

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
CURSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

RICARDO SOEI MAEKAWA

**ANÁLISE MOLECULAR DO Δ -9-TETRAHIDROCANABINOL, CANABIDIOL
E CANABIGEROL FRENTE AOS MÉTODOS CLÁSSICOS DE TERAPÊUTICA EM
GLIOBLASTOMA**

São Paulo

2023

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
CURSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

RICARDO SOEI MAEKAWA

**ANÁLISE MOLECULAR DO Δ -9-TETRAHIDROCANABINOL, CANABIDIOL
E CANABIGEROL FRENTE AOS MÉTODOS CLÁSSICOS DE TERAPÊUTICA EM
GLIOBLASTOMA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário São
Camilo, para obtenção do título de Bacharel
em Ciências Farmacêuticas. Orientador: Prof.
Dr. Heder Frank Gianotto Estrela.

**São Paulo
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Maekawa, Ricardo Soei

Análise molecular do Δ -9-Tetrahydrocannabinol, Canabidiol e Canabigerol frente aos métodos clássicos de terapêutica em Glioblastoma / Ricardo Soei Maekawa. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.
59 p.

Orientação de Heder Frank Gianotto Estrela.

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Canabidiol 2. Canabigerol 3. Dronabinol 4. Glioblastoma 5. Neoplasias
I. Estrela, Heder Frank Gianotto II. Centro Universitário São Camilo III.
Título

CDD: 616.079

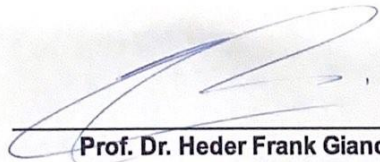
RICARDO SOEI MAEKAWA

**ANÁLISE MOLECULAR DO Δ -9-TETRAHIDROCANABINOL,
CANABIDIOL E CANABIGEROL FRENTE AOS MÉTODOS CLÁSSICOS DE
TERAPÊUTICA EM GLIOBLASTOMA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário
São Camilo, para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Farmacêuticas.

São Paulo, 09 de Novembro de 2023.

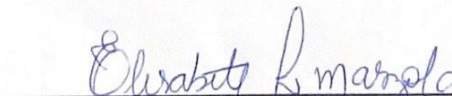
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Heder Frank Gianotto Estrela
Orientador



Prof. Dr. Fredson Torres Silva
Examinador interno



Me. Elisabete Leide Marzola
Examinador externo

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, sem Deus nada seria possível, gostaria de agradecer aos meus pais Ricardo Soji Maekawa e Leonor Antonia Martin Alves que sempre me guiaram e me aconselharam a seguir com os meus estudos e sempre me demonstraram o quão importante a educação é, sou eternamente grato por tudo que fizeram e fazem por mim e por terem me provido a melhor educação que eu poderia receber, além de todo amor e compreensão. Gostaria de agradecer a minha avó Yasue Maekawa (ou, como eu chamo, dona Palmira) que sempre desejou o meu melhor e sempre me incentivou a ser um ser humano melhor a cada dia, sei que estou muito longe do meu potencial mas um dia eu chego lá e enquanto isso continuarei tentando ser um pouco melhor a cada dia, um dia espero deixar a senhora orgulhosa e espero ser tão puro e bom quanto a senhora. Agradeço, enfim, aos meus irmãos Vanessa e Koji, a minha tia Crisitna e a todos da minha família pelo apoio que sempre me proveram. Agradeço, também, a minha falecida cachorra Xaxa que sempre alegrou meus dias.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Heder Frank Gianotto Estrela pela orientação que foi feita com o presente trabalho, agradeço a ele pela calma que teve comigo durante a realização do trabalho, creio que se fosse conduzido de outra forma o trabalho provavelmente não seria feito da melhor maneira. Agradeço a acessoria que tive do Prof. Dr. Fredson Torres Silva e, claro, agradeço a todos os professores que tive na instituição e ao longo da minha vida, sem eles eu pouco saberia de algo.

Agradeço à instituição, Centro Universitário São Camilo, por ter me fornecido a melhor educação que eu poderia exigir, além de ter me proporcionado ótimas memórias desses 5 anos de graduação.

Durante os anos de faculdade houve diversos momentos em que me senti perdido, sem saber se estava seguindo o caminho certo para mim, pensei em desistir diversas vezes, mas graças a todos os amigos e todas as pessoas que conheci durante esses 5 anos eu me mantive forte e continuei em frente. Com todas estas adversidades, hoje me identifico com uma escrita de Douglas Adams em “A longa e sombria hora do chá da Alma” que diz “eu posso não ter ido para onde eu pretendia ir, mas eu acho que acabei terminando onde eu pretendia estar”, logo, gostaria de agradecer a todos os amigos que estiveram comigo nestes anos de faculdade e a

todas as pessoas incríveis que conheci, tenho memórias incríveis dos anos universitários e devo elas a vocês que estiveram junto de mim em cada momento da faculdade, seja em festas universitárias, em provas, em surtos de madrugadas de estudos, em cada almoço no refeitório, em cada reunião da Atlética, em cada cerveja tomada no bar, enfim, em cada momento comigo. Hoje ainda não tenho certeza se estou no caminho certo e creio que talvez nunca terei essa certeza, mas estou certo de que eu deveria estar onde estou, a incerteza é o que nos move e devo minha eterna gratidão a todos! Eu gostaria de citar nomes, mas são tantos nomes e tenho medo de me esquecer de alguém, enfim, muito obrigado a todos!

*“Com o cheiro doce da arruda
Penso em Buda calmo
Tenso eu busco uma ajuda às vezes me vem o Salmo
Tira a visão que iluda, é tipo um oftalmo
E eu, que vejo além de um palmo
Por mim, 'to Ubuntu, ó, uau
Se for pra crer num terreno
Só no que nós 'tá vendo memo
Resumo do plano é baixo, pequeno e mundano
Sujo, inferno e veneno
Frio, inverno e sereno
Repressão e regressão
Angústia é eu ter calma e a vida escada
tento ler almas pra além da pressão
As voz em declive na mão desse Barrabás
Onde o milagre jaz
Só prova a urgência de livros perante o estrago que um 'sábio' faz
O mestre em dívidas ávidas
Sem noção do que são dádivas
No tempo onde a única que ainda corre livre aqui são as suas lágrimas
E eu voltei pra acabar tipo infarto
Depois fazer renascer, estilo parto
Eu me refaço, fato, descarto
De pé no chão, homem comum
Se a benção vem a mim, reparto
Invado cela, sala, quarto
Rodeio o globo, hoje 'to certo
De que todo mundo é um”
(Emicida)*

RESUMO

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças caracterizadas pelo crescimento e multiplicação celular descontrolado, que geram massas tumorais anormais. É uma das mais comuns causas de mortalidade no mundo atual, sendo o glioblastoma (GBM) um dos tipos de câncer mais agressivos entre os tumores cerebrais primários, é caracterizado pela alta proliferação celular e angiogênese, que ocasiona em um crescimento tumoral rápido e, com isso, a necrose. Os métodos terapêuticos atuais se consistem em radioterapia, quimioterapia com agente alquilante de DNA e ressecção cirúrgica, porém em mais de 95% dos casos, os pacientes morrem dentro de 5 anos após o diagnóstico. Existe, então, a necessidade do desenvolvimento de uma nova abordagem terapêutica para GBM. É visto que as células tumorais de GBM secretam grande quantidade de receptores canabinóides e com isso existe a hipótese de que os canabinóides (canabidiol, canabigerol e o Δ -9-tetrahydrocannabinol) com suas funções antitumorais podem vir a ser utilizados como estratégia alternativa na terapêutica do GBM, logo, o atual estudo objetiva analisar os parâmetros fisiopatológicos do GBM, farmacológicos e toxicológicos da terapia com canabinóides frente ao GBM através de predições *in silico* e *docking* molecular. De fato, os canabinóides apresentaram uma especificidade maior em comparação aos métodos terapêuticos tradicionais e níveis de toxicidade mais baixos em comparação com os métodos tradicionais de terapia em GBM, logo são esperados menos eventos adversos oriundos desta terapia, porém é notável a necessidade de estudos clínicos a fim de avaliar com amplitude os efeitos a longo prazo desta terapia proposta.

Palavras-chave: Câncer. Glioblastoma. Canabidiol. Canabigerol. Δ -9-tetrahydrocannabinol.

ABSTRACT

Cancer is the name given to a group of diseases characterized by uncontrolled cell growth and multiplication, which generate abnormal tumor masses. It is one of the most common causes of mortality in the world today, with glioblastoma (GBM) being one of the most aggressive types of cancer among primary tumors, presented by the high cellular incidence and angiogenesis, which leads to rapid tumor growth and, therefore, a necrosis. Current therapeutic methods consist of radiotherapy, chemotherapy with DNA alkylating agent and surgical resection, but in more than 95% of cases, patients die within 5 years after diagnosis. There is, therefore, a need to develop a new therapeutic approach for GBM. It is seen that GBM tumor cells secrete a large number of cannabinoid receptors and with this there is the possibility that cannabinoids (cannabidiol, cannabigerol and Δ -9-tetrahydrocannabinol) with their antitumor functions can be used as an alternative strategy in therapy. of GBM, therefore, with the present study we observed the pathophysiological parameters of GBM, pharmacological and toxicological parameters of cannabinoid therapy against GBM through In Silico predictions and molecular docking. In fact, cannabinoids had a higher specificity compared to traditional therapeutic methods and lower toxicity levels compared to traditional therapy methods in GBM, however more studies are needed in order to evaluate the long-term effects of this proposed therapy.

Keywords: Cancer. Glioblastoma. Cannabidiol. Cannabigerol. Δ -9-tetrahydrocannabinol.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	5
RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 CÂNCER	12
1.2 CÂNCER DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	13
1.3 GLIOBLASTOMA	13
1.4 TERAPÊUTICA	15
1.5 NICOTINAMIDA ADENINA DINUCLEOTÍDEO NO CÂNCER	16
1.6 CANABINÓIDES	17
2 OBJETIVOS	20
3 METODOLOGIA.....	21
3.1 PREDIÇÕES IN SILICO	21
3.1.1 ANÁLISE ADME	21
3.1.2 PREDIÇÃO DE PERFIS FARMACOCINÉTICOS E DE TOXICIDADE.....	22
3.2 DOCKING MOLECULAR	22
3.2.1 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS	23
4 DESENVOLVIMENTO.....	24
4.1 PROCESSOS PATOLÓGICOS	24
4.1.1 ALTERAÇÕES MOLECULARES DO GENE ISOCITRATO DESIDROGENASE 1 25	
4.1.2 ALTERAÇÕES NO RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO 26	
4.1.3 VIA NOTCH	27
4.1.4 SINALIZAÇÃO DE CERAMIDA.....	28
4.1.5 VIA DE SINALIZAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL VASCULAR 29	
4.1.6 SINALIZAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS30	
4.1.7 VIA PI3K/AKT/mTOR.....	30
4.1.8 SINALIZAÇÃO HOMÓLOGA DE FOSFATO E TENSINA.....	31
4.1.9 SINALIZAÇÃO COM A GLICOPROTEÍNA SONIC HEDGEHOG	31

4.2	TERAPÊUTICA TRADICIONAL	31
4.2.1	RESSECÇÃO CIRURGICA DO TUMOR	32
4.2.2	RADIOTERAPIA.....	34
4.2.3	QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA	35
4.3	SUPLEMENTAÇÃO COM PRECURSOR DE NAD ⁺ EM CÂNCER	37
4.4	CANABINÓIDES NO GLIOBLASTOMA.....	41
4.4.1	CANABIDIOL	43
4.4.2	CANABIGEROL.....	44
4.4.3	Δ-9-TETRAHIDROCANABINOL	45
5	PREDIÇÃO IN SILICO	46
5.1	SWISS-ADME	46
5.2	PREDIÇÃO DE PERFIS FARMACOCINÉTICOS E DE TOXICIDADE.....	47
6	DOCKING MOLECULAR	50
6.1	CBD E CB2.....	50
6.2	THC E CB1	52
7	CONCLUSÃO	55
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER

O câncer é uma das mais comuns causas de mortalidade no Mundo, sendo que no ano de 2023 foi estimado aproximadamente um total de 1.958.310 novos casos de cânceres diagnosticados nos Estados Unidos e 609.820 mortes (REBECCA L. *et al.*,2022). Já no Brasil, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) é estimado que para o triênio de 2023 a 2025 ocorrerão cerca de 704 mil casos novos de câncer. A incidência de cânceres bem como sua mortalidade estão crescendo de forma exponencial no cenário mundial (SUNG *et al.*,2021), tal aumento está relacionado com as transições demográficas e epidemiológicas pelas quais o mundo está passando. Sob o ponto de vista demográfico, é claramente observado uma diminuição da taxa de fertilidade e de mortalidade infantil acarretando um crescimento na população idosa (BRASIL, 2023; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA). Sob o ponto de vista epidemiológico, é observado uma substituição da mortalidade por doenças infecciosas pelas mortes acometidas por doenças crônicas. Portanto, a relação entre o envelhecimento populacional, a mudança de comportamento acometida pelas mudanças estruturais que geram impacto na saúde alimentar, na mobilidade, na recreação e na exposição a poluentes ambientais somadas com a mudança do ambiente contribuem para o aumento da incidência e mortalidade por câncer (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020).

Todos os tecidos são compostos por células e todas as células são originadas a partir de outras células preexistentes, por meio de suas divisões celulares. Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças caracterizadas pelo crescimento e multiplicação celular descontrolado que acarretam a formação de massas tumorais anormais. Os tumores podem surgir em qualquer local do organismo e os mesmos têm a capacidade de invadir órgãos vizinhos e órgãos distantes da origem tumoral (tumor primário ou tumor fundador), ocasionando o processo conhecido como metástase (WEINBERG, 2008).

Se uma população de células tumorais descende de uma única célula ancestral comum, é dito que se trata de um tumor monoclonal. Porém, se a massa tumoral é formada por células diferentes entre si que não possuam nenhum indicativo de que

tiveram uma única origem comum, é dito que se trata de um tumor policlonal (WEINBERG, 2008).

1.2 CÂNCER DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Visto que os tumores podem se originar em qualquer tecido, os tumores certamente podem surgir no sistema nervoso central (SNC). Os principais tumores acometidos no SNC são os gliomas, meningiomas, meduloblastoma, schwannomas, craniofaringiomas, tumores da hipófise (funcionantes e não-funcionantes) e os tumores cerebrais secundários (LOUIS *et al.*, 2016).

