

**RAFAELA TREVIZANO ALVES**

**CANNABIS, AGONISMO E EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE CANNABINÓIDES  
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Reggiani Vilela Gonçalves

Coorientadora: Mariáurea Matias Sarandy

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A474c  
2023  
Alves, Rafaela Trevizano, 2023-  
*Cannabis*, agonismo e expressão de receptores de  
canabinóides na cicatrização de feridas: uma revisão sistemática  
/ Rafaela Trevizano Alves. – Viçosa, MG, 2023.  
1 dissertação eletrônica (43 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Reggiani Vilela Gonçalves.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Geral, 2023.

Referências bibliográficas: f. 30-34.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.623>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Cannabis sativa*. 2. Canabinoides. 3. Cicatrização de  
ferimentos. 4. Pele - Feridas e lesões. 5. Agonistas de receptores  
de canabinoides. 6. Roedores como animal de laboratório.  
I. Gonçalves, Reggiani Vilela, 1979-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural. III. Título.

CDD 22. ed. 615.7827

**RAFAELA TREVIZANO ALVES**

**CANNABIS, AGONISMO E EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE CANNABINÓIDES  
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 12 de julho de 2023.

Assentimento:



Documento assinado digitalmente

**RAFAELA TREVIZANO ALVES**

Data: 16/10/2023 12:25:09-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Rafaela Trevizano Alves  
Autora



Documento assinado digitalmente

**REGGIANI VILELA GONCALVES**

Data: 16/10/2023 15:35:06-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Reggiani Vilela Gonçalves  
Orientadora

## AGRADECIMENTOS

Agradecer é um ato de extremo amor, onde podemos demonstrar a quem amamos a força e a importância do apoio que nos foi dado durante a necessidade, coberto de gratidão, amor e bondade.

Agradeço a Deus, a Jesus e a Maria Santíssima por estarem sempre ao meu lado, mesmo quando tudo parecia perdido. Por me amparar nas horas de necessidade e ajudar a manter-me firme na caminhada por mais difícil que ela fosse.

Agradeço a minha orientadora Reggiani e minha coorientadora Mariáurea pelo suporte e auxílio quando necessário, por entender meus problemas extra-acadêmicos e me tratarem com tanto carinho e respeito.

Agradeço principalmente aos meus pais, Rose Trevizano e Telbin Alves, por todo apoio e amparo. Por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis e por aguentar minhas reclamações e desesperos.

Agradeço a minha família e amigos por toda companhia nessa jornada.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural pela oportunidade. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. À Elizabeth Alves Pena, secretária da Biologia Celular, por toda disponibilidade e auxílio sempre. Ao professor José Eduardo Serrão pelo apoio e disponibilidade. Aos professores da banca avaliadora, pela disponibilidade e pelas considerações que contribuirão para a melhoria deste trabalho. Por fim, agradeço a mim por ter tido forças para continuar mesmo quando a vontade de desistir era grande. Por ter lutado batalhas internas incessantes para concluir essa etapa da minha vida. Aos meus médicos que me assistiram nesse período que fizeram de tudo para que fosse o mais suave possível. E todos que contribuíram, de forma direta ou indiretamente meus sinceros agradecimentos.

*“Acima de Deus, nada. Abaixo de Deus, as águas.”*

## RESUMO

ALVES, Rafaela Trevizano, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Cannabis, agonismo e expressão de receptores de canabinóides na cicatrização de feridas: Uma revisão sistemática.** Orientadora: Reggiani Vilela Gonçalves. Coorientadora: Mariáurea Matias Sarandy.

Atualmente, muitas descobertas importantes sobre os compostos extraídos da planta *Cannabis sativa* têm contribuído para entender as propriedades terapêuticas desses compostos. As principais descobertas nos últimos anos sobre os compostos canabinóides foram os receptores canabinóides CB1 e CB2, os canabinóides endógenos e os possíveis mecanismos de ação envolvidos na interação entre os compostos canabinóides e os receptores biológicos. Esse estudo teve como objetivo a análise de como os receptores canabinóides exercem efeito sobre a cicatrização de feridas. Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com as diretrizes PRISMA, usando uma pesquisa estruturada nas plataformas PubMed-Medline, Scopus e Web of Science. Os estudos incluídos foram aqueles que usaram modelos murinos e estudos *in vitro*, para investigar o efeito do agonismo dos receptores canabinóides na cicatrização da pele. Análise de viés e avaliações de qualidade metodológica foram examinados por meio da ferramenta RoB da SYRCLE. Nosso estudo constatou que os agonistas apresentaram aumento da reepitelização e da proliferação celular, com aumento da expressão de queratinas, presença de fibroblastos na borda da ferida, associados a fibroblastos na área inferior da derme. Além disso, observou-se migração de fibroblastos para o leito da ferida e formação de uma matriz extra-celular (MEC) de tecido de granulação. Observou-se também o aumento das células tronco da camada basal da epiderme, folículo pilosos, derme papilar e leito da ferida. Essa revisão indica que o agonismo dos receptores canabinóides apresentam bom potencial para acelerar a cicatrização de feridas de pele. Esperamos que essa análise possa ser útil na pesquisa clínica e reduzir o viés metodológico, melhorando assim a qualidade da evidência em pesquisas futuras. O número de registro no Prospero plataforma é CRD22206118.

Palavras-chave: Canabinóides. Cannabis. Cicatrização da pele. Feridas. Murinos. Agonista.

## ABSTRACT

ALVES, Rafaela Trevizano, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2023. **Cannabis, agonism and expression of cannabinoid receptors in wound healing: A systematic review.** Adviser: Reggiani Vilela Gonçalves. Co-adviser: Mariáurea Matias Sarandy.

Currently, many important discoveries about compounds extracted from the Cannabis sativa plant have contributed to understanding the therapeutic properties of these compounds. The main discoveries in recent years about cannabinoid compounds were the cannabinoid receptors CB1 and CB2, endogenous cannabinoids and the possible mechanisms of action involved in the interaction between cannabinoid compounds and biological receptors. This study aimed to analyze how cannabinoid receptors exert an effect on wound healing. This systematic review was performed according to PRISMA guidelines, using a structured search on PubMed-Medline, Scopus and Web of Science platforms. Included studies were those that used murine models and in vitro studies to investigate the effect of cannabinoid receptor agonism on skin healing. Bias analysis and methodological quality assessments were examined using SYRCLE's RoB tool. Our study found that the agonists showed increased re-epithelialization and cell proliferation, with increased expression of keratins, presence of fibroblasts at the edge of the wound, associated with fibroblasts in the lower area of the dermis. Furthermore, migration of fibroblasts to the wound bed and formation of an extracellular matrix (ECM) of granulation tissue were observed. There was also an increase in stem cells in the basal layer of the epidermis, hair follicles, papillary dermis and wound bed. This review indicates that cannabinoid receptor agonism has good potential to accelerate healing of skin wounds. We hope that this analysis can be useful in clinical research and reduce methodological bias, thus improving the quality of evidence in future research. The registration number on the Prospero platform is CRD22206118.

Keywords: Cannabinoids. Cannabis. Skin healing. Wounds. Murines. Agonist.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 MÉTODOS .....	11
2.1 Pergunta PICO.....	12
2.2 Estratégia de busca.....	12
2.3 Critérios de inclusão e exclusão.....	13
2.4 Extração de dados .....	13
2.5 Avaliação do risco de viés nos estudos incluídos .....	15
3 RESULTADOS .....	15
3.1 Características das publicações .....	15
3.2 Características dos estudos <i>in vitro</i> .....	16
3.2.1 Características da Cultura de Células.....	16
3.2.2 Característica da intervenção .....	16
3.3 Principais resultados .....	17
3.4 Característica dos estudos <i>in vivo</i> .....	18
3.4.1 Intervenção .....	18
3.4.2 Características dos Animais Experimentais .....	18
3.4.3 Características das feridas.....	19
3.5 Resultados principais.....	19
3.6 Risco de viés .....	21
4 DISCUSSÃO .....	23
4.1 Características gerais .....	23
4.2 Características dos estudos <i>in vivo</i> .....	24
4.3 Características dos estudos <i>in vitro</i> .....	25
4.4 Agonismo, antagonismo e expressão de receptores .....	26
4.5 Presença de receptores na ferida .....	27
4.6 Benefícios e limitações.....	28
5 CONCLUSÃO .....	29
REFERÊNCIAS .....	30
ANEXOS .....	35

## **CANNABIS, AGONISMO E EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE CANNABINÓIDES NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Rafaela Trevizano Alves<sup>1</sup>, Laura Espósito<sup>2</sup>, Mariáurea Matias Sarandy<sup>3</sup>, Reggiani Vilela  
Gonçalves<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Cellular and Structural Biology, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas  
Gerais, Brazil

<sup>2</sup>Department of Agronomy Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Cellular and Structural Biology, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas  
Gerais, Brazil

<sup>4</sup>Department of Animal Biology, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil

\*Correspondence author: reggysvilela@yahoo.com.br

### **1 INTRODUÇÃO**

O reparo cutâneo é um processo complexo e organizado que envolve uma sequência de fases que se sobrepõe. Nele estão envolvidos vários tipos celulares e substâncias químicas, formando um esquema coordenado que objetiva o fechamento do tecido lesado e a isenção de infecções (Fronza et al., 2014; Amorim et al., 2017). As feridas cutâneas são um considerável problema no sistema de saúde, que envolve fatores econômicos, médicos e sociais, sendo considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um problema de saúde pública (Tang et al., 2014; Fronza et al., 2014). Além de acarretar custos bilionários ao sistema de saúde, com aquisição de material para cuidado e prevenção, gera ocupação de leitos e complicações (Lindley et al. 2016). Os pacientes que desenvolvem feridas cutâneas são acometidos de dor, perda da função da área afetada, aumento da chance de infecções, além de complicações e são mais passíveis de ocorrer em indivíduos diabéticos, que possuem 70% de chance de morrer após amputações derivadas das feridas (Hingorani et al, 2016; Schaper et al, 2016).

Os tratamentos disponíveis atualmente não são de eficácia satisfatória, pois os caminhos através do qual o processo de reparo da pele pode ser acelerado ainda não estão claros e os meios disponíveis na terapêutica não realizam um fechamento completo ou necessitam de

associações com medicamentos, principalmente para dor e antibióticos, fármacos de comprovada toxicidade se usado de forma contínua (Abushaheen et al., 2020; Caldwell, 2020).

O reparo cutâneo envolve substâncias químicas, células que realizarão funções nas diversas fases do reparo, e processos complexos de sinalização (Oryan et al, 2016; Jabbari, 2017). Esse processo pode ser descrito em quatro fases que se complementam e se sobrepõem, sendo: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação tecidual (Lindley et al, 2016; Gauglitz et al, 2011).

Imediatamente após a lesão com exposição do colágeno adjacente ao epitélio ocorre o início da primeira fase: a hemostasia, os processos celulares e vasculares para evitar a perda de sangue. Ocorre contração vascular, a formação de um coágulo de fibrina e plaquetas são ativadas e liberam citocinas como TGF- $\beta$  e PDGF que estimulam a formação de um tampão plaquetário (Everts et al, 2006; Guo & DiPietro, 2010; Tang et al., 2014).

Durante essa fase são acionados mecanismos celulares de sinalização, como a degranulação das plaquetas e liberação de moléculas pró-inflamatórias que compõe o início da segunda fase: a inflamação. Durante essa fase são recrutados leucócitos, via substância de ação quimiotáticas, citocinas pró-inflamatorias e interleucinas (Modarresi et al., 2019, Wang et al., 2018; Canchy et al., 2023). Os mecanismos de defesa e de sinalização são então ativados, envolvendo síntese de citocinas, quimiocinas e outros mediadores para estímulo da quimiotaxia das células responsáveis pela próxima etapa (Modarresi et al., 2019; Canchy et al., 2023; Guo & DiPietro, 2010).

