UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

MARIANA MENDONÇA SOARES

EFEITO IMUNOMODULADOR DO TRATAMENTO CRÔNICO COM O ÓLEO DO EXTRATO DA *CANNABIS SATIVA* RICO EM CANABIDIOL EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (MODELO 2RINS-1CLIPE)

João Pessoa-PB
2026

MARIANA MENDONÇA SOARES

EFEITO IMUNOMODULADOR DO TRATAMENTO CRÔNICO COM O ÓLEO DO EXTRATO DA *CANNABIS SATIVA* RICO EM CANABIDIOL EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (MODELO 2RINS-1CLIPE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia do Centro de Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito obrigatório de conclusão do **Mestrado**, para obtenção do título de **Mestre em Biotecnologia**.

Orientadora: Profª. Drª. Sandra Rodrigues Mascarenhas

Coorientadora: Profª. Drª. Josiane Campos Cruz.

João Pessoa-PB

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S676e Soares, Mariana Mendonça.
Efeito imunomodulador do tratamento crônico com o óleo do extrato da cannabis sativa rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular (modelo 2rins-1clipe) / Mariana Mendonça Soares. - João Pessoa, 2026.
94 f.

Orientação: Sandra Rodrigues Mascarenhas.
Coorientação: Josiane Campos Cruz.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBiotec.

1. Hipertensão renovascular. 2. Imunomodulação. 3. Fitoterápicos. 4. Canabidiol (CBD). I. Mascarenhas, Sandra Rodrigues. II. Cruz, Josiane Campos. III. Título.

UFPB/BC CDU 615.214:616.12-008.331.1(043)

Elaborado por KAROLLYNE FERREIRA DANTAS - CRB-4/2319

Ata da 49ª (quadragésima nona) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia **MARIANA MENDONÇA SOARES** candidato(a) ao Título de "Mestre" em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia Aplicada à Saúde.

Às dez horas (10h00) do dia 26 de fevereiro do ano de dois mil e vinte e seis (26/02/2026), via Plataforma Virtual Google Meet, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o(a) aluno(a) **Mariana Mendonça Soares** candidato(a) ao Título de "MESTRE" em Biotecnologia. Foram componentes da Banca Examinadora os(as) professores(as) doutores(as) Sandra Rodrigues Mascarenhas (Orientadora) (Universidade Federal da Paraíba); Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente (Examinador interno) (Universidade Federal da Paraíba); Lucio Roberto Cançado Castellano (Examinador externo) (Universidade Federal da Paraíba) e Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva (Examinador externo) (Universidade Federal de Alagoas). Dando início aos trabalhos, o(a) Presidente da Banca professor(a) Sandra Rodrigues Mascarenhas, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o(a) candidato(a) **Mariana Mendonça Soares**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Efeito Imunomodulador do tratamento crônico com óleo do extrato da *Cannabis Sativa* rico em Canabidiol em ratos com hipertensão renovascular (modelo 2 rins-1clipe)". Após discorrer sobre o referido tema, o(a) candidato(a) foi arguido(a) pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a Comissão em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO. Em face da aprovação, declarou o(a) presidente achar-se o(a) examinado(a) **Mariana Mendonça Soares** legalmente habilitado(a) a receber o Título de "MESTRE" em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia Aplicada à Saúde, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito à expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Tânia Maria Alves de Araújo, na qualidade de secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

Tânia Maria Alves de Araújo (Secretária)

gov.br Documento assinado digitalmente
TANIA MARIA ALVES DE ARAUJO
Data: 26/02/2026 15:23:31-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Sandra Rodrigues Mascarenhas (Orientadora)

gov.br Documento assinado digitalmente
SANDRA RODRIGUES MASCARENHAS
Data: 27/02/2026 07:57:43-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

gov.br Documento assinado digitalmente
TATJANA KEESEN DE SOUZA LIMA CLEMENTE
Data: 26/02/2026 15:04:21-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente (Examinador interno)

Documento assinado digitalmente
gov.br LUCIO ROBERTO CANCADO CASTELLANO
Data: 26/02/2026 14:40:09-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Lucio Roberto Cançado Castellano (Examinador externo)

Documento assinado digitalmente
gov.br LUIZ HENRIQUE AGRA CAVALCANTE SILVA
Data: 26/02/2026 14:10:46-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva (Examinador externo)

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA **FOLHA DE ASSINATURAS**
SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E CONTRATOS

Emitido em 27/02/2026

ATA Nº 01/2026 - CBIOTEC - DBCM (18.63)
(Nº do Documento: 1)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 27/02/2026 08:07)
SANDRA RODRIGUES MASCARENHAS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1340309

Para verificar a autenticidade deste documento entre em https://sipac.ufpb.br/documentos/ informando seu número: **1**, ano: **2026**, documento (espécie): **ATA**, data de emissão: **27/02/2026** e o código de verificação: **fef663d36f**

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus, por conceder-me forças e sabedoria ao longo de toda esta trajetória, permitindo que eu não desistisse diante dos desafios que surgiram ao longo desta caminhada. A Ele toda honra e glória!

Aos meus pais, por tudo o que fizeram e fazem por mim. Obrigada pelo amor incondicional, pelo apoio constante, pela paciência nos momentos difíceis, por compreenderem minha dedicação e minhas ausências e por acreditarem em mim, mesmo quando o caminho parecia desafiador e sem fim. Cada conquista minha carrega um pouco do esforço, dos ensinamentos e dos valores que vocês me passaram ao longo da vida. Sou eternamente grata por tudo o que fazem por mim, vocês são mais que essenciais para o meu crescimento e sempre serão a base de tudo.

À minha irmã caçula, não sei o que seria de mim sem você. Obrigada por ser quem és, pelas nossas saídas de quase todo mês para um local diferente, parceria, risadas e por ouvir e tentar entender meus desesperos de sempre, me apoiar e ter a paciência de me ver ensaiar inúmeras vezes para as apresentações durante todo esse tempo.

Ao meu namorado e melhor amigo, pela confiança e amor depositada a mim e por sonhar os meus sonhos junto comigo. Obrigada por me apoiar nos momentos de cansaço, por acreditar em mim quando eu mesma duvidei e por ser abrigo, incentivo e força nos dias mais difíceis. Sua presença, suas palavras e seu cuidado tornaram essa trajetória mais leve. Eu te amo e sou grata por ter você em minha vida. Como também a sua família pela confiança e apoio.

Às minhas tias, Luzia e Cleide (*in memorian*), que sempre serão exemplos em minha vida. Vocês me ensinam o significado de coragem, força e perseverança.

A minha avó paterna, Lindomar (*in memorian*), por todo cuidado e amor com nossa família por nos receber tão bem e com comidas tão gostosas e com gosto de família. Sinto sua falta!

Aos meus primos e irmãos, por tudo que vivemos mesmo agora estando ‘incompletos’, pelas memórias construídas em nossos encontros de família que estarão em mim por toda a vida. Em especial as minhas primas, Rebeca e Izabelle, pela nossa parceria, amor e conversas.

Aos meus sobrinhos, Bernardo, Cadu e Caio, por relembrarem e mostrarem a leveza e inocência da infância, vocês sempre serão meus bebês.

Ao meu parceiro de treino, Elton, por todas as nossas conversas, risadas e cantorias durante os treinos. Por me forçar a treinar mesmo nos dias não tão bons e por me fazer 'esquecer' um pouco do peso que a vida tem com os pesos da academia, ahaha.

Às minhas amigas do colégio, Iêda, July e Thainá, que as levo para a vida, por toda a parceria que mantemos, mesmo cada uma estando em uma cidade diferente, por torcermos e vibrarmos pelos sonhos umas das outras e por compreenderem minhas ausências, até mesmo no whatsapp. Da mesma forma, Bia, Mari, Mel, Noêmia e Victor com quem compartilho meus desesperos, conquistas e sonhos. Vocês me mostram diariamente o verdadeiro valor da amizade.

À minha querida amiga da graduação, Letícia, que, mesmo não estando mais juntas diariamente e fisicamente, seguimos em contato todos os dias, compartilhando e vibrando juntas por nossas conquistas.

As minhas queridonas e mães científicas, Éssia e Deyse, por me ensinarem tudo que sei, por toda paciência para corrigir meus experimentos, relatórios e apresentações, pela parceria, cuidado e amizade.

A minha querida amiga desde a graduação até a bancada, Anna, por dividir comigo os desesperos da vida acadêmica, por ser força quando os meus experimentos davam errado, por confiar em mim e no meu trabalho. E, por junto com Davi formar meu grupinho amado "BDzitos", eu amo nossa parceria, conversas e experimentos, somos o equilíbrio perfeito hahaha. Vocês deixaram a caminhada mais leve.

A minha 'ic' emprestada, Thalita, por pegar o meu projeto e realizar com tanto cuidado e dedicação, por não medir esforços para me ajudar independe do dia e horário. Seu esforço te levará a lugares que nem imagina, és merecedora.

A todos os meus amigos do laboratório de Imunofarmacologia, Anna, Daniel, Davi, Elton, Marreiro, Deyse, Thalita, Victor, Auranielly e Yasmin por estarem dispostos a me ajudar

durante os experimentos, por todos os almoços e lanches na salinha, pelas conversas e risadas altíssimas do corredor inteiro ouvir e por deixarem essa caminhada um pouco mais leve. Em especial a Daniel e Elton, por não medirem esforços para me ensinar e ajudar quando precisei.

À melhor orientadora que eu poderia ter, Sandra Rodrigues Mascarenhas, por ser mais do que uma orientadora: és uma verdadeira mãe-amiga. Sou imensamente grata por ter me escolhido, mesmo eu não possuindo, no início, nenhuma das habilidades requeridas, mas como você mesma sempre diz, tenho o brilho nos olhos, e isso vem, em grande parte, do exemplo que vi quando foi minha professora, mesmo que por apenas um módulo durante a graduação. Agradeço por todos os conselhos, o apoio e a confiança depositados em mim todo esse tempo.

A minha coorientadora, Josiane Campos Cruz, por confiar a mim esse projeto, por todo o aprendizado científico e pela disponibilidade em sanar minhas milhões de dúvidas.

A todos os alunos e as técnicas, Clênia e Sara, do Laboratório de Controle Autonômico e Neuroendócrino do Hipotálamo por toda paciência e ensinamentos nas técnicas desenvolvidas durante o mestrado.

A doutora Alynne, por todo o suporte na parte das cirurgias dos animais, pela calma, disponibilidade e ensinamentos passados a mim durante esse tempo do mestrado.

As Rayanne's do Laboratório de Pesquisa Translacional em Nutrição e Doenças Cardiometabólicas e também ao Professor José Luiz Brito, por disponibilizar o espaço e equipamentos para realização dos meus experimentos.

A todos os meus professores, que contribuíram com a minha toda minha formação e pela dedicação mesmo com todas as dificuldades enfrentadas.

Ao técnico do laboratório, Allysson, por suas palavras de incentivo e conversas tidas em momentos de desmotivação. Obrigada pelo suporte!

Aos membros da Banca Examinadora, professores Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente, Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva e Lucio Roberto Cançado Castellano por aceitarem o convite, pela disponibilidade e contribuição para o enriquecimento desse trabalho.

A funcionária Mônica, por sua alegria contagiante toda manhã e pelas palavras de conforto.

A secretária da pós graduação em Biotecnologia, Tânia, por todo suporte durante esse processo.

A todas as agências de fomento que fizeram este trabalho ser possível.

E a todos que não foram citados, mas que contribuíram de alguma forma para minha formação minha eterna gratidão.

Muito obrigada!

“O que eu faço é uma gota no meio de um oceano, mas sem ela o oceano seria menor”

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

A hipertensão é uma fisiopatologia cardiometabólica multifatorial que, se não tratada, pode causar danos a órgãos essenciais ao funcionamento do organismo. Diante disso, novas estratégias terapêuticas têm sido investigadas com o objetivo de controlar a pressão arterial, modular processos inflamatórios associados e, consequentemente, melhorar a qualidade de vida dos indivíduos hipertensos. O canabidiol (CBD) é um fitocanabinoide não psicoativo da planta *Cannabis sativa* com diversos efeitos terapêuticos relatados. Os benefícios cardiovasculares do CBD têm sido extensivamente estudados por nosso grupo, mostrando que o tratamento crônico com CBD reduz a pressão arterial média, a rigidez arterial, medida pela velocidade de onda do pulso, a atividade simpática e a melhora da sensibilidade do barorreflexo em ratos hipertensos 2-rins, 1-clipe (2R1C). No entanto, poucos estudos analisam seu efeito crônico sobre o aspecto inflamatório da fisiopatologia da hipertensão arterial. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial terapêutico do tratamento crônico com o óleo do extrato da *Cannabis* rico em CBD sobre as respostas imunes periféricas em ratos com hipertensão renovascular 2R1C. Para isso, ratos *Wistar* foram submetidos à cirurgia 2R1C para indução de hipertensão ou cirurgia SHAM (cirurgia fictícia). Na 6ª semana pós-cirurgia, o tratamento foi iniciado por 14 dias com óleo rico em CBD (30 mg/kg) ou com veículo (azeite de oliva extra virgem) por gavagem intragástrica a cada 12 horas. Esses animais foram então eutanasiados por meio da inalação de Tanohalo® (halotano 100%) (1mL/1mL). Após a eutanásia, os macrófagos provenientes do lavado peritoneal foram coletados e cultivados na ausência ou presença com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) (1 μg/mL). Posteriormente, foi realizada a análise da viabilidade celular pelo método MTT (brometo de 3-metil-[4-5dimetiltiazol-2-il]-2,5 difeniltetrazólio), a determinação dos níveis de óxido nítrico (NO) pelo reagente de Griess e a quantificação de citocinas (IL-1β, TNF-α, IL-6 e IL-10) por ensaio imunoenzimático (ELISA). Evidenciou-se que o tratamento com óleo rico em CBD nos macrófagos de ratos SHAM e 2R1C, estimulados ou não por LPS, não apresentou atividade citotóxica. Além disso, macrófagos de ratos hipertensos, quando estimulados com LPS, apresentaram um aumento significativo na produção de NO, por outro lado, o tratamento com CBD foi capaz de reduzir em 49,33% sua produção. Por fim, macrófagos de ratos hipertensos quando estimulados com LPS aumentaram significativamente a produção de citocinas pró-inflamatórias, TNF-α e IL-1β, enquanto o tratamento com CBD reduziu os níveis dessa produção em 47,15% e 43,96%, respectivamente, sem interferir nos níveis das citocinas pró e anti-inflamatórias, IL-6 e IL-10, respectivamente. Dessa forma, com base na análise dos resultados, pode-se sugerir que o CBD tenha um papel imunomodulador em animais hipertensos, no entanto, mais estudos são necessários para a melhor compreensão desse potencial.

Palavras-chave: Inflamação. Imunomodulação. Fitoterápicos. Renovascular.

ABSTRACT

Hypertension is a multifactorial cardiometabolic pathophysiology that, if left untreated, can cause damage to organs essential to the body's functioning. Therefore, new therapeutic strategies have been investigated with the aim of controlling blood pressure, modulating associated inflammatory processes, and consequently improving the quality of life of hypertensive individuals. Cannabidiol (CBD) is a non-psychoactive phytocannabinoid from the Cannabis sativa plant with several reported therapeutic effects. The cardiovascular benefits of CBD have been extensively studied by our group, showing that chronic treatment with CBD reduces mean arterial pressure, arterial stiffness (measured by pulse wave velocity), sympathetic activity, and improves baroreflex sensitivity in hypertensive 2-kidney, 1-clip (2R1C) rats. However, few studies analyze its chronic effect on the inflammatory aspect of the pathophysiology of hypertension. Thus, the aim of this study was to evaluate the therapeutic potential of chronic treatment with CBD-rich *Cannabis* extract oil on peripheral immune responses in rats with 2R1C renovascular hypertension. For this purpose, *Wistar* rats underwent 2R1C surgery to induce hypertension or SHAM surgery (sham surgery). In the 6th week post-surgery, treatment was initiated for 14 days with CBD-rich oil (30 mg/kg) or with vehicle (extra virgin olive oil) by intragastric gavage every 12 hours. These animals were then euthanized by inhalation of Tanohalo® (100% halothane) (1 mL/1 mL). After euthanasia, macrophages from peritoneal lavage were collected and cultured in the absence or presence of bacterial lipopolysaccharide (LPS) (1 μg/mL). Subsequently, cell viability analysis was performed using the MTT assay (3-methyl-[4-5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide), nitric oxide (NO) levels were determined using Griess' reagent, and cytokine levels (IL-1β, TNF-α, IL-6, and IL-10) were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). It was shown that treatment with CBD-rich oil in macrophages from SHAM and 2R1C rats, stimulated or not by LPS, did not exhibit cytotoxic activity. Furthermore, macrophages from hypertensive rats, when stimulated with LPS, showed a significant increase in NO production; conversely, treatment with CBD was able to reduce its production by 49.33%. Finally, macrophages from hypertensive rats, when stimulated with LPS, significantly increased the production of pro-inflammatory cytokines, TNF-α and IL-1β, while treatment with CBD reduced these production levels by 47.15% and 43.96%, respectively, without interfering with the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines, IL-6 and IL-10, respectively. Therefore, based on the analysis of the results, it can be suggested that CBD has an immunomodulatory role in hypertensive animals; however, further studies are needed for a better understanding of this potential.

Keywords: Inflammation. Immunomodulation. Phytotherapeutics. Renovascular.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vias patogênicas na hipertensão renovascular.....21
Figura 2. Estruturas do canabidiol (CBD) e Δ9-tetraidrocanabinol (Δ9-THC) 23
Figura 3. Principais respostas funcionais dos macrófagos.....27
Figura 4. A produção do óxido nítrico.....28
Figura 5. Esquema representativo de resultados anteriores do grupo.....34
Figura 6. Frasco contendo o óleo de *Cannabis sativa* a base de canabidiol da APEPI.....41
Figura 7. Representação esquemática para indução da cirurgia renovascular modelo 2RINS-1CLIPE descrita por Goldblatt. 44
Figura 8. Representação esquemática da pletismografia de cauda.....45
Figura 9. Desenho experimental do estudo.....46
Figura 10. Esquema representativo da cultura de macrófagos.....48
Figura 11. Esquema resumido do protocolo de determinação da viabilidade celular com o reagente MTT.....48
Figura 12. Esquema resumido do protocolo para determinação dos níveis de óxido nítrico com a solução de Griess. 49
Figura 13. Esquema representativo do protocolo experimental de ensaio imunoenzimático (ELISA) do tipo sanduíche. 50
Figura 14. Pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) em mmHg avaliadas antes e após a cirurgia 2R1C e SHAM. 54
Figura 15. Efeito sobre a viabilidade celular do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol em macrófagos peritoneais de ratos..... 56
Figura 16. Efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol na produção de óxido nítrico por macrófagos peritoneais de ratos. 57
Figura 17. Efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol na produção de citocinas IL-1β, TNF-α, IL-6 e IL-10. 58
Figura 18. Efeito imunomodulador do óleo rico em canabidiol da APEPI. 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo da composição do óleo rico em canabidiol (*full spectrum*) 41
Tabela 2. Distribuição dos grupos *in vivo*.....43
Tabela 3. Distribuição dos grupos para experimentos *in vitro*.....47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA – ácido araquidônico

2-AG – 2-araquidonoilglicerol

2R1C – modelo de hipertensão 2-rins-1-clipe

AEA – anandamida

ANOVA – análise de variância

APEPI – Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de *Cannabis* Medicinal

avidin-HRP – complexo enzimático avidina–peroxidase

CAT – capacidade antioxidante total

CB1 – receptor canabinoide subtipo 1

CB1-Rs – receptores canabinoides tipo 1

CB2 – receptor canabinoide subtipo 2

CBC – canabicromeno

CBG – canabigerol

CBIOTEC – Centro de Biotecnologia

CBD – canabidiol

CCS – Centro de Ciências da Saúde

CD68 – cluster de diferenciação 68

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

COX-2 – ciclo-oxigenase 2

CSF – fatores estimulantes de colônias

DAMPs – padrões moleculares associados ao dano

DCVs – doenças cardiovasculares

DNA – ácido desoxirribonucleico

DOCA – acetato de desoxicorticosterona

DOCA-SAL – acetato de desoxicorticosterona associado ao sal

DRVA – doença renovascular aterosclerótica

ECA – enzima conversora de angiotensina

ELISA – ensaio imunoenzimático

eNOS – óxido nítrico sintase endotelial

EROS – espécies reativas de oxigênio

GPCRs – receptores acoplados à proteína G

GSH – glutationa reduzida

GSR – glutationa redutase

GSSG – glutationa dissulfeto

HA – hipertensão arterial

HP – hipertensão pulmonar

IFN-γ – interferon gama

IFNs – interferons

IL-1β – interleucina 1 beta

IL-1RA – antagonista do receptor de interleucina 1

IL-4 – interleucina 4

IL-6 – interleucina 6

IL-6R – receptor de interleucina 6

IL-6Rα – receptor alfa da interleucina 6

IL-8 – interleucina 8

IL-10 – interleucina 10

IL-11 – interleucina 11

IL-12 – interleucina 12

IL-13 – interleucina 13

IL-33 – interleucina 33

ILs – interleucinas

iNOS – óxido nítrico sintase induzível

IPeFarM – Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos

i.p. – intraperitoneal

LACANHP – Laboratório de Controle Autonômico e Neuroendócrino do Hipotálamo

LANUCAM – Laboratório de Pesquisa Translacional em Nutrição e Doenças Cardiometabólicas

LIMFA – Laboratório de Imunofarmacologia

LPS – lipopolissacarídeos bacterianos

MCP-1 – Proteína quimioatraente de monócitos 1

MCT – monocrotalina

MHC – complexo principal de histocompatibilidade

mmHg – milímetros de mercúrio

MTT – brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

NADH – nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADP – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NADPH – fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina reduzido

NED – N-naftil-etilenodiamina

NF-κB – fator nuclear kappa B

NK – células natural killer

NLRP3 – domínio de pirina contendo 3 da família NLR

NLRs – receptores do tipo NOD

NO – óxido nítrico

NOS – óxido nítrico sintase

nNOS – óxido nítrico sintase neuronal

NBT – nitroblue tetrazólio

PA – Pressão arterial

PAC – pressão arterial de cauda

PAD – pressão arterial diastólica

PAM – pressão arterial média

PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos

PAS – pressão arterial sistólica

PBS – tampão fosfato salino

pc – peso corporal

PRRs – receptores de reconhecimento de padrões

RAGE – produtos finais de glicação avançada

Rcf – força centrífuga relativa

REDOX – oxirredução

RNAm – RNA mensageiro

ROS – espécies reativas de oxigênio

SFB – soro fetal bovino

SHAM – cirurgia fictícia

SHR – ratos espontaneamente hipertensos

SNC – sistema nervoso central

SNS – sistema nervoso simpático

SRA – sistema renina–angiotensina

SRAA – sistema renina–angiotensina–aldosterona

TCR – receptor de células T

TGF-β – fator de crescimento transformador beta

TGFs – fatores de crescimento transformador

TLR – receptores Toll-*like*

TLR4 – receptor Toll-*like* 4

TMB – tetrametilbenzidina

TNF-α – fator de necrose tumoral alfa

TNFs – fatores de necrose tumoral

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

UI – unidade internacional

VD – Ventrículo direito

VE – Ventrículo esquerdo

VOP – velocidade de onda de pulso

vs – versus

Δ9-THC – delta-9-tetraidrocanabinol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 21

1.1. Hipertensão arterial 21

1.2. *Cannabis* 23

1.3. A inflamação e o papel dos macrófagos 25

1.3.1. O óxido nítrico e as citocinas como mediadores inflamatórios 28

1.4. Efeitos do CBD na fisiopatologia da hipertensão 32

2. JUSTIFICATIVA 37

3. OBJETIVOS 39

3.1 Objetivo geral 39

3.2 Objetivos específicos 39

4. MATERIAL E MÉTODOS 41

4.1. Material 41

4.1.1. Local de realização dos experimentos 41

4.1.2. Animais 41

4.1.3. Composição do óleo rico em canabidiol 41

4.2. Métodos 43

4.2.1. Anestesia e Eutanásia 43

4.2.2. Cirurgia para desenvolvimento da hipertensão 2R1C 43

4.2.3. Pletismografia de cauda 45

4.2.4. Delineamento experimental dos protocolos *in vivo* 46

4.3. Experimentos *in vitro* 47

4.3.1. Cultura de macrófagos peritoneais dos ratos 47

4.3.2. Análise da viabilidade celular 49

4.3.3. Determinação dos níveis de óxido nítrico 50

4.3.4. Ensaio imunoenzimático para dosagem das citocinas TNF-α, IL-6, IL-1β e IL-10 51

4.4. Análise estatística 52

5. RESULTADOS **54**

5.1. Análise da pressão arterial nos animais SHAM e hipertensos 2R1C 54

5.2 Efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular na citotoxicidade celular 56

5.3 Efeito do tratamento com óleo rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular na produção de óxido nítrico 57

5.4 Efeito do tratamento com óleo rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular na produção de citocinas 58

6. DISCUSSÃO **63**

7. CONCLUSÃO **71**

REFERÊNCIAS **73**

APÊNDICES **87**

APÊNDICE A – Artigo publicado na revista Cells (Fator de impacto: 5.2) **87**

APÊNDICE B – Artigo publicado na revista Immunological Investigations (Fator de impacto: 2.4) **88**

APÊNDICE C – Artigo publicado na revista International Immunopharmacology (Fator de impacto: 4.7) **89**

APÊNDICE D – Artigo publicado na revista Journal of Clinical Medicine (Fator de impacto: 3.3) **90**

ANEXOS **91**

ANEXO A - Certificado de aprovação do projeto emitido pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) **91**

ANEXO B – Folheto informativo **92**

ANEXO C – Certificado de análise **93**



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Hipertensão arterial

A hipertensão arterial (HA) é uma doença crônica e hereditária que afeta mais de um bilhão de pessoas no mundo (WHO, 2019). Trata-se de uma condição clínica multifatorial influenciada por fatores genéticos, ambientais e estilo de vida e que podem ser manifestados a partir de maus hábitos como: tabagismo, obesidade, estresse, elevado consumo de sal e de bebidas alcoólicas, níveis altos de colesterol e falta de atividade física (Allen et al., 2022; Barroso et al., 2021; Wang et al., 2020; Guasch-Ferré et al., 2019). Além disso, é considerada o principal fator de risco relacionado às doenças cardiovasculares (DCVs) e à doença renal crônica, aumentando a mortalidade e morbidade (Kunimatsu; Tsukamoto; Ogoh, 2024; Li; Liu; Liu, 2025).