Mundialmente, no ano de 2020 ocorreram cerca de 310 mil casos novos de câncer do SNC entre todos os tipos de câncer. No ano de 2020, foram estimados 170 mil casos novos em homens e 140 mil em mulheres, as maiores taxas de incidência de câncer do SNC, para ambos os sexos, foram observadas no Norte e no Sul da Europa e na Europa Ocidental (FERLAY *et al.*, 2020; SUNG *et al.*, 2021). Tais valores correspondem a um risco estimado de cerca de 3,90 casos a cada 100 mil homens e 3,00 casos a cada 100 mil mulheres (FERLAY *et al.*, 2020; SUNG *et al.*, 2021). Segundo o INCA, é estimado que o número de casos novos de câncer do SNC no Brasil, a cada ano no triênio de 2023 a 2025 seja de 11.490 casos, sendo 6.110 casos em homens e 5.380 em mulheres. No Brasil, houve 9.355 óbitos por câncer do SNC (4,42 por 100 mil) em 2020. A taxa de óbitos para homens foi de 4.787 óbitos (4,62 por 100 mil), e, entre as mulheres foi de 4.567 (4,22 por 100 mil) (BRASIL, 2022; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2020a).

1.3 GLIOBLASTOMA

O glioblastoma faz parte do grupo de tumores da glia conhecidos como glioma. As células da glia fazem parte do SNC, sendo o qual formado por astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e células endoteliais, tais células são capazes de oferecer auxílio estrutural e funcional para os neurônios (LOPES *et al.*, 2012).

Os gliomas são tumores cerebrais primários que se acredita derivarem de células-tronco neurogliais ou células progenitoras. Os principais grupos de tumores pertencentes aos gliomas são oligodendrogliomas e astrocitomas (MOLINARO, A.M.,

TAYLOR. J.W., WIENCKE, J.K *et al.*, 2019). Os oligodendrogliomas são tumores de crescimento lento originado nos oligodendrócitos, são tumores que ocorrem na substância branca do cérebro, seu grau de malignidade é de grau II, sendo que o mesmo pode aumentar as recidivas e tornar-se oligodendroglioma anaplásico, ou seja, de grau III. Os astrocitomas são tumores originados nos astrócitos e esses tumores são divididos segundo o grau de malignidade e agressividade, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) os tumores astrócitos específicos são denominados em: astrocitoma pilocístico e astrocitoma subependimário de células gigantes (grau I), astrocitoma difuso (grau II), astrocitoma anaplásico (grau III) e glioblastoma (grau IV). Portanto, quanto maior o grau, maior a gravidade da neoplasia.

Quadro 1 – Classificação dos subtipos de gliomas, segundo a Organização Mundial da Saúde.

Grau OMS	Subtipo
I	Astrocitoma pilocístico
II	Astrocitomas difusos, Oligodendroglioma, Oligoastrocitoma.
III	Astrocitomas anaplásicos, Oligoastrocitoma anaplásico, Oligodendroglioma anaplásico.
IV	Glioblastoma multiforme

O glioblastoma (GBM) é um tumor cerebral primário, suas características histopatológicas lhe apresentam como um processo neoplásico astrocístico de grau IV (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019). O GBM é caracterizado pela alta proliferação celular e angiogênese, além do comportamento invasivo e alta taxa de migração das células podendo acarretar lesões metacrônicas (DUMITRU, C.A., SANDALCIOGLU, I.E., 2018).

A população celular de origem do GBM não é muito clara, porém dados experimentais indicam que o tumor pode vir a ser oriundo de células progenitoras neurais, que são células que possuem um alto potencial mitótico e que se localizam na zona subventricular, na substância branca subcortical e no giro denteado do hipocampo. Existe uma linhagem de células do GBM que compartilham a autorrenovação com as células progenitoras neurais, essa linhagem de células do GBM é chamada de iniciadoras de glioma. Portanto, é visto que por mais que as células neoplásicas de origem do GBM sejam apenas fundamentadas em teoria, existe vários mecanismos biológicos que elucidam cada vez mais a patogênese do GBM (LEE J.H., LEE J.H., 2018).

Anatomicamente o GBM se localiza principalmente na substância branca subcortical, as regiões do cérebro mais acometidas, em geral, são: lobo temporal

(31%), parietal (24%), frontal (23%) e occipital (16%). Raramente as lesões podem ser encontradas em região infratentorial e medula espinhal (BADKE G.L., *et al.*, 2014).

A incidência do glioblastoma corresponde entre 2 e 3 casos para 100.000 indivíduos, que equivalem a cerca de 14,9% dos tumores cerebrais primários e a 51% dos gliomas malignos, correspondendo a 2% de todos os tipos de câncer (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

1.4 TERAPÊUTICA

O primeiro caso de GBM foi relatado em 1928, desde então o tratamento para essa neoplasia vem evoluindo lentamente, aumentando o período de tempo entre o diagnóstico e o óbito do paciente adulto, entre 1940 e 2010 o tempo evoluiu de 6 meses para uma média de 15 meses (CUNHA M.L.V.DA., MALDAUN M.V.C., 2019). Porém, embora a terapêutica tenha evoluído com o passar dos anos, ainda não existe um método terapêutico que seja considerado como ideal.

O tratamento atual padrão é agressivo e consiste principalmente em ressecção cirúrgica do tumor seguido de radioterapia e quimioterapia com agente alquilante de DNA. Por mais agressiva que a terapia seja, existe o fato de que 95 % dos pacientes morrem dentro de 5 anos após o diagnóstico da doença (DUMITRU C.A., SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

É fato que o processo de ressecção cirúrgica se trata de um meio extremamente invasivo afim de tratar a neoplasia, mas além disso, existe um fator de risco particular de cada paciente, pois a anatomia do cérebro é ímpar e com isso existe o risco de lesões cirúrgicas em áreas similares as áreas acometidas pela neoplasia, o que acarreta uma previsão prognóstica pior ao impossibilitar a citorredução tumoral (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

A radioterapia é utilizada para tratamento de GBM desde 1970, junto com a cirurgia, porém é fato que existe um risco associado a irradiação na região da cabeça e pescoço acarretando danos a tecidos saudáveis, podendo resultar em algumas complicações como candidose bucal, disgeusia, cáries por radiação, mucosite, xerostomia, trismo e osteorradionecrose (OLIVEIRA V.D.P.DE, AIRES D.M.P., 2018). Além do fato de que a radioterapia tem a capacidade de enfraquecer tanto as células de interesse quanto as células saudáveis e tecidos saudáveis, acarretando

complicações na qualidade de vida das pessoas acometidas pela neoplasia (OLIVEIRA V.D.P.DE, AIRES D.M.P., 2018).

O principal fármaco utilizado na quimioterapia como agente alquilante é a temozolomida (TMZ). A TMZ é o tratamento padrão, utilizado junto com a radioterapia após o processo cirúrgico (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

A TMZ é um pró-fármaco que após ser hidrolisado no plasma é convertido em seu metabólito ativo, monometiltriazenoimidazol carboxamida, o mesmo apresenta uma biodisponibilidade de cerca de 96 a 100%, ou seja, possui uma significativa penetração no SNC (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019). Porém, é fato que uma grande parcela dos pacientes acometidos de GBM apresentam resistência a TMZ e todos os pacientes eventualmente falham na terapia, tal fato se deve aos vários efeitos que a TMZ exerce no sistema imunológico que dependem do modo de administração e da dosagem, tais aspectos possuem efeitos imprevisíveis na imunoterapia (KARACHI A., DASTMALCHI F., MITCHELL D.A., RAHMAN M., 2018).

1.5 NICOTINAMIDA ADENINA DINUCLEOTÍDEO NO CÂNCER

A nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) se trata de um co-substrato para atividade de enzimas que participam de uma gama de processos fisiológicos no metabolismo celular (NELSON L.D., 2019).

Ao longo da vida existe uma diminuição de NAD⁺, tal depleção NAD⁺ desempenha um importante papel no processo de formação de câncer, pois limita a produção de energia celular, reparo do DNA, estabilidade genômica e sinalização. O conteúdo de NAD⁺ é um fator de proteção crítico no início da carcinogênese, portanto a restauração de NAD⁺ pode prevenir o fenótipo de células tumorais malignas no início da neoplasia ou então revertê-las (POLJSK J., 2016). Ou seja, o conteúdo de NAD⁺ é inversamente relacionado ao fenótipo maligno.

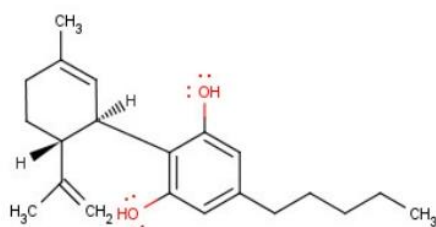
Dentre os precursores de NAD⁺, existe uma molécula em evidência chamada nicotinamida ribosídeo (NR) proveniente da niacina ou vitamina B3, que apresenta pouca ou quase nenhuma reação adversa e com a sua suplementação é capaz de obter-se uma melhora na função mitocondrial em diferentes tipos celulares (ZHANG *et al.*, 2016). NR é um potente precursor de NAD⁺, sua suplementação em diferentes

linhagens celulares foi capaz de elevar em até 2 vezes a concentração intracelular de NAD^+ (CORDEIRO, 2021). Porém, é necessária uma observação mais aprofundada sobre seus possíveis mecanismos citotóxicos.

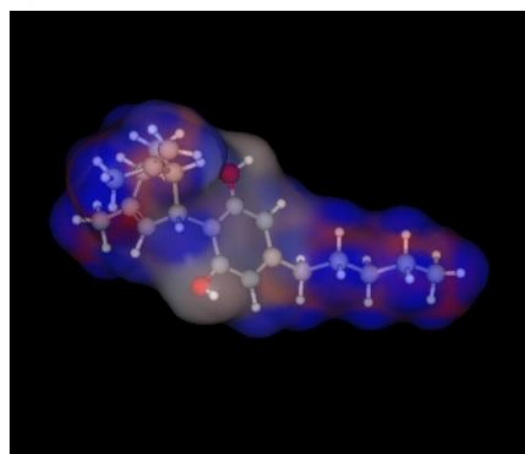
1.6 CANABINÓIDES

A cannabis é considerada uma das plantas medicinais mais antigas do mundo, sendo que a mesma possui propriedades psicoativas e foi utilizada por muitos povos durante muito tempo na história (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019). Com a descoberta dos constituintes ativos da cannabis, denominado canabinóides, muitos estudos foram realizados a fim de investigar suas ações farmacológicas (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019).

Os canabinóides são compostos terpenofenólicos presentes na planta da cannabis, sendo o ácido canabigerólico o precursor do delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), canabidiol (CBD) e canabigerol (CBG) (LAH T.T., *et al.*, 2021). Somente após a elucidação da estrutura do THC que as pesquisas envolvendo os canabinóides se intensificaram culminando na descoberta dos receptores de canabinóides 1 e 2, vulgo CB1 e CB2, assim como os seus ligantes endógenos, os endocanabinóides (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019). O sistema endocanabinóide realiza um papel importante na regulação de vários processos fisiopatológicos envolvendo tanto o SNC quanto os órgãos periféricos (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019).



(A)



(B)

Figura 1: (A) Molécula do canabidiol modelada em 2D, feita no software Marvin Sketch. (B) Representação em 3D da molécula do canabidiol, sendo levado em

consideração os raios atômicos (espaços azuis – hidrogênios, espaços vermelhos – oxigênios e espaços cinzas – carbonos).

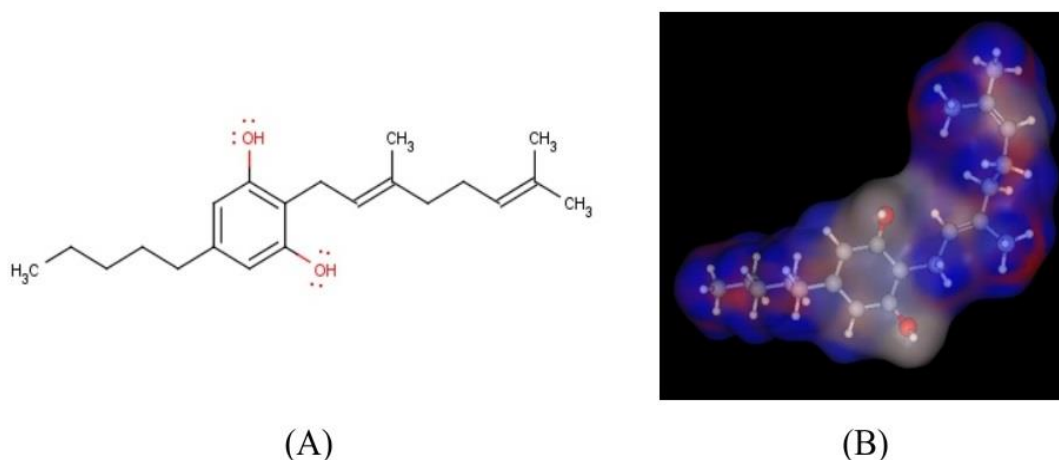


Figura 2: (A) Molécula do canabigerol modelada em 2D, feita no software Marvin Sketch. (B) Representação em 3D da molécula do canabigerol, sendo levado em consideração os raios atômicos (espaços azuis – hidrogênios, espaços vermelhos – oxigênios e espaços cinzas – carbonos).

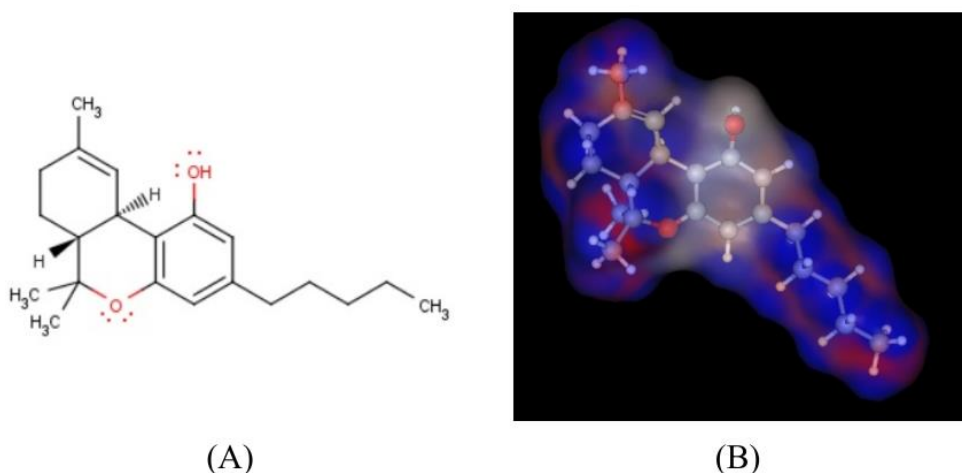


Figura 3: (A) Molécula do Δ -9-tetrahydrocannabinol modelada em 2D, feita no software Marvin Sketch. (B) Representação em 3D da molécula do Δ -9-tetrahydrocannabinol, sendo levado em consideração os raios atômicos (espaços azuis – hidrogênios, espaços vermelhos – oxigênios e espaços cinzas – carbonos).