Ainda sob o estímulo de citocinas pró-inflamatórias a etapa de proliferação ocorre com aumento do número de fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais (Talbot et al., 2022; Mascharak et al., 2022). Ocorre produção de proteoglicanos, glicosaminoglicanos e colágeno do tipo III, que irão compor a matriz e as células endoteliais formarão novos capilares para aporte de oxigênio e nutrientes a um tecido em intenso metabolismo e necessidade energética, processo de neoangiogênese (Gonçalves et al., 2014; Wynn, 2004; Everts et al, 2006). A formação de um tecido de rica vascularização e celularidade envolve vasta sinalização, incluindo o TNF- $\alpha$ . É formado o chamado tecido de granulação. Esse tecido exibe liberação de substância antiinflamatória para que a sinalização inflamatória e não gere danos ao processo (Foster et al., 2021; Griffin et al., 2020; Mascharak et al., 2020; Reish, Eriksson, 2008).

A última fase do processo de reparo cutâneo, a remodelação, é marcada por mudança na matriz cicatricial, onde ocorre substituição do colágeno tipo III por colágeno tipo I, com fibras

mais rígidas. Leucócitos e fibroblastos recrutados deixam o tecido, epitélio prolifera e fecha a ferida (Sharma et al., 2022; Liu et al., 2022; Li et al., 2022).

Como os processos de cicatrização de feridas cutâneas não tem alcançado o objetivo esperado com os tratamentos citados anteriormente, pesquisas têm sido feitas com foco no âmbito da fitoterapia. Moléculas derivadas e isoladas de extratos de plantas, têm proporcionado resultados eficientes e de menor custo. Um dos exemplos é o uso de derivados e análogos das plantas do gênero *Cannabis*.

O sistema endocanabinoide é uma descoberta recente no âmbito de sistemas bioquímicos, que derivou do estudo da planta do gênero *Cannabis* (Pacher, et al, 2006).

As propriedades narcóticas, psicotrópicas e terapêuticas dos derivados da *cannabis* são conhecidas há séculos, datando até mesmo de 3.000 a.C, onde seus efeitos analgésicos e anticonvulsivantes eram utilizados amplamente, principalmente na Índia (UNODC, 2021; Hanuš, 2016). Devido a fatores sociais e econômicos, como o conflito entre a indústria do algodão e da indústria da *cannabis* para uso têxtil, bem como a associação preconceituosa do uso desta erva por negros e latinos, seu uso foi proibido em quase todos os países em 1832 (Grayson, 2015). E planta esta foi inserida como uma droga controlada na Convenção Única das Nações Unidas sobre Entorpecentes, realizada em 1961 (Russo et al, 2008; Pisanti S, Bifulco M, 2019). Hoje é uma das drogas recreativas mais utilizadas, cerca de 178 milhões de pessoas com idades entre 15 e 64 anos consumiram *cannabis*, pelo menos uma vez em 2021 (UNODC, 2021).

A *cannabis* possui uma infinidade de substâncias ativas, conhecendo-se até hoje cerca de 400 moléculas de possível atividade terapêutica, sendo assim, sua caracterização demorou a ser realizada. O primeiro estudo envolvendo estas moléculas deu origem a descoberta de seu primeiro composto ativo, o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ou THC, que ocorreu apenas em 1964. Através dessa primeira molécula, o principal composto psicotrópico da planta, pode-se então nortear novas pesquisas (Ministério das Relações Exteriores, 1959; Bonini et al, 2018).

Por rastreabilidade, foi descoberta uma gama de processos envolvendo: receptores, substâncias endógenas que possuíam características canabinóides capazes de ligar-se a esses receptores (agonistas), que eram produzidas pelo próprio organismo, os chamados endocanabinóides, juntamente todo um aparato molecular e bioquímico que formavam um sistema complexo ainda não bem elucidado. Acreditava-se que o mecanismo de ação dos canabinóides eram exercidos por alterações na membrana plasmática da célula, mas seu mecanismo foi desvendado quando se criou análogos do THC que permitiram identificar

possíveis locais de ação dos canabinóides a nível cerebral, o primeiro local de ação a ser estudado. Assim, em 1988, foi identificado um receptor que era ativado pelo THC e seus análogos, o receptor canabinóide tipo I ou CB1. Mais tarde foi descoberto perifericamente o receptor canabinóide tipo II, ou CB2 (Linda M Console-Bram et al, 2017; Marc-Antoine Crocq, 2020; Burstein, 2015).

O SEC está envolvido em inúmeras funções biológicas, como percepção da dor, proteção neurológica, resposta imune, processos cognitivos, antinociceptivos e até de reversão de danos neuronais. Por suas ações positivas no Sistema Nervoso Central, os receptores foram descritos inicialmente neste sistema. Posteriormente observou-se a distribuição dos receptores em outros tecidos, como fígado, endotélio, músculo e tecido adiposo. Nestes tecidos a predominância é de receptores CB1 (Zou SL, Kumar U, 2018; Jarvis S, Rassmussen S, Winters B, 2017). O receptor CB2 foi descrito em tecidos periféricos, como envolvidos na resposta imune e na inflamação.

Recentemente, os receptores também demonstraram ser expressos em pele saudável e doente, em células como queratinócitos, fibroblastos e mastócitos, sugerindo que a alteração do sistema canabinóide pode ser importante para o desenvolvimento de inúmeras doenças cutâneas, bem como seu tratamento (Gertsch J, Pertwee RG, Di Marzo V, 2010).

Observou-se que assim como no tecido ósseo, muscular e nervoso, o SEC está envolvido regulando o crescimento, diferenciação e sobrevivência celular, além de regular fenômenos imunológicos e sensoriais (Hindley G, et al, 2020; Marc-Antoine Crocq, 2020). O uso de moléculas análogas ou até mesmo as próprias moléculas isoladas podem ser usadas para rastrear como o sistema endocanabinoide se comporta na pele na situação de saúde e doença, permitindo verificar onde as alterações ocorrem e quais as vantagens do seu possível uso de forma tópica na cicatrização de feridas cutâneas.

## **2 MÉTODOS**

A revisão sistemática aderiu à diretriz padronizada PRISMA (Itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análise), incluindo estratégia de busca, critérios de seleção, extração de dados e análise de viés. O número de registro na plataforma Prospero é CRD22206118.

## 2.1 Pergunta PICO

A principal questão a ser respondida nesta revisão sistemática foi: O agonismo dos receptores endocanabinóides por agonistas, miméticos aos componentes da planta *Cannabis sativa* L., tem efeito na cicatrização de feridas cutâneas *in vivo* e *in vitro*? Quais são as principais vias utilizadas para avaliar a evolução do processo de cicatrização de feridas nesses modelos?

## 2.2 Estratégia de busca

Esta revisão sistemática seguiu as diretrizes Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Fig. 1). Os estudos foram selecionados por meio de busca avançada nas plataformas PubMed, Scopus e Web of Science, no dia 29 de Outubro de 2022 às 16h46. Com base em dois parâmetros de busca, desenvolvemos uma estratégia de busca abrangente para a recuperação de todos os estudos relevantes: (i) buscas diretas em bancos de dados eletrônicos e (ii) triagem indireta de listas de referência de todos os estudos identificados nas buscas diretas. Para todas as bases de dados, os filtros de busca foram baseados em três níveis complementares: (i) cannabis, (ii) cicatrização de feridas e (iii) animais. Os filtros de busca foram inicialmente desenvolvidos para PubMed, os algoritmos de busca [MeSH Terms] e [TIAB] foram aplicados, para identificar registros indexados e aqueles publicados recentemente em processos de indexação, respectivamente. Para detectar todos os estudos de modelos animais *in vivo* e *in vitro* no PubMed, foi obtido um filtro animal padronizado e otimizado. Os termos utilizados para busca no PubMed foram adaptados para a seleção de publicações Scopus, e o filtro “modelo animal” é fornecido pelo próprio site. Nenhum limite de data foi aplicado. Os resumos de todos os artigos escolhidos foram interpretados para identificar artigos potencialmente elegíveis.

Dois revisores (RTA e LGAE) realizaram a busca na literatura, removeram artigos duplicados e examinaram títulos e resumos em relação aos critérios de elegibilidade. Após a triagem inicial, artigos em texto completo de estudos potencialmente relevantes foram avaliados independentemente para elegibilidade por dois revisores (RTA e LGAE). O teste *kappa* foi feito para a seleção e extração dos dados (*kappa* = 0,858), indicando uma forte concordância interexaminadores. As seleções foram então comparadas e as inconsistências foram resolvidas em consulta com dois outros revisores (MMS e RVG).

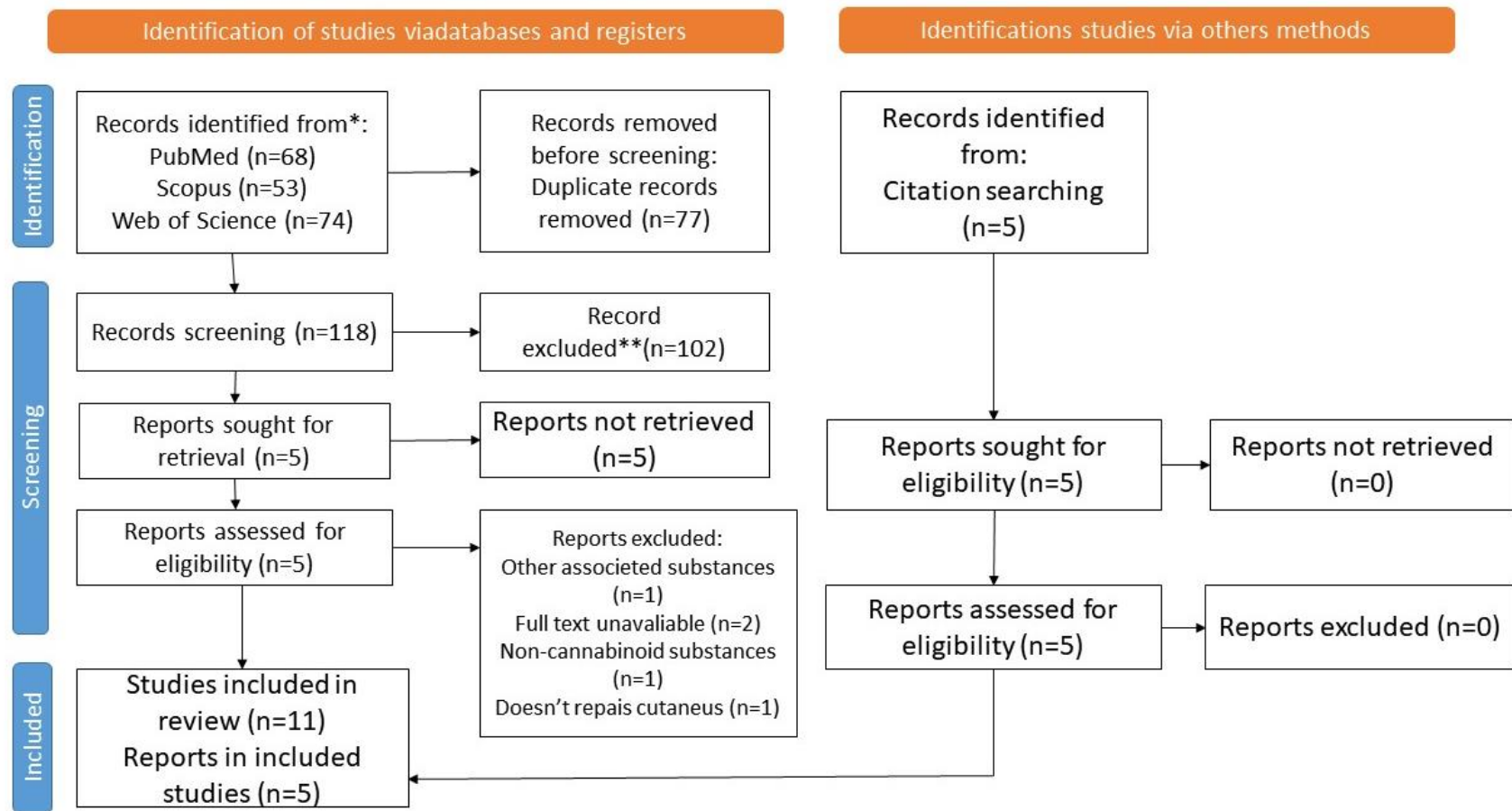
### 2.3 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos apenas estudos originais investigando o uso de análogos miméticos da *Cannabis sativa L.* (antagonistas e agonistas) no processo de reparo cutâneo de modelos de feridas animais incisionais e excisionais não suturadas e estudos *in vitro*. Foram excluídos da revisão estudos que utilizaram tratamentos com *Cannabis sativa L.* ou seus análogos combinados com outras drogas e espécies vegetais, estudos que utilizaram apenas modelos experimentais *in situ* ou *ex vivo*; estudos secundários (revisões de literatura, cartas ao editor, revisões, estudos de caso, comentários e editoriais), estudos com outros órgãos ou tecidos, estudos em modelo de fibrose dérmica e feridas decorrentes de queimaduras. Dois revisores (RTA e LGAE) pesquisaram manualmente as listas de referência de estudos selecionados na etapa anterior de forma independente para encontrar artigos relevantes adicionais.