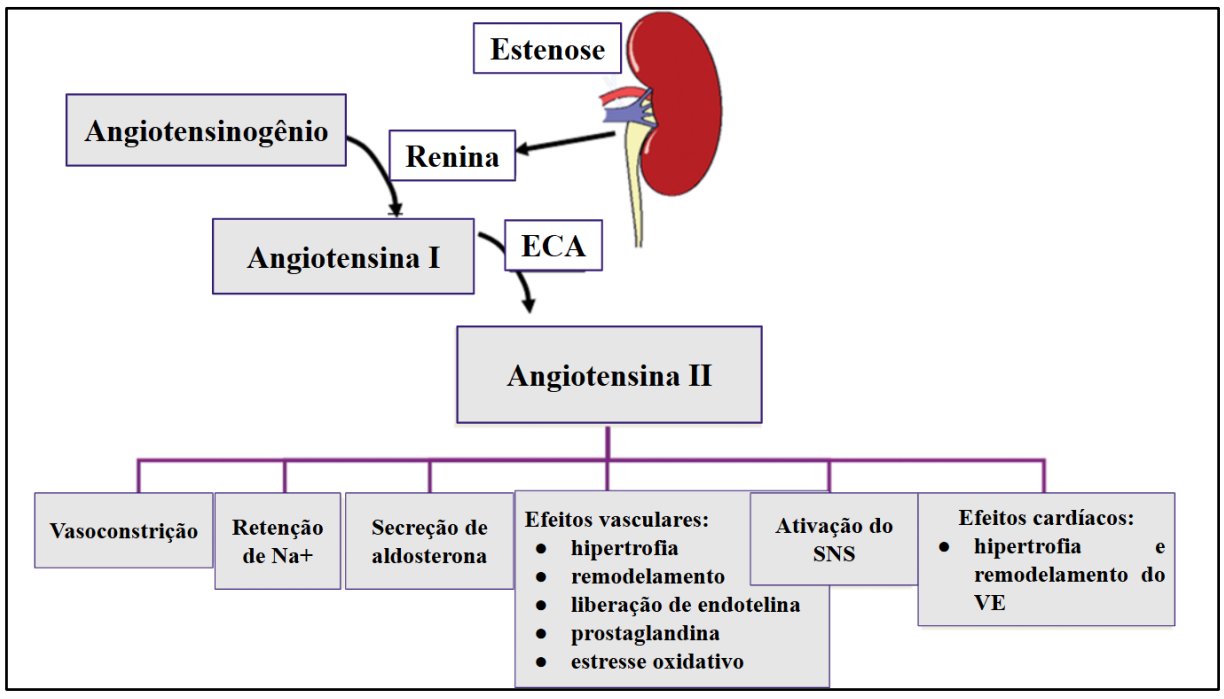
A HA é estabelecida quando os valores da pressão sanguínea sistólica (PAS) e da pressão sanguínea diastólica (PAD) forem iguais ou ultrapassarem 140/90 mmHg, respectivamente, medida com a técnica correta, em pelo menos duas ocasiões e na ausência de medicação anti-hipertensiva (Barroso et al., 2021; Brandão et al., 2025). Caso esses valores se mantenham sustentados isso pode acarretar riscos ao funcionamento de órgãos importantes como o coração, o sistema nervoso central (SNC), os rins e os vasos sanguíneos (Tagliapietra et al., 2025; Kusayama et al., 2024). A maioria dos indivíduos com hipertensão, apresenta a hipertensão essencial ou primária, encontrada em 90% dos casos, com etiologia desconhecida, resultante de uma predisposição genética e fatores ambientais, associada aos efeitos cumulativos de vários fatores relacionados ao estilo de vida, como citado anteriormente (Padmanabhan; Caulfield; Dominiczak, 2015; Litwin; Kułaga, 2021). Por outro lado, a hipertensão secundária é encontrada entre 5-10% dos pacientes hipertensos, e é definida como um aumento da pressão arterial desencadeada por uma causa identificada, podendo ser relacionada ao mau funcionamento ou dano de órgãos importantes para o controle da pressão arterial, os rins, por exemplo (Charles; Triscott; Dobbs, 2017; Sarathy et al., 2022), um exemplo desse tipo de HA é a hipertensão renovascular, modelo estudado neste trabalho.

Diversos estudos apontam que a principal causa da hipertensão renovascular é a doença renovascular aterosclerótica (DRVA), principalmente na população idosa (Pappaccogli et al., 2023; Sudano; Suter; Beuschlein, 2023), seguida da displasia fibromuscular da artéria renal, acometendo mais mulheres (Garovic; Kane; Schwartz, 2005; Rimoldi; Scherrer; Messerli, 2014; Rossi et al., 2020; Sudano; Suter; Beuschlein, 2023). A hipertensão renovascular é um

tipo de hipertensão secundária que ocorre em decorrência da estenose renal, promovendo uma redução da pressão de perfusão renal e um aumento da atividade do sistema renina-angiotensina- aldosterona (Garovic; Kane; Schwartz, 2005; Rossi et al., 2020).

Experimentalmente, em modelo animal, utiliza-se o modelo de hipertensão já bem estabelecido, 2-rins-1-clipe (2R1C) criado por Goldblatt em 1934 e posteriormente adaptado para animais de pequeno porte por Schaffenburg em 1959. Para a indução desse modelo, insere-se um clipe de prata ao redor de uma das artérias renais, enquanto a outra permanece intacta. Com isso, ocorre uma redução do fluxo sanguíneo renal e, consequentemente, um aumento na liberação de renina, levando à ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), envolvido na regulação de funções autonômicas cardiovasculares e neuroendócrinas. Esses mecanismos juntos resultam em vasoconstrição sistêmica, retenção de sódio e água, aumento da volemia sanguínea, da frequência cardíaca e do débito cardíaco, elevando assim a pressão arterial (PA) (Goldblatt et al., 1934; Lauar et al., 2023; Ma et al., 2023) (Figura 1). Além disso, esse modelo de hipertensão é caracterizado por um processo inflamatório, uma vez que há aumento de mediadores, como as citocinas, e recrutamento de células imunes para os tecidos afetados, contribuindo para a manutenção da fisiopatologia e do processo inflamatório envolvido (Guzik et al., 2024; Matavelli; Huang; Siragy, 2011).

Figura 1. Vias patogênicas na hipertensão renovascular.



Fonte: Adaptado de Herrmann; Textor, 2018. A imagem representa os efeitos da estenose ocasionada na hipertensão renovascular. Abreviações: ECA: enzima conversora de angiotensina; SNS: sistema nervoso simpático; VE: ventrículo esquerdo.

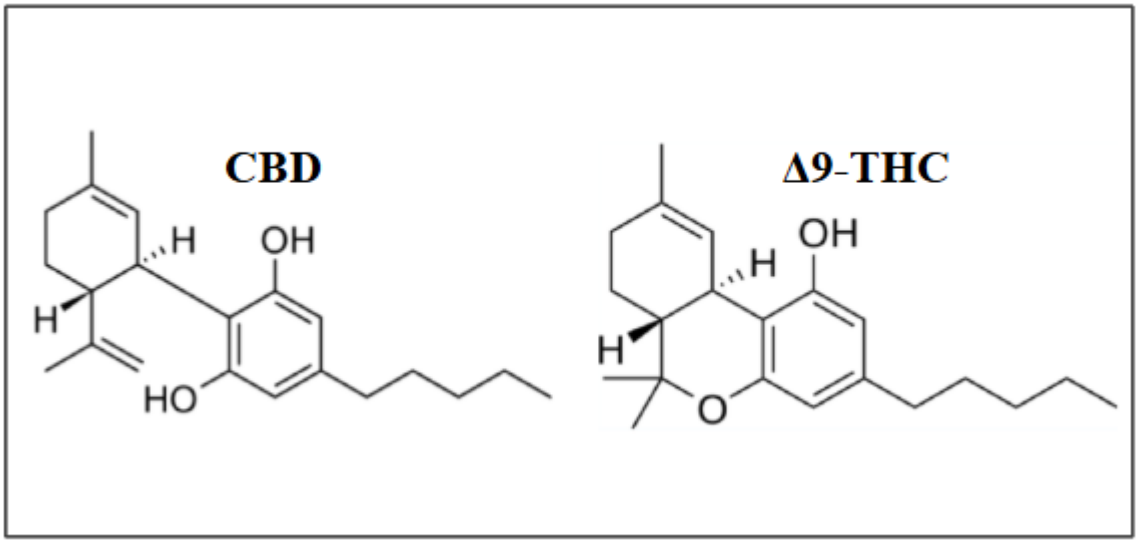
Atualmente, diferentes medicamentos anti-hipertensivos, farmacológicos e não farmacológicos, são indicados para o controle dos níveis pressóricos, porém não há um medicamento ou uma combinação eficaz para a completa normalização da pressão arterial. A partir disso, surgem novas estratégias terapêuticas para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Entre essas estratégias terapêuticas está o uso de plantas medicinais como a *Cannabis sativa* destaca-se, devido ao potencial como terapia complementar e adjuvante, auxiliando no controle da pressão arterial (PA) e/ou na diminuição dos danos aos órgãos-alvo (Flôr et al., 2025; Baranowska-Kuczko et al., 2021; Malinowska et al., 2019; Remiszewski et al., 2020). Diante disso, a HA caracteriza-se como um importante desafio à saúde pública, sendo necessárias ações eficientes que visem sua prevenção, ao diagnóstico e ao tratamento.

1.2. *Cannabis*

O uso da *Cannabis* já é relatado há mais de 10.000 anos, sendo utilizada como alimento e matéria-prima para produção de cordas, tecidos e papéis, além de sua utilização como substância psicoativa e medicinal (Freitas, 2022). O gênero *Cannabis* é dividido em duas principais subespécies: *sativa* e *indica* (Stasiłowicz et al., 2021). Existem mais de 500 compostos ativos encontrados na *Cannabis*, cuja proporção de cada componente depende de diferentes critérios, como o tipo da planta, as condições de cultivo e até mesmo a localização geográfica. Dentre os compostos ativos da *Cannabis*, há terpenos e flavonoides que contribuem para as propriedades aromáticas, bem como para as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, respectivamente. Cerca de 120-150 desses compostos são canabinóides, dos quais destacamos o Δ9-tetraidrocanabinol (Δ9-THC), o canabidiol (CBD) e o canabigerol (CBG) (Hsu et al., 2025; Garza-Cervantes et al., 2020; Namdar et al., 2019).

Por volta de 1963, por meio de ressonância magnética, o canabidiol (CBD) foi isolado e sua estrutura estereoquímica foi descrita a partir do haxixe libanês, conforme mostrado na Figura 2 (Mechoulam; Shvo, 1963; Mechoulam; Hanuš, 2002). No mesmo período, um outro composto presente no óleo da *Cannabis sativa* foi purificado, o Δ9-tetraidrocanabinol (Δ9-THC), mostrado na Figura 2 (Gaoni, Mechoulam, 1964). O CBD não apresenta efeitos psicoativos como o Δ9-THC, mas possui importantes efeitos terapêuticos, dentre eles, há o efeito o anti-inflamatório, o anticonvulsivante, o antioxidante, o ansiolítico, o antiemético, o antipsicótico e até mesmo o efeito de neuroproteção (Beale et al., 2018; Remiszewski; Malinowska, 2022; Atalay; Jarocka-Karpowicz; Skrzydlewska, 2019; Campos et al., 2016).

Figura 2. Estruturas do canabidiol (CBD) e Δ9-tetraidrocanabinol (Δ9-THC).



Fonte: Adaptado de Dziemitko; Harasim-Symbor; Chabowski, 2023. Estrutura química dos principais fitocanabinoides estudados.

Para que esses efeitos biológicos ocorram, é necessária a atuação do sistema endocanabinoide, responsável por regular diversas funções do organismo. Estudos descritos na literatura demonstram que esse sistema atua, principalmente, por meio de dois tipos de receptores canabinoides acoplados à proteína G (GPCRs): o receptor canabinoide do subtipo 1 (CB1) e o receptor canabinoide do subtipo 2 (CB2) (Munro; Thomas; Abu-Shaar, 1993; Lucas; Galettis; Schneider, 2018; Hsu et al., 2025). O primeiro é um importante mediador dos efeitos psicoativos do Δ9-THC e desempenha um papel importante na modulação da dor, do apetite, do humor e da memória, localizado principalmente no sistema nervoso central (córtex, cerebelo, hipocampo, hipotálamo e gânglios basais), embora também seja identificado em tecidos próximos, como o trato intestinal, o fígado, o tecido adiposo e as células do sistema imunológico. Enquanto o segundo, está associado a efeitos tanto anti-inflamatórios como imunomoduladores e, diferente do CB1, está menos envolvido nos efeitos psicoativos da *Cannabis*. O CB2 está localizado principalmente em tecidos linfóides (baço, tonsilas, timo, linfócitos, monócitos), embora recentemente foi descoberta a sua presença no sistema nervoso central, em células microgliais e neurais (Rathod et al., 2023; Peng et al., 2022; Hsu et al., 2025).

Concomitantemente, outros estudos identificaram substâncias endógenas produzidas pela metabolização do ácido araquidônico (AA) na membrana plasmática que atuam como agonistas endógenos dos receptores canabinóides (Mechoulam, 2023). Dentre os

endocanabinoides destacam-se a anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (Mechoulam et al., 1995; Matei et al., 2023). Portanto, os canabinóides passaram a ser classificados como endógenos (chamados endocanabinóides, como a anandamida e o 2-araquidonoilglicerol) e exógenos (chamados fitocanabinoides isolados da *Cannabis sativa*, por exemplo, o CBD e Δ-THC).

O sistema endocanabinóide participa na regulação de diversos processos fisiológicos, alguns deles são: plasticidade cerebral, aprendizado e memória, desenvolvimento neuronal, nocicepção, regulação do estresse e da inflamação, aspecto estudado neste trabalho (Charytoniuk et al., 2022; Sohroforouzani et al., 2020; Giorgi et al., 2021; Matei et al., 2023).

1.3. A inflamação e o papel dos macrófagos

O sistema imunológico tem como função principal a manutenção ou restabelecimento da homeostasia do organismo sendo constituído pela atividade conjunta de células, órgãos e moléculas. Essa regulação da homeostasia é dada a partir de respostas do sistema imunológico ao reconhecimento de agentes lesivos, infecciosos ou não, para sua posterior eliminação, que pode ser mediado por diferentes mecanismos, como a indução da inflamação (Mollaei et al., 2020; Medzhitov, 2021).

A inflamação pode ser desencadeada a partir do reconhecimento de padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) ou aos danos (DAMPs), reconhecidos pelas células do sistema imune inato (neutrófilos, células dendríticas e macrófagos, por exemplo) a partir de receptores de reconhecimento padrão (PRRs) localizados tanto na superfície celular como intracelularmente, como os produtos finais de glicação avançada (RAGE), receptores do tipo Nod (NLRs) e receptores *Toll-like* (TLR) (Mollaei et al., 2020; Li; Wu, 2021; Saeed et al., 2020). Dessa forma, esses reconhecimentos pelos PRRs geram a ativação celular que desencadeia cascatas de sinalização intracelular, importantes para promoção e liberação de mediadores químicos, como quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, importantes para a resposta inflamatória (Mollaei et al., 2020; Ma; Jiang; Zhou, 2024).

A inflamação é dividida, de forma didática, em dois estágios: a fase aguda e a crônica. A fase aguda é dada em um período curto (dura por horas ou dias), onde antígeno é reconhecido, e o sistema imunológico induz a vasodilatação que favorece a migração dos leucócitos (os polimorfonucleares, principalmente neutrófilos) para o sítio inflamado e estimula e ativa a liberação de mediadores inflamatórios, como espécies reativas de oxigênio (EROS), citocinas quimiotáticas (quimiocinas), citocinas pró-inflamatórias (a interleucina-1β (IL-1β),

interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF-α)) (Salemkour; Lenoir, 2023; Shu; Jin, 2023). Caso a inflamação aguda persista e progrida, entra-se na fase crônica, que é mais longa que a fase aguda (dura por semanas, meses e até anos) (Mollaei et al., 2020). Os leucócitos, que eram maioria anteriormente, mudam de composição e passam a ser, em sua maioria, macrófagos e linfócitos T (Reglero-real et al., 2021; Germolec et al., 2018). Além disso, nessa fase há o aumento da formação de novos vasos (angiogênese) no sítio inflamado (Lee; An; Jang, 2025), a formação de uma matriz celular rica em colágeno (fibrose) e o remodelamento tecidual (Petreski et al., 2021; Galvão et al., 2022). No entanto, a divisão em fases é apenas didática, uma vez que a evolução da resposta à inflamação relaciona os eventos que ocorrem em ambas as fases.

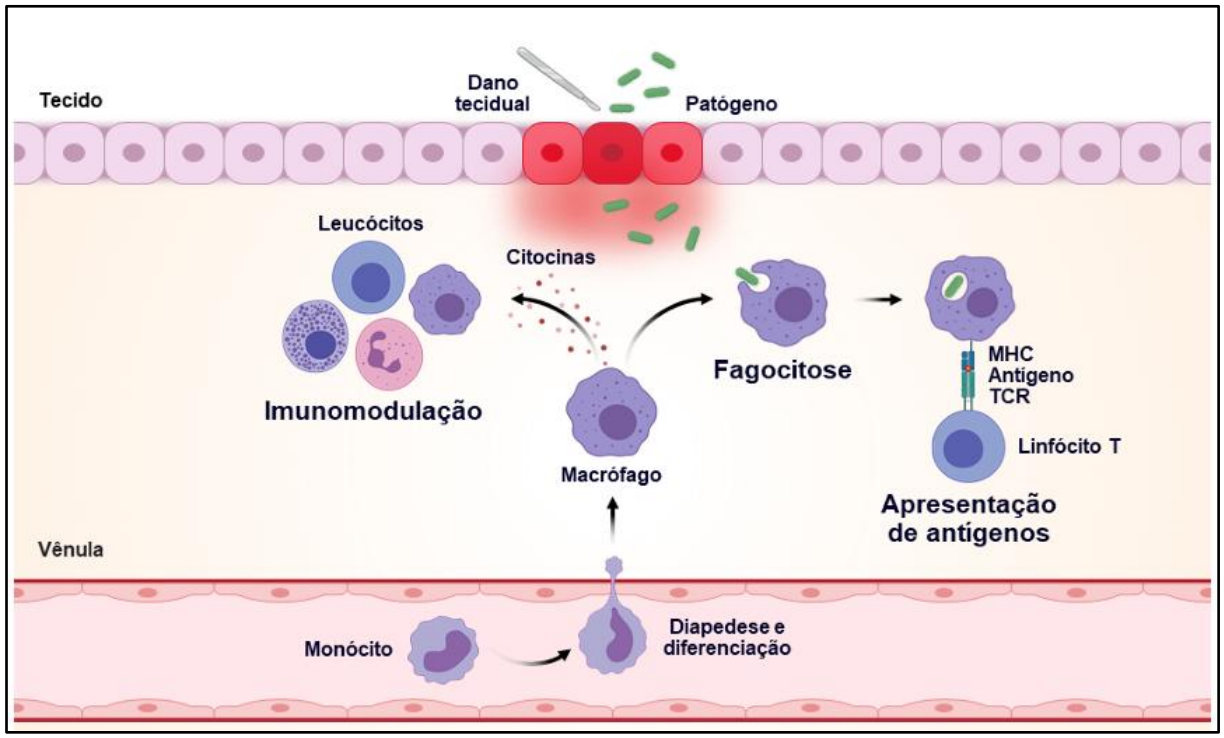
Conforme mencionado anteriormente, diversas células participam da resposta inflamatória aguda e crônica, dentre as quais os macrófagos, que constituem o modelo experimental utilizado neste estudo. Os macrófagos são células do sistema imunológico, que podem ter origem do saco vitelino, do fígado fetal ou da medula óssea, pertencentes à família dos fagócitos mononucleares, constituindo uma população heterogênea e amplamente distribuída em todo o corpo (Sheu; Hoffmann, 2022). Essas células são importantes fatores para a manutenção da homeostasia dos organismos, além de compor as respostas imunes inatas e adaptativas, apresentando como principais funções a imunomodulação, a fagocitose e a apresentação de antígenos, conforme o esquema simplificado apresentado na Figura 3 (Chen et al., 2023; Pidwill et al., 2021). Em modelos de hipertensão, condição caracterizada por um processo inflamatório crônico e desregulado, tanto em humanos quanto em modelos animais, os macrófagos desempenham um papel multifacetado e importante na manutenção dessa fisiopatologia, estando envolvidos no aumento da liberação de mediadores inflamatórios, como espécies reativas de oxigênio (ROS) e citocinas pró-inflamatórias envolvidas no desenvolvimento de danos a órgãos-alvo, como os rins e o sistema vascular, e na elevação da pressão arterial, dentre outras funções (de Ciuceis et al., 2005; Md, 2008; Nguyen; Alexander; Harrison, 2024).

Devido à sua ampla distribuição, os macrófagos são classificados e nomeados de acordo com a localização e o fenótipo. Atualmente, os fagócitos mononucleares englobam três tipos celulares: monócitos sanguíneos, os macrófagos teciduais e os macrófagos teciduais residentes de vida longa (Hume; Irvine; Pridans, 2019; Mcgrath; Frame; Palis, 2015). Os monócitos são originados a partir da autorrenovação de células-tronco hematopoiéticas (Li; He; Li, 2019); os macrófagos teciduais são derivados de monócitos sanguíneos que após amadurecerem na medula óssea migram para os tecidos extravasculares onde terminarão seu amadurecimento e

se tornarão macrófagos propriamente ditos (Evren et al., 2021); os macrófagos teciduais residentes de vida longa como os macrófagos alveolares do pulmão, as células da micróglia no sistema nervoso central, as células de Kupffer no fígado, os osteoclastos nos ossos, dentre outras são originados por precursores no saco vitelínico e também durante o desenvolvimento inicial do fígado fetal e são mantidos por autorrenovação (Gray; Farber, 2022). Enquanto que fenotipicamente, existem duas populações principais de macrófagos bem descritas: os macrófagos M1, denominados como classicamente ativados ou pró-inflamatórios, importantes nos estágios iniciais da inflamação; e os macrófagos M2, denominados como alternativamente ativados ou anti-inflamatórios, também conhecidos como macrófagos reparadores, por estarem associados a processos de resolução da inflamação e reparo tecidual, importantes nos estágios finais da inflamação (Wang; Wang, 2023; Hu et al., 2023).

Os macrófagos quando ativados por sinais inflamatórios (zimosan, interferon gama (IFN-γ), lipopolissacarídeos bacterianos (LPS) e outros) apresentam um fenótipo pró-inflamatório com inúmeras funções essenciais para o sistema imunológico principalmente durante a inflamação (Palmieri et al., 2020; Chen et al., 2023) como a fagocitose, ação microbicida, citotoxicidade e produção de mediadores que interferem na dinâmica da resposta inflamatória por meio da liberação de óxido nítrico (NO), citocinas, quimiocinas e outras moléculas que irão promover o recrutamento de células do sangue para o sítio inflamado (Gray; Farber, 2022). O estímulo inflamatório *in vitro* utilizado nesta dissertação foi o LPS que é um componente da membrana externa de bactérias gram-negativas, com conhecido potencial ativador de macrófagos, o qual liga e ativa o receptor *Toll-like* 4 (TLR4) iniciando uma cascata de sinalização capaz de desencadear uma vigorosa produção de diferentes mediadores importantes, como as citocinas e o óxido nítrico, para promover o recrutamento de células do sangue para o sítio inflamado durante o processo inflamatório (Rajan et al., 2016; Leite et al., 2020; Azadpour et al., 2021).

Figura 3. Principais respostas funcionais dos macrófagos.



Fonte: Sales-Neto, 2022. Os macrófagos são fagócitos mononucleares derivados de monócitos circulantes que migram para os tecidos, onde se diferenciam em macrófagos. As principais respostas funcionais dos macrófagos incluem a fagocitose, a apresentação de antígenos e a imunomodulação. MHC: Complexo principal de histocompatibilidade; TCR: Receptor de células T.

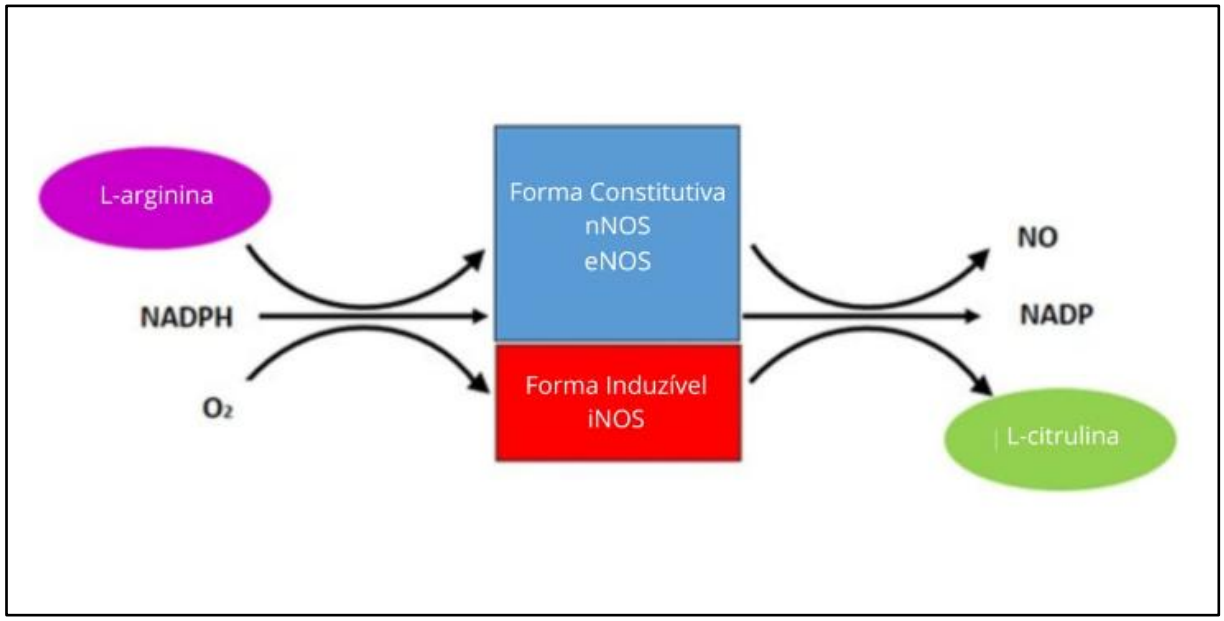
1.3.1. O óxido nítrico e as citocinas como mediadores inflamatórios

O NO é um gás solúvel e rapidamente oxidado, formando, entre seus produtos de degradação, os mais estáveis: o nitrato e o nitrito. Esse composto é produzido por diversos tipos celulares e é subdividido em diferentes isoformas pela sintase de óxido nítrico (NOS), onde há a reação de oxirredução que converte um dos nitrogênios do aminoácido L-arginina em L-citrulina e óxido nítrico e outros cofatores, como a Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina na sua forma reduzida (NADPH), conforme o esquema da Figura 4 (Andrabi et al., 2023; Lind et al., 2017).

O óxido nítrico possui três isoformas distribuídas em todo o corpo, endotelial (eNOS), neuronal (nNOS) e a macrófago ou induzível (iNOS) (Tenopoulou; Doulias, 2020). Essa última foi primeiramente descrita em macrófagos peritoneais, como um dos principais mediadores inflamatórios, expressa principalmente em macrófagos ativados sob condições de estímulos

imunológicos e de forma independente da concentração de cálcio (Lind et al., 2017; Casella et al., 2024). Algumas citocinas pró-inflamatórias, como IL-1β e TNF-α, e PAMPs, como LPS e zimosan, são responsáveis por estimular a expressão da iNOS por meio da ativação do fator nuclear *kappa*-B (NF-kB) em macrófagos, além de outros estímulos (Kumar; Dikshit, 2024; Somasundaram et al., 2020; Palmieri et al., 2020).

Figura 4. A produção do óxido nítrico.



Fonte: Lind *et al.*, 2017. A produção de NO e L-citrulina é catalisada pelas isoformas de NOS e seus outros cofatores associados. NADPH: fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina reduzido; NADP: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato.