Os canabinóides possuem uma forte ação antitumoral e possui efeitos citostáticos/citotóxicos nas células cancerosas, além do fato de que a associação entre o THC e o CBD foi capaz de aumentar a sobrevida dos pacientes com câncer (LAH T.T., *et al.*, 2021). Os estudos envolvendo o CBG foram negligenciados por

décadas devido ao fato de sua concentração na planta da cannabis ser baixa (menos de 10%), porém testes *in vitro* foram realizados com o CBG e demonstraram que o CBG tem a capacidade de reduzir a proliferação celular em várias linhagens celulares de câncer (LAH T.T., *et al.*, 2021).

Os tumores de GBM expressam receptores específicos de canabinóides CB1 e CB2, principalmente o CB2 que é expresso em altos níveis, sendo seu nível diretamente proporcional com o grau de malignidade do tumor. (DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

Através de estudos *in vitro* foi observado que os canabinóides possuem uma forte ação antitumoral, sendo que seus mecanismos de ação podem ser agrupados em três grupos: mecanismos indutores de morte celular (autofagia citotóxica e apoptose), mecanismos de inibição da proliferação celular e mecanismos antiangiogênicos (DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo é compreender os processos patológicos e fisiopatológicos do GBM. Descrever os mecanismos farmacológicos e toxicológicos do CBD, CBG, THC e das terapias clássicas de GBM, a fim de avaliar se os canabinóides são alternativas adequadas para a terapêutica de GBM.

3 METODOLOGIA

Para a realização do presente trabalho foi realizado um estudo exploratório por meio de uma revisão bibliográfica narrativa, constituída por artigos científicos e trabalhos acadêmicos publicados nos últimos 15 anos, entre os anos de 2008 até 2023, que retratem o processo patológico do GBM e os processos farmacodinâmicos dos canabinóides frente ao GBM, além da utilização de livros acerca do tema trabalhado.

Os artigos científicos sobre a temática tratada foram disponibilizados pelos bancos de dados: SCIELO, LILACS, PUBMED e PUBCHEM. O quadro 2 indica todas as fontes de informação utilizadas para a elaboração do estudo, totalizando 48 fontes.

Quadro 2 – Fontes de informação para a elaboração do estudo

Fontes acadêmicas	Total
Artigos científicos	40
Livros	3
Documentos de ordem pública	2
Teses de doutorados	2
Trabalhos publicados em congressos	1

Foram utilizados, para a elaboração do trabalho, os seguintes descritores na língua portuguesa e inglesa: Canabinóides, canabidiol, delta-9-tetrahydrocannabinol, THC, canabigerol, glioblastoma, tumor, câncer, apoptose, mecanismo de ação, estudos *in vivo*, estudos *in vitro*, ensaios clínicos, apoptosis, cannabidiol, cannabigerol, cannabinoids, delta-9-tetrahydrocannabinol, glioblastoma, *in vivo* studies, *in vitro* studies and clinical trials.

3.1 PREDIÇÕES IN SILICO

3.1.1 ANÁLISE ADME

Foi realizada a predição *in silico* através da ferramenta SwissADME (Absorção, Distribuição, Metabolização e Excreção) disponibilizada no *web site* da SwissADME sob a qual é capaz de avaliar parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos, além semelhanças estruturais com outras drogas, tais parâmetros são avaliadas através de

algoritmos internos, tais como o *BOILED-Egg* (DAINA A., MICHIELIN O., ZOETE V., 2017).

O *BOILED-Egg* se trata de um modelo gráfico com o qual se é representado as previsões de absorção gastrointestinal passiva (HIA) e permeação da barreira hematoencefálica. O método *BOILED-Egg* é um modelo preciso que exerce sua função através do cálculo de lipossolubilidade e polaridade de pequenas moléculas. O gráfico gerado corresponde a função da posição das moléculas no referencial WLOGP e TPSA, sendo o Log P (coeficiente de partição n-octanol / água) e a área de superfície polar (DAINAA., MICHIELIN O., ZOETE V., 2017).

3.1.2 PREDIÇÃO DE PERFIS FARMACOCINÉTICOS E DE TOXICIDADE

A predição da toxicidade foi realizada através da utilização da ferramenta pkCSM (pkCSM-ADMT, sendo A de absorção; D de distribuição; M de metabolização; T de toxicidade), que é capaz de fornecer propriedades farmacocinéticas e de toxicidade através da conversão das moléculas previamente modeladas para o formato SMILES. O formato SMILES se trata de uma notação química utilizada para descrever as estruturas moleculares informando sua natureza e topologia para a plataforma analítica (PIRES D., EV., BLUNDELL T. L., ASCHER D. B., 2015).

Tal ferramenta se baseia no conceito de assinaturas baseadas em gráficos com a finalidade de modelar propriedades físico-químicas e geométricas de moléculas. Tais assinaturas são utilizadas como evidências a fim de treinar modelos baseados em aprendizado de máquina para prever e melhorar propriedades farmacocinéticas de substâncias bioativas (PIRES *et al.*, 2018).

3.2 DOCKING MOLECULAR

Foram realizados dois dockings moleculares englobando o CBD e o THC, as estruturas cristalografadas de todos os receptores foram obtidas através do banco de dados RCSB.org, o formato de todos os ligantes em PDBQT foram obtidos com a utilização do *software* Dock Mgl Tools 1.5.7. Os canabinóides foram modelados com a utilização dos *softwares* Marvin Sketch e ChemSketch.

O docking foi realizado usando o valor de exaustividade de 100, os parâmetros restantes do *software* foram mantidos como padrão. Os resultados finais do acoplamento foram visualizados por meio do Discovery Studio Visualizer 2.5.

3.2.1 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS

As validações analíticas dos dockings moleculares realizados foram feitas por *root mean square deviation* (RMSD), sendo que tanto para o método do CBD quanto para o THC as estruturas passaram por um processo de redocking, no qual foi visado compreender as interações e a geometria espacial de cada ligante original presente em cada receptor canabinóide.

Em ambos os métodos a observação estrutural bem como a observação das interações que cada ligante original realizava com seu devido receptor foram feitas com o *software* Discovery Studio. Em ambos os métodos houve a separação do ligante original e seu devido receptor com a utilização do *software* AutoDockTools 1.5.7. A partir da visualização estrutural referente as interações que cada ligante realizava com seu receptor com o *software* Discovery Studio foi possível delimitar, de forma manual, os valores de coordenada referentes a interação entre ligante e receptor através do método de *grid box*.

Com os valores de coordenada foi possível realizar a varredura estrutural entre ligante e receptor, para ambos os métodos a varredura foi feita com o valor de exaustividade de 100. Com isso, foram escolhidos os ligantes com menor valor de kcal/mol, apresentando uma maior afinidade pelo receptor, posteriormente o ligante escolhido e o ligante original foram transpostos um sobre o outro obtendo-se o valor de RMSD referente a seu processo de redocking. Com o valor de RMSD foi possível modelar os devidos canabinóides e foi possível ajustar o número de torções de cada canabinóide *software* pelo Avogadro. Por fim, através do *software* Discovery Studio cada canabinóide modelado foi alocado em seu devido receptor e apresentando suas devidas interações.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 PROCESSOS PATOLÓGICOS

Os tumores fazem parte de um grupo de doenças caracterizadas por desarranjo celular, relacionado ao núcleo celular, inclusive o DNA. Portanto, é compreensível que o câncer seja considerado como uma doença molecular. Para que ocorra a transformação neoplásica é necessário que ocorra dois eventos que ocasionem duas alterações cromossômicas (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

O primeiro evento se caracteriza com a alteração patológica do DNA, ocorrendo um aumento da proteína P53, cuja produção tem uma relação com o braço curto do cromossomo 17, que bloqueia o ciclo celular fazendo com que ocorra a execução do reparo do DNA que foi danificado. Se o reparo for adequado, a célula prossegue com o ciclo celular, caso o reparo não for adequado a célula sofre apoptose (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

O segundo evento se caracteriza pela alteração do cromossomo 17, o gene passa a anular o supressor fazendo com que a proteína P53 se transforme em oncoproteína (TP53) dando suporte para o ciclo celular com o DNA alterado favorecendo o desenvolvimento tumoral. No SNC o gene que promove o crescimento é o fator de crescimento epidérmico (EGFR) (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

O GBM é um tumor cerebral primário, ou seja, surge sem um precursor clínico conhecido. O GBM é um processo neoplásico astrocístico de alto grau (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019). É caracterizado pela necrose, alta capacidade de angiogênese e pleomorfismo, sendo que o seu mau prognóstico se deve principalmente pela alta capacidade de invasão das células do GBM no parênquima cerebral impedindo a ressecção completa do tumor e a alta resiliência do tumor cerebral (LAH T.T., *et al.*, 2021).

As células-tronco de glioblastoma (GSCs) ou células iniciadoras provavelmente evoluem a partir de células-tronco neurais normais ou por diferenciação reversa (desdiferenciação) de qualquer um de seus progenitores, concomitantemente com o acúmulo de mutações oncogênicas durante a formação do glioma (LAH T.T., *et al.*, 2021).

Os GBMs podem ser agrupados de acordo com sua evolução, tipo histológico ou em primários e secundários. Os GBMs primários não mostram evidência clínica ou histopatológica de uma lesão precursora de baixo grau pré-existente, são os mais frequentes acometendo pacientes com uma média de 62 anos (GRANDE, R.M., 2017). Já os GBMs secundários originam-se da progressão de gliomas de baixo grau, sendo que com o tempo se transformam em gliomas de alto grau (GRANDE, R.M., 2017).

Ao todo os GBMs são relatados em quatro subtipos genéticos diferentes com mutações condutoras distintas. Os 4 subtipos de GBM são: Clássico, Proneural, Mesenquimal e Neural. O aparecimento de mutações junto do tumor é chamado de “heterogeneidade intratumoral” e tal acontecimento está intimamente ligado a um prognóstico pior de sobrevida do paciente em comparação com pacientes que sofrem apenas com um único subtipo de GBM (LAH T.T., *et al.*, 2021).

Os GBMs mais frequentes são denominados de clássicos, os mesmos são caracterizados pela alta expressão de EGFR e ausência de mutações do gene TP53. O GBM Proneural apresenta mutações dos genes TP53, IDH1 (Isocitrato desidrogenase-1), ATRX (Gene da alfa talassemia/síndrome de retardo mental ligado ao X), PDGFR-A (*Platelet-derived growth factor receptor*) e pode vir a apresentar hipermetilação do promotor do gene MGMT (O6-Metilguanina-DNA Metiltransferase). O Mesenquimal apresenta mutações no gene NF1, PTEN, TP53 e uma amplificação do EGFR e mutações de genes que estejam associados com a sinalização de Akt. O Neural é caracterizado pela expressão de genes que são expressos também no cérebro normal, neurônios e células não cancerosas (GRANDE, R.M., 2017).

O GBM com volume de 10 cm³ é capaz de apresentar sinais e sintomas neurológicos, como episódios epiléticos, déficits focais, hipertensão intracraniana. Seu diagnóstico é estabelecido com volume tumoral variando entre 10 e 50 cm³ (CARVALHO, V.A., *et al.*, 2008).

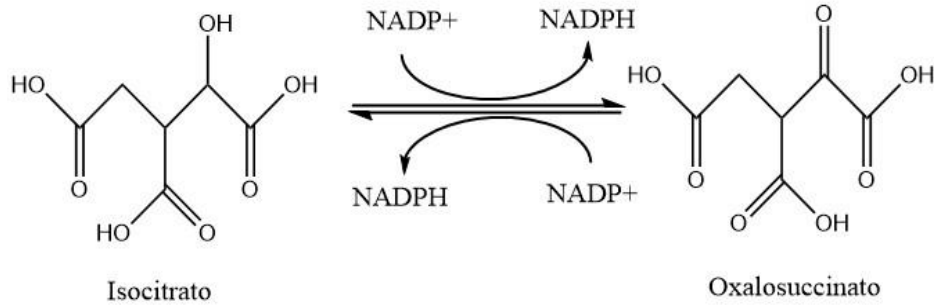
4.1.1 ALTERAÇÕES MOLECULARES DO GENE ISOCITRATO DESIDROGENASE

1

A isocitrato desidrogenase é uma enzima capaz de catalisar a descarboxilação oxidativa do isocitrato em alfa-cetoglutarato (α -KG), NADPH e CO₂ no ciclo de Krebs.

O IDH possui 3 isoformas, são elas: IDH1, IDH2 e IDH3 (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

I - IDH



II - IDH mutante

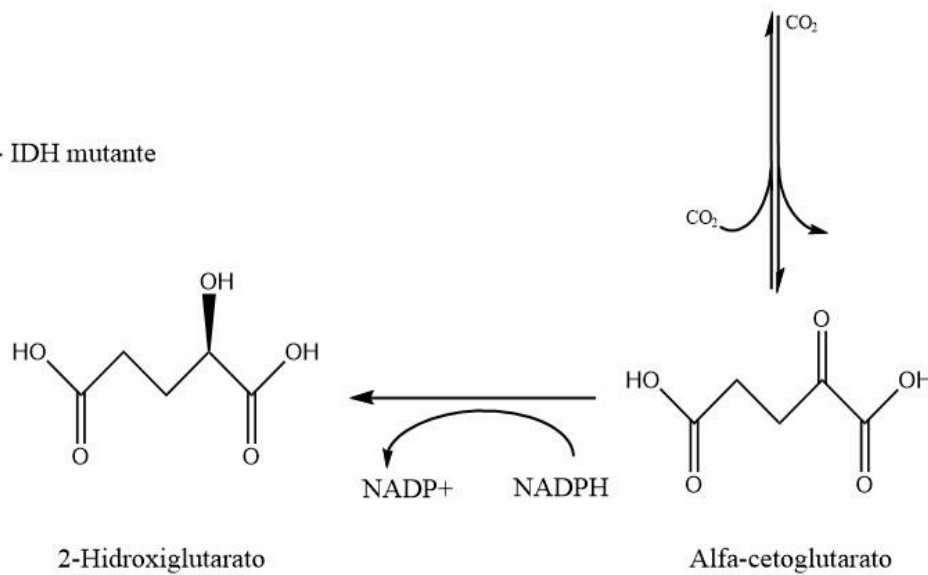


Figura 4: Reação I – enzima IDH convertendo isocitrato em α -KG.

Reação 2 – IDH mutante realiza a conversão de α -KG em 2-hidroxiglutarato.