### 2.4 Extração de dados

Dois revisores independentes (RTA e LGAE) extraíram os dados essenciais agrupados em seis níveis descritivos da seguinte forma: (i) características da publicação (autores, data de publicação e país); (ii) características dos modelos animais (espécie, linhagem, sexo, idade e peso); (iii) ferida cutânea (lesão, local, área inicial e número); (iv) intervenções experimentais (característica da substância, tratamento, veículo, via, intervalo de aplicação, tempo de tratamento e concentração); (v) características dos estudos *in vitro* (tipo celular, linhagem celular, fonte, meio de cultura, intervenção, dose, pré-tratamento, período de incubação); (vi) os resultados dos grupos tratados com antagonistas e agonistas da *Cannabis sativa L.* para todos os estudos foram agrupados (métodos, análise de via, reepitelização, resultados bioquímicos, moleculares e morfológicos). Quaisquer inconsistências em relação aos dados extraídos foram resolvidas durante discussões com dois revisores adicionais (MMS e RVG).

Figura 1. Diagrama de fluxo de itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises (PRISMA). O fluxograma indica os registros de pesquisa obtidos em todas as etapas padronizadas do processo de busca necessário para o desenvolvimento de revisões sistemáticas e meta-análises com base na declaração PRISMA (<http://www.prisma-statement.org>). \* Se possível, o número de registros identificados em cada banco de dados ou registro pesquisado deve ser relatado (em vez do número total em todos os bancos de dados/registros). \*\* Se foram utilizadas ferramentas de automação, deve-se indicar a quantidade de registros que foram excluídos por um humano e quantos foram excluídos por ferramentas de automação.



## **2.5 Avaliação do risco de viés nos estudos incluídos**

Para avaliar o risco de viés nos estudos incluídos, foi utilizada a ferramenta Risk of Bias (RoB) do SYRCLE, projetada especificamente para estudos em animais. Os seguintes domínios metodológicos baseados em RoB foram avaliados. O viés de seleção foi verificado a partir dos seguintes questionamentos: “A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente?”, “Os grupos foram semelhantes na linha de base ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?”, “A alocação para os diferentes grupos foi adequadamente ocultada?”. Para verificar o viés de desempenho foi feito os seguintes questionamentos: “Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?”; “Os cuidadores e/ou pesquisadores estavam cegos sobre qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?”; Para avaliar o viés de detecção foram feitos os seguintes questionamentos: “Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação do resultado?”, “O avaliador do resultado foi cego?”; O viés de atrito foi verificado mediante o seguinte questionamento: “Os dados de desfechos incompletos foram tratados adequadamente?”; O viés de relato foi verificado por meio de questionamento: “Os relatos do estudo são isentos de relato seletivo de resultados?”; Outros vieses podem ser considerados a partir dos questionamentos: “O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?”. Os itens do instrumento RoB foram pontuados com “sim” (baixo risco de viés); “não” (alto risco de viés); ou “incerto” (indicando que o item não foi relatado e, portanto, o risco de viés era desconhecido).

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Características das publicações**

A partir da nossa estratégia de busca (Tabela S1), 195 registros de pesquisa foram recuperados. Destes 68 estudos foram recuperados na plataforma PubMed/Medline, 74 na plataforma Web of Science e 53 na plataforma Scopus. Do total foram excluídos 77 estudos duplicados. Após a leitura e resumos, outros 102 foram excluídos, e 16 estudos foram selecionados e lidos na íntegra. Destes estudos, 11 atenderam totalmente aos critérios de inclusão. Ao analisar as referências dos estudos selecionados, resgatou-se 5 estudos que também atenderam aos critérios. Sendo assim, 16 estudos relevantes publicados no período de análise de 1978 a 2022 foram incluídos na revisão sistemática (Fig. 1 - Fluxograma do

PRISMA). A estratégia de busca obteve um coeficiente *kappa* de 0,858, indicando uma forte concordância entre avaliadores. De todos os 16 artigos submetidos à extração de dados, 9 estudos (56,25%) usaram sistemas *in vitro*, 5 estudos (31,25%) usaram modelos *in vivo* e 2 estudos (12,5%) combinaram esses modelos.

A origem geográfica de todos os estudos foi França (28,57%, n = 10), República da Coreia e Alemanha (11,43%, n = 4, cada), China (14,28%, n = 5), Canadá, Itália, Espanha, Estados Unidos Estados da América (5,71%, n = 2, cada), seguidos por Japão, Coreia do Sul, Suécia e Reino Unido (2,85%, n = 1, cada).

A aprovação do uso de animais em procedimentos experimentais pelo Comitê de Uso e Cuidado de Animais foi citada em 57,14% (n=4) dos estudos, e as análises estatísticas realizadas foram especificadas em 71,43% (n=11) dos estudos.

## 3.2 Características dos estudos *in vitro*

### 3.2.1 Características da Cultura de Células

A maioria dos estudos *in vitro* investigou os efeitos das substâncias em queratinócitos (62,5%; n = 10), principalmente a linhagem HaCaT (31,25%; n = 5) e NHEK (18,75%; n = 3). Fibroblastos e macrófagos também foram usados (18,75%; n = 3 e 6,25%; n = 1, respectivamente). A maioria das células foram cultivados em meio DMEM (25%; n = 4) e DMSO (12,5%; n = 2). As principais características relacionadas a estudos *in vitro* são descritas em detalhes na Tabela S6.

### 3.2.2 Característica da intervenção

Das substâncias utilizadas, apenas um estudo usou intervenção com compostos naturais (6,25%; n = 1), os demais foram de origem sintética (25%; n = 4). As principais substâncias foram AM ([6-iodo-2-methyl-1-(2-morpholin-4-ylethyl)indol-3-yl]-(4-methoxyphenyl)methanone (31,25%; n = 5), sendo: AM630 (25%; n = 4) com AM281 (6,25%; n = 1) e AM251 (6,25%; n = 1), seguidas de AEA (Anandamide) (25%; n = 4) e ACEA (arachidonoyl-chloro-ethanolamide) (12,5%; n = 2).

Quanto aos procedimentos, a maioria dos estudos foi analisada por PCR (31,25%; n = 5), seguido de Western Blot (12,5%; n = 2) (Tabela S7).

As principais concentrações utilizadas variaram de 0,05uM a 30uM. Tendo como mais frequente a dose de 10uM (25%; n=4) O tempo de exposição às substâncias mais prevalentes foi de 24h (37,5%; n = 6), variando de 8h a 14 dias, sendo o mais frequente o período de 1 dia (25%; n=4).

Na faixa de 10-20uM de agonistas num período de 24-48h, houve um pico da proliferação celular, bem como aumento da quimiotaxia de fibroblastos e queratinócitos e da migração celular evidente nos estudos que envolveram arranhadura de área da placa. Entretanto, doses elevadas (20-30uM), reduziram a proliferação celular.

### 3.3 Principais resultados

O agonista BCP (beta-caryophyllene), causou aumento de mais de 50 genes associados a regeneração e cicatrização, principalmente o gene HIF-1 $\alpha$   $\delta$ ODD (domínio de degradação sensível ao oxigênio) que regula positivamente o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)-A165 através do aumento da síntese de seu mRNA. Além disso, este agonista aumenta a expressão de genes que codificam queratina e proteínas associadas, como KRTAP que são expressos na haste do pêlo e regula aproximadamente 40% dos genes com função de migração celular. Já a expressão de genes GLI1, SOX9 e LRIG1 estimulou a proliferação de células tronco de folículos pilosos, fibroblastos e queratinócitos.

Os agonistas demonstraram aumento do fator de crescimento transformador beta (TGF $\beta$ ) em queratinócitos e fibroblastos na dose de 0,05-1uM. TGF $\beta$  exerce efeitos pleiotrópicos na cicatrização de feridas regulando a proliferação celular, diferenciação e modulação da resposta imune. Os principais mediadores intracelulares da sinalização de TGF $\beta$  são as proteínas Smad.

Após lesão aguda, TGF $\beta$  é rapidamente secretado por queratinócitos, plaquetas, monócitos, macrófagos e fibroblastos. O TGF $\beta$ 1 é essencial para iniciar a inflamação e formação de tecido de granulação. O TGF $\beta$  também estimula a contração da ferida através da indução da expressão de alfaactina no músculo liso em fibroblastos e indução da diferenciação de miofibroblastos. Além disso, o TGF $\beta$ 1 está envolvido na angiogênese pela regulação positiva.

Em relação a análise de presença de receptores CB1 e CB2 na ferida após administração dos agonistas, apenas um dos estudos apresentou dados de aumento (6,25%; n=1), dos receptores CB1 e CB2 na membrana (6,25%; n=1), além do aumento da expressão de genes relacionados a esses receptores (6,25%; n=1). A expressão dos receptores CB1 e CB2

demonstrou ser dependente do tempo em cultura de fibroblastos e células mononucleares imunes. A proporção de queratinócitos positivos para o receptor CB1 aumentou gradualmente de 6h a 3 dias (dose 10-20ul) atingiu o pico em 5 dias e diminuiu gradualmente de 7 a 14 dias após a lesão. As células positivas para o receptor CB1 durante a cicatrização de feridas são principalmente células mononucleares e fibroblásticas. Diferentemente, miofibroblastos positivos para receptores CB2 atinge o pico em 5 dias após o ferimento. A distribuição dinâmica e a expressão dos receptores CB1 e CB2 sugerem que esses receptores estão envolvidos na regulação do processo de reparo durante a cicatrização de feridas cutâneas.

### **3.4 Característica dos estudos *in vivo***

#### **3.4.1 Intervenção**

A maioria das substâncias utilizadas nos estudos são sintéticas (57,14% n=4), seguido pelas substâncias naturais (14,28% n=1) e em 28,57% (n=2) foram avaliados a expressão e ativação de receptores durante a cicatrização, sem nenhum tratamento (Tabela S3).

Em cinco estudos as feridas foram tratadas com agonistas e antagonistas de receptores canabinóides, sendo o agonista GP1a utilizado em 42,86% (n=3) dos estudos e o antagonista mais comum foi o AM630 utilizado também em 42,86% dos estudos (n=3). Foram usados também os agonistas  $\beta$ -caryophyllene e CBD (20% n=1, cada) e o antagonistas JWH133 (20% n=1). Em 3 estudos (42,86%) usou-se o agonista GP1a e o antagonista AM630 juntos.

O veículo utilizado em sua maioria foi o DMSO+Tween+solução salina (42,86% n=3). As vias de administração das substâncias nos animais estudados foram injeção intraperitoneal (60%) e via tópica (40%). A administração foi uma vez ao dia em 80% dos estudos e em 20% esse dado foi negligenciado. Todos os estudos cuja via de administração foi injeção intraperitoneal utilizaram a dosagem de 3mg/kg/dia (100%). Os estudos cuja administração foi por via tópica a dosagem foi de 0,05ml por 5 dias (20%, n=1) e 1mL por 41 dias (20%, n=1).

#### **3.4.2 Características dos Animais Experimentais**

Dos estudos que usaram animais experimentais, 85,71% (n=6) usaram camundongos como modelo animal e 14,28% (n=1) utilizaram cavalos.

Dos estudos com camundongos, 85,71% (n=6) dos estudos usaram machos e apenas 14,28% (n=2) usaram fêmeas, entretanto 28,58% (n=1) não relataram essa informação. A idade foi apresentada em semanas, variando entre cinco e 10 semanas, e 28,58% (n=1) dos estudos negligenciaram esse dado. O peso dos animais variou de 20 a 40 gramas e foi relatado em 57,14% (n=4) dos estudos (Tabela S2). Dos cavalos foram utilizados 3 machos castrados e 3 fêmeas, com idade de 156 a 521 semanas (3-10 anos), o peso foi omitido.

Entre as cepas de camundongos encontradas nesta revisão, BALB/c foi o mais frequente (57,14%, n=4), seguido de C57BL/6J, CD-1 e SKH1 (14,28%, n=1, cada). Os cavalos usados foram da raça Standardbred (100%). (Tabela S2). Encontramos estudos com outros modelos animais durante o processo de seleção do estudo, como o rato, mas foram descartados por não atenderem aos requisitos dos demais critérios de seleção.

### 3.4.3 Características das feridas

Feridas de pele dorsal foram feitas em todos os sete estudos que utilizaram modelos animais (100%), 85,2% (n=5) dos estudos com feridas de excisão e 14,8% (n=1) com feridas de incisão (Tabela S2).

Todos os estudos (100%) apresentaram dados quanto ao número de feridas e 85,71% (n=6) apresentaram dados referentes ao tamanho das feridas, sendo o mais comum de uma ferida (33,33%), duas feridas (33,33%), quatro e cinco feridas (16,67%, cada). O tamanho mais comum das feridas foi de 6mm de diâmetro (33,33%; n=5), seguido 1,5x1cm<sup>2</sup>, 5cm<sup>2</sup> e 2,5cm<sup>2</sup> (16,66%, n=2, cada).

Seis dos sete estudos (85,71%) apresentaram dados sobre os dias de biópsia das feridas, variando de 1 a 21 dias (Tabela S2), sendo que 14,28% (n=1) dos estudos esse dado foi negligenciado. O período de avaliação e apresentação dos dados relacionados ao acompanhamento do fechamento da ferida foi apresentado em 85,71% (n=6) dos estudos, e essa informação foi negligenciada por 14,28% (n=1) dos estudos, conforme mostrado na Tabela S2.

### 3.5 Resultados principais

O agonista  $\beta$ -caryophyllene apresentou aumento da reepitelização e da proliferação celular, com aumento da expressão de queratinas, presença de fibroblastos na borda da ferida, migração de queratinócitos, coloração para o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA)

associado a fibroblastos na área inferior da derme. Além disso, observa-se migração de fibroblastos para o leito da ferida e formação de uma MEC de tecido de granulação. Ocorre também aumento do fator de crescimento derivado de plaquetas-A e -B (PDGF-A e -B) expressos em fibroblastos e queratinócitos na borda da ferida. Com coloração BrdU, observou-se aumento das células tronco da camada basal da epiderme, folículo piloso, derme papilar e leito da ferida. Houve também, queda da IL-1 $\beta$  e IL6 18h após a lesão, mas posterior aumento de IL-1 $\beta$  2,7 vezes quatro dias após a lesão, aumento de TNF $\alpha$ . Ocorreu diminuição do processo inflamatório e imune e aumento dos genes que codificam a migração e proliferação. Observou-se ativação da via de sinalização do fator de crescimento de fibroblastos e de proliferação de queratinócitos.

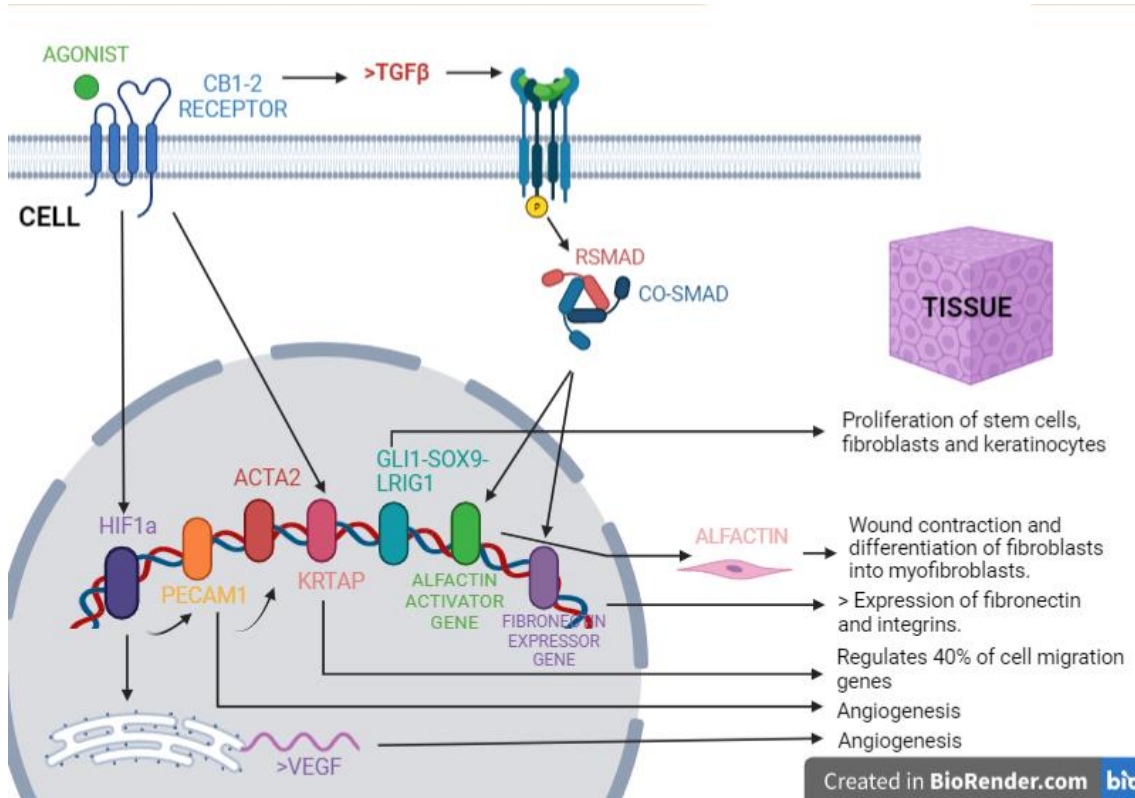
O agonista GP1a aumentou a presença de polimorfonucleados nas primeiras horas da lesão, mas diminuiu os fibroblastos (12h-24h). Os fibroblastos apenas começaram a surgir a partir do terceiro dia. Entre o quinto e nono dia observou-se aumento de células endoteliais, tecido fibrótico, menor deposição de colágenos de fibras finas. Houve diminuição da espessura da pele com o decorrer do tempo (9-21 dias). Observou-se também menor expressão de mRNA para Col1a1, col3a1 e actina alfa. Na fase tardia do processo cicatricial (10-21 dias), o GP1a demonstrou contração da ferida, maior reepitelização, menor infiltração inflamatória e formação de tecido granular e formação de fibras colágenas delgadas e cicatriz fina. Houve também diminuição da expressão do mRNA de MCP1, SDF-1 e TNF- $\alpha$ . Apresentou queda de IL-6, IL-1 $\beta$ , VEGFA e aumento de IFN- $\gamma$ . O antagonista AM630 teve seus efeitos positivos tardiamente na ferida (9-21 dias) com aumento da presença de fibroblastos, aumento do colágeno de fibras espessas e maior expressão dos genes para Col1a1, col 3a1 e actina alfa.

Pode-se descrever que na fase inicial do processo de cicatrização (12-24h), principalmente fase inflamatória (aguda) houve aumento do TGF- $\beta$ , T $\beta$ R1 e Smad 7 nos fibroblastos. Já na fase de remodelação (9-21 dias) o antagonista já sinalizava a diminuição de TGF- $\beta$ , T $\beta$ R1 e Smad 7 nos fibroblastos.

Dois dos sete estudos in vivo (% n=2) analisaram apenas a expressão de receptores endocanabinóides na ferida sem nenhum tratamento. Observou-se que a expressão de receptores CB2 aumentou no início do processo cicatricial (12-24h) e se manteve elevado durante, adquirindo um pico de expressão de seu mRNA no quinto dia. Já, a partir da fase de remodelação de 7-21 dias houve queda na expressão. O receptor CB1 foi expresso de forma contínua dos dias 1-5, ativando a via da expressão de PPAR $\alpha$  na epiderme, glândulas sebáceas

e macrófagos. No dia 4 houve aumento da expressão de PPAR $\alpha$  no estrato granuloso, espinhoso e basal e no dia 5, sua queda juntamente com a expressão do receptor.

Figura 2. Principais vias ativadas pelos agonistas endocanabinóides encontradas nesta revisão sistemática.



### 3.6 Risco de viés

Os resultados detalhados para a análise de viés são mostrados na Fig. 2 e 3. Nenhum estudo preencheu todos os requisitos critérios metodológicos analisados. Em relação ao viés de seleção, o processo de geração da sequência não foi relatado de forma clara em 100% dos estudos ( $n = 7$ ). Quanto às características dos grupos animais, 7 estudos (100%) relataram essa informação de forma clara. 4 estudos (57,14%) não relataram informações sobre o sigilo da alocação de forma clara (Q3). 5 estudos (71,42%) relataram de forma não clara a aleatoriedade do experimento (Q4). A mesma quantidade não apresentou informações sobre o cegamento dos cuidadores (Q5) e, como tal, o desfecho foi avaliado como apresentando alto risco de viés. Em 6 estudos (85,71%) não foi relatado a aleatorização do resultado para viés de detecção (Q6). Além disso, avaliador dos resultados não foi cegado em 100% dos estudos ( $n=7$ ; Q7). 5 estudos (71,42; Q8) mostraram dados de resultados incompletos. 5 estudos (71,42%) apresentaram viés

de relato não claro (Q9). Além disso, 7 estudos (100%; Q10) apresentaram outras fontes potenciais de viés. Apenas um estudo (14,28%) apresentou alto risco de viés nas condições de armazenamento e randomização dos animais (Q11; Q12). 6 estudos (85,71%) apresentaram baixo risco de viés quando foi feita a análise dos dados de fechamento da ferida apresentados com dias de acompanhamento, fotos e gráficos.

Figura 3. Resultados do risco de viés e indicadores de qualidade metodológica que avaliaram a capacidade da estimulação agonista de receptores canabinóides em acelerar o processo de cicatrização da pele. Os itens na avaliação de risco de viés do Review Centre for Laboratory 464 Animal Experimentation (SYRCLE) foram pontuados com “sim” indicando baixo risco de viés, “não” indicando alto risco de viés ou “incerto” indicando que o item não foi relatado, resultando em um risco desconhecido de viés.

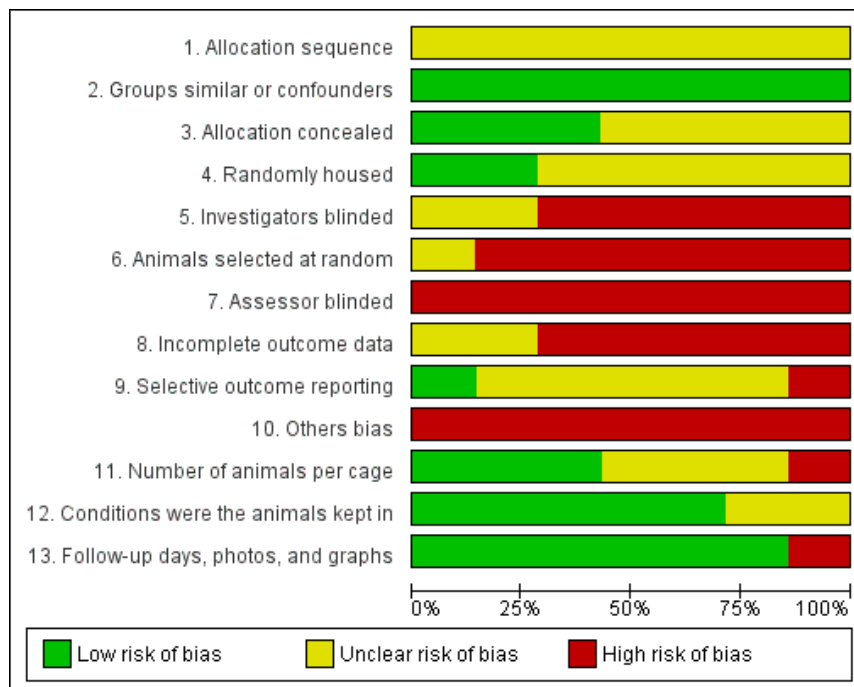


Figura 4. Resumo do risco de viés: revisão dos julgamentos dos autores sobre o risco de itens de viés para cada um dos estudos incluídos. Verde: baixo risco de viés; amarelo: risco incerto de viés; e vermelho: alto risco de viés.

	1. Allocation sequence	2. Groups similar or confounders	3. Allocation concealed	4. Randomly housed	5. Investigators blinded	6. Animals selected at random	7. Assessor blinded	8. Incomplete outcome data	9. Selective outcome reporting	10. Others bias	11. Number of animals per cage	12. Conditions were the animals kept in	13. Follow-up days, photos, and graphs
Du et al, 2018	?	+	+	+	?	-	-	-	?	-	+	+	+
Koyama et al, 2019	?	+	?	?	-	-	-	?	?	-	+	+	+
Li et al, 2016	?	+	+	+	-	-	-	?	?	-	?	+	+
McIver et al, 2020	?	+	?	?	-	-	-	-	-	-	?	?	-
Wang et al, 2016	?	+	+	?	-	-	-	-	?	-	-	?	+
Wohlman et al, 2016	?	+	?	?	?	?	-	-	+	-	+	+	+
Zheng et al, 2012	?	+	?	?	-	-	-	-	?	-	?	+	+

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Características gerais

O uso de plantas medicinais na medicina da regeneração, especialmente para reparo cutâneo, tem sido amplamente investigado em inúmeras pesquisas (Pazyar al, 2014; Teplicki et al, 2018; Ibrahim Mssillou et al, 2022). No entanto, vários de seus efeitos e mecanismos de ação ainda não são bem elucidados, principalmente devido a interações complexas entre os seus receptores e vias intracelulares de sinalização. Compreender as interações moleculares e celulares da associação entre a ativação dos receptores e a cicatrização de feridas é de suma importância para esclarecer seus efeitos terapêuticos, que podem melhorar a reparação tecidual e reduzir o tempo de tratamento de feridas.

Sendo assim, desenvolvemos uma revisão sistemática para investigar como os derivados diretos (naturais) e indiretos (sintéticos) da *Cannabis sativa L.* atuam em seus receptores durante o processo cicatricial, bem como as vias que são ativadas durante a ativação dos receptores. Além disso, analisou a expressão desses receptores no processo de reparo tecidual em modelos *in vivo* e *in vitro*.

É importante ressaltar que estudos *in vitro* e *in vivo* são estudos utilizados em diferentes etapas do desenvolvimento de pesquisas. Os estudos *in vitro* são usados como uma espécie de seleção, que determina os produtos mais eficazes para a serem testados *in vivo*. Além disso, também funciona para dar dicas de eficácia e segurança antes dos ensaios clínicos (S. Srouji, 2009).

Se tratando de local de estudo a França apresentou maior número de estudos (n=10) visto que nesse país a *cannabis* é a droga ilícita mais apreendida e consumida por jovens sob a forma de resina apresentando bastante interesse nas pesquisas com essa espécie (Laurence D., Fabrice B., 2017).

#### **4.2 Características dos estudos in vivo**

A partir de estudos *in vivo*, camundongos foram usados principalmente como modelo animal. Os camundongos são modelos pré-clínicos de enorme importância, pois são econômicos e fáceis de manusear, o que favorece investigações moleculares celulares abrangentes. Assim, justifica-se a sua escolha em 87,5% dos estudos distribuídos analisados em diferentes continentes. (Shrivastav et al., 2018). Além disso, esse modelo animal apresenta características anatômicas, semelhanças fisiológicas e especialmente genéticas com humanos (Nogueira, 2020). Esses modelos permitem também medições bioquímicas e macroscópicas, e o acompanhamento das diferentes fases do processo cicatricial, especialmente as fases inflamatória e proliferativa (Trøstrup, H. et al, 2016). Animais machos foram predominantemente usados. Essa escolha se deu, provavelmente pelos diferentes comportamentos associados aos ciclos hormonais das fêmeas, que pode comprometer os resultados dos experimentos. Além disso, as fêmeas são mais sensíveis à toxicidade oral aguda, bem como à toxicidade dérmica, do que os machos (Enrico Sangiovanni, et al, 2019).

As faixas etárias dos animais foram semelhantes, o que é importante para estudos avaliando a cicatrização de feridas, já que ratos idosos influenciam na formação de novos vasos, fechamento de feridas, reepitelização, e a resolução do processo inflamatório (Nogueira, 2020).

Em relação às características das feridas, a maioria dos estudos utilizou apenas feridas excisionais e incisionais no dorso dos animais. De fato, as feridas excisionais e incisionais no dorso dos animais são os modelos mais populares utilizados para investigar os processos de cicatrização. Esses modelos impedem o animal de alcançar e manipular a ferida, e permitem avaliar o processo de cicatrização dependente do tempo de múltiplas feridas e o tratamento e controle podem ser realizados no mesmo camundongo. O número de feridas mais incidente foi uma ferida, número ideal para evitar o estresse e reduzir o viés nos resultados e consequentemente reduzir citocinas e fatores de crescimento que podem atuar negativamente no reparo da ferida (Alves, 2020; Qing, C, 2017).

A maioria das substâncias utilizadas são sintéticas, visto que para esse tipo de pesquisa é a melhor forma de manejo de substâncias conhecidas e agonistas eficazes para ação sobre receptores. Além disso, a *cannabis* medicinal é ilegal em vários países, o que tem levado a um aumento de pesquisas com moléculas semelhantes, mimetizando os endocanabinóides endógenos (Inês B. Correia-Sá, 2020). O veículo utilizado *in vitro* em sua maioria foi o DMEM (25%; n = 4) que tem importantes efeitos na conservação e nutrição das células, seja por sua penetração rápida e penetração aumentada de outras substâncias através das membranas biológicas. Além disso, a toxicidade sistêmica do DMEM é considerada baixa (Brayton, 1986).

A via de administração mais utilizada foi a injeção intraperitoneal que é comumente usada em ratos e camundongos, mas pode ser utilizada em outras espécies. Não é necessária anestesia e a injeção é feita no quadrante abdominal inferior direito. Sua escolha geralmente é feita por suportar maiores volumes e quantificar com maior precisão a dose a ser administrada, que no nosso estudo foi de 3mg/kg/dia em todos os estudos que esse método foi aplicado (Zitian He, 2020).

### **4.3 Características dos estudos *in vitro***

As células mais utilizadas nos estudos analisados foram os queratinócitos, seguidas dos fibroblastos e macrófagos. As células da linhagem HaCaT são amplamente utilizadas em pesquisas científicas para estudar a fisiopatologia da epiderme e sua homeostasia, bem como analisar os aspectos, bioquímicos, moleculares, celulares e histoquímicos (Seo, M.D. et al, 2012). Pesquisas recentes em biologia de feridas esclareceram as vias moleculares que regem a reepitelização dos queratinócitos em locais de feridas, onde a cultura de queratinócitos tem possibilitado diversos estudos sobre a cicatrização (Santoro, M.; Gaudino, G., 2015). As células

fibroblásticas também são amplamente utilizadas, pois servem para analisar o comportamento bioquímico e a ação dos fatores de crescimento nas áreas de lesão (Garbuzenko, E. et al, 2002; Kikuchi, K., 1995). Para manter a estrutura e o bom funcionamento da pele, os queratinócitos e os fibroblastos atuam sinergicamente com células de defesa, regulando a resposta imune cutânea a agentes biológicos, agentes físicos e químicos. Os queratinócitos formam a barreira da pele através de uma camada altamente complexa no processo de diferenciação, e os fibroblastos fornecem citocinas fisiologicamente relevantes e fatores de crescimento (Hänel, K.; Cornelissen, C.; Lüscher, B.; Baron, J., 2013). Todos esses pontos positivos, somados ao fato de que essas células são fáceis de crescer *in vitro* e estão intrinsecamente relacionados a doenças de pele, tornam a cultura de células uma ferramenta importante para entender o efeito das plantas medicinais em lesões cutâneas.

#### **4.4 Agonismo, antagonismo e expressão de receptores**

O agonismo corresponde a ligação de uma substância endógena ou não a um receptor e isso é capaz de ativá-lo e ativar as cascatas de reações intracelulares bioquímicas que resultam em uma resposta biológica. Os resultados obtidos indicaram que o agonismo dos receptores causou o aumento de genes associados a regeneração e cicatrização, como o HIF-1 $\alpha$  (domínio de degradação sensível ao oxigênio) que regula o fator de crescimento endotelial vascular. Verificou-se a ativação desse gene leva a uma nova expressão gênica induzida transitoriamente de genes relacionados à angiogênese Acta2 e Pecam1, bem como o gene alvo HIF-1 $\alpha$ , que ativa o aumento de Vegf (Veith et al, 2018, Tonnesen MG, Feng X, Clark RA, 2000). Além disso, foi demonstrado que a entrega do gene HIF-1 $\alpha$  aumenta o número de células endoteliais e células musculares lisas, sendo precursoras de vasos sanguíneos maduros durante a cicatrização de feridas (Thiersch, 2013). Além disso, aumentou a expressão de genes que codificam queratina e proteínas associadas a genes com função de migração celular e genes que estimulam a proliferação de células tronco em fibroblastos e queratinócitos (Anthony D Metcalfe, Mark W.J Ferguson, 2016).

O agonismo demonstrou aumento do fator de crescimento transformador beta (TGF $\beta$ ) em queratinócitos e fibroblastos. O TGF $\beta$  exerce efeitos na cicatrização de feridas regulando a proliferação celular, diferenciação e modulação da resposta imune. Os principais mediadores intracelulares da sinalização de TGF $\beta$  são as proteínas Smad.

Depois de uma lesão o TGF $\beta$  é secretado por queratinócitos, plaquetas, monócitos, macrófagos e fibroblastos, para iniciar a inflamação e formação de tecido de granulação. O TGF $\beta$  também estimula a contração da ferida através da indução da expressão de alfaactina no músculo liso em fibroblastos e indução da diferenciação de miofibroblastos (Dimitra Kiritsi, Alexander Nyström, 2018).

A via de sinalização do TGF $\beta$  consiste em componentes centrais que criam uma rede complexa de interações entre membrana e núcleo. O receptor TGF $\beta$  consiste em um receptor dimérico serina/treonina quinase transmembrana chamado receptor tipo 1 acoplado a um receptor heterotramérico chamado de receptor tipo 2. A parte 2 desse receptor, ao ser ativado pelo TGF $\beta$ , fosforila o receptor tipo 1 e recruta uma proteína R-SMAD citoplasmática que é fosforilada pelo receptor tipo 1. Também forma uma ligação com a R-SMAD e Co-SMAD que vão em complexo ao núcleo exercer suas funções. Os complexos Smad se acumulam no núcleo, onde interagem com proteínas específicas de ligação ao DNA e recrutam correpressores ou coativadores para regular a expressão de genes-alvo específicos (Alexander Weiss, Liliana Attisano, 2012). Sendo assim, a partir do núcleo, o TGF- $\beta$  estimula a expressão da fibronectina e das integrinas  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha \nu\beta 5$  e  $\alpha \nu\beta 6$  nos queratinócitos, induzindo assim um fenótipo migratório (Coert Margadant, Arnoud Sonnenberg, 2010).

#### **4.5 Presença de receptores na ferida**

Da análise de presença de receptores CB1 e CB2 expressos na ferida após administração dos agonistas, apenas um dos dois estudos apresentou dados de aumento, dos receptores CB1 e CB2 na membrana (6,25%; n=1).

O sistema endocanabinóide é formado por receptores canabinóides (CB), seus ligantes endógenos, como anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG), e enzimas responsáveis por sua síntese e metabolismo. Os receptores canabinóides tipo 1 e 2 são membros da família dos receptores acoplados a proteína G e apresentam distribuição por todo corpo (Velnar, Bailey, e Smrkolj, 2009). Os receptores CB1 estão localizados principalmente no sistema nervoso central, mas podem também serem encontrados na periferia, como pele, fígado e músculo esquelético. Por outro lado, os receptores CB2 estão localizados principalmente em células do sistema imunológico, como macrófagos e linfócitos. No entanto, também podem estar presentes em neurônios e outros tecidos periféricos (Reinke, J.M. and H. Sorg., 2012)

Atualmente, um sistema endocanabinoide funcional foi identificado na pele (Inês Correia-Sá, 2020). Os receptores CB1 e CB2 foram encontrados em queratinócitos, células do folículo piloso, células sebáceas, glândulas sudoríparas, neurônios sensoriais, células imunes, mastócitos e fibroblastos (Mukhopadhyay et al., 2010). A ativação ou inativação de os receptores CB1 e CB2 com agonistas ou antagonistas seletivos foram propostos como potenciais agentes terapêuticos para tratar diferentes doenças de pele (Inês Correia-Sá, 2020). Foi demonstrado que o sistema endocanabinoide está envolvido na fisiologia da pele em funções como proliferação, diferenciação, apoptose e regulação de processos inflamatórios (Ehrlich, H.P., et al, 1994; Aarabi, S., M.T. Longaker, and G.C. Gurtner, 2007), porém seu mecanismo não é tão amplamente elucidado. Acredita-se que este receptor tenha um papel fundamental na modulação da resposta ao estresse a influenciando o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Yano, S., et al, 2004). As células que se tornaram positivas para o receptor CB1 durante a cicatrização de feridas são principalmente células mononucleares e fibroblásticas no início da cicatrização, os macrófagos positivos para receptores CB2 atinge um máximo três dias após o ferimento, enquanto a proporção de miofibroblastos positivos para receptores CB2 atinge o pico em 5 dias após o ferimento, sendo sua ação mais tardia (Matsuda, L.A., et al., 1990).

#### **4.6 Benefícios e limitações**

As revisões sistemáticas são consideradas pesquisas de alto nível que permitem a avaliação individual de estudos de forma cega usando ferramentas específicas. Tais características levam a uma visão mais inclusiva, abordagem não tendenciosa, para fornecer ao leitor uma ampla compreensão dos estudos incluídos nestas. Os resultados apresentados neste estudo são importantes e valiosos para o possível uso de agonistas do sistema canabinoide em medicamentos para cicatrização da pele, visto que foi observado que o uso deles aceleram esse tratamento de feridas cutâneas. No entanto, eles também devem ser tratados com cautela, uma vez que a maioria dos estudos apresentou variabilidade metodológica significativa. O risco de viés revelou limitações específicas nas pesquisa, associados à subnotificação de informações, como geração da sequência, avaliação aleatória dos resultados e cegamento dos participantes. Objetivamente, as limitações citadas acima não indicam que os pesquisadores não avaliaram essas parâmetros, mas é uma forte evidência de que essa informação não foi incluída na pesquisa. Portanto, considerando essas limitações, esperamos que esta revisão sistemática,

embora admitindo sua natureza qualitativa intrínseca ao descrever pontos importantes de viés, contribua para estudos futuros, relatando elementos de viés.

## 5 CONCLUSÃO

Em linhas gerais, mostrou-se evidências sobre o efeito regenerativo e cicatrizante potencial dos agonistas canabinóides em feridas incisionais e excisionais. Estas foram observadas em modelos pré-clínicos mas que se assemelham aos mecanismos observados em humanos durante a reparação tecidual, levando em consideração também os ensaios in vitro. Esses estudos demonstraram a eficácia do agonismo canabinóide em apresentar aumento da reepitelização e da proliferação celular, com aumento da expressão de genes que ativam células indispensáveis para a aceleração da cicatrização de feridas cutâneas. Seus efeitos benéficos estão principalmente associados à estimulação da contração da ferida, da neoangiogênese, reepitelização e estimulação da expressão de genes que ativam vias da cicatrização. Os agonistas atuaram primariamente, nas primeiras horas da ferida e os antagonistas na fase mais tardia, ambos objetivando o fechamento da ferida. O agonismo atuou em diversas vias gênicas e de sinalização intracelular. Sendo assim, conclui-se que o agonismo endocanabinóide é acelerador do processo de cicatrização de feridas por diversas vias. Sendo uma abertura interessante de novas perspectivas ao desenvolvimento de fármacos para esse fim a base de substâncias naturais ou sintéticas derivadas da *Cannabis sativa L.* para obter um reparo tecidual eficaz, mais barato e que traga maior bem estar ao paciente.

## REFERÊNCIAS

- Aarabi, S., M.T. Longaker, and G.C. Gurtner, Hypertrophic scar formation following burns and trauma: new approaches to treatment. **PLoS Med.**, 2007. 4(9): p. e234.
- Abushaheen MA, Muzahed, Fatani AJ, Alosaimi M, Mansy W, George M, Acharya S, Rathod S, Divakar DD, Jhugroo C, Vellappally S, Khan AA, Shaik J, Jhugroo P. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. **Dis Mon.** 2020 Jun;66(6):100971. doi: 10.1016/j.disamonth.2020.100971. Epub 2020 Mar 20. PMID: 32201008.
- Altoé LS, Alves RS, Sarandy MM, Morais-Santos M, Novaes RD, Gonçalves RV Does antibiotic use accelerate or retard cutaneous repair? A systematic review in animal models. **PLoS One.** 2019;14(10):e0223511. Published 2019 Oct 10. doi:10.1371/journal.pone.0223511
- Alves, R.S.; Alves, L.B.; Altoé, L.S.; Sarandy, M.M.; Freitas, M.B.; Silveira, N.J.F.; Gonçalves, R.V. Peptides from Animal Origin: A Systematic Review on Biological Sources and Effects on Skin Wounds. **Oxidative Med. Cell. Longev.** 2020, 2020, 1–12. [CrossRef]
- Brayton CF. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. **Cornell Vet.** 1986 Jan;76(1):61-90. PMID: 3510103.
- Burstein S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorg Med Chem.** 2015 Apr 1;23(7):1377-85. doi: 10.1016/j.bmc.2015.01.059. Epub 2015 Feb 7. PMID: 25703248.
- Caldwell MD. Bacteria and Antibiotics in Wound Healing. **Surg Clin North Am.** 2020 Aug;100(4):757-776. doi: 10.1016/j.suc.2020.05.007. PMID: 32681875.
- Canchy L, Kerob D, Demessant A, Amici JM. Wound healing and microbiome, an unexpected relationship. **J Eur Acad Dermatol Venereol.** 2023 Jan 12. doi: 10.1111/jdv.18854. Epub ahead of print. PMID: 36635613.
- Console-Bram LM, Zhao P, Abood ME. Protocols and Good Operating Practices in the Study of Cannabinoid Receptors. **Methods Enzymol.** 2017;593:23-42. doi: 10.1016/bs.mie.2017.06.027. Epub 2017 Jul 5. PMID: 28750805.
- Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system<sup>[P]</sup><sub>[SEP]</sub>. **Dialogues Clin Neurosci.** 2020 Sep;22(3):223-228. doi: 10.31887/DCNS.2020.22.3/mcrocq. PMID: 33162765; PMCID: PMC7605027.
- Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system<sup>[P]</sup><sub>[SEP]</sub>. **Dialogues Clin Neurosci.** 2020 Sep;22(3):223-228. doi: 10.31887/DCNS.2020.22.3/mcrocq. PMID: 33162765; PMCID: PMC7605027.
- Ehrlich, H.P., et al., Morphological and immunochemical differences between keloid and hypertrophic scar. **Am. J. Pathol.**, 1994. 145(1): p. 105-13

Everts PA, Knape JT, Weibrich G, Schönberger JP, Hoffmann J, Overdevest EP, Box HA, van Zundert A. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. **J Extra Corpor Technol.** 2006 Jun;38(2):174-87. PMID: 16921694; PMCID: PMC4680757.

Foster DS, Januszyk M, Yost KE, Chinta MS, Gulati GS, Nguyen AT, Burcham AR, Salhotra A, Ransom RC, Henn D, Chen K, Mascharak S, Tolentino K, Titan AL, Jones RE, da Silva O, Leavitt WT, Marshall CD, des Jardins-Park HE, Hu MS, Wan DC, Wernig G, Wagh D, Coller J, Norton JA, Gurtner GC, Newman AM, Chang HY, Longaker MT. Integrated spatial multiomics reveals fibroblast fate during tissue repair. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2021 Oct 12;118(41):e2110025118. doi: 10.1073/pnas.2110025118. PMID: 34620713; PMCID: PMC8521719.

G.G. Gauglitz, H.C. Korting, T. Pavicic, T. Ruzicka, M.G. Jeschke. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. **Mol. Med.**, 17 (2011), pp. 113-125

Garbuzenko, E.; Nagler, A.; Pickholtz, D.; Gillery, P.; Reich, R.; Maquart, F.X.; Levi-Schaffer, F. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: A direct role for mast cells in skin fibrosis. **Clin. Exp. Allergy** 2002, 32, 237–246.

Gertsch J, Pertwee RG, Di Marzo V. Phytocannabinoids beyond the Cannabis plant – do they exist? **Br J Pharmacol.** 2010;160:523–529

Grayson M. Cannabis. **Nature.** 2015 Sep 24;525(7570):S1. doi: 10.1038/525S1a. PMID: 26398730.

Griffin MF, desJardins-Park HE, Mascharak S, Borrelli MR, Longaker MT. Understanding the impact of fibroblast heterogeneity on skin fibrosis. **Dis Model Mech.** 2020 Jun 15;13(6):dmm044164. doi: 10.1242/dmm.044164. PMID: 32541065; PMCID: PMC7328159.

Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing. **Journal of Dental Research.** 2010;89(3):219-229. doi:10.1177/0022034509359125

Hänel, K.; Cornelissen, C.; Lüscher, B.; Baron, J. Cytokines and the Skin Barrier. **Int. J. Mol. Sci.** 2013, 14, 6720–6745.

Hanuš LO, Meyer SM, Muñoz E, Tagliatalata-Scafati O, Appendino G. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. **Nat. Prod. Rep.** 2016; 33: 1357–1392.

He Z, Yang Y, Xing Z, Zuo Z, Wang R, Gu H, Qi F, Yao Z. Intraperitoneal injection of IFN- $\gamma$  restores microglial autophagy, promotes amyloid- $\beta$  clearance and improves cognition in APP/PS1 mice. **Cell Death Dis.** 2020 Jun 8;11(6):440. doi: 10.1038/s41419-020-2644-4. PMID: 32514180; PMCID: PMC7280212.

Hindley G, Beck K, Borgan F, et al Psychiatric symptoms caused by cannabis constituents: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Psychiatry.** 2020;7:344–353. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30074-2

Hingorani A, LaMuraglia GM, Henke P, Meissner MH, Loretz L, Zinszer KM, Driver VR, Frykberg R, Carman TL, Marston W, Mills JL Sr, Murad MH. The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with

the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine. **J. Vasc. Surg.** 2016. doi: 10.1016/j.jvs.2015.10.003. PMID: 26804367.

J.L. Amorim, J. de B. Figueiredo, A.C.F. Amaral, E.G. de O. Barros, C. Palmero, M.A. MPalantinos, A. de S. Ramos, J.L.P. Ferreira, J.R. de A. Silva, C.F. Benjamim, S.L. Basso, L.E. Nasciutti, P.D. Fernandes. Wound healing properties of *Copaifera paupera* in diabetic mice. **PloS One**, 12. 2017. Article e0187380, 10.1371/journal.pone.0187380.

Jabbari N, Farjah GH, Ghadimi B, Zanjani H, Heshmatian B. Acceleration of skin wound healing by low-dose indirect ionizing radiation in male rats. **Kaohsiung J Med Sci.** 2017 Aug;33(8):385-393. doi: 10.1016/j.kjms.2017.05.013. Epub 2017 Jul 1. PMID: 28811007.

Jarvis S, Rassmussen S, Winters B. Role of the endocannabinoid system and medical cannabis. **J Nurse Pract.** 2017;13(8):525–531

Kikuchi, K.; Kadono, T.; Takehara, K. Effects of Various Growth Factors and Histamine on Cultured Keloid Fibroblasts. **Dermatology.** 1995, 190, 4–8.

L.E. Lindley, O. Stojadinovic, I. Pastar, M. Tomic-Canic. Biology and biomarkers for wound healing. **Plast Reconstr Surg**, 138 (Suppl. 3) (2016), pp. 18S-28S

Liu Y, Liu Y, He W, Mu X, Wu X, Deng J, Nie X. Fibroblasts: Immunomodulatory factors in refractory diabetic wound healing. **Front Immunol.** 2022 Aug 5;13:918223. doi: 10.3389/fimmu.2022.918223. PMID: 35990622; PMCID: PMC9391070.

M. Fronza, G.F. Caetano, M.N. Leite, C.S. Bitencourt, F.W.G. Paula-Silva, T.A.M. Andrade, M.A.C. Frade, I. Merfort, L.H. Faccioli. Hyaluronidase modulates inflammatory response and accelerates the cutaneous wound healing. **PloS One**, 9. 2014. Article e112297, 10.1371/journal.pone.0112297.

M. Modarresi, M.-R. Farahpour, B. Baradaran. Topical application of *Mentha piperita* essential oil accelerates wound healing in infected mice model. **Inflammopharmacology**, 27 (2019), pp. 531-537, 10.1007/s10787-018-0510-0

Margadant C, Sonnenberg A. Integrin-TGF-beta crosstalk in fibrosis, cancer and wound healing. **EMBO Rep.** 2010 Feb;11(2):97-105. doi: 10.1038/embor.2009.276. Epub 2010 Jan 15. PMID: 20075988; PMCID: PMC2828749.

Mascharak S, desJardins-Park HE, Longaker MT. Fibroblast Heterogeneity in Wound Healing: Hurdles to Clinical Translation. **Trends Mol Med.** 2020 Dec;26(12):1101-1106. doi: 10.1016/j.molmed.2020.07.008. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32800679.

Mascharak S, Talbott HE, Januszyk M, Griffin M, Chen K, Davitt MF, Demeter J, Henn D, Bonham CA, Foster DS, Mooney N, Cheng R, Jackson PK, Wan DC, Gurtner GC, Longaker MT. Multi-omic analysis reveals divergent molecular events in scarring and regenerative wound healing. **Cell Stem Cell.** 2022 Feb 3;29(2):315-327.e6. doi: 10.1016/j.stem.2021.12.011. Epub 2022 Jan 24. PMID: 35077667; PMCID: PMC8988390.

Matsuda, L.A., et al., Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, 1990. 346(6284): p. 561-4.

Ministério das Relações Exteriores. Comissão Nacional de Fiscalização de Entorpecentes. **Canabis brasileira (pequenas anotações)**. Publicação nº 1. Rio de Janeiro: Eds. Batista de Souza & Cia., 1959.

Mukhopadhyay B, Liu J, Osei-Hyiaman D, Godlewski G, Mukhopadhyay P, Wang L et al. (2010). Transcriptional regulation of cannabinoid receptor-1 expression in the liver by retinoic acid acting via retinoic acid receptor-gamma. **J. Biol. Chem.** 285: 19002– 19011.

Nogueira, B.C.F.; Campos, A.K.; Alves, R.S.; Sarandy, M.M.; Novaes, R.D.; Esposito, D.; Gonçalves, R.V. What Is the Impact of Depletion of Immunoregulatory Genes on Wound Healing? A Systematic Review of Preclinical Evidence. **Oxidative Med. Cell. Longev.** 2020, 2020, 1–19

Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. **J Tissue Viability.** 2016 May;25(2):98-118. doi: 10.1016/j.jtv.2015.12.002. Epub 2016 Jan 23. PMID: 26852154.

Pál Pacher, Sándor Bátkai and George Kunos The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. **Pharmacological Reviews**, September 1, 2006, 58 (3) 389-462; DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.58.3.2>

Pazyar N, Yaghoobi R, Rafiee E, Mehrabian A, Feily A. Skin wound healing and phytomedicine: a review. **Skin Pharmacol Physiol.** 2014;27(6):303-10. doi: 10.1159/000357477. Epub 2014 Jun 27. PMID: 24993834.

Pisanti S, Bifulco M. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. **J. Cell Physiol.** 2019 Jun; 234(6):8342-8351. doi: 10.1002/jcp.27725. Epub 2018 Nov 11. PMID: 30417354.

Qing, C. The molecular biology in wound healing & non-healing wound. **Chin. J. Traumatol.** 2017, 20, 189–193.

Reinke, J.M. and H. Sorg, Wound repair and regeneration. **Eur. Surg. Res.**, 2012. 49(1): p. 35-43.

Reish RG, Eriksson E. Scar treatments: preclinical and clinical studies. **J Am Coll Surg.** 2008 Apr;206(4):719-30. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.11.022. Epub 2008 Jan 28. PMID: 18387479.

Russo EB, Jiang HE, Li X, Sutton A, Carboni A, del Bianco F, Mandolino G, Potter DJ, Zhao YX, Bera S, Zhang YB, Lü EG, Ferguson DK, Hueber F, Zhao LC, Liu CJ, Wang YF, Li CS. Phytochemical and genetic analyses of ancient cannabis from Central Asia. **J. Exp. Bot.** 2008;59(15):4171-82. doi: 10.1093/jxb/ern260. PMID: 19036842; PMCID: PMC2639026.

Santoro, M.; Gaudino, G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. **Exp. Cell Res.** 2005, 304, 274–286.

Schaper NC, Van Netten JJ, Apelqvist J, Lipsky BA, Bakker K; International Working Group on the Diabetic Foot. Prevention and management of foot problems in diabetes: a Summary Guidance for Daily Practice 2015, based on the IWGDF Guidance Documents. **Diabetes Metab Res Rev.** 2016 Jan;32 Suppl 1:7-15. doi: 10.1002/dmrr.2695. PMID: 26335366.

Seo, M.D.; Kang, T.J.; Lee, C.H.; Lee, A.Y.; Noh, M.S. HaCaT Keratinocytes and Primary Epidermal Keratinocytes Have Different Transcriptional Profiles of Cornified Envelope-Associated Genes to T Helper Cell Cytokines. **Biomol. Ther.** 2012, 20, 171–176.

Sharma S, Rai VK, Narang RK, Markandeywar TS. Collagen-based formulations for wound healing: A literature review. **Life Sci.** 2022 Feb 1;290:120096. doi: 10.1016/j.lfs.2021.120096. Epub 2021 Oct 26. Erratum in: *Life Sci.* 2022 May 15;297:120436. PMID: 34715138.

Talbott HE, Mascharak S, Griffin M, Wan DC, Longaker MT. Wound healing, fibroblast heterogeneity, and fibrosis. **Cell Stem Cell.** 2022 Aug 4;29(8):1161-1180. doi: 10.1016/j.stem.2022.07.006. PMID: 35931028; PMCID: PMC9357250.

Tang, H. Liu, C. Gao, L. Mu, S. Yang, M. Rong, Z. Zhang, J. Liu, Q. Ding, R. Lai. A Small peptide with potential ability to promote wound healing. **PloS One**, 9. 2014, Article e92082, 10.1371/journal.pone.0092082.

Teplicki E, Ma Q, Castillo DE, Zarei M, Hustad AP, Chen J, Li J. The Effects of Aloe vera on Wound Healing in Cell Proliferation, Migration, and Viability. **Wounds.** 2018 Sep;30(9):263-268. PMID: 30256753.

Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. **J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.** 2000 Dec;5(1):40-6. doi: 10.1046/j.1087-0024.2000.00014.x. PMID: 11147674.

Trøstrup, H.; Thomsen, K.; Calum, H.; Hoiby, N.; Moser, C. Animal models of chronic wound care: The application of biofilms in clinical research. **Chronic Wound Care Manag. Res.** 2016, 3, 123–132.

UNODC. **World Drug Report 2021.** (2021).

Veith AP, Henderson K, Spencer A, Sligar AD, Baker AB. Therapeutic strategies for enhancing angiogenesis in wound healing. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 2019 Jun;146:97-125. doi: 10.1016/j.addr.2018.09.010. Epub 2018 Sep 26. PMID: 30267742; PMCID: PMC6435442.

Velnar, T., T. Bailey, and V. Smrkolj, The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. **J. Int. Med. Res.**, 2009. 37(5): p. 1528- 42.

Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. **J Chin Med Assoc.** 2018 Feb;81(2):94-101. doi: 10.1016/j.jcma.2017.11.002. Epub 2017 Nov 21. PMID: 29169897.

Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. **Nat Rev Immunol.** 2004 Aug;4(8):583-94. doi: 10.1038/nri1412. PMID: 15286725; PMCID: PMC2702150.

Yano, S., et al., Mechanical stretching in vitro regulates signal transduction pathways and cellular proliferation in human epidermal keratinocytes. **J. Invest. Dermatol.**, 2004. 122(3): p. 783-90.

## ANEXOS

As Tabelas S1, S2, S3, S4, S5 e S6 são apresentadas, a seguir, como material suplementar.

**TABELA S1 – Estratégia de busca nas plataformas**

DATA BASE	DESCRIPTORS	ITENS FOUND	TIME	DATE
P U B M E D	<p><i>#1 Cannabis</i></p> <p>(“cannabis”[MeSH Terms] OR  “cannabis”[TIAB] OR  “cannabidiol”[MeSH Terms] OR  “cannabidiol”[TIAB] OR “medical  marijuana”[MeSH Terms] OR “medical  marijuana”[TIAB] OR “medical  cannabis”[TIAB] OR  “cannabinoids”[MeSH Terms] OR  “cannabinoids”[TIAB] OR “receptors,  cannabinoid”[MeSH Terms] OR  “cannabinoid receptor”[TIAB] OR “hemp  plant”[TIAB] OR “marijuana use”[MeSH  Terms] OR “Marijuana Use”[TIAB] OR  “endocannabinoids”[MeSH Terms] OR  “endocannabinoids”[TIAB] OR  “Cannabinoid Receptor Modulators”[MeSH  Terms] OR “Cannabinoid Receptor  Modulators”[TIAB] OR “cannabinoid  receptor agonists”[MeSH Terms] OR  “cannabinoid receptor agonists”[TIAB] OR  “cannabinoid receptor agonist”[TIAB])</p>	56,188 results	16:46	29/10/ 2022
	<p><i>#2 Wound Healing</i></p> <p>(“Wound Healing”[MeSH terms] OR  “Regeneration”[MeSH terms] OR “Wound  Healing”[TIAB] OR  “Regeneration”[TIAB])</p>	371,737 results	16:48	29/10/ 2022

