

Tolerância, efeitos secundários e segurança da administração de canabinóides em cães

Dissertação

Mestrado em Enfermagem Veterinária de Animais de Companhia

INÊS ALEXANDRA REBELO RIJO

Orientador: Lina Costa

Co-orientador: Laura Hurtado

Elvas, 2023

INÊS ALEXANDRA REBELO RIJO

Tolerância, efeitos secundários e segurança da administração de Canabinóides em cães

Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em Enfermagem Veterinária de Animais de Companhia conferido pelo Instituto Politécnico de Portalegre.

Orientador: Professora Lina Costa

Arguente principal: Catarina Falcão Trigo Vieira Branco Lavrador,
Universidade de Évora

Presidente do Júri: Prof. Doutor José Manuel Rato Nunes (Presidente do
CTC)

Classificação: 18 valores

Escola Superior Agrária de Elvas
2023

Agradecimentos

Apesar de existirmos como seres individuais, há sempre algo ou, neste caso, alguém que nos inspira e nos constrói ao longo da nossa vida, mudando parte da nossa essência. Tive a sorte de ter conhecido e ter por perto ao longo do meu percurso profissional (e pessoal) esse "alguém", que me ajudou e me transformou desde o primeiro dia em que comecei a exercer como enfermeira veterinária. Por isso, agradeço com todas as minhas forças à Professora Dra. Ângela Martins por ter sempre acreditado em mim, por vezes mais do que eu própria, e me ter permitido chegar onde cheguei.

Resumo

Nos últimos anos, os canabinóides têm sido alvo de estudo na área da medicina veterinária devido às suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. Contudo, a sua utilização continua a ser alvo de estudo em animais de companhia. A presente dissertação foi realizada com base nos dados obtidos no Hospital Veterinário da Arrábida, durante o período de um mês, com a finalidade de verificar a tolerabilidade, segurança e efeitos secundários associados à administração de óleo de canabidiol na dose anti-inflamatória em cães. Vinte e quatro cães com alterações osteoarticulares foram avaliados por um médico veterinário diplomado e submetidos ao estudo, com monitorização de análises séricas alanina aminotransferase e fosfatase alcalina (ALT e ALKP) em T0 (primeiro dia), T1 (décimo quinto dia) e T2 (trigésimo dia). Em T0 e T2 foram também avaliados a partir de *check-list* neurológica e quanto aos sinais gastrointestinais. A vinte e quatro cães, com idade média de 7.8 (± 2.8) anos e 20.5 (± 11.9) kg, foi prescrito 5 mg/kg BID de óleo de canabidiol durante quatro semanas. Foram ainda realizados questionários aos tutores em T2 relativamente à palatibilidade e tolerabilidade. Na *check-list* neurológica em T2, 95.84% (23/24) não apresentaram alterações. Relativamente às transaminases, apenas 16.7% (4/24) durante 4 semanas não demonstraram alteração, verificando-se fosfatase alcalina aumentada em 70.8% (17/24) (em T1) e em 20.8% (5/24) (em T2), fundamentando a monitorização sérica ao longo das 4 semanas terapêuticas. Aproximadamente 50% (12/24) dos tutores indicaram o produto palatável e em 37.5% (9/24) observou-se aumento de apetite. O stress gastrointestinal foi residual. Apesar do estudo realizado sugerir boa tolerabilidade, segurança e promotor de bem-estar à administração de óleo de canabidiol, o estudo deve ser continuado.

Palavras-chave: alanina aminotransferase; canabidiol; dor; efeitos secundários; fosfatase alcalina; tolerabilidade.

Abstract

In the last years, cannabinoids (CBD) have been under several studies in the veterinary medicine field, due to its analgesic and anti-inflammatory properties. However, its use is still under investigation in small animals. This dissertation was performed regarding data obtained from Arrábida Veterinary Hospital, during 1 month, to test tolerability, safety and side effects concerning the administration of CBD oil in dogs using anti-inflammatory dose. Twenty-four dogs with osteoarticular disease were evaluated by an ECVSMR diplomate and admitted to the study with blood measurement of ALT and ALKP at T0 (1st day), T1 (15th day) and T2 (30th day). In T0 and T2, they were evaluated with a neurological exam check-list and registration of gastrointestinal signs. For 24 dogs, with a mean age of 7.8 (± 2.8) years and a mean weight of 20.5 (± 11.9) kg, it was prescribed 5 mg/kg of CBD oil (BID), during 4 weeks. The owners also answered a form about tolerability and palatability in T2. Regarding neurological check-list in T2, 95.84% (23/24) didn't show intolerance signs, although only 16.7% (4/24) didn't show transaminase alterations after the 4 weeks administration. ALKP values were increased in 70.8% (in T1) and 20.8% (in T2), supporting the importance of serum monitoring during 4 therapeutic weeks. Nearly 50% of the owners reported that the product was palatable and in 37.5% there was an increase in appetite. Gastrointestinal stress was residual. Despite the study suggesting good tolerability, safety and well-being promotion of the CBD oil, the study must be continued.

Key words: alanine aminotransferase; alkaline phosphatase; canabidiol; pain; side effects; tolerability.

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

Δ 9-THC - extrato de delta-9-tetrahydrocannabinol
2-AG - 2-araquidonilglicerol
2-AGE - éter gliceril 2-araquidónico
4-OH-CBD – 4 hidroxicanabidiol
5-HT_{1a} – 5-hidroxitriptamina 1a
5-HT_{3a} - 5-hidroxitriptamina 3a
6 α -OH-CBD – 6 α hidroxicanabidiol
6 β -OH-CBD – 6 β hidroxicanabidiol
7-OH-CBD – 7 hidroxicanabidiol
AEA – anandamida
AINE – Anti-inflamatório não esteróide
ALKP - fosfatase alcalina
ALT – Alanina Aminotransferase
Ca²⁺ - cálcio
cAMP - adenosina monofosfato cíclica
CB₁ - recetor canabinóide 1
CB₂ - recetor canabinóide 2
CBD – cannabidiol
CBDa – ácido canabidiólico
CBG - canabigerol
CBS - canabinóides sintéticos
COX-2 – ciclo-oxigenase 2
CYP450 - complexo citocromo P450
DHA - Ácido docosaexaenoico
EC - endocanabinóides
ECVSMR - *European College of Veterinary Sports Medicine and Rehabilitation*
EPA - Ácido eicosapentaenoico
FAAH - *fatty acid amide hydrolase* (ácido gordo amida hidrólase)
FABP – *fatty acid binding protein* (proteína de ligação a ácidos gordos)
GABA - ácido gama-aminobutírico
GLRA3 – recetor glicina alfa 3
GM-CSF – fator estimulador de granulócitos macrófagos
GPCR - recetor acoplado à proteína G
GPR110 - recetor acoplado à proteína G 110
GPR19 - recetor acoplado à proteína G 19
GPR55 - recetor acoplado à proteína G 55
IL-10 - interleucina-10
IL-12 - interleucina-12
IL-15 - interleucina-15
IL-17 - interleucina-17
IL-18 - interleucina-18
IL-6 - interleucina-6
INF- γ - interferon γ

INF-c - interferon c
Kg - quilograma
LPS - lipopolissacarídeos
MAGLs - lipase monoacilglicerol
MAPK - *mitogen activated protein kinase*
Mg - miligrama
mg/kg – miligrama por kilo
NADA - dopamina N-araquidónico
ng/ml – nanograma por mililitro
NOS-2 - óxido nítrico sintase
OEA - oleoiletanolamida
OMS - Organização Mundial de Saúde
PEA - palmitoiletanolamida
PO – *per os*
PPAR - recetor ativado por peroxissoma proliferador
PPAR - recetor nuclear ativado por proliferador de peroxissoma
PPAR-g - recetor ativado por peroxissoma proliferador g
PPAR α - recetor nuclear ativado por proliferador de peroxissoma α
PPAR γ - recetor nuclear ativado por proliferador de peroxissoma γ
SEC - sistema endocanabinoide
SNC - sistema nervoso central
SNP - sistema nervoso periférico
THC - tetraidrocannabinol
THCa – ácido tetraidrocannabinólico
TNF- α - fator de necrose tumoral α
TRPA1 - recetor potencial transitório subfamília A 1
TRPM8 - recetor potencial transitório subfamília M 8
TRPV - recetor potencial transitório vaniloide
TRPV1 - recetor potencial transitório vaniloide 1
TRPV2 - recetor potencial transitório vaniloide 2
TRPV3 - recetor potencial transitório vaniloide 3
TRPV4 - recetor potencial transitório vaniloide 4
U/L – microlitro por litro Unidades por Litro?
VRI - recetor vaniloide 1

Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo.....	ii
Abstract.....	iii
Abreviaturas, Siglas e Acrónimos.....	iv
Índice Geral.....	vi
Índice de Tabelas.....	viii
Índice de Figuras.....	ix
1. Introdução e Objetivos.....	1
1.1. Introdução	1
1.2. Objetivos.....	2
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1. Composição da planta de Canábis.....	3
2.2. Sistema endocanabinóide.....	4
2.3. Recetores canabinóides.....	5
2.4. Modulação dos recetores canabinóides	7
2.5. Eficácia e tolerabilidade do CBD.....	9
2.6. Farmacocinética do CBD	12
2.7. Produtos naturais medicinais à base de canábis	15
2.8. Toxicologia dos canabinóides sintéticos.....	17
2.9. O sistema endocanabinóide e a sua abordagem terapêutica.....	18
3. Material e métodos.....	23
3.1. Material.....	23
3.2. Métodos	24
3.3. Análise estatística.....	25
4. Resultados.....	27
5. Discussão.....	30
6. Conclusão	35
7. Bibliografia.....	36
8. Anexos.....	45
.....	47

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição das variáveis contínuas idade e peso da população em estudo (n=24)..... 27

Tabela 2 - Análise descritiva dos valores séricos das transaminases (ALT e ALKP) nos vários períodos temporais do estudo. N – Normal; ↓ - Diminuído; ↑ - Aumentado.... 28

Índice de Figuras

Figura 1 – Protec sativa, Phycus Pharma (bringing welfare to pets).....	24
Figura 2 - Diagrama do desenho do estudo – T0 (admissão); T1 (15 dias); T2 (30 dias); Q1 – Questionário aos tutores – palatibilidade; Q2 – Questionário aos tutores - Tolerabilidade.....	25
Figura 3 – Evolução da média de valores séricos de ALT e ALKP. T0 (admissão); T1 (2 semanas); T2 (4 semanas); ALT – Alanina aminotransferase; ALKP – Fosfatase Alcalina; ALT_G1 – Grupo 1 com alteração dos níveis séricos de ALT; ALT_G2 – Grupo 2 sem alteração nos níveis séricos de ALT; ALKP_G1 – Grupo 1 com alteração dos níveis séricos de ALKP; ALKP_G2 – Grupo 2 sem alteração dos níveis séricos de ALKP.	29

I. Introdução e Objetivos

I.1. Introdução

Nos últimos anos os canabinóides têm sido alvo de estudo na área da medicina veterinária, tendo sido realizados diversos ensaios clínicos nas últimas décadas no âmbito da sua utilização em diversas doenças, resultando na aprovação de produtos derivados da canábis como o dronabinol, nabilona, o extrato de delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) e o canabidiol (CBD) (Miranda-Cortés et al., 2023). Segundo Briyne e seus colaboradores (2021) o CBD, que é extraído da planta *Cannabis sativa*, foi considerado um canabinóide lipídico sem características psicoativas. Este canabinóide está presente em grandes quantidades no cânhamo que, por sua vez, é cultivado para utilização em suplementos nutricionais (Kogan et al., 2019; Wakshlag et al., 2020), apresentando um efeito imunomodulador, analgésico, anti-nocicetivo e anti-inflamatório, atuando como antagonista alostérico não competitivo dos recetores canabinóides (Brioschi et al., 2020) presentes no sistema endocanabinóide.

O CBD tem vindo a ser explorado como alternativa às terapias convencionais no tratamento de doenças em animais de companhia, onde estudos realizados demonstraram ter uma boa biodisponibilidade e segurança com poucos efeitos secundários em doses fisiológicas (Alvarenga et al., 2023), nomeadamente quando administrado durante 1 a 3 meses em doses que variam entre os 0,5 e 1,2 mg/kg uma vez por dia ou 2 a 10 mg/kg duas vezes por dia, tendo sido reportado o aparecimento de efeitos secundários como o aumento da fosfatase alcalina (ALKP) e o aparecimento de distúrbios gastrointestinais (Vaughn et al., 2021).

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de descrever os mecanismos de ação do CBD em cães, com base nos estudos científicos existentes, e assim, abordar a composição, farmacocinética, segurança e efeitos secundários associados à sua administração em animais de companhia, com base na recolha de informação por parte dos tutores bem como análises bioquímicas realizadas aos doentes em questão.

1.2. Objetivos

O objetivo do presente estudo prospectivo observacional será demonstrar qual a tolerância, a segurança e os efeitos secundários relacionados com a administração oral de canabinóides na dose anti-inflamatória em cães com osteoartrite ou alterações articulares pós-cirúrgicas decorrentes de trauma.

Desta forma, serve o presente estudo para comprovar a seguinte hipótese: a administração de canabinóides na dose anti-inflamatória em cães é tolerável, segura e não apresenta efeitos secundários graves associados.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Composição da planta de Canábis

A *Cannabis* é uma erva de origem asiática da família *Cannabaceae*, nomeadamente da família do cânhamo. Esta erva por sua vez, consoante as suas características, divide-se em três espécies diferentes - *Cannabis ruderalis*, *Cannabis indica* e *Cannabis sativa*, sendo esta última a mais conhecida. Relativamente às plantas de cannabis descritas, todas elas possuem compostos químicos naturais denominados canabinóides que por sua vez se ligam aos recetores canabinóides (De Briyne et al., 2021) presentes no sistema endocanabinóide (SEC) (Atalay et al., 2019). Na década de 90 demonstrou-se que os canabinóides regulam a libertação de neurotransmissores como a dopamina, a noradrenalina, a acetilcolina e a serotonina, para além do glutamato e do ácido gama-aminobutírico (GABA) (Riquelme-Sandoval et al., 2020).

A *Cannabis Sativa* possui mais de 100 moléculas ativas canabinóides (fitocanabinoides) (Yu e Rupasinghe, 2021), sendo as mais abundantes o tetrahydrocannabinol (THC) e em seguida o canabidiol (CBD) (Schilling et al., 2020; Yu e Rupasinghe, 2021).