As mutações IDH estão presentes em casos de GBM secundário e gliomas de grau II e III, sendo raras em GBMs primários. A mutação de IDH leva a uma diminuição na sua afinidade pelo isocitrato, fazendo com que ocorra um impedimento da conversão de isocitrato em α -KG. Sua mutação também é capaz de elevar sua afinidade com NADPH, resultando em uma reação incompleta, formando apenas o 2-hidroxiglutarato e não o α -KG (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

4.1.2 ALTERAÇÕES NO RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO

O EGFR é um receptor de tirosina quinase capaz de se ligar em ligantes de sinalização extracelular como o fator de crescimento transformante-alfa e aos fatores

de crescimento epidérmicos. Em condições saudáveis a via do EGFR tem início a partir do momento que o receptor realiza a ligação com seu ligante de sinalização, acontecendo uma dimerização, ou seja, a transição de homodímero ativo a partir de um monômero inativo, tal acontecimento ocasiona uma autofosforilação do EGFR, resultando no início de várias cascatas de transdução de sinal que levam à síntese de DNA, migração, adesão e proliferação celular (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

No GBM, o EGFR é capaz de codificar uma proteína transmembrana com domínio extracelular e um componente intracelular, que inclui o domínio tirosina-quinase, a ativação de tal domínio se dá através de vários ligantes, dentre eles o fator de crescimento epidérmico, acarretando um aumento da expressão do número de cópias do gene resultando na proliferação exacerbada de células tumorais, supressão da apoptose das mesmas, angiogênese e formação de metástases (GRANDE, R.M., 2017).

O aumento do EGFR foi encontrado, principalmente, em GBMs primários e em pacientes que possuem mais de 35 anos de idade. Alterações no EGFR são raramente encontradas em GBMs secundários e são quase inexistentes em GBMs pediátricos (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

4.1.3 VIA NOTCH

A sinalização Notch desempenha uma função importante na diferenciação celular, proliferação e no processo apoptótico de células e tecidos. Existem quatro receptores Notch, sendo eles Notch-1, Notch-2, Notch-3 e Notch-4 (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

Notch-1 é considerado um supressor de tumor e com base no mesmo é possível determinar o fenótipo maligno do glioma, Notch-2 é considerado um marcador prognóstico para glioma, Notch-3 promove a proliferação de células de glioma e com base no Notch-4 é possível correlacionar a agressividade do tumor (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

Foi observado que a inibição da via Notch é capaz de reduzir a formação de neuroesferas de GBM in vivo, ocasionando em um maior tempo de vida nos camundongos (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

4.1.4 SINALIZAÇÃO DE CERAMIDA

A ceramida ácida (ASAH1) se trata de uma enzima capaz de metabolizar as ceramidas em ácidos graxos e esfingosina (álcool aminado, que atua no sistema imune e cardiovascular em um processo comum em inflamações agudas, o de migração de neutrófilos) já as ceramidas, por sua vez, promovem morte celular e senescência (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

No GBM existe uma elevada presença de ASAH1, fazendo com que as células tumorais sejam secretadas para os tecidos intersticiais, acarretando a transferência de seu potencial maligno para outras células (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020). Estudos *in vitro* realizados por DOAN et al., determinaram que a cultura celular irradiada e os tecidos tumorais têm altos níveis de ASAH1 e a inibição de ASAH1 e esfingosina-1-fosfato (Sph-1P) foi capaz de suprimir o crescimento de células GBM em relação as células controle, levando à compreensão de que a alta expressão de ASAH1 pode ser considerada como potencial biomarcador de GBM.

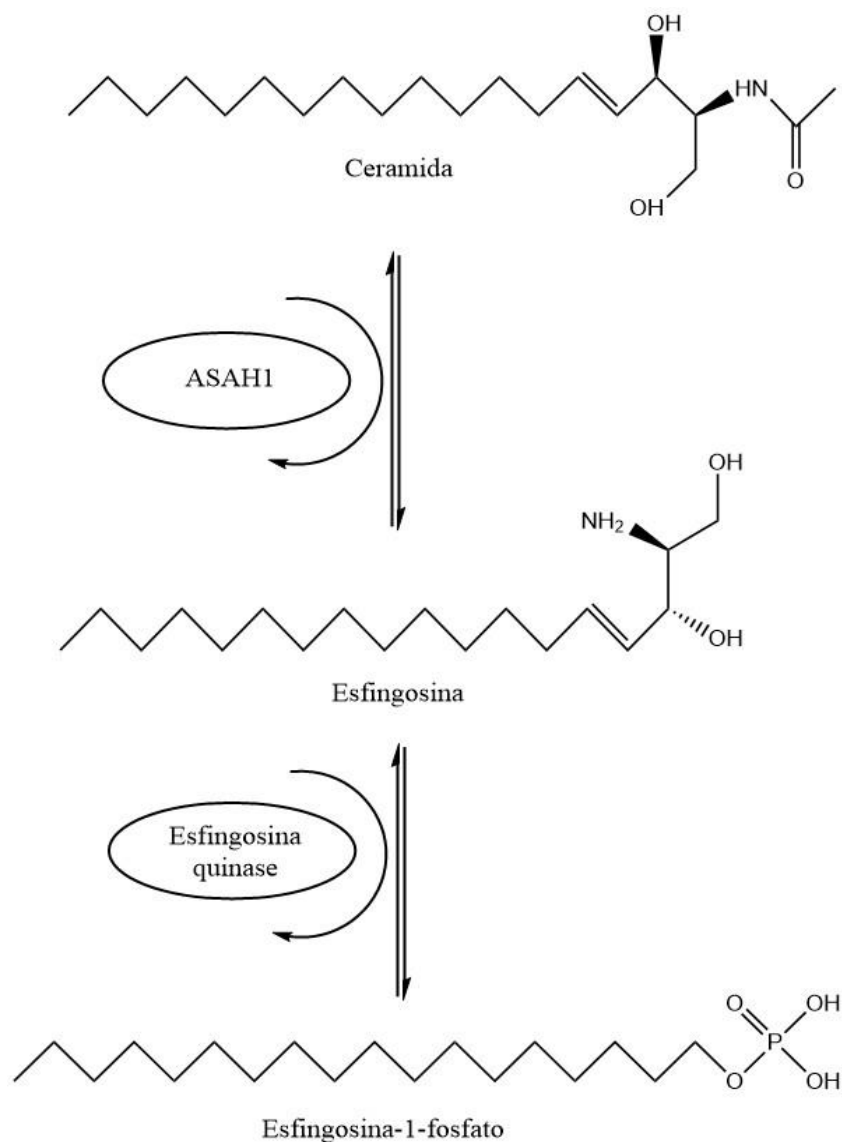


Figura 5: Reação química do ácido ceramidase (ASAHI), convertendo a ceramida em esfingosina e posteriormente sendo convertida em esfingosina-1-fosfato (S1P) pela esfingosina quinase.

4.1.5 VIA DE SINALIZAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL VASCULAR

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), se trata de uma citocina mitógena angiogênica. Sua via normalmente se inicia quando as células do organismo humano estão com falta de oxigênio, levando à liberação de VEGF, após a liberação o VEGF se liga aos receptores de VEGF (VEGFRs), tal ligação estimula a tirosina quinase resultando na angiogênese. O VEGF realiza um papel fundamental na

promoção em células tronco de glioma, levando a sua angiogênese, sendo a VEGF um essencial fator de sobrevivência para as células tronco de glioma (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

4.1.6 SINALIZAÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) tem sua ação biológica a partir da ligação com os ligantes de PDGF, são eles: PDGFA, PDGFB e PDGFC com PDGFR- α e PDGFR- β , que são os receptores de PDGF. Após a ligação os PDGFRs dimerizam, fazendo com que as subunidades fosforilem resíduos de tirosina no receptor, de tal forma que o receptor atua como um local de ancoragem para vários complexos de proteínas ativando várias cascatas de transdução de sinal, acarretando a síntese de DNA e proliferação celular (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

O GBM, bem como outras doenças malignas, está associado a uma hiperatividade de PDGF, sendo o PDGF capaz de atuar na proliferação e na sobrevivência de células-tronco do glioma. O PDGFR- β é o principal receptor expresso pelas células-tronco do glioma, sua ativação promove a autorrenovação das células-tronco do glioma (HELDIN C.H., 2013).

4.1.7 VIA PI3K/AKT/mTOR

A fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) é uma enzima transportadora de sinal intracelular de que, após estimulação de nutrientes e fatores de crescimento por meio de vários mecanismos mediados por receptores é capaz de ativar a proteína quinase específica de serina/treonina (AKT) (MANTAMADIOTIS T., 2017).

Então, a AKT tem a capacidade de ativar o alvo mamífero de rapamicina (mTOR), a mTOR, por sua vez, forma dois complexos que são caracterizados por diferentes ligantes, sendo eles o complexo mTOR 1 (mTORC1) e complexo mTOR 2 (mTORC2). O mTORC 1 é sensível a rapamicina e é ativado por estresse, estado energético, oxigênio, fator de crescimento e concentração de aminoácidos, o mTORC 1 é capaz de promover o crescimento de células gliais. O mTORC 2 não é sensível a rapamicina e o mesmo impulsiona a proliferação, sobrevivência das células gliais e motilidade (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

No GBM, ocorre inativação dos inibidores da via PI3K/AKT/mTOR, fazendo com que a mesma seja hiper ativada acarretando a transição tumoral de baixo grau para alto grau. Evidências demonstram que a ativação dos fatores da via PI3K/AKT/mTOR é associada à redução da sobrevida em pacientes com GBM e os tumores se tornam mais agressivos e resistentes ao tratamento (MANTAMADIOTIS T., 2017).

4.1.8 SINALIZAÇÃO HOMÓLOGA DE FOSFATO E TENSINA

O homólogo de fosfato e tensina (PTEN) é um supressor de tumor capaz de antagonizar a sinalização de PI3K e, conseqüentemente, prevenindo a ação de AKT. Em casos de GBM o PTEN é inativado, fazendo com que não ocorra inibição no processo proliferativo da doença (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

4.1.9 SINALIZAÇÃO COM A GLICOPROTEÍNA SONIC HEDGEHOG

A glicoproteína sonic hedgehog (SHH) se liga com a proteína Patched1 e tal ligação pode fazer com que o Patched1 ative ou inative a proteína Smoothend (SMO) (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

Quando o SMO é ativado ocorre a ativação dos fatores de transcrição associados ao glioma (GLI), tal ativação gera na ativação dos fatores de transição GLI1 e GLI2, tais ativações são capazes de promover a ativação do alvo na sinalização de SHH ocasionando à antecipação de angiogênese, transição epitelial para mesenquimal e autor-renovação de células-tronco (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

Em GBM, a hiperativação do sinal de SHH por mutação da proteína Patched 1 e/ou ativação da SMO leva à transformação de células-tronco adultos em células-tronco de GBM (RAJARATNAM V., *et al.*, 2020).

4.2 TERAPÊUTICA TRADICIONAL

O tratamento padrão atual de GBM é composto por ressecção cirúrgica do tumor, seguida de radioterapia e quimioterapia com agente alquilante de DNA. Sendo

um tratamento agressivo frente a uma patologia agressiva, porém por mais agressiva que a terapia seja, existe o fato de que 95% dos pacientes morrem dentro de 5 anos após o diagnóstico da doença (DUMITRU C.A., SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

Desde o momento de relato do primeiro caso de GBM em 1928 até o atual momento o tratamento de GBM vem apresentando melhoras significativas, porém não existe um tratamento considerado ideal para tal (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

4.2.1 RESSECÇÃO CIRURGICA DO TUMOR

O grau de ressecção cirúrgica é diretamente relacionado ao grau de melhora, sendo que quanto mais superficiais os tumores são melhor será o prognóstico resultante da cirurgia visto que a ressecabilidade cirúrgica radical é mais simples nos tumores superficiais. A ressecção cirúrgica radical, ou seja a remoção cirúrgica de mais de 95% do tumor é capaz de aliviar a hipertensão intracraniana, eliminar os episódios epiléticos, efeito limitado da radioterapia/quimioterapia e existe o fato de que alguns gliomas são controlados com a cirurgia (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

O tratamento cirúrgico envolve duas etapas importantes para o sucesso terapêutico, sendo elas o planejamento cirúrgico e sua execução. O planejamento é composto pelas observações: história clínica detalhada, exame físico geral e específico, execução e interpretação maximizada de todos os exames de neuroimagem, tais como tomografia computadorizada de crânio com contraste e sem contraste, ressonância magnética de encéfalo, angiorressonância de encéfalo, espectroscopia, tractografia, estudos de perfusão, angiografia digital cerebral e o conhecimento da patologia. Sequencialmente é avaliado a relação topográfica do tumor com o encéfalo, fazendo as correlações das áreas acometidas e com sulcos e fissuras que permitem o acesso cirúrgico com o mínimo de lesões adicionais, portanto é estabelecido a relação de tumor/encéfalo/sulcos e fissuras com os reparos ósseos do crânio, a fim de orientar a incisão.

Para a execução do ato cirúrgico são utilizados recursos tecnológicos no intra-operatório, sistema de navegação encefálica, neuroestimulação cortical e de tratos, ultra-sonografia e ressonância magnética intra-operatória. O sistema de

neuronavegação intra-operatória permite que os dados neuroanatômicos, neuroanatomopatológicos e que os exames de neuroimagem sejam submetidos a um determinado *software* e que com isso o tumor do paciente seja monitorado por sistema infravermelho, fornecendo em tempo real sua localização, porém existe uma grande desvantagem, que seria o deslocamento do cérebro que ocorre no momento do procedimento cirúrgico quando o cérebro é posicionado, com a craniotomia e drenagem de liquor a margem de erro é aumentada (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

O componente cirúrgico pode variar de uma biópsia minimamente invasiva a uma craniotomia visando a ressecção total bruta (GTR) (BROWN, T. J., *et al.*, 2016). Existe uma dificuldade em diferenciar o tecido neoplásico do tecido cerebral saudável, pois para a GTR do tumor, é necessário que o mesmo realce ao contraste, mas o contraste é alcançado apenas em uma minoria de pacientes (HADJIPANAYIS, C. G., WIDHALM, G., STUMMER, W., 2015). Logo, foi estudado uma técnica cirúrgica guiada por fluorescência, através da utilização do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA), sendo que o 5-ALA quando administrado via oral é capaz de promover o acúmulo de potoporfina IX (PpIX), de forma seletiva nas células neoplásicas, facilitando a identificação do tecido neoplásico (HADJIPANAYIS, C. G., WIDHALM, G., STUMMER, W., 2015). Porém nem todos os pacientes são submetidos a tal procedimento (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

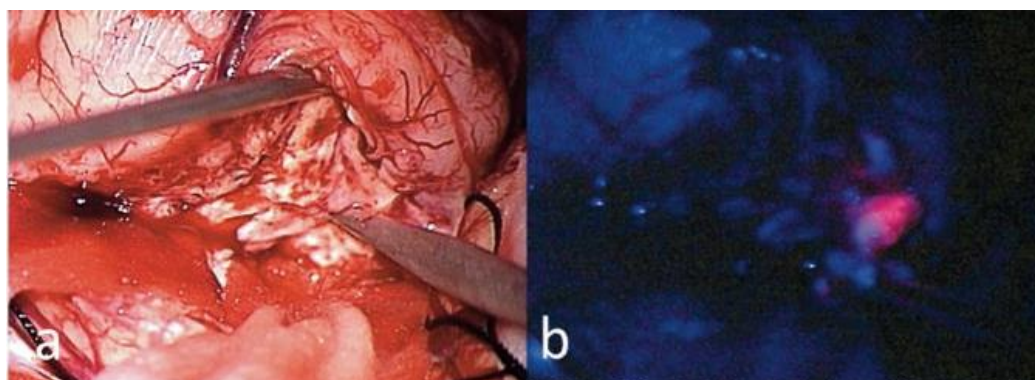


Figura 6: Ressecção cirúrgica de tumor. Em “a” o tecido de glioma está sob microscopia de luz apresentando uma aparência homogênea. Em “b” é ressaltado uma pequena área tumoral identificada por fluorescência PpIX induzida por 5-ALA sob excitação de luz azul-violeta. FONTE: HADJIPANAYIS, C. G., WIDHALM, G., STUMMER, W., 2015.