De modo geral, o NO é uma molécula importante para processos fisiológicos de transdução de sinais, respostas imunes, neurotransmissão, estresse oxidativo, apoptose, regulação da transcrição gênica, entre outros. Além disso, o NO endógeno produzido durante um processo inflamatório agudo é associado ao aumento da ação efetora de fagócitos, sendo uma molécula com capacidade efetora antimicrobiana e lesiva de tecidos, ou seja, apresenta atividade citotóxica (Andrabi et al., 2023; Palmieri et al., 2020). Essa citotoxicidade é gerada devido a uma associação do óxido nítrico ao ferro promovendo a inativação de enzimas que contenham o grupo heme, e de formar espécies reativas de nitrogênio, causando danos diretos ao ácido desoxirribonucleico (DNA) microbiano, oxidação da lipoproteína de baixa densidade, bloqueio da respiração mitocondrial e outros efeitos (Drapier; Wietzerbin; Hibbs, 1988; Pellat; Henry; Drapier, 1990; Palmieri et al., 2020).

Além do óxido nítrico, as citocinas são outros importantes mediadores inflamatórios. As citocinas são pequenas proteínas solúveis produzidas por diferentes tipos celulares ativados, como macrófagos, envolvidas no desenvolvimento e na atividade do sistema imunológico (Liu et al., 2021). Essas moléculas atuam principalmente de forma autócrina e parácrina, quando atuam na mesma célula que as produziu ou em células vizinhas, respectivamente, ou por ação endócrina, em células distantes, por meio da corrente sanguínea ou linfática (Berraondo et al., 2019; Habanjar et al., 2023; Altan-Bonnet; Mukherjee, 2019). Em condições de homeostase, as quantidades desses mediadores são indetectáveis nos tecidos e fluidos corporais, no entanto, em condições patológicas há um aumento significativo, facilitando a quantificação dessas citocinas (Carlini et al., 2023).

Esses mediadores podem ser classificados em interleucinas (ILs), fatores estimulantes de colônias (CSF), interferons (IFNs), linfocinas, monocinas, fatores de necrose tumoral (TNFs), fatores de crescimento transformador (TGFs) e quimiocinas (Antar et al., 2023; Liu et al., 2021). Durante a inflamação, a depender do modelo estudado, algumas citocinas podem ser classificadas como pró-inflamatórias, quando estimulam ou aumentam a resposta inflamatória, ou anti-inflamatórias, quando suprimem ou diminuem o processo inflamatório (Boshtam et al., 2017).

A interleucina 1β (IL-1β) é um dos onze membros da família da interleucina 1 (IL-1). Essa citocina é ativada por meio do receptor *toll-like* (TLR), receptor de IL-1 ou do TNF, sendo produzida em sua forma inativa (pró-IL-1β). A partir disso, por intermédio da proteína caspase 1 (inflamassoma - NLRP3), é convertida em sua forma ativa e liberada no meio extracelular (Potere et al., 2022; Petreski et al., 2021). A IL-1β é uma citocina pró-inflamatória produzida por células imunológicas, como fagócitos mononucleares ativados e neutrófilos, e não por células não imunológicas, como células endoteliais e fibroblastos. Essa citocina é um importante mediador da resposta imunológica, uma vez que participa de processos essenciais para a resolução da inflamação em diversas patologias (Antar et al., 2023; Galozzi et al., 2021; Ferentinos et al., 2021).

A interleucina 6 (IL-6) pode ser ativada de duas maneiras distintas: a via clássica e a via de trans-sinalização. A via clássica ocorre através da ligação da IL-6 ao receptor de IL-6 (IL-6R) ligado à membrana, que, por sua vez, recruta a glicoproteína de 130 kDa de transdução de sinal (gp130), agindo em diferentes atividades biológicas e resposta imune de fase aguda. Enquanto, a via de trans-sinalização permite que células sem a presença do receptor alfa da IL-6 (IL-6Rα) ligado à membrana respondam à IL-6 e iniciem cascatas de sinalização (Zhou et al., 2025; Rašková et al., 2022). Além disso, esse mediador age em diferentes tipos celulares e

possui ações importantes, tanto locais, como a promoção da maturação de macrófagos, da ativação e diferenciação de linfócitos T, da proliferação de linfócitos B produtores de anticorpos, e da ativação de neutrófilos, quanto sistêmicas, no hipotálamo, causando a febre (Zhou et al., 2025; Uciechowski; Dempke, 2020).

O fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) é assim conhecido, pois foi inicialmente designado por sua capacidade de induzir necrose em tumores (Carswell et al., 1975). Similarmente às outras mencionadas anteriormente, o TNF-α é uma citocina liberada principalmente por macrófagos (Petreski et al., 2021). Além disso, desempenha um papel importante na cascata de reações inflamatórias, pois induz a febre a partir de sua ação sistêmica no hipotálamo, como também apresenta efeitos locais por meio do estímulo à expressão de moléculas de adesão no endotélio, aumento da permeabilidade vascular que corrobora com a infiltração para o sítio inflamado de células imunológicas como neutrófilos, monócitos e linfócitos (Hori; Kim, 2019). O TNF-α é uma citocina amplamente associada à ativação de vias de sinalização envolvidas em atividades de sobrevivência, morte e proliferação celular (Antar et al., 2023; Souza et al., 2023). Vale ressaltar que a resposta pró-inflamatória deve ser controlada, pois, uma vez excessiva, pode levar à inflamação crônica e, consequentemente, levar a interrupção de vias responsáveis pela homeostase biológica, causando o surgimento de problemas de saúde (Zhou et al., 2025; Liu et al., 2021).

Em vista disso, diferentemente das citocinas citadas anteriormente, a interleucina 10 (IL-10) exerce efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, sendo responsável por regular a dinâmica inflamatória (Liu et al., 2021). Essa citocina é produzida por praticamente todos os leucócitos como células dendríticas, neutrófilos, células NK, células B e T, e principalmente pelos macrófagos (Kany; Vollrath; Relja, 2019; Neurath, 2024). Apesar de a IL-10 ser produzida por muitas células imunológicas, esta é uma citocina primordial secretada pelos macrófagos durante as fases de reparo e remodelamento tecidual, limitando os danos causados por respostas inflamatórias exacerbadas (Xu et al., 2025). A regulação da dinâmica inflamatória é dada, pois esse mediador inibe a ativação e diferenciação de células imunes, a produção de diferentes citocinas pró-inflamatórias e de moléculas relacionadas à ativação de linfócitos e de células polimorfonucleares, e a apresentação de antígenos (Branchett; Saraiva; O'garra, 2024; Carlini et al., 2023). Além disso, estudos pré-clínicos mostram que terapias anti-inflamatórias com a citocina IL-10 melhoram a função vascular e renal em animais hipertensos (Wen; Crowley, 2018). Apesar disso, é importante que a produção de IL-10 seja controlada, pois devido às suas funções imunossupressoras, desordens na produção podem aumentar o risco de desenvolvimento de doenças autoimunes (Baek et al., 2025).

1.4. Efeitos do CBD na fisiopatologia da hipertensão

Sabe-se que, em doenças cardiovasculares, especialmente na hipertensão, há inflamação crônica que afeta diretamente as funções renais e vasculares, visto que uma variedade de citocinas está envolvida tanto na gênese como na progressão da hipertensão (Zhang et al., 2023). O aumento da produção e liberação de citocinas (como TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-10) no plasma e em áreas centrais envolvidas na modulação cardiovascular está diretamente relacionado ao processo inflamatório, por se tratar de citocinas primárias que interferem na regulação da inflamação aguda (Tanase et al., 2019; Segiet et al., 2019). Além disso, a superativação do sistema renina-angiotensina (SRA) também contribui para o estado fisiopatológico, visto que promove o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e redução da capacidade antioxidante (no balanço REDOX) no sistema nervoso central, coração e vasos de animais hipertensos (Braga et al., 2011; Campagnaro et al., 2012; Melo et al., 2019; Togliatto; Lombardo; Brizzi, 2017).

Grupos de estudo têm demonstrado interesse em avaliar o potencial terapêutico dos fitocanabinóides na hipertensão, em especial o Δ9-THC e o CBD (Dziemitko; Harasim-Symbor; Chabowski, 2023). Embora o Δ9-THC apresente efeito hipotensor em ratos não anestesiados e com livre movimentação por meio da medida indireta da pressão arterial, a pletismografia de cauda (Williams et al., 1973), estudos observaram que esse composto desenvolve tolerância aos efeitos hipotensivos quando administrado de forma crônica por via oral em ratos com hipertensão espontânea (SHR) (Nahas et al., 1973). A partir disso, deu-se prioridade ao uso do CBD, visto que este apresenta efeito hipotensor, é livre de efeitos psicoativos/neurocomportamentais e não induz tolerância como observado com o Δ9-THC (Adams et al., 1977; Hayakawa et al., 2007).

Diferentes estudos têm demonstrado que o efeito antioxidante do CBD é comparável ao de outros antioxidantes comuns, uma vez que afeta o equilíbrio redox, modificando tanto o nível quanto a atividade tanto de oxidantes quanto de antioxidantes. Isso ocorre, porque há uma interrupção das reações em cadeia dos radicais livres, permitindo sua captura ou transformação em formas menos ativas (Branca et al., 2019; Atalay; Jarocka-Karpowicz; Skrzydlewska, 2019). Estudos demonstram que o CBD reduz o metabolismo oxidativo nos leucócitos polimorfonucleares isolados do sangue humano (Mabou Tagne et al., 2019); protege contra a doença de Alzheimer em *C. elegans* visto que reduz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) sem induzir a superexpressão de genes antioxidantes (Zhang et al., 2022); bem como o

pré-tratamento com CBD reduz a ativação da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS), ambas associadas ao processo inflamatório, em células do núcleo pulposo simulando modelo de hérnia de disco lombar (Chen et al., 2016).

Estudos observaram que o tratamento com CBD (5 mg/kg) intraperitoneal (i.p.) durante 7 dias, além de reduzir o tamanho do infarto e preservar a fração de encurtamento, também reduz o infiltrado inflamatório de leucócitos e os níveis da citocina IL-6 no miocárdio de ratos após isquemia/perfusão (Durst et al., 2007). Além disso, o tratamento crônico i.p. durante 11 dias com CBD (20 mg/kg) promoveu redução da disfunção cardíaca, possivelmente associada à redução da inflamação e estresse oxidativo, em camundongos com cardiopatia diabética do tipo I (Walsh et al., 2010).

Além disso, diversos estudos *in vitro* observaram, em cultura de células da micróglia, que o CBD reduz a expressão de citocinas IL1-β, TNF-α e IL-6 (Juknat et al., 2016), reduz as ondas de cálcio intracelular [$(Ca^{2+})_i$] e a migração celular (Martín-Moreno et al., 2011), inibe a produção de ROS por ativação da NADH oxidase, liberação de TNF-α e IL 1-β induzidas por LPS, um agente inflamatório (Dos-Santos-Pereira et al., 2020). Em conjunto, estes estudos sugerem que o CBD atenua as respostas neuroinflamatórias e protege o sistema nervoso central dos processos oxidativos.

Em modelo de hipertensão pulmonar (HP) induzida por monocrotalina (MCT), o tratamento crônico de CBD 10 mg/kg (i.p.) durante 21 dias reverteu o processo inflamatório observado. Devido ao aumento das concentrações de capacidade antioxidante total (CAT) e dos níveis de glutationa (GSH), a atividade da glutationa redutase (GSR) aumenta. Por outro lado, o tratamento reduziu a expressão de receptores canabinoides tipo 1 (CB1-Rs), bem como os níveis de mediadores inflamatórios, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), a interleucina-1β (IL-1β), o fator nuclear *kappa* B (NF-κB), a proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1) e o *cluster* de diferenciação 68 (CD68) (Krzyżewska et al., 2022). Outros estudos demonstram que o CBD, na mesma dose, reduziu a pressão sistólica da artéria pulmonar e a hipertrofia do ventrículo direito (VD) (Sadowska et al., 2020; Lu et al., 2021). Ademais, a administração de CBD 10 mg/kg (i.p.) durante 46 dias melhorou a função contrátil do coração, e reduziu a inflamação em modelo de miocardite autoimune em camundongos (Lee et al., 2016).

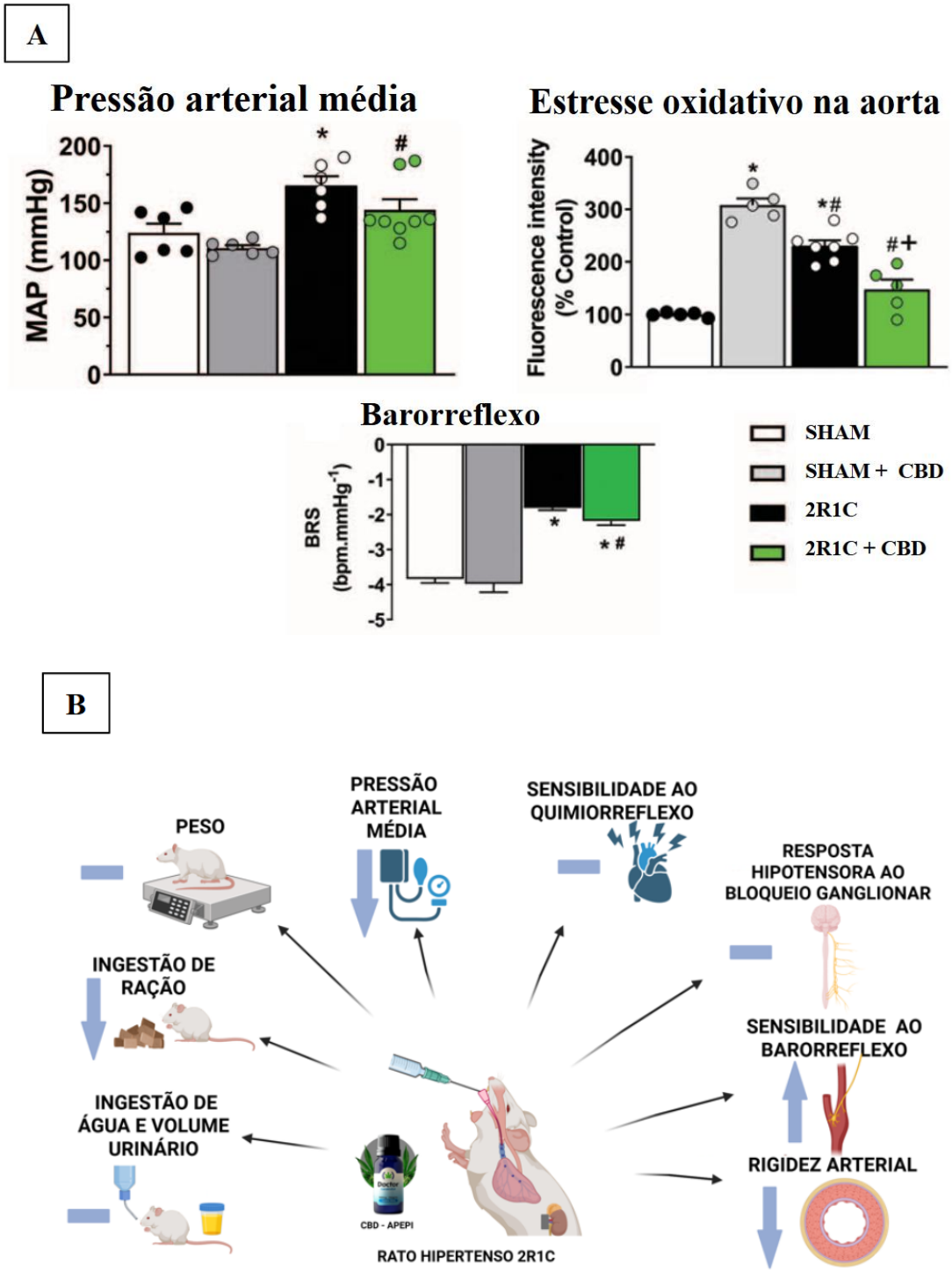
O tratamento crônico com CBD 10 mg/kg (i.p.) durante 14 dias, promoveu aumento da razão glutationa (GSH)/glutationa dissulfeto (GSSG) no coração e no plasma, razão que está diretamente ligada ao efeito antioxidante e à capacidade redox em modelos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e no modelo de hipertensão secundária induzida por acetato de desoxicorticosterona (DOCA) e sal (DOCA-SAL). Entretanto, neste estudo não foi

possível observar redução da pressão arterial nos modelos experimentais. Possivelmente isso ocorreu devido à dose de CBD, provavelmente baixa para um tratamento crônico; a duração de sua aplicação tenha sido muito curta; que a eficácia do CBD tenha sido perdida durante o estudo ou que o efeito anti-hipertensivo do CBD seja melhor avaliado em modelos e hipertensão experimental com alteração no sistema renina-angiotensina (SRA), como o modelo utilizado neste estudo, o modelo 2R1C (Remiszewski et al., 2020).

Estudos recentes do nosso grupo observaram que o tratamento crônico com extrato da *Cannabis* rico em CBD (20 mg/kg), por gavagem intragástrica a cada 12 h durante 14 dias, promoveu redução do estresse oxidativo na aorta, melhora da sensibilidade do barorreflexo e redução da pressão arterial em ratos *Wistar* hipertensos renovasculares (modelo 2R1C), como mostrado na Figura 5A (Flôr et al., 2025). Além disso, dados ainda não publicados do grupo, utilizando o mesmo tipo de óleo utilizado no presente trabalho, demonstram um potencial efeito benéfico do tratamento com óleo de *Cannabis sativa* rico em CBD (30 mg/kg), administrado da mesma forma que no estudo anterior, em ratos *Sprague-Dawley* hipertensos 2R1C. Observou-se melhora das respostas cardiovasculares, com redução da pressão arterial média e da velocidade de onda de pulso (VOP), além de diminuição da ingestão de ração (Silva, 2025), como mostrado na Figura 5B.

A partir desse contexto, esta dissertação foi desenvolvida com o objetivo de dar continuidade aos estudos realizados anteriormente pelo grupo, bem como de compreender o papel imunomodulador desse óleo em ratos *Wistar* com hipertensão renovascular (modelo 2R1C).

Figura 5. Esquema representativo de resultados anteriores do grupo.



Fonte: Adaptado de Flôr *et al*., 2025; Silva, 2025. Legenda: Resultados anteriores do grupo mostrando os efeitos do tratamento crônico do óleo rico em CBD em diferentes espécies de ratos, painel A ratos *Wistar* tratados com óleo de *Cannabis* rico em CBD na concentração de 20mg/kg; painel B ratos *Sprague-Dawley* tratados com óleo de *Cannabis* rico em CBD na concentração de 30mg/kg ($p<0,05$ * *vs* SHAM; # *vs* 2R1C).



JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

A hipertensão é o principal fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) e para a morte (WHO, 2019; Barroso et al., 2021; Bakris; Ali; Parati, 2019). Dessa forma, as propriedades terapêuticas anti-inflamatórias e antioxidantes do canabidiol, têm se mostrado eficazes no tratamento de diferentes doenças crônicas (Martín-Moreno et al., 2011; Lu et al., 2021; Wilson; Peterson; Ellis, 2021; Maggirwar; Khalsa, 2021). Atualmente, diferentes medicamentos anti-hipertensivos, farmacológicos e não farmacológicos, são indicados para o controle dos níveis pressóricos, porém não há um medicamento ou combinação eficaz para a completa normalização da pressão arterial. Além disso, por ser uma fisiopatologia multifatorial, a compreensão dos seus mecanismos de ação ainda não está completamente esclarecida (Barroso et al., 2021). Esses fatores justificam a busca por novos agentes anti-hipertensivos, bem como por terapias complementares e/ou adjuvantes, e por estudos voltados à melhor compreensão da gênese e da manutenção da fisiopatologia da hipertensão arterial.

A partir disso, surgem novas estratégias terapêuticas para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Entre essas pesquisas, o uso de plantas medicinais, como o da Cannabis sativa, destaca-se, devido ao seu potencial terapêutico, auxiliando no controle da PA e/ou na diminuição dos danos aos órgãos-alvo na hipertensão (Flôr et al., 2025; Baranowska-Kuczko et al., 2021; Malinowska et al.,2019; Remiszewski et al., 2020).

Tendo em vista isso, a HA se caracteriza por um importante desafio à saúde pública, sendo necessárias ações eficientes que visem sua prevenção, diagnóstico e tratamento. Com isso, o objetivo desta dissertação foi analisar os efeitos benéficos do tratamento crônico com extrato da *Cannabis sativa* rico em CBD na imunomodulação de ratos hipertensos renovascular (modelo 2R1C). Vale destacar que nesse estudo foi utilizado o óleo *full spectrum* com composição majoritária de canabidiol produzido por uma associação brasileira sem fins lucrativos, Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de *Cannabis* Medicinal (APEPI), que oferta esse produto à população em geral a baixo custo. Por fim, acredita-se que além desse trabalho contribuir para o conhecimento dos efeitos benéficos do tratamento com CBD em doenças crônicas, contribui também para a conscientização da população sobre os inúmeros benefícios do uso da *cannabis* medicinal e posterior regulamentação pelos órgãos reguladores do Brasil.



OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do tratamento crônico do óleo *full spectrum* derivado da *Cannabis sativa*, e rico em canabidiol (CBD) sobre as respostas imunológicas periféricas em modelo de hipertensão renovascular.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar a pressão arterial sistólica, diastólica e média dos animais por meio do método indireto de pletismografia de cauda digital, como modelo de confirmação do protocolo de indução da hipertensão;

Em macrófagos provenientes do lavado peritoneal dos animais submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) e hipertensos (modelo 2R1C):

- Determinar a viabilidade celular com o tratamento crônico com o óleo à base de canabidiol (CBD);
- Avaliar o efeito do tratamento crônico com o óleo à base de CBD na produção de óxido nítrico (NO) estimulado com o LPS;
- Analisar o efeito do tratamento crônico com o óleo à base de CBD na produção das citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-6, IL-1β) e anti-inflamatória (IL-10) estimuladas com o LPS.



MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Local de realização dos experimentos

Os protocolos experimentais foram realizados no Laboratório de Imunofarmacologia (LIMFA), no Laboratório de Controle Autonômico e Neuroendócrino do Hipotálamo (LACANHP) ambos do Centro de Biotecnologia da UFPB (João Pessoa, PB, BR) e no Laboratório de Pesquisa Translacional em Nutrição e Doenças Cardiometabólicas (LANUCAM) do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da UFPB (João Pessoa, PB, BR).

4.1.2. Animais

Para realizar os experimentos, foram utilizados ratos da linhagem *Wistar* pesando entre 180-250g, provenientes do Biotério Prof. Thomas George do IPeFarM/UFPB. A ambientação dos animais foi realizada em caixas de polipropileno com lotação máxima de 5 animais/caixa. Os animais foram mantidos em um ambiente com temperatura controlada em torno de 22 ± 1ºC com acesso livre a água filtrada e ração e ciclo claro/escuro de 12 h. Os procedimentos experimentais realizados foram submetidos ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), sob número 2931020424 (ANEXO A).

4.1.3. Composição do óleo rico em canabidiol

O óleo rico em canabidiol foi fornecido pela Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de *Cannabis* Medicinal (APEPI- https://www.apepi.org/) (ANEXOS B e C).

Tabela 1 - Resumo da composição do óleo rico em canabidiol (*full spectrum*).

Compostos	Resultado (mg/mL)	Total de Canabinóides (%)
CBD	**32,20**	**92,16**
CBG	**1,43**	**4,09**
THC	**1,31**	**3,75**

Fonte: Adaptado de APEPI, 2025 (Informações adicionais no Anexos B e C). CBD: Canabidiol; CBG: Canabigerol; THC: Δ9-tetraidrocanabinol.

O óleo de canabidiol apresenta-se em forma de óleo, de cor amarela e com boa solubilidade em meios apolares. A partir disso, para o tratamento do grupo da cirurgia fictícia (SHAM), foi utilizado o azeite de oliva extravirgem, visto que foi o veículo utilizado para a preparação do óleo.

Para o tratamento dos animais, foram administrados, por meio de gavagem intragástrica, o óleo rico em CBD e o azeite de oliva extravirgem, ambos na dose de 30 mg/kg (determinada a partir de estudos anteriores do grupo ainda em fase final de publicação) durante 14 dias a cada 12 horas (Silva, 2025). Esse tratamento foi iniciado a partir da 6ª semana após a realização da cirurgia para o desenvolvimento da hipertensão 2R1C, ou seja, até o animal completar 8 semanas de cirurgia 2R1C e SHAM, quando há o platô da hipertensão (Oliveira-Sales et al., 2009; Goldblatt et al. 1934; Martinez-Maldonado, 1991).

Figura 6. Frasco contendo o óleo de *Cannabis sativa* a base de canabidiol da APEPI.



Fonte: APEPI, 2025. Frasco contendo o óleo de *Cannabis sativa* à base de canabidiol (33 mg/ml- 10 ml) produzido e fornecido pela Associação APEPI e utilizado nos experimentos.

4.2. Métodos

4.2.1. Anestesia e Eutanásia

Os animais foram anestesiados para o procedimento cirúrgico com Cloridrato de Cetamina 10% (Cetamin - Laboratório Syntec) (80 mg/kg de peso corporal (pc)) combinado com Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazin - Laboratório Syntec) (7 mg/kg pc) intraperitonealmente. Durante o procedimento cirúrgico, o nível de anestesia foi monitorado por meio do reflexo de piscar os olhos e da reação reflexa ao pinçamento da pata, e ajustado caso necessário. Após as cirurgias, os animais receberam uma dose profilática intramuscular de antibiótico (benzilpenicilina – 80.000 UIs/estreptomicina – 33 mg; Pentabiótico Veterinário – Pequeno Porte, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, SP, Brasil) e uma injeção subcutânea de analgésico/anti-inflamatório (cetoprofeno 1% - 0,03 ml/rato; Ketoflex, Mundo Animal, São Paulo, SP, Brasil), além de 1 mL de solução fisiológica (NaCl 0,15 M).

No final dos experimentos os animais foram eutanasiados por meio da inalação de Tanohalo® halotano 100% (1mL/1mL), visando evitar qualquer tipo de sofrimento de acordo com as normativas do CONCEA.

4.2.2. Cirurgia para desenvolvimento da hipertensão 2R1C

Para indução da hipertensão, foi utilizada a técnica 2rins-1clipe primeiramente descrita por Goldblatt et al. (1934) e adaptada por Schaffenburg (1959), na qual os animais foram divididos inicialmente em 2 grupos: o grupo da cirurgia fictícia (SHAM), e o grupo da indução da hipertensão renovascular (2R1C). Após os procedimentos, os animais foram divididos em 4 grupos: SHAM, SHAM + CBD, 2R1C e 2R1C + CBD.