O THC é um dos canabinóides mais conhecidos (Schilling et al., 2020) que, dependendo da sua concentração na planta de cannabis, irá conferir a designação de cânhamo ou marijuana (De Briyne et al., 2021), ou seja, segundo Schilling e seus colaboradores (2020), se os níveis de THC forem superiores a aproximadamente 20% e apresentar características alucinogénias, é considerada marijuana e se os níveis de THC forem inferiores a 20%, sem características alucinogénias denomina-se cânhamo.

O CBD, cujo interesse científico aumentou nos últimos anos segundo Briyne e seus colaboradores (2021), é extraído da planta *Cannabis sativa* e é considerado um canabinóide lipídico sem características psicoativas. Este canabinóide está presente em grandes quantidades no cânhamo que, por sua vez, é cultivado para utilização em suplementos nutricionais (Kogan et al., 2019; Wakshlag et al., 2020).

2.2. Sistema endocanabinóide

O SEC foi descoberto perto dos anos 90 como resultado de estudos realizados para perceber a ação do THC no sistema nervoso, nomeadamente devido ao facto de este ser ativado através da sua ligação a dois recetores membranares endógenos que permaneciam desconhecidos até então. Após a clonagem, caracterização e identificação do recetor canabinóide 1 (CB1), surgiu o recetor canabinóide 2 (CB2), ambos recetores endocanabinóides acoplados à proteína G (GPCR) (Alvarenga et al., 2023; Bruni et al., 2018; Devinsky et al., 2014; Lu e Mackie, 2020). Existem outros 4 recetores que também fazem parte do SEC, nomeadamente o recetor acoplado à proteína G55 (GPR55); o recetor acoplado à proteína G 19 (GPR19); o recetor potencial transitório vanilóide (TRPV) e o recetor ativado por peroxissoma proliferador (PPAR) (Di Salvo et al., 2023). Para além dos recetores endocanabinóides, o SEC é composto por lípidos endógenos denominados endocanabinóides (EC), sendo os mais conhecidos o anandamida (AEA) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG), assim como pelas enzimas responsáveis pela sua síntese e degradação (Riquelme-Sandoval et al., 2020; Yu e Rupasinghe, 2021; Brutlag et al., 2018; Miranda-Cortés et al., 2023; Bruni et al., 2018; Bruni et al., 2018).

Os EC são pequenas moléculas de sinalização de natureza lipídica, não restritas ao sistema nervoso central (SNC), sendo também produzidos nos astrócitos, microglia e células estaminais (Riquelme-Sandoval et al., 2020). Ao contrário dos outros neurotransmissores, como a norepinefrina ou a acetilcolina que são hidrofílicas e são armazenadas nas vesículas intracelulares, os EC são lipofílicos e produzidos a partir do ácido araquidónico na membrana celular com o auxílio das suas enzimas biossintéticas. Este tipo de atividade na produção de EC garante que a sinalização endocanabinóide seja estritamente controlada no local da atividade e com uma curta duração da mesma (Abramovici et al., 2018). O seu transporte é realizado pela proteína de ligação a ácidos gordos (FABP), que é a proteína de transporte necessária para a deslocação de moléculas lipofílicas como os ácidos gordos e os EC para os locais de atividade ou degradação. O FABP tem também afinidade com fitocanabinóides altamente lipofílicos, como o CBD, sendo responsável pelo seu transporte até aos recetores canabinóides, e é desta forma que o CBD consegue competir com a absorção de AEA pelo FABP, aumentando o

tempo médio de vida dos EC a nível sérico, conferindo ao CBD a habilidade de potenciar a sinalização endocanabinóide no corpo. Esta proteína é também responsável pelo transporte dos fitocanabinóides para dentro da célula, onde irão ser degradados pela enzima citocromo P450 (Elmes et al., 2018). A desativação endocanabinóide é efetuada por enzimas degradativas específicas, sendo o AEA desativado maioritariamente pela hidrolase de amida de ácidos gordos (FAAH - *fatty acid amide hydrolase*) no citoplasma do retículo endoplasmático e o 2-AG desativado pela lipase monoacilglicerol (MAGLs) na membrana celular (Yu e Rupasinghe, 2021; Abramovici et al., 2018).

Os EC vão ativar os recetores canabinóides a nível celular, mas também têm o poder de ativar outros GPR, recetores nucleares e canais iónicos (Lu e Mackie, 2020).

Outro grupo de lípidos também considerados endocanabinóides são os ácidos gordos etanolamidas, os ácidos gordos primeiros amidas e as moléculas relacionadas com o monoacilglicerol. Recentemente demonstrou-se que a família das hemopressinas peptídicas derivadas da hemoglobina são também uma nova família de endocanabinóides (Riquelme-Sandoval et al., 2020).

2.3. Recetores canabinóides

Os recetores canabinóides CBI e CB2, identificados como fazendo parte da família GPCRs, têm uma distribuição espacial e anatómica distinta e única, com variações individuais entre espécies. Ambos estão presentes em alguns tecidos simultaneamente, com diferentes efeitos, mas de forma sinérgica (Gaynor et al., 2021, p.3; Yu e Rupasinghe, 2021).

O recetor CBI encontra-se maioritariamente distribuído pelo SNC e está localizado entre as membranas lipídicas dos neurónios (De Briyne et al., 2021; Yu e Rupasinghe, 2021; Riquelme-Sandoval et al., 2020). Richardson e seus colaboradores (2008) descrevem que este recetor está também presente na medula espinhal e nas células imunitárias periféricas, embora esteja também presente, numa concentração mais reduzida, na periferia da maior parte dos tecidos e algumas células, incluindo o coração, vasos sanguíneos, fígado, pulmões, sistema digestivo, gordura e espermatozoides (Mackie, 2008; Yu e Rupasinghe, 2021). Este recetor vai inibir a atuação da adenosina monofosfato cíclica (cAMP) e estimular a modelação do controlo dos canais de cálcio e

de potássio através da ativação da *mitogen activated protein kinase* (MAPK), resultando na inibição da libertação dos neurotransmissores, tanto excitatórios como inibitórios (Bruni et al., 2018; Sánchez-Aparicio et al., 2020; De Briyne et al., 2021). Briyne e seus colaboradores (2021) referem que foi evidenciada uma variação anatómica entre espécies relativamente à localização deste recetor nos cães, assim como, existe uma densidade maior de recetores CB1 no cerebelo dos cães quando comparado com outras espécies estudadas.

Por outro lado, o recetor CB2 apesar de ser pouco comum no SNC, tem uma concentração elevada no sistema nervoso periférico (SNP), no sistema hematopoiético e no sistema imunitário, onde desempenha um papel importante na regulação da inflamação e da dor, através da libertação de citocinas (Richardson et al. 2018; De Briyne et al., 2021; Yu e Rupasinghe, 2021; Riquelme-Sandoval et al., 2020). Nomeadamente, conforme indica Sánchez-Aparicio e seus colaboradores (2020), estudos realizados demonstraram que a analgesia a partir do CB2 está relacionada com o SNP sem efeitos no SNC, conferindo assim propriedades anti-nocetivas sem efeitos psicoativos. O mesmo autor indica que segundo alguns estudos, os recetores CB2 demonstraram propriedades imunomoduladoras, modificando a resposta inflamatória nas doenças articulares degenerativas crónicas ou progressivas, assim como, poderão estar presentes em maior quantidade nos cães. Os recetores CB2 estão presentes na superfície de muitas células imunitárias, e vários modelos experimentais demonstraram efeitos imunomoduladores do sistema endocanabinóide. O CB2 está também altamente expresso na microglia, assim como nos astrócitos, oligodendrocitos, células estaminais neurais e progenitoras, elementos vasculares no cérebro e até neurónios. O CB2 foi identificado inicialmente na periferia do SNP e só mais tarde no tronco cerebral e neurónios cerebelares. A expressão do CB2 foi observada também noutras áreas do SNC (Riquelme-Sandoval et al., 2020).

Os sinais dos recetores CB1 e CB2 são pleiotrópicos e dependem do tipo de célula, localização anatómica e estado funcional da célula. Apesar do seu papel importante na regulação da libertação de neurotransmissores, os canabinoides também estão envolvidos no controlo do ciclo celular, do metabolismo celular, da sobrevivência celular, do seu destino e apoptose (Howlet 2017). Os recetores canabinoides são também capazes de se agrupar a diferentes famílias de proteínas G, sugerindo que

respostas intracelulares diferentes possam ser ativadas dependendo da ligação, num mecanismo conhecido como funcionalidade seletiva ou agonismo tendencioso. Este último implica que ligantes estruturalmente diferentes possam induzir diversas conformações do recetor, o que poderá favorecer uma das possíveis vias de sinalização acima das outras (Busquets-Garcia et al., 2015).

Apesar de os efeitos biológicos dos canabinóides serem maioritariamente mediados pelo CB1 e CB2, foram descritas novas famílias de recetores que se podem ligar e ser modulados por compostos canabinóides denominados recetores canabinóides não canónicos, considerados altamente heterogéneos. Este grupo é composto por GPCRs como GPR55, GPR19 e GPR10; família de recetores nucleares ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR α ; PPAR γ e PPAR δ); recetores ionotróficos como os membros da subfamília V do canal potencial de recetor transitório e da subfamília A (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4 e TRPA1), o membro 8 da subfamília M (TRPM8) e os canais iónicos para neurotransmissores como o recetor serotonina 1A, glicina e o recetor GABA_A (ácido gama-aminobutírico) (Riquelme-Sandoval et al., 2020).

Considerando que os EC interagem com múltiplos recetores, é difícil ativar diretamente os recetores CB1 e CB2 sem afetar outros recetores. Desde que exista expressão heterogénea dos recetores canabinóides em diferentes ambientes celulares, os mesmos ligantes canabinóides podem produzir respostas biológicas diversas através tanto de recetores canabinóides como recetores canabinóides não canónicos, despoletando diferentes vias de sinalização. É importante sublinhar que os recetores canabinóides expressos em diferentes tipos de células têm efeitos diferentes que podem levar a uma abordagem específica da célula ao tratamento (Riquelme-Sandoval et al., 2020; Busquets-Garcia et al., 2015).

2.4. Modulação dos recetores canabinóides

O AEA e o 2-AG são o gatilho endógeno primordial que ativa os recetores canabinóides, embora outras moléculas endógenas como o palmitoiletanolamida (PEA) e o oleoiletanolamida (OEA) também tenham um efeito canabimimético. Estas moléculas são consideradas idênticas aos endocanabinóides, tendo afinidade para ligação com os recetores nucleares PPAR α e γ que podem potenciar o efeito do AEA através de

inibição competitiva dos FAAH, semelhante ao que se verifica com o CBD, assim como um efeito modulatório alostérico no TRPV. O efeito que estas moléculas têm no SEC ao potenciar a ação ou o nível sérico de EC é um efeito sinérgico, que inclui a interação de componentes ativos da *cannabis sativa* (fitocanabinóides, terpenes e flavonoides) com o SEC (Abramovici et al. 2018).

O AEA é um agonista parcial dos recetores CBI e CB2, tendo menos afinidade com este último. Por outro lado, o 2-AG é um agonista mais eficaz relativamente ao CBI do que o AEA assim como em relação ao CB2 (Gaynor et al., 2021, p.2), e quando necessário são produzidos por enzimas biossintéticas nas membranas neurais pós-sinápticas, após ativação a partir do aumento do nível de iões de cálcio (Yu e Rupasinghe, 2021).

O AEA por um lado está envolvido em 3 processos, nomeadamente, na supressão da dor ao ativar o CBI levando à inibição dos sinais da dor na sinapse; transformando-se diretamente pela enzima COX-2 em prostamidas analgésicas; e ativando o CB2 e outros recetores que interferem com a inflamação. Por outro lado, o 2-AG está implicado na modulação descendente da dor durante o stress agudo (Yu e Rupasinghe, 2021).

No sistema nervoso, os EC são produzidos na membrana pós-sináptica devido ao aumento da concentração de cálcio (Ca^{2+}) intracelular, secundária a um sinal de despolarização, a um estímulo fisiológico ou desencadeado por um processo patológico. (Miranda-Cortés et al., 2023). Uma vez libertados, viajam de forma retrógrada pela fenda sináptica até à membrana pré-sináptica onde se irão ligar aos recetores CBI e CB2 acoplados às proteínas G (Yu e Rupasinghe, 2021; Riquelme-Sandoval et al., 2020; Brutlag et al., 2018; Alvarenga et al., 2023), e mediar a libertação de neurotransmissores levando à rápida modulação inibitória dos neurotransmissores, que por sua vez vão comandar os processos biológicos essenciais, como a neuroplasticidade, dor, ansiedade, inflamação, neuro-inflamação, memória, função imunitária, regulação metabólica e crescimento ósseo (Yu e Rupasinghe, 2021; Alvarenga et al., 2023), ou seja, modulando a transmissão sináptica por supressão da libertação de transmissores de modo transitório ou duradouro com sinapses excitatórias (glutamato) ou inibitórias (GABA) por todo o SNC (Riquelme-Sandoval et al., 2020). Os EC promovem assim a homeostasia através da

modulação de respostas de stress fisiológicas (Alvarenga et al., 2023; Atalay et al., 2019), promovendo a regulação e modulação da nocicepção, do metabolismo lipídico, gastrointestinal e cardiovascular e da função motora (Miranda-Cortés et al., 2023).

Agonistas alostéricos ou não-competitivos vão bloquear a sinalização dos GPCRs ao se ligarem a um local alostérico bloqueando a conformação associada a esse local de ligação do agonista, bloqueando assim a ativação do GPCR. Esta ativação pode ser bloqueada por um agonista inverso que, tal como um antagonista alostérico, vai bloquear a ativação do recetor através de um sinal autócrino ou parácrino. Desta forma, um sinal basal específico de um determinado tecido na ausência da ligação agonista é descrito como sendo um sinal tónico, e um sinal fásico resulta da ligação direta do agonista ao local ortostérico (Gaynor et al., 2021, p.7). O AEA é o endocanabinoide que regula o sinal basal sinático e o 2-AG é a molécula agonista de sinalização fásica. A modulação endocanabinóide resulta de um nível individual de AEA e 2-AG com base na sua síntese, degradação e na densidade espacial dos receptores endocanabinoides presentes no corpo. O nível de EC vai manter a homeostasia, regular a dor e o metabolismo (Matias et al. 2005).