Devido a anatomia do cérebro existe um risco de lesões cirúrgicas em possíveis áreas nas quais, devido ao potencial invasivo do GBM, as células tumorais podem

invadir implicando em previsões prognósticas piores impossibilitando a redução tumoral. Para promover um equilíbrio entre a citorredução cirúrgica e a minimização dos riscos de intervenção, o neurocirurgião deve avaliar o pré-operatório do paciente e a localização tumoral, com vista na sobrevida máxima junto ao benefício funcional (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

4.2.2 RADIOTERAPIA

A radioterapia é um método capaz de inviabilizar células cancerosas, destruindo-as por meio de radiações ionizantes (LUDWIG J.K., *et al*, 2014). A radioterapia é um componente básico para a formação da terapêutica clássica em GBM, as dosagens médias empregadas são entre 54 e 60 Gy, podendo atingir até 76 Gy ao hiperfracionamento. Sendo que as doses de 60 Gy foram classificadas como as mais efetivas, de acordo com algumas análises da correlação entre a sobrevida e radiação (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

As doses empregadas são o suficiente para permitir que o tumor regresse, a regressão ocorre por conta de dois fatores biológicos: Um dos fatores engloba a morte das células irradiadas e o outro engloba a parada da proliferação celular. No momento de interação das células com a radiação ocorre a catástrofe mitótica que desencadeia uma gama de eventos, dentre eles, a apoptose, necrose ou autofagia (LUDWIG J.K., *et al*, 2014).

A radiação é capaz de interagir de duas maneiras distintas aos tecidos, sendo elas chamadas de direta e indireta. A direta é quando a radiação atinge os componentes celulares como proteínas, lipídeos e DNA ocasionando alterações estruturais e contribuindo com cerca de 30% do efeito biológico. A indireta é capaz de produzir radicais livres a partir da água intracelular e responde por 70% dos danos, por conta do nível de ocupação da água na composição celular. O principal radical livre é a hidroxila (OH). O DNA é o principal alvo para o efeito citotóxico da radiação, manifestado por quebras moleculares, únicas ou duplas, que podem ser reparadas, podendo acarretar morte celular inversamente proporcional à capacidade de reparo celular (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

Pacientes que possuem lesões de até 4cm e que apresentam contraindicação cirúrgica, existe a possibilidade da radioterapia focal estereotática (POTHARAJU, M., *et al*, 2018).

Existe uma condição de risco associado a radioterapia na região da cabeça, sendo que a irradiação acarreta danos tanto em tecidos sadios quanto as células tumorais podendo resultar em candidose bucal, disgeusia, cáries por radiação, mucosite, xerostomia, trismo e osteorradionecrose (OLIVEIRA V.D.P.DE, AIRES D.M.P., 2018).

Portanto, visando reduzir as condições de risco o fracionamento da dose em radioterapia é embasado na divisão da dose de radiação a fim de poupar os tecidos normais (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

4.2.3 QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA

Para que ocorra a divisão celular é necessário que ocorra a duplicação do material genético, portanto é necessário que a célula sintetize uma nova fita de DNA, tal processo ocorre em um período denominado de fase de síntese (fase S), na qual a célula interrompe seus processos metabólicos e utiliza toda a maquinaria para a duplicação do DNA. A fase S é um processo que não pode ser interrompido quando iniciado, se houver danos ao DNA ao longo dessa fase os mesmos são identificados e reparados por polimerases, se houver danos irreparáveis os mesmos são sinalizados por meio da fosforilação da proteína p53, capaz de induzir apoptose (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008).

O principal agente quimioterápico para a terapêutica de GBM é a temozolomida (TMZ), que é um agente alquilante de DNA (KARACHI A., *et al*, 2018). A TMZ é um pró-fármaco que após administrado é hidrolisado no plasma e é convertido em seu metabólito ativo o monometil-triaceno-imidazol-carboxamida, que apresenta uma alta biodisponibilidade, sendo de 96 a 100% capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica (NETTO J.B, SILVA T.F, NASCIMENTO G.V.S, 2019).

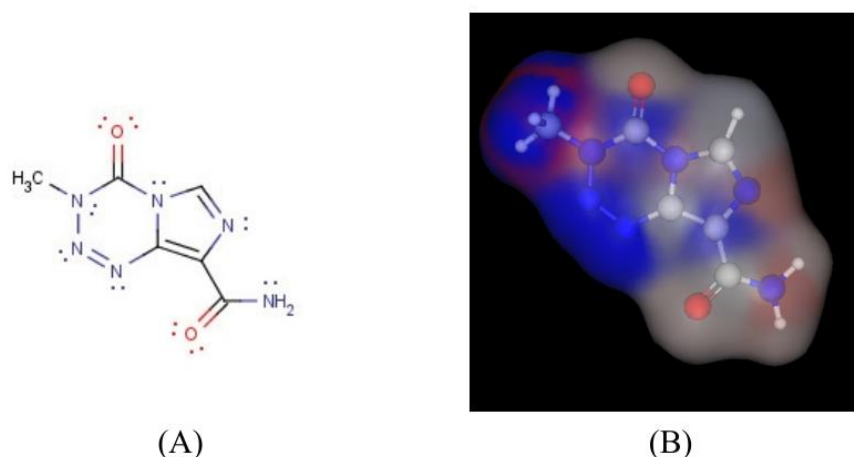


Figura 7: (A) Molécula do TMZ em 2D, feita no software Marvin Sketch. (B) Representação em 3D da molécula do TMZ, sendo levado em consideração os raios atômicos (espaços azuis – nitrogênios e hidrogênios, espaços vermelhos – oxigênios e espaços cinzas – carbonos).

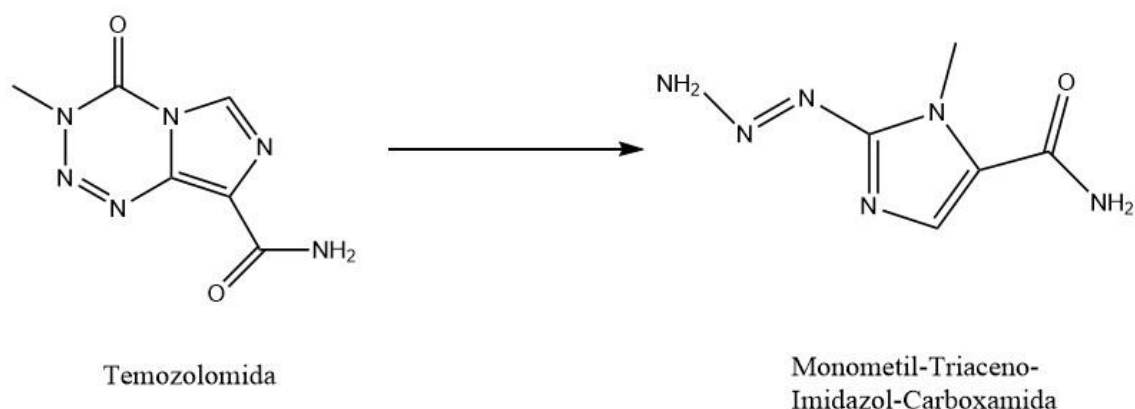


Figura 8: Reação de transformação do TMZ para seu metabólito ativo, o monometil-triaceno-imidazol-carboxamida.

Os agentes alquilantes de DNA são capazes de formar ligações estáveis entre as hélices de DNA e impedem com que as hélices se separem, de tal forma impedindo a duplicação do material genético. A interferência das topoisomerasas responsáveis pelas modificações nas hélices de DNA leva a fragmentação do DNA induzindo sua apoptose (CARVALHO, V.A., *et al*, 2008). A TMZ é capaz de adicionar um grupo metil à purina e à pirimidina no DNA, resultando em danos às células ocasionando a apoptose (KARACHI A., *et al*, 2018).

A TMZ é capaz, portanto, de metilar os resíduos de guanina do DNA nuclear em diversas posições resultando na estagnação citostática do ciclo celular e apoptose.

O TMZ alquila DNA e RNA mitocondrial, além de proteínas e lipídios que transportam grupos nucleofílicos (LAH T.T., *et al*, 2021).

A posologia recomendada de TMZ é de 75mg/m² diárias, durante o período de 6 semanas (ou 30 frações) junto com a radioterapia de 60 Gy administrada em 30 frações. A quimiorradiação concomitante é seguida por seis a 12 ciclos de TMZ administrados nos dias de 1 a 5 em um ciclo de 28 dias. No primeiro ciclo é padronizado a dosagem diária de 150 mg/m² em 5 dias com seguimento de 23 dias sem administração quimioterápica. Após esse período emprega-se um padrão de administração do segundo ao sexto ciclo de 200 mg/m² por dia durante 5 dias com interrupção por 23 dias de cada ciclo. A TMZ de dose densa a 75 mg/m² nos dias 1 a 21 a cada 28 dias foi comparada com o esquema adjuvante padrão nos dias 1 a 5 e não apresentou benefício na sobrevida e não é mais usada para pacientes recém-diagnosticados (NAM J.Y., GROOT J.F., *et al*, 2017).

A TMZ é capaz de produzir linfopenia dependente de dose, produzindo efeitos imunomoduladores tanto em modelos animais quanto em pacientes com câncer. Foi notável o efeito quimioterápico nos fatores de proliferação de células T, proporção de células T reguladoras e morte de monócitos (KARACHI A., *et al*, 2018). A TMZ é capaz de aumentar a proporção e células T reguladoras e aumenta potencialmente a função das células dendríticas, além de aumentar a proliferação e função de células T (KARACHI A., *et al*, 2018).

No entanto, cerca de 55% dos pacientes com GBM são resistentes à TMZ por conta do sistema de reparo de MGMT, sendo que o MGMT transfere o grupo metil da guanina, reparando o DNA danificado de forma a neutralizar os efeitos citotóxicos da TMZ nas células tumorais. Portanto, até mesmo os pacientes que no início do tratamento apresentam uma resposta positiva, ao longo do tempo vão apresentar falhas na terapia devido à resistência adquirida (KARACHI A., *et al*, 2018).

4.3 SUPLEMENTAÇÃO COM PRECURSOR DE NAD⁺ EM CÂNCER

A nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) se trata de uma coenzima necessária para a síntese de DNA e de uma gama de processos fisiológicos envolvendo reações redox, desempenhando um importante papel no metabolismo energético (POLJSK J., 2016). A quantidade de NAD⁺ participa da regulação de

muitos processos metabólicos, tais como a morte celular, reparo do DNA e resistência ao estresse, portanto NAD^+ por regular diversas vias e por induzir apoptose, reparar DNA e aumentar a defesa celular sua proporção pode influenciar na transformação maligna, sendo que em seres humanos o conteúdo de NAD^+ foi inversamente correlacionado com o fenótipo maligno do câncer (POLJSK J., 2016).

Ao longo da idade existe uma depleção na concentração de NAD^+ que pode desempenhar um papel importante no processo carcinogênico de forma a limitar a produção de energia, o reparo do DNA, estabilidade genômica e a sinalização, logo, a restauração do NAD^+ pode ser capaz de prevenir ou reverter o fenótipo das células malignas nos estágios iniciais conseguindo promover o reparo celular e a resposta adaptativa ao estresse assim como regular a parada do ciclo celular e a remoção de células danificadas (POLJSK J., 2016).

A síntese de NAD^+ pode ser realizada através da realização de exercício físico, restrição calórica e jejum, além de poder ser realizada, também, com triptofano dietético ou com menos de 20 mg de niacina diária, sendo que 60 mg de triptofano é equivalente a 1 mg de niacina. O principal precursor de NAD^+ se dá pela suplementação com nicotinamida ribosídeo (NR) (POLJSK J., 2016).

A NR é um potente precursor do pool mitocondrial de NAD^+ , sendo que sua suplementação por via oral (250 – 1000 mg/dia) em estudos clínicos pequenos aumentou as concentrações sanguíneas de NAD^+ de modo dose dependente para 2 a 2,7 vezes as concentrações iniciais. Dados de estudos experimentais foram capazes de mostrar que estratégias para aumentar as concentrações de NAD^+ com a suplementação com NR foram capazes de inibir o crescimento tumoral ou metástase (RAJMAN L., CHWALEK K., SINCLAIR D. A., 2018).

A NR é uma molécula presente na niacina, vitamina B3, quando absorvida a NR é fosforilada através da nicotinamida ribosídeo quinase 1 e nicotinamida ribosídeo quinase 2 (NMRK1 e NMRK2) gerando nicotinamida mononucleotídeo (NMN), que por sua vez sofre ação da nicotinamida mononucleotídeo adeniltransferase (NMNAT1-3) e é transformada em NAD^+ (RAJMAN L., CHWALEK K., SINCLAIR D. A., 2018).

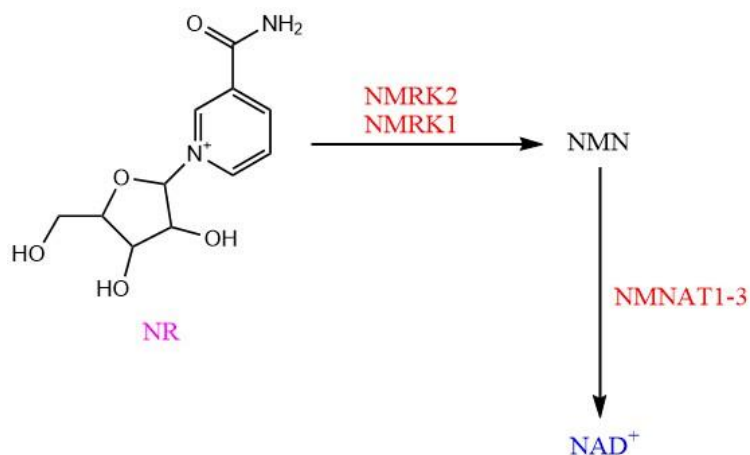


Figura 9: Reação de transformação da nicotinamida ribosídeo (NR) em nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺).

Existem algumas dúvidas referentes aos efeitos e mecanismos citotóxicos da NR, visto que os ensaios clínicos registrados em bancos de dados com a utilização de NR promovem dados em sua maioria inconclusivos, ou estudos com a observação de efeitos adversos em curto período de tempo, logo, Maekawa e Loureiro (2022), realizaram ensaios *in vitro* com a suplementação do cloreto de NR a fim de investigar o efeito no metabolismo energético na linhagem de células BEAS-2B originadas a partir de epitélio brônquico humano normal. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro a fim de avaliar a citotoxicidade da NR pelo ensaio de morte celular utilizando o corante cristal violeta (CVD) e o segundo experimento utilizando o respirômetro de alta resolução, o SeaHorse, com o objetivo de analisar o metabolismo energético em tempo real das células BEAS-2B expostas a NR.

No ensaio de citotoxicidade as células foram expostas a diferentes concentrações de NR, sendo 10 µM, 50 µM e 100 µM por 24, 48, 72, 96 e 120 horas com renovação de meio de cultura a cada 24 horas (MAEKAWA R.S., 2022).

Foi observado que o cloreto de NR estagnou o crescimento das células a partir de 72 horas, devido ao estresse energético induzido nas células mediado por diminuição da capacidade oxidativa. (MAEKAWA R.S., 2022).

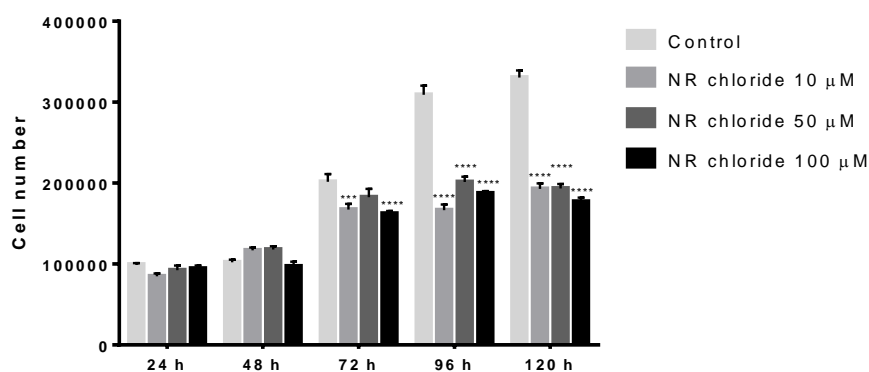


Figura 10: Efeito do cloreto de nicotinamida ribosídeo no crescimento das células BEAS-2B entre 24 e 120 horas de exposição às concentrações de 10 μM , 50 μM e 100 μM . Análise estatística: *two-way* ANOVA com teste de comparações múltiplas de Dunnett, comparando o grupo controle com os outros grupos em cada tempo de exposição, $N = 7$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$. FONTE: MAEKAWA R.S., 2022.

Na análise de metabolismo energético, as células foram expostas a 1 μM , foi observado que as células expostas ao cloreto de NR apresentaram diminuição da taxa basal e da capacidade máxima de consumo de oxigênio, a exposição levou a diminuição na concentração intracelular de ATP e aumento de ADP e AMP, portanto a NR afeta a cadeia de transporte de elétrons e as células expostas ao cloreto de NR adquiriam fenótipo mais glicolítico em relação as células controle (MAEKAWA R.S., 2022).

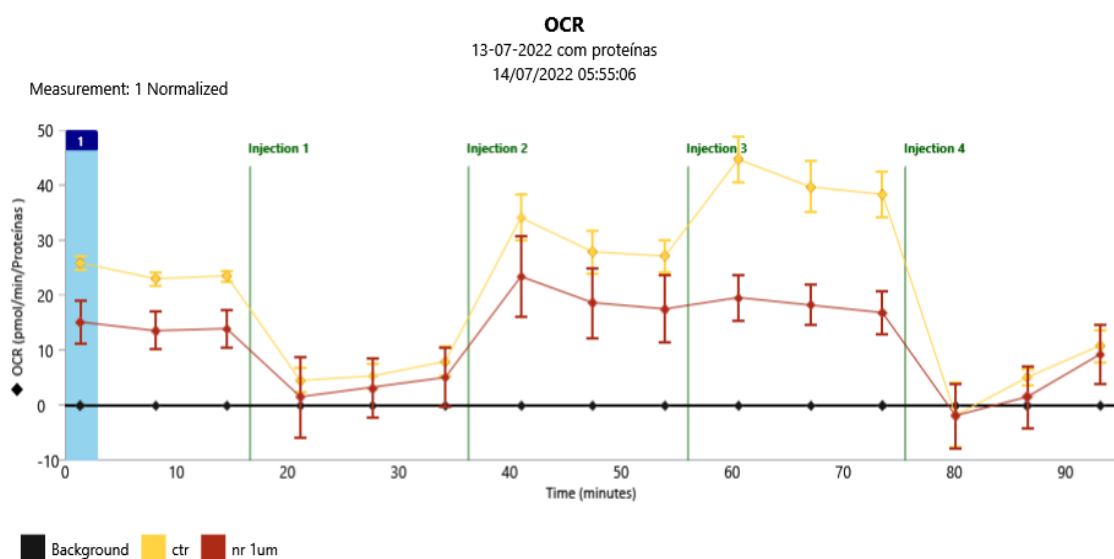


Figura 11: Taxa de consumo de oxigênio das células controle (amarelo, N = 3) e expostas a 1 μ M de cloreto de NR (vermelho, N = 5) por 96 horas. FONTE: MAEKAWA R.S., 2022.

Portanto, foi analisado que a suplementação com NR pode interferir na cadeia do transporte de elétrons e gerar estresse energético em células saudáveis, ocasionando uma diminuição da capacidade oxidativa, tais efeitos podem colaborar negativamente para a saúde dos indivíduos que realizam a suplementação de tal suplemento. Vale ressaltar que as doses testadas foram cerca de 50 a 1000 vezes menor do que as concentrações testadas em outros ensaios, sem a descrição de efeitos tóxicos (MAEKAWA R.S., 2022).

4.4 CANABINÓIDES NO GLIOBLASTOMA

A cannabis é uma das plantas medicinais mais antigas do Mundo (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019). Vários benefícios físicos e psicológicos foram atribuídos à cannabis desde que foi relatada pela primeira vez em 2.600 ac. Seu uso na medicina ocidental teve início por volta do final da década de 1830 sendo empregada no tratamento de epilepsia e dores reumáticas (SILVA R.R. DA, *et al.*, 2022). Porém, existia uma falta de padronização e absorção errática, que culminaram em dificuldades para elaborar generalizações com os produtos canábicos. Por volta do ano 1941 houve a exclusão da cannabis na farmacopeia americana e exclusão de seu uso medicinal por outros países (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019).

Somente no século XIX que os efeitos comportamentais da cannabis foram estudados e descritos, tais estudos foram de suma importância, de forma que após eles vieram as primeiras tentativas de isolar os compostos ativos da cannabis. O canabinol (CBN) foi o primeiro composto ativo isolado da cannabis, seguido pelo CBD e THC (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019).

Somente após a elucidação estrutural do THC (**Figura 3**) que a investigação farmacológica dos canabinóides se intensificou e, com isso, veio a descoberta dos receptores canabinóides (CB1 e CB2) bem como o sistema endocanabinóide (ECS). A presença de receptores canabinóides é correlacionada com diversas funções fisiológicas do ECS, sendo elas: percepção da dor, funções motoras e cognitivas,

regulação do apetite e plasticidade sináptica, além disso o ECS está envolvido na resposta ao estresse e funções reprodutivas (CORREIA-DA-SILVA, G. *et al.*, 2019).

Os canabinóides são compostos terpenofenólicos presentes na planta da cannabis em diferentes concentrações, sendo o ácido canabigerólico o precursor do CBD (**Figura 1**), CBG (**Figura 2**) e THC (**Figura 3**). Os canabinóides possuem propriedades polifarmacêuticas inerentes que podem oferecer vantagens sobre o tratamento clássico em GBM, possuem uma forte ação antitumoral, efeitos citostáticos/citotóxicos nas células cancerosas, além do fato de que a associação entre o THC e o CBD foi capaz de aumentar a sobrevida dos pacientes com câncer. Estudos envolvendo o CBG foram negligenciados por décadas devido ao fato de sua concentração na planta da cannabis ser baixa (menos de 10%), porém testes *in vitro* foram realizados com o CBG e demonstraram que o CBG tem a capacidade de reduzir a proliferação celular em várias linhagens celulares de câncer (LAH T.T., *et al.*, 2021).

Os tumores de GBM expressam os principais receptores de canabinóides, CB1 e CB2, sendo o CB2 expresso em altos níveis de forma que seu nível é diretamente proporcional com o grau de malignidade do tumor. Logo, a identificação da expressão alterada de receptores canabinóides no GBM levou à hipótese de que os agonistas canabinóides podem vir a ser utilizados como agentes anticarcinogênicos (DUMITRU, C.A, SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

A ativação dos receptores canabinóides acoplados a proteína G inibe o adenilato ciclase, sinaliza via ceramida e induz a fosforilação quinase de quinase de adesão (FAK), que é uma proteína ativada por mitógeno (MAPK) e PI3K, além disso os receptores canabinóides regulam a expressão de genes precoces e regulam a produção de óxido nítrico. Portanto, a ativação dos receptores CB1 e CB2 exercem uma gama de funções celulares na biologia GBM (DUMITRU, C.A, SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

Estudos demonstram que o efeito citotóxico causado pelos canabinóides em células de GBM e células saudáveis são totalmente diferentes, sendo que os canabinóides são altamente agressivos nas células de GBM e ao mesmo tempo causam poucos efeitos nocivos às células sadias presentes no organismo. (DUMITRU, C.A, SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

4.4.1 CANABIDIOL

Os canabinóides são capazes de se ligar aos receptores canabinóides CB1 e CB2, sendo que o CBD é capaz de se ligar seletivamente em CB2 e pouco em CB1 interagindo com diversos receptores acoplados a proteína G, mas a interação de maior relevância observada é sua interação antagonista com GPR55 (DUMITRU, C.A., SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

GPR55, promove a proliferação de células cancerígenas, tal proteína é altamente expressa em GBM. Foi observado que a expressão de GPR55 é correlacionada com a agressividade do GBM e que ao superativar a cascata MAPK/ERK, o GPR55 promove a proliferação das células cancerosas. A atividade antagonista de CBD com GPR55 através da interação com CB2 leva a inativação de ERK quinase, fazendo com que as células tumorais não consigam sobreviver e proliferar, acarretando uma desaceleração do crescimento do GBM através da parada do ciclo na fase G1 (LAH T.T., *et al*, 2022).

CB1 e CB2 desencadeiam respostas fisiológicas acoplando-se as proteínas G inibindo a adenilato ciclase e a sinalização de AMP cíclico (HUA, T., *et al.*, 2020). A ligação do CBD aos sítios alostéricos de CB1 desencadeia estresse ao retículo endoplasmático, tal estresse estimula a síntese e o acúmulo de ceramidas induzindo diversas vias. A proteína p8 regulada de forma positiva desencadeia fatores de estresse pós-retículo endoplasmático como o fator de iniciação da tradução eucariótica 2-alfa quinase 3 (eIFKA3), que é aumentada em células tronco de gliomas tratadas com CBD. Tal aumento está ligado à inibição de AKT-quinase, tal inibição junto com a inibição do complexo mTOR inicia a autofagia, levando à apoptose (LAH T.T., *et al*, 2022).

CBD é capaz de interagir com TRPV1, que está presente no plasma e membranas do reticulo endoplasmático, sua função é a de regular o efluxo e influxo de Ca^{2+} , TPRV1 é desestabilizado pelo CBD, acarretando uma depleção de Ca^{2+} induzindo mecanismos pró-apoptóticos e desencadeando estresse ao reticulo endoplasmático. Em células de GBM é encontrado maior concentração de TRPV1, portanto entende-se que TRPV1 é essencial para manter as células tronco de glioma (LAH T.T., *et al*, 2022).

Foi observado que o CBD é capaz, também, de desencadear apoptose das células tumorais por meio de estresse oxidativo, sendo que as células de glioma tratadas com CBD responderam as exposições com a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), a depleção de GSH e ativação de caspase 9, 8 e 3. A exposição em associação de CBD com THC induziu a um aumento da formação de ROS, que foi associado a uma indução posterior de apoptose (DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU, I.E., KARSAK M., 2018).

4.4.2 CANABIGEROL

O CBG é capaz de inibir a invasão do GBM de forma semelhante ao quimioterápico temozolomida (LAH T.T., *et al*, 2021). Foi descrito por Ligresti et al., que o CBG é capaz de reduzir a proliferação celular em várias linhagens celulares de câncer, sendo incluído o câncer de mama humano, câncer de próstata, carcinoma colorretal, adenocarcinoma gástrico, glioma C6-rato, leucemia basofílica de rato e células tireoidianas transformadas.

O CBG possui pouca afinidade aos receptores CB1 e CB2, mas é capaz de se ligar e dilatar os poros transmembrana TPRV1 Ca^{2+} permeáveis, de forma a desestabilizar o TPRV1 perturbando sua sinalização no GBM (LAH T.T., *et al*, 2022). Estudos demonstram, também, que o CBG é capaz de ativar as caspases 3 e 7 pró apoptóticas em linhas celulares de câncer de próstata (LAH T.T., *et al*, 2021).

O CBG é capaz, então, de induzir apoptose mediada por mitocôndrias através da sinalização com as caspases-3/7, sendo que a morte celular ocorre através da via apoptótica intrínseca, na qual o membro da família Bcl-2 Bad é fosforilado por conta do tratamento recebido com canabinóides e se transloca para as mitocôndrias, tal movimento resulta em uma perda da integridade da membrana mitocondrial externa, fazendo com que ocorra o extravasamento do citocromo c e a ativação das caspases (LAH T.T., *et al*, 2022; DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

Ensaio realizado *in vitro* por LAH T.T., *et al*., com a utilização de culturas de esferóides e exposições ao CBG, foram capazes de demonstrar que o CBG é capaz de alterar a viabilidade celular, além de exercer um efeito citostático, sendo notável um acúmulo de células na fase G1, sendo claro que a exposição à CBG foi capaz de

reduzir no número de células na fase S1 e G2/M, portanto, alterando a velocidade de proliferação celular das células de GBM.

Experimentos *in vitro*, demonstram que CBG induz as células cancerosas à apoptose, a via apoptótica induzida por CBG é dependente de caspase-3. A associação de CBD:CBG é capaz de induzir a ativação mais forte da caspase-3 (LAH T.T., *et al*, 2021).