Tabela 2 - Distribuição dos grupos *in vivo.*

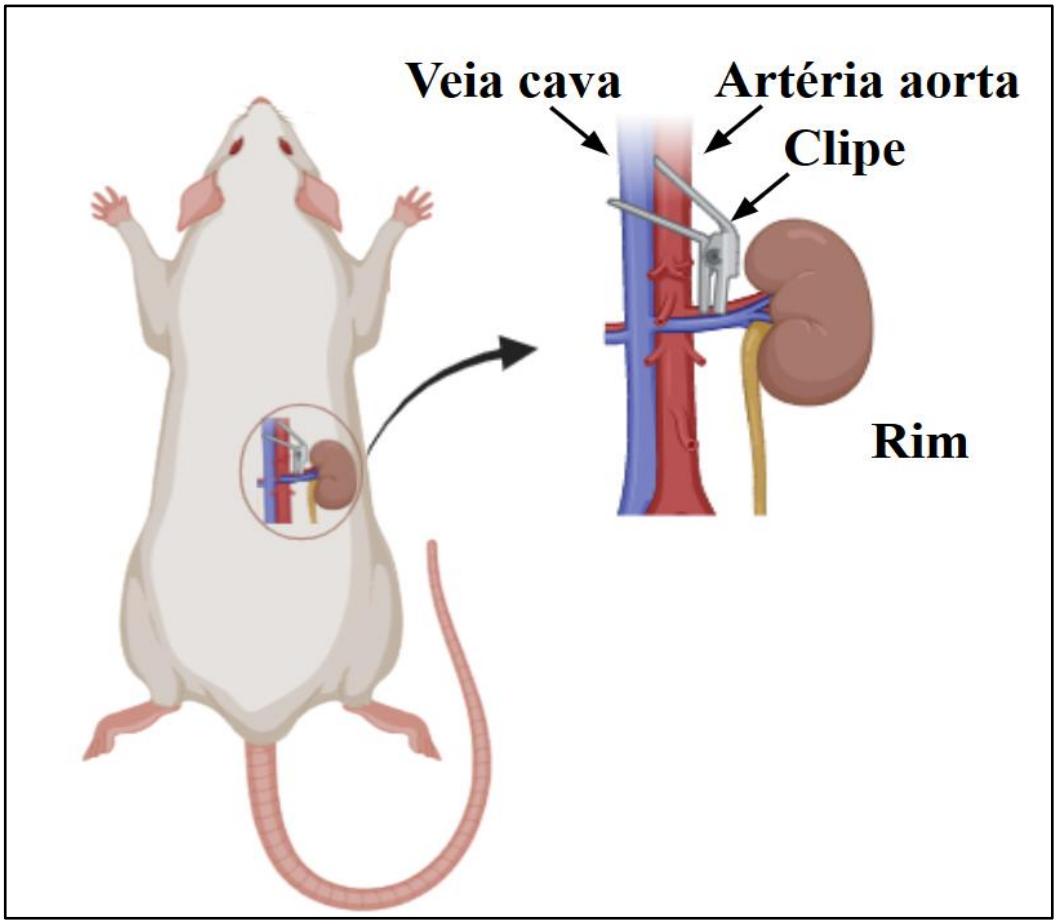
Grupos	Cirurgia	Tratamento *in vivo* (14 dias)
SHAM CTR	**Cirurgia fictícia**	**Azeite de oliva extravirgem**
SHAM CBD	**Cirurgia fictícia**	**Óleo rico em canabidiol**
2R1C CTR	**Cirurgia 2rins-1clipe Goldblatt**	**Azeite de oliva extravirgem**
2R1C CBD	**Cirurgia 2rins-1clipe Goldblatt**	**Óleo rico em canabidiol**

Fonte: elaborado pelo autor, 2026. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais. SHAM: grupo submetido à cirurgia fictícia; 2R1C: grupo submetido à cirurgia para desenvolvimento da hipertensão renovascular; CTR: grupo controle; CBD: grupo que recebeu o óleo; LPS: lipopolissacarídeo.

Para o desenvolvimento da hipertensão, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina, conforme descrito anteriormente. Em seguida, foram posicionados em uma mesa cirúrgica e foi realizada uma incisão na região dorsal média do animal, logo abaixo da última costela, para exposição do rim esquerdo e localização, exposição e separação cuidadosa da artéria e da veia renal e dos tecidos circundantes. Após essa separação, a artéria renal esquerda foi cuidadosamente isolada para a colocação de um clipe de prata em forma de U (diâmetro interno de 0,2 mm) para que ocorresse a oclusão parcial da artéria. No final do procedimento, a incisão foi suturada e limpa com iodeto de potássio (Cavalcanti et al., 2016; Carvalho-Galvão et al., 2019).

Nos animais com cirurgia fictícia (SHAM), o mesmo procedimento cirúrgico foi realizado, exceto pela inserção do clipe de prata, conforme descrito anteriormente. Por fim, os animais foram devolvidos às suas respectivas gaiolas, para recuperação e realização dos protocolos posteriores.

Figura 7. Representação esquemática para indução da cirurgia renovascular modelo 2RINS-1CLIPE descrito por Goldblatt.



Fonte: Adaptado de Mendes-Junior *et al*., 2013. Demonstração da incisão na região dorsal média do animal para identificação da artéria renal, com para posterior inserção do clipe de prata.

Para o grupo 2R1C, foram considerados hipertensos os animais que a partir da quarta semana, apresentaram a pressão arterial média maior que 140 mmHg.

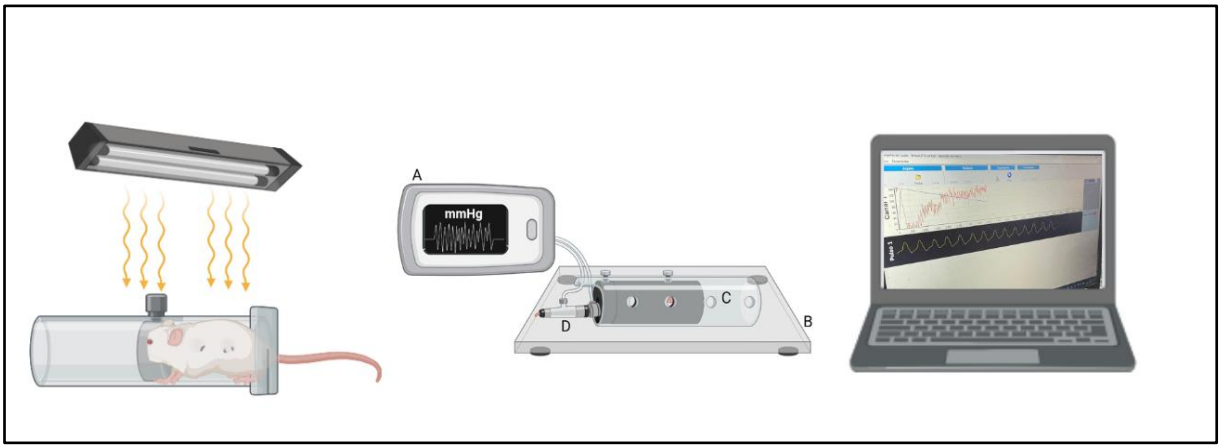
4.2.3. Pletismografia de cauda

Para evitar possíveis erros de medida de análise, os ratos foram previamente adaptados à ambientação, contenção aos *holders* - cilíndrico de acrílico (contensor), insuflação e desinsuflação dos manguitos no dia anterior da leitura. Ao final deste período de adaptação, foi observada estabilização dos sinais de pulso.

Antes e 6 semanas da cirurgia para a indução da hipertensão renovascular, os animais foram submetidos ao procedimento para avaliação dos parâmetros hemodinâmicos por pletismografia de cauda a fim de confirmar o estabelecimento da hipertensão arterial.

Para isso, os animais foram acondicionados em um *holder* em uma plataforma pré-aquecida por 5 minutos, de maneira que a ventilação não seja comprometida e a cauda possa ser acessada pelo sistema de aferição, em uma sala livre de ruídos. A cauda dos animais foi inserida a um manguito de borracha que foi deslocado até a região proximal da cauda e ligado ao esfigmomanômetro para insuflar e desinsuflar automaticamente em intervalos fixos de aproximadamente 30 segundos. Próximo ao manguito, foi acoplado um transdutor de pulso cilíndrico (sensor), conectado ao amplificador e ao conversor analógico-digital (Pletismografia de cauda - Bonther). Foram obtidas, no mínimo, 5 medidas em cada uma das duas sessões. Sendo a média dessas sessões utilizada para obtenção dos valores finais de pressão arterial média, pressão sistólica e pressão diastólica.

Figura 8. Representação esquemática da pletismografia de cauda.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2026. A: monitor de sinais; B: cama aquecedora; C: animal no contensor; D: cauda conectada ao manguito para aferição.

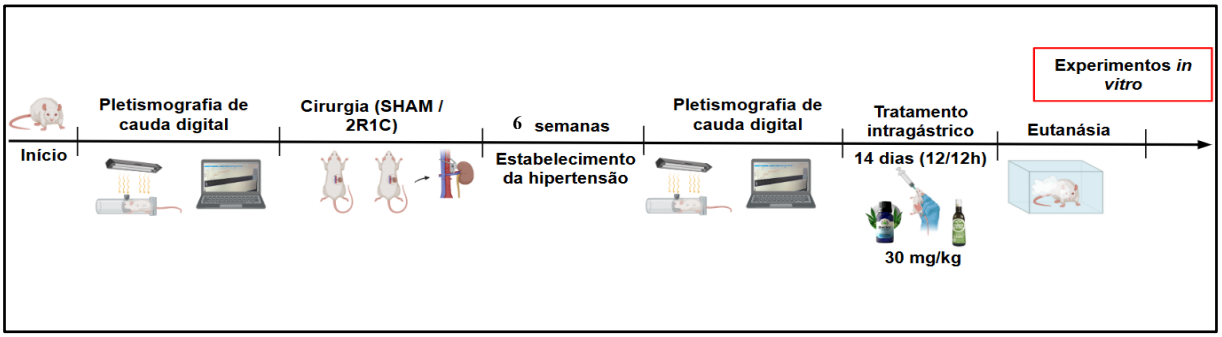
4.2.4. Delineamento experimental dos protocolos *in vivo*

Os animais foram distribuídos em 4 grupos: SHAM, SHAM+CBD, 2R1C e 2R1C+CBD. Inicialmente, antes da realização das cirurgias 2R1C e SHAM, foi realizada a aferição da pressão arterial por meio da pletismografia de cauda. Confirmada a pressão normal desses animais, a cirurgia foi realizada.

Após quatro semanas das cirurgias 2R1C e SHAM, os animais foram novamente submetidos ao protocolo de pletismografia com o objetivo de avaliar a pressão arterial pós-cirúrgica 2R1C e SHAM e o peso dos animais foi acompanhado semanalmente a fim de avaliar possível alteração pós-cirúrgica. Após a confirmação da hipertensão nos animais 2R1C (pletismografia de cauda), iniciamos o tratamento dos animais com o óleo rico em CBD (30

mg/kg) ou com o veículo (azeite de oliva) por gavagem intragástrica durante 14 dias, duas vezes ao dia a cada 12 horas. No 14º dia de tratamento, os animais foram eutanasiados por meio da inalação de Tanohalo® halotano 100% (1mL/1mL). Após isso, realizamos os protocolos *in vitro* como forma de avaliar a viabilidade dos macrófagos, a produção de óxido nítrico e a quantificação de citocinas no lavado peritoneal, descritos posteriormente.

Figura 9. Desenho experimental do estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2026.

4.3. Experimentos *in vitro*

4.3.1. Cultura de macrófagos peritoneais dos ratos

Para a realização da cultura de macrófagos peritoneais, os animais foram eutanasiados, para obtenção dos macrófagos peritoneais. Posteriormente, foi realizado o lavado peritoneal, no qual 20 mL de tampão fosfato-salino (PBS; cloreto de sódio: 0,8760%, fosfato de sódio dibásico: 0,1550% e fosfato de sódio monobásico: 0,0288%) gelado foi inserido na cavidade peritoneal com auxílio de seringa e, após 30 segundos de massagem, o lavado foi recuperado. A suspensão de células obtida a partir da lavagem peritoneal foi centrifugada a 1500 rpm por 5 minutos a 4 °C, sendo posteriormente o sobrenadante descartado e o *pellet* ressuspenso em 2 mL de meio RPMI-1640 Medium (1X) (Gibco) (bicarbonato de sódio: 0,002 g/ml, estreptomicina: 100 µg/ml, penicilina: 100 unidades/ml), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). Em seguida, foram realizadas a contagem celular e a análise da viabilidade com o corante azul de tripan sob câmara de Neubauer.

Após isso, as células peritoneais foram semeadas em placas de 96 poços a uma concentração de $2x10^5$ células/poço. Em seguida, as placas foram incubadas por 2 horas com meio de cultura RPMI-1640 Medium (1X) (Gibco) suplementado com SFB em estufa de CO_2 (atmosfera de 5% de CO_2 a 37 °C). Após isso, as células remanescentes foram incubadas

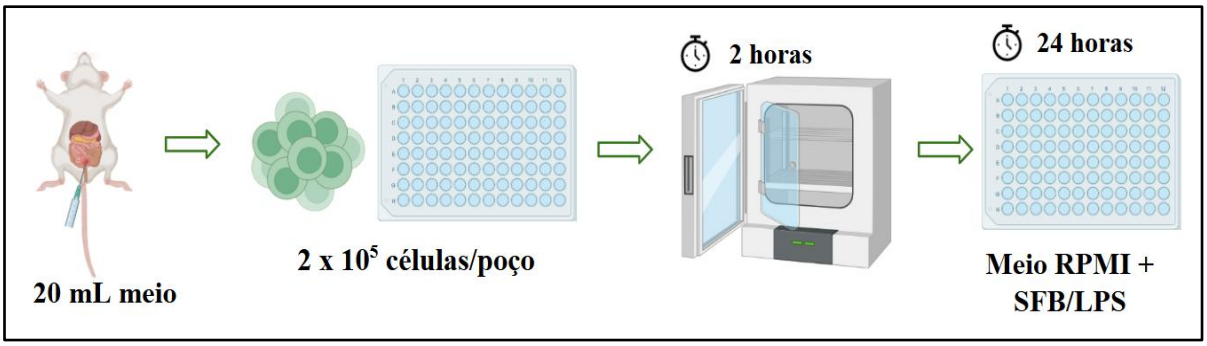
durante 24 horas com meio RPMI completo suplementado com SFB e/ou com LPS na concentração de 1 µg/mL, e divididas conforme apresentado na Tabela 3, para em seguida serem submetidas aos protocolos experimentais.

Tabela 3 - Distribuição dos grupos para os experimentos *in vitro*.

Grupos	**Tratamento *in vivo* (14 dias)**	**Estímulo *in vitro* (24 horas)**
SHAM CTR	**Azeite de oliva extravirgem**	**-**
2R1C CTR	**Azeite de oliva extravirgem**	
SHAM CBD	**Óleo rico em canabidiol**	
2R1C CBD	**Óleo rico em canabidiol**	
SHAM CTR LPS	**Azeite de oliva extravirgem**	**LPS (1µg/mL)**
2R1C CTR LPS	**Azeite de oliva extravirgem**	
SHAM CBD LPS	**Óleo rico em canabidiol**	
2R1C CBD LPS	**Óleo rico em canabidiol**	

Fonte: elaborado pelo autor, 2026. Os animais foram divididos em oito grupos experimentais. Todos os grupos, receberam tratamento prévio *in vivo* por 14 dias com de azeite de oliva extravirgem ou óleo rico em canabidiol. Posteriormente, *in vitro*, os grupos foram desafiados com LPS, com 1 µg/mL, para estímulo inflamatório. SHAM: grupo submetido à cirurgia fictícia; 2R1C: grupo submetido a cirurgia para desenvolvimento da hipertensão renovascular; CTR: grupo controle; CBD: grupo que recebeu o óleo; LPS: lipopolissacarídeo.

Figura 10. Esquema representativo da cultura de macrófagos.



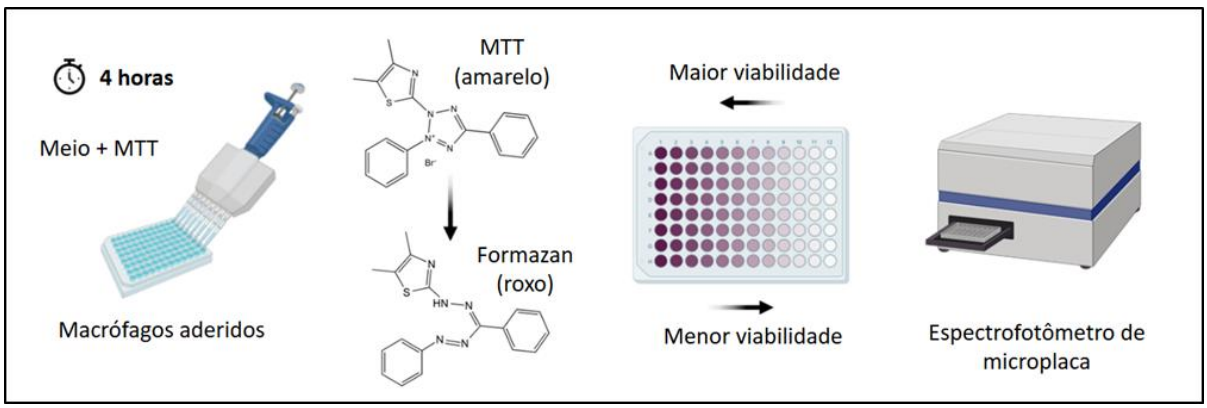
Fonte: Elaborada pelo autor, 2026. Criado com Biorender.

4.3.2. Análise da viabilidade celular

A viabilidade celular foi determinada pelo método de MTT (brometo de 3-metil-[4-5dimetiltiazol-2-il] -2,5 difeniltetrazólio) descrito por Mosmann (1983). Esse método baseia-se na capacidade das enzimas mitocondriais (desidrogenases) de células viáveis transformar o sal de tetrazólio (MTT), de cor amarela, em seu derivado formazan azul (cor violeta). Dessa maneira, quanto maior a intensidade da cor violeta, mais células metabolizam o MTT em cristais de formazan e assim, maior a viabilidade celular (Mosmann, 1983).

Após a coleta do sobrenadante, foi adicionada à placa uma solução contendo 10% de MTT em meio RPMI a qual foi incubada por 4 h em estufa de CO_2. Após isso, todo o sobrenadante foi removido e adicionados 100 µL de DMSO para dissolver os cristais de formazan formados. Por fim, a viabilidade celular foi quantificada por meio da medida da densidade óptica no comprimento de onda de 570 nm, realizada em um leitor de placas.

Figura 11. Esquema resumido do protocolo para determinação da viabilidade celular com o reagente MTT.



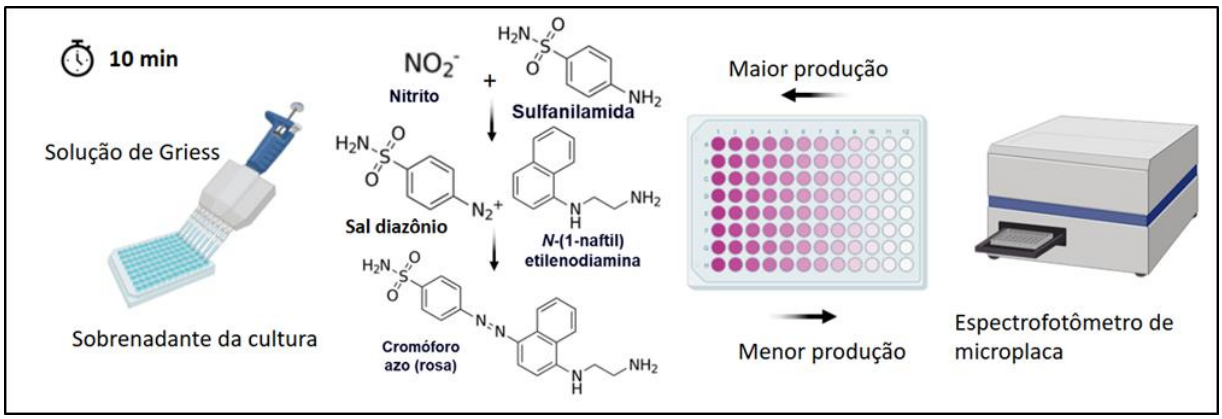
Fonte: Mosmann, 1983; Sales-Neto, 2021. Criado com Biorender.

4.3.3. Determinação dos níveis de óxido nítrico

A produção de NO foi avaliada *in vitro* por meio da determinação de seu produto de degradação mais estável, o nitrito, pelo método colorimétrico indireto conhecido como reação de Griess (Green et al., 1982). Nesse método, os nitritos, quando presentes na amostra, reagem com a sulfanilamida em meio ácido, formando um composto intermediário: o sal de diazônio. Este sal então reage com N-naftil-etilenodiamina (NED) para formar um composto azo estável de cor violeta, que pode ser detectado e analisado em um espectrofotômetro a 540 nm.

Para isso, 50 µL do reagente de Griess foram adicionados a 50 µL dos sobrenadantes obtidos do cultivo com macrófagos peritoneais murinos. Esse reagente é constituído pela mistura 1:1 de duas soluções designadas A e B, preparadas imediatamente antes do uso. A solução A é composta por 0,1 % (p / v) de naftiletilenodiamina em 5 % (v/v) de ácido fosfórico e a solução B com 1 % de p-aminobenzenossulfonamina (p / v) em ácido fosfórico 5 % (v/v). Após 10 minutos de reação à temperatura ambiente, a leitura foi feita utilizando um filtro de 540 nm em um leitor de placa. Os resultados em µM foram determinados por meio da comparação com a curva padrão (realizada com nitrito de sódio nas concentrações de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 1,5 µM).

Figura 12. Esquema resumido do protocolo para determinação dos níveis de óxido nítrico com a solução de Griess.



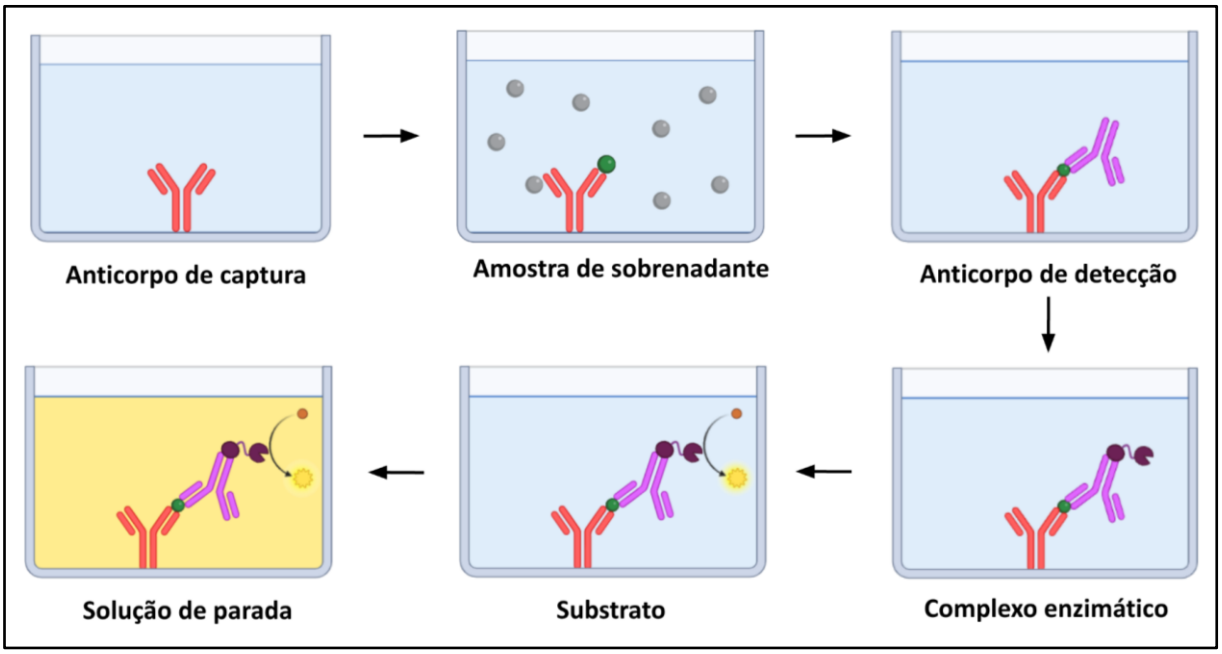
Fonte: Griess, 1879; Sales-Neto, 2021. Criado com Biorender.

4.3.4. Ensaio imunoenzimático para dosagem das citocinas TNF-α, IL-6, IL-1β e IL-10

As citocinas presentes, IL-6 (Cloud-Cone Corp.), TNF-α, IL-1β, IL-10 (FineTest®) no lavado peritoneal foram quantificadas por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA) do tipo sanduíche (Ferreira et al., 2024). Para isso, o lavado peritoneal foi coletado como explicado no item 4.3.1 e centrifugado (210 rcf por 5 minutos a 4ºC) e, a partir do sobrenadante obtido, foi realizado o ELISA do tipo sanduíche, de acordo com as informações do fabricante.

Inicialmente, foram adicionadas as amostras de sobrenadantes às placas de ELISA já sensibilizadas com os respectivos anticorpos de captura anti-IL-6, anti-TNF-α, anti-IL-1β e anti-IL-10 por 1 hora a 37 ºC. Após, os sítios inespecíficos foram bloqueados com a solução de bloqueio. Em seguida, as placas foram lavadas com *wash buffer* e, posteriormente, foi adicionado o anticorpo de detecção referente a cada citocina por 30 minutos a 37 ºC e, após isso as placas foram novamente lavadas. Posteriormente, foi adicionado o complexo enzimático avidina-peroxidase (avidin-HRP) e o substrato contendo tetrametilbenzidina (TMB), após 15 minutos a 37 ºC essa reação foi interrompida com a solução de parada e realizada a leitura em leitor de placa a 450 nm.

Figura 13. Esquema representativo do protocolo experimental de ensaio imunoenzimático (ELISA) do tipo sanduíche.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2026. Criado com Biorender.

4.4. Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m.) e analisados empregando-se a análise de variância (ANOVA) one-way, seguido pelo pós-teste de Tukey. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando os valores de $p \leq 0,05$. Os dados foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism versão 9.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).