	<p>#3 Filtro animal</p> <p>("animal experimentation"[MeSH Terms] OR "animal experimentation"[TIAB] OR "models, animal"[MeSH Terms] OR "models, animal"[TIAB] OR "invertebrates"[MeSH Terms] OR "invertebrates"[TIAB] OR "animals"[Mesh:noexp] OR "animals"[TIAB] OR "animal population groups"[MeSH Terms] OR "animal population groups"[TIAB] OR "chordata"[MeSH Terms:noexp] OR "chordata"[TIAB] OR "chordata, nonvertebrate"[MeSH Terms] OR "chordata, nonvertebrate"[TIAB] OR "vertebrates"[MeSH Terms:noexp] OR "vertebrates"[TIAB] OR "amphibians"[MeSH Terms] OR "amphibians"[TIAB] OR "birds"[MeSH Terms] OR "birds"[TIAB] OR "fishes"[MeSH Terms] "fishes"[TIAB] OR "reptiles"[MeSH Terms] "reptiles"[TIAB] OR "mammals"[MeSH Terms:noexp] OR "mammals"[TIAB] OR "primates"[MeSH Terms:noexp] OR "primates"[TIAB] OR "artiodactyla"[MeSH Terms] OR "artiodactyla"[TIAB] OR "carnivora"[MeSH Terms] OR "carnivora"[TIAB] OR "cetacea"[MeSH Terms] OR "cetacea"[TIAB] OR "chiroptera"[MeSH Terms] OR "chiroptera"[TIAB] OR "elephants"[MeSH Terms] OR "elephants"[TIAB] OR "hyraxes"[MeSH Terms] OR "hyraxes"[TIAB] OR "insectivora"[MeSH Terms] OR "insectivora"[TIAB] OR "lagomorpha"[MeSH Terms] OR "lagomorpha"[TIAB] OR "marsupialia"[MeSH Terms] OR "marsupialia"[TIAB] OR "monotremata"[MeSH Terms] OR "monotremata"[TIAB] OR "perissodactyla"[MeSH Terms] OR "perissodactyla"[TIAB] OR "rodentia"[MeSH Terms] OR</p>	5,211,916 results	16:50	29/10/2022
--	---	-------------------	-------	------------

	"rodentia"[TIAB] OR "scandentia"[MeSH Terms] OR "scandentia"[TIAB] OR "sirenia"[MeSH Terms] OR "sirenia"[TIAB] OR "xenarthra"[MeSH Terms] OR "xenarthra"[TIAB] OR "haplorhini"[MeSH Terms:noexp] OR "haplorhini"[TIAB] OR "strepsirhini"[MeSH Terms] OR "strepsirhini"[TIAB] OR "platyrrhini"[MeSH Terms] OR "platyrrhini"[TIAB] OR "tarsii"[MeSH Terms] OR "tarsii"[TIAB] OR "catarrhini"[MeSH Terms:noexp] OR "catarrhini"[TIAB] OR "cercopithecidae"[MeSH Terms] OR "cercopithecidae"[TIAB] OR "hylobatidae"[MeSH Terms] OR "hylobatidae"[TIAB] OR "hominidae"[MeSH Terms:noexp] OR "hominidae"[TIAB] OR "gorilla gorilla"[MeSH Terms] OR "gorilla gorilla"[TIAB] OR "pan paniscus"[MeSH Terms] OR "pan paniscus"[TIAB] OR "pan troglodytes"[MeSH Terms] OR "pan troglodytes"[TIAB] OR "pongo pygmaeus"[MeSH Terms] OR "pongo pygmaeus"[TIAB])			
	Combined search: #1 AND #2 AND #3	95 results	16:52	29/10/ 2022

DATA BASE	DESCRIPTORS	ITENS FOUND	TIME	DATE
W E B  O F  S C I E N C E  (Clarivate)	<i>#1 Cannabis</i> TS=cannabis OR TS=cannabidiol OR TS=medical marijuana OR TS=medical cannabis OR TS=cannabinoids OR TS=receptors, cannabinoid OR TS=cannabinoid receptor OR TS=hemp plant OR TS=marijuana use OR TS=endocannabinoids OR TS=Cannabinoid Receptor Modulators OR TS=cannabinoid receptor agonists OR TS=cannabinoid receptor agonist	69.114	17:13	29/10/ /2022
	<i>#2 Wound Healing</i> TS= wound healing OR TS= Regeneration	375.616	17:15	29/10/ 2022
	<i>#3 Animals</i> TS=mice OR TS=mouse OR TS=rat OR TS=rats OR TS=dog OR TS=dogs OR TS=rabbits OR TS=murine model OR TS=guinea pig OR TS=hamster OR TS=animal model	4.225.566	17:17	29/10/ 2022
	((#1) AND (#2 AN)D (#3))	86	17:17	29/10/ 2022

DATA BASE	DESCRIPTORS	ITENS FOUND	TIME	DATE
S C O P U S	<p><i>Cannabis: #1</i></p> <p>(TITLE-ABS-KEY("cannabis") OR TITLE-ABS-KEY("cannabidiol") OR TITLE-ABS-KEY("medical marijuana") OR TITLE-ABS-KEY("medical cannabis") OR TITLE-ABS-KEY("cannabinoids") OR TITLE-ABS-KEY("receptors, cannabinoid") OR TITLE-ABS-KEY("hemp plant") OR TITLE-ABS-KEY("marijuana use") OR TITLE-ABS-KEY("endocannabinoids") OR TITLE-ABS-KEY("endocannabinoid") OR TITLE-ABS-KEY("cannabinoid receptor modulators") OR TITLE-ABS-KEY("cannabinoid receptor agonists") OR TITLE-ABS-KEY("cannabinoid receptor agonist"))</p>	89,024	17:35	29/10/ 2022
	<p>#2 Wound Healing</p> <p>(TITLE-ABS-KEY ("wound healing") OR TITLE-ABS-KEY ("Regeneration"))</p>	536,542	17:35	29/10/ 2022
	<p>Combined search: #1 AND #2</p> <p>Limited to: Animal Model</p>	55	17:37	29/10/ 2022

**TABELAS *IN VIVO*****TABELA S2 – Características dos modelos animais**

Authors	Country	Animal	Strain	Sex	Age	Weight
Koyama et al, 2019	EUA	Mice	C57BL/6J e CB2	?	8-10 wk	?
Du et al, 2018	England	Mice	Balb/C	♂	8 wk	22-28g
Shan-Shan Li et al, 2016	China	Mice	Balb/C	♂	7-9 wk	22-28g
Zheng et al, 2012	China	Mice	Balb/C	♂	?	35-40 g
McIver et al, 2020	Australia	Horse	Standardbred	3♂ - 3♀	136-521 wk	?
Wohlman et al, 2016	EUA	Mice	CD-1	♀	8-10 wk	?
		Mice	CRL: SKH1-Hr	♂	5 wk	?
Wang et al, 2016	China	Mice	Balb/C	♂	8 wk	20-25g

**TABELA S3 – Características da lesão**

Authors	Lesion	Site	Initial area	Number	Infection
Koyama et al, 2019	Excision	Dorsum	5 cm D	1	Uninfected
Du et al, 2018	Incision	Dorsum	1,5x1cm	1	Uninfected
Shan-Shan Li et al, 2016	Excision	Dorsum	6mm D	2	Uninfected
Zheng et al, 2012	Excision	Dorsum	1,5x1 cm	1	Uninfected
McIver et al, 2020	Excision	Dorsum of paw	2,5cm <sup>2</sup>	5	Infection
Wohlman et al, 2016	Sulfur mustard	Two 6-millimeter diameter glass microfiber filters/Dorsum	?	2	Uninfected
	nitrogen mustard	dorsal vapor cup		2	
Wang et al, 2016	Excision	Dorsum	6mm D	2	Uninfected

TABELA S4 – Característica da intervenção

Authors	Substance characterist	Treatment	Vehicle	Route	Application	Treatment time	Concentration
Koyama et al, 2019	syntetic	$\beta$ -caryophyllene	olive oil	Topic	Once daily	5 d	0,05ml
Du et al, 2018	syntetic	GP1a	DMSO, Tween, physiological saline	IP	Once daily	1, 3, 5, 7, 9d	3mg/kg/day
		AM630					
		JWH133					
Shan-Shan Li et al, 2016	syntetic	GP1a	DMSO, Tween-80, physiological saline	IP	Once daily	12h e 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 17 e 21 d	3mg/kg/day
		AM630					
Zheng et al, 2012	unattended	análise de receptor e presença de células	<b>Não se aplica</b>	<b>Não se aplica</b>	<b>Não se aplica</b>	21	?
McIver et al, 2020	in natura	CBD	UMF-5, UMF-20 or saline	Topic	Once daily	41 d	1%
Wohlman et al, 2016	unattended	análise de receptor e presença de células	<b>Não se aplica</b>	<b>Não se aplica</b>	<b>Não se aplica</b>	?	?
Wang et al, 2016	syntetic	GP1a	DMSO, Tween, physiological saline	IP	?	21 d	3mg/kg
		AM630					

TABELAS *IN VITRO*

TABELA S5 – Características das células

Authors	Country	Cell type	Cell lineage	Source	Culture Medium
Ramot et al., 2013	Germany	Keratinocytes	KCs HaCaT humanos imortalizados	?	DMEM + 10% de soro fetal bovino + antibióticos
Koyama et al, 2019	EUA	Keratinocyte, Fibro.	C57BL/6 mice	Pele Ratos	DMSO
Bort et al, 2017	Spain or USA	Keratinocyte, Fibro.	?	USC Prof	DMEM-F12
Wang et al, 2016	China	Keratinocytes	HaCat KCs	?	DMSO
Descalzi et al, 2012	Italy	Keratinocytes	NCTC2444	ICLC	MEM-EBSS
Del Rio et al, 2016	Spain	Keratinocytes, Fibro.	NIH-3T3; HEK-293TCB; NHDFs; MEFs	?	DMEM
Paradisi et al, 2007	Italy	Keratinocytes	HaCat KCs	?	MEM-F12
Wilkinson et al, 2006	UK	Keratinocytes	NHEK; HPV-16 E6 E7 transf	ATCC	EpiLife
Sugawara et al,	Germany	MCs/ células	?	Human scalp	Willian's E medium
Tóth et al, 2011	Hungary	Keratinocytes	NHEK	?	soro EpiLife SUplementado com insulina 1µM, cortisol 1µM, 100µgml <sup>-1</sup> estreptomicina, 100uM <sup>-1</sup> penicilina, 50uM <sup>-1</sup> anfotericina B, extrato de hipófise bovina a 0,4% e 0,06mM CaCl <sub>2</sub>
			HaCat KCs	?	DMEM suplementado com 10% de soro fetal de

					bezerro, 2mM L-glutamina e antibióticos
Maccarrone et al, 2003	Italy	Keratinocytes	HaCat KCs; NHEK	German Cancer Research Center	1: 1 de meio essencial mínimo e meio F-12 de Ham com 10% fetal soro de bezerro e 1% de aminoácidos não essenciais

**TABELA S6 – Características da intervenção**

Authors	Intervention	Dose	Pre-treatment/ Treatment	Incubation period
Ramot et al., 2013	ACEA	1µM	?	8h
Koyama et al, 2019	BCP; AM630; JWH133	23uM-10uM; 7,9uM; 1uM	?	24h
Bort et al, 2017	JW015; AM281; AM630	0,05; 0,1; 0,5; 1,0 uM	1uM, 0,2% DMSO in PBS	24h
Wang et al, 2016	AM630; GP1a	0,2; 1; 5; 25uM	0,1% DMSO	24h
Descalzi et al, 2012	PRP; IL-1a; PRP+IL-1a	20uM; 30uM	?	24h+24h
Del Rio et al, 2016	AM630; WIN55,212-2; TGBFb1; CBD; HU331; VCE004.8	10uM	10ng/ml mitomycin C	1h+48h; 24h+36
Paradisi et al, 2007	AEA; 5AC	1uM	TPA+Ca	24h+5d
Wilkinson et al, 2006	THC; CBD; CBN; CBG	20uM	DMSO	24h+72h
Sugawara et al,	AEA ou ACEA	30uM	?	24h
	composto 48/80 + AEA ou ACEA	10uM		48H
	substância P + AEA ou ACEA	10uM		48H
Tóth et al, 2011	AEA; AM251	0-30uM	10% de soro fetal de bezerro, 2mM L-glutamina e antibióticos	14 dias
Maccarrone et al, 2003	AEA	10uM	TPA 10ng/ml + CaCl 1,2 mM	5 dias