses parâmetros (Fig. 8 d). O tratamento tópico com OF 10% apresentou redução de  $31 \pm 2,55\%$  na espessura da epiderme, enquanto o OF 20% reduziu em  $39 \pm 2,57\%$  e OF IP em  $11 \pm 2,53\%$ , semelhante ao grupo hidrocortisona que reduziu a espessura da epiderme em  $14 \pm 3,08\%$  quando comparado ao grupo de controle TPA (Fig. 8 a).

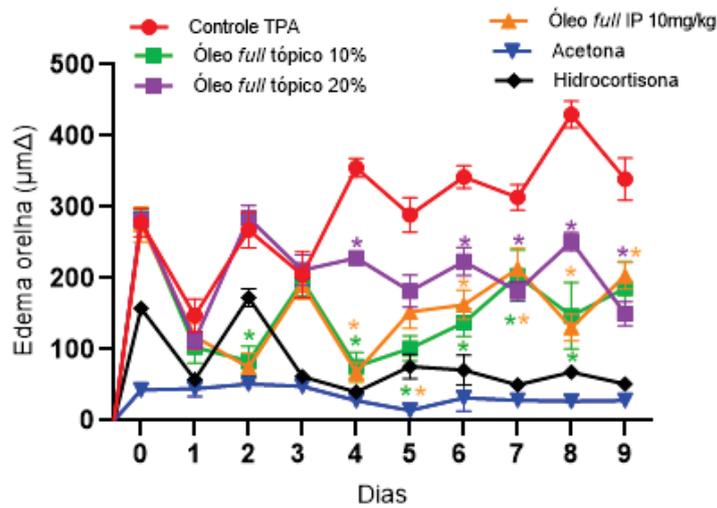
A aplicação tópica de TPA causou um aumento na espessura da orelha quando comparada ao grupo acetona. Os tratamentos com OF induziram uma melhora significativa deste parâmetro, sendo que o grupo OF 10% reduziu em  $34 \pm 1,86\%$ , o grupo OF 20% reduziu em  $36 \pm 1,87\%$  e o grupo IP OF redução de  $26 \pm 1,88\%$  a espessura da orelha. A hidrocortisona grupo foi capaz de inibir em  $47 \pm 2,24\%$  a espessura da orelha, quando comparado ao grupo TPA (Fig. 8 b).

Em relação ao infiltrado celular, o grupo OF 10% apresentou redução de  $70 \pm 2,02\%$ , OF 20% redução de  $59 \pm 3,52\%$ , OF IP  $69\% \pm 2,17$  aproximando-se do

controle positivo, hidrocortisona, que reduziu o infiltrado celular em  $65 \pm 6,85\%$ , em comparação ao TPA ao controle (Fig. 8 c).

Conforme ilustrado na figura 9, camundongos tratados com TPA reduziram a pontuação na construção do ninho quando avaliados no último dia de experimento, indicando uma influência na redução do bem-estar animal. Ambos os tratamentos com OF tópico 20% ( $56 \pm 0,49\%$ ) e OF IP ( $54 \pm 0,37\%$ ) melhoraram a condição de bem-estar dos animais e conseguiram construir um ninho mais elaborado (escore 4-5). A hidrocortisona de controle positivo também melhorou a pontuação de construção do ninho ( $51 \pm 0,57\%$ ), mas sem significância (Fig. 9).

a)



b)

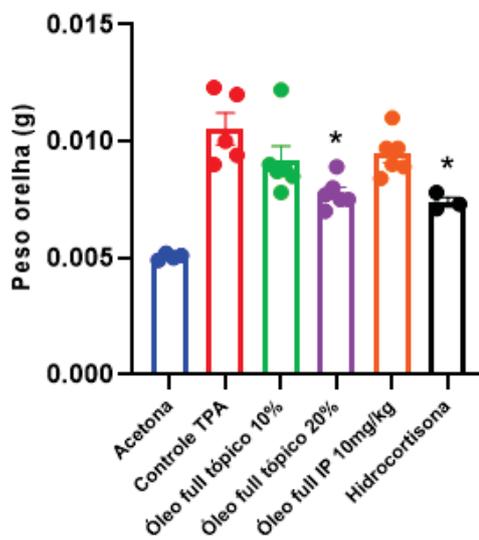
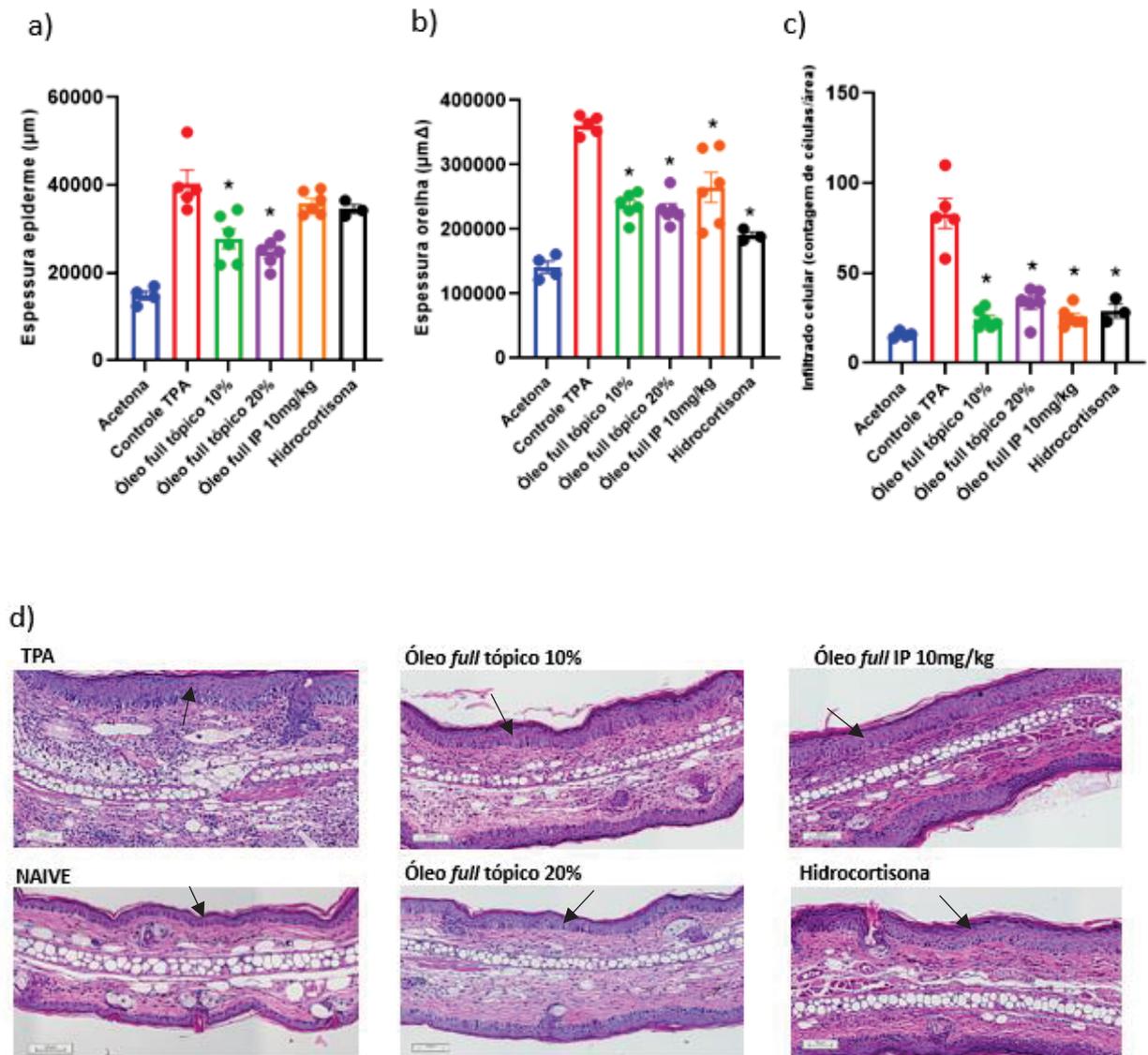
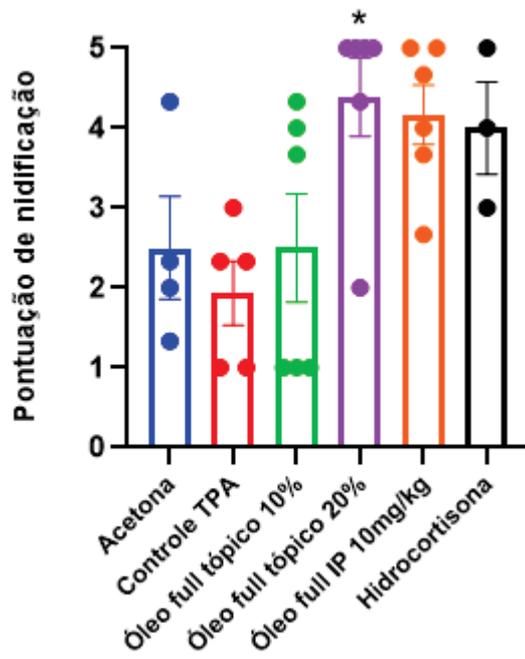


FIGURA 7: **Efeito do OF no edema de orelha induzido por TPA.** a) Aplicação tópica de TPA na orelha direita de camundongos, por 9 dias alternados, em todos os grupos, exceto em camundongos *naive*. Os tratamentos foram realizados logo após a aplicação do TPA, topicamente com OF 10% ou OF 20% diluído em acetona (20 µl/orelha/duas vezes ao dia), OF IP diluído em salina (10 mg/kg, uma vez ao dia) ou hidrocortisona em acetona (tópico, 0,05 mg/orelha, uma vez/dia) por 9 dias. Após 6 h de aplicação de TPA e/ou tratamentos, a espessura da orelha foi medida usando um micrômetro digital. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância Two-way ANOVA, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. b) Biópsias de orelha de 6 mm foram coletadas e pesadas logo após a eutanásia dos animais. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *One-way* ANOVA, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico, quando comparado ao grupo controle TPA.

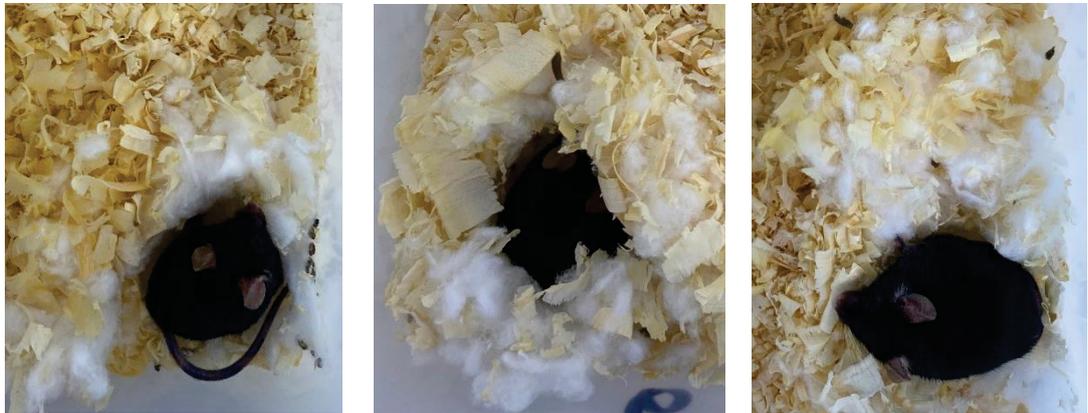


**FIGURA 8: Efeito do OF tópico 10 e 20% na inflamação crônica da pele induzida por TPA.** Análise histológica do efeito do OF tópico 10 e 20% (diluído em acetona), OF IP diluído em salina (10 mg/kg) e hidrocortisona em acetona (C+) (0,05 mg/orelha) em modelo de edema de orelha induzido por múltiplas aplicações de TPA (2,5 µg/orelha/20 µL). a) Quantificação da espessura da epiderme, espessura da orelha e infiltrado celular. b) Imagens representativas de cortes histológicos de orelhas de camundongos coradas com hematoxilina-eosina (H&E), após múltiplas aplicações de TPA e tratamentos com 10 e 20% OF, OF IP ou hidrocortisona. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *One-way ANOVA*, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico, quando comparado ao grupo controle TPA. Aumento 50x, escala 50µm.

a)



b)



**FIGURA 9: Avaliação do bem-estar animal após múltiplas aplicações de TPA e tratamentos (OF 10 e 20%, OF IP, hidrocortisona) na orelha de camundongos.** O comportamento de construção de ninhos de camundongos é usado como um indicador de bem-estar em doenças inflamatórias da pele. a) Escore de construção do ninho, animais *naïve* e grupos tratados com aplicações múltiplas de TPA, por 9 dias alternados, e os respectivos tratamentos, OF 10 e 20%, OF IP e hidrocortisona. Os dados significam  $\pm$  SEM com  $n$  de 3 a 7 animais por grupo. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *One-way ANOVA*, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico, quando comparado ao grupo controle TPA. b) Fotos representativas do grupo OF tópico 20%.

## 5.2 Efeito do OF no processo inflamatório induzido por IMQ

A indução de psoríase por IMQ causou um aumento no escore PASI cumulativo (eritema, descamação e escarificação) no grupo controle quando comparado ao grupo acetona (não tratado). O tratamento com OF creme 20% provocou redução significativa na avaliação do escore, em relação ao controle, a partir do quarto dia de aplicação (redução de  $68 \pm 0,10\%$ ), e essa melhora foi observada até o último dia do experimento. Quando comparada ao grupo veículo, redução semelhante foi obtida para o escore PASI no quarto dia de experimento. O grupo controle positivo (hidrocortisona) teve redução significativa de  $48 \pm 0,15\%$  no escore PASI a partir do quarto dia do protocolo experimental e manteve a melhora até o final do experimento quando comparado ao grupo controle IMQ. O grupo acetona não teve alteração do escore PASI (Fig. 10).

As análises de celularidade demonstraram infiltrado celular mais pronunciado nos grupos IMQ e veículo, assim como espessura epidérmica (Fig 11 a e b). Por outro lado, tratamentos com creme OF 20% e hidrocortisona promoveram menor infiltração celular ( $38 \pm 1,73\%$  e  $37 \pm 1,06\%$ , respectivamente) (Fig. 11 a) e redução em torno de 36% da hiperplasia epidérmica induzida por IMQ (Fig. 11 b). Conforme mostrado em imagens representativas (Fig. 11 c), hiperplasia epidérmica e aumento da celularidade foram observados no grupo controle quando comparado ao *naive*, enquanto o tratamento com creme 20% OF e o controle positivo melhoraram esses parâmetros.

Na avaliação do bem-estar animal, com o teste de construção do ninho, camundongos psoriáticos (tratados com IMQ) apresentaram uma redução no escore de construção do ninho em comparação com o grupo *naive* ( $43 \pm 0,53\%$ ). Animais tratados com creme OF 20% apresentaram aumento de  $18 \pm 0,53\%$  no escore de nidificação em relação ao grupo controle IMQ, assim como ao grupo controle positivo, assemelhando-se ao grupo *naive* (Fig. 12 a).

No teste de prurido espontâneo, os animais tratados com IMQ apresentaram comportamento de prurido intenso, enquanto os camundongos *naive* não apresentaram prurido. O tratamento OF creme 20% foi capaz de melhorar significativamente em  $60 \pm 36,83\%$  o tempo gasto com coceira em comparação ao grupo IMQ. Os grupos veículo e controle positivo também mostraram uma redução no

prurido de  $56 \pm 37,61$  e  $57 \pm 38,01\%$ , respectivamente, mas sem significância estatística (Fig. 12 b).

No teste de labirinto em cruz elevada, realizado no penúltimo dia do experimento, não foi observado resultados significativos dos parâmetros avaliados. Em relação ao número de entradas nos braços abertos e nos braços fechados, não houve efeito significativo do tratamento com OF. Observa-se que o braço aberto é evitado pelos animais, no entanto, houve variação entre os animais de cada grupo. Para o tempo de permanência no braço fechado e aberto o grupo tratado com OF não apresentou resultados significativos, assim como os outros grupos avaliados. Observa-se também a preferência pelo braço fechado, onde os animais ficam mais tempo. O grupo tratado com OF e os demais grupos não apresentaram diferenças na avaliação de risco (Fig. 13).

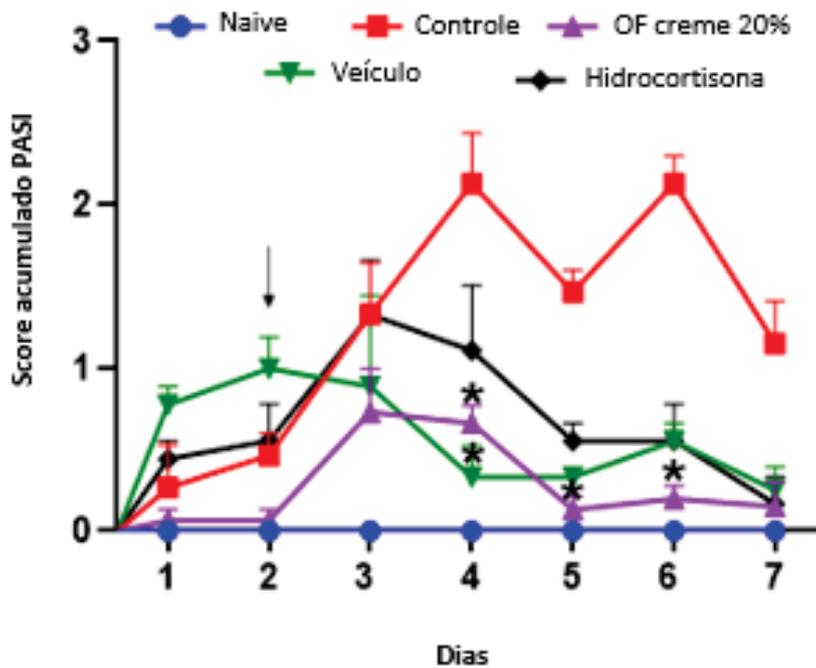


FIGURA 10: Avaliação do efeito do creme OF no desenvolvimento e progressão do escore PASI induzido por IMQ. O IMQ foi aplicado diariamente no dorso raspado dos camundongos e o PASI foi avaliado cegamente todos os dias (1 a 7), por quatro investigadores diferentes, os escores de cada grupo de animais foram calculados e a comparação entre os grupos foi avaliada. A seta indica o início dos tratamentos com controle positivo (hidrocortisona), veículo (creme não iônico) ou OF creme 20%. Os valores são apresentados como média  $\pm$  SEM. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *Two-way ANOVA*, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico, quando comparados ao grupo controle IMQ.

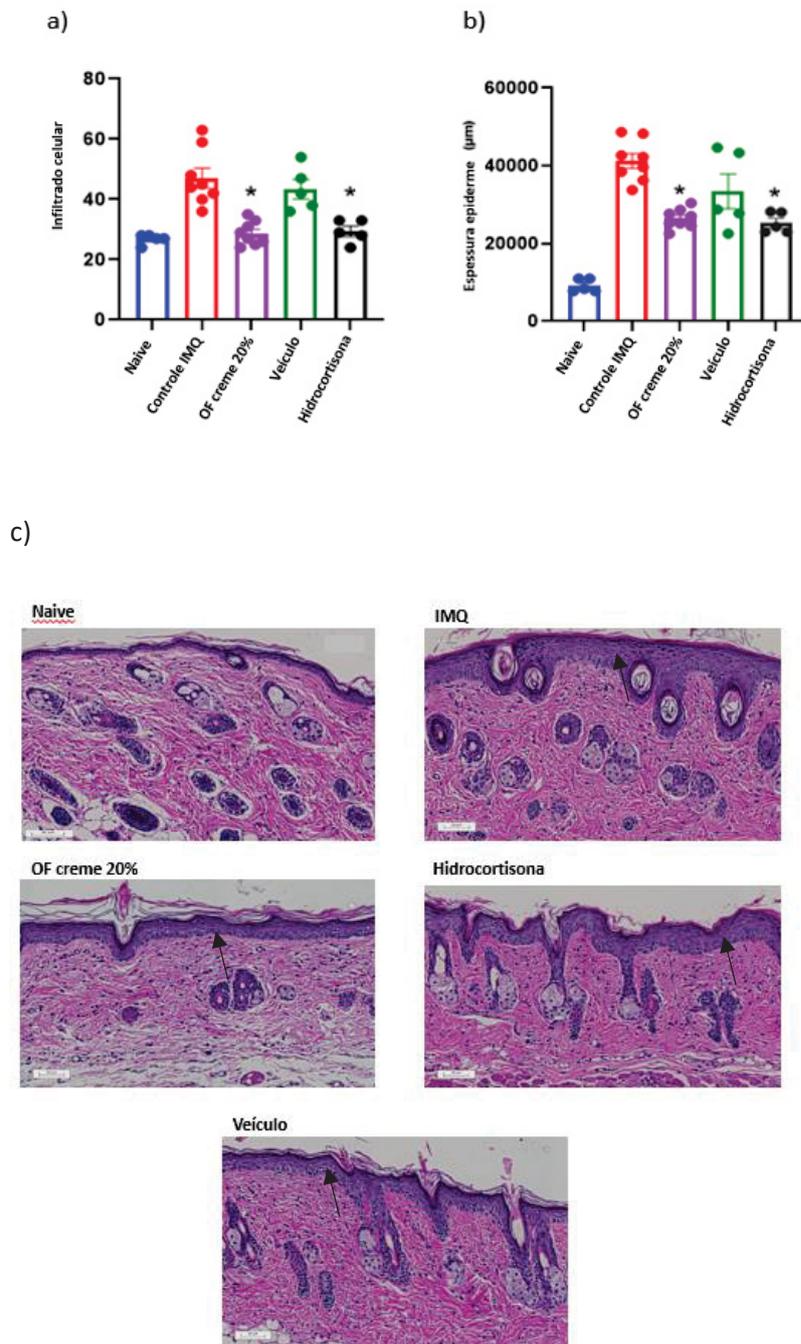
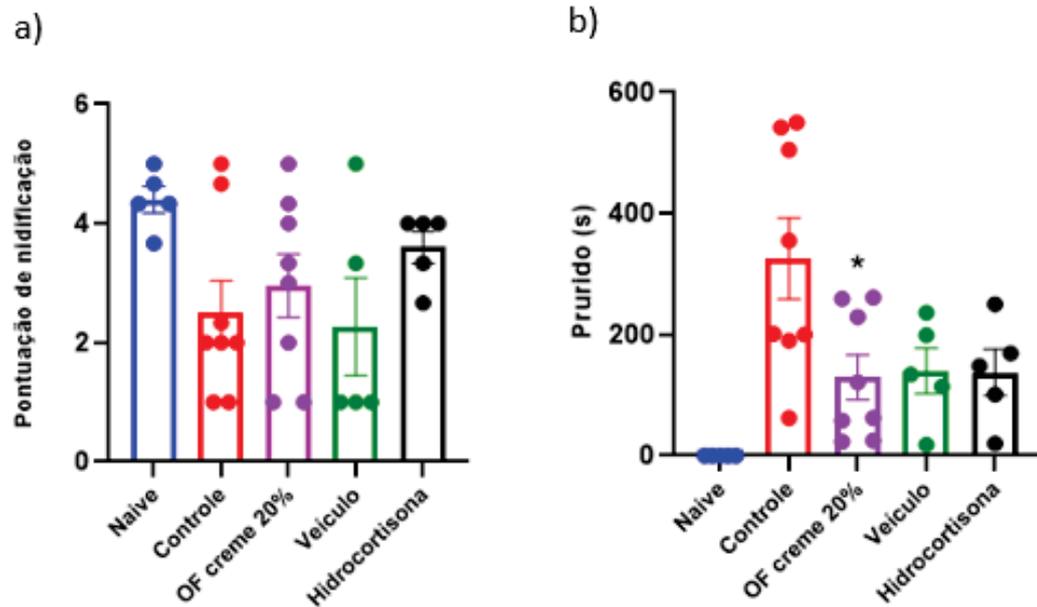
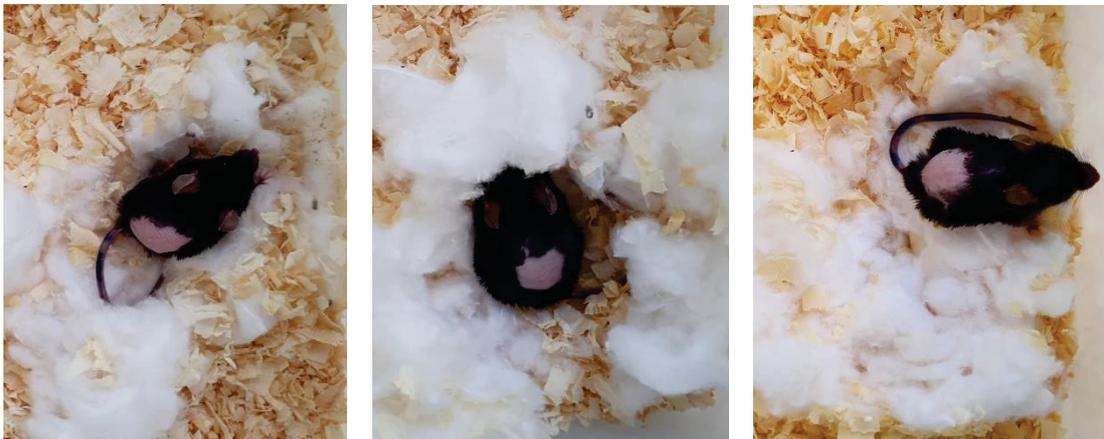


FIGURA 11: Efeito do óleo de espectro total (OF) no modelo de psoríase induzida por IMQ. Efeito de OF creme 20% (2x/dia), veículo (creme base não iônico) (2x/dia), controle positivo (hidrocortisona) (1x/dia), por via tópica, em modelo de psoríase induzida por IMQ. No dia 7 do protocolo experimental, amostras de pele dorsal foram coletadas e submetidas à avaliação histopatológica. a) Quantificação da espessura epidérmica e do infiltrado celular, em modelo de inflamação cutânea tipo psoríase, induzida por IMQ. Amostras de pele de animais que não receberam tratamento (*naive*) foram submetidas à mesma análise. b) Imagens representativas de cortes histológicos da pele do dorso de camundongos, corados com H&E, após tratamentos com IMQ e OF creme 20%, veículo ou hidrocortisona. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *One-way ANOVA*, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico quando comparado ao grupo de controle IMQ.



c)



**FIGURA 12: Avaliação do bem-estar animal e prurido espontâneo após modelo de psoríase induzida por IMQ com prurido espontâneo e tratamento com OF creme 20%.** a) O comportamento de construção de ninhos dos camundongos foi usado como indicador de bem-estar animal em modelo de psoríase induzida por IMQ. Aplicações diárias de IMQ, durante 7 dias, e início dos tratamentos no dia 2 do protocolo experimental (OF creme 20%; veículo; hidrocortisona) com aplicações na pele do dorso dos camundongos. b) No último do protocolo, os animais são colocados individualmente em arena de acrílico por 60 min (mínimo), para avaliação do prurido. O tempo que o animal passa coçando a região do dorso é quantificado, por meio de um cronômetro, por um observador treinado e cego para a condição de tratamento. A avaliação é contada cumulativamente por 15 min e é analisado o tempo total que o animal gasta coçando a área tratada. Média dos dados  $\pm$  SEM de grupos de 5 a 8 animais individuais por grupo. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *One-way ANOVA*, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico quando comparado ao grupo de controle IMQ. c) Fotos representativas do grupo OF creme 20%.

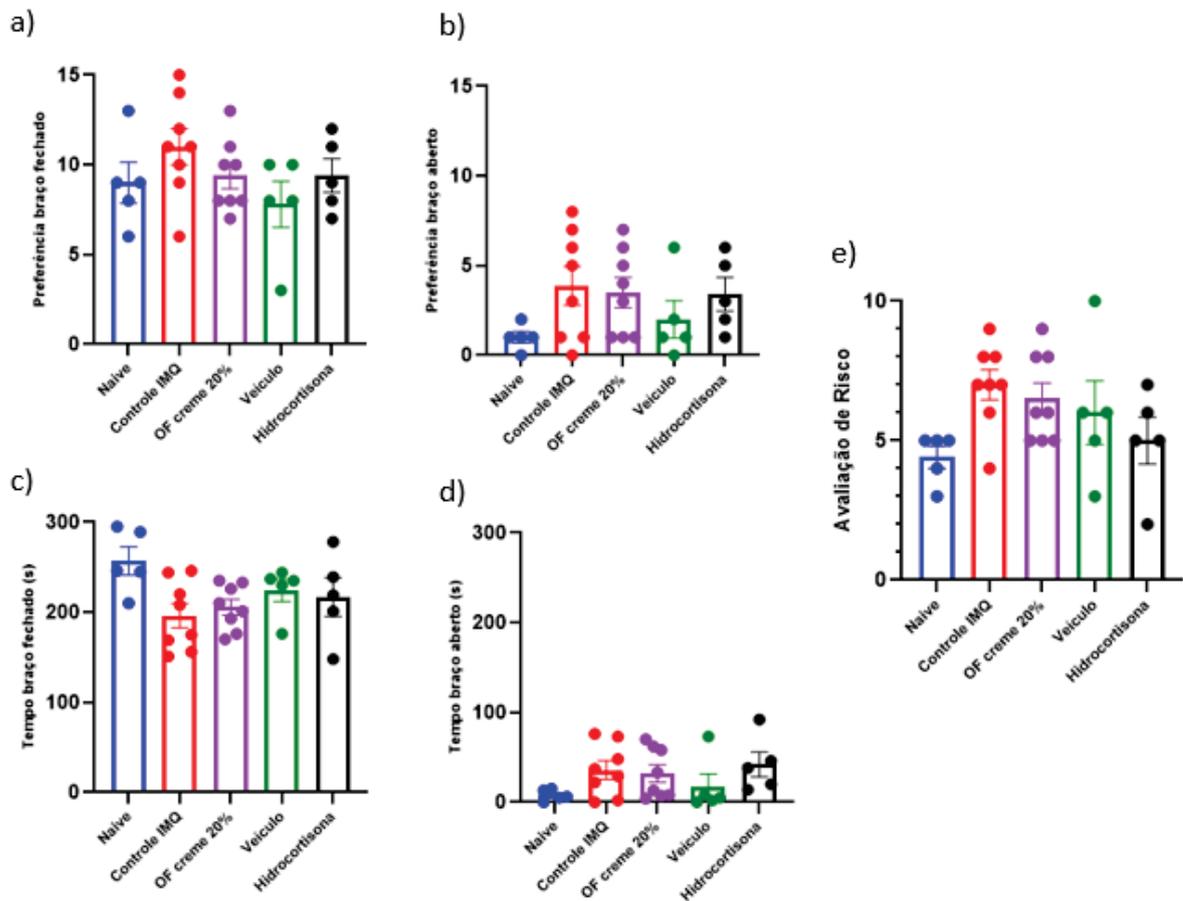


FIGURA 13: **Avaliação da ansiedade animal após modelo de psoríase induzida por IMQ.** O teste de labirinto em cruz elevada foi utilizado para avaliar o comportamento tipo ansioso em modelo animal de psoríase induzida por IMQ. Aplicações diárias de IMQ, durante 7 dias, e início dos tratamentos no dia 2 do protocolo experimental (OF creme 20%; veículo; hidrocortisona) com aplicações na pele do dorso dos camundongos. a) e b) Número de entradas no braço fechado e aberto, respectivamente. c) e d) Tempo de permanência no braço fechado e aberto, respectivamente. e) Avaliação de risco do animal, em que ele permanece no centro do labirinto levando a cabeça para as entradas do braço aberto, mas sem entrar no braço de fato. Média dos dados  $\pm$  SEM de grupos de 5 a 8 animais individuais por grupo. A análise estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância *One-way ANOVA*, seguida pelo teste de *Newman-Keuls*. Os asteriscos representam  $p < 0,05$  estatístico quando comparado ao grupo de controle IMQ.

## 6. DISCUSSÃO

As aplicações terapêuticas da cannabis e dos canabinóides são tópicos cada vez mais evidentes, à medida que a descriminalização e a legalização desses produtos continuam a se expandir. Um número limitado de compostos canabinóides foi aprovado para um conjunto específico de condições, tais como CBD e extratos de

*Cannabis sativa* contendo THC (abaixo ou acima de 0,2%, desde que sejam destinados a cuidados paliativos exclusivamente para pacientes sem alternativas terapêuticas e em situações clínicas irreversíveis ou terminais) (ANVISA, RDC 327/2019). No entanto, o papel atual dos canabinóides para o tratamento de condições dermatológicas ainda não foi definido (EAGLESTON *et al.*, 2018), apesar de muitos estudos sugerirem tal aplicação (revisado por SHAO *et al.*, 2021; Sheriff *et al.*, 2020; MARTINELLI *et al.*, 2022). Por isso, neste estudo avaliamos um novo produto canabinóide, o OF, a partir das folhas secas de *C. sativa* em dois modelos de inflamação de pele em camundongos. Infelizmente até o momento não temos a informação sobre a composição fitoquímica do OF, mas, devido ao método de extração é provável que diversos componentes canabinóides, terpenos, flavonóides, entre outros, estejam presentes. Assim, podemos fazer a análise dos resultados obtidos comparando com o que é sabido a respeito de fitocannabinóides e outros componentes da planta.

Os fitocannabinóides, compostos naturais da *Cannabis sativa*, possuem diferentes afinidades com diferentes mecanismos de ação e seus efeitos biológicos são muitas vezes resultado da interação com vários alvos moleculares, distribuídos de forma diferente em vários tipos de células (MORALES *et al.*, 2017). As potenciais ações metabólicas dos fitocannabinóides estão sendo testadas individualmente ou em combinações de vários componentes (extratos/óleos contendo misturas de diferentes compostos). Além disso, os últimos anos trouxeram novos dados de ensaios clínicos em outros componentes da *Cannabis sativa*, como o CBG (canabigerol) e o óleo contendo CBD e THC (WRONSKI *et al.*, 2023).

A aplicação tópica repetida de TPA é um modelo válido para avaliação de compostos com potencial anti-inflamatórios e antiproliferativo (JANG *et al.*, 1998; MURAKAWA *et al.*, 2006) e foi essencial para avaliar a eficácia tópica do OF. O TPA é um éster de forbol que ativa diretamente a proteína quinase C, que quando aplicado na pele promove inflamação cutânea. A aplicação repetida causa a hiperplasia epidérmica, devido ao aumento da proliferação de queratinócitos, além da migração leucocitária e aumento de mediadores inflamatórios (GUPTA, *et al.*, 1988), semelhante ao processo da psoríase no local.

O modelo de psoríase induzida por IMQ demonstrou as características típicas do modelo, hiperplasia epidérmica, hiperqueratose e infiltrado inflamatório na derme.

No caso da psoríase humana, é uma doença que apresenta imunopatogênese complexa e histopatologia característica (KIMMEL *et al.*, 2018). A indução de lesões tipo psoriática é através da aplicação tópica do IMQ, uma amina imidazoquinolina, disponível comercialmente para o tratamento tópico de verrugas genitais externas e perianais. Seus benefícios clínicos provavelmente estão relacionados à sua ação imunomoduladora, que exibe efeitos antivirais e antitumorais através da indução de citocinas e aumento da atividade antiviral citolítica mediada por células (SAUDER, 2000). Embora o mecanismo de ação do IMQ não é claramente compreendido, relatos mostram que a aplicação clínica de IMQ pode induzir psoríase em pacientes com predisposição genética, ou exacerbar a doença em pacientes com psoríase leve ou controlada (KIM, 2019; UYAMA *et al.*, 2014; SOLEY *et al.*, 2020). A administração repetida de IMQ na pele de camundongos é capaz de induzir eventos inflamatórios que espelham a psoríase humana, incluindo características histopatológicas, ativação de citocinas pró inflamatórias e recrutamento de infiltrados celulares (FITS *et al.*, 2009; KIM, 2019; SOLEY *et al.*, 2020). Por esses motivos, atualmente, o modelo de inflamação crônica tipo psoriática induzida por IMQ é um dos modelos murinos mais utilizados em estudos não clínicos de psoríase (HAWKES *et al.*, 2017; SOLEY *et al.*, 2020).

O OF foi bastante eficaz em reduzir o edema causado pelo TPA e todas as demais características da inflamação e da hiperplasia epidermal. A aplicação do OF foi além da inflamação e melhorou o bem-estar animal, analisado por meio do teste de construção do ninho. No modelo de IMQ, a avaliação PASI e a histologia da pele demonstraram que o OF melhora a severidade da inflamação, a espessura epidérmica e o infiltrado celular.

Provavelmente, parte deste efeito do OF pode ser explicado pelo efeito *entourage*, que foi inicialmente hipotetizado por Ben-Shabat e colaboradores (1998), em que compostos ativos combinados produzem efeito maior do que compostos individuais separados. Além dos canabinóides presentes na planta *C. sativa*, centenas de outros metabólitos secundários são produzidos por inflorescências de cannabis, como por exemplo os terpenóides, esteróis e flavonóides (DE MEIJER, 2014). O espectro completo de canabinóides, terpenos e óleos essenciais extraídos da planta trabalham juntos para amplificar os benefícios terapêuticos de cada canabinóide individual (FERBER *et al.*, 2020; ANAND *et al.*, 2019). Em um estudo de Kim e

colaboradores (2015) foi medido o efeito anti-inflamatório de um agonista de receptor canabinoide ( $\alpha$ -oleoil oleilamina serinol 1% - A-OOS 1%) em modelo de inflamação induzida por TPA em camundongos Balb/c. A aplicação tópica de 1% A-OOS preveniu significativamente o aumento do peso da orelha. Além disso, foi observado também um aumento na hidratação da pele em locais tratados com veículos, sugerindo que o próprio veículo pode ter um efeito positivo na hidratação da pele, assim como demonstrado em nossos dados no modelo de IMQ (Fig. 11).

O OF foi capaz de reduzir significativamente a espessura da epiderme nos dois modelos de inflamação. As modificações na espessura da epiderme, após indução da inflamação, são visivelmente observadas nos cortes histológicos examinados, em que ocorre um aumento da proliferação de queratinócitos, migração de leucócitos para epiderme e o aumento de mediadores inflamatórios (GUPTA, *et al.*, 1988). Em um estudo de Winkinson e Williamson (2007) foi avaliado o efeito do tratamento com canabinóides na proliferação de queratinócitos. Os canabinóides THC, CBD, canabinol e cannabigerol foram isolados de um extrato de *C. sativa* e foi avaliado a capacidade destes compostos em inibir a proliferação de uma linha celular de queratinócitos humanos. Todos os canabinóides testados isoladamente inibiram a proliferação de queratinócitos de maneira dependente da concentração. No entanto, a variedade de plantas de cannabis difere amplamente na composição de canabinóides, terpenos, flavonóides e outros metabólitos secundários e esses componentes podem trabalhar em combinação para produzir grandes variações nos benefícios e modular os efeitos colaterais (ANAND *et al.*, 2019).

A psoríase é uma das dermatoses mais comuns de etiologia desconhecida. Um desequilíbrio redox à oxidação pode levar ao estresse oxidativo, resultando em modificações, principalmente de lipídios e proteínas, e ativação prolongada de células imunes e aumento da geração de citocinas pró-inflamatórias, resultando em inflamação crônica. Dada a atividade biológica dos fitocannabinóides, eles se tornaram foco de pesquisa como componentes da farmacoterapia para psoríase (WRONSKI *et al.*, 2023). Em Karpowicz e colaboradores (2020) foi examinado o efeito do CBD no equilíbrio redox e no metabolismo fosfolipídico em queratinócitos irradiados com UVA/UVB, isolados da pele de pacientes psoriáticos ou voluntários saudáveis. Foi demonstrado que o CBD, por meio de suplementação das células, se acumula principalmente nos queratinócitos da membrana, especialmente de pacientes com

psoríase. Este fitocanabinóide conseguiu reduzir o desequilíbrio redox observado nos queratinócitos irradiados por UV de indivíduos saudáveis e, no caso de queratinócitos de pacientes com psoríase, o CBD apenas impediu o aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio, sob a influência da radiação UV.

Para investigar o efeito terapêutico de uma pomada de CBD, administrada em condições crônicas graves da pele, um estudo espontâneo, anedótico e retrospectivo avaliou 5 pacientes com psoríase, no qual o paciente foi instruído a administrar uma pomada tópica enriquecida com CBD em áreas lesadas da pele, durante três meses de tratamento. Com base em avaliações da pele (hidratação e elasticidade), questionários clínicos (PASI) apoiados por dados fotográficos e avaliação clínica dos investigadores, os resultados mostraram que o tratamento tópico com pomada enriquecida com CBD melhorou os parâmetros da pele, os sintomas e também o score PASI (PALMIERI *et al.*, 2019). Neste projeto a avaliação diária do PASI, nos camundongos que foram submetidos a indução da psoríase, demonstrou diminuição significativa na pontuação, melhorando os parâmetros da pele nos animais tratados com OF tópico. De acordo com Baswan *et al.* (2020), embora nos últimos anos um conjunto de evidências pré-clínicas indique que a aplicação tópica de CBD pode ser eficaz para algumas condições de pele, como eczema, psoríase, prurido e condições inflamatórias, a confirmação da eficácia clínica e a elucidação dos mecanismos moleculares subjacentes ainda não foram totalmente identificados. Nossos resultados, em modelos animais, sugerem que o conjunto de componentes presentes no OF demonstrou ter papel relevante na regulação da hiperproliferação de queratinócitos da epiderme, na inflamação induzida por TPA ou no modelo de psoríase induzida por IMQ.

Os dados obtidos em nosso estudo, no modelo de IMQ, mostram que OF creme 20% tópico teve papel importante também na redução do prurido da pele psoriática dos animais. As evidências na literatura sugerem o efeito antipruriginoso dos canabinóides são devidos a uma combinação de efeitos na ativação neuronal, transmissão ao longo da via aferente e modulação local de queratinócitos e mastócitos (AVILA *et al.*, 2020). Um estudo identificou um novo agonista seletivo do receptor CB2 (S-777469), que suprimiu significativamente o comportamento de coçar induzido por composto pruritogênico (composto 48/80, polímero produzido pela condensação de N-metil-p-metoxifenetilamina com formaldeído, que promove liberação de histamina),

em camundongos de maneira dependente da dose quando administrado por via oral (ODAN *et al.*, 2012; HARUNA *et al.*, 2015).

Nos modelos animais utilizados neste estudo, optou-se por utilizar principalmente a via tópica e, no modelo TPA, também a via IP. Neste protocolo experimental, os resultados demonstram que o OF IP foi capaz de reduzir o edema de orelha, assim como o OF por via tópica, no entanto, os resultados da via tópica foram mais significativos, tanto para o peso da orelha, quanto para construção do ninho. A utilização das duas diferentes vias de administração foi relevante para que se pudesse ter um comparativo entre as vias de administração e selecionar uma via para etapa do modelo de IMQ. Além disso, segundo Martinelli *et al.* (2022), alguns estudos sugerem aspectos sobre a permeabilidade tópica e a biodisponibilidade de outros canabinóides, além do THC ou CBD. A biodisponibilidade do THC inalado é de 10% a 35%. Depois que o THC é absorvido, chega ao fígado, onde a maior parte é eliminada ou metabolizada. Já a biodisponibilidade do THC ingerido é de apenas 4% a 12%. O THC é altamente solúvel em lipídios e, portanto, é rapidamente absorvido pelo tecido adiposo. A biodisponibilidade do CBD por inalação é de 11% a 45%, enquanto a do CBD oral é de 6%. O CBD tem alta lipofilicidade e, portanto, é rapidamente distribuído no cérebro, tecido adiposo e outros órgãos. O CBD tem baixa solubilidade em água e farmacocinética variável, sendo assim, quando administrado em derivados de petróleo e por via oral-mucosa/sublingual por meio de sprays ou pastilhas apresenta menor variabilidade (CHAYASIRISOBHON, 2020).

Nos últimos anos, foram identificados alvos moleculares para alguns fitocannabinóides, além do sistema endocannabinóide clássico (WRONSKI *et al.*, 2023). Nossos achados com OF mostraram menor infiltração celular e menor hiperplasia epidérmica induzida pelos agentes inflamatórios (TPA e IMQ). Esses resultados nos levam a criar a hipótese de que muitos componentes do OF não estão interagindo apenas com o sistema endocannabinóide na modulação da inflamação. O OF avaliado neste trabalho, além dos diversos componentes presentes em sua composição, possivelmente possui também pequenas quantidades de THC. Um estudo avaliou o impacto do THC, aplicado topicamente, na dermatite alérgica de contato em camundongos selvagens e com deficiência de receptores CB1 e CB2 (ambos expressos na pele). A aplicação tópica de THC pode atenuar a inflamação alérgica de contato, diminuir os mediadores pró-inflamatórios, o inchaço alérgico da orelha e a

infiltração de células imunes em camundongos, independente do sistema endocanabinoide (GAFFAL *et al.*, 2013). Há 35 anos, com o objetivo de examinar por via tópica o potencial anti-inflamatório de dois extratos de cannabis, um estudo testou em modelo de inflamação induzida por TPA, um extrato de cannabis livre de canabinóides e outro contendo canabinóides. O eritema induzido por TPA foi inibido por ambos os extratos. Os resultados também sugerem que outras substâncias fenólicas estruturalmente relacionadas podem estar presentes neste complexo de extratos, explicando a atividade anti-inflamatória observada (FORMUKONG *et al.*, 1988). Assim, nossa hipótese é de que o OF possivelmente está interagindo com diferentes sistemas.

Até o momento, nenhum tratamento demonstrou curar a psoríase, portanto, o tratamento dessa doença precisa ser individualizado, levando em consideração o grau de psoríase e seus efeitos na qualidade de vida, os prováveis benefícios e possíveis efeitos colaterais dos tratamentos (BOLOGNIA *et al.*, 2015). De acordo com o estudo Pso.BRA, realizado no departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Paraná, 23,7% de quase 100 pacientes avaliados relataram insatisfação com o tratamento (SÁ JUSTO, *et al.*, 2022). A hidrocortisona, um anti-inflamatório esteroidal (AEs), utilizado em nossos modelos como fármaco de referência (controle positivo) é um dos tratamentos utilizados nas doenças inflamatórias da pele, isoladamente ou em combinação com outras terapias. Em um estudo comparando o efeito anti-inflamatório *in vitro* do CBD e da dexametasona, um AEs, indicou que o CBD teve um efeito anti-inflamatório semelhante à dexametasona, atenuando a produção de NO (óxido nítrico), IL-6 e TNF- $\alpha$ , induzida por LPS (WANG *et al.*, 2022). Assim, o OF quando administrado em processos inflamatórios da pele em camundongos, demonstrou atividade anti-inflamatória evidente, possivelmente, sem promover os mesmos efeitos adversos causados pela dexametasona, o que demonstra grande potencial como possível fonte para desenvolvimento de um fitoterápico anti-inflamatório de uso tópico.

O presente trabalho demonstrou que o OF teve atividade anti-inflamatória tópica sem, entretanto, demonstrar um princípio ativo isolado desse material. A identificação do composto de efeito majoritário em um extrato e muitas vezes complexa e demorada. Além disso o composto isolado geralmente tem uma grande complexidade estrutural que acaba dificultando sua síntese (CALIXTO, 2003). Os resultados obtidos com o tratamento com o OF revelam grande potencial deste

produto em doenças inflamatórias de pele, podendo ser uma excelente opção devido ao seu efeito *entourage*, potencializando o tratamento e melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

A psoríase é uma doença multisistêmica com impacto significativo na qualidade de vida do paciente. Alguns parâmetros clínicos são determinantes para o paciente com a psoríase, como por exemplo a área de superfície corporal afetada, que podem causar grandes níveis de estresse. Além disso, um tratamento com alto custo para o paciente indiretamente leva a uma qualidade de vida inferior. E ainda o local das lesões, que podem afetar as atividades diárias dos indivíduos, além de sintomas como coceira, dor e comorbidades associadas. É uma doença que não se limita apenas à pele e unhas, mas também pode afetar as articulações (artrite psoriática) e os olhos (uveíte) e pode estar associada à morbidade cardíaca (AGARWAL, *et al.*, 2022). Nos dados coletados pelo estudo Pso.BRA, foi avaliado a predominância de obesidade, sedentarismo e circunferência abdominal alterada, bem como hipertensão arterial, diabetes e colesterol elevado, quando comparados aos dados da população geral brasileira (SÁ JUSTO, *et al.*, 2022).

No teste de construção de ninho, do modelo TPA, é importante observar que nosso estudo confirma que o OF demonstrou melhorar o bem-estar animal e o teste do prurido, realizado no modelo de IMQ, demonstrou melhorar a coceira característica da pele psoriática, o que confirma que o OF pode ter grande importância na melhora da qualidade de vida destes pacientes demonstrando ser uma importante estratégia de tratamento para pacientes com psoríase. O estudo Pso.BRA, que incluiu 97 pacientes com psoríase em qualquer nível de gravidade, o prurido foi destacado como o maior desconforto entre os pacientes (SÁ JUSTO, *et al.*, 2022).

A psoríase não é apenas uma doença inflamatória crônica da pele, mas também um distúrbio psicossomático e a depressão é uma das doenças mais comuns associadas, que agrava as lesões cutâneas psoriáticas e afeta a qualidade de vida dos pacientes (GUO *et al.*, 2020). No modelo de IMQ, os animais foram expostos ao teste de labirinto em cruz elevada, com objetivo de analisar o efeito do OF no comportamento semelhante a ansiedade. Não foi observado mudanças no comportamento dos animais, possivelmente devido ao IMQ, e o tratamento com OF não teve alterações significativas neste teste. No estudo de Guo e colaboradores (2020) foi utilizado o modelo de psoríase induzida por IMQ em camundongos, com

duração de 8 dias, e foram observados comportamentos tipo depressivo em camundongos com psoríase, quando comparado aos animais tratados com antidepressivo e medicamento de primeira linha para psoríase (metotrexato). Além disso, foi detectado o conteúdo de citocinas inflamatórias em lesões de pele e neurotransmissores relacionados à depressão em diferentes regiões do cérebro destes animais. Em uma revisão de Iglesias *et al.* (2023), sobre os efeitos dos agonistas dos receptores CB1, foi analisado dados sobre canabinóides e comportamento semelhante à ansiedade em roedores expostos ao labirinto em cruz elevada e foi demonstrado que os canabinóides tendem a reduzir o comportamento semelhante à ansiedade. No entanto, a utilização do IMQ pode ter influenciado nossos resultados, sendo necessárias maiores análises para avaliação desses efeitos, já que o THC e os canabinóides induzem um conjunto complexo de respostas emocionais, representando um grande desafio para a reprodutibilidade dos dados (IGLESIAS *et al.*, 2023).

Assim como demonstrado em nosso estudo e em pesquisas anteriores, os produtos derivados da cannabis são geralmente bem tolerados e mostram resultados promissores no tratamento de psoríase (MARTINS *et al.*, 2020). No entanto, mais estudos serão necessários para confirmar e avaliar completamente o potencial desses compostos e os possíveis efeitos adversos associados ao seu uso tópico. Além disso, uma combinação entre canabinóides e outros compostos derivados da cannabis dificilmente foi examinada e deve ser mais investigada, pois tem grande potencial para futuros tratamentos para psoríase.

## 6 CONCLUSÃO

- Primeiro estudo a demonstrar a eficácia tópica de um óleo canabinóide, reduzindo a inflamação da pele, coceira e melhorando o bem-estar animal;
- O OF de cannabis apresenta atividade anti-inflamatória e antiproliferativa quando aplicado por via tópica em modelo de inflamação cutânea crônica, sendo estas atividades evidenciadas pela diminuição da hiperplasia epidérmica;

- Análises histológicas de amostras teciduais dos animais tratados topicamente com o OF de cannabis demonstraram reduções significativas no influxo de células inflamatórias para o tecido lesionado;
- O tratamento com OF de cannabis demonstrou melhorar o bem-estar animal e o prurido da lesão tipo psoriática;
- Os efeitos anti-inflamatórios observados com o tratamento com OF parecem ser mediados por diversos mecanismos.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL K. *et al.* Impact of Psoriasis on Quality of Life. **Indian J Dermatol**, v. 67, p. 387-391, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9792014/>. Acesso em: junho/2023.

ALBANESI, C. *et al.* Keratinocytes in inflammatory skin diseases. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, vol. 4, p. 329-334, 2005. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/article/35577>. Acesso em: junho/2023.

ANAND U. *et al.* Cannabis-based medicines and pain: a review of potential synergistic and entourage effects. **Pain management**, vol. 11, p. 395-403, 2021. Disponível em: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pmt-2020-0110>. Acesso em: abril/2023.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 327, de 9 de dezembro de 2019**. Dispõe sobre os procedimentos para a concessão da Autorização Sanitária para a fabricação e a importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição, a dispensação, o monitoramento e a fiscalização de produtos de Cannabis para fins medicinais. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 de dezembro de 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-327-de-9-de-dezembro-de-2019-232669072>. Acesso em: junho/2023.

AVILA C. *et al.* Cannabinoids for the Treatment of Chronic Pruritus: A Review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0190962220301201>. Acesso em: maio/2023.

AYALA-FONTÁNEZ, N. *et al.* Current knowledge on psoriasis and autoimmune diseases. **Psoriasis**, vol. 6, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5683130/>. Acesso em: junho/2021.

BASWAN, S. M. *et al.* Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD) for Skin Health and Disorders. **Clin Cosmet Investig Dermatol**, vol 13, p. 927-942, 2020. Disponível em: <https://www.dovepress.com/therapeutic-potential-of-cannabidiol-cbd-for-skin-health-and-disorders-peer-reviewed-fulltext-article-CCID>. Acesso em: abril/2023.

BERDYSHEV E. V. Cannabinoid receptors and the regulation of immune response. **Chemistry and physics of lipids**, vol. 108, p. 169–190, 2000. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000930840000195X?via%3Di> hub. Acesso em: junho/2023.

BLÁZQUEZ, C. *et al.* Cannabinoid receptors as novel targets for the treatment of melanoma. **The FASEB journal**, v. 20, n. 14, p. 2633-2635, 2006. Disponível em: <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1096/fj.06-6638fje>. Acesso em: junho/2023.

BOHJANEN K. Structure and Functions of the Skin. **Clinical Dermatology**. 2017. Disponível em: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2184&sectionid=165458458>. Acesso em: junho/2023

BOLOGNIA, *et al.* **Dermatologia**, tradução da 3ª edição. São Paulo. Grupo GEN, 2015. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595155190/>. Acesso em: Jun/2021

BOUABOULA, *et al.* Anandamide induced PPAR $\gamma$  transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. **European journal of pharmacology**, v 517, p. 174-181.2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15987634/>. Acesso em: julho/2023.

BRADLEY, P.P. *et al.* Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **The Journal of investigative dermatology**, vol 78, p. 206-209, 1982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6276474/>. Acesso em: maio/2023.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Cienc. Cult**, vol.55, p.37-39, 2003. Disponível em: [http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0009-67252003000300022](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252003000300022). Acesso em: junho/2023.

CASANOVA, M. *et al.* Inhibition of skin tumor growth and angiogenesis in vivo by activation of cannabinoid receptors. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 111, p. 43-50, 2003. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/16116/pdf>. Acesso em: junho/2023.

CHIURCHIÙ, V. *et al.* Distinct modulation of human myeloid and plasmacytoid dendritic cells by anandamide in multiple sclerosis. **Annals of neurology**, vol. 73, p. 626–636, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.23875>. Acesso em: junho/2023.

CHIURCHIÙ, V. *et al.* Anandamide Suppresses Proinflammatory T Cell Responses In Vitro through Type-1 Cannabinoid Receptor-Mediated mTOR Inhibition in Human Keratinocytes. **Journal of immunology**, vol 197, p. 3545–3553, 2016. Disponível em:

<https://journals.aai.org/jimmunol/article/197/9/3545/109227/Anandamide-Suppresses-Proinflammatory-T-Cell>. Acesso em: junho/2023.

DE BENEDICTIS, C. *et al.* Immune functions of the skin. **Clinics in Dermatology**, vol.19, p. 573-585, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X00001735>. Acesso em: maio/2023.

DE MEIJER, E. The Chemical Phenotypes (Chemotypes) of Cannabis. **Handbook of Cannabis**, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/book/27329/chapter-abstract/197028220?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: junho/2023.

DEVANE, WA *et al.* Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**. 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1470919/>. Acesso em: julho/2023.

DE YOUNG, L. M. *et al.* Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents and actions** vol. 26, p. 335-341, 1989. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01967298>. Acesso em: janeiro/2023.

DI MARZO, V. *et al.* The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. **Nature reviews**. v. 3, p. 771-784, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15340387/>. Acesso em: julho/2023.

EAGLESTON, L. *et al.* Cannabinoids in dermatology: a scoping review. **Dermatology online Journal**, vol. 24, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30142706/>. Acesso em: janeiro/2023.

FERBER, S. G. *et al.* The "Entourage Effect": Terpenes Coupled with Cannabinoids for the Treatment of Mood Disorders and Anxiety Disorders. **Curr Neuropharmacol**, vol 18, p. 87-96, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31481004/>. Acesso em: maio/2023.

FITS, L. *et al.* Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. **J Immunol**, v.182, n.9, n. 1, p. 5836-45, 2009. Disponível em: <https://journals.aai.org/jimmunol/article/182/9/5836/104045/Imiquimod-Induced-Psoriasis-Like-Skin-Inflammation>. Acesso em: junho/2023.

FITZPATRICK, J. M. *et al.* MyD88-dependent and -independent signalling via TLR3 and TLR4 are differentially modulated by  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in human macrophages. **Journal of neuroimmunology**, vol. 343, 2020. Disponível em: [https://www.jni-journal.com/article/S0165-5728\(20\)30057-6/fulltext](https://www.jni-journal.com/article/S0165-5728(20)30057-6/fulltext). Acesso em: junho/2023.

FORMUKONG, E. A. *et al.* Analgesic and antiinflammatory activity of constituents of *Cannabis sativa* L. **Inflammation**, vol 12, p.361-371, 1988. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00915771>. Acesso em: maio/2023.

GAFFAL, E. *et al.* Anti-inflammatory activity of topical THC in DNFB-mediated mouse allergic contact dermatitis independent of CB1 and CB2 receptors. **Allergy**, vol 68, p. 994-1000, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.12183>. Acesso em: maio/2023.

GREB, J. E. *et al.* Psoriasis. **Nature Reviews Disease Primers**, vol 2, 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201682>. Acesso em: junho/2021.

GUO, J. *et al.* (2020). Depressive-like behaviors in mice with Imiquimod-induced psoriasis. **International immunopharmacology**, vol 89, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567576920324796?via%3Di> hub. Acesso em: junho/2023.

GUPTA, A. K. *et al.* Sphingosine inhibits phorbol ester-induced inflammation, ornithine decarboxylase activity, and activation of protein kinase C in mouse skin. **The Journal of investigative dermatology**, vol 91, p. 486–491, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12476635>. Acesso em: junho/2023.

HARSHA, J. *et al.* Repurposing approved therapeutics for new indication: Addressing unmet needs in psoriasis treatment. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, vol 2, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590257121000286>. Acesso em: junho/2021.

HARUNA, T. *et al.* S-777469, a novel cannabinoid type 2 receptor agonist, suppresses itch-associated scratching behavior in rodents through inhibition of itch signal transmission. **Pharmacology**, vol. 95, p.95–103, 2015. Disponível em: <https://karger.com/pha/article-abstract/95/1-2/95/272319/S-777469-a-Novel-Cannabinoid-Type-2-Receptor?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: junho/2023.

HENRIQUEZ, J. E. *et al.* Suppression of CpG-ODN-mediated IFN $\alpha$  and TNF $\alpha$  response in human plasmacytoid dendritic cells (pDC) by cannabinoid receptor 2 (CB2)-specific agonists. **Toxicology and applied pharmacology**, vol. 369, p. 82–89, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041008X19300705?via%3Di> hub. Acesso em: junho/2023.

HENRIQUEZ, J. E. *et al.*  $\Delta$  9-Tetrahydrocannabinol (THC) Impairs CD8+ T Cell-Mediated Activation of Astrocytes. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, vol. 15, p. 863-874, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7529688/>. Acesso em: junho/2023.

IGLESIAS, L. *et al.* Effects of  $\Delta$ 9-THC and Type-1 Cannabinoid Receptor Agonists in the Elevated Plus Maze Test of Anxiety: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Cannabis and cannabinoid research**, vol 8, p. 24–33, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35984927/>. Acesso em: junho/2023.

JANG, M. *et al.* Effects of resveratrol on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced oxidative events and gene expression in mouse skin. **Cancer letters**, vol.134, p. 81–89, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030438359800250X?via%3Dihub>. Acesso em: junho/2023.

KARMAUS, P. W. *et al.*  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol impairs the inflammatory response to influenza infection: role of antigen-presenting cells and the cannabinoid receptors 1 and 2. **Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology**, vol. 131, p. 419–433, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551428/>. Acesso em: junho/2023.

KARPOWICZ, J.I. *et al.* Cannabidiol Effects on Phospholipid Metabolism in Keratinocytes from Patients with Psoriasis Vulgaris. **Biomolecules** vol. 10, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/3/367>. Acesso em: junho/2023.

KILKENNY, C. *et al.* Animal research: Reporting in vivo experiments-The ARRIVE Guidelines. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 31, n. 4, p. 991–993, 2011.

KIM, H. J. *et al.* Topical cannabinoid receptor 1 agonist attenuates the cutaneous inflammatory responses in oxazolone-induced atopic dermatitis model. **International journal of dermatology**, vol. 54, p. 401–408, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijd.12841>. Acesso em: junho/2023.

KIM, J. C. The Imiquimod Induced Psoriatic Animal “Model: Scientific Implications. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, vol. 13, p. 2018–2020, 2019. Disponível em: <https://ideas.repec.org/a/abf/journal/v13y2019i1p9722-9724.html>. Acesso em: junho/2023.

KIMMEL, G. W. *et al.* Psoriasis: Overview and Diagnosis. **Evidence-Based Psoriasis: Diagnosis and Treatment**, vol. 1, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7122924/>. Acesso em: junho/2023.

KLEIN, T. W. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. **Nature reviews Immunology**, vol. 5, p. 400–411, 2005. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri1602>. Acesso em: junho/2023.

LAWS PM, *et al.* Topical treatment of psoriasis. **Expert Opin Pharmacother**. v. 12, p. 1999-2009, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20569091/>. Acesso em: julho/2023.

LIU J. *et al.* Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. **Biochem J.** v 346, p. 835–840, 2000. Disponível em: <https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/346/3/835/35843/Functional-CB1-cannabinoid-receptors-in-human?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: julho/2023.

LOWES, M. A. *et al.* Immunology of psoriasis. **Annual review of immunology**, vol. 32, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4229247/>. Acesso em: junho/2021.

MANN, E. R. *et al.* Review: skin and the immune system. **J. Clin. Exp. Dermatol. Res**, v. 2, n. 2, 2012. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access/review-skin-and-the-immune-system-2155-9554.S2-003.pdf>. Acesso em: julho/2023.

MARTÍN-FONTECHA, M. *et al.* A Fluorescent Probe to Unravel Functional Features of Cannabinoid Receptor CB<sub>1</sub> in Human Blood and Tonsil Immune System Cells. **Bioconjugate chemistry**, vol. 29, p. 382–389, 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.bioconjchem.7b00680>. Acesso em: junho/2023.

MARTINELLI, G. *et al.* *Cannabis sativa* and Skin Health: Dissecting the Role of Phytocannabinoids. **Planta medica**, vol. 88, p. 492-506, 2022. Disponível em: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/a-1420-5780>. Acesso em: fevereiro/2023.

MARTINS, A. M. *et al.* Cannabis-Based Products for the Treatment of Skin Inflammatory Diseases: A Timely Review. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, vol. 15, p. 210, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/2/210>. Acesso em: fevereiro/2023.

MENTER A. The status of biologic therapies in the treatment of moderate to severe psoriasis. **Cutis.** v. 84, p.14-24, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19916298/>. Acesso em: julho/2023.

MORALES, P. *et al.* Molecular Targets of the Phytocannabinoids: A Complex Picture. **Prog Chem Org Nat Prod**, vol 103, p. 103-121, 2017. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-45541-9\\_4](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-45541-9_4). Acesso em: maio/2023.

MURAKAWA, M. *et al.* Involvement of tumor necrosis factor (TNF)-alpha in phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin edema in mice. **Biochemical pharmacology**, vol. 71, p. 1331–1336, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295206000591?via%3Di%3Dhub>. Acesso em: junho/2023.

NAMAZI M. R. Cannabinoids, loratadine and allopurinol as novel additions to the antipsoriatic ammunition. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, vol. 19, p. 319–322, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1468-3083.2004.01184.x>. Acesso em: junho/2023.

NAMDAR, D. *et al.* Medical Cannabis for the treatment of inflammation. **Natural Product Communications**, v. 13, 2018. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1934578X1801300304>. Acesso em: junho/2023.

NAST A, *et al.* S3-Leitlinie zur Therapie der Psoriasis vulgaris. Guidelines for the therapy of psoriasis vulgaris. **J Dtsch Dermatol Ges**. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17187649/>. Acesso em: julho/2023.

NIEKERK *et al.* Anti-inflammatory mechanisms of cannabinoids: an immunometabolic perspective. **Inflammopharmacology**, vol 27, p. 39–46, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-018-00560-7>. Acesso em: junho/2023.

NOROOZNEZHAD, A. H. *et al.* Cannabinoids: Possible agents for treatment of psoriasis via suppression of angiogenesis and inflammation. **Medical hypotheses**, vol. 99, p.15-18, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306987716302092?via%3Di> hub. Acesso em: abril/2023.

ODAN, M. *et al.* Discovery of S-777469: an orally available CB2 agonist as an antipruritic agent. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, vol. 22, p. 2803–2806, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960894X12002739?via%3Di> hub. Acesso em: junho/2023.

PELLATI F. *et al.* *Cannabis sativa* L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. **BioMed research international**, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6304621/>. Acesso em: junho/2023.

PROKSCH, E. *et al.* The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**, vol. 17, p. 1063-1072, 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0625.2008.00786.x>. Acesso em: junho/2023.

PULVIRENTI, N. *et al.* Topical adelmidrol 2% emulsion, a novel aliamide, in the treatment of mild atopic dermatitis in pediatric subjects: a pilot study. **Acta dermatovenerologica Croatica**: vol 15, p. 80–83, 2007. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcgclefindmkaj/https://hrcak.srce.hr/file/131631>. Acesso em: junho/2023.

SÁ JUSTO KC, Filho AB, Zonzini FHT, Dagostini JS, Faria AR, Tanaka AA, *et al.* Prevalência de Comorbidades em Pacientes com Psoríase no Brasil: Resultados Preliminares do Estudo Farmacoepidemiológico Pso.BRA. **Int J Phys Med Rehabil**, 2022.

SAKAI, K *et al.* Mouse model of imiquimod-induced psoriatic itch. **Pain**, vol. 157, p. 2536-2543, 2016. Disponível em: [https://journals.lww.com/pain/Abstract/2016/11000/Mouse\\_model\\_of\\_imiquimod\\_induced\\_psoriatic\\_itch.19.aspx](https://journals.lww.com/pain/Abstract/2016/11000/Mouse_model_of_imiquimod_induced_psoriatic_itch.19.aspx). Acesso em: janeiro/2023.

SAUDER, D. N. Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. **Journal of the American Academy of Dermatology**, vol. 43, p. S6–S11, 2002. Disponível em: [https://www.jaad.org/article/S0190-9622\(00\)17818-1/fulltext](https://www.jaad.org/article/S0190-9622(00)17818-1/fulltext). Acesso em: junho/2023.

SHABAT, B.S. *et al.* An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. **European Journal of Pharmacology**, vol. 353, p. 23-31, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299998003926>. Acesso em: junho/2023.

SHERIFF, T. *et al.* The potential role of cannabinoids in dermatology. **The Journal of dermatological treatment**, vol. 31, p. 839-845, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09546634.2019.1675854?journalCode=ijdt20>. Acesso em: março/2023

SHUTOVA, M.S. *et al.* Mechanotransduction in Skin Inflammation. **Cells**, vol 11, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells11132026>. Acesso em: maio/2023.

SOFIA, R. D. *et al.* Anti-edema and analgesic properties of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 186, p. 646-655, 1973. Disponível em: <https://jpet.aspetjournals.org/content/186/3/646.short>. Acesso em: junho/2023.

SOLEY, B.S. Envolvimento das cininas na psoríase induzida por imiquimod. 2019. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

SOLEY, B. S. *et al.* B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> kinin receptor blockade improves psoriasis-like disease. **British journal of pharmacology**, vol. 177, p. 3535-3551, 2020. Disponível em: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.15077>. Acesso em: janeiro/2023.

SUGIURA T, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. **Biochem Biophys Res Commun**. p. 89-97. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7575630/>. Acesso em: julho/2023.

STANDER S, et al. Distribution of cannabinoid receptor 1 (CB1) and 2 (CB2) on sensory nerve fibers and adnexal structures in human skin. **J Dermatol Sci**. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15927811/>. Acesso em: julho/2023.

STANLEY, P. L *et al.* Mouse Skin Inflammation Induced by Multiple Topical Applications of 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate. **Skin Pharmacology**, vol. 4, p. 262-271, 1991. Disponível em: <https://karger.com/spp/article-abstract/4/4/262/819478/Mouse-Skin-Inflammation-Induced-by-Multiple?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: maio/2023.

STERN, R. S. Psoriasis Is Common, Carries a Substantial Burden Even When Not Extensive, and Is Associated with Widespread Treatment Dissatisfaction, **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, vol 9, p.136-139, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15530005>. Acesso em: maio/2023.

TAKAHASHI, T., YAMASAKI, K. Psoriasis and Antimicrobial Peptides. **International journal of molecular sciences**, vol. 21, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7555190/>. Acesso em: junho/2021.

UEYAMA, A. *et al.* Mechanism of pathogenesis of imiquimod-induced skin inflammation in the mouse: A role for interferon-alpha in dendritic cell activation by imiquimod. **Journal of Dermatology**, vol. 41, p. 135–143, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1346-8138.12367>. Acesso em: junho/2023.

WILKINSON, J.D., WILLIAMSON, E.M. Cannabinoids inhibit human keratinocyte proliferation through a non-CB1/CB2 mechanism and have a potential therapeutic value in the treatment of psoriasis. **Journal of Dermatological Science**, vol. 45, p. 87-92, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092318110600315X>. Acesso em: maio/2023.

WOLF, R. *et al.* Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of psoriasis. **Clinics in Dermatology**, vol. 30, p. 323-328, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X11002264>. Acesso em: junho/2023.

WRONSKI A. *et al.* Phytocannabinoids in the Pharmacotherapy of Psoriasis. **Molecules**, vol 28, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/3/1192>. Acesso em: maio/2023.