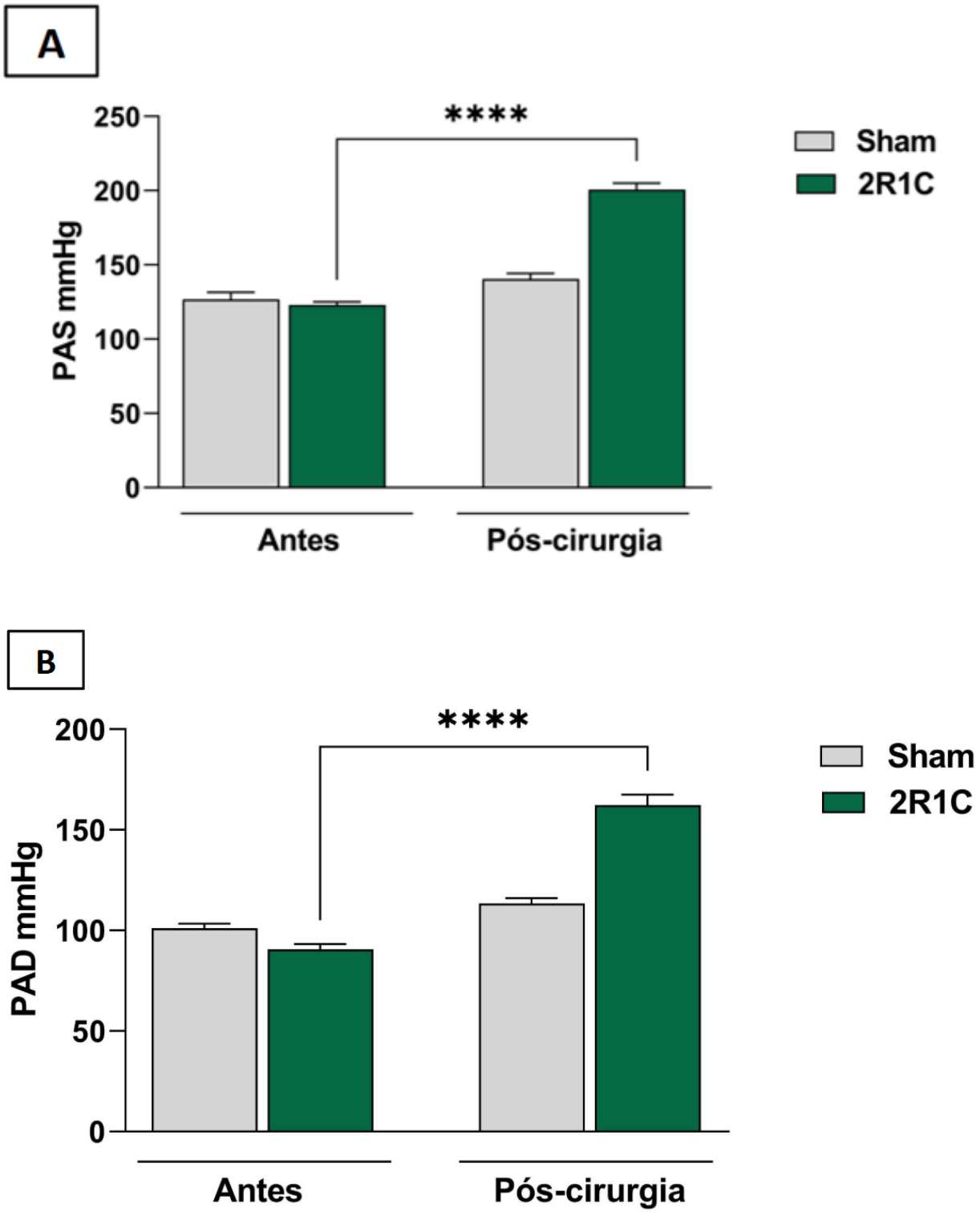
RESULTADOS

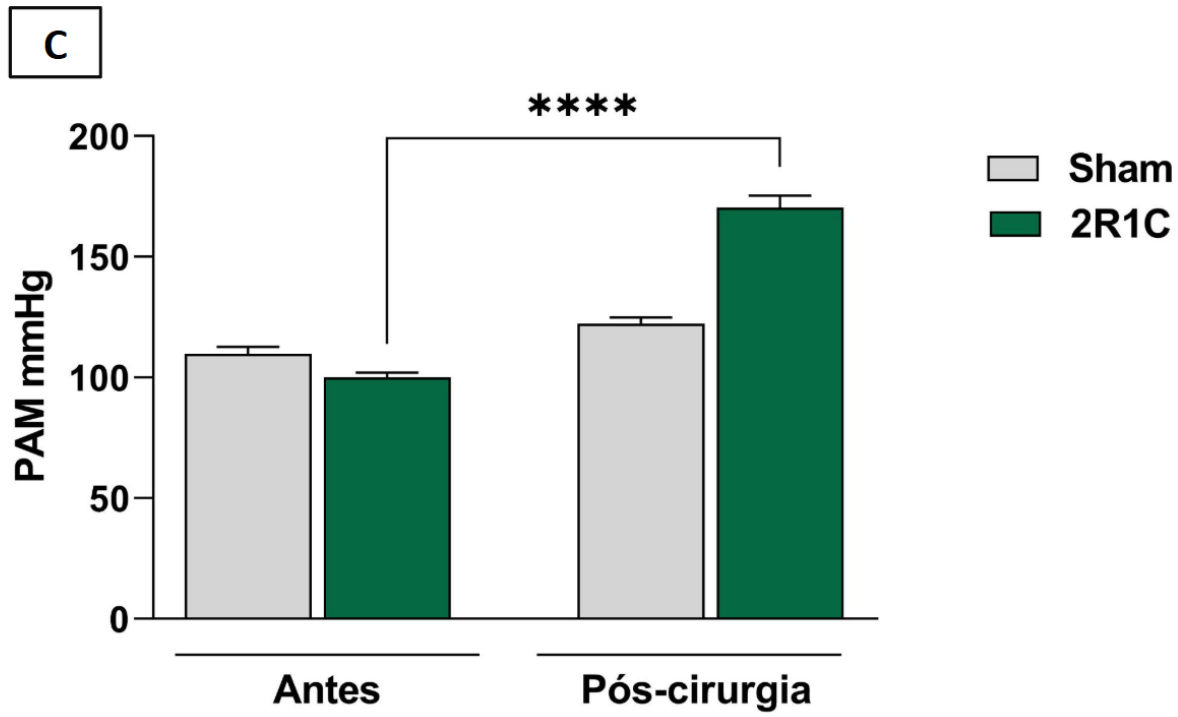
5. RESULTADOS

5.1. Análise da pressão arterial nos animais SHAM e hipertensos 2R1C

As Figuras 14A, 14B e 14C mostram os resultados obtidos por meio da análise da pressão arterial sistólica (PAS, mmHg), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg) e pressão arterial média (PAM, mmHg) por pletismografia de cauda, realizadas antes (semana zero) e na 6ª semana após a cirurgia SHAM e 2R1C, respectivamente. Com isso, é possível observar a variação das PAS, PAD e PAM dos animais SHAM na semana zero em comparação com a análise observada na 6ª semana pós-cirurgia. Foi observado que não houve alteração significativa nos três parâmetros de pressão avaliados nos animais SHAM (6ª semana *vs*. semana zero): (PAS: 140,6 ± 3,65 *vs*. 126,8 ± 4,68 mmHg); (PAD: 111,1 ± 2,31 *vs.* 101,1 ± 2,31 mmHg) e (PAM: 122,3 ± 2,6 vs. 109,7 ± 2,99 mmHg). Por outro lado, nos animais do grupo hipertensão foi observado um aumento significativo na 6ª semana da cirurgia 2R1C em relação a semana zero (PAS: 200,6 ± 4,53 *vs*. 122,9 ± 2,14 mmHg); (PAD: 162,3 ± 5,37 *vs*. 90,5 ± 2,77 mmHg) e (PAM: 170,5 ± 4,89 vs. 100,1 ± 2,08 mmHg), mostrando a eficácia do procedimento cirúrgico e consequente indução da hipertensão nos animais.

Figura 14. Pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) em mmHg, avaliadas antes e após a cirurgia 2R1C e SHAM.



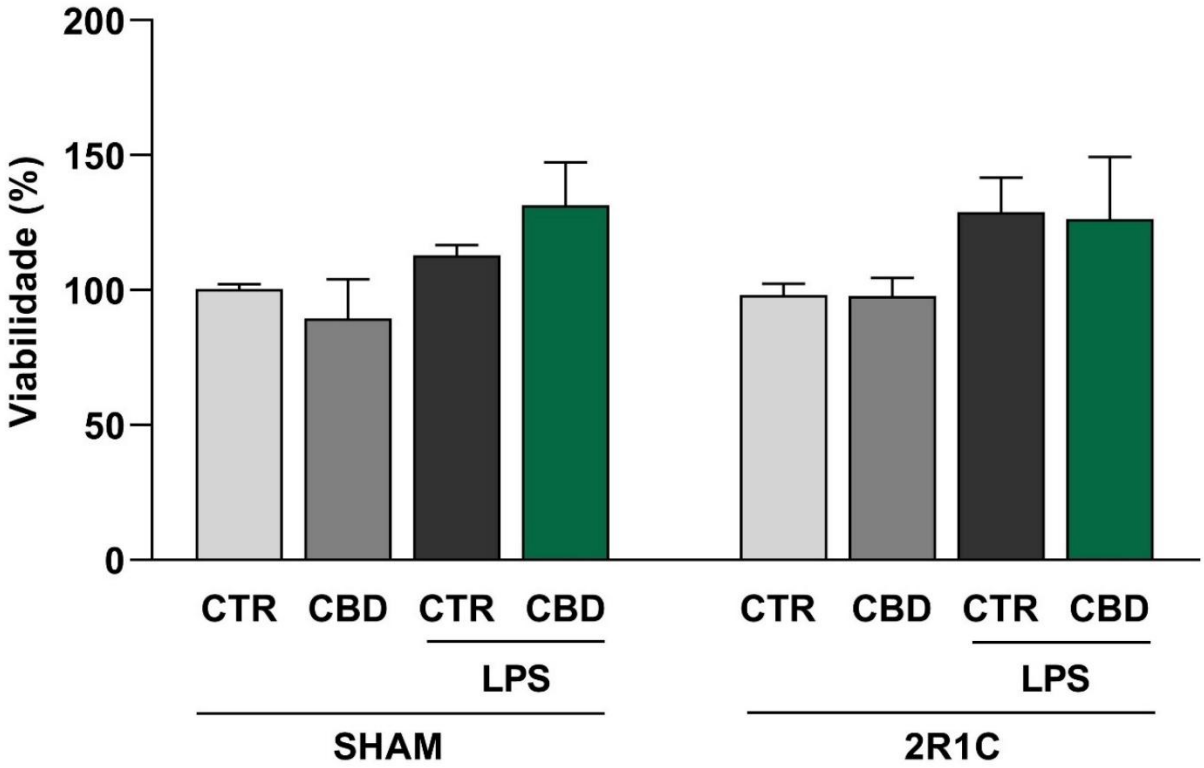


Legenda: A. Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) dos animais avaliada antes (Antes) e após 6ª semana da cirurgia dos grupos SHAM (n=13), 2R1C (n=17-15); B. Pressão arterial diastólica (PAD, mmHg) dos animais avaliada antes (Antes) e após 6ª semana da cirurgia dos grupos SHAM (n=13), 2R1C (n=17-15); C. Pressão arterial média (PAM, mmHg) dos animais avaliada antes (Antes) e após 6ª semana da cirurgia dos grupos SHAM (n=13), 2R1C(n=17-15). Os dados numéricos são apresentados como média ± epm e analisados por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida de pós-teste de Tukey **** - ($p<0,0001$). SHAM: cirurgia fictícia; 2R1C: animais submetidos à cirurgia para indução da hipertensão; CBD: canabidiol, grupo de animais que seriam posteriormente submetidos ao tratamento com óleo rico em canabidiol (30 mg/kg - gavagem intragástrica - 2x ao dia durante 14 dias).

5.2 Efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular na citotoxicidade celular

Foi avaliado o efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol sobre a viabilidade dos macrófagos peritoneais de ratos. A partir disso, foi observado que os macrófagos provenientes dos animais da cirurgia fictícia (SHAM) e com hipertensão renovascular (2R1C) tratados ou não com óleo rico em canabidiol na presença ou ausência do LPS; o tratamento com o óleo não apresentou atividade citotóxica, como mostrado na Figura 15.

Figura 15. Efeito sobre a viabilidade celular do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol em macrófagos peritoneais de ratos.

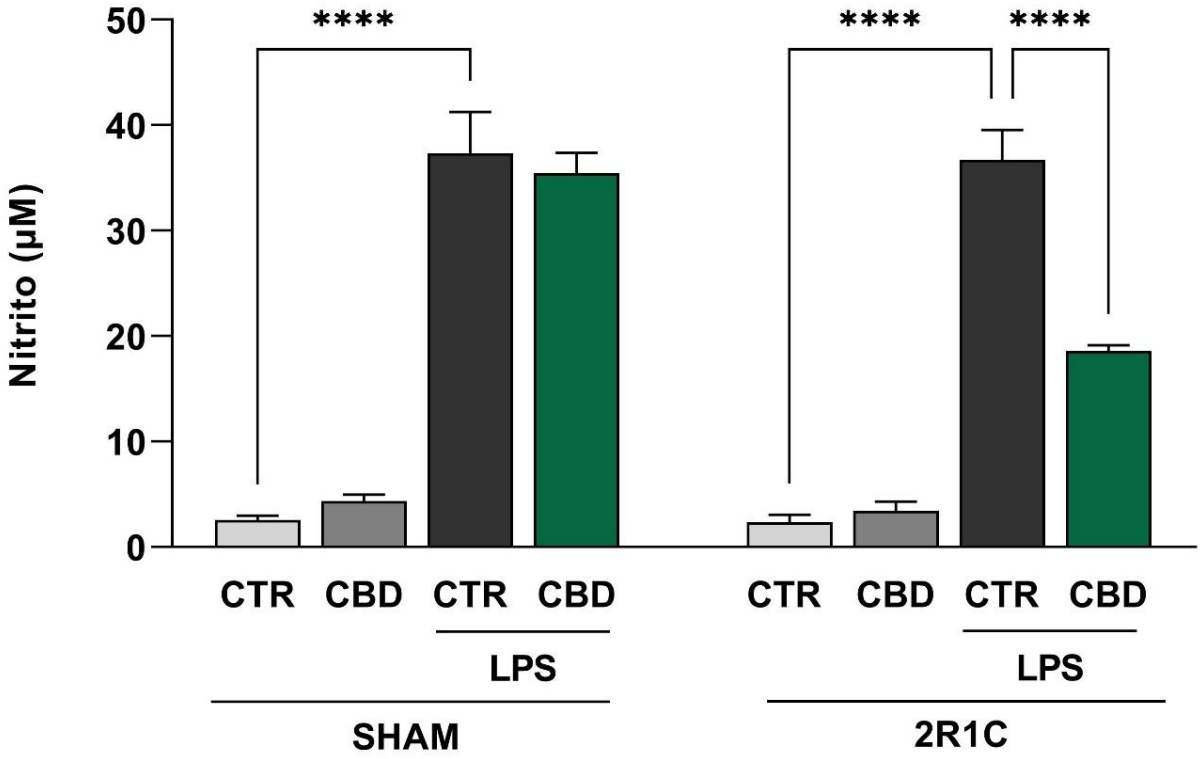


Legenda: Viabilidade de macrófagos peritoneais provenientes de ratos dos grupos SHAM e 2R1C, na ausência e presença do LPS (1µg/mL). Os dados numéricos são apresentados como média ± epm com n=5 e analisados por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida de pós-teste de Tukey. SHAM: cirurgia fictícia; CTR: controle, grupo de animais submetidos ao tratamento com azeite de oliva extravirgem; CBD: canabidiol, grupo de animais submetidos ao tratamento com óleo rico em canabidiol (30 mg/kg - gavagem intragástrica - 2x ao dia durante 14 dias).; LPS: lipopolissacarídeo, grupo com estímulo inflamatório *in vitro*.

5.3 Efeito do tratamento com óleo rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular na produção de óxido nítrico

Os níveis de NO foram avaliados nos sobrenadantes da cultura de macrófagos. O LPS é um dos principais indutores da produção de óxido nítrico *in vitro* (De Sales-Neto; Rodrigues-Mascarenhas, 2024). Como esperado, os macrófagos peritoneais estimulados com LPS apresentaram níveis elevados de NO ($p < 0,001$) em comparação com o grupo controle do seu respectivo grupo SHAM e 2R1C, como mostrado na Figura 16. Por outro lado, macrófagos de ratos hipertensos tratados com óleo rico em CBD e posteriormente estimulados com LPS, apresentaram redução de 49,33% na produção deste mediador inflamatório.

Figura 16. Efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol na produção de óxido nítrico por macrófagos peritoneais de ratos.



Legenda: O efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol na produção de óxido nítrico em macrófagos peritoneais provenientes de ratos dos grupos SHAM e 2R1C, na ausência e na presença do LPS (1µg/mL). Os dados numéricos são apresentados como média ± epm n=5 e analisados por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida de pós-teste de Tukey. **** - ($p<0,0001$). SHAM: cirurgia fictícia; 2R1C: animais submetidos à cirurgia para desenvolvimento da hipertensão; CTR: controle, grupo de animais que foram submetidos ao tratamento com azeite de oliva extravirgem; CBD: canabidiol, grupo de animais que foram submetidos ao tratamento com óleo rico em canabidiol (30 mg/kg - gavagem intragástrica - 2x ao dia durante 14 dias); LPS: lipopolissacarídeo, grupo com estímulo inflamatório *in vitro*.

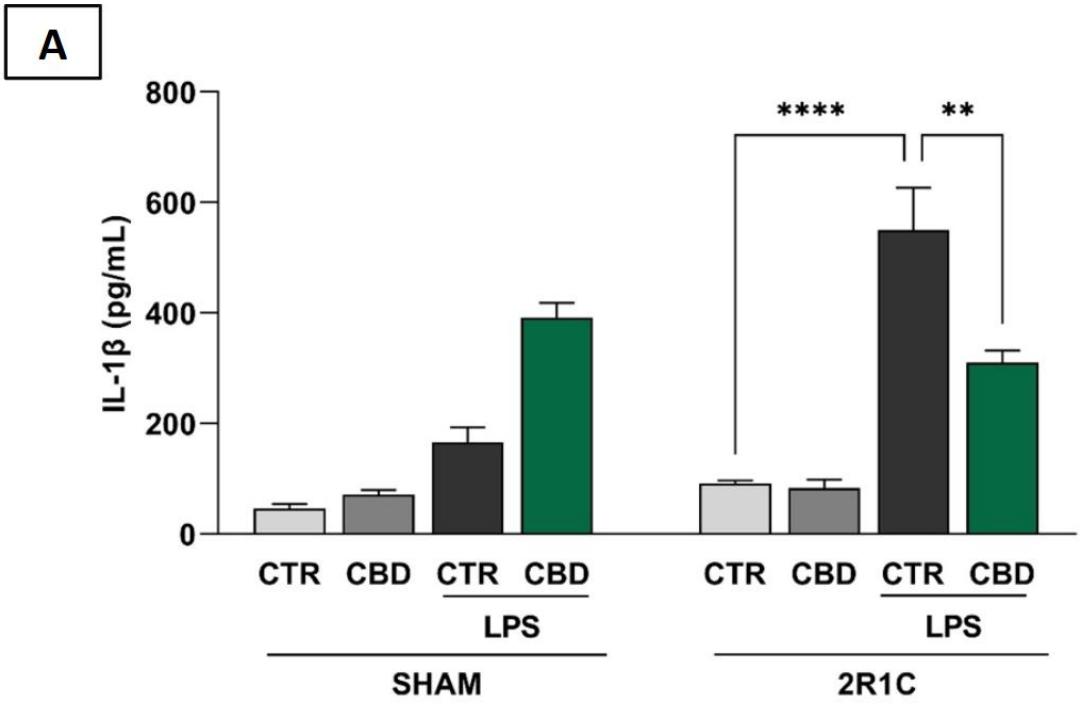
5.4 Efeito do tratamento com óleo rico em canabidiol em ratos com hipertensão renovascular na produção de citocinas

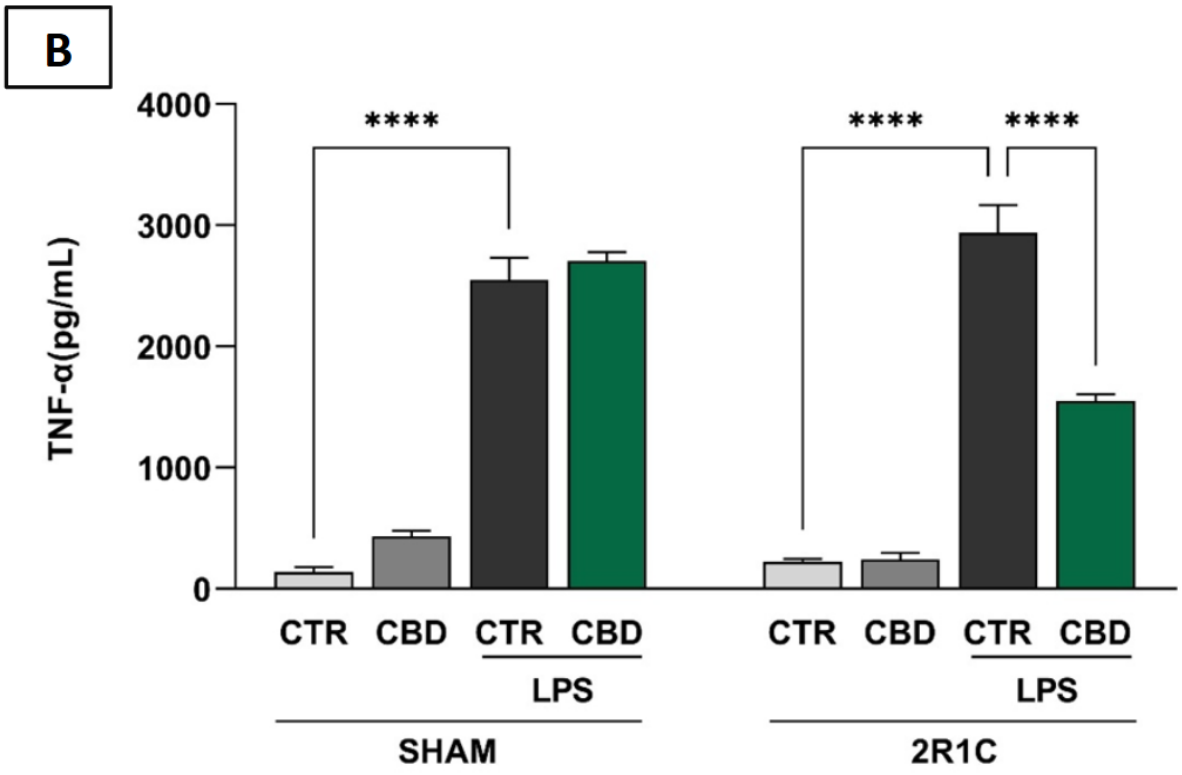
Como as citocinas estão relacionadas com a produção de óxido nítrico (Del Moral-Martinez *et al*., 2025; De Sales-Neto; Rodrigues-Mascarenhas, 2024) a quantificação das citocinas pró- e anti-inflamatórias também foram determinadas a partir dos sobrenadantes da cultura dos macrófagos. Como esperado, os macrófagos peritoneais provenientes de ratos com hipertensão renovascular (2R1C) estimulados com LPS apresentaram produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias, IL-1β e TNF-α ($p < 0.001$), em comparação ao grupo controle,

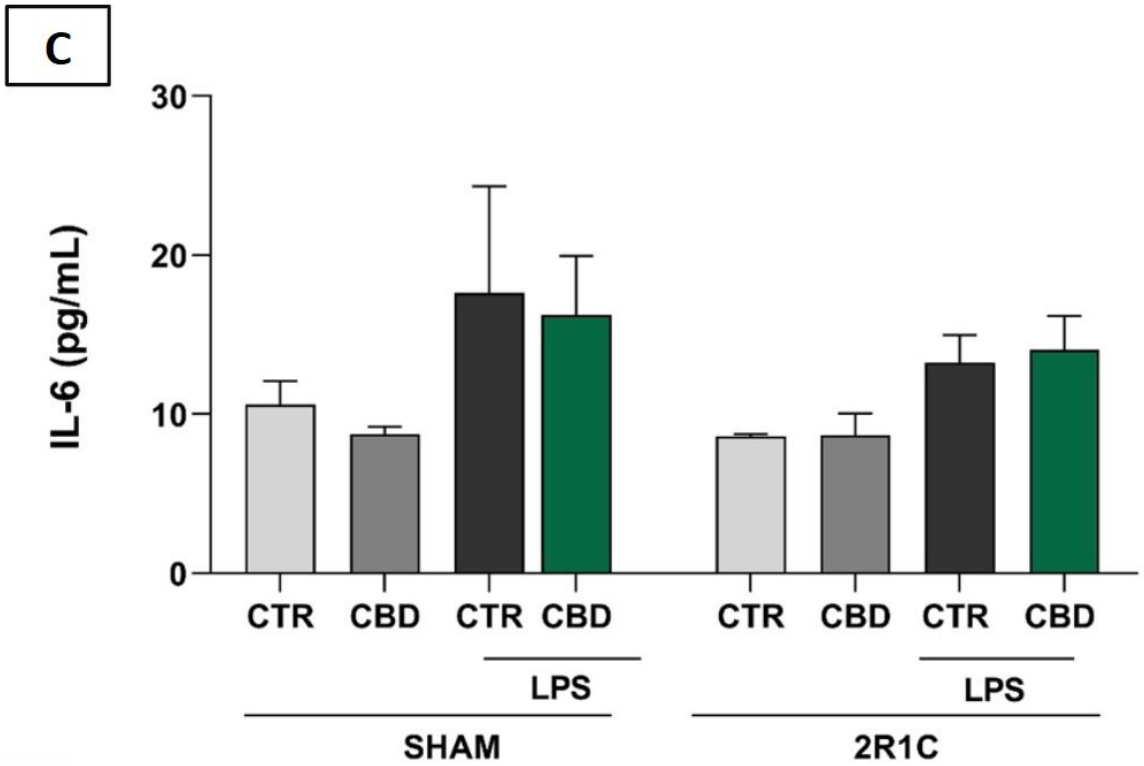
mostradas nas Figuras 17A e 17B, respectivamente. Enquanto o tratamento com óleo rico em CBD reduziu os níveis de produção de TNF-α em 47,15% e de IL-1β em 43,96%.

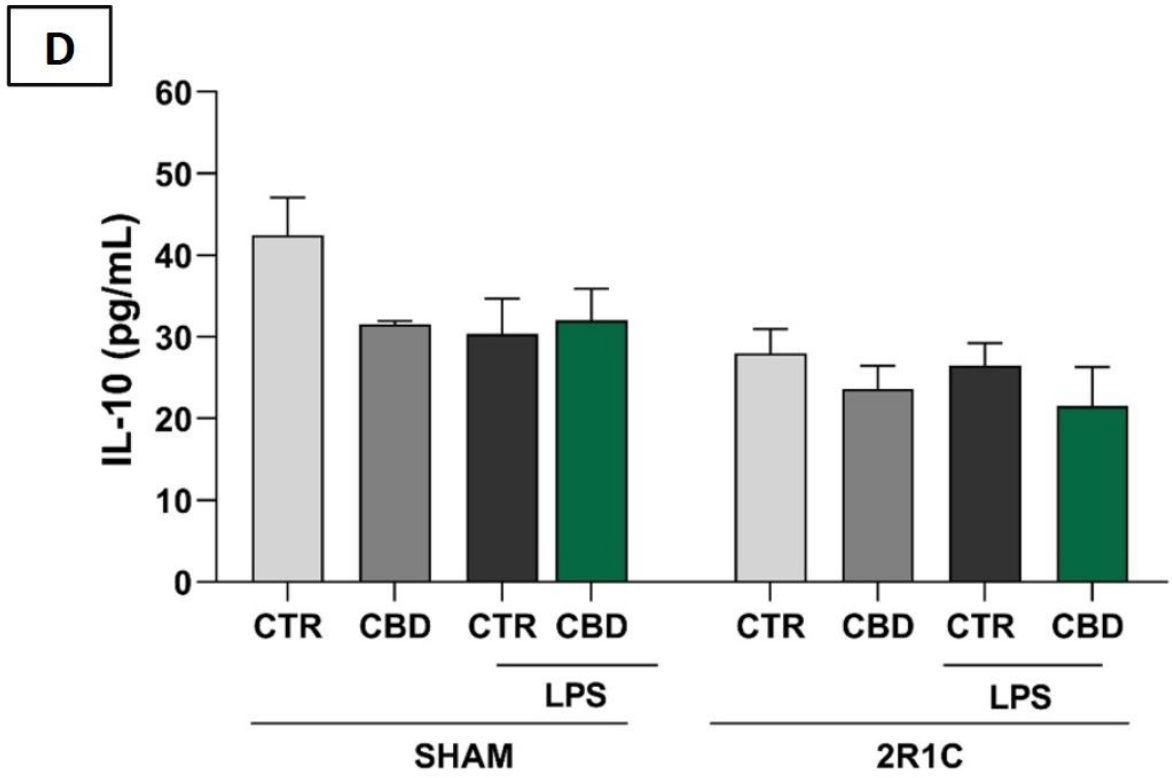
As citocinas pró-inflamatória IL-6 e anti-inflamatória IL-10 não apresentaram alterações significativas em suas concentrações, independentemente do tratamento *in vivo* e do estímulo inflamatório *in vitro*, como mostrado na Figura 17C e 17D, respectivamente.