4.4.3 Δ-9-TETRAHIDROCANABINOL

O canabinóide THC se interage mais fortemente em CB1 do que em CB2, sendo sua afinidade maior em CB1 do que em CB2, o THC é capaz de induzir apoptose de células cancerosas, sendo atuante através da via apoptótica intrínseca, a ativação de tal via se dá pelo aumento da concentração de ceramida intracelular que é capaz de inibir as vias que permitam a hiperativação das vias PI3K/AKT e RAF1/MEK/ERK, ocasionando na translocação de Bad para as mitocôndrias (KOLBE, M. R., *et al.*, 2021; DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

O THC é capaz de alterar o equilíbrio entre ceramidas e dihidroceramidas em autofagossomos e autolisossomos, promovendo a permeabilização da membrana organelar, fazendo com que ocorra a liberação de catepsinas no citoplasma acarretando a ativação da morte celular apoptótica (HERNÁNDEZ-TIEDRA, S.H., *et al.*, 2016).

A ligação entre os receptores canabinóides e o THC é capaz de promover a estimulação de esfingolipídios e leva a ativação de uma rota de sinalização que está relacionada com o estresse do retículo endoplasmático, que envolve a regulação positiva do cofator transcricional NUPR1/p8 e seu efector TRIB3 (*tribbles pseudokinase 3*), a estimulação de tal via é capaz de promover a autofagia mediada por TRIB3 em AKT - mTORC1 (HERNÁNDEZ-TIEDRA, S.H., *et al.*, 2016). Além disso, foi realizado um tratamento combinado de células de GBM com THC em associação com o CBD, tal associação foi capaz de induzir um aumento na formação de ROS, que posteriormente foi associado como indução posterior de apoptose (DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

Ensaio *in vitro* com a utilização de THC foram capazes de elucidar que o mesmo é capaz de induzir a parada do ciclo celular, sendo que a administração de

THC em linhagens celulares de GBM humano induziu $G_0 - G_1$ a parada de fase. Foi observado que o THC induz a diminuição dos níveis de E2F1 e Ciclina A, que são duas proteínas que promovem a progressão do ciclo celular, e, aumenta o nível do inibidor do ciclo celular p16 INK4A (DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

Ensaio clínico demonstraram que o THC é capaz de alterar a concentração dos níveis pró-angiogênicos de VEGF em pacientes com GBM, sendo elucidado que o mesmo atua na inibição de angiogênese tumoral (DIMITRU, C.A, SANDALCIOGLU I.E., KARSAK M., 2018).

5 PREDIÇÃO IN SILICO

5.1 SWISS-ADME

Foi realizado o experimento de predição *In Silico* através da utilização da ferramenta Swiss-ADME, sob o qual as moléculas de CBD, CBG e THC foram modeladas e transfundidas para o Swiss-ADME. Foi gerado o modelo gráfico *BOILED EGG* informando dados farmacocinéticos das moléculas utilizadas.

As moléculas localizadas na região amarela do gráfico (“gema do ovo”) são moléculas que possuem facilidade em atravessar a barreira hematoencefálica, já moléculas localizadas na região branca do gráfico (“gema do ovo”) são moléculas absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal.

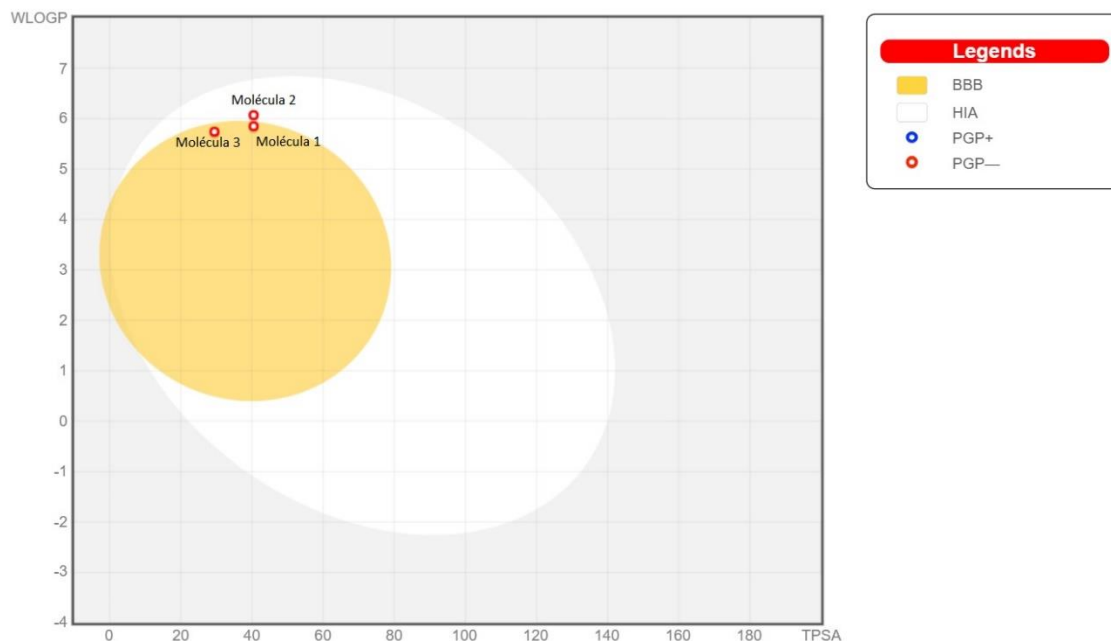


Figura 12: “BOILED-egg” demonstrado pela ferramenta Swiss-ADME das moléculas de canabidiol, canabigerol e Δ -9-tetrahidrocannabinol. Sendo a molécula “1” o canabidiol; a molécula “2” o canabigerol; a molécula “3” o Δ -9-tetrahidrocannabinol.

“BBB”: Pontos localizados na “gema do ovo BOILED”, são moléculas que podem permear passivamente através da barreira hematoencefálica;

“HIA”: Pontos localizados na “clara do ovo BOILED”, são moléculas absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal.

“PGP+” Pontos azuis representando uma possível extrusão da molécula do sistema nervoso central pela glicoproteína P.

“PGP-”: Pontos vermelhos representando moléculas previstas para não serem efluídas do sistema nervoso central pela glicoproteína P.

Portanto, foi avaliado através da experimentação *in silico* que as moléculas de CBD e THC, possuem uma grande facilidade em atravessar a barreira hematoencefálica e, junto com o CBG, são moléculas previstas para não serem efluídas do SNC pela glicoproteína P, tal fato se torna interessante visto que as células tumorais de GBM se concentram no SNC por se tratar de um câncer cerebral, logo, as moléculas analisadas têm um forte potencial de atuar de forma direta no foco tumoral de GBM.

5.2 PREDIÇÃO DE PERFIS FARMACOCINÉTICOS E DE TOXICIDADE

A predição de toxicidade foi realizada através da ferramenta pkCSM na qual as moléculas de CBD, CBG e THC, que foram previamente modeladas pelos *softwares* ChemDraw 18.1 e Marvin Sketch, as mesmas foram formatadas para o código SMILES e posteriormente submetidas a análise.

Para a caracterização dos perfis farmacocinéticos e de toxicidade (ADMET) dos canabinóides, 30 propriedades distintas ADMET foram preditas pelo pkCSM (PIRES *et al.*, 2015). O quadro 2 mostra a descrição completa das propriedades ADMET previstas para o CBD, CBG e THC.

Pelo ensaio realizado, os canabinóides possuem uma boa absorção via oral, dado elucidado pelo Log P_{app} maior que 0,90 (permeabilidade em células Caco2), os três canabinóides apresentam uma possível absorção intestinal com dados variando entre 90% até 93,5%.

O THC foi a molécula com maior valor de distribuição no estado estacionário em humanos (VDss), elucidando uma melhor distribuição nos tecidos do que no plasma. O THC foi a molécula com maior Log BB indicando uma passagem imediata pela barreira hematoencefálica e entrada no SNC.

Com relação a toxicidade, a dose letal 50 em ratos (DL₅₀) todos os canabinóides apresentaram valores bem similares entre si apresentando uma média de 2.379 mol/kg. Nenhum dos canabinóides se mostrou com potencial mutagênico e nenhum dos canabinóides analisados foram capazes de causar danos hepáticos. O CBD e o CBG apresentaram a capacidade de provocar a sensibilização da pele.

Quadro 3 – Predição *in silico* de perfis farmacocinéticos e de toxicidade das moléculas de CBD, CBG e THC

Propriedades pkCSM	CBD	CBG	THC
Solubilidade em água (log mol/L)	-4.377	-5.252	-5.576
Permeabilidade à Caco2 (log P _{app} em 10–6 cm/s)	0,903	1.172	1.296
Absorção intestinal em humanos (% absorvida)	90.763	91.243	93.529
Permeabilidade cutânea (log K _p)	-2,987	-2,896	-2,87
Substrato da glicoproteína P (sim/não)	Sim	Sim	Não
Inibidor da glicoproteína P I (sim/não)	Não	Não	Sim
Inibidor da glicoproteína P II (sim/não)	Não	Não	Não
VDss em humanos (Log L/kg)	0,47	0,224	0,822
Fração não ligada (humanos) (Fu)	0,094	0,044	0
Permeabilidade à BBB (Log BB)	0,081	-0,062	0,368
Permeabilidade ao SNC (Log OS)	-1,411	-0,973	-1,65
Substrato do CYP2D6 (sim/não)	Não	Não	Não
Substrato do CYP3A4 (sim/não)	Não	Não	Não
Inibidor do CYP1A2 (sim/não)	Sim	Sim	Sim
Inibidor do CYP2C19 (sim/não)	Não	Não	Sim
Inibidor do CYP2C9 (sim/não)	Não	Não	Não
Inibidor do CYP2D6 (sim/não)	Não	Não	Não

Inibidor do CYP3A4 (sim/não)	Não	Sim	Não
Clearance total (Log ml/min/kg)	1.152	1.37	0.976
Substrato de OCT2 renal (sim/não)	Não	Não	Não
Potencial mutagênico (sim/não)	Não	Não	Não
Dose máxima tolerada (humanos) (Log mg/Kg/dia)	-0,505	0,104	-0,085
Inibidor de hERG I (sim/não)	Não	Não	Não
Inibidor de hERG II (sim/não)	Sim	Sim	Não
Toxicidade aguda por via oral em ratos (DL50) (mol/kg)	2.435	2.314	2.389
Toxicidade crônica por via oral em ratos (LOAEL) (Log mg/kg/dia)	2.38	2.602	2.422
Hepatotoxicidade (sim/não)	Não	Não	Não
Sensibilização da pele (sim/não)	Não	Sim	Não
Toxicidade <i>T.pyriformis</i> (Log µg/L)	1.771	1.714	1.807
Toxicidade Minnow (Log mM)	-1,068	-1,89	-1,205

Com a finalidade de avaliar as características farmacocinéticas e de toxicidade do fármaco TMZ, foi realizada outra predição através da ferramenta pkCSM com a qual a molécula de TMZ, assim como as moléculas de canabinóides, foi previamente modelada pelos *softwares* ChemDraw 18.1 e Marvin Sketch a mesma foi formatada para o código SMILES e posteriormente submetida a análise.

Através do ensaio realizado é possível observar no quadro 3 que o TMZ possui boa absorção via oral, Log P_{app} maior que 0,90. Apresentou uma absorção intestinal de 68%, sendo ela menor em relação aos canabinóides.

O TMZ possui uma boa distribuição no estado estacionário, elucidando uma melhor absorção nos tecidos do que no plasma e apresentou uma baixa chance de passagem pela barreira hematoencefálica, dado elucidado pelo Log BBB.

A TMZ apresentou uma DL₅₀ em ratos de 2.264 mol/kg, sendo ela menor que a dos canabinóides estudados, porém a TMZ apresentou um potencial mutagênico e apresentou hepatotoxicidade diferentemente dos canabinóides.

Quadro 4 – Predição *in silico* de perfis farmacocinéticos e de toxicidade da molécula de TMZ

Propriedades pkCSM	TMZ
Solubilidade em água (log mol/L)	-2.072
Permeabilidade à Caco2 (log P _{app} em 10 ⁻⁶ cm/s)	0,185
Absorção intestinal em humanos (% absorvida)	68,441
Permeabilidade cutânea (log Kp)	-2,735
Substrato da glicoproteína P (sim/não)	Não
Inibidor da glicoproteína P I (sim/não)	Não
Inibidor da glicoproteína P II (sim/não)	Não
VD _{ss} em humanos (Log L/kg)	0,628
Fração não ligada (humanos) (Fu)	0,715
Permeabilidade à BBB (Log BB)	-1,132
Permeabilidade ao SNC (Log OS)	-3.206
Substrato do CYP2D6 (sim/não)	Não
Substrato do CYP3A4 (sim/não)	Não
Inibidor do CYP1A2 (sim/não)	Não

Inibidor do CYP2C19 (sim/não)	Não
Inibidor do CYP2C9 (sim/não)	Não
Inibidor do CYP2D6 (sim/não)	Não
Inibidor do CYP3A4 (sim/não)	Não
Clearance total (Log ml/min/kg)	0,137
Susstrato de OCT2 renal (sim/não)	Não
Potencial mutagênico (sim/não)	Sim
Dose máxima tolerada (humanos) (Log mg/Kg/dia)	0,962
Inibidor de hERG I (sim/não)	Não
Inibidor de hERG II (sim/não)	Não
Toxicidade aguda por via oral em ratos (DL50) (mol/kg)	2.264
Toxicidade crônica por via oral em ratos (LOAEL) (Log mg/kg/dia)	0,626
Hepatotoxicidade (sim/não)	Sim
Sensibilização da pele (sim/não)	Não
Toxicidade <i>T.pyriformis</i> (Log µg/L)	0,285
Toxicidade Minnow (Log mM)	2.287

6 DOCKING MOLECULAR

Visando uma maior compreensão dos mecanismos farmacológicos dos canabinóides frente ao GBM, foi realizado o ensaio de docking molecular com a utilização das moléculas de CBD e THC. Este estudo fornece informações abrangentes sobre a ativação e os meios pelos quais os receptores canabinóides interagem com os canabinóides.

6.1 CBD E CB2

A validação do receptor canabinóide 2 foi realizada por *root mean square deviation* (RMSD) utilizando a estrutura de código PDB: 6KPC. Para a observação estrutural foi utilizado o *software* Discovery Studio. Para a separação de ligante (E3R) e receptor (6KPC) foi utilizado o *software* AutoDockTools 1.5.7 e as coordenadas de interação entre ligante e receptor foram programadas pelo mesmo *software* através do método de *grid box*, sendo que a *box* foi modelada manualmente de acordo com a observação da estrutura do receptor, por fim obteve-se os valores de coordenadas de:

center_x = 9.7

center_y = 0.738

center_z = -43.394

size_x = 46

size_y = 66

size_z = 54

Visando o processo de redocking a fim de validar o método, foi realizado a varredura estrutural do ligante e receptor, a varredura aconteceu com o valor de exaustividade de 100 e obtendo-se 4 ligantes resultantes, sendo eles:

Mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.	rmsd u.b.
------	------------------------	----------------------------------	-----------

1	-12.6	0.000	0.000
2	-10.8	2.551	7.492
3	-10.4	1.317	3.196
4	-10.1	1.825	2.150

A molécula com maior similaridade foi o “ligante 1” e foi a molécula escolhida para a validação por RMSD, obtendo um valor de 0.7928 angstroms.

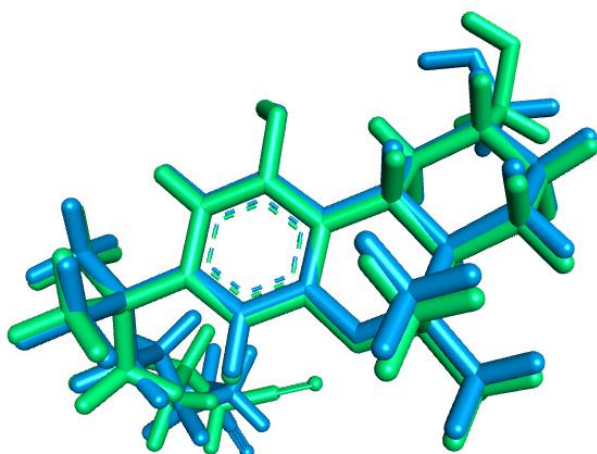


Figura 13: Ligante 1 sobreposto ao ligante original E3R no processo de redocking para obtenção do valor de RMSD. Em azul: E3R. Em verde: Ligante 1.

A molécula de CBD foi modelada pelo *software* MarvinSkecth e foi tratada pelo *software* Avogadro, sendo que a molécula antes de ser tratada apresentava uma tensão energética de 335,502 KJ/mol, após o tratamento a molécula apresentava uma tensão energética de 232,63 KJ/mol, sendo uma conformação mais estável. A molécula apresentou 8 torsões como número total de torsões, demonstrando-se uma molécula bem estável, apropriada para o docking.

O CBD apresentou um total de 11 interações com CB2 (figura 14), realizando uma ligação de hidrogênio com o aminoácido SER285; 7 ligações alquílicas com os aminoácidos TRP258, PHE117, VAL113, PHE91, PRO184, HIS95, PHE94; uma ligação π -sigma com o aminoácido TRP 194 e outras duas ligações π - π com os aminoácidos PHE87 e PHE183.

A ligação π -alquílica com TRP258 é o suficiente para acionar a ativação e a sinalização a jusante para indução do acoplamento de CB2 com a proteína G (HUA, T., *et al.*, 2020). Tal interação é de suma importância para que a atividade com GPR55 ocorra.

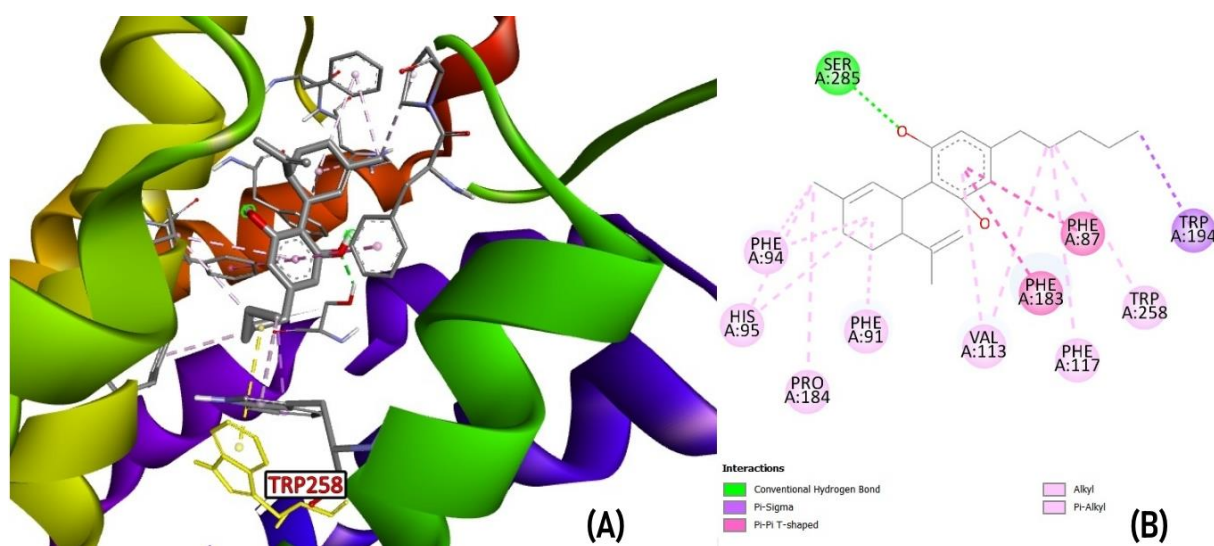


Figura 14: Representação do docking molecular realizado entre CBD e o receptor CB2 (PDB: 6KPC), sendo “A” a ligação alquílica entre o CBD e o TRP258, promovendo a ativação e sinalização para o acoplamento do receptor com a proteína G e “B” a representação em 2D de todas as interações realizadas pelo CBD no receptor CB2. Imagens obtidas através do *software* Discovery Studio.

6.2 THC E CB1

A validação do receptor canabinóide 1 foi realizada por RMSD utilizando a estrutura cristalografada de código PDB: 5TGZ. Para a observação estrutural foi utilizado o *software* Discovery Studio. Para a separação de ligante (AM6538) e receptor (5TGZ) foi utilizado o *software* AutoDockTools 1.5.7 e as coordenadas de interação entre ligante e receptor foram programadas pelo mesmo *software* através

do método de *grid box*, sendo que a *box* foi modelada manualmente de acordo com a observação da estrutura do receptor, por fim obteve-se os valores de coordenadas de:

```
center_x = 42.482
center_y = 29.944
center_z = 319.338
size_x = 42
size_y = 48
size_z = 44
```

Visando o processo de redocking a fim de validar o método, foi realizado a varredura estrutural do ligante e receptor, a varredura aconteceu com o valor de exaustividade de 100 e obteve-se 9 ligantes resultantes, sendo eles:

```
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
```

```
-----+-----+-----+-----
  1    -8.7    0.000    0.000
  2    -8.6    2.892    5.761
  3    -8.4    1.664    3.775
  4    -8.2    4.099    5.661
  5    -7.8    2.574    5.231
  6    -7.7    8.448   12.694
  7    -7.5    5.441    8.677
  8    -7.5    2.691    8.179
  9    -7.4    2.199    6.759
```

A molécula com maior similaridade foi o “ligante 1” com menor valor de kcal/mol e foi a molécula escolhida para a validação por RMSD, obtendo um valor de 0.4911 angstroms.

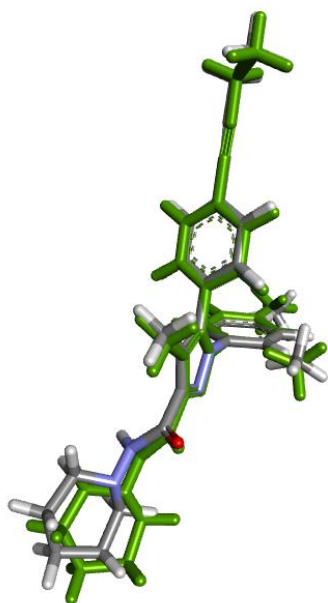


Figura 15: Ligante 1 sobreposto ao ligante original AM6538 no processo de redocking para obtenção do valor de RMSD. Em verde: AM6538. Em cinza: Ligante 1.

A molécula de THC foi modelada pelo *software* MarvinSkecth e foi tratada pelo *software* Avogadro, sendo que a molécula antes de ser tratada apresentava uma tensão energética de 344,104 KJ/mol, após o tratamento a molécula apresentava uma tensão energética de 159,122 KJ/mol, sendo uma conformação mais estável. A molécula apresentou 5 torsões como número total de torsões, demonstrando-se uma molécula bem estável, apropriada para o docking molecular.

O THC apresentou 18 interações com CB1 (figura 16), realizando 11 interações do tipo Van Deer Walls em SER383; PHE379; PHE102; MET363; LEU193; THR197; TRP279; PHE200; CYS386; LEU387; MET384; 7 ligações π -alquílicas e alquílicas em MET103; ILE105; PHE170; LEU359; VAL196; TRP356; PHE268

As interações com PHE200, PHE268 e TRP356 são essenciais para realizar a ativação de CB1 fazendo com que o mesmo realize as mudanças conformacionais e a sinalização a jusante. Vale ressaltar que todos os agonistas de CB1 realizam interações com PHE268 (HUA, T., *et al.*, 2017; HUA, T., *et al.*, 2016).

Por mais que o THC e sua interação com CB1 seja capaz de causar efeitos citotóxicos e apoptose nas células cancerosas, o THC induz comprometimento na quantidade de dose administrada, portanto, o efeito do THC é de dose dependente e é capaz de elevar a frequência cardíaca, pressão arterial além de alterar a percepção.

Seus efeitos adversos são minimizados quando administrado em conjunto com CBD e CBG, visto que os mesmos são capazes de serem moduladores alostéricos negativos de CB1 (LAH T.T., *et al*, 2021).

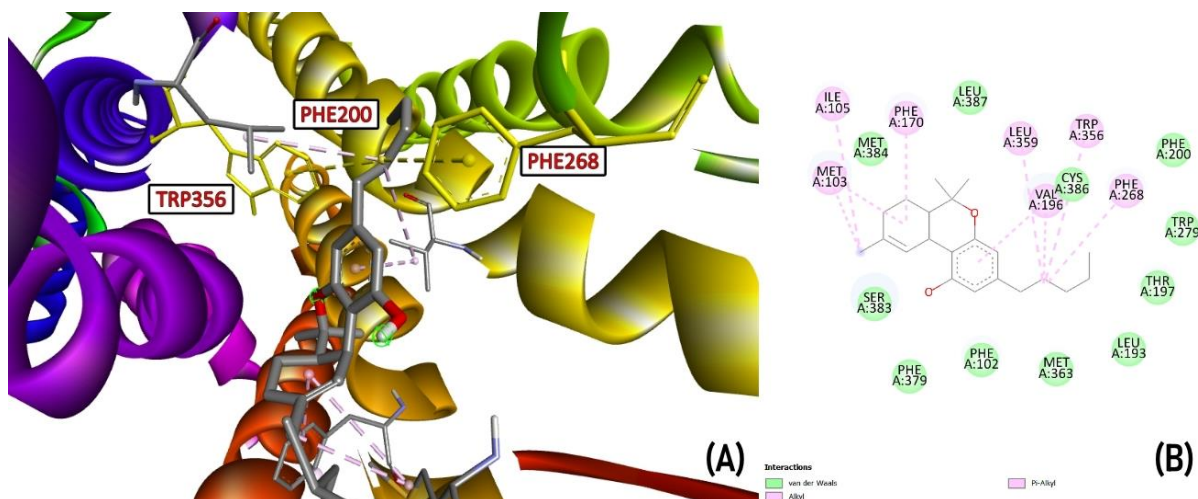


Figura 16: Representação do docking molecular realizado entre THC e o receptor CB1 (PDB: 5TGZ), sendo (A) a demonstração das ligações π -alquílicas entre o THC, PHE268 e TRP356 e a interação do tipo de Van der Waals entre THC e PHE200, que são aminoácidos importantes na ativação de CB1. (B) se trata da representação em 2D de todas as interações realizadas pelo THC no receptor CB1. Imagens obtidas através do *software* Discovery Studio.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo realizamos uma análise molecular dos canabinóides: THC, CBD e CBG frente as terapias clássicas de GBM e frente a suplementação com precursores de NAD⁺ no câncer. A partir dos estudos realizados, podemos observar que os canabinóides apresentaram uma menor toxicidade em relação a TMZ para o tratamento de GBM, os canabinóides apresentaram uma taxa de especificidade maior em relação ao TMZ e conseqüentemente menores efeitos adversos ao tratamento são esperados.

A ressecção cirúrgica do tumor seguido de radioterapia e quimioterapia com agente alquilante de DNA é uma estratégia muito agressiva e por mais agressiva que seja 95% dos pacientes morrem dentro de 5 anos após o diagnóstico da doença.

A suplementação com precursores de NAD⁺ é uma estratégia que vem sendo discutida ao longo dos anos como método de prevenção ao câncer, porém foi observado através de estudos *in vitro* que é necessário um cuidado referente a esta suplementação, pois a NR (principal precursor de NAD⁺) pode interferir na cadeia do transporte de elétrons e gerar estresse energético em células saudáveis, ocasionando diminuição da capacidade oxidativa. Tais efeitos podem colaborar negativamente para a saúde dos indivíduos que realizam a suplementação.

Através dos experimentos realizados foi observado que THC, CBD e CBG são capazes de ultrapassar a barreira hematoencefálica e são capazes de interagir com as GPCRs expressas nas células cancerosas de GBM, tais interações são capazes de interferir na sinalização celular oncogênica e na progressão do câncer de forma efetiva.

Portanto, os canabinóides são alternativas interessantes para a terapêutica de GBM, visto sua especificidade, ausência de potencial mutagênico e baixa toxicidade, porém vale ressaltar que é necessário um estudo de maior amplitude referente aos efeitos a longo prazo do uso desta terapia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANETA BRĄGIEL-PIECZONKA et al. The Profiles of Tet-Mediated DNA Hydroxymethylation in Human Gliomas. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 14 abr. 2022.

BADKE, G. L. et al. Glioblastoma multiforme em idosos: uma revisão sobre seu tratamento com ênfase na abordagem cirúrgica / Glioblastoma multiforme in the elderly: a review on their treatment with emphasis in the surgical approach. **Arquivo Brasileiro de Neurocirurgia**, v. 33, n. 1, p. 45–51, 2014.

BATISTA NETTO, J.; FIGUEREDO SILVA, T.; VINICIUS FERREIRA DO NASCIMENTO, G. Glioblastoma: patogênese e tratamento. Revisão da literatura. **JBNC - JORNAL BRASILEIRO DE NEUROCIRURGIA**, v. 30, n. 3, p. 233–243, 3 mar. 2019.

BROWN, T. J. et al. Association of the Extent of Resection With Survival in Glioblastoma. **JAMA Oncology**, v. 2, n. 11, p. 1460, 1 nov. 2016.

CARVALHO, V. A. et al. **Temas Em Psico-oncologia**. [s.l.] Grupo Editorial Summus, 2008.

CORDEIRO, E. W. F. . **Modulação da concentração intracelular de “NAD POT.+” e seu efeito na tumorigênese induzida por benzo[a]pireno em células bronquiais epiteliais humanas**. Tese—Universidade de São Paulo: [s.n.].

CORREIA-DA-SILVA, G. et al. Canábis e canabinóides para fins medicinais. **Revista Portuguesa de Farmacoterapia**, v. 11, n. 1, p. 21–31, 25 jul. 2019.

CUNHA, M. L. V. DA; MALDAUN, M. V. C. Metastasis from glioