

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA**

O USO DE CANABINOIDES NO TRATAMENTO DA ACNE

NATÁLIA AZUAGA NIETIEDT

PORTO ALEGRE, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

Natália Azuaga Nietiedt

O USO DE CANABINOIDES NO TRATAMENTO DA ACNE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio grande do Sul como requisito à obtenção do título de grau de Farmacêutico.

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Irene Cledes Külkamp Guerreiro

Porto Alegre, 2022

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	4
LISTA DE TABELAS	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 Introdução	9
2 Objetivos	10
3 Metodologia	11
4 Resultados e discussão	12
4.1 Sistema endocanabinoide	13
4.2 Canabinoides utilizados nos estudos	14
4.3 Obtenção do extrato	15
4.4 Teste <i>in vitro</i> e teste de eficácia	16
4.5 Ensaio clínico	27
5 Conclusão	29
6 Referências	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do aumento significativo de publicações sobre os efeitos terapêuticos dos canabinoides no tratamento da acne entre 2020 e 2022.

Figura 2 - Estrutura molecular dos canabinoides presentes na *Cannabis sativa*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - As diferentes classes de canabinoides.

Tabela 2 - Resumo das principais pesquisas laboratoriais in vitro e estudos clínicos sobre o uso de canabinoides no tratamento da acne.

LISTA DE ABREVIATURAS

ECBs	endocanabinoides
AA	ácido araquidônico
AEA	N-araquidonoil-etanolamina ou Anandamida
2-AG	2-araquidonilglicerol
ECS	sistema endocanabinoide
CB1	receptor canabinoide Tipo 1
CB2	receptor canabinoide Tipo 2
TRP	receptores transitórios potenciais
PPARs	proliferadores de peroxissomas
RCBs	receptores canabinoides
CNBs	canabinoides
CBG	canabigenol
fCNBs	fitocanabinoides
CBD	Canabidiol
CBC	Canabicromeno
CBDV	Canabidivarina
CBGV	Canabigeverona
THCV	Tetra-hidrocanabivarina
DMSO	dimetil sulfóxido
NHEKs	queratinócitos humanos
TRPV1	receptor transitório pró-inflamatório vaniloide 1
MAPK	MAP quinase
NF-kB	fator nuclear kappa B
LA-T	combinação de ácido linoleico e testosterona
TRPV 4	receptor transitório pró-inflamatório vaniloide 4
TRPV 2	receptor transitório pró-inflamatório vaniloide 2
LPS	lipopolissacarídeos
iNOS	óxido nítrico sintase
NO	óxido nítrico
PGE ₂	prostaglandina E ₂
MMP-9	metaloproteinase de matriz 9

RESUMO

A acne é uma doença que afeta grande parte da população, e seu tratamento requer estratégias diferenciadas. Atualmente, a busca por alternativas naturais de tratamento tópicos tem crescido no mundo todo. Com a legalização da *Cannabis sativa* em diversos países, os canabinoides se tornaram uma alternativa a ser estudada para o tratamento de diversas doenças. Os canabinoides são capazes de modular a expressão de citocinas, células T e a proliferação celular, fazendo deles agentes terapêuticos promissores no tratamento da acne. Essa revisão analisou o potencial dos canabinoides no tratamento da acne, quais canabinoides agem, qual o mecanismo de ação e concentração de uso. Foi realizada uma pesquisa nas bases de dados Scopus e Web of Science utilizando as palavras-chaves “cannabinoids” AND “acne”, “cannabis” AND “acne”, “cannabinoid compounds” AND “acne”. Apenas um estudo clínico foi encontrado, o qual demonstrou eficácia e segurança dos canabinoides no tratamento da acne. Porém, a necessidade de mais estudos que avaliem diferentes tipos de concentrações de uso variados, tempo de tratamento e formulações diferenciadas. Por outro lado, foram encontrados estudos *in vitro* de sete canabinoides diferentes focados no tratamento da acne. Os mesmos demonstram efeitos lipostático, anti-inflamatório e antiproliferativos, podendo serem uma nova alternativa natural de tratamento tópico da acne.

Palavras-chave: canabinoides, acne, antiacne, anti-inflamatório, lipostático

ABSTRACT

Acne is a disease that affects a large part of the population, and its treatment requires different strategies. Currently, the search for natural topical treatment alternatives has grown worldwide. With the legalization of *Cannabis sativa* in several countries, cannabinoids have become an alternative to be studied for the treatment of various diseases. Cannabinoids are able to modulate the expression of cytokines, T cells and cell proliferation, making them promising therapeutic agents in the treatment of acne. This review analyzed the potential of cannabinoids in the treatment of acne, which cannabinoids act, what the mechanism of action is and the concentration of use. A search was carried out in the Scopus and Web of Science databases using the keywords “cannabinoids” AND “acne”, “cannabis” AND “acne”, “cannabinoid compounds” AND “acne”. Only one clinical study was found, which demonstrated the efficacy and safety of cannabinoids in the treatment of acne. However, there is a need for more studies that evaluate different types of concentrations for different use, treatment time and different formulations. On the other hand, in vitro studies of seven different cannabinoids focused on acne treatment were found. They demonstrate lipostatic, anti-inflammatory and antiproliferative effects, and may be a new natural alternative for topical acne treatment.

Keywords: cannabinoids, acne, anti-acne, anti-inflammatory, lipostatic

1. Introdução

A acne é uma doença que afeta grande parte da população em algum ponto da vida, seus efeitos incluem irritação e inflamação da pele, além do sofrimento emocional e psicossocial. Ademais, os tratamentos disponíveis atualmente possuem desafios devido aos seus potenciais efeitos adversos e do crescimento da resistência bacteriana aos antibióticos, sugerindo uma necessidade de uma nova terapia natural e segura. (PEYRAVIAN et al., 2022)

Somado à necessidade de ingredientes mais naturais e com a preocupação com o meio ambiente, a indústria cosmética tem visto como uma necessidade a busca por novos fito-ingredientes para se manter no mercado. Com a legalização da *Cannabis sativa* em diversos países, os canabinoides se tornaram uma alternativa a ser estudada para o tratamento de diversas doenças.

As propriedades anti-inflamatórias dos canabinoides são muito úteis para o tratamento de doenças inflamatórias de pele, como por exemplo, a acne. Os canabinoides são capazes de modular a expressão de citocinas, células T e a proliferação celular, fazendo deles agentes terapêuticos promissores no tratamento da acne. (MARTINS et al., 2022)

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Esta revisão visa a fornecer evidências científicas relacionadas às propriedades do uso de canabinoides no tratamento da acne.

2.2 Objetivos específicos

Esta revisão visa identificar quais canabinoides agem no tratamento da acne, qual mecanismo de ação, concentração de uso, quais testes *in vitro* e de eficácia já foram feitos, como o extrato era obtido, que tipo de ensaios clínicos foram estudados e quantas pessoas foram utilizadas no estudo.

3. Metodologia

A metodologia escolhida para desenvolver esta revisão foi baseada na pesquisa eletrônica nas bases de dados Web of Science e Scopus. A pesquisa foi realizada usando as palavras-chave “cannabinoids” AND “acne”, “cannabis” AND “acne”, “cannabinoid compounds” AND “acne”.

Os critérios de inclusão utilizados se basearam em artigos com resultados significativos com o uso de canabinoides no tratamento da acne, com metodologia clara e objetiva, sem restrição de data de publicação, levando em conta que o uso dos canabinoides no tratamento da acne é um assunto atual e pouco estudado. Além disso, foram pesquisados tanto estudos *in vitro* quanto clínicos. Artigos de revisão não foram excluídos.

Para a seleção dos artigos foi feita uma triagem através de seus títulos e resumos, baseados nos critérios de inclusão, com revisão individual. A análise de artigos foi feita através de perguntas, tais como: “já foram feitos testes *in vitro* e testes de eficácia?”, “quais canabinoides utilizados nos estudos?”, “quantas pessoas foram utilizadas nos estudos?”, “qual a concentração usual?”, “como o extrato era obtido?”, “que tipo de formulação foi estudada?”, “que tipo de ensaios clínicos foram feitos?”. Além disso, foram avaliados parâmetros de segurança.

Os critérios de exclusão abrangem artigos sem resultado para o tratamento da acne, estudos em qualquer outra língua que não seja inglês ou português e artigos com metodologia pouco clara.

4. Resultados e discussão

Nas bases de dados foram encontrados 272 artigos científicos não duplicados ao se fazer uma busca inicial com as palavras-chaves. Foram encontrados 250 (91,91%) artigos na base de dados Scopus e 22 (8,09%) artigos na base de dados Web of Science. Apenas 5 (1,84%) artigos não estavam duplicados nas duas bases de dados. Destes 272 artigos inicialmente encontrados, apenas 78 (28,7%) abordavam os temas canabinoides e acne. Os critérios de inclusão e exclusão foram aplicados e 25 artigos foram selecionados para análise individual.

A partir de 2020 o número de publicações sobre canabinoides e seus efeitos terapêuticos no uso da acne tiveram aumento significativo nas bases de dados (Figura 1), principalmente ensaios sobre o fitocanabinoide Canabidiol (CBD). Ademais, foi observado que o Canabidiol (CBD) e o Tetrahydrocannabinol (THC) apresentam efeitos antiacne e antisséptico. (OLÁH et al., 2014, 2016)

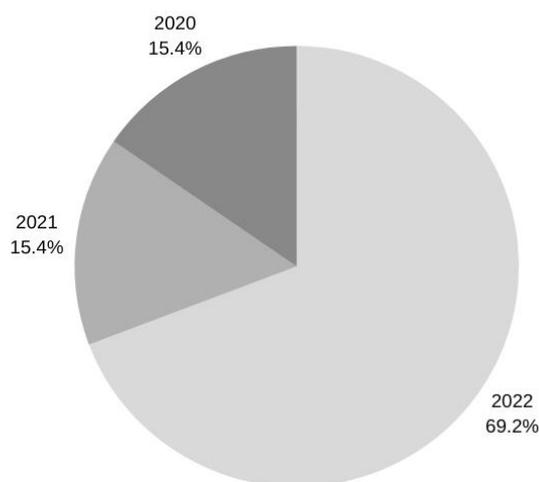


Figura 1. Representação do aumento significativo de publicações sobre os efeitos terapêuticos dos canabinoides no tratamento da acne entre 2020 e 2022. Os dados foram obtidos através da triagem feita inicialmente e da aplicação dos critérios de exclusão.

4.1 Sistema endocanabinoide

Os endocanabinoides (ECBs) são produzidos pelo cérebro ou por tecidos periféricos de humanos ou de outros animais. Eles são neuro moduladores e possuem algumas características importantes que os diferem dos outros neurotransmissores: são sintetizados à vontade em seus locais de ação através da clivagem estimulada por receptores de precursores da membrana lipídica e não são preservados nas vesículas sinápticas. Os ECBs são derivados do ácido araquidônico (AA) e os mais conhecidos são N-araquidonoil-etanolamina ou Anandamida (AEA) e 2-araquidonilglicerol (2-AG).

Os ECBs exercem suas funções através do sistema endocanabinoide (ECS), uma complexa rede de sinalização intercelular, que desempenha um papel na homeostase do corpo humano. As funções principais do ECS envolvem a modulação do sistema imune e nervoso. (MARTINS et al., 2022)

Os dois principais receptores para os ECBs são os receptores acoplados à proteína G e o receptores Canabinoide Tipo 1 (CB1) e Canabinoide Tipo 2 (CB2). Ademais, os ECBs podem ligar-se aos receptores transitórios potenciais (TRP) e aos proliferadores de peroxissomas (PPARs).

4.1.2 Sistema endocanabinoide e a pele

Recentemente sugerido por (SHERIFF et al., 2020) que a pele tem seu próprio ECS, no qual CB1 e CB2 tem mostrado ter seus próprios ligantes endógenos. Esse ECS desempenha um papel importante na manutenção da homeostase e na função da barreira da pele, visto que os ECBs estão envolvidos na regulação das funções neuro-imunoendócrinas da pele.

Esse ECS da epiderme permite mediar as ações dos ECBs na pele e, quando interrompido, pode causar desordens na pele, como por exemplo, a acne. Os receptores CB1 e CB2 foram encontrados em diversas células da epiderme, sendo elas, os queratinócitos e melanócitos. Também foram encontrados nas células da derme, nos mastócitos, nas glândulas sudoríparas, nos folículos capilares e nas fibras nervosas cutâneas. Ademais, as enzimas FAAH e MAGL, responsáveis pela biossíntese dos ECBs, foram identificadas nos sebócitos, melanócitos, fibroblastos e imunócitos, sugerindo que a pele também está envolvida no metabolismo de canabinoides. (MARTINS et al., 2022)

4.2 Canabinoides utilizados nos estudos

Os efeitos terapêuticos da *Cannabis sativa* devem a presença dos canabinoides (CNBs), termo utilizado para definir a variedade de compostos que tem em comum a propriedade de interagir com os receptores canabinoides (RCBs). A *Cannabis* contém aproximadamente 565 diferentes metabólitos secundários, sendo 120 canabinoides. (GONÇALVES et al., 2019)

Quimicamente, os canabinoides são compostos fenólicos (Figura 2) e ácidos, principalmente o canabigenol (CBG) e as canabivarinas. A maioria dos CNBs são produzidos e depositados na cavidade secretora das glândulas tricomas de plantas fêmeas, no fundo das folhas, e no caule nas plantas mais jovens. (GONÇALVES et al., 2019)

Existem três classes principais de canabinoides, os fitocannabinoides (fCNBs), que são exclusivamente produzidos pela *Cannabis sativa*, os endocannabinoides que existem ou são produzidos pelo corpo humano e os canabinoides sintéticos produzidos em laboratório com o objetivo de se assemelhar aos fCNBs e aos ECBs. Os exemplos de cada classe estão mostrados na tabela 1.

Tabela 1. As diferentes classes de canabinoides.

ENDOCANABINOIDES	FITOCANABINOIDES	CANABINOIDES SINTÉTICOS
1. 2-araquidonoilglicerol (2-AG)	1. Canabidiol (CBD)	1. JHW-133
2. Anandamina ou araquidonoiletanolamina (AEA)	2. Canabigerol (CBG)	2. (R)-Methanandamide
	3. Canabicromeno (CBC)	3. HU-308
	4. Canabidivarina (CBDV)	4. JTE-907
	5. Canabigerovarina (CBGV)	5. SR 144,528
	6. Tetra-hidrocanabivarina (THCV)	

Várias estratégias vêm sendo estudadas para extrair e entregar os agentes farmacológicos da *Cannabis*. Os métodos mais usados atualmente envolvem o uso de solventes químicos, como por exemplo, éter de petróleo ou etanol devido a sua eficiência em não deixar resíduos indesejados. (GONÇALVES et al., 2019)

Os endocannabinoides representam uma classe de mediadores lipídicos endógenos, que estão envolvidos em vários processos biológicos, tanto centrais quanto periféricos.

(PUCCI et al., 2011) Esta classe inclui uma amida de ácido graxo representada por N-araquidonoil-etanolamina ou Anandamida (AEA) e um monoacilglicerol representado por 2-araquidonilglicerol (2-AG).

Ao contrário do THC, os fitocanabinoides canabidiol (CBD), canabicromeno (CBC), canabidivarina (CBDV), canabigerol (CBG), canabigerovarina (CBGV) não apresentam efeitos psicotrópicos, sendo assim são os mais estudados para o tratamento da acne e de outras diversas doenças. No entanto, a psicoatividade do tetra-hidrocanabivarina (THCV) ainda é incerta.

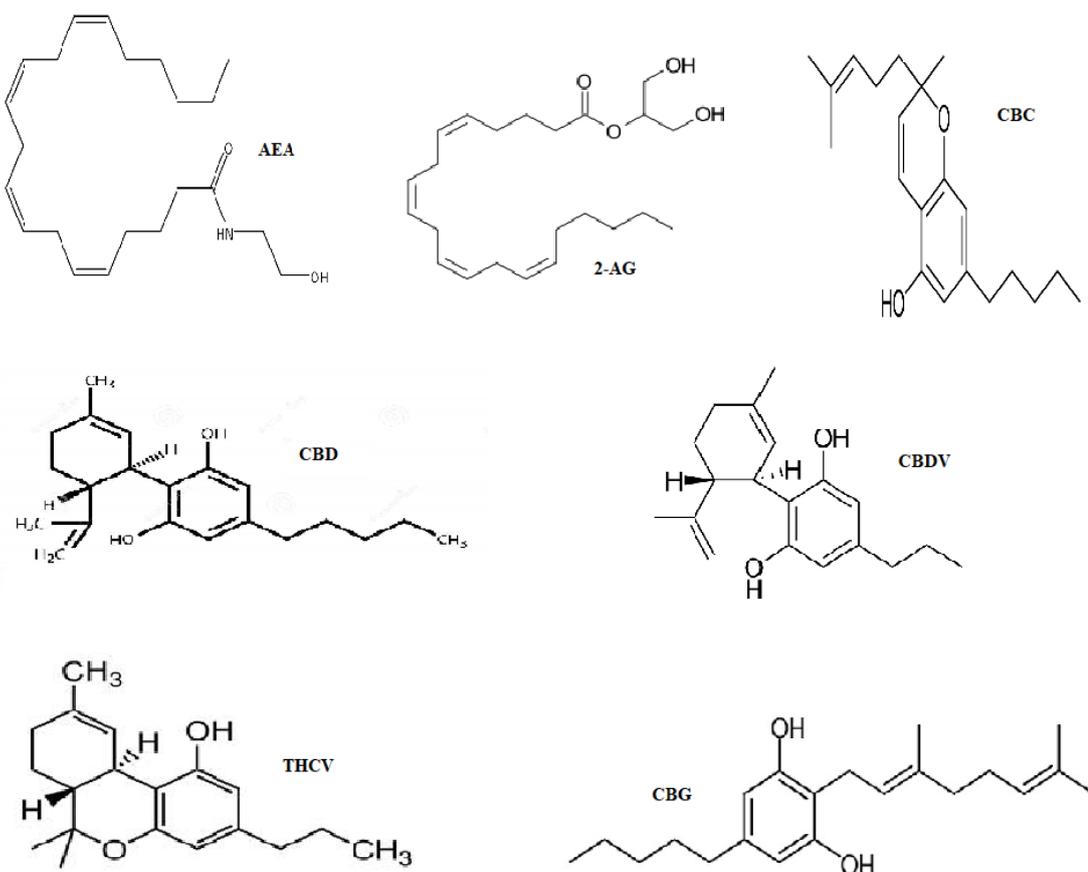


Figura 2. Estrutura molecular dos canabinoides presentes na *Cannabis sativa*. Estão representados na figura os seguintes canabinoides N-araquidonoil-etanolamina ou anandamida (AEA), 2-araquidonilglicerol (2-AG), canabidiol (CBD), canabicromeno (CBC), canabidivarina (CBDV), canabigerol (CBG), canabigerovarina (CBGV) e tetra-hidrocanabivarina (THCV).

4.3 Obtenção do extrato

A obtenção do extrato a partir das sementes de *Cannabis sativa* foram descritas de distintas formas em dois artigos entre os selecionados para análise. Os demais artigos selecionados fizeram seus estudos com extratos prontos comprados com fornecedores.

O método de extração descrito por (NAVEED et al., 2015) consiste em, inicialmente, esmagar o material vegetal (40g) e extraí-lo com metanol (metanol: água, 80:20, v/v) (1L), com agitação mecânica por 6 horas em temperatura ambiente. O extrato foi filtrado com filtro de papel Whatman nº 1 e removido dos resíduos. Os resíduos foram extraídos duas vezes com o mesmo solvente e combinados com o extrato. Os extratos combinados foram concentrados a uma pressão reduzida e levados ao rotaevaporador em temperatura de 45°C. Os extratos foram mantidos nessas condições até estarem livre do solvente em um décimo. O extrato obtido foi armazenado a 4°C.

O método proposto por (JIN; LEE, 2019) consiste em moer e encharcar as sementes com três volumes de hexano por 24h sob agitação. O extrato foi filtrado com filtro de papel Whatman nº 2 e um filtro de nylon (0,45µm). O procedimento foi repetido duas vezes com o resíduo. O solvente foi evaporado usando um rotaevaporador em temperatura de 35°C. O solvente residual foi evaporado novamente por 10 min a 70°C. Para aumentar a solubilidade do extrato na cultura celular, o mesmo valor de dimetil sulfóxido (DMSO) foi adicionado e agitado em vórtex.

4.4 Teste in vitro e ensaios de eficácia

Os efeitos dos canabinoides no tratamento da acne variam de acordo com o composto que está exercendo a ação, como pode ser visto na tabela 2 e como será descrito a seguir.

4.4.1 Endocanabinoides

Dos 21 artigos selecionados para análise individual, apenas 1 (0,21%) demonstrou bons resultados quanto ao uso dos endocanabinoides na pele e no tratamento da acne.

Dobrosi e colaboradores (DOBROSI et al., 2008) demonstraram que os endocanabinoides presentes nos sebócitos, regulam a síntese lipídica e induzem a morte celular por apoptose via sinalização seletiva acoplada a CB2. Além disso, foi confirmado que o sebócito humano SZ95 expressa CB2, mas não CB1. (DOBROSI et al., 2008)

Para chegar nesses resultados foi analisado a presença e a função do sistema endocanadinoide e do sistema de sinalização de células derivadas de glândulas sebáceas de humanos.

Tabela 2. Resumo das principais pesquisas laboratoriais in vitro e estudos clínicos sobre o uso de canabinoides no tratamento da acne.

Tipo de estudo	Descrição	Resultados	Referência
Pesquisa laboratorial in vitro	Produção e efeitos dos ECBs nos sebócitos humanos SZ95.	Células produzem AEA e 2-AG e expressam CB2R, mas não CB1R. AEA e 2-AG aumentam a regulação da síntese de lipídios e da morte celular impulsionada por apoptose via CB2.	DOBROSI, N. et al. Endocannabinoids enhance lipid synthesis and apoptosis of human sebocytes via cannabinoid receptor-2-mediated signaling. The FASEB Journal , v. 22, n. 10, p. 3685–3695, out. 2008.
Pesquisa laboratorial in vitro	Efeito do CBD nos sebócitos SZ95 e células da pele humana.	CBD inibe a ação lipogênica de vários compostos, suprime a ação proliferativa dos sebócitos e tem ação anti-inflamatória, inibindo o mecanismo de sinalização NF-kB.	OLÁH, A. et al. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. Journal of Clinical Investigation , 2014.

<p>Estudo comparativo duplo cego (11 participantes)</p>	<p>Efeito do creme (3%) extrato da semente da <i>C.sativa</i> nos sintomas da acne.</p>	<p>Diminuição do sebo e dos níveis de eritema.</p>	<p>NAVEED, A. et al. The safety and efficacy of 3% Cannabis seeds extract cream for reduction of human cheek skin sebum and erythema conten. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences., 2015.</p>
<p>Pesquisa laboratorial in vitro</p>	<p>Efeito dos canabinoides nos sebócitos SZ95 humanos.</p>	<p>CBC, CBDV suprimiram a lipogênese induzida por AA. THCV inibiu a proliferação e a lipogênese induzida por AA. CBG, CBGV têm ações pró-lipogênicas.</p>	<p>OLÁH, A. et al. Differential effectiveness of selected non-psychoactive phytocannabinoids on human sebocyte functions implicates their introduction in dry/seborrhoeic skin and acne treatment. Experimental Dermatology,2016.</p>
<p>Pesquisa laboratorial in vitro</p>	<p>Efeitos anti-inflamatórios do CBD na acne</p>	<p>Diminuição nos níveis de NF-kB, IL-6, IL8 e TNF-α. Efeito antagonista no processo inflamatório mediado por TRPV 1.</p>	<p>JIANG, Z. et al. Cannabidiol Inhibits Inflammation Induced by</p>

			Cutibacterium acnes-Derived Extracellular Vesicles via Activation of CB2 Receptor in Keratinocytes. Journal of Inflammation Research , 2022.
Pesquisa laboratorial in vitro	Efeito do extrato da semente de cânhamo nos queratinócitos HaCaT humanos e nos sebócitos primários humanos.	Demonstrou-se que HSHE tem atividade antimicrobiana contra <i>C. acnes</i> , anti-inflamatória, anti-lipogênica e propriedades promotoras de colágeno.	JIN, S.; LEE, M. Y. The ameliorative effect of hemp seed hexane extracts on the Propionibacterium acnes induced inflammation and lipogenesis in sebocytes. PLoS ONE , v. 13, n. 8, 1 jul. 2019.

Dessa forma, foram usados os sebócitos SZ95, considerado um dos melhores modelos celulares estabelecidos de sebócitos. O objetivo do estudo usando o SZ95 foi identificar qual receptor CB é expressado pelos sebócitos humanos e qual endocanabinoide – AEA e 2-AG – pode ser detectado no sebócito em estudo. Uma série de ensaios moleculares foram utilizados para avaliar os efeitos dos endocanabinoides em funções específicas dos sebócitos.

O sebócito SZ95 é capaz de expressar ambos endocanabinoides. Através de espectrometria de massas viu-se que SZ95 expressa AEA ($66,7 \pm 10$ fmol/mg tecido) e 2-

AG ($6,2 \pm 1$ pmol/mg tecido) em níveis similares encontrados anteriormente em outras amostras de pele de ratos.

Usando imunocitoquímica e Western blot foi possível identificar somente a expressão de CB2 pelo sebócito SZ95. Além disso, para apoiar a nova descoberta, RT-PCR e Q-PCR foram realizados e demonstraram somente a transcrição do gene CB2 nos sebócitos SZ95.

Os efeitos do endocanabinoide AEA foram impedidos por seu antagonista CB2-específico AM-630, mas não pelo CB1-inibidor AM-251. Sendo assim, os moduladores sebócitos dos endocanabinoides são modulados por CB2 e não por CB1. (DOBROSI et al., 2008) Para avaliar o papel do CB2, uma série de experimentos com RNAi foram executados contra o receptor CB2. As análises de Western blot e RT-PCR demonstraram que a expressão de CB2 foi reconhecida pelo RNAi.

Após o reconhecimento, foi investigado o efeito do antagonista CB2-específico AM-630 e do CB1-inibidor AM-251 na síntese lipídica de SZ95 com RNAi-transfectado. Como esperado, CB2 perdeu o efeito em aumentar a síntese lipídica e o tratamento com CB1 não afetou a ação do AEA. Além disso, nesses sebócitos mediados por CB2 foram encontradas evidências da diminuição da camada basal lipídica. Isso sugere que os sinais mediados por CB2 têm uma importância endógena na regulação da síntese lipídica dos sebócitos. (DOBROSI et al., 2008)

Os receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR) regulam a expressão de genes e desempenham um papel essencial na homeostase lipídica em várias células. Achados recentes ligam diretamente a sinalização dos endocanabinoides a certos PPARs. (LENMAN; FOWLER, 2007; O'SULLIVAN, 2007) Dito isso, foi investigado o efeito do tratamento endocanabinoide na expressão de isoformas de PPARs em sebócitos SZ95.

Por conseguinte, conforme avaliado por análise Q-PCR ambos AEA e 2-AG significativamente aumentaram positivamente a expressão de PPAR γ e PPAR δ ($P < 0,005$). No entanto, PPAR α só aumentou no grupo 2-AG-tratamento no tempo 24h. Por fim, foi testado se o tratamento com os canabinoides afetava a expressão dos genes de estudo. Notou-se que ambos AEA e 2-AG aumentaram os níveis de expressão dos genes investigados, apoiando ainda mais a ativação do PPAR γ . Por fim, esses resultados demonstram que os endocanabinoides são capazes de regular a síntese lipídica.

4.4.2 Fitocanabinoides

4.4.2.1 CBD

Dos 25 artigos selecionados para análise individual, 10 (40%) deles apresentaram estudos com foco no canabidiol (CBD) e sua eficiência no tratamento da acne.

Foi demonstrado no estudo de (JIANG et al., 2022) que o CBD diminui os níveis de proteínas e de mRNA nas citocinas inflamatórias IL-6, IL8 e TNF- α nos vesículos extracelulares (VEC) dos queratinócitos humanos (NHEKs) irritados por *Cutibacterium acnes*. Esses resultados sugerem que a cascata de inflamação da acne pode ser aliviada pela ação inibitória do CBD nas citocinas inflamatórias. (JIANG et al., 2022) Corroborando com os achados anteriores, (OLÁH et al., 2014) demonstraram que o CBD foi capaz de prevenir a ação pró-acne da combinação ácido linoleico e testosterona de aumentar a expressão de TNF- α .

Um ponto importante a se destacar é por qual mecanismo o CBD atua para desempenhar essa atividade anti-inflamatória. De acordo com dados já disponíveis na literatura, o CBD não possui uma alta afinidade pelos receptores CB1 e CB2, acredita-se que a atividade farmacológica do CBD é independente desses receptores. Sendo assim, o CBD está sendo estudado como potencial modulador do receptor transitório pró-inflamatório vaniloide 1 (TRPV1). (FONSECA; CORREIA-DA-SILVA; TEIXEIRA, 2018; PEYRAVIAN et al., 2020)

Inicialmente num estudo de (JIANG et al., 2022), foi avaliado a expressão de CB2 e TRPV1 nos VEC com e sem a presença de CBD. Sem a presença de CBD, os níveis de CB2 eram baixos, mas com a adição de CBD os níveis de CB2 aumentaram. Entretanto, sem a presença de CBD os níveis de TRPV1 aumentaram e com a adição de CBD diminuíram.

Para confirmar os achados, os receptores foram coadministrados juntamente com seus respectivos antagonistas. Quando administrado AM630, antagonista do CB2, notou-se um aumento nos níveis de TNF- α , que inicialmente tinham sido reduzidos pela administração de CBD. Esses resultados sugerem que o efeito anti-inflamatório do CBD nos NHEKs foi mediado pelo CB2. Além disso, foi possível notar que o AM360 foi capaz de reverter o efeito inibitório do CBD nos níveis de TNF- α .

Ao administrar capsaicina, antagonista do TRPV1, notou-se uma diminuição nos níveis de TNF- α . Isso sugere um sinergismo entre capsaicina e CBD. Além disso, acredita-se que o CBD possa ter efeito antagonista similar no processo inflamatório ao efeito da capsaicina.

Como último parâmetro, foi analisado por (JIANG et al., 2022) as cascatas de sinalização da MAP quinase (MAPK) e do fator nuclear kappa B (NF-kB), que são considerados mecanismos clássicos envolvidos na inflamação em decorrência da acne. A fosforilação da MAPK, ativada pela *C. acnes*, permite a translocação de diferentes fatores de transcrição para o núcleo, enquanto o NF-kB migra para o núcleo e age como um fator de transcrição. Esses fatores de transcrição levam a expressão de várias citocinas inflamatórias. (BHARTI; VADLAMUDI, 2021)

Demonstrou-se que o tratamento com CBD preveniu a fosforilação de MAPK e diminuiu, em concentração dose-dependente, os níveis na sinalização NF-kB. Além disso, diminuiu significativamente a translocação nuclear. Esses resultados sugerem que o efeito do CBD na inflamação envolve a inibição dos mecanismos de sinalização da MAPK e do NF-kB.

Conforme descrito por (OLÁH et al., 2014) o CBD normaliza a síntese de lipídios excessiva nos sebócitos SZ95 humanos induzida por um agente pró-acne. O CBD é capaz de inibir a ação lipogênica do endocanabinoide AEA de maneira dose-dependente. Além disso, foi demonstrada a capacidade do CBD em inibir outras substâncias lipogênicas que agem por diferentes mecanismos de transdução de sinal que o mecanismo do SEC. Dito isso, o CBD inibiu a síntese lipídica do AA e da combinação de ácido linoleico e testosterona (LA-T). Esses resultados indicam que o CBD apresenta ação lipostática universal.

Outro resultado confirmado por este mesmo estudo foi a capacidade do CBD em diminuir a proliferação dos sebócitos humanos, mas não sua viabilidade. A proliferação de sebócitos SZ95 foi significativamente reduzida na presença de CBD (1-10 μ m) e com tratamento alongado levou a diminuição da lipogênese. Ademais, notou-se que nessas concentrações o canabinoide não diminuiu a viabilidade celular ou não induziu as células a apoptose ou necrose. Entretanto, na administração de 50 μ m, o CBD induziu os sebócitos a apoptose citotóxica e levou a diminuir a lipogênese.

Como citado anteriormente, o CBD não possui alta afinidade por CB1 e CB2, por isso nenhum destes receptores é capaz de mediar as ações sebstáticas do CBD. Sendo assim, opções alternativas foram estudadas por (OLÁH et al., 2014). Demonstrou-se que o efeito sebstático do CBD é mediado pelo receptor transitório pró-inflamatório vaniloide 4 (TRPV 4). Os sebócitos SZ95 expressam TRPV 1, TRPV 2 e TRPV 4 tanto nos níveis de mRNA quanto de proteínas, porém expressa TRPV 4 em maiores níveis. Sabendo que os três TRPs são canais de cálcio não-seletivos e que são mais permeáveis a Ca^{2+} , percebeu-se ao avaliar o efeito do CBD na homeostase do cálcio nos sebócitos uma significativa diminuição da concentração de cálcio intracelular. Essa ação foi antagonizada pela diminuição dos níveis de cálcio extracelulares, pelo bloqueador não-específico dos canais TRP vermelho de rutênio e, principalmente, pelo TRPV 4 antagonista específico HC067047 (HC). O antagonista HC do TRPV 4 sozinho não é capaz de afetar a síntese de lipídios.

Sendo assim, pode-se dizer que o antagonista-específico do TRPV 4 pode prevenir a ação lipostática do CBD e ainda aumentar a concentração intracelular de cálcio. Esses resultados confirmam que o CBD ativa o receptor TRPV 4 e que esse canal iônico media sua ação lipostática.

4.4.2.2 CBC, CBDV, CBG, CBGV e THCv

Olah e colaboradores (OLÁH et al., 2016) selecionaram cinco fitocanabinoides (fCBs) para explorar seus efeitos anti-acne usando o sebócito humano SZ95 para investigar os mais promissores para futuros testes *in vivo* e *ex vivo*. Eles escolheram os fCBs não-psicotrópicos chamados canabicromeno (CBC), canabidivarina (CBDV), canabigerol (CBG), canabigerovarina (CBGV) e tetra-hidrocanabivarina (THCV).

Inicialmente, foi avaliado os efeitos dos fCBs na viabilidade dos sebócitos SZ95 usando o teste colorimétrico MTT. Notou-se que em altas concentrações ($\geq 50 \mu\text{m}$), os fCBs reduziram significativamente a viabilidade dos sebócitos SZ95. Além disso, demonstrou-se que a administração de altas concentrações ($\geq 50 \mu\text{m}$) levou a morte celular por apoptose.

Usando a coloração vermelho do Nilo foi avaliado o efeito dos fCBs na produção de lipídios nos sebócitos SZ95. Como esperado, quando administrado a altas concentrações ($\geq 50 \mu\text{m}$) todos os compostos diminuíram a lipogênese durante o tempo de tratamento

(24h). Porém foi proposto uma nova tentativa de tratamento em baixas concentrações ($\leq 10 \mu\text{m}$) para 48h de duração.

Com os resultados obtidos o grupo dividiu os fCBs em 3 categorias: pró-lipogênicos (CBG e CBGV), neutro (CBDV) e lipoestático (CBC e THCV).

Sendo assim, CBG e CBGV aumentaram a síntese de lipídios em 20-30%, comparados com o controle. No entanto, CBDV teve um comportamento similar ao CBD e não teve alterações tão significativas na produção de lipídios. Diferente dos fCBs anteriores, CBC e THCV diminuíram a produção lipídica.

Para avaliar a ação pró-lipogênica e um possível sinergismo entre CBG, CBGV e endocanabinoides, foi coadministrado os fCBs juntamente com AEA. Viu-se que CBG (10-20 μm) e CBGV (20 μm) são capazes de suprimir a lipogênese induzida por AEA, levantando a possibilidade que os fCBs em questão talvez atuem (menos eficazes) como agonistas parciais das mesmas vias de sinalização pró-lipogênicas que AEA.

A normalização das elevações e das alterações na produção de sebo podem ser a chave para o tratamento da acne. (KUROKAWA et al., 2009) Os testes bioquímicos e moleculares tinham como objetivo avaliar a eficiência do THCV, CBC e CBDV na síntese de lipídios induzida por AA, semelhante à acne, que mimetiza a seborreia. Os resultados demonstraram que os fCBs CBC e CBDV foram capazes de reduzir de forma dose-dependente a síntese de lipídios neutros induzida por AA. Entretanto, THCV excedeu a eficiência dos outros fCBs avaliados. THCV foi capaz de reduzir completamente a síntese de lipídios neutros induzida por AA. Além disso, descobriu-se que o THCV na concentração de 10 μm (similar ao CBD) reduz a lipogênese de uma maneira universal e não somente induzida por AA.

Com os resultados da lipogênese mencionados anteriormente pode-se concluir que o fCBs THCV tem um bom potencial para se tornar um novo agente anti-acne. (OLÁH et al., 2016) Dessa forma, foi avaliado seus efeitos na proliferação de sebócitos usando o teste CyQUANT. Demonstrou-se que em concentrações $\leq 10\mu\text{m}$ o THCV exerceu uma ação dose-dependente antiproliferativa num tempo de tratamento de 72h. Entretanto, em altas concentrações de teste notou-se que o fCBs em questão parou completamente a proliferação de sebócitos, demonstrando uma atividade sebstática (lipostática e antiproliferativa) *in vitro*.

Por fim, foi demonstrado que THCv exerce forte ação anti-inflamatória. A resposta pró-inflamatória foi induzida pela ativação do receptor Toll-like (TRL)-4 por meio de lipopolissacarídeos (LPS). O tratamento com LPS resultou em uma resposta pró-inflamatória que foi revelada por ELISA e Q-PCR. O fCB foi capaz de abolir totalmente as elevações nas expressões de citocinas pró-inflamatórias induzidas por LPS, sendo elas IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α . Para confirmar os achados foi medido as concentrações liberadas de IL-6 e IL-8 no sobrenadante dos sebócitos e confirmou-se que foram eficientemente inibidos pela coadministração de THCv.

Em suma, apesar de CBC e CBDV apresentarem atividades lipostáticas significantes, THCv foi o mais promissor composto anti-acne entre os analisados.

4.4.2.3 HSHE (extrato da semente de cânhamo)

O cânhamo deve conter no máximo 0,3% de THC. Sendo assim, não é um componente psicotrópico. Este nível de THC é 33x mais baixo que o encontrado na maconha menos potente. Além disso, o componente de teor mais alto encontrado no cânhamo é o CBD que não apresenta efeitos psicotrópicos. (JIN; LEE, 2019)

(JIN; LEE, 2019) demonstraram uma série de benefícios do HSHE no tratamento da acne. Sendo eles, o tratamento com HSHE diminuiu a expressão de enzimas inflamatórias COX-2 e óxido nítrico sintase (iNOS) e seus produtos (óxido nítrico (NO) e prostaglandina E₂ (PGE₂)) causada pela infecção pela *Propionibacterium acnes*. Além disso, o extrato foi capaz de reduzir as citocinas inflamatórias IL-8 e IL-1 β . Demonstraram que HSHE pode promover a síntese de colágeno *in vitro* e inibir a atividade da metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9) sugerindo que o extrato pode ser eficiente no processo de regeneração da pele dos processos inflamatórios ocasionados pela acne.

HSHE apresenta atividade antimicrobiana contra *P.acnes*. Com testes de cultura e crescimento bacteriano, notou-se que na concentração 20% de HSHE a atividade antimicrobiana foi de 99%.

Foi confirmado o efeito inibitório do HSHE nas células queratinócitas HaCaT sob efeito inflamatório induzido por *P.acnes*. Para confirmar esse dado foram feitas uma série de análises com Western blot para verificar o efeito do extrato na expressão das enzimas COX-2 e iNOS e da citocina IL-1 β . Dessa forma, confirmou-se a diminuição na expressão

das enzimas COX-2 e iNOS. Ademais, a expressão da IL-1 β foi significativamente reduzida em HSHE 0,6%. Pôde-se notar que em HSHE 0,6% também reduziu NO em 40% comparado ao grupo que não recebeu o tratamento com o extrato. A PGE₂ também apresentou uma diminuição significativa em decorrência do tratamento com HSHE 0,6%. Através do teste ELISA se confirmou a redução da expressão da IL-8 causada pelo HSHE.

Ademais, NF- κ B teve uma significativa diminuição em sua expressão quando exposto ao tratamento com HSHE. Esses resultados sugerem que o extrato atua no mecanismo de sinalização do NF- κ B das células HaCaT infectadas com *P.acnes*. (JIN; LEE, 2019) A translocação nuclear e a acumulação do fosfato-NF- κ B foram significativamente diminuídas com o tratamento. Isso sugere que o HSHE tem efeito anti-inflamatório regulando o mecanismo de sinalização NF- κ B e inibindo a translocação nuclear via fosfato-NF- κ B.

A biossíntese de colágeno tem uma importância fundamental na regeneração da pele. O tratamento com HSHE aumentou a produção de colágeno quando comparado com o grupo sem o tratamento. Além disso, em HSHE a 0,15% inibiu em 40% a atividade da MMP-9 quando comparada com as células Hs68 infectadas com *P.acnes*. Conclui-se que o HSHE é capaz de reduzir o dano causado na matriz extracelular causado por *P.acnes*.

Por fim, conclui-se que HSHE tem atividade antilipogênica. Apresenta efeito supressivo nos lipídios dos sebócitos humanos. Ademais, influencia na desregulação da produção intracelular de lipídios. Sendo assim, analisando todos os resultados apresentados pode-se dizer que o HSHE tem um bom potencial como agente antiacne.

4.5 Ensaio clínico

Foi encontrado apenas um ensaio clínico, que estudou a segurança e a eficácia de um creme contendo 3% de extrato de semente de *Cannabis* para ser aplicado na bochecha de 11 voluntários para verificar a redução de sebo e eritema. (NAVEED et al., 2015)

Os fitocanabinoides são compostos altamente lipofílicos. Sendo assim, em casos de administração tópica eles são prováveis de penetrar a pele pela via transfolicular e se acumular nas glândulas sebáceas. Assim, as propriedades físico-químicas dos fitocanabinoides faz deles compostos ideais para segmentar seletivamente as glândulas

sebáceas usando formulações tópicas, visando diminuir a ocorrência de efeitos adversos sistêmicos. (DOBROSI et al., 2008)

Para preparar a fase oleosa foi utilizado 2% de dimeticone, 14% de óleo de parafina, 3% óleo de *Cannabis sativa*, 1% de fragrância. Água como veículo. A fase oleosa e a aquosa foram aquecidas até 75°C e combinadas, o óleo 3% de *Cannabis* e a fragrância foram adicionados usando um homogeneizador. O mesmo método foi utilizado para a preparação da base-controle.

Foram selecionados 11 homens asiáticos saudáveis entre 20 e 35 anos, sem doenças de pele e sem alergias à ativos da formulação. Os participantes foram orientados a não utilizar nenhum produto para a pele nas 24h que antecederam o início do experimento e durante todo o seu decorrer.

O experimento, que teve duração de 12 semanas, aconteceu durante o inverno entre outubro de 2011 e janeiro de 2012.

Todas as análises e medições foram feitas pelos pesquisadores a cada duas semanas nas visitas periódicas. Nestas visitas os participantes recebiam duas novas amostras: uma contendo o creme 3% extrato de semente *Cannabis* e outro contendo a base-controle. Ambas embalagens eram iguais.

Os participantes foram instruídos pelos pesquisadores a passar, aproximadamente 500mg, 2x ao dia (manhã, 7:00-9:00; noite 19:00-21:00) o creme com extrato de *Cannabis* 3% na bochecha direita e a base-controle na bochecha esquerda.

Notou-se através do método DPPH, comumente utilizado para determinar a capacidade antioxidante de um composto, que a capacidade antioxidante da planta *Cannabis sativa* é de 87%, porém a capacidade do óleo de *Cannabis* é de 79%. Esse resultado sugere uma forte atividade antioxidante.

Para avaliar uma potencial irritação primária, os participantes foram submetidos a um teste de contato. Após 48h, um dermatologista observou se ocorreu alguma irritação na pele utilizando uma sonda Mexameter. Notou-se uma significativa diminuição dos níveis de eritema na bochecha que recebeu a base com tratamento com óleo de *Cannabis*. Porém, ao submeter os resultados a análise estatística (teste-t), a diferença entre a base-controle e a base-tratamento não foi tão significativa.

No entanto, o creme com extrato de semente de *Cannabis* 3% foi capaz de diminuir a quantidade de sebo na pele durante toda a duração do estudo. Inicialmente os valores de sebo na pele dos participantes eram de 73,88 (base-controle) e 74,09 (base-tratamento), ao final do estudo a pele que recebeu o tratamento com *Cannabis* chegou a 46,00. Uma possível resposta para essa grande diminuição é a habilidade de constituintes presentes na *Cannabis* de inibir a enzima 5- α -redutase, que inibe a excessiva secreção de sebo na pele. (NAVEED et al., 2015)

Ademais, a utilização do creme com extrato da semente de *Cannabis* 3% diminuiu gradativamente os valores de eritema ao longo das 12 semanas de estudo. Inicialmente o valor de eritema na pele com tratamento era de 412,09 e ao final do experimento foi encontrado o valor de 364,00. A diminuição do eritema fornece a evidência contra a inflamação, que dá eficiência ao colágeno e oferece proteção contra o foto-dano. (NAVEED et al., 2015)

Por fim, as duas formulações não apresentaram diferenças significativas de irritação. Ambas são seguras. Dessa forma, pode-se dizer que o creme contendo 3% de semente de *Cannabis* é seguro, bem tolerado, não alergênico e não irritante.

A aplicação tópica dos CNBs tem a vantagem de evitar o metabolismo de primeira passagem. Porém, o uso tópico dos CNBs tem alguns desafios devido à alta lipofilicidade dos compostos, são pouco solúveis em água, possuem difusão limitada através da pele e são instáveis, sendo suscetíveis a degradação pela temperatura, luz e auto oxidação. Esses problemas fazem dos CNBs bons candidatos para serem incorporados em avançados sistemas de liberação de medicamentos, como por exemplo, lipossomas, nanopartículas e micelas para serem aplicados pela via tópica. (MARTINS et al., 2022)

5. Conclusão

Os dados apresentados nesta revisão confirmam que os canabinoides apresentam propriedades farmacológicas significativas para o tratamento da acne. Foram encontrados relatos na literatura dos efeitos lipostático, anti-inflamatório e antiproliferativos dos canabinoides. Entre os canabinoides estudados, o CBD é o mais aceito devido aos amplos efeitos antiacne e por ser antipsicótico. No entanto, há poucos estudos clínicos que avaliam o uso tópico de canabinoides para acne. O único estudo relatou que os canabinoides se mostraram seguros, não-alergênicos e não irritantes na pele humana e ainda foram capazes de diminuir o sebo e os níveis de eritema. No entanto, há necessidade de mais estudos clínicos que avaliem diferentes tipos de concentrações de uso variados, tempo de tratamento e formulações diferenciadas. Os relatos encontrados até o momento apontam a ação anti-inflamatória dos canabinoides, podendo os mesmos serem uma nova alternativa natural de tratamento tópico da acne.

6. Referências

- BHARTI, S.; VADLAMUDI, H. C. A strategic review on the involvement of receptors, transcription factors and hormones in acne pathogenesis. **Journal of Receptors and Signal Transduction.**, 2021.
- CINTOSUN, A.; LARA-CORRALES, I.; POPE, E. Mechanisms of Cannabinoids and Potential Applicability to Skin Diseases. **Clinical Drug Investigation**, 1 abr. 2020.
- DOBROSI, N. et al. Endocannabinoids enhance lipid synthesis and apoptosis of human sebocytes via cannabinoid receptor-2-mediated signaling. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 10, p. 3685–3695, out. 2008.
- FONSECA, B. M.; CORREIA-DA-SILVA, G.; TEIXEIRA, N. A. Cannabinoid-induced cell death in endometrial cancer cells: involvement of TRPV1 receptors in apoptosis. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 74, n. 2, p. 261–272, 1 maio 2018.
- GONÇALVES, J. et al. Cannabis and Its Secondary Metabolites: Their Use as Therapeutic Drugs, Toxicological Aspects, and Analytical Determination. **Medicines**, v. 6, n. 1, p. 31, 23 fev. 2019.
- JIANG, Z. et al. Cannabidiol Inhibits Inflammation Induced by Cutibacterium acnes-Derived Extracellular Vesicles via Activation of CB2 Receptor in Keratinocytes. **Journal of Inflammation Research**, v. Volume 15, p. 4573–4583, ago. 2022.
- JIN, S.; LEE, M. Y. The ameliorative effect of hemp seed hexane extracts on the Propionibacterium acnes induced inflammation and lipogenesis in sebocytes. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, 1 jul. 2019.
- KUROKAWA, I. et al. New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. **Experimental Dermatology**, out. 2009.
- LENMAN, A.; FOWLER, C. J. Interaction of ligands for the peroxisome proliferator-activated receptor γ with the endocannabinoid system. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, n. 8, p. 1343–1351, ago. 2007.
- MARTINS, A. M. et al. Cannabis-Based Products for the Treatment of Skin Inflammatory Diseases: A Timely Review. **Pharmaceuticals**, 1 fev. 2022.

MNEKIN, L.; RIPOLL, L. Topical use of cannabis sativa l. **Biochemicals. Cosmetics**MDPI, 1 set. 2021.

NAVEED, A. et al. The safety and efficacy of 3% Cannabis seeds extract cream for reduction of human cheek skin sebum and erythema conten. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.**, 2015.

OLÁH, A. et al. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 9, p. 3713–3724, 2014.

OLÁH, A. et al. Differential effectiveness of selected non-psychotropic phytocannabinoids on human sebocyte functions implicates their introduction in dry/seborrhoeic skin and acne treatment. **Experimental Dermatology**, v. 25, n. 9, p. 701–707, 1 set. 2016.

O’SULLIVAN, S. E. Cannabinoids go nuclear: Evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. **British Journal of Pharmacology**, nov. 2007.

PEREZ, E. et al. In Vitro and Clinical Evaluation of Cannabigerol (CBG) Produced via Yeast Biosynthesis: A Cannabinoid with a Broad Range of Anti-Inflammatory and Skin Health-Boosting Properties. **Molecules**, v. 27, n. 2, 1 jan. 2022.

PEYRAVIAN, N. et al. Cannabidiol as a Novel Therapeutic for Immune Modulation. **ImmunoTargets and Therapy**, v. Volume 9, p. 131–140, ago. 2020.

PEYRAVIAN, N. et al. The Anti-Inflammatory Effects of Cannabidiol (CBD) on Acne. **Journal of Inflammation Research**, 2022.

PUCCI, M. et al. Endocannabinoid signaling and epidermal differentiation. **European Journal of Dermatology**, 2011.

RÍO, C. DEL et al. The endocannabinoid system of the skin. A potential approach for the treatment of skin disorders. **Biochemical Pharmacology.**, 1 nov. 2018.

SHAO, K.; STEWART, C.; GRANT-KELS, J. M. Cannabis and the skin. **Clinics in Dermatology**, v. 39, n. 5, p. 784–795, 1 set. 2021.

SHERIFF, T. et al. The potential role of cannabinoids in dermatology. **Journal of Dermatological Treatment.**, 16 nov. 2020.

TOYODA, M.; MOROHASHI, M. **Pathogenesis of acne**Med Electron Microsc., 2001.