Figura 17. Efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol na produção de citocinas IL-1β, TNF-α, IL-6 e IL-10.




B
TNF-α(pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
****
****
****
CTR
CBD
CTR
CBD
LPS
CTR
CBD
CTR
CBD
LPS
SHAM
2R1C


C
IL-6 (pg/mL)
30
20
10
0
CTR
CBD
CTR
CBD
LPS
CTR
CBD
CTR
CBD
LPS
SHAM
2R1C



Legenda: O efeito do tratamento crônico com óleo rico em canabidiol na produção de citocinas em macrófagos peritoneais provenientes de ratos dos grupos SHAM e 2R1C, na ausência e presença do LPS (1µg/mL). A.IL-1β B. TNF-α C. IL-6 D. IL-10. Os dados numéricos são apresentados como média ± epm n=3 e analisados por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida de pós-teste de Tukey. **** - ($p<0,0001$); ** - ($p=0,0027$). SHAM: cirurgia fictícia; CTR: controle, grupo de animais que foram submetidos ao tratamento com azeite de oliva extravirgem; CBD: canabidiol, grupo de animais que foram submetidos ao tratamento com óleo rico em canabidiol (30 mg/kg - gavagem intragástrica - 2x ao dia durante 14 dias); LPS: lipopolissacarídeo, grupo com estímulo inflamatório *in vitro*.



DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Este trabalho demonstrou, pela primeira vez, que o tratamento crônico com óleo de *Cannabis sativa* rico em canabidiol (CBD), administrado por gavagem intragástrica, promoveu efeitos imunomoduladores em macrófagos de ratos com hipertensão renovascular (2R1C) estimulados *in vitro* com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS).

O modelo experimental escolhido para indução da hipertensão arterial foi o 2R1C, um modelo já amplamente estabelecido e amplamente aplicado na literatura para induzir a hipertensão renovascular em modelos experimentais em animais. Consiste em submeter um dos rins ao processo de estenose parcial da artéria renal; ou seja, limita-se o fluxo sanguíneo renal à inserção de um clipe de prata em torno dessa artéria (Goldblatt et al., 1934; Schaffenburg, 1959). Consequentemente, ocorrem alterações tanto morfoanatômicas como funcionais como por exemplo a redução da perfusão renal, gerando hiperatividade do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), e uma cascata de eventos para o aumento da produção de angiotensina II circulante pelo rim clipado, ocasionando vasoconstrição, aumento do estresse oxidativo desenvolvendo a elevação da pressão arterial, importantes para a fisiopatologia da hipertensão (Martinez-Maldonado, 1991; Herrmann; Textor, 2018; Ma et al., 2023).

Como demonstrado na literatura, observa-se, nos nossos resultados, que, na 6ª semana após a cirurgia de implantação de clipes de prata, houve um aumento significativo da pressão arterial (PA) dos animais hipertensos (2R1C) em comparação com os submetidos à cirurgia fictícia (SHAM), designados como animais normotensos (Figura 14), o que evidencia a eficácia do procedimento cirúrgico (Vilhena et al., 2021; Melo et al., 2020; Martinez-Maldonado, 1991; Flôr et al., 2025). Esse aumento ocorre devido à estenose da artéria renal, provavelmente, levando a distúrbios no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) que, mesmo após seis semanas, fazem com que os níveis da síntese de angiotensina II (ANG II) e de seus receptores AT1 sejam elevados. Esse processo contribui para a manutenção da pressão arterial elevada e para o aumento da atividade simpática, visto que níveis elevados de Ang II circulante atingem áreas do encéfalo nesse período, favorecendo o desenvolvimento e o estabelecimento da hipertensão arterial (Lucera et al., 2021; Thongsepee et al., 2022; Lauar et al., 2023; Roncari et al., 2018).

A partir disso, estudos na literatura já mostram que o tratamento com plantas medicinais, com destaque para *Cannabis sativa*, vem demonstrando potencial terapêutico para terapia adjuvante para tratamento de doenças cardiovasculares, auxiliando tanto no controle da PA como na diminuição dos danos aos órgãos-alvo (Flôr et al., 2025; Baranowska-Kuczko et al.,

2021; Malinowska et al.,2019; Remiszewski et al., 2020). Estudos do nosso grupo observaram que o tratamento crônico com extrato da *Cannabis* rico em CBD em concentrações diferentes (20 e 30 mg/kg), por gavagem intragástrica a cada 12h durante 14 dias, promoveu redução do estresse oxidativo na aorta, melhora da vasomotricidade e da sensibilidade do barorreflexo, e redução da pressão arterial em ratos *Wistar*, como também promoveu efeitos benéficos nas respostas cardiovasculares, com a redução da pressão arterial média, velocidade de onda de pulso (VOP) em ratos *Sprague Dawley* ambos em modelo de hipertensão renovascular (modelo 2R1C) (Flôr et al., 2025; Silva, 2025). Com isso, este trabalho teve como objetivo dar continuidade a estudos do nosso grupo e avaliar se esse tratamento crônico com óleo *full spectrum* derivado da *Cannabis sativa* e rico em CBD na concentração de 30 mg/kg, baseado em estudos anteriores do grupo, seguindo o mesmo protocolo de tratamento, apresentaria efeito sobre as respostas imunológicas periféricas estimuladas por LPS no modelo de hipertensão renovascular, modelo 2R1C.

Após todo o protocolo *in vivo* (cirurgia e tratamento), realizou-se a análise do efeito desse tratamento *in vitro* utilizando o modelo de cultura primária de macrófagos peritoneais de ratos *Wistar*. Os macrófagos são células do sistema imunológico com origem na medula óssea pertencentes à família dos fagócitos mononucleares, importantes fatores para manutenção da homeostasia dos organismos, além de compor as respostas imunes inata e adaptativa (Chen et al., 2023; Pidwill et al., 2021). Ressalta-se que, *in situ*, esses macrófagos existem como células não aderentes; no entanto, quando cultivados *in vitro*, podem ser separados das demais células por sua capacidade de aderir ao plástico das placas de ensaio (Hrabák et al., 2023; Ding et al., 2025; Keivan; Froushani, 2024).

Primeiramente foi realizado o ensaio de viabilidade pelo método descrito por Mosmann (1983) de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio (MTT). Nossos resultados demonstraram que o tratamento crônico com óleo rico em CBD não afetou a viabilidade celular (Figura 15), visto que os grupos apresentaram viabilidade maior ou igual a 80%. Esses resultados estão de acordo com dados obtidos por Dammann, et al. (2023) testando CBD em baixas concentrações em macrófagos murinos RAW264.7 estimulados com LPS. Além disso, estudos de Zaiachuk et al. (2023), com macrófagos humanos da linhagem THP-1, mostraram que os fitocanabinoides, CBD e THC, quando testados puros e em diferentes extratos não apresentaram toxicidade, mesmo após estímulo com LPS *in vitro*. Por outro lado, estudos de Sukdee et al. (2025), utilizando macrófagos derivados da medula óssea, mostram que diferentes canabinoides, em altas concentrações (100 μM), afetam significativamente a viabilidade dessas células, efeito que não é observado em concentrações menores dos mesmos compostos.

Os macrófagos, quando ativados por sinais inflamatórios ativadores, como o LPS, estímulo utilizado no presente estudo, apresentam um fenótipo pró-inflamatório, com inúmeras funções essenciais para o sistema imunológico, principalmente durante a fase aguda da inflamação (Palmieri et al., 2020; Chen et al., 2023). Dessa forma, para investigar o efeito do tratamento *in vivo* no processo inflamatório agudo *in vitro*, utilizou-se o LPS para induzir a produção de mediadores inflamatórios pelos macrófagos peritoneais.

Como resultado, os macrófagos provenientes do peritônio dos ratos SHAM e 2R1C, ao serem estimulados *in vitro* com LPS, apresentaram um aumento significativo na produção de mediadores inflamatórios, mostrando a eficácia do estímulo e modelo inflamatório, como já visto em outros trabalhos do grupo (De Sales-Neto; Rodrigues-Mascarenhas, 2024; Carvalho et al., 2019). Por outro lado, os animais do grupo 2R1C, quando tratados apenas com o óleo rico em CBD, sem o estímulo *in vitro* do LPS, apresentam menor responsividade aos seus efeitos (Figuras 16, 17A e 17B). Possivelmente isso ocorreu, pois o aumento de mediadores inflamatórios neste modelo de hipertensão ocorre de maneira local, como no fluido intersticial renal, rins ocluídos, urina, hipotálamo (Lauar et al., 2023; Matavelli; Huang; Siragy, 2011; Ong et al., 2019), embora também possa ocorrer de forma sistêmica, como já observado no plasma (Bivol; Berge; Iversen, 2008). No entanto, o mesmo efeito não foi observado em nosso modelo com macrófagos do peritônio, provavelmente devido ao tipo celular escolhido para essa análise.

No presente estudo, vimos que os macrófagos provenientes dos ratos hipertensos (2R1C) tratados com óleo rico em CBD, quando estimulados *in vitro* com LPS, apresentaram uma redução significativa na produção do óxido nítrico (Figura 16). Esse resultado é consistente com estudos que demonstram que tratamentos com óleos de *Cannabis* ricos em CBD inibem a secreção de NO em macrófagos peritoneais ativados por LPS (Yekhtin et al., 2022; Romano et al., 2016). Além disso, diversos estudos mostram que o CBD apresenta propriedades imunorreguladoras em diferentes modelos inflamatórios, dentre eles foi visto que esse tratamento reduz a inflamação a partir da diminuição de marcadores pró-inflamatórios como os níveis de NO, citocinas e outros mediadores importantes que estão envolvidos no processo inflamatório em monócitos e macrófagos (Rajan et al., 2016; Liu et al., 2024; Hooshmand et al., 2025; Da Silva Rodrigues et al., 2024). Outros fitocanabinoides que não apresentam efeitos psicotrópicos similarmente ao CBD, como o canabicromeno (CBC) e o canabigerol (CBG), também já demonstraram habilidade em reduzir a produção de nitrito estimulada por LPS pelos macrófagos peritoneais (Lima; Berg; E Castor, 2022). Importante ressaltar que essa redução da produção de NO não tem associação com a diminuição do número de células viáveis, visto que o tratamento não apresentou efeito tóxico sobre as células no ensaio de viabilidade pelo método

de MTT anteriormente realizado. Por outro lado, em animais normotensos (SHAM) tratados com óleo rico em canabidiol *in vivo* e estimulados *in vitro* com o LPS, o óleo não apresentou efeito na redução de mediadores inflamatórios como visto no grupo hipertenso, sugerindo que o CBD exerce efeito imunomodulador em condições associadas à hipertensão. Isso pode estar relacionado ao modelo de hipertensão renovascular, uma vez que o aumento da ação da angiotensina II exerce efeitos pró-inflamatórios sobre macrófagos, promovendo um estado de ativação que pode aumentar a responsividade dessas células frente a estímulos posteriores (Wu et al., 2020; Barhoumi et al., 2023).

Além do óxido nítrico, outros mediadores são importantes para coordenar e recrutar células sanguíneas para o sítio inflamado, como as citocinas pró- e anti-inflamatórias (Gray; Farber, 2022). Essas moléculas podem agir por três principais vias: autócrina, parácrina e endócrina, atuando na mesma célula, em células vizinhas que a produziram, ou até mesmo em células distantes a partir da corrente sanguínea ou linfática (Habanjar et al., 2023; Altan-Bonnet; Mukherjee, 2019). Em condições patológicas, há um aumento significativo na produção de citocinas, o que facilita sua quantificação (Carlini et al., 2023). As principais citocinas envolvidas no processo inflamatório e que foram quantificadas neste trabalho são TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-10 por serem consideradas citocinas primárias que interferem na regulação da inflamação aguda (Wautier; Wautier, 2023). Diversos estudos pré-clínicos e clínicos já mostram o efeito do CBD em reduzir indicadores de processos inflamatórios, como os níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias (Atalay; Jarocka-Karpowicz; Skrzydlewska, 2019; Suryavanshi; Kovalchuk; Kovalchuk, 2021).

Estudos na literatura mostram que animais com hipertensão renovascular, modelo 2R1C, apresentam um aumento na produção de citocinas pró e anti-inflamatórias (como IL-1β, TNF-α, IL-6 e IL-10) no fluido intersticial renal, rins ocluídos, urina e hipotálamo (Lauar et al., 2023; Matavelli; Huang; Siragy, 2011; Ong et al., 2019) esse aumento está relacionado com disfunções importantes que ocorrem durante a fisiopatologia da hipertensão (Mikolajczyk et al., 2021). Diante disso, em nossos resultados, os macrófagos provenientes do peritônio dos ratos hipertensos (2R1C) não apresentaram aumento na produção dessas citocinas, provavelmente devido ao tipo de célula escolhido para essa análise, o que sugere que, embora a literatura descreva um aumento sistêmico dessas citocinas nesse modelo de hipertensão (Bivol; Berge; Iversen, 2008), esse perfil não é observado nesse tipo celular específico nas condições avaliadas.

A partir disso, no presente estudo, foi possível avaliar que macrófagos provenientes de ratos hipertensos (2R1C) do grupo controle (CTR), tratados *in vivo* com azeite de oliva e,

quando estimulados com LPS, apresentaram aumento significativo na produção da citocina pró-inflamatória IL-1β, evidenciando a eficácia e o funcionamento do estímulo inflamatório *in vitro*. Por outro lado, animais provenientes deste mesmo grupo, 2R1C, quando tratados *in vivo* com óleo rico em CBD e estimulados *in vitro* com LPS apresentaram uma redução significativa na produção dessa citocina (Figura 17A). Esse fato é sustentado por estudos com óleos de CBD similares aos usados no presente estudo, ou seja, com a presença, em sua composição, de outros fitocanabinoides, como CBG e THC, em macrófagos murinos RAW 264.7, estimulados com LPS, foi possível observar que o óleo inibiu a secreção da citocina pró-inflamatória IL-1β (Aswad et al., 2025). Além disso, de acordo com estudos de Yeisley; Arabiyat; Hahn (2021), o tratamento com CBD reduz significativamente os níveis secretados da IL-1β por macrófagos estimulados com LPS. Outros estudos mostram que o tratamento com CBD também diminuiu a produção dessa citocina em células da microglia estimuladas com LPS (Kozela et al., 2010; Dos-Santos-Pereira et al., 2020). A liberação da citocina IL-1β ocorre por intermédio do complexo proteico citosólico inflamassoma, o NLRP3, que em resposta a estímulos (PAMPs e DAMPs) ativa a caspase-1, resultando na conversão em sua forma ativa (pró-IL-1β em IL-1β) e, posteriormente é liberada no meio extracelular, além disso, essa citocina também tem sua produção e liberação de estimulada pela ativação do NF-κB (Potere et al., 2022; Toldo; Abbate, 2024). Desse modo, sugere-se que a redução da produção da IL-1β, vista no atual estudo, pode estar relacionada à diminuição da expressão do NLRP3, caspase-1 ou à diminuição da ativação do fator de transcrição NF-κB, como já visto na literatura (Portillo et al., 2025; Da Silva Rodrigues et al., 2024).

O TNF-α é uma citocina de sinalização importante no sistema imunológico amplamente associada à ativação de vias de sinalização envolvidas em atividades de sobrevivência, morte e proliferação celular (Antar et al., 2023; Souza et al., 2023). Nossos resultados demonstram que o sobrenadante da cultura de macrófagos peritoneais dos grupos SHAM e 2R1C, quando estimulados com LPS, apresentou um aumento na produção do TNF-α, mostrando a efetividade do estímulo inflamatório in vitro. No entanto, quando os animais hipertensos (2R1C) são previamente submetidos (in vivo) ao tratamento com óleo rico em CBD e, posteriormente, ao estímulo (in vitro) com LPS, observa-se redução significativa na produção dessa citocina (Figura 17 B). Provavelmente esse resultado também está associado a redução da via de sinalização NF-κB, visto que essa via é induzida pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF-α e seu aumento está associado a estímulos inflamatórios, como o LPS utilizado neste trabalho (Lin et al., 2024; Kim et al., 2016). Outros estudos já evidenciam que macrófagos murinos, RAW 264.7, quando pré-tratados com CBD e estimulados com LPS apresentaram

uma redução do TNF-α comparados ao grupo apenas com estímulo inflamatório (Rajan et al., 2016; Silva et al., 2019). Além disso, macrófagos peritoneais de camundongos e macrófagos THP-1 humanos, quando tratados com extrato com alto teor de CBD e posteriormente, ativados por LPS, apresentam inibição na secreção de diversos mediadores inflamatórios, inclusive o TNF-α (Yekhtin et al., 2022; Zaiachuk et al., 2023; Fouda et al., 2022).

Além do TNF-α e IL-1β, um outro estudo demonstrou redução significativa da interleucina 6 (IL-6) na presença do tratamento oral do CBD, tanto no soro quanto no fígado e rim dos ratos tratados com CBD (Trivedi et al., 2022). Além disso, estudos mostram que macrófagos peritoneais tratados com extrato com alto teor de CBD e posteriormente ativados por LPS apresentam inibição na secreção de IL-6 e TNF-α (Yekhtin et al., 2022). Na linhagem celular epitelial alveolar (A549O) estimulada com LPS o óleo de *cannabis* com alto teor de CBD apresentou melhor efeito do que o CBD puro na redução dos níveis de IL-6 *in vitro* (Anil et al., 2021). No entanto, no presente estudo, os níveis de IL-6 não foram alterados com tratamento *in vivo* com óleo rico em CBD e até mesmo após o estímulo *in vitro* do LPS em nenhum dos grupos avaliados (Figura 17C). Dessa forma, torna-se necessária a repetição desse experimento, com aumento do tamanho amostral, para confirmar os resultados observados.

A IL-10 é uma citocina primordial secretada pelos macrófagos, importante para a regulação da dinâmica inflamatória, visto que inibe a ativação e diferenciação de células imunes, a produção de diferentes citocinas pró-inflamatórias (IL-1α/β, IL-6, IL-12, IL-18 e TNF-α) e de moléculas relacionadas com a ativação de linfócitos e de células polimorfonucleares e à apresentação de antígenos (Branchett; Saraiva; O'garra, 2024; Carlini et al., 2023). Em estudos *in vitro,* macrófagos murinos RAW 264.7 ativados com LPS e tratados com CBD apresentaram um aumento no marcador anti-inflamatório IL-10 quando comparados ao grupo sem tratamento e estimulado com LPS (Rajan et al., 2016). Em contrapartida, outro estudo com o mesmo modelo, o CBD apresenta efeito dose-dependente e exerce efeitos pró-inflamatórios, visto que aumenta a produção da citocina IL-12, enquanto diminui os níveis da citocina anti-inflamatória IL-10 (Sacerdote et al., 2005). Em concordância, um estudo com macrófagos THP-1 humanos estimulados com LPS mostra que óleos derivados da *Cannabis* e ricos em CBD reduzem mais significativamente os níveis de IL-6 e IL-10, quando comparados a diferentes canabinóides puros (Zaiachuk et al., 2023). No entanto, nossos resultados demonstraram que no sobrenadante da cultura dos macrófagos provenientes de animais hipertensos ou não tratados com óleo rico em CBD não foi capaz de modular os níveis da citocina anti-inflamatória IL-10 (Figura 17D), sendo necessária a repetição desse experimento para aumentar nosso número amostral para confirmar o resultado visto.

Vale destacar que nesse estudo foi utilizado o óleo à base de CBD produzido por uma associação brasileira, APEPI, sem fins lucrativos e que oferta esse produto a população em geral à baixo custo. Além disso, foi utilizado um óleo *full spectrum*, ou seja, com presença majoritária do composto CBD, como mostrado nos anexos B e C. Dessa forma, os achados deste trabalho podem ser atribuídos sobretudo ao CBD; no entanto, há ainda a presença de outros compostos da planta no óleo, como Δ9-tetraidrocanabinol (THC) e canabigerol (CBG), os quais podem influenciar os resultados. Estudos na literatura já mostram que esses compostos canabinóides quando juntos apresentam uma interação sinérgica entre si e com outros compostos da própria planta *Cannabis*, resultando em um efeito terapêutico mais intenso a partir do conhecido "*efeito entourage*" (Nain et al., 2025).

Por fim, como a HA é o maior fator de risco para o desenvolvimento de DCV e risco de morte (WHO, 2019; Barroso et al., 2021; Bakris; Ali; Parati, 2019) e às propriedades terapêuticas anti-inflamatórias e antioxidantes do canabidiol em diferentes doenças crônicas (Martín-Moreno et al., 2011; Lu et al., 2021; Wilson; Peterson; Ellis, 2021; Maggirwar; Khalsa, 2021) destaca-se como potencial terapia complementar, visto que auxilia tanto no controle da PA como na diminuição dos danos aos órgãos-alvo (Flôr et al., 2025; Baranowska-Kuczko et al., 2021; Malinowska et al., 2019; Remiszewski et al., 2020). Com isso, este trabalho demonstrou, pela primeira vez, que o potencial efeito imunomodulador do tratamento crônico com óleo de *Cannabis sativa* rico em CBD em teste fornecido pela APEPI, administrado por gavagem intragástrica, promoveu efeitos benéficos no perfil imunomodulador de macrófagos de ratos com hipertensão renovascular (2R1C), estimulados *in vitro* com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), evidenciando seu potencial como terapia complementar neste modelo. No entanto, os mecanismos de ação sobre como ocorre o funcionamento desse óleo frente a processos inflamatórios permanecem incertos e precisam ser investigados.

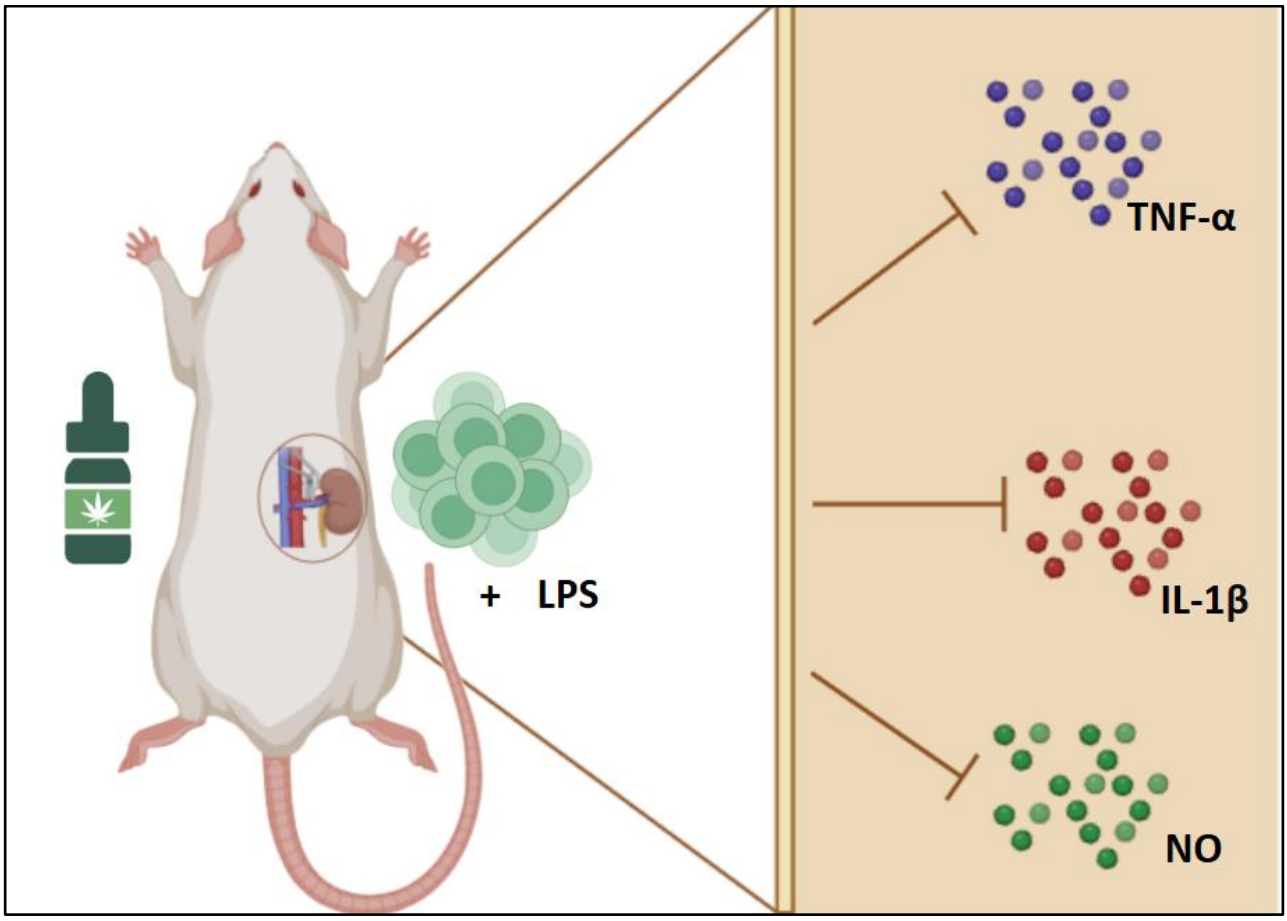


CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Em conjunto, esses dados inéditos demonstram o efeito imunomodulador do tratamento crônico por gavagem intragástrica com o óleo do extrato de *Cannabis sativa* rico em canabidiol, em modelo de hipertensão renovascular 2R1C. Neste trabalho foi possível observar que o óleo rico em CBD em macrófagos peritoneais ratos com hipertensão renovascular (2R1C), estimulados *in vitro* com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), apresentaram uma modulação negativa significativa dos níveis óxido nítrico e das citocinas pró-inflamatórias (IL-1β e TNF-α), mediadores envolvidos no processo inflamatório, sem afetar em sua viabilidade dessas células. Tendo em vista o que foi exposto, foi possível evidenciar o potencial biotecnológico do CBD em modelo de inflamação *in vitro*, a partir de macrófagos obtidos de animais previamente tratados *in vivo*. No entanto, são necessários mais estudo para compreender melhor o mecanismo de ação desse composto e sua aplicação nesse modelo de hipertensão.

Figura 18. Efeito imunomodulador do óleo rico em canabidiol da APEPI.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2026. Criado com Biorender.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADAMS, M. D. et al. A cannabinoid with cardiovascular activity but no overt behavioral effects. **Experientia**, v. 33, p. 1204-1205, 1977.

ALLEN, T. S. et al. State-of-the-art review: evidence on red meat consumption and hypertension outcomes. **American journal of hypertension**, v. 35, n. 8, p. 679-687, 2022.

ALTAN-BONNET, G.; MUKHERJEE, R. Cytokine-mediated communication: a quantitative appraisal of immune complexity. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 4, p. 205-217, 2019.

ANDRABI, S. M. et al. Nitric oxide: physiological functions, delivery, and biomedical applications. **Advanced Science**, v. 10, n. 30, p. 2303259, 2023.

ANIL, S. M. et al. Cannabis compounds exhibit anti-inflammatory activity in vitro in COVID-19-related inflammation in lung epithelial cells and pro-inflammatory activity in macrophages. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1462, 2021.

ANTAR, S. A. et al. A comprehensive overview of organ inflammatory responses: genesis, possible mechanisms, and mediators of inflammation. **Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 4, p. 397-416, 2023.

ASWAD, M. et al. High CBD extract (CBD-X) modulates inflammation and immune cell activity in rheumatoid arthritis. **Frontiers in Immunology**, v. 16, p. 1599109, 2025.

ATALAY, S.; JAROCKA-KARPOWICZ, I.; SKRZYDLEWSKA, E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 21, 2019.

AZADPOUR, M. et al. Effects of synthetic silymarin-PLGA nanoparticles on M2 polarization and inflammatory cytokines in LPS-treated murine peritoneal macrophages. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 24, n. 10, p. 1446, 2021.

BAEK, H. et al. Development of Anti-Inflammatory Agents Utilizing DC-SIGN Mediated IL-10 Secretion in Autoimmune and Immune-Mediated Disorders: Bridging Veterinary and Human Health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 5, p. 2329, 2025.

BAKRIS, G.; ALI, W.; PARATI, G. ACC/AHA versus ESC/ESH on hypertension guidelines: JACC guideline comparison. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 73, n. 23, p. 3018-3026, 2019.

BARANOWSKA-KUCZKO, M. et al. Beneficial changes in rat vascular endocannabinoid system in primary hypertension and under treatment with chronic inhibition of fatty acid amide hydrolase by URB597. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4833, 2021.

BARHOUMI, T. et al. Angiotensin II modulates THP-1-like macrophage phenotype and inflammatory signatures via angiotensin II type 1 receptor. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 10, p. 1129704, 2023.

BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial–2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, p. 516-658, 2021.

BEALE, C. et al. Prolonged cannabidiol treatment effects on hippocampal subfield volumes in current cannabis users. **Cannabis Cannabinoid Res**, v. 3, p. 94-107, 2018.

BERRAONDO, P. et al. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. **British journal of cancer**, v. 120, n. 1, p. 6-15, 2019.

BIVOL, L. M.; BERGE, R. K.; IVERSEN, B. M. Tetradecylthioacetic acid prevents the inflammatory response in two-kidney, one-clip hypertension. **American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 294, n. 2, p. R438-R447, 2008.

BOSHTAM, M. et al. Aptamers against pro- and anti-inflammatory cytokines: a review. **Inflammation**, v. 40, n. 1, p. 340–349, 2017.

BRAGA, V. A. et al. Angiotensin-II-induced reactive oxygen species along the SFO-PVN-RVLM pathway: implications in neurogenic hypertension. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 871-876, 2011.

BRANCA, J. J. V. et al. Cannabidiol protects dopaminergic neuronal cells from cadmium. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 22, p. 4420, 2019.

BRANCHETT, W. J.; SARAIVA, M.; O'GARRA, A. Regulation of inflammation by Interleukin-10 in the intestinal and respiratory mucosa. **Current Opinion in Immunology**, v. 91, p. 102495, 2024.

Brandão, Andréa Araujo et al. Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial – 2025. **Arq. Bras. Cardiol**., v. 122, n. 9, e20250624, out. 2025.

CAMPAGNARO, B. P. et al. Cardiac-autonomic imbalance and baroreflex dysfunction in the renovascular Angiotensin-dependent hypertensive mouse. **International Journal of Hypertension**, v. 2012, 2012.

CAMPOS, A.C. et al. Cannabidiol, neuroprotection and neuropsychiatric disorders. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 119-127, 2016.

CARLINI, V. et al. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. **Frontiers in immunology**, v. 14, p. 1161067, 2023.

CARSWELL, EA[illegible] et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 72, n. 9, p. 3666-3670, 1975.

CARVALHO, D. et al. Marinobufagenin inhibits neutrophil migration and proinflammatory cytokines. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, 2019.

CARVALHO-GALVÃO, A. et al. Central inhibition of tumor necrosis factor alpha reduces hypertension by attenuating oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla in renovascular hypertensive rats. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 491, 2019.

CASELLA, A. C. et al. Superoxide, nitric oxide and peroxynitrite production by macrophages under different physiological oxygen tensions. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 212, p. 330-335, 2024.

CAVALCANTI, C. O. et al. Inhibition of PDE5 restores depressed baroreflex sensitivity in renovascular hypertensive rats. **Frontiers in physiology**, v. 7, p. 15, 2016.

CHARLES, L.; TRISCOTT, J.; DOBBS, B. Secondary hypertension: discovering the underlying cause. **American family physician**, v. 96, n. 7, p. 453-461, 2017.

CHARYTONIUK, T. et al. The endocannabinoid system and physical activity—a robust duo in the novel therapeutic approach against metabolic disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 6, p. 3083, 2022.

CHEN, J. et al. Protective effect of cannabidiol on hydrogen peroxide-induced apoptosis, inflammation and oxidative stress in nucleus pulposus cells. **Molecular medicine reports**, v. 14, n. 3, p. 2321-2327, 2016.

CHEN, S. et al. Macrophages in immunoregulation and therapeutics. **Signal transduction and targeted therapy,** v. 8, n. 1, p. 207, 2023.

DAMMANN, I. et al. Effects of combined cannabidiol (CBD) and hops (Humulus lupulus) terpene extract treatment on RAW 264.7 macrophage viability and inflammatory markers. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 13, n. 1, p. 19, 2023.

DA SILVA RODRIGUES, F. et al. Cannabidiol prevents LPS-induced inflammation by inhibiting the NLRP3 inflammasome and iNOS activity in BV2 microglia cells via CB2 receptors and PPARγ. **Neurochemistry international**, v. 177, p. 105769, 2024.

DE CIUCEIS, C. et al. Reduced vascular remodeling, endothelial dysfunction, and oxidative stress in resistance arteries of angiotensin II–infused macrophage colony-stimulating factor–deficient mice: evidence for a role in inflammation in angiotensin-induced vascular injury. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 25, n. 10, p. 2106-2113, 2005.

DEL MORAL-MARTINEZ, M. et al. iNOS-Produced Nitric Oxide from Cancer Cells as an Intermediate of Stemness Regulation by PARP-1 in Colorectal Cancer. **Biomolecules**, v. 15, n. 1, p. 125, 2025.

DE SALES-NETO, J. M.; RODRIGUES-MASCARENHAS, S. Immunosuppressive effects of the mycotoxin patulin in macrophages. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 4, p. 166, 2024.

DING, T. et al. Comprehensive review of macrophage models: primary cells and immortalized lines across species. **Frontiers in Immunology**, v. 16, p. 1640935, 2025.

DRAPIER, J.C.; WIETZERBIN, J.; HIBBS JR, J. B. Interferon-γ and tumor necrosis factor induce the L-arginine-dependent cytotoxic effector mechanism in murine macrophages. **European Journal of Immunology**, v. 18, n. 10, p. 1587-1592, 1988.

DOS-SANTOS-PEREIRA, M. et al. Cannabidiol prevents LPS-induced microglial inflammation by inhibiting ROS/NF-κB-dependent signaling and glucose consumption. **Glia**, v. 68, n. 3, p. 561-573, 2020.

DURST, R. et al. Cannabidiol, a nonpsychoactive Cannabis constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, 2007.

DZIEMITKO, S.; HARASIM-SYMBOR, E.; CHABOWSKI, A. How do phytocannabinoids affect cardiovascular health? An update on the most common cardiovascular diseases. **Therapeutic Advances in Chronic Disease**, v. 14, p. 20406223221143239, 2023.

EVREN, E. et al. Distinct developmental pathways from blood monocytes generate human lung macrophage diversity. **Immunity**, v. 54, n. 2, p. 259-275. e7, 2021.

FERENTINOS, P. et al. Interleukin-1 Beta in peripheral blood mononuclear cell lysates as a longitudinal biomarker of response to antidepressants: a pilot study. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, p. 801738, 2021.

FERREIRA, D. A. et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of the new cardiotonic steroid γ-benzylidene digoxin 8 (BD-8) in mice. **Cells**, v. 13, n. 18, p. 1568, 2024.

FLÔR, A. F. L. et al. Chronic cannabidiol treatment induces cardiovascular improvement in renovascular hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 43, n. 1, p. 98-108, 2025.

FOUDA, M. A. et al. Anti-inflammatory effects of cannabidiol against lipopolysaccharides in cardiac sodium channels. **British journal of pharmacology**, v. 179, n. 24, p. 5259-5272, 2022.

FREITAS, H. Medical Cannabis-A Historical Perspective. **Preprints**. 2022.

GALVÃO, J. G. F. M. et al. Ouabain modulates airway remodeling caused by Th2-high asthma in mice. **International Immunopharmacology**, v. 109, p. 108808, 2022.

GALOZZI, P. et al. The revisited role of interleukin-1 alpha and beta in autoimmune and inflammatory disorders and in comorbidities. **Autoimmunity reviews**, v. 20, n. 4, p. 102785, 2021.

GAONI, Y.; MECHOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American chemical society**, v. 86, n. 8, p. 1646-1647, 1964.

GAROVIC, V. D.; KANE, G. C.; SCHWARTZ, G. L. Renovascular hypertension: balancing the controversies in diagnosis and treatment. **Cleveland Clinic journal of medicine**, v. 72, n. 12, p. 1135, 2005.

GARZA-CERVANTES, J. A. et al. Therapeutic applications of cannabinoids in cardiomyopathy and heart failure. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2020, n. 1, p. 4587024, 2020.

GERMOLEC, D. R. et al. Markers of inflammation. **Immunotoxicity testing: Methods and protocols**, p. 57-79, 2018.

GIORGI, V. et al. Cannabis and autoimmunity: possible mechanisms of action. **ImmunoTargets and therapy**, p. 261-271, 2021.

GOLDBLATT, H. et al. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. **The Journal of experimental medicine**, v. 59, n. 3, p. 347-379, 1934.

GRAY, J. I.; FARBER, D. L. Tissue-resident immune cells in humans. **Annual review of immunology**, v. 40, p. 195-220, 2022.

GREEN, L. C. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, n. 1, p. 131-138, 1982.

GUASCH-FERRÉ, M. et al. Meta-analysis of randomized controlled trials of red meat consumption in comparison with various comparison diets on cardiovascular risk factors. **Circulation**, v. 139, n. 15, p. 1828-1845, 2019.

GUZIK, T. J. et al. Immune and inflammatory mechanisms in hypertension. **Nature Reviews Cardiology**, v. 21, n. 6, p. 396-416, 2024.

HABANJAR, O. et al. Crosstalk of inflammatory cytokines within the breast tumor microenvironment. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, p. 4002, 2023.

HAYAKAWA, K. et al. Repeated treatment with cannabidiol but not Δ9-tetrahydrocannabinol has a neuroprotective effect without the development of tolerance. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 4, p. 1079-1087, 2007.

HERRMANN, S. M.; TEXTOR, S. C. Current concepts in the treatment of renovascular hypertension. **American journal of hypertension**, v. 31, n. 2, p. 139-149, 2018.

HOOSHMAND, S. A. A. et al. The effects of cannabidiol on nitric oxide synthases: a narrative review on therapeutic implications for inflammation and oxidative stress in health and disease. **Journal of Cannabis Research**, v. 7, n. 1, p. 71, 2025.

HORI, H.; KIM, Y. Inflammation and post-traumatic stress disorder. **Psychiatry and clinical neurosciences**, v. 73, n. 4, p. 143-153, 2019.

HRABÁK, A. et al. Decreasing effects of protein kinase inhibitors on the expression of NOS2 and inflammatory cytokines and on phagocytosis in rat peritoneal macrophages is partly related to repolarization. **Molecular Immunology**, v. 153, p. 10-24, 2023.

HSU, M. et al. Therapeutic use of cannabis and cannabinoids: a review. **JAMA**, 2025.

HU, K. et al. Macrophage polarization and the regulation of bone immunity in bone homeostasis. **Journal of Inflammation Research**, p. 3563-3580, 2023.

HUME, D. A.; IRVINE, K. M.; PRIDANS, C. The mononuclear phagocyte system: the relationship between monocytes and macrophages. **Trends in immunology**, v. 40, n. 2, p. 98-112, 2019.

JUKNAT, A. et al. Anti-inflammatory effects of the cannabidiol derivative dimethylheptyl-cannabidiol–studies in BV-2 microglia and encephalitogenic T cells. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 27, n. 3, p. 289-296, 2016.

KANY, S.; VOLLRATH, J. T.; RELJA, B. Cytokines in inflammatory disease. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 23, p. 6008, 2019.

KEIVAN, F.; FROUSHANI, S. M. A. Naringenin modifies T-helper responses and macrophage activities in BALB/c mice. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 14, n. 3, p. 402, 2024.

KIM, B. W. et al. A novel synthetic compound MCAP suppresses LPS-induced murine microglial activation in vitro via inhibiting NF-kB and p38 MAPK pathways. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 37, n. 3, p. 334-343, 2016.

KOZELA, E. et al. Cannabinoids Δ9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol differentially inhibit the lipopolysaccharide-activated NF-κB and interferon-β/STAT proinflammatory pathways in BV-2 microglial cells. **Journal of biological chemistry**, v. 285, n. 3, p. 1616-1626, 2010.

KRZYŻEWSKA, A. et al. Cannabidiol improves antioxidant capacity and reduces inflammation in the lungs of rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. **Molecules**, v. 27, n. 10, p. 3327, 2022.

KUMAR, S.; DIKSHIT, M. Nitric oxide: Regulation and function in neutrophil immune responses. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 40, n. 16-18, p. 998-1024, 2024.

KUNIMATSU, N.; TSUKAMOTO, H.; OGOH, S. Exaggerated Blood Pressure Response to Exercise Is a Risk of Future Hypertension Even in Healthy, Normotensive Young Individuals—Potential Preventive Strategies for This Phenomenon?. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 19, p. 5975, 2024.

KUSAYAMA, T. et al. Renal autonomic dynamics in hypertension: how can we evaluate sympathetic activity for renal denervation?. **Hypertension Research**, v. 47, n. 10, p. 2685-2692, 2024.

LAUAR, M. R. et al. Renal and hypothalamic inflammation in renovascular hypertension: role of afferent renal nerves. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 325, n. 4, p. R411-R422, 2023.

LEE, P. H.; AN, M. H.; JANG, A. S. Angiogenesis Factors as Emerging Circulating Biomarkers in Asthma. **Allergy, Asthma & Immunology Research**, v. 17, n. 1, p. 22, 2025.

LEE, W. S. et al. Cannabidiol limits T cell-mediated chronic autoimmune myocarditis: implications to autoimmune disorders and organ transplantation. **Molecular Medicine**, v. 22, n. 1, p. 136-146, 2016.

LEITE, J. A. et al. The α2 Na+/K+-ATPase isoform mediates LPS-induced neuroinflammation. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 14180, 2020.

LIMA, P. A.; BERG, B. B.; E CASTOR, M. G. M. Involvement of the cannabinoid system in chronic inflammatory intestinal diseases: opportunities for new therapies. **Intestinal research**, v. 20, n. 4, p. 392-417, 2022.

LIN, K. et al. Hydrogen sulfide can scavenge free radicals to improve spinal cord Injury by inhibiting the p38MAPK/mTOR/NF-κB signaling pathway. **Neuromolecular Medicine**, v. 26, n. 1, p. 26, 2024.

LIND, M. et al. Inducible nitric oxide synthase: Good or bad?. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 93, p. 370-375, 2017.

LI, S.; LIU, Y.; LIU, C. Systematic analysis of global ischemic heart disease and hypertensive heart disease burden, 1990–2021: projections to 2050. **BMC Public Health**, 2025.

LITWIN, M.; KUŁAGA, Z. Obesity, metabolic syndrome, and primary hypertension. **Pediatric Nephrology,** v. 36, n. 4, p. 825-837, 2021.

LIU, C. et al. Cytokines: from clinical significance to quantification. **Advanced Science**, v. 8, n. 15, p. 2004433, 2021.

LUCAS, C. J.; GALETTIS, P.; SCHNEIDER, J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. **British journal of clinical pharmacology**, v. 84, n. 11, p. 2477-2482, 2018.

LUCERA, G. M. et al. ANG II and aldosterone acting centrally participate in the enhanced sodium intake in water-deprived renovascular hypertensive rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 679985, 2021.

LI, D.; WU, M. Pattern recognition receptors in health and diseases. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 6, n. 1, p. 291, 2021.

LI, Z.; HE, Xi C.; LI, L. Hematopoietic stem cells: self-renewal and expansion. **Current opinion in hematology,** v. 26, n. 4, p. 258-265, 2019.

LU, X. et al. Cannabidiol attenuates pulmonary arterial hypertension by improving vascular smooth muscle cells mitochondrial function. **Theranostics**, v. 11, n. 11, p. 5267, 2021.

MABOU TAGNE, A. et al. A novel standardized Cannabis sativa L. extract and its constituent cannabidiol inhibit human polymorphonuclear leukocyte functions. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 8, p. 1833, 2019.

MAGGIRWAR, S. B.; KHALSA, J. H. The link between cannabis use, immune system, and viral infections. **Viruses**, v. 13, n. 6, p. 1099, 2021.

MA, J. et al. Signaling pathways in vascular function and hypertension: molecular mechanisms and therapeutic interventions. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 8, n. 1, p. 168, 2023.

MALINOWSKA, B. et al. Cannabinoids in arterial, pulmonary and portal hypertension–mechanisms of action and potential therapeutic significance. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 10, p. 1395-1411, 2019.

MA, M.; JIANG, W.; ZHOU, R. DAMPs and DAMP-sensing receptors in inflammation and diseases. **Immunity**, v. 57, n. 4, p. 752-771, 2024.

MARTINEZ-MALDONADO, M. Pathophysiology of renovascular hypertension. **Hypertension**, v. 17, n. 5, p. 707-719, 1991.

MARTÍN-MORENO, A. M. et al. Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation in vitro and in vivo: relevance to Alzheimer's disease. **Molecular pharmacology**, v. 79, n. 6, p. 964-973, 2011.

MATAVELLI, L. C.; HUANG, J.; SIRAGY, H. M. Angiotensin AT2 receptor stimulation inhibits early renal inflammation in renovascular hypertension. **Hypertension**, v. 57, n. 2, p. 308-313, 2011.

MATEI, D. et al. The endocannabinoid system and physical exercise. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 3, p. 1989, 2023.

MCGRATH, K. E.; FRAME, J. M.; PALIS, J. Early hematopoiesis and macrophage development. **In: Seminars in immunology. Academic Press**, 2015. p. 379-387.

MD, HUGHSON. Associations of glomerular number and birth weight with clinicopathological features of African Americans and whites. **Am J Kidney Dis**, v. 52, p. 18-28, 2008.

MECHOULAM, R. A delightful trip along the pathway of cannabinoid and endocannabinoid chemistry and pharmacology. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 63, n. 1, p. 1-13, 2023.

MECHOULAM, R. et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochemical pharmacology**, v. 50, n. 1, p. 83-90, 1995.

MECHOULAM, R.; HANUŠ, L. Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: chemical aspects. **Chemistry and physics of lipids**, v. 121, n. 1-2, p. 35-43, 2002.

MECHOULAM, R.; SHVO, Y. Hashish—I: the structure of cannabidiol. **Tetrahedron**, v. 19, n. 12, p. 2073-2078, 1963.

MEDZHITOV, R. The spectrum of inflammatory responses. **Science**, v. 374, n. 6571, p. 1070-1075, 2021.

MELO, M. R. et al. Importance of the commissural nucleus of the solitary tract in renovascular hypertension. **Hypertension Research**, v. 42, n. 5, p. 587-597, 2019.

MELO, M. R. et al. Renovascular hypertension elevates pulmonary ventilation in rats by carotid body-dependent mechanisms. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 318, n. 4, p. R730-R742, 2020.

MENDES-JUNIOR, L. G. et al. Oral supplementation with the rutin improves cardiovagal baroreflex sensitivity and vascular reactivity in hypertensive rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 11, p. 1099-1106, 2013.

MIKOLAJCZYK, T. P. et al. Role of inflammatory chemokines in hypertension. **Pharmacology & therapeutics**, v. 223, p. 107799, 2021.

MOLLAEI, M. et al. The intrinsic and extrinsic elements regulating inflammation. **Life Sciences**, v. 260, p. 118258, 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

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

NAHAS, G. G. et al. Tolerance to Delta–9–Tetrahydrocannabinol in the Spontaneously Hypertensive Rat. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 142, n. 1, p. 58-60, 1973.

NAIN, S. et al. The impact of cannabis use on ageing and longevity: a systematic review of research insights. **Journal of cannabis research**, v. 7, n. 1, p. 52, 2025.

NAMDAR, D. et al. Terpenoids and phytocannabinoids co-produced in Cannabis sativa strains show specific interaction for cell cytotoxic activity. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 3031, 2019.

NEURATH, M. F. Strategies for targeting cytokines in inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 24, n. 8, p. 559-576, 2024.

NGUYEN, B. A.; ALEXANDER, M. R.; HARRISON, D. G. Immune mechanisms in the pathophysiology of hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, v. 20, n. 8, p. 530-540, 2024.

OLIVEIRA-SALES, E. B. et al. Oxidative stress in the sympathetic premotor neurons contributes to sympathetic activation in renovascular hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 22, n. 5, p. 484-492, 2009.

ONG, J. et al. Renal sensory nerves increase sympathetic nerve activity and blood pressure in 2-kidney 1-clip hypertensive mice. **Journal of neurophysiology**, v. 122, n. 1, p. 358-367, 2019.

PADMANABHAN, S.; CAULFIELD, M.; DOMINICZAK, A. F. Genetic and molecular aspects of hypertension. **Circulation research**, v. 116, n. 6, p. 937-959, 2015.

PALMIERI, E. M. et al. Nitric oxide orchestrates metabolic rewiring in M1 macrophages by targeting aconitase 2 and pyruvate dehydrogenase. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 698, 2020.

PAPPACCOGLI, M. et al. Endovascular versus medical management of atherosclerotic renovascular disease: update and emerging concepts. **Hypertension**, v. 80, n. 6, p. 1150-1161, 2023.

PELLAT, C.; HENRY, Y.; DRAPIER, J. C. IFN-γ-activated macrophages: detection by electron paramagnetic resonance of complexes between L-arginine-derived nitric oxide and non-heme iron proteins. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 166, n. 1, p. 119-125, 1990.

PENG, J. et al. A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 130, n. 4, p. 439-456, 2022.

PETRESKI, T. et al. Review on inflammation markers in chronic kidney disease. **Biomedicines**, v. 9, n. 2, p. 182, 2021.

PIDWILL, G. R. et al. The role of macrophages in Staphylococcus aureus infection. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 620339, 2021.

PORTILLO, R. et al. Cannabidiol reduces LPS-induced inflammatory response in the human placenta by reducing NF-κB translocation. **Journal of Cannabis Research**, 2025.

POTERE, N. et al. Interleukin-1 and the NLRP3 inflammasome in COVID-19: Pathogenetic and therapeutic implications. **EBioMedicine**, v. 85, 2022.

RAJAN, T. S. et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of a combination of cannabidiol and moringin in LPS-stimulated macrophages. **Fitoterapia**, v. 112, p. 104-115, 2016.

RAŠKOVÁ, M. et al. The role of IL-6 in cancer cell invasiveness and metastasis—overview and therapeutic opportunities. **Cells**, v. 11, n. 22, p. 3698, 2022.

RATHOD, S. S. et al. Neuroinflammation in the central nervous system: exploring the evolving influence of endocannabinoid system. **Biomedicines**, v. 11, n. 10, p. 2642, 2023.

REGLERO-REAL, N. et al. Autophagy modulates endothelial junctions to restrain neutrophil diapedesis during inflammation. **Immunity**, v. 54, n. 9, p. 1989-2004. e9, 2021.

REMISZEWSKI, P.; MALINOWSKA, B. Why multitarget vasodilatory (endo) cannabinoids are not effective as antihypertensive compounds after chronic administration: Comparison of their effects on systemic and pulmonary hypertension. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 9, p. 1119, 2022.

REMISZEWSKI, P. et al. Chronic cannabidiol administration fails to diminish blood pressure in rats with primary and secondary hypertension despite its effects on cardiac and plasma endocannabinoid system, oxidative stress and lipid metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1295, 2020.

RIMOLDI, S. F.; SCHERRER, U.; MESSERLI, F. H. Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen?. **European heart journal**, v. 35, n. 19, p. 1245-1254, 2014.

ROMANO, B. et al. Pure Δ9-tetrahydrocannabivarin and a Cannabis sativa extract with high content in Δ9-tetrahydrocannabivarin inhibit nitrite production in murine peritoneal macrophages. **Pharmacological research**, v. 113, p. 199-208, 2016.

RONCARI, C. F. et al. Enhanced angiotensin II induced sodium appetite in renovascular hypertensive rats. **Peptides**, v. 101, p. 82-88, 2018.

ROSSI, G. P. et al. Practice recommendations for diagnosis and treatment of the most common forms of secondary hypertension. **High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention**, v. 27, n. 6, p. 547-560, 2020.

SACERDOTE, P. et al. The nonpsychoactive component of marijuana cannabidiol modulates chemotaxis and IL-10 and IL-12 production of murine macrophages both in vivo and in vitro. **Journal of neuroimmunology**, v. 159, n. 1-2, p. 97-105, 2005.

SADOWSKA, O. et al. Cannabidiol ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7077, 2020.

SAEED, A. F. et al. Regulation of cGAS-mediated immune responses and immunotherapy. **Advanced Science**, v. 7, n. 6, p. 1902599, 2020.

SALEMKOUR, Y.; LENOIR, O. Endothelial autophagy dysregulation in diabetes. **Cells**, v. 12, n. 6, p. 947, 2023.

SARATHY, H. et al. Evaluation and management of secondary hypertension. **Medical Clinics of North America**, v. 106, n. 2, p. 269-283, 2022.

SCHAFFENBURG, C. A. Device to control constriction of main renal artery for production of hypertension in small animals. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 101, n. 4, p. 676-677, 1959.

SEGIET, A. et al. Tumour necrosis factor and interleukin 10 in blood pressure regulation in spontaneously hypertensive and normotensive rats. **Cytokine**, v. 113, p. 185-194, 2019.

SHEU, K. M.; HOFFMANN, A. Functional hallmarks of healthy macrophage responses: their regulatory basis and disease relevance. **Annual review of immunology**, v. 40, p. 295-321, 2022.

SHU, Y.; JIN, S. Caveolin-1 in endothelial cells: A potential therapeutic target for atherosclerosis. **Heliyon**, v. 9, n. 8, 2023.

SILVA, R. L. et al. DMH-CBD, a cannabidiol analog with reduced cytotoxicity, inhibits TNF production by targeting NF-kB activity dependent on A2A receptor. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 368, p. 63-71, 2019.

SILVA, R. T. G. Effects of treatment with cannabis extract rich in cannabidiol on cardiometabolic responses of rats with renovascular hypertension. **Master's dissertation, Multicenter Postgraduate Program in Physiological Sciences**, PPGMCF/CBIOTEC/UFPB (2025).

SOHROFOROUZANI, A. M. et al. Treadmill exercise improves LPS-induced memory impairments via endocannabinoid receptors and cyclooxygenase enzymes. **Behavioural brain research**, v. 380, p. 112440, 2020.

SOMASUNDARAM, V. et al. Inducible nitric oxide synthase-derived extracellular nitric oxide flux regulates proinflammatory responses at the single cell level. **Redox Biology**, v. 28, p. 101354, 2020.

SOUZA, R. F. et al. Study of tumor necrosis factor receptor in the inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 29, n. 18, p. 2733, 2023.

STASIŁOWICZ, A. et al. Cannabis sativa L. as a natural drug meeting the criteria of a multitarget approach to treatment. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 2, p. 778, 2021.

SUDANO, I.; SUTER, P.; BEUSCHLEIN, F. Secondary hypertension as a cause of treatment resistance. **Blood Pressure**, v. 32, n. 1, p. 2224898, 2023.

SUKDEE, T. et al. Cannabidiol perturbs macrophage polarization by interfering with the metabolic flux and PI3K/Akt pathway. **Scientific Reports**, 2025.

SURYAVANSHI, S. V.; KOVALCHUK, I.; KOVALCHUK, O. Cannabinoids as key regulators of inflammasome signaling: a current perspective. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 613613, 2021.

TAGLIAPIETRA, F. M. et al. Increased reactive oxygen species in the spinal cord drive renal sympathetic vasomotor activity in Goldblatt hypertensive rats. **Neuroscience Letters**, p. 138408, 2025.

TANASE, D. M. et al. Arterial hypertension and interleukins: potential therapeutic target or future diagnostic marker?. **International journal of hypertension**, v. 2019, n. 1, p. 3159283, 2019.

TENOPOULOU, M.; DOULIAS, P. T. Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. **F1000Research**, v. 9, p. F1000 Faculty Rev-1190, 2020.

THONGSEPEE, N. et al. Daily consumption of monosodium glutamate pronounced hypertension and altered renal excretory function in normotensive and hypertensive rats. **Heliyon**, v. 8, n. 10, 2022.

TRIVEDI, M. K. et al. Anti-inflammatory potential of cannabidiol (CBD) on combination of caecal slurry, LPS, and E. coli-induced systemic inflammatory response syndrome (SIRS) in Sprague Dawley Rats. **Inflammopharmacology**, v. 30, n. 1, p. 225-232, 2022.

TOGLIATTO, G.; LOMBARDO, G.; BRIZZI, M. F. The future challenge of reactive oxygen species (ROS) in hypertension: from bench to bed side. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 9, p. 1988, 2017.

TOLDO, S.; ABBATE, A. The role of the NLRP3 inflammasome and pyroptosis in cardiovascular diseases. **Nature Reviews Cardiology**, v. 21, n. 4, p. 219-237, 2024.

UCIECHOWSKI, P.; DEMPKE, W. Interleukin-6: a masterplayer in the cytokine network. **Oncology**, v. 98, n. 3, p. 131-137, 2020.

VILHENA, J. C. et al. Açaí reverses adverse cardiovascular remodeling in renovascular hypertension: A comparative effect with Enalapril. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 77, n. 5, p. 673-684, 2021.

WANG, Z.; WANG, Z. The role of macrophages polarization in sepsis-induced acute lung injury. **Frontiers in immunology**, v. 14, p. 1209438, 2023.

WANG, Z. et al. Moderate intake of lean red meat was associated with lower risk of elevated blood pressure in Chinese women: results from the China Health and Nutrition Survey, 1991–2015. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1369, 2020.

WALSH, S. K. et al. Acute administration of cannabidiol in vivo suppresses ischaemia-induced cardiac arrhythmias and reduces infarct size when given at reperfusion. **British journal of pharmacology**, v. 160, n. 5, p. 1234-1242, 2010.

WAUTIER, J. L.; WAUTIER, M. P. Pro-and anti-inflammatory prostaglandins and cytokines in humans: a mini review. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 11, p. 9647, 2023.

WEN, Y.; CROWLEY, S. D. Renal effects of cytokines in hypertension. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 27, n. 2, p. 70-76, 2018.

WILLIAMS, R. B. et al. Δ9-Tetrahydrocannabinol: A hypotensive effect in rats. **Psychopharmacologia**, v. 28, n. 3, p. 269-274, 1973.

WILSON, N. L.; PETERSON, S. N.; ELLIS, R. J. Cannabis and the gut–brain axis communication in HIV infection. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 6, n. 2, p. 92-104, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Organization annual report 2019 **WHO**. (2019).

WU, L. et al. Angiotensin II induces RAW264. 7 macrophage polarization to the M1-type through the connexin 43/NF-κB pathway. **Molecular Medicine Reports**, v. 21, n. 5, p. 2103-2112, 2020.
XU, A. et al. Dynamic Regulation of Macrophage Polarization in Acute Myocardial Infarction and Its Therapeutic Potential. **Journal of Inflammation Research,** p. 17363-17385, 2025.

YEISLEY, D. J.; ARABIYAT, A. S.; HAHN, M. S. Cannabidiol-driven alterations to inflammatory protein landscape of lipopolysaccharide-activated macrophages in vitro may be mediated by autophagy and oxidative stress. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 6, n. 3, p. 253-263, 2021.

YEKHTIN, Z. et al. Differential effects of D9 tetrahydrocannabinol (THC)-and cannabidiol (CBD)-based cannabinoid treatments on macrophage immune function in vitro and on gastrointestinal inflammation in a murine model. **Biomedicines**, v. 10, n. 8, p. 1793, 2022.

ZAIACHUK, M. et al. The anti-inflammatory effects of Cannabis sativa extracts on LPS-induced cytokines release in human macrophages. **Molecules**, v. 28, n. 13, p. 4991, 2023.

ZHANG, Y. et al. Cannabidiol protects against Alzheimer's disease in C. elegans via ROS scavenging activity of its phenolic hydroxyl groups. **European journal of pharmacology**, v. 919, p. 174829, 2022.

ZHANG, Z. et al. Role of inflammation, immunity, and oxidative stress in hypertension: New insights and potential therapeutic targets. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 1098725, 2023.

ZHOU, Y. et al. The diverse function of IL-6 in biological processes and the advancement of cancer. **Immune Network**, v. 25, n. 3, p. e22, 2025.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Artigo publicado na revista Cells (Fator de impacto: 5.2)

cells

MDPI

Article

Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of the New Cardiotonic Steroid γ-Benzylidene Digoxin 8 (BD-8) in Mice

Davi Azevedo Ferreira [1], Anna Beatriz Araujo Medeiros [1], Mariana Mendonça Soares [1], Éssia de Almeida Lima [1], Gabriela Carolina Santos Lima de Oliveira [1], Mateus Bernardo da Silva Leite [1], Matheus Vieira Machado [2], José Augusto Ferreira Perez Villar [2], Leandro Augusto Barbosa [2], Cristoforo Scavone [3], Marcelo Tigre Moura [4] and Sandra Rodrigues-Mascarenhas [1,*]

[1] Laboratory of Immunobiotechnology, Biotechnology Center, Federal University of Paraiba, João Pessoa 58.051-900, PB, Brazil; daviazevedoferreira@ltf.ufpb.br (D.A.F.); annabbeatrizz@gmail.com (A.B.A.M.); marimsoaress@gmail.com (M.M.S.); essia_almeida@hotmail.com (É.d.A.L.); gabrielacarolina10@gmail.com (G.C.S.L.d.O.); mateusvidamb@gmail.com (M.B.d.S.L.)

[2] Laboratory of Cellular Biochemistry, Campus Centro-Oeste Dona Lindú, Federal University of São João del-Rei, Divinópolis 35.501-296, MG, Brazil; matheusmg15@gmail.com (M.V.M.); zevillar@ufsj.edu.br (J.A.F.P.V.); lbarbosa.ufsj@gmail.com (L.A.B.)

[3] Laboratory of Neuropharmacology Research, Department of Pharmacology, Institute of Biomedical Sciences ICB-1, University of São Paulo, São Paulo 05.508-900, SP, Brazil; cristoforo.scavone@gmail.com

[4] Laboratory of Cellular Reprogramming, Biotechnology Center, Federal University of Paraiba, João Pessoa 58.051-900, PB, Brazil; marcelotmoura@gmail.com

* Correspondence: sandra@cbiotec.ufpb.br

Abstract: Cardiotonic steroids are known to bind to Na+/K+-ATPase and regulate several biological processes, including the immune response. The synthetic cardiotonic steroid γ-Benzylidene Digoxin 8 (BD-8) is emerging as a promising immunomodulatory molecule, although it has remained largely unexplored. Therefore, we tested the immunomodulatory potential of BD-8 both in vitro and in vivo. Hence, primary mouse macrophages were incubated with combinations of BD-8 and the pro-inflammatory fungal protein zymosan (ZYM). Nitric oxide (NO) production was determined by Griess reagent and cytokines production was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay. Inducible nitric oxide synthase (iNOS), reactive oxygen species (ROS), p-nuclear factor kappa B p65 (NF-κB p65), p-extracellular signal-regulated kinase (p-ERK), and p-p38 were evaluated by flow cytometry. Macrophages exposed to BD-8 displayed reduced phagocytic activity, NO levels, and production of the proinflammatory cytokine IL-1β induced by ZYM. Furthermore, BD-8 diminished the expression of iNOS and phosphorylation of NF-κB p65, ERK, and p38. Additionally, BD-8 exhibited anti-inflammatory capacity in vivo in a carrageenan-induced mouse paw edema model. Taken together, these findings demonstrate the anti-inflammatory activity of BD-8 and further reinforce the potential of cardiotonic steroids and their derivatives as immunomodulatory molecules.

Keywords: macrophages; phagocytosis; IL-1β; NF-κB; ERK; p38; inflammation

check for updates

Citation: Ferreira, D.A.; Medeiros, A.B.A.; Soares, M.M.; Lima, É.d.A.; Oliveira, G.C.S.L.d.; Leite, M.B.d.S.; Machado, M.V.; Villar, J.A.F.P.; Barbosa, L.A.; Scavone, C.; et al. Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of the New Cardiotonic Steroid γ-Benzylidene Digoxin 8 (BD-8) in Mice. *Cells* **2024**, *13*, 1568. https://doi.org/10.3390/cells13181568

Academic Editor: Guo-Chang Fan

Received: 31 July 2024
Revised: 10 September 2024
Accepted: 16 September 2024
Published: 18 September 2024

APÊNDICE B – Artigo publicado na revista Immunological Investigations (Fator de impacto: 2.4)

IMMUNOLOGICAL INVESTIGATIONS
https://doi.org/10.1080/08820139.2025.2449949

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

RESEARCH ARTICLE

Check for updates

Immunomodulatory Effects of Pterocarpanquinone LQB-118 in Murine Peritoneal Macrophages

Éssia de Almeida Lima[a], Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva[a,b], Deyse Cristina Madruga Carvalho[a], Mariana Mendonça Soares[a], Anna Beatriz Araujo Medeiros[a], Chaquip Daher Netto[c], Paulo Roberto Ribeiro Costa[d], and Sandra Rodrigues-Mascarenhas[a]

[a]Biotechnology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil; [b]Medical Sciences and Nursing Complex, Federal University of Alagoas, Arapiraca, Brazil; [c]Laboratory of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; [d]Laboratory of Bioorganic Chemistry, Natural Products Research Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

ABSTRACT

Background: Phagocytosis is an important function of macrophages. However, when it's dysregulated, it could compromise homeostasis. Thus, this study aimed to assess the inhibitory activity of pterocarpanquinone LQB 118 on murine macrophage phagocytosis.

Methods: We used peritoneal macrophages isolated from mice to evaluate the impact of LQB 118 (5 μM) on the modulation of phagocytic activity and possible action mechanism related: IL-12 (by ELISA), NO (by Griess reaction),ROS production (by flow cytometry), and intracellular signaling proteins (iNOS, P-Akt, P-mTOR, NF-κB, and P-NF-κB) (by flow cytometry).The macrophages were stimulated with zymosan to assess both phagocytic activity and flow cytometry assays.

Results: Treatment with LQB 118 resulted in a reduction in the phagocytosis of zymosan particles by macrophages. This effect could potentially be attributed to LQB's inhibition of IL-12 production and mTOR/NF-κB signaling. Furthermore, LQB 118 decreased the levels of ROS and NO without interfering with iNOS and Akt activation.

Conclusion: These findings show the anti-phagocytic activity of LQB 118 on macrophage, highlighting the potential of this compound as a candidate for modulating macrophage-driven inflammation.

KEYWORDS
Anti-inflammatory; cytokines; inflammation; phagocytes

APÊNDICE C – Artigo publicado na revista International Immunopharmacology (Fator de impacto: 4.7)

International Immunopharmacology 127 (2024) 111368

Contents lists available at ScienceDirect

International Immunopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/intimp

Zika virus: Antiviral immune response, inflammation, and cardiotonic steroids as antiviral agents

José Marreiro de Sales-Neto, Deyse Cristina Madruga Carvalho, Daniel Wilson Arruda Magalhães, Anna Beatriz Araujo Medeiros, Mariana Mendonça Soares, Sandra Rodrigues-Mascarenhas *

Laboratory of Immunobiotechnology, Biotechnology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Cytokines
Immune response
Arbovirus
ZIKV
Ouabain

ABSTRACT

Zika virus (ZIKV) is a mosquito-borne virus first reported from humans in Nigeria in 1954. The first outbreak occurred in Micronesia followed by an outbreak in French Polynesia and another in Brazil when the virus was associated with numerous cases of severe neurological manifestations such as Guillain-Barre syndrome in adults and congenital zika syndrome in fetuses, particularly congenital microcephaly. Innate immunity is the first line of defense against ZIKV through triggering an antiviral immune response. Along with innate immune responses, a sufficient balance between anti- and pro-inflammatory cytokines and the amount of these cytokines are triggered to enhance the antiviral responses. Here, we reviewed the complex interplay between the mediators and signal pathways that coordinate antiviral immune response and inflammation as a key to understanding the development of the underlying diseases triggered by ZIKV. In addition, we summarize current and new therapeutic strategies for ZIKV infection, highlighting cardiotonic steroids as antiviral drugs for the development of this agent.

1. Introduction

Zika virus (ZIKV) is a mosquito-borne virus (arbovirus) belonging to the genus *Flavivirus* and the *Flaviviridae* family. This virus is a positive-sense single-stranded ribonucleic acid (RNA) with a genome size of approximately 11 kilobases [1,2]. The genome is composed of a single open reading frame that encodes a single polyprotein cleaved to yield 10 proteins. The 3 structural proteins (capsid [C], precursor membrane [prM]/membrane [M], and envelope [E]) form the viral particle and the 7 nonstructural (NS) proteins (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, and NS5) are involved with viral replication and assemble as well as evasion of immune defense mechanisms [3].

The first isolation of ZIKV was described in 1947 at the Zika forest in Uganda from a rhesus monkey [4] with the first human isolation reported in Nigeria in 1954 [5]. Just sporadic infection cases were reported until the first outbreak in 2007 occurred in Micronesia [6] followed by an outbreak in French Polynesia in 2013 when the virus was spread throughout the Pacific [7]. However, the largest ZIKV outbreak occurred in 2015 in Brazil when the World Health Organization declared the virus to be a global public health emergency due the rapidly virus spread in Americas and the numerous cases of microcephaly associated with this infection [8]. More than 80 countries have recorded ZIKV cases and the virus continues to spread around the world especially to tropical and subtropical areas where the mosquito vector is present [2,9].

The primary human mode of ZIKV transmission is through competent mosquito vectors such as *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* [10]. However, the virus can also be transmitted sexually, through blood transfusion, organ transplantation, and by vertical transmission (materno-fetal) [1,11]. Approximately 80 % of ZIKV infections are asymptomatic and 20 % of the patients demonstrate an exanthematous disease characterized by fever, rash, arthralgia, and conjunctivitis [12,13]. The most concern complication about ZIKV infection is related to severe neurological manifestations such as Guillain-Barre syndrome (GBS) in adults and congenital zika syndrome (CZS) in fetuses [14,15]. The CZS clinical manifestations include microcephaly, subcortical calcifications, ocular alterations, congenital contractures, early hypertonia, and pyramidal as well as extrapyramidal symptoms [15]. To date, no specific vaccine or drugs are available to treat ZIKV infection; however, some vaccines are undergoing clinical trials [16]. In this review, we summarize the role of inflammation and the antiviral response against

* Corresponding author at: Laboratory of Immunobiotechnology, Biotechnology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB CEP: 58051-900, Brazil.
E-mail address: sandra@cbiotec.ufpb.br (S. Rodrigues-Mascarenhas).

https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.111368
Received 10 October 2023; Received in revised form 27 November 2023; Accepted 10 December 2023
1567-5769/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

APÊNDICE D – Artigo publicado na revista Journal of Clinical Medicine (Fator de impacto: 3.3)

Journal of Clinical Medicine

MDPI

Review

Cardiotonic Steroids as a Potential Novel Approach for Immunomodulation in Inflammatory Bowel Disease

Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva [1], José Marreiro de Sales-Neto [2], Mariana Mendonça Soares [2], Davi Azevedo Ferreira [2], Anna Beatriz Araujo Medeiros [2] and Sandra Rodrigues-Mascarenhas [2,*]

[1] Medical Sciences and Nursing Complex, Federal University of Alagoas, Arapiraca 57309-005, Brazil; luiz.agra@arapiraca.ufal.br
[2] Biotechnology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa 58051-900, Brazil; engenheiro.sales@gmail.com (J.M.d.S.-N.); marimsoaress@gmail.com (M.M.S.); daviazevedoferreira@ltf.ufpb.br (D.A.F.); annabbeatrizz@gmail.com (A.B.A.M.)
* Correspondence: sandra@cbiotec.ufpb.br

Abstract: Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic condition that significantly impairs the quality of life of millions of individuals. The pathogenesis of IBD is closely linked to dysbiosis of microbiota and the activation of various inflammatory pathways, which are characterized by elevated levels of activated immune cells, such as neutrophils and lymphocytes. While several therapeutic options, including corticosteroids and biologic agents, are available for the treatment of IBD, their efficacy remains limited. Consequently, the development of novel therapies is essential. In this context, cardiotonic steroids, a class of drugs traditionally known for their effects on the cardiovascular system, have gained attention due to their potential immunomodulatory properties. Thus, this review aims to explore the emerging therapeutic potential of cardiotonic steroids in the treatment of IBD.

Keywords: ouabain; digoxin; anti-inflammatory; neutrophils; T cells

check for updates

Academic Editors: Dan Lucian Dumitrascu and Simona Grad

Received: 5 May 2025
Revised: 7 June 2025
Accepted: 9 June 2025
Published: 11 June 2025

Citation: Cavalcante-Silva, L.H.A.; Sales-Neto, J.M.d.; Soares, M.M.; Ferreira, D.A.; Medeiros, A.B.A.; Rodrigues-Mascarenhas, S. Cardiotonic Steroids as a Potential Novel Approach for Immunomodulation in Inflammatory Bowel Disease. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 4132. https://doi.org/10.3390/jcm14124132

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Inflammatory bowel disease (IBD) is divided into Crohn's disease and ulcerative colitis—two distinct, variable, and disabling conditions characterized by chronic inflammation, recurrent flare-ups, and a wide range of debilitating symptoms. IBD can be defined as a non-infectious, chronic, and immune-mediated inflammatory disorder that predominantly targets the digestive tract [1,2]. This condition significantly impairs patients' quality of life due to the corresponding immune dysregulation and sustained inflammatory dysfunction [3]. Several risk factors may contribute to the development of IBD, although none are definitive predictors [4,5].

Although symptoms of IBD most commonly manifest in individuals during their thirties and forties, the condition is also increasingly diagnosed in older adults [4,5]. The incidence of IBD varies substantially across geographic regions and age groups. According to Caron et al. [6], annual incidence rates range from 23.7 to 39.8 per 100,000 in Oceania, 10.5 to 46.1 per 100,000 individuals in Europe, 7.3 to 30.2 per 100,000 in North America, 1.4 to 1.5 per 100,000 in Asia and the Middle East, and 0.2 to 3.7 per 100,000 in South America. Projections estimate that by 2030, the prevalence of IBD could reach several million individuals in certain countries, including over 3.5 million in the United States, more than 700,000 in the United Kingdom, approximately 815,200 in Germany, and 283,930 in Australia [7].

ANEXOS

ANEXO A - Certificado de aprovação do projeto emitido pela comissão de ética no uso de animais (CEUA)

Universidade Federal da Paraíba

CEUA

Universidade Federal da Paraíba

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM EXTRATO DE CANABIDIOL EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR ", protocolada sob o CEUA nº 2931020424 (ID 002403), sob a responsabilidade de **Sandra Rodrigues Mascarenhas** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 12/05/2025.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF CHRONIC TREATMENT WITH CANNABIDIOL EXTRACT IN RATS WITH RENOVASCULAR HYPERTENSION", utilizing 48 Heterogenics rats (48 males), protocol number CEUA 2931020424 (ID 002403), under the responsibility of **Sandra Rodrigues Mascarenhas** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 05/12/2025.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 05/2024 a 02/2026 Área: Biotecnologia

Origem:	Unidade de Produção Animal IPeFarM			
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Machos	idade: 8 a 10 semanas	Quantidade: 48
Linhagem:	Rattus Norvegicus - Wistar		Peso: 180 a 300 g	

João Pessoa, 16 de junho de 2025

Profa. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares Moreira
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Profa. Dra. Gláucia Veríssimo Faheina Martins
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

ANEXO B – Folheto informativo

Doctor
Canabidiol

FOLHETO INFORMATIVO

(*) Apepi

Favor proceder à leitura antes do uso do óleo.

PRODUTO À BASE DE CANNABIS

DOCTOR – Canabidiol (CBD) - 33,33 mg/mL

Solução oral em gotas.

Cada 1 mL ≅ 33,33 mg ≅ 30 gotas

Embalagem contendo 1 frasco de 30 mL

VIA DE ADMINISTRAÇÃO: SUBLINGUAL

COMPOSIÇÃO

Cada 1 mL do óleo contém:

Extrato de Cannabis sativa.....59,66 mg*

Excipientes: Azeite de oliva extravirgem.....q.s.p. 1 mL

*Extrato padronizado em 33,33 mg/mL de CBD e menos de 0,2% de THC

Sabor natural.



INFORMAÇÃO AO PACIENTE

Este óleo deve ser usado somente conforme orientação médica.

ANEXO C – Certificado de análise

APEPI

Certificado de Análise



DOCTOR	
LOTE	ODRS109
DATA DE FABRICAÇÃO	08/07/2025
DATA DE APROVAÇÃO	08/08/2025

CANABINÓIDES	METAIS PESADOS	MICOTOXINAS	SOLVENTES RESIDUAIS	CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS
APROVADO	APROVADO	APROVADO	APROVADO	APROVADO

INFORMAÇÕES DO LOTE

PRODUÇÃO DO ÓLEO	08/07/2025	DENSIDADE	0,950g/mL	VISCOSIDADE	64,61mPa.s	TEOR DE UMIDADE	0,37%

CANABINOIDES

Análise	Resultado (mg/mL)	Total de Canabinoides (%)
CBD	32,20	92,16
CBG	1,43	4,09
Delta-9 THC	1,31	3,75
CBC	n/r	-
CBGA	n/r	-
THC-A	n/r	-
CBDA	n/r	-
CBN	n/r	-
Delta-8 THC	n/r	-
CBDV	n/r	-

RESUMO DE CANABINOIDES					
Total CBD		Total THC		Total CBG	
3,39%	32,20mg/mL	0,13%	1,31mg/mL	0,14%	1,43mg/mL
Limite de Variação de CBD/mL		Limite Permitido de THC/mL		Limite Permitido de CBG/mL	
15%	28,3~38,3mg/mL	0,3%	3mg/mL	1%	10mg/mL

JOÃO GABRIEL G. SILVA
CRF-RJ: Nº 28.943
Coordenador de Laboratório APEPI
RESPONSÁVEL TÉCNICO
João Gabriel Gouvêa da Silva - CRF/RJ: 28.943

Os óleos da APEPI são analisados pela laboratório CIATox-UNICAMP, referência nacional em análises toxicológicas, e pelo laboratório DallPhytolab, laboratório habilitado pela ANVISA na Rede Brasileira de Laboratório Analíticos em Saúde – REBLAS (REBLAS 101) e certificado de acreditação junto à CGCRE/INMETRO - CRL 0820, de acordo com a norma ISO/IEC 17025. Os óleos da APEPI aceitam uma variabilidade máxima de ±15% no teor dos ativos, seguindo os padrões estabelecidos para fitoterápicos pela Instrução Normativa nº4 de 13 de Maio de 2018 e os óleos da associação só são liberados após passar em todos os critérios de controle de qualidade estabelecidos pelo farmacêutico responsável.

FOR-144v02

DALL PhytoLab

RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº 2644.25
1 de **2**

CLIENTE: Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de Cannabis Medicinal (APEPI)

ORÇAMENTO/PROTOCOLO: 2203.25

ENDEREÇO: Rua Visconde Caravelas, n° 20, Botafogo, Rio de Janeiro /RJ

AMOSTRA: Óleo de Doctor Seedsman

LOTE: ODRS109

DATA DE FABRICAÇÃO: 08/07/2025

DATA DE VALIDADE: 08/01/2026

AMOSTRAGEM: Realizada pelo cliente

DATA DE RECEBIMENTO: 16/07/2025

REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS: 02/08/2025

EMISSÃO DOS RESULTADOS: 06/08/2025

RESULTADOS

Ensaio	Especificação do Cliente[1]	Resultado	LQ	Método
Determinação do Teor de Canabinoides por HPLC [1]	CBD: 33,33 mg/mL	CBD: 32,20 mg/mL THC: 1,31 mg/mL CBG: 1,43 mg/mL	N.A.	HPLC (POP.401)
Aflatoxina B1[2]	Não Informado	< LQ	0,06 µg/Kg	HPLC-FLD (POP.394)
Aflatoxina B2[2]	Não Informado	< LQ	0,02 µg/Kg	
Aflatoxina G1[2]	Não Informado	< LQ	0,14 µg/Kg	
Aflatoxina G2[2]	Não Informado	< LQ	0,06 µg/Kg	
Aflatoxina total[2]	Não Informado	Não calculável	N.A.	

LQ – Limite de Quantificação / LD – Limite de Detecção / N.A. – Não Aplicável

1. Referência: 7ªEd. Farmacopeia Brasileira
2. Não Informada

FOR-145v02

DALL PhytoLab

RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº 2677.25
1 de **1**

CLIENTE: Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de Cannabis Medicinal (APEPI)

ORÇAMENTO/PROTOCOLO: 2205.25

ENDEREÇO: Rua do Ouvidor, nº 63, sala 601, Centro, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

AMOSTRA: Óleo de Doctor Seedsman

LOTE: ODRS109

DATA DE FABRICAÇÃO: 08/07/2025

DATA DE VALIDADE: 08/01/2026

AMOSTRAGEM: Realizada pelo Cliente

DATA DE RECEBIMENTO: 16/07/2025

REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS: 31/07/2025

EMISSÃO DOS RESULTADOS: 07/08/2025

RESULTADOS

Ensaio*	Especificação do Cliente[1]	Resultado	Método
Contagem de Bactérias Aeróbias totais	≤ 10^5 UFC/mL	< 10 UFC/g	Farm. Bras. VII
Contagem de Bolores e Leveduras	≤ 10^3 UFC/mL	< 10 UFC/g	Farm. Bras. VII
Contagem de Bactérias Gram Negativas Bile Tolerantes	≤ 10^3 UFC/mL	NMP < 10/g	Farm. Bras. VII
Pesquisa de *E. coli*	Ausente em g	Ausência/g	Farm. Bras. VII
Pesquisa de *Salmonella sp.*	Ausente em 10g	Ausência/10 g	Farm. Bras. VII

*Ensaio realizado em laboratório subcontratado

1. Referência: Farmacopeia Brasileira 7ªEd.

GUSTAVO BERTOL:04128423947

Assinado de forma digital por GUSTAVO BERTOL:04128423947
Dados: 2025.08.08 08:25:50 -03'00'

Gustavo Bertol
Gerente Técnico

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