Foi descoberto que o recetor CB1 pode formar homo e heterodímeros com outros GPCRs, como receptores dopaminérgicos, receptores de adenosina, receptores opioides, e orexina. O CB1 também podem formar homo e heterodímeros com CB2 em várias regiões do cérebro (Riquelme-Sandoval et al., 2020)

Canabinoides derivados de plantas também podem atuar como moduladores alostéricos (Alvarenga et al., 2023)

A sinalização mediada por receptores canabinoides não só depende de efetores de ativação direta do recetor, como também de complexos de sinalização maiores, que incluem outros moduladores parecidos com proteínas mediadoras de desensitização e internalização (Riquelme-Sandoval et al., 2020).

2.5. Eficácia e tolerabilidade do canabidiol

As pesquisas e estudos de controlo referentes ao CBD foram realizados maioritariamente sobre a sua eficácia no manejo da dor, nomeadamente na dor crónica

e neuropática, como tratamento inovador e emergente nesta área, devido à sua capacidade de conseguir atuar a nível periférico e central (Miranda-Cortés et al., 2023).

A maior parte dos estudos realizados, referentes à eficácia e tolerabilidade da administração de CBD durante curtos períodos em cães saudáveis, demonstra que foi bem tolerado por parte dos mesmos com o aparecimento de poucos efeitos secundários. Relativamente à administração de CBD durante períodos longos, existe uma grande lacuna nos estudos científicos realizados no que respeita à eficácia e segurança, tendo cada um deles utilizado doses diferentes, nomeadamente, doses mais elevadas nos estudos sobre segurança e doses mais baixas nos estudos sobre a eficácia. Sendo que o CBD é distribuído rapidamente pelo sistema devido à sua propriedade lipofílica, em animais saudáveis os resultados farmacocinéticos preliminares normalmente demonstram segurança na utilização de CBD (Yu e Rupasinghe, 2021; Di Salvo et al., 2023; Rocca e Di Salvo, 2020; Hunstman et al., 2019).

Embora esteja descrito que a suplementação com CBD em cães é normalmente bem tolerada, estando associada ao aparecimento de muito poucos efeitos secundários leves, sejam eles gastrointestinais ou neurológicos, existem muitos estudos que referem um aumento na fosfatase alcalina (ALKP) associada à suplementação com CBD em doses que variam entre os 2 mg/kg e os 10 mg/kg cada 12 horas durante períodos de 4 a 12 semanas, o que pode indicar lesão ou alteração na função hepática (Yu e Rupasinghe, 2021; Klatzkow et al., 2022; Miranda-Cortés et al., 2023; Bradley et al., 2022; Gamble et al., 2018; Vaughn et al., 2021; Wakshlag et al., 2020) Este aumento da ALKP após administração de CBD pode também estar relacionado com a indução de enzimas microssomais hepáticas mediada pelo citocromo P450, sem causar lesão hepática (Yu e Rupasinghe, 2021; Miranda-Cortés et al., 2023; Di Salvo et al., 2023; Alvarenga et al., 2023; Wakshlag et al., 2020). Esta elevação normalmente retorna aos valores basais após um período sem administração de CBD (Di Salvo et al., 2023)

Os efeitos secundários mais descritos estão relacionados com transtornos gastrointestinais leves, designadamente ptialismo, náusea, perda de apetite, vómito e fezes moles. Este tipo de efeitos pode estar relacionado não só com a dose administrada, mas também com o tempo de exposição ao suplemento e ao tipo de produto, nomeadamente a composição do produto baseado em CBD ou o facto deste não ser

palatável (Miranda-Cortés et al., 2023; Di Salvo et al., 2023; Alvarenga et al., 2023; Bradley et al., 2022; Vaughn et al., 2021).

Atualmente, ainda não se estabeleceu uma dose tóxica nos estudos realizados até à atualidade, tendo sido bem toleradas por cães doses de 20mg/kg PO cada 12 horas durante 6 semanas (Vaughn et al., 2021); 4mg/kg cada 24 horas durante 6 meses e doses de 2mg/kg cada 12 horas durante 12 semanas (Klatzkow et al., 2022; Bradley et al., 2022), não existindo por isso registos sobre uma dose média letal (Miranda-Cortés et al., 2023; Di Salvo et al., 2023). Contudo, num estudo realizado onde foi administrado óleo de CBD na dose de 30,5mg/kg foram observados efeitos como letargia, hipotermia, ataxia e protrusão da terceira pálpebra, não tendo sido necessária intervenção médica para a sua resolução (Miranda-Cortés et al., 2023). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) concluiu, o CBD é geralmente bem tolerado com um bom perfil de segurança e toxicidade relativamente baixa (Vaughn et al., 2021).

Enquanto que o CBD sozinho não provocou efeitos secundários significativos, quando administrado em conjunto com THC, dependendo da dose, foram observados efeitos adversos graves e sinais neurológicos (hiperestesia/ défices proprioceptivos), sugerindo que quando administrados sinergicamente, o CBD potencia em vez de antagonizar os efeitos psicoativos e fisiológicos do THC. A mesma elevação de ALKP observada na suplementação só com CBD foi também reportada na suplementação de CBD em conjunto com THC. Vaughn e os colegas (2021) supuseram que a interação entre CBD e THC pode-se dever ao facto de o CBD alterar o efeito do THC através de mudanças na absorção, distribuição (farmacocinética), e/ou o CBD modifica o efeito do THC através de efeitos aditivos, sinérgicos ou antagonistas (farmacodinâmica) (Yu e Rupasinghe, 2021).

Alguns estudos demonstraram que o CBD exerce efeitos imunossupressores que são terapêuticos em doenças auto-imunes, sabendo ainda assim que a utilização de CBD é controversa em animais imunodeprimidos (Yu e Rupasinghe, 2021). De notar que apesar de existir vários relatos de alterações a nível das enzimas hepáticas durante a administração de CBD a curto prazo, não existem atualmente dados que indiquem toxicocinética relacionada com a administração crónica em animais de companhia (Vaughn et al., 2021).

Os fármacos normalmente utilizados para o manejo da dor, como os AINEs (anti-inflamatórios não esteroides), os opióides e os corticoesteróides podem causar vários efeitos adversos como a nível renal, cardiovascular, gastrointestinal e hepático, sendo que no caso dos opióides pode mesmo causar adição, depressão respiratória e até mesmo a morte. Como alternativa, deve-se considerar e explorar o potencial do CBD no manejo da dor, sendo que está descrito não causar adição, não ter propriedades psicoativas e por ser bem tolerado na maior parte dos estudos efetuados (Yu e Rupasinghe, 2021; Miranda-Cortés et al., 2023).

O CBD deve, no entanto, ser evitado em cadelas gestantes, a amamentar e em cachorros com menos de 8 semanas de idade (Miranda-Cortés et al., 2023).

2.6. Farmacocinética do canabidiol

Os dois maiores fitocannabinóides na planta de canábis, THC e CBD, têm propriedades farmacocinéticas semelhantes, mas dispõem de diferentes propriedades farmacodinâmicas. O THC interage diretamente com o CB1 e o CB2 como um recetor agonista parcial. THC consegue atuar tanto como agonista como antagonista do recetor CB1 para mediar os efeitos psicoativos, enquanto que os efeitos imunológicos e anti-inflamatórios estão relacionados com a ativação do CB2. Por outro lado, o CBD demonstra uma fraca afinidade para os dois subtipos de recetores por ser um modelador alostérico negativo no local ortostérico do CB1 e que alteram a potência e eficácia da ligação ortostérica sem ativar o recetor. Da mesma forma, o CBD antagoniza o agonista CB1/CB2, o que permite a interação com os recetores no cérebro com baixas concentrações de CBD. À parte dos recetores CB1 e CB2, o CBD também exerce o seu efeito através da interação com outros recetores, como PPAR-g anti-inflamatório; recetor glicina alfa 3 (GLRA3) analgésico; serotonina 5-HT1a e 5-HT3a (5-hidroxitriptamina) anti-depressivos e ansiolíticos; e os recetores vaniloides 1 (VRI) analgésico. Apesar de todo o mecanismo farmacológico do CBD ainda estar por elucidar, é notório que o CBD exerce diversos efeitos em múltiplos sistemas do organismo demonstrando efeitos potenciais anti-epiléticos e ansiolíticos, anti-inflamatórios e analgésicos através da modulação do SEC (Yu e Rupasinghe, 2021).

Todos os fitocannabinóides provenientes da planta de canábis são considerados altamente lipofílicos, e esta propriedade faz com que estes compostos sejam facilmente

absorvidos pelo organismo, embora sejam mais difíceis de eliminar. Por serem lipofílicos precisam de uma biotransformação extensa e de uma circulação enterohepática significativa, levando a que em alguns estudos se tenham verificado mais do que um pico plasmático (Miranda-Cortés et al., 2023; Gaynor et al., 2021, p.31). A forma de administração, o transporte, a dose e os fatores fisiológicos (absorção, metabolismo e excreção) vão influenciar a concentração das drogas em circulação, nomeadamente como ocorre com a concentração de fitocanabinóides em circulação (Gaynor et al., 2021, p.31), sendo que em relação ao CBD, independentemente da dose, este e os seus metabolitos aparecem rapidamente no plasma (Taylor et al., 2018).

A absorção sistémica após a administração oral demora aproximadamente 1 a 2 horas. Outras formas de administração, que não passam por biotransformação, resultam conseqüentemente numa absorção mais rápida e em concentrações plasmáticas mais elevadas, mas podem diminuir o tempo médio de vida do composto (Gaynor et al., 2021, p.32; Miranda-Cortés et al., 2023). Quando a administração do CBD é oral ou intravenosa, este vai-se ligar a lipoproteínas, albuminas e eritrócitos assim que chegam à corrente sanguínea (Miranda-Cortés et al., 2023).

Para medicamentos (suplementos) como o CBD, que têm uma absorção oral relativamente lenta, o pico de concentração plasmática diminui rapidamente devido à sua distribuição a nível central e periférica, assim como o metabolismo hepático destes compostos causa também uma rápida diminuição dos seus níveis no plasma com uma duração do seu efeito durante 30 minutos a 1 hora após ser administrado. Estes compostos distribuem-se rapidamente e de forma equilibrada pelo tecido adiposo, cérebro, coração, fígado, pulmão e baço. Embora o pico plasmático diminua rapidamente, os compartimentos pelos quais os fitocanabinóides se distribuem atuam como reservatórios, que os irão libertar de volta à circulação por um período mais extenso. A existência deste tipo de metabolismo faz com que a concentração deste composto se prolongue por mais tempo, conforme descrevem alguns estudos farmacocinéticos (Taylor et al., 2018; Brutlag et al., 2018; Miranda-Cortés et al., 2023). Tecidos com uma baixa perfusão acumulam estes compostos mais lentamente e vão libertando durante um período mais longo, sendo que quase 95% destes compostos são de ligação proteica (Gaynor et al., 2021).

A via metabólica mais comum dos fitocanabinóides é o metabolismo hepático, primeiramente pela hidroxilação e oxidação microsomal catalizada pelas enzimas do complexo citocromo P450 (CYP 450) (Gaynor et al., 2021). O cérebro, intestinos e pulmões são os primeiros locais extra-hepáticos onde os fitocanabinóides podem ser metabolizados (Miranda-Cortés et al., 2023). Em relação ao CBD, a primeira via metabólica é a hidroxilação para 7-OH-CBD que é seguidamente metabolizada resultando em metabolitos maiores de CBD (6 α -OH-, 6 β -OH-, 7-OH-, e 4''-OH-CBDs) (Ujváry et al., 2016).

Os efeitos do CBD no cão estão descritos como sendo proporcionais à dose administrada, onde quanto maior a dose e a concentração plasmática, maior a eficácia. Na dose de 2 mg/kg BID, o CBD oral tem uma pequena meia-vida que varia de 1 a 4 horas, a máxima concentração no soro varia de 102 a 301 ng/ml e o tempo para atingir a máxima concentração sérica varia de 1,4 a 1,5 horas (Yu e Rupasinghe, 2021). Quando se comparam as três formas de administração, nomeadamente gotas orais de óleo microencapsulado, a infusão de óleo de CBD oral ou o creme de infusão de CBD transdérmico na orelha, os autores descrevem uma absorção transdérmica incompleta e baixa concentração plasmática nos cães que fizeram este tratamento. Na verdade, a administração oral de óleo de infusão de CBD demonstrou o melhor perfil farmacocinético com maior concentração sérica e exposição sistêmica. Contudo, foi anteriormente descrita uma baixa biodisponibilidade da administração oral de CBD, possivelmente devido ao efeito de primeira passagem (metabolização da droga no fígado antes de alcançar o sistema circulatório) (Yu e Rupasinghe, 2021; Della Rocca et al., 2023).

A ação do CBD no alívio da dor aparenta ser dose dependente conforme demonstrado em modelos experimentais em dor pós-operatória, dor por artrite e por osteoartrite. Contudo, está descrito que uma grande variedade de doses (0,3-4,12 mg/kg) foi necessária para atingir efeitos analgésicos no manejo da dor crônica na osteoartrite canina, onde alguns reagiram positivamente a pequenas doses de CBD enquanto que outros necessitaram de doses mais elevadas para atingir o mesmo efeito, sugerindo diferente tolerância à dor em cães e necessidade de diferentes doses. Nos diferentes estudos evidenciou-se sempre a presença da elevação das enzimas hepáticas

tanto em cães saudáveis como em cães com osteoartrite, sugerindo a necessidade de se estudar melhor a segurança quanto à administração de CBD a longo prazo, nomeadamente quanto à hepatotoxicidade (Yu e Rupasinghe, 2021).

Com base no efeito sinérgico, é provável que a utilização de múltiplos compostos confira propriedades protetoras a nível hepático, contudo, são necessários mais estudos neste sentido (Wakshlag et al. 2020).

Alimentos com elevado teor lipídico ingeridos na altura da administração do CBD pode aumentar a secreção de ácidos biliares, o que vai solubilizar a droga e elevar a absorção via transporte pelas barreiras hidrofóbicas. Sendo o CBD um produto lipofílico com baixa solubilidade aquosa, quando administrado com alimento e por via oral transmucosa supostamente aumenta a sua biodisponibilidade, maximizando-a e diminuindo a exposição sistémica ao CBD, permitindo uma redução na dose administrada. A absorção do CBD por esta via ao permitir uma rápida absorção pela mucosa oral, vai evitar a primeira passagem metabólica ou outros problemas relacionados com a absorção gastrointestinal, assim como o aumento da biodisponibilidade permite uma redução na dose administrada (Taylor et al., 2018; Della Rocca et al., 2023; Rocca e Di Salvo, 2020). Contudo, não se pode descartar a possibilidade de em alguns casos a biodisponibilidade não melhorar considerando que o acto de salivar ou engolir pode afetar a absorção pela mucosa oral (Della Rocca et al., 2023). Os parâmetros farmacocinéticos podem também ser influenciados pelos produtos utilizados na preparação dos extratos (Miranda-Cortés et al., 2023).

2.7. Produtos naturais medicinais à base de cânabis

Está descrito que o SEC tem um papel importante na homeostasia, e que a planta Cânabis Sativa tem o potencial de trabalhar em conjunto com este sistema como inibidor enzimático ou como mediador das interações com os recetores que podem influenciar muitas doenças (Ukai et al., 2023)

O cânhamo ou a cânabis é uma planta pertencente à família *Cannabaceae*, cuja designação é *Cannabis Sativa*, de onde se podem isolar mais de 100 diferentes tipos de canabinoides, sendo o primeiro composto psicoativo a ser isolado na sua forma pura o THC. Outros análogos farmacológicos importantes a ser isolados da planta foram o

CBD, o canabinol, o canabigerol e a canabividaína (Rocca e Di Salvo, 2020; Bruni et al., 2018).

A canábis contém nos seus vários componentes um número considerável de ingredientes ativos, nomeadamente os fitocanabinóides, os terpenes e terpenóides, e os flavonóides, assim como ácidos gordos saturados e insaturados, proteínas, carboidratos, clorofila, vitaminas e minerais. Qualquer um destes constituintes pode ser classificado como nutriente, nutracêutico ou farmacológico, tendo a sua utilização vindo a ganhar interesse clínico nos últimos anos, devido ao efeito sinérgico existente que causou impacto na farmacocinética, segurança e eficácia de produtos à base de canábis (Rocca e Di Salvo, 2020; De Briyne et al., 2021; Miranda-Cortés et al., 2023; Di Salvo et al., 2023).

Entre os muitos fitocanabinóides que provêm da canábis, um dos maiores responsáveis pelos efeitos terapêuticos é o THC que também é conhecido por ser responsável pelos efeitos psicotrópicos da planta, e o CBD que não é psicoativo e aparentemente consegue mitigar esse efeito do THC (Rocca e Di Salvo, 2020; Miranda-Cortés et al., 2023; De Briyne et al., 2021). Durante o crescimento da planta, estes canabinóides estão presentes na sua forma ácida (THCa e CBDa), que após descarboxilação por calor se transformam em THC e CBD. Apesar de a maior parte dos estudos clínicos incidir no CBD e THC, começa a surgir um maior interesse clínico noutros componentes, como o THCa e o CBDa (Rocca e Di Salvo, 2020; De Briyne et al., 2021; Brutlag et al., 2018; Klatzkow et al., 2022). Estudos recentes demonstraram que tanto o THCa como o CBDa têm uma absorção superior em cães em comparação ao CBD, ou seja, demonstrou-se que o CBDa aumenta o nível sérico da concentração de CBD com uma dose de CBD baixa devido à absorção e retenção de CBD e CBDa, levando ao efeito “entourage” onde o CBDa trabalha sinérgicamente com o CBD, levando a uma diminuição da dose de produto composto por CBD/CBDa necessário para alcançar efeitos terapêuticos semelhantes aos adquiridos com o produto CBD puro (Klatzkow et al., 2022; Ukai et al., 2023).

Alguns autores descrevem que a presença de outros fitocanabinóides, como os terpenes e os flavonóides, vão contribuir para a atividade terapêutica do CBD e THC, pois aparentemente potenciam o seu efeito terapêutico graças ao efeito “entourage”, ou seja vão fazer com que ocorra um aumento na afinidade dos mediadores EC

endógenos para os seus recetores e diminuindo a sua inativação metabólica (Rocca e Di Salvo, 2020; De Briyne et al., 2021)

O CBDa (ácido canabidiólico) é um derivado do CBD e atua como um COX2 seletivo e como inibidor da prostaglandina H2 sintase, demonstrando propriedades anti-inflamatórias, o que sugere que a sua ação pode-se dever à fraca afinidade com os recetores CBI e CB2. Em relação aos recetores TRPA1 e TRPVI, à semelhança do CBD, o CBDa tem uma ação agonista, podendo designar-se como sendo um componente efetivo na analgesia, considerando que a atividade do TRPVI está relacionada com o stress oxidativo e com a inflamação.

Da mesma forma, outro derivado do CBD como a canabidivarina (análoga ao CBD) exibe também fraca afinidade com o CBI e CB2, contudo, demonstrou ter um efeito antagonista no recetor GPR55, levando possivelmente a um efeito anticonvulsivo.

Outro fitocanabinóide natural é o *Cannabimovone* que tem também baixa afinidade com os recetores CBI e CB2, mas apresenta uma afinidade significativa com o TRPVI.

O canabigerol (CBG) como sendo outro derivado do CBD demonstrou que consegue ativar o TRPVI assim como o 5-HT_{1A} e como tal tem efeitos antidepressivos e anti-inflamatórios em doenças intestinais. Este composto consegue também ligar-se ao PPAR γ e aumentar a sua atividade de transcrição, levando a uma redução significativa da secreção de mediadores inflamatórios como as IL-6 (interleucina-6) e o TNF- α (fator de necrose tumoral α) (Atalay et al., 2019).

2.8. Toxicologia dos canabinóides sintéticos

Os canabinóides sintéticos (CBS), criados há algumas décadas atrás, tornaram-se populares para uso recreativo nos anos 2000, sendo considerada uma droga legal. Estes compostos têm uma afinidade elevada para os recetores canabinóides tal como a marijuana, resultando em mais efeitos adversos, nomeadamente, vão ativar o recetor CBI e o CB2. Os CBS são dissolvidos em solventes e adicionados a planta seca para esta ser queimada e fumada como alternativa à marijuana (Brutlag et al., 2018; Kelmer et al., 2021).

Embora os registos dos efeitos dos CBS nos animais sejam limitados, foram reportados sinais semelhantes aos observados em humanos, e a exposição dos animais

a estes compostos normalmente ocorre por ingestão, ou menos frequente, inalação. Um estudo realizado com um cão e o seu tutor, ambos expostos a CBS, descreve o aparecimento de hiperestesia, tremores, miose, resposta exagerada a estímulos, ataxia, atividade convulsiva, agressão e acidose respiratória ligeira no cão, tendo sido semelhantes os sinais ocorridos no tutor. Noutro caso clínico de uma intoxicação com CBS os sinais que surgiram passaram por ataxia progressiva, estado mental alterado, hipotermia, estupor, agressão intermitente e rápida progressão dos sinais para um estado comatoso, com apneia, tremores e opistótonos (Williams et al., 2015). Os sinais descritos em estudos realizados em animais em conjunto com os seus tutores, foram maioritariamente tremores, ataxia e convulsões, requerendo em alguns casos anestesia e ventilação mecânica para controlar as convulsões (Kelmer et al., 2021). O tratamento para a intoxicação com CBS é semelhante ao tratamento administrado nos humanos, passando por um manejo sintomático e de suporte com cessação da administração da droga, sendo que não existe antídoto. Para ajudar na descontaminação do trato gastrointestinal, é aconselhada a terapêutica com carvão ativado. Em caso de agitação ou convulsões, deve-se recorrer à administração de fármacos sedativos, associada à ventilação mecânica sendo que com o tratamento podem ocorrer períodos de hipoventilação ou apneia (Williams et al., 2015).

A farmacocinética dos CBS aparenta ser semelhante à dos canabinóides naturais e a sua biodisponibilidade oral é aparentemente baixa e semelhante à do THC e do CBD, devido a estudos realizados em pessoas que indicaram efeitos médios de curta duração após ingestão inadvertida de alimentos confeccionados com CBS (Brutlag et al., 2018).

2.9. O sistema endocanabinóide e a sua abordagem terapêutica

Os canabinóides endógenos produzem efeitos antinocicetivos a nível periférico, medular e supraespinhal. Periféricamente, os EC inibem a despolarização das fibras aferentes primárias e modulam a degranulação dos mastócitos ao interagirem com os recetores CB1 e CB2 e com outros como TRPV1, GPR55, GPR119 e PPAR- α . Estas interações levam a uma diminuição da condução das fibras nociceptivas e a uma diminuição da libertação de mediadores pro-inflamatórios e pro-dor, seguido de uma redução na resposta inflamatória e da dor. Na medula, estudo de ensaios experimentais

sugerem que os canabinóides aumentam o limite nociceptivo e reduzem a ampla e dinâmica ação dos neurónios ao interagir com os recetores CBI medulares. A nível supraespinhal, os canabinóides podem atuar através da ativação do controlo inibitório descendente e conseqüente modulação da atividade dos neurónios medulares (Di Salvo et al., 2023).

Os endocanabinóides como o AEA e o 2-AG são libertados após sinapse, sendo os primeiros a responder a uma lesão ativando os recetores canabinóides na pré-sinapse, que por sua vez vão regular as interações neuroimunes e modular a dor através de diferentes meios, nomeadamente, causando uma rápida modulação inibitória dos neurotransmissores responsáveis pela promoção de vários processos biológicos como a dor, inflamação, imunidade, crescimento ósseo e ansiedade (Alvarenga et al., 2023) O AEA atua de três formas importantes: como supressor da dor ao ativar o recetor CBI para inibir os sinais de dor na sinapse; é transformado diretamente em prostamida para alívio da dor, a partir da enzima COX-2 e ativa o recetor CB2 e outros recetores que vão intervir na inflamação. Por outro lado, o 2-AG está envolvido na modulação descendente da dor durante o stress agudo (Yu e Rupasinghe, 2021).

Em 1992, o AEA; o 2-AG; o éter gliceril 2-araquidónico (2-AGE), o etanolamina 0-araquidónico e o dopamina N-araquidónico (NADA) foram identificados como sendo agonistas endógenos dos recetores canabinóides, sendo estas moléculas produzidas localmente na membrana celular por hidrólise de ácidos gordos polissaturados. Quando os recetores de glutamato são ativados ou em resposta a um aumento de Ca^{2+} (cálcio) intracelular, estas moléculas são libertadas por neurónios pós-sinácticos devido a despolarização (Miranda-Cortés et al., 2023).

Estudos realizados demonstram que o SEC está ligado à via nociceptiva, onde os recetores se encontram nas fibras da dor descentes e ascendentes. Estes recetores foram também encontrados no sistema nervoso central nos neurónios GABA enérgicos pré e pós sinácticos na superfície dendrítica e somática do cerebelo, no hipocampo, no córtex cerebral e na medula, sendo estas estruturas envolvidas na modulação da dor (Miranda-Cortés et al., 2023).

Os estudos realizados em cães com osteoartrite (OA) demonstraram eficácia clínica, quando administrado o CBD na dose de 2mg/Kg ou 2,5mg/kg cada 12h/24 horas promovendo o aumento do conforto e da atividade física, provando ser um tratamento eficaz na dor crônica (Gamble et al., 2018; Rocca e Di Salvo, 2020; Kogan et al., 2020; Gugliandolo et al., 2021; Yu e Rupasinghe, 2021; Klatzkow et al., 2022; Della Rocca et al., 2023; Miranda-Cortés et al., 2023). Outro estudo realizado demonstra, através de relatos dos tutores, que houve uma redução significativa da dor assim como um aumento na mobilidade em cães de grande porte com OA após suplementação com CBD em doses que variaram entre 0,5 a 1,2mg/kg durante 4 semanas, sem recurso a outros anti-inflamatórios, conforme descreve Alvarenga e os seus colaboradores (2023). Contudo, a autora refere que em dois outros estudos realizados em cães com OA, quando medicados com CBD na dose de 2 mg/kg cada 12 horas durante 4 a 12 semanas, demonstraram também uma diminuição significativa da dor e um aumento na atividade, mas que em ambos os estudos a maior parte dos cães estava a ser medicado com anti-inflamatórios durante esse período, sugerindo um efeito benéfico do CBD quando administrado com anti-inflamatórios (Alvarenga et al., 2023). Segundo os autores Yu e Rupasinghe (2021) o CBD vai atenuar a inflamação pois atua na supressão de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas como TNF- α , GM-CSF, IFN- γ , IL-10 e IL-6; limita a infiltração celular imunitária; induz a apoptose das células T; inibe a proliferação da célula T efetora e promove a proliferação da célula T reguladora (Yu e Rupasinghe, 2021). Está descrito também que a ativação seletiva dos recetores CB2 promove efeitos antinociceptivos, anti-inflamatórios e neuroprotetores em cães não só com OA, como também com lesão medular e com neuropatias, pois à medida que ativam efeitos anti-alodínicos, vão inibir a hiperatividade das fibras aferentes primárias e diminuir a libertação de neurotransmissores que atuam nos nociceptores, criando uma regulação positiva no corno dorsal da medula na presença de dor neuropática ou inflamatória (Miranda-Cortés et al., 2023; Woodhams et al., 2018).

Estudos realizados evidenciam que o SEC participa ativamente na patofisiologia da dor associada à osteoartrite. A produção e libertação de EC durante a doença inflamatória articular é mediada pelo aparecimento de citocinas pro inflamatórias (INF-c; IL-12; IL-15; IL-17; IL-18), quimiocinas, mediadores químicos como NOS-2 (óxido

nítrico sintase), COX-2 e outros produtos metabólicos do ácido araquidónico (Bruni et al., 2018).

No que respeita ao potencial da utilização de CBD como tratamento em doentes oncológicos, a literatura existente é reduzida, contudo está provado que exerce um efeito antiemético e antineoplásico, assim como pode reduzir os sintomas associados ao cancro e ainda induzir a apoptose celular (Alvarenga et al., 2023). Noutros estudos a eficácia clínica do CBD no tratamento da dor oncológica em cães foi provada após se demonstrar a presença das reações nociceptivas que resultam de um estímulo das vias aferentes viscerais e somáticas que estão na origem da dor neuropática, onde o recetor CB2 está envolvido, nomeadamente nos processos imunitários ao inibir a libertação de citocinas, controlando assim a dor oncológica (Miranda-Cortés et al., 2023).

Considerando que as reações inflamatórias são comuns em doentes oncológicos, normalmente estas podem ser tratadas com recurso a opióides e AINEs, levando ao aparecimento de fadiga, diminuição na mobilidade, desordens cognitivas e urinárias e síndrome paraneoplásico relacionado com a dor. A utilização de derivados naturais como o CBD pode oferecer uma alternativa segura para o controlo da dor nestes doentes (Miranda-Cortés et al., 2023).

Miranda-Cortés e seus colaboradores (2023) descrevem que o uso de CBD pode diminuir a tolerância e manter a resposta a outra drogas administradas, como opióides utilizados para tratar a dor crónica ou aguda, testado em modelos de ratos. Desta forma, a suplementação com CBD foi sugerida como maneio multimodal da dor, sem efeitos secundários no trato gastrointestinal ou na filtração glomerular. Os mesmos autores concluíram que não houve alterações significativas na marcha ou no nível de atividade quando o CBD foi administrado como monoterapia, descrevendo que desta forma o CBD não é tão eficaz no maneio da dor e da analgesia como quando administrado em conjunto com outros fármacos (Miranda-Cortés et al., 2023). Contudo, os mesmos autores sugerem que as propriedades lipofílicas dos canabinóides permitem que estes consigam atravessar facilmente a barreira hematoencefálica levando à analgesia, tornando-os assim efetivos no maneio da dor, apesar de ainda persistirem duvidas se o mecanismo do controlo da dor pelo CBD ocorre como resultado do agonismo com os recetores CB1 e CB2 ou devido aos efeitos causados pela interação com os neuromodeladores e inibição dos neurotransmissores como o glutamato, a dopamina,

as prostaglandinas, a acetilcolina, os GABA, a histamina, a noradrenalina e dos opióides endógenos peptídicos envolvidos na modelação da dor. Desta forma, a utilização de canabinóides naturais e sintéticos tem vindo a ser objeto de estudo nos animais de companhia devido ao facto de inibirem a secreção de neurotransmissores e iões responsáveis pela modelação, projeção e percepção da dor (Miranda-Cortés et al., 2023).

Relativamente a cães com epilepsia, alguns estudos demonstraram que o CBD exerce efeitos anticonvulsivos, nomeadamente através da potencialização do sinal endocanabinóide, seja pela inibição da hidrólise ou pelo aumento da mobilização do cálcio que vai interagir com recetores específicos (Alvarenga et al., 2023; Gugliandolo et al., 2021), ou seja, ao haver modulação dos canais de cálcio, vai haver uma redução da entrada de cálcio e consequentemente da libertação de glutamato que é dependente do mesmo. Sendo este mediador o primeiro neurotransmissor excitatório do SNC e estando o excesso da sua transmissão relacionado com a epilepsia, esta redução na sua libertação induzida pelos canabinóides vai levar a efeitos anticonvulsivos (Di Salvo et al., 2023). Está descrito que doses elevadas de CBD exercem um efeito neuroprotetor que pode ajudar no tratamento ou diminuição das consequências relacionadas com a epilepsia (Gugliandolo et al., 2021; Alvarenga et al., 2023; Di Salvo et al., 2023).

Para além dos recetores canabinóides, descobriu-se recentemente que o CBD tem influência noutros recetores, incluindo o recetor da serotonina 5-HT_{1A} e o recetor TRPV-1, conhecidos por regular comportamentos relacionados com o medo e com a ansiedade (Yu e Rupasinghe, 2021; Alvarenga et al., 2023). O CBD vai atuar como agonista indireto do CBI e assim reduzir o medo levando a um feedback negativo a respostas de stress, assim como prevenir consequências ansiolíticas de stress crónico. Este efeito ansiolítico da ativação ou modulação alostérica dos recetores 5-HT_{1A} pelo CBD ainda não está bem explicado pois parece depender da região cerebral e localização dos recetores 5-HT_{1A} nos neurónios pré e pós sinápticos (Alvarenga et al., 2023).

O SEC com todos os seus componentes é considerado muito importante na homeostasia da pele, pois foi descrito que este exerce um papel protetor contra a inflamação dermatológica, prurido e dor, graças ao envolvimento do endocanabinóide palmitoletanolamida (PEA). Os recetores CBI e CB2 têm expressão nos queratinócitos caninos, com maior imunoreatividade para o CBI do que para o CB2 em cães atópicos do que em cães saudáveis (Di Salvo et al., 2023).

3. Material e métodos

3.1. Material

O presente estudo prospetivo observacional foi efetuado em 35 cães no hospital veterinário da Arrábida em Portugal, tendo sido aprovado pelo 13/2023 ORBEA – Instituto Politécnico de Portalegre (anexo 1), e com consentimento por escrito de todos os tutores (anexo 2). Os cães foram incluídos no presente estudo independentemente da idade, peso, sexo e raça, mediante apresentação de história e exame físico de sinais de osteoartrite (OA) ou alterações articulares resultantes de abordagens cirúrgicas por etiologia de trauma. Em T0 foram incluídos apenas os cães cujos níveis séricos das transaminases estavam dentro dos valores de referência (ALT 10-125 U/L; ALKP 23-212 U/L), e que compareceram a todos os momentos de avaliação (T1 e T2). Foram incluídos cães a realizar suplementação com nutracêuticos.

No presente estudo foram excluídos cães com outras etiologias além das mencionadas nos critérios de inclusão, assim como todos os gatos. Foram ainda excluídos todos os cães que em T0 apresentavam alterações nos níveis séricos das transaminases, tal como todos os que não cumpriram as reavaliações em T1 e T2. Todos os cães com OA que fizeram manejo da dor farmacológico (AINE; opióides; fármacos do grupo GABA) foram excluídos do estudo.

Todos os cães foram avaliados por um observador especialista Diplomado pelo *European College of Veterinary Sports Medicine and Rehabilitation* (ECVSMR), onde foi efetuada uma consulta de reabilitação funcional para posterior prescrição do canabidiol *per os*, considerando a possível administração simultânea de nutracêuticos.

A avaliação à entrada do estudo (T0), após 15 dias (T1) e à saída, ou seja, após 30 dias (T2) incluiu a mensuração dos níveis séricos das transaminases (ALT – Alanina Aminotransferase e ALKP – Fosfatase Alcalina).

Foi também realizado um questionário de tolerabilidade (Q1) (anexo 3) e um questionário de palatibilidade (Q2) (anexo 4) em T2 a todos os tutores.

Composição do produto: O CBD administrado no presente estudo pertence ao grupo dos nutracêuticos desenvolvido para apoio nutricional em processos inflamatórios degenerativos associados a dor crônica e pretende que seja obtido o bem-estar do animal. O nutracêutico é composto por: *Cannabis sativa L.* (oil obtained by pressing of hemp plants and seeds) 5mg CBD por ml; óleo de peixe concentrado (33% EPA), (22% DHA) 200mg; Curcumina (extrato raiz) 60mg; extrato seco concentrado de *Harpagophytum procumbens*, Harpago (raiz) 10mg e Vitamina E 10mg. O presente produto tem o nome comercial de Protec Sativa, produzido pela Phycus Pharma (bringing welfare to pets) (figura 1).



FIGURA I – PROTEC SATIVA, PHYCUS PHARMA (BRINGING WELFARE TO PETS)

3.2. Métodos

No presente estudo prospectivo a dose administrada foi de 5mg/kg duas vezes ao dia, por via *per os*, e registado o uso concomitante ou não de nutracêuticos (glucosamina, colagénio tipo II, condroitina, ómegas e ácido hialurónico).

Todos os cães efetuaram diariamente esta dose durante um período de 30 dias, tendo sido avaliado os questionários Q1 e Q2 em T2, assim como a avaliação sérica das transaminases em T0, T1 e T2.

A recolha sanguínea de 1ml foi realizada através de venipunctura da veia jugular, após tricotomia e assepsia com solução assética de clorhexidina 0,4%, e posterior transferência de 0,7ml de sangue para um tubo de heparina de lítio, sendo o mesmo colocado no equipamento IDEXX Catalyst One (Barcelona, Espanha). Após centrifugação, realizou-se a análise química sanguínea através dos slides correspondentes a cada bioquímica (ALT ou ALKP). Os valores de referência para a ALT foram de 10-125 U/L e de ALKP foram de 23-212 U/L, no presente estudo. Considerando os

resultados obtidos, foi dividida a amostra populacional em dois grupos: Grupo 1 (G1 - n = 20) que corresponde aos cães que apresentaram valores séricos superiores aos valores de referência e Grupo 2 (G2 - n = 4) que equivale aos cães cujos valores séricos se mantiveram dentro dos valores fisiológicos.

No presente estudo, o especialista Diplomado pelo ECVSMR avaliou em consulta (T0 e T2) os sinais clínicos neurológicos descritos na *check-list* neurológica (anexo 5) de pontuação de zero e um (fisiológico e alterado, respetivamente), composta por avaliação do comportamento, estado mental, propriocepção consciente, propriocepção subconsciente, presença de *knuckling*, avaliação de marcha, presença de incontinência urinária, alteração da reação de ameaça e do reflexo pupilar à luz. A *check-list* neurológica foi realizada de modo a evidenciar os efeitos secundários da administração diária do CBD. Para além disto, foram avaliados sinais gastro-intestinais (anexo 6) como hipersialia, vômito e diarreia pelo mesmo especialista em consulta (T0 e T2). Na figura 2 encontra-se a representação do desenho do estudo.

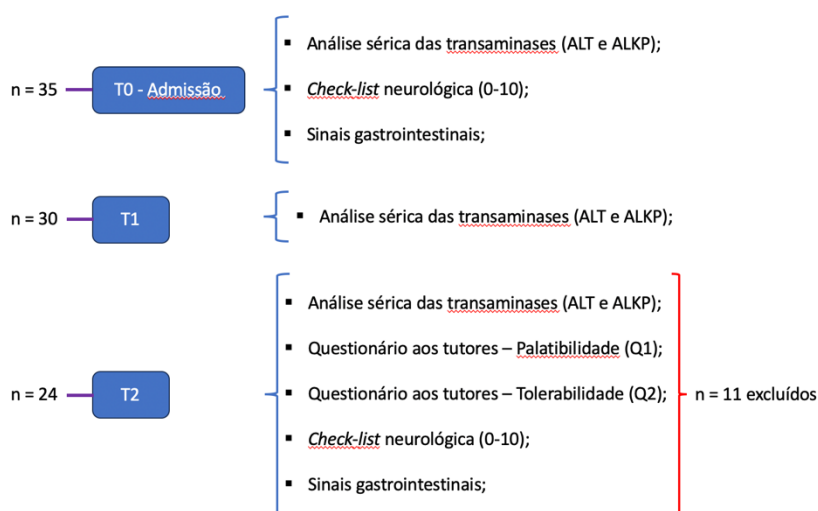


FIGURA 2 - DIAGRAMA DO DESENHO DO ESTUDO – T0 (ADMISSÃO); T1 (15 DIAS); T2 (30 DIAS); Q1 – QUESTIONÁRIO AOS TUTORES – PALATIBILIDADE; Q2 – QUESTIONÁRIO AOS TUTORES - TOLERABILIDADE

3.3. Análise estatística

A análise estatística realizada recorreu ao programa informático Microsoft Office Excel 2018 ® (Microsoft EUA) para introdução da base de dados relativa ao presente

estudo. Os dados foram processados e a respetiva análise estatística recorreu ao programa *Statistical Package for the Social Sciences*®, versão 22.0 (IBM, EUA).

A idade, o peso e a análise sérica das transaminases (ALT e ALKP) foram as variáveis quantitativas contínuas analisadas de modo descritivo com avaliação da média aritmética, moda, mediana, mínimo, máximo, desvio padrão, variância e *Standard Error of Mean* (SEM).

A análise de frequências foi realizada às variáveis categóricas nominais sexo, raça, análise sérica das transaminases (valores fisiológicos/patológicos), administração concomitante de nutracêuticos (sim/não), *check-list* neurológica (com/sem alterações), sinais gastrointestinais (presente/ausente) e resultados dos questionários Q1 e Q2 (respostas sim/não).

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($n < 50$) foi realizado para as variáveis quantitativas contínuas de idade e peso, considerando um $p > 0,05$ como indicativo de distribuição normal da população em estudo. Testes de Chi-quadrado foram realizados com a finalidade de apurar analogias relevantes entre as variáveis categóricas em estudo, confirmadas por valores de $p < 0,05$.

4. Resultados

O presente estudo prospectivo observacional, incluiu 35 cães, dos quais 5 foram excluídos por ausência de níveis séricos das transaminases no período temporal T1 e 6 devido a ausência de questionários Q1 e Q2 em T2.

Na amostra populacional de 24 cães (n= 24), 62.5% (15/24) eram machos e 37.5% (9/24) eram fêmeas. Quanto ao sexo, verificou-se ainda que 45.8% (11/24) tinham realizado previamente cirurgia eletiva de orquiectomia/ovariohisterectomia (6 machos e 5 fêmeas).

As variáveis contínuas idade e peso apresentaram uma média de 7.8 (± 2.8) anos e 20.5 (± 11.9) kg, respetivamente (tabela I).

Tabela I – Distribuição das variáveis contínuas idade e peso da população em estudo (n=24)

	Média	Moda	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Variância	SEM
Idade	7.8	6	7	2	13	2.8	8.1	0.6
Peso	20.5	10	20	8	50	11.9	141.7	2.4

SEM - Standard Error of Mean

A população apresentou quanto à variável categórica raça 54.2% (13/24) de cães com raça definida, das quais a raça com maior prevalência foi o labrador (n=3), seguida do buldogue francês (n=2), epagneul breton (n=2), barbado da terceira (n=1), basset Hound (n=1), braco alemão de pêlo curto (n=1), pastor alemão (n=1), pincher (n=1) e pug (n=1). Os cães de raça indefinida corresponderam a 45.8% (11/24).

O tratamento concomitante com nutracêuticos ocorreu em 83.3% (20/24) dos doentes em estudo.

A população em estudo apresentou normalidade no teste de Shapiro-Wilk (para $n < 50$) relativamente à variável quantitativa contínua idade ($p=0.377$), o mesmo não foi observado quanto à variável quantitativa contínua peso ($p=0.011$).

Na *chek-list* neurológica não foram observadas alterações em 95.84% (23/24) dos cães, durante as 4 semanas. Um doente apresentou hiperatividade em T2. Este doente

apresentava idade e peso inferiores à média dos doentes em estudo e apresentou alterações nas transaminases (ALT e ALKP) somente em T1.

Os sinais gastrointestinais surgiram apenas em T2 onde 33.3% (8/24) apresentaram diarreias, 16.7% (4/24) vômitos e 12.5% (3/24) hipersíalía.

Relativamente ao sinal clínico de vômito, verificou-se que 3 dos doentes realizaram tratamento com nutracêuticos no mesmo período temporal [$\chi^2(1, N=24)=0,240$, $p=0,624$], tal como os 8 doentes que apresentaram sinal clínico de diarreia [$\chi^2(1, N=24)=2,400$, $p=0,121$], embora não tenham sido encontradas diferenças significativas pelo teste de Chi-quadrado ($p>0.05$).

A maior parte dos sinais gastrointestinais estiveram associados a um aumento das transaminases (ALT e ALKP) durante o período temporal do estudo, verificando-se que tanto os vômitos ($n=4$) como a hipersíalía ($n=3$) observados apresentaram alterações dos respetivos valores. Relativamente às diarreias ($n=8$), 6 cães com esta ocorrência demonstraram alterações nas transaminases durante o mesmo período.

As transaminases (ALT e ALKP) apresentaram em média um aumento dos valores séricos de T0 para T1 e redução de T1 para T2 (Tabela 2).

Tabela 2 – Análise descritiva dos valores séricos das transaminases (ALT e ALKP) nos vários períodos temporais do estudo. N – Normal; ↓ - Diminuído; ↑ - Aumentado

	T0		T1		T2	
	ALT	ALKP	ALT	ALKP	ALT	ALKP
Média	77.8	94.5	116.6	193.1	84.2	126.4
Mediana	72	73.5	127.5	218.5	77.5	114.5
Moda	59	37	123	216	70	205
Mínimo	34 – N	28 - N	45 – N	14 - ↓	36 - N	21 - ↓
Máximo	125 – N	211 – N	189 - ↑	311 - ↑	254 - ↑	291 - ↑
DP	28	67.2	41	85.5	42.7	85.7
Variância	783.3	4509.9	1681.6	7304.1	1826.1	7351.3
SEM	5.7	13.7	8.4	17.4	8.7	17.5

SEM - *Standard Error of Mean*; DP – Desvio Padrão; T0 (admissão); T1 (15 dias); T2 (30 dias); ALT – Alanina aminotransferase; ALKP – Fosfatase Alcalina.

A Figura 3 demonstra a evolução média dos valores séricos referidos, considerando a divisão da amostra populacional em dois grupos: Grupo 1 (G1 - n = 20) que corresponde aos cães que apresentaram valores séricos superiores aos valores de referência e Grupo 2 (G2 - n = 4) que equivale aos cães cujos valores séricos se mantiveram dentro dos valores fisiológicos.

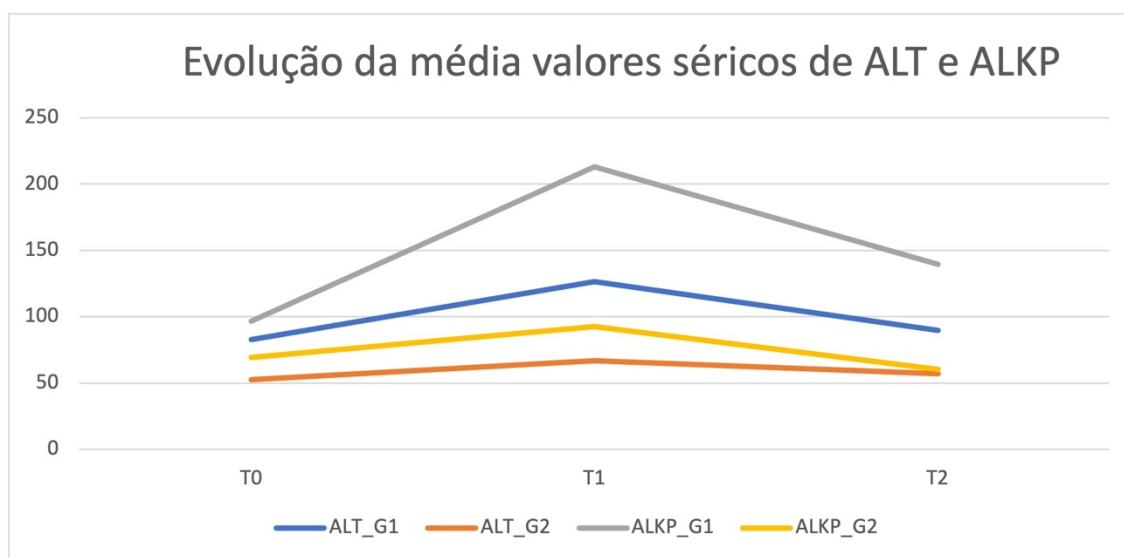


Figura 3 – Evolução da média de valores séricos de ALT e ALKP. T0 (admissão); T1 (2 semanas); T2 (4 semanas); ALT – Alanina aminotransferase; ALKP – Fosfatase Alcalina; ALT_G1 – Grupo 1 com alteração dos níveis séricos de ALT; ALT_G2 – Grupo 2 sem alteração nos níveis séricos de ALT; ALKP_G1 – Grupo 1 com alteração dos níveis séricos de ALKP; ALKP_G2 – Grupo 2 sem alteração dos níveis séricos de ALKP.

Em T1 verificou-se um aumento dos níveis séricos de ALT em 58.3% (14/24) e de ALKP em 70.8% (17/24) dos cães em estudo. Em T2, apenas 8.3% (2/24) demonstraram níveis de ALT superiores aos valores fisiológicos, enquanto 20.8% (5/24) valores séricos de ALKP superiores aos fisiológicos. Durante o período do estudo apenas 4 cães mantiveram valores séricos de ALT e ALKP dentro dos valores de referência.

Considerando os questionários Q1 e Q2 realizados aos tutores em T2, foram relatados sinais de hiperatividade em apenas 1 dos cães em estudo e aumento do apetite em 37.5% (9/24) dos cães. Ainda de referir que em 45.8% (11/24) dos cães, os tutores consideraram o óleo de CBD palatável.

5. Discussão

Quando nos referimos a doenças ortopédicas de carácter degenerativo, falamos da clássica apresentação de osteoartrite (OA), associada a dor crónica e em alguns casos a dor neuropática (Philpott et al., 2017; McDougall J. 2006), podendo estar presente em 30% (Philpott et al., 2017; Ahmed et al., 2014; Schomberg et al., 2012). Em termos de presença de inflamação a OA é classificada como artrite não inflamatória (Philpott et al., 2017) embora a presença de sinovites seja demonstrada pela libertação de mediadores pró-inflamatórios (Philpott et al., 2017; Grönblad et al., 1988; Guerhazi et al., 2010; Hill et al., 2007; Poole A. R. 1999; Robinson et al., 2016).

Na prática clínica o uso indiscriminado de fármacos anti-inflamatórios, como os AINEs e esteroides, vão a longo termo provocar efeitos secundários como sinais clínicos gastrointestinais (ex: vómito, diarreia, melenas, etc), sinais clínicos cardiorenais e hepáticos (com possível falha multissistémica) (Gamble et al., 2018; KuKanich et al., 2012; Lomas e Grauer, 2015; Monteiro-Steagall et al., 2013; Luna et al., 2007; Barbeau-Grégoire et al., 2022; Mabry et al., 2021).

Deste modo, o sistema endocanabinóide (SEC) tem um papel importante fisiológico na regulação da inflamação e na modulação da dor (Philpott et al., 2017; McDougall, 2009; Muley et al., 2016; Verrico et al., 2020; Katchan et al., 2016; + Gamble et al., 2018) para além do efeito neuro protetor (Philpott et al., 2017; Pryce et al., 2015), já reportado em modelos de rato (Barbeau-Grégoire et al., 2022; Mitchell et al., 2021) e em humanos (Barbeau-Grégoire et al., 2022; Urits et al., 2020).

O papel anti-inflamatório tem sido investigado, sendo considerado o canabinóide (CBD) como processo terapêutico que possivelmente reduz a libertação do fator de necrose tumoral α (TNF- α) pró-inflamatório tanto nos roedores, como no homem. Ainda está a ser reportado o efeito redutor na citocina relevante na patogénese da osteoartrite, a interleucina 6 (IL-6). O CBD em conjunto com lipopolissacarídeos (LPS) têm o efeito anti-inflamatório potenciado, podendo reduzir os níveis de neutrófilos circulantes em 60% (Verrico et al., 2020).

A dose prescrita de óleo CBD tem sido com valores *standard* entre 2 mg/kg a 8 mg/kg SID/BID (Gamble et al., 2018; Della Rocca et al., 2023) tendo uma farmacocinética

de tempo mediano de eliminação de 4.2 horas (3.8-6.8 horas) para a dose de 2 mg/kg e de 4.2 horas (3.8-4.8 horas) para doses mais elevadas de 8 mg/kg, durante 4 semanas (Della Rocca et al., 2023). No presente estudo prospectivo observacional, a dose prescrita de óleo de CBD foi entre o intervalo descrito, ou seja, de 5 mg/kg BID durante 4 semanas e em dias sucessivos, sem paragens. A sua absorção tem sido referida com eficácia e mais consistência quando apresenta base oleosa de veículo, provavelmente pela sua natureza lipofílica e pode ser misturada na refeição diária (Gamble et al., 2018; Samara et al., 1988; Garrett e Hunt, 1974; Yu e Rupasinghe, 2021).

No presente estudo a administração foi por via *per os* como referido por Gamble e seus colaboradores (2018), ou por via direta, através de seringa doseada (Della Rocca et al., 2023).

A todos os 35 cães foi inicialmente administrado o CBD, pertencente ao grupo dos nutracêuticos, desenvolvido para apoio aos processos inflamatórios, tendo sido excluídos 11 cães, dos quais n=5 por ausência de resultados dos níveis séricos das transaminases no período temporal T1 e n=6 devido a não terem sido efetuados os questionários Q1 e Q2 em T2.

As características dos n=24 cães quanto às variáveis quantitativas contínuas de média de idade e peso são justificadas pela etiologia da doença em estudo, assim como o envolvimento do labrador *retriever*, pois tem sido indicada como uma das raças com mais prevalência, devido à presença de displasia da anca (Smith et al., 2001; Lafond et al., 2002).

No teste Shapiro-Wilk para a população de estudo de n<50 indicou distribuição de normalidade para a idade, inerente ao processo degenerativo que ocorre na idade geriátrica confirmada pela média de 7.8 anos, mas diluída pelas idades mais jovens que apresentam a OA mas de causa primária de trauma, por isso a presença de mínimo de idade de 2 anos.

Quanto à avaliação por *check-list* neurológica em T2 de 95.84% (23/24) tiveram classificação de 0%, pois não apresentavam alterações neurológicas, justificado por ser óleo de CBD. A ingestão e inalação de tetrahydrocannabinol (THC) tem como sinais clínicos nos cães letargia, depressão de sistema nervoso central (SNC), ataxia, hiperestesia, alteração sensorial quanto à audição, entre outros (Brutlag et al., 2018; Janczyk et al., 2004; Alvarenga et al., 2023; Meola et al., 2012).

Uma vez que o óleo de CBD do estudo não apresenta na composição THC, os resultados são esperados e permitem bem-estar animal, como é referido no 1º estudo norte americano com 2 mg/kg de óleo de CBD BID durante 4 semanas com significância estatística na redução da dor em n=16 cães com OA (Gamble et al., 2018; Di Marzo et al., 2004).

No estudo foi verificado um doente com hiperatividade em T2 embora o mesmo tenha apresentado aumento das transaminases (ALT e ALKP) em T1, não sabendo a envolvimento entre ambos, pois nos cães e nos gatos não existe interação, como existe nas pessoas, entre CBD e o citocromo P450, enzima especialmente CYP450 2C19. Nas pessoas, o CBD inibe o CYP450 2C19, também presente no cão e no gato, resultando na lentificação do metabolismo hepático (Brutlag et al., 2018; Narimatsu et al., 1990; Greb e Puschner, 2018).

Os parâmetros sanguíneos que podem apresentar alterações nos estudos de CBD, em cães com segurança e tolerabilidade, são as transaminases com evidência para a ALKP (Alvarenga et al., 2023), o que também é reportado no presente estudo observacional pois os níveis séricos de ALT estavam aumentados em 58.3% (14/24) e de ALKP em 70.8% (17/24) ao fim de 2 semanas (T1), terminando a ALKP em níveis séricos elevados em T2 com 20.8% (5/24). Apenas 16.7% (4/24) durante 4 semanas não apresentaram alterações nas transaminases.

A alteração da ALKP, não pode ser interpretada como farmacocinética tóxica, como é referido por Yu e Rupasinghe em 2021, onde não se observa a administração de óleo de CBD de curta duração. Em proporções prolongadas, essa toxicidade no uso crónico não se evidencia nos animais de companhia, embora sejam necessários estudos controlados e randomizados em grande escala, para obter os riscos do uso crónico de CBD, para avaliar a segurança, o potencial de eficácia e interação com outros tratamentos na suplementação de óleo de CBD.

O presente estudo prospetivo observacional não pode ser considerado de avaliação crónica quanto à suplementação pois teve apenas duração de 4 semanas. Em ratos, são evidenciados sinais de hepatotoxicidade por alterações de colestase, o que não ocorre no cão e no gato, sendo sugerido que a hepatotoxicidade possa ser devido ao uso acidental por *overdose* (Kogan et al., 2020).

Mas em estudos anteriores é reportado aumento das enzimas hepáticas quando recebem CBD oral em doses entre 2 mg/kg BID ou 10 mg/kg BID durante 4, 6 e 12 semanas (Vaughn et al., 2021; Gamble et al., 2018; McGrath et al., 2018; McGrath et al., 2019). O mesmo se pode verificar na tabela 2 com os valores máximos em T1 e T2 quanto à ALT e ALKP, embora na figura 3 a reta correspondente à média dos valores séricos de ambas as transaminases reduza entre o período temporal de T1 para T2, podendo ser justificado pelo facto, como referem Samara e colegas (1988) da existência de capacidade de aumentar o metabolismo numa fase inicial (Della Rocca et al., 2023). Para além do papel anti-inflamatório que suprime a proliferação de células β e que inibe a maturação excessiva de mastócitos (Alvarenga et al., 2023). Também já tinha sido referido que o nível sérico de ALT pode diminuir suavemente entre o início e o fim do estudo (Kogan et al., 2020).

Na avaliação do questionário Q2 no período temporal T2, a opinião dos tutores considera que cerca de 50% da população obteve viabilidade com a administração *per os*. Assim sendo, no estudo foi obtido 50% de resposta favorável à prescrição de óleo de CBD.

Complementando a informação anterior, obteve-se ainda o aumento de apetite em cerca de 37.5% (9/24), sendo tal facto essencial para equilibrar a homeostase fisiológica do doente em determinadas situações clínicas.

Nenhum dos doentes apresentou sedação ou letargia durante o período temporal T1 e T2 segundo a opinião dos tutores, justificável pela composição do óleo de CBD do estudo pois quem provoca esse efeito secundário são os níveis baixos de THC que não existem nesta fórmula terapêutica (Kogan et al., 2020+ Brutlag et al., 2018).

Se a palatibilidade foi próxima de 50% no presente estudo prospetivo observacional, a tolerabilidade foi próxima de 100%, pois apenas 1 doente apresentou um comportamento indicativo de ligeira hiperatividade, como já referido. Sendo assim, o estudo vai de encontro com Alvarenga et al e colaboradores (2023) onde também foi considerado que a administração oral, sendo absorvida a nível do intestino delgado, tem níveis semelhantes à administração intravenosa (Alvarenga et al., 2023; Chillistone e Hardman, 2017). Como a dose do estudo é de 5mg/kg BID, esta pode ser causa de *stress* gastrointestinal, como sugerido por Vaughn (2020 e 2021) e McGrath (2018) e

observado no presente estudo em T2 com 33.3% (8/24) doentes com sinais de diarreia, 16.7% (4/24) com sinais de vômito e ainda 12.5% (3/24) sinais de hipersíalía. Para obter o efeito anti-inflamatório e reduzir o desconforto gastrointestinal, é sugerida a associação de 2 mg/kg BID em conjunto com fármacos anti-inflamatórios (Alvarenga et al., 2023; Meija et al., 2021) sendo este também prescrito em baixas doses (Brioschi et al., 2020; Gamble et al., 2018). Assim como não se encontraram diferenças significativas entre estes sinais clínicos e a associação do óleo de CBD com o tratamento de nutracêuticos, embora exista associação do *stress* gastrointestinal e o aumento das transaminases (ALT e ALKP) no período temporal T1.

No presente estudo prospetivo observacional, obteve-se uma linha orientativa para aplicação em ambiente clínico quanto ao uso do óleo de CBD, pois em doentes com idade superior a 7 anos deve-se monitorizar com seriação sanguínea de ALKP e nas situações onde esta transaminase se encontre aumentada deve ser elaborado a associação da ALKP com o doseamento da ALT, pelo menos em tratamentos com periodicidade de 4 semanas ou mais prolongados.

O estudo tem diversas limitações, pois trata-se de uma amostra pequena, embora a recolha de dados tenha sido realizada em curto espaço de tempo, sendo que o pretendido foi a realização de um estudo piloto. Não apresenta observadores cegos nem grupo de controlo, tornando a evidência clínica de baixa a moderada, sendo necessário um estudo amplo, blindado, controlado, de aplicabilidade clínica. Seria oportuno verificar a viabilidade e tolerância do óleo de CBD em associação com outros produtos nutracêuticos, nomeadamente anti-oxidantes e condroprotetores uma vez que não existem estudos publicados que comprovem cientificamente o benefício desta associação.

6. Conclusão

No estudo prospetivo observacional os valores do questionário de tolerabilidade e da *check-list* de avaliação neurológica foi de cerca de 95.84% e quanto à palatibilidade do óleo de CBD os valores para os tutores foram de 45.8% com aumento de apetite em 37.5%.

Assim podemos concluir que o uso de óleo de CBD foi tolerável e seguro. Contudo, apenas 16.6% (4/24) não apresentaram alteração quanto às transaminases, sendo indicativo de avaliação sérica de transaminases em períodos temporais de tratamento de 4 semanas ou mais prolongados, nomeadamente a ALKP, considerando o seu aumento em 70.8% (T1) e em 20.8% (T2).

Os efeitos secundários durante o período do estudo foram residuais, confirmando assim que a administração de canabinóides na dose anti-inflamatória em cães é tolerável, segura e não apresenta efeitos secundários graves associados.

7. Bibliografia

Abramovici, H., Lamour, S. A., & Mammen, G. (2018). Information for Health Care Professionals: Cannabis (marihuana, marijuana) and the cannabinoids. *Health Canada Publication*. ISBN: 978-0-660-27828-5.

Ahmed, S., Magan, T., Vargas, M., Harrison, A., & Sofat, N. (2014). Use of the painDETECT tool in rheumatoid arthritis suggests neuropathic and sensitization components in pain reporting. *Journal of pain research*, 7, 579–588. <https://doi.org/10.2147/JPR.S69011>

Atalay, S., Jarocka-Karpowicz, I., & Skrzydlewska, E. (2019). Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants*, 9(1), p. 21. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>

Barbeau-Grégoire, M., Otis, C., Cournoyer, A., Moreau, M., Lussier, B., & Troncy, E. (2022). A 2022 Systematic Review and Meta-Analysis of Enriched Therapeutic Diets and Nutraceuticals in Canine and Feline Osteoarthritis. *International journal of molecular sciences*, 23(18), 10384. <https://doi.org/10.3390/ijms231810384>

Bradley, S., Young, S., Bakke, A. M., Holcombe, L., Waller, D., Hunt, A., Pinfold, K., Watson, P., & Logan, D. W. (2022). Long-term daily feeding of cannabidiol is well-tolerated by healthy dogs. *Frontiers in veterinary science*, 9, 977457. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.977457>

Brioschi, F. A., Di Cesare, F., Gioeni, D., Rabbogliatti, V., Ferrari, F., D'Urso, E. S., Amari, M., & Ravasio, G. (2020). Oral Transmucosal Cannabidiol Oil Formulation as Part of a Multimodal Analgesic Regimen: Effects on Pain Relief and Quality of Life Improvement in Dogs Affected by Spontaneous Osteoarthritis. *Animals*, 10(9), 1505. <https://doi.org/10.3390/ani10091505>

Bruni, N., Della Pepa, C., Oliaro-Bosso, S., Pessione, E., Gastaldi, D., & Dosio, F. (2018). Cannabinoid delivery systems for pain and inflammation treatment. *Molecules*, 23(10), p. 2478. <https://doi.org/10.3390/molecules23102478>

Brutlag, A., & Hommerding, H. (2018). Toxicology of Marijuana, Synthetic Cannabinoids, and Cannabidiol in Dogs and Cats. *The Veterinary clinics of North*

America. Small animal practice, 48(6), 1087–1102.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.07.008>

Busquets-Garcia, A., Desprez, T., Metna-Laurent, M., Bellocchio, L., Marsicano, G., & Soria-Gomez, E. (2015). Dissecting the cannabinergic control of behavior: The where matters. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 37(11), 1215–1225. <https://doi.org/10.1002/bies.201500046>

Chillistone, S., & Hardman, J. G. (2017). Factors affecting drug absorption and distribution. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 18(7), 335-339

Corsato Alvarenga, I., Panickar, K. S., Hess, H., & McGrath, S. (2023). Scientific Validation of Cannabidiol for Management of Dog and Cat Diseases. *Annual review of animal biosciences*, 11, 227–246. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-081122-070236>

De Briyne, N., Holmes, D., Sandler, I., Stiles, E., Szymanski, D., Moody, S., Neumann, S., & Anadón, A. (2021). Cannabis, Cannabidiol Oils and Tetrahydrocannabinol-What Do Veterinarians Need to Know?. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(3), 892. <https://doi.org/10.3390/ani11030892>

Della Rocca, G., & Di Salvo, A. (2020). Hemp in Veterinary Medicine: From Feed to Drug. *Frontiers in veterinary science*, 7, 387. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00387>

Della Rocca, G., Paoletti, F., Conti, M. B., Galarini, R., Chiaradia, E., Sforza, M., Dall'Aglio, C., Polisca, A., & Di Salvo, A. (2023). Pharmacokinetics of cannabidiol following single oral and oral transmucosal administration in dogs. *Frontiers in veterinary science*, 9, 1104152. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1104152>

Devinsky, O., Cilio, M. R., Cross, H., Fernandez-Ruiz, J., French, J., Hill, C., Katz, R., Di Marzo, V., Jutras-Aswad, D., Notcutt, W. G., Martinez-Orgado, J., Robson, P. J., Rohrback, B. G., Thiele, E., Whalley, B., & Friedman, D. (2014). Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. *Epilepsia*, 55(6), 791–802. <https://doi.org/10.1111/epi.12631>

Di Marzo, V., Bifulco, M., & De Petrocellis, L. (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature reviews. Drug discovery*, 3(9), 771–784. <https://doi.org/10.1038/nrd1495>

Di Salvo, A., Conti, M. B., & Della Rocca, G. (2023). Pharmacokinetics, efficacy, and safety of cannabidiol in dogs: an update of current knowledge. *Frontiers in veterinary science*, *10*, 1204526. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1204526>

Elmes, M. W., Prentis, L. E., McGoldrick, L. L., Giuliano, C. J., Sweeney, J. M., Joseph, O. M., Che, J., Carbonetti, G. S., Studholme, K., Deutsch, D. G., Rizzo, R. C., Glynn, S. E., & Kaczocha, M. (2019). FABPI controls hepatic transport and biotransformation of Δ^9 -THC. *Scientific reports*, *9*(1), 7588. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44108-3>

Gamble, L. J., Boesch, J. M., Frye, C. W., Schwark, W. S., Mann, S., Wolfe, L., Brown, H., Berthelsen, E. S., & Wakshlag, J. J. (2018). Pharmacokinetics, Safety, and Clinical Efficacy of Cannabidiol Treatment in Osteoarthritic Dogs. *Frontiers in veterinary science*, *5*, 165. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00165>

Garrett, E. R., & Hunt, C. A. (1974). Physicochemical properties, solubility, and protein binding of delta9-tetrahydrocannabinol. *Journal of pharmaceutical sciences*, *63*(7), 1056–1064. <https://doi.org/10.1002/jps.2600630705>

Gaynor, J. S., Kramer, K., Cital, S., & Hughston, L. (2021). *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine: A Complete Guide*. Springer International Publishing AG.

Greb, A. & Puschner, B. (2018) Cannabinoid treats as adjunctive therapy for pets: gaps in our knowledge. *Toxicology Communications*. 2:1, 10-14, DOI: 10.1080/24734306.2018.1434470

Guerhazi, A., Roemer, F. W., Hayashi, D., Crema, M. D., Niu, J., Zhang, Y., Marra, M. D., Katur, A., Lynch, J. A., El-Khoury, G. Y., Baker, K., Hughes, L. B., Nevitt, M. C., & Felson, D. T. (2011). Assessment of synovitis with contrast-enhanced MRI using a whole-joint semiquantitative scoring system in people with, or at high risk of, knee osteoarthritis: the MOST study. *Annals of the rheumatic diseases*, *70*(5), 805–811. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.139618>

Gugliandolo E, Licata P, Peritore AF, Siracusa R, D'Amico R, Cordaro M, Fusco R, Impellizzeri D, Di Paola R, Cuzzocrea S, Crupi R, Interlandi CD. (2021) Effect of Cannabidiol (CBD) on Canine Inflammatory Response: An Ex Vivo Study on LPS Stimulated Whole Blood. *Vet Sci*. 2021 Sep 4;8(9):185. doi: 10.3390/vetsci8090185. PMID: 34564578; PMCID: PMC8473042.

Hill, C. L., Hunter, D. J., Niu, J., Clancy, M., Guermazi, A., Genant, H., Gale, D., Grainger, A., Conaghan, P., & Felson, D. T. (2007). Synovitis detected on magnetic resonance imaging and its relation to pain and cartilage loss in knee osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, *66*(12), 1599–1603. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.067470>

Huntsman, R. J., Tang-Wai, R., Alcorn, J., Vuong, S., Acton, B., Corley, S., Laprairie, R., Lyon, A. W., Meier, S., Mousseau, D. D., Newmeyer, D., Prosser-Loose, E., Seifert, B., Tellez-Zenteno, J., Huh, L., Leung, E., & Major, P. (2019). Dosage Related Efficacy and Tolerability of Cannabidiol in Children With Treatment-Resistant Epileptic Encephalopathy: Preliminary Results of the CARE-E Study. *Frontiers in neurology*, *10*, 716. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00716>

Janczyk, P., Donaldson, C. W., & Gwaltney, S. (2004). Two hundred and thirteen cases of marijuana toxicoses in dogs. *Veterinary and human toxicology*, *46*(1), 19–21.

Katchan, V., David, P., & Shoenfeld, Y. (2016). Cannabinoids and autoimmune diseases: A systematic review. *Autoimmunity reviews*, *15*(6), 513–528. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.02.008>

Kelmer, E., Shimshoni, J. A., Merbl, Y., Kolski, O., & Klainbart, S. (2019). Use of gas chromatography-mass spectrometry for definitive diagnosis of synthetic cannabinoid toxicity in a dog. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, *29*(5), 573–577. <https://doi.org/10.1111/vec.12872>

Klatzkow, S., Davis, G., Shmalberg, J., Gallastegui, A., Miscioscia, E., Tarricone, J., Elam, L., Johnson, M. D., Leonard, K. M., & Wakshlag, J. J. (2023). Evaluation of the efficacy of a cannabidiol and cannabidiolic acid rich hemp extract for pain in dogs following a tibial plateau leveling osteotomy. *Frontiers in veterinary science*, *9*, 1036056. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1036056>

Kogan, L., Schoenfeld-Tacher, R., Hellyer, P., & Rishniw, M. (2019). US Veterinarians' knowledge, experience, and perception regarding the use of cannabidiol for canine medical conditions. *Frontiers in veterinary science*, *5*, p. 338. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00338>.

Kogan, L.R., Hellyer, P., & Downing, R. (2020). The Use of Cannabidiol-Rich Hemp Oil Extract to Treat Canine Osteoarthritis-Related Pain: A Pilot Study. *AHVMA Journal*, vol. 58.

KuKanich, B., Bidgood, T., & Knesl, O. (2012). Clinical pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs. *Veterinary anaesthesia and analgesia*, 39(1), 69–90. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2995.2011.00675.x>

LaFond, E., Breur, G. J., & Austin, C. C. (2002). Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(5), 467–477. <https://doi.org/10.5326/0380467>

Lomas, A. L., & Grauer, G. F. (2015). The renal effects of NSAIDs in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 51(3), 197–203. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6239>

Lu, H. C., & Mackie, K. (2021). Review of the Endocannabinoid System. *Biological psychiatry. Cognitive neuroscience and neuroimaging*, 6(6), 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2020.07.016>

Luna, S. P. L., Basílio, A. C., Steagall, P. V. M., Machado, L. P., Moutinho, F. Q., Takahira, R. K., & Brandão, C. V. S. (2007). Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68(3), 258-264. Retrieved Nov 12, 2023. <https://doi.org/10.2460/ajvr.68.3.258>

Mabry, K., Hill, T., & Tolbert, M. K. (2021). Prevalence of gastrointestinal lesions in dogs chronically treated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of veterinary internal medicine*, 35(2), 853–859. <https://doi.org/10.1111/jvim.16057>

Mackie K. (2008). Cannabinoid receptors: where they are and what they do. *Journal of neuroendocrinology*, 20 Suppl 1, 10–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01671.>

Matias, I., McPartland, J. M., & DiMarzo, V. (2005). Occurrence and possible biological role of the endocannabinoid system in the sea squirt *Ciona intestinalis*. *Journal of Neurochemistry*, 93, 1141–1156. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03103.>

McDougall J. J. (2006). Arthritis and pain. Neurogenic origin of joint pain. *Arthritis research & therapy*, 8(6), 220. <https://doi.org/10.1186/ar2069>

McDougall J. J. (2009). Cannabinoids and pain control in the periphery. In: Cairns B, editors. *Peripheral receptor targets for analgesia: novel approaches to pain* p. 325–45. Hoboken, NJ. John Wiley & Sons, 2009.

McGrath, S., Bartner, L. R., Rao, S., Kogan, L. R., & Hellyer, P. W. (2018). A report of adverse effects associated with the administration of cannabidiol in healthy dogs. *JAHVMA*, *1*, 6-8.

McGrath, S., Bartner, L. R., Rao, S., Packer, R. A., & Gustafson, D. L. (2019). Randomized blinded controlled clinical trial to assess the effect of oral cannabidiol administration in addition to conventional antiepileptic treatment on seizure frequency in dogs with intractable idiopathic epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *254*(11), 1301–1308. <https://doi.org/10.2460/javma.254.11.1301>

Mejia, S., Duerr, F. M., Griffenhagen, G., & McGrath, S. (2021). Evaluation of the Effect of Cannabidiol on Naturally Occurring Osteoarthritis-Associated Pain: A Pilot Study in Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *57*(2), 81–90. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-7119>

Meola, S. D., Tearney, C. C., Haas, S. A., Hackett, T. B., & Mazzaferro, E. M. (2012). Evaluation of trends in marijuana toxicosis in dogs living in a state with legalized medical marijuana: 125 dogs (2005-2010). *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, *22*(6), 690–696. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2012.00818.x>

Miranda-Cortés, A., Mota-Rojas, D., Crosignani-Outeda, N., Casas-Alvarado, A., Martínez-Burnes, J., Olmos-Hernández, A., Mora-Medina, P., Verduzco-Mendoza, A., & Hernández-Ávalos, I. (2023). The role of cannabinoids in pain modulation in companion animals. *Frontiers in veterinary science*, *9*, 1050884. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1050884>

Mitchell, V. A., Harley, J., Casey, S. L., Vaughan, A. C., Winters, B. L., & Vaughan, C. W. (2021). Oral efficacy of $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in a mouse neuropathic pain model. *Neuropharmacology*, *189*, 108529. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108529>

Monteiro-Steagall, B. P., Steagall, P. V., & Lascelles, B. D. (2013). Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in

dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 27(5), 1011–1019.
<https://doi.org/10.1111/jvim.12127>

Muley, M. M., Krustev, E., & McDougall, J. J. (2016). Preclinical Assessment of Inflammatory Pain. *CNS neuroscience & therapeutics*, 22(2), 88–101.
<https://doi.org/10.1111/cns.12486>

Narimatsu, S., Watanabe, K., Matsunaga, T., Yamamoto, I., Imaoka, S., Funae, Y., & Yoshimura, H. (1990). Inhibition of hepatic microsomal cytochrome P450 by cannabidiol in adult male rats. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 38(5), 1365–1368.
<https://doi.org/10.1248/cpb.38.1365>

Philpott, H. T., O'Brien, M., & McDougall, J. J. (2017). Attenuation of early phase inflammation by cannabidiol prevents pain and nerve damage in rat osteoarthritis. *Pain*, 158(12), 2442–2451.
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001052>

Poole A. R. (1999). An introduction to the pathophysiology of osteoarthritis. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 4, D662–D670.
<https://doi.org/10.2741/poole>

Pryce, G., Riddall, D. R., Selwood, D. L., Giovannoni, G., & Baker, D. (2015). Neuroprotection in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Progressive Multiple Sclerosis by Cannabis-Based Cannabinoids. *Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 10(2), 281–292. <https://doi.org/10.1007/s11481-014-9575-8>

Richardson, D., et al. (2008). Characterization of the cannabinoid receptor system in synovial tissue and fluid in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*, 10(2), R43. <https://doi.org/10.1186/ar2401>.

Riquelme-Sandoval, A., de Sá-Ferreira, C. O., Miyakoshi, L. M., & Hedin-Pereira, C. (2020). New insights into peptide cannabinoids: structure, biosynthesis and signaling. *Frontiers in pharmacology*, 11, p. 596572.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.596572>.

Robinson, W. H., Lepus, C. M., Wang, Q., Raghu, H., Mao, R., Lindstrom, T. M., & Sokolove, J. (2016). Low-grade inflammation as a key mediator of the pathogenesis of osteoarthritis. *Nature reviews. Rheumatology*, 12(10), 580–592.
<https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.136>

Samara, E., Bialer, M., & Mechoulam, R. (1988). Pharmacokinetics of cannabidiol in dogs. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 16(3), 469–472.

Sánchez-Aparicio, P., Florán, B., Rodríguez Velázquez, D., Ibancovich, J. A., Varela Guerrero, J. A., & Recillas, S. (2020). Cannabinoids CB2 Receptors, One New Promising Drug Target for Chronic and Degenerative Pain Conditions in Equine Veterinary Patients. *Journal of equine veterinary science*, 85, 102880. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102880>

Schilling, S., Melzer, R., & McCabe, P. F. (2020). Cannabis sativa. *Current biology: CB*, 30(1), R8–R9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.10.039>

Schomberg, D., Ahmed, M., Miranpuri, G., Olson, J., & Resnick, D. K. (2012). Neuropathic pain: role of inflammation, immune response, and ion channel activity in central injury mechanisms. *Annals of neurosciences*, 19(3), 125–132. <https://doi.org/10.5214/ans.0972.7531.190309>

Smith, G. K., Mayhew, P. D., Kapatkin, A. S., McKelvie, P. J., Shofer, F. S., & Gregor, T. P. (2001). Evaluation of risk factors for degenerative joint disease associated with hip dysplasia in German Shepherd Dogs, Golden Retrievers, Labrador Retrievers, and Rottweilers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(12), 1719–1724. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.219.1719>

Taylor, L., Gidal, B., Blakey, G., Tayo, B., & Morrison, G. (2018). A Phase I, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single Ascending Dose, Multiple Dose, and Food Effect Trial of the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of Highly Purified Cannabidiol in Healthy Subjects. *CNS drugs*, 32(11), 1053–1067. <https://doi.org/10.1007/s40263-018-0578-5>

Ujváry, I., & Hanuš, L. (2016). Human Metabolites of Cannabidiol: A Review on Their Formation, Biological Activity, and Relevance in Therapy. *Cannabis and cannabinoid research*, 1(1), 90–101. <https://doi.org/10.1089/can.2015.0012>

Ukai, M., McGrath, S., & Wakshlag, J. (2023). The clinical use of cannabidiol and cannabidiolic acid-rich hemp in veterinary medicine and lessons from human medicine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 261(5), 623–631. <https://doi.org/10.2460/javma.23.02.0064>

Urits, I., Gress, K., Charipova, K., Habib, K., Lee, D., Lee, C., Jung, J. W., Kassem, H., Cornett, E., Paladini, A., Varrassi, G., Kaye, A. D., & Viswanath, O. (2020). Use of cannabidiol (CBD) for the treatment of chronic pain. *Best practice & research. Clinical anaesthesiology*, 34(3), 463–477.

<https://doi.org/10.1016/j.bpa.2020.06.004>

Vaughn, D. M., Paulionis, L. J., & Kulpa, J. E. (2021). Randomized, placebo-controlled, 28-day safety and pharmacokinetics evaluation of repeated oral cannabidiol administration in healthy dogs. *American journal of veterinary research*, 82(5), 405–416. <https://doi.org/10.2460/ajvr.82.5.405>

Wakshlag, J., et al. (2020). Pharmacokinetics of cannabidiol, cannabidiolic acid, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, tetrahydrocannabinolic acid and related metabolites in canine serum after dosing with three oral forms of hemp extract. *Frontiers in veterinary science*, 7, p. 505. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00505>.

Williams, K., Wells, R. J., & McLean, M. K. (2015). Suspected synthetic cannabinoid toxicosis in a dog. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex.: 2001)*, 25(6), 739–744. <https://doi.org/10.1111/vec.12378>

Woodhams, S. G., Chapman, V., Finn, D. P., Hohmann, A. G., & Neugebauer, V. (2017). The cannabinoid system and pain. *Neuropharmacology*, 124, 105–120. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.015>

Yu, C. H. J., & Rupasinghe, H. P. V. (2021). Cannabidiol-based natural health products for companion animals: Recent advances in the management of anxiety, pain, and inflammation. *Research in veterinary science*, 140, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.08.001>

8. Anexos

ANEXO 1 - PARECER 13/2023 ORBEA



Órgão Responsável pelo Bem-Estar dos Animais do Instituto Politécnico de Portalegre
ORBEA – IPPortalegre

PARECER 13/2023

O Órgão Responsável pelo Bem-Estar dos Animais do Instituto Politécnico de Portalegre (ORBEA – IPPortalegre), designado pelo Despacho 06/2023 do Sr. Presidente do Instituto Politécnico de Portalegre, avaliou no dia 2 de março de 2023 o pedido de avaliação do projeto/atividade intitulado/a: **Tolerância, efeitos secundários e segurança da administração de Canabinóides em cães**, cujo promotor é **Inês Alexandra Rebelo Rijo**, e analisou a proposta tendo em consideração os pressupostos previstos no Decreto-Lei n.º 113/2013, de 7 de agosto, designadamente:

- Envolvimento de procedimentos com animais, conforme a definição prevista na alínea h) do art.º 3º do Decreto-Lei n.º 113/2013, de 7 de agosto e, em caso afirmativo:
- Grau de severidade dos mesmos e adequação do perfil da pessoa responsável pela sua execução;
- Objetivos previstos e seu enquadramento;
- Justificação da realização dos procedimentos, tendo em conta os princípios dos 3R (*replace, reduce, refine*);
- Envolvimento da occisão de animais;
- Utilização de espécies animais sujeitas a restrições especiais e requisitos específicos;
- Realização de procedimentos excluídos do âmbito de aplicação do Decreto-Lei n.º 113/2013, de 7 de agosto;

Na sequência da análise produzida por um painel de 2 avaliadores sobre a documentação submetida, o ORBEA - IPPortalegre decidiu emitir **PARECER FAVORÁVEL** à proposta, sendo que a mesma dispensa a submissão de pedido de autorização à Direção Geral de Alimentação e Veterinária.

A Diretora do ORBEA – IPPortalegre,



Praça do Município, 11 | 7300-110 Portalegre | T +351 245 301 500 | F +351 245 330 353 | E geral@ipportalegre.pt

www.ipportalegre.pt

IPP.GER.4-Rev.5

ESAE.SA.45-Rev.0

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO ESTUDO CLÍNICO



Termo de consentimento – *Estudo clínico*

<u>Tutor</u> Nome: Número de identificação:
Nome do Animal:
Raça:
Idade:
Género: <input type="radio"/> Masculino <input type="radio"/> Feminino

Eu, _____, tutor do doente acima descrito ou legalmente responsável pelo mesmo, autorizo a utilização do maneio farmacológico recorrendo a um Anti-Inflamatório/Analgésico no meu animal, segundo protocolo prescrito pelo médico veterinário (dose 5mg/Kg/BID), assim como autorizo a colheita sanguínea no dia 0, no dia 15 e no dia 30 para estudo das enzimas hepáticas durante o mês do estudo.

Declaro ter sido informado, de forma clara e objetiva, de todo o procedimento inerente, das possíveis reações adversas e efeitos secundários (vomito, diarreia, pápulas, sonolência e reação de hipersensibilidade I e II) e na sua ocorrência o doente será retirado do estudo, sendo este sujeito, imediatamente, ao tratamento adjuvante necessário para a estabilidade hemodinâmica.

Desta forma, assino o presente termo de consentimento, de acordo com o meu documento de identificação.

___/___/___

O Tutor



**Estudo clínico – Maneio farmacológico com
canabinóides em cães**
Questionário ao tutor – Q1 – Tolerabilidade

Nº ficha:

Nome do cão:

Nome do Médico Veterinário:

1- O doente ficou mais sonolento após administração do medicamento?

Sim

Não

2- O doente apresentou mais dificuldade em levantar-se após a toma do medicamento?

Sim

Não

3- O doente apresentou hiperatividade após administração do medicamento?

Sim

Não

4- O doente apresentou tremores após administração do medicamento?

Sim

Não

5- Surgiu algum sinal de tosse após a toma do medicamento?

Sim

Não

ANEXO 4 - QUESTIONÁRIO AO TUTOR - PALATIBILIDADE



Estudo clínico – Maneio farmacológico com canabinóides em cães Questionário ao tutor – Q2 – Palatibilidade

Nº ficha:

Nome do cão:

Nome do Médico Veterinário:

1- O medicamento é palatável?

Sim

Não

2- Houve aumento do apetite após a administração do medicamento?

Sim

Não

ANEXO 5 - CHECK-LIST NEUROLÓGICA



Estudo clínico – Maneio farmacológico com canabinóides em cães

Check-list neurológica

Nº ficha:

Nome do cão:

Nome do Médico Veterinário:

1- Comportamento

Normal

Anormal

2- Estado Mental

Normal

Anormal

3- Estação

Normal

Anormal

4- Proprioção consciente

Normal

Anormal

5- Marcha

Normal

Anormal

6- Incontinência urinária

Normal

Anormal

7- Knuckling

Normal

Anormal

8- Base de apoio alargada

Normal

Anormal

9- Reação de ameaça

Normal

Anormal

10- Reflexo pupilar à luz

Normal

Anormal

ANEXO 6 - SINAIS GASTROINTESTINAIS



Estudo clínico – Maneio farmacológico com canabinóides em cães

Sinais Gastrointestinais

Nº ficha:

Nome do cão:

Nome do Médico Veterinário:

1- Vómito?

Sim

Não

2- Diarreia?

Sim

Não

3- Hipersialia?

Sim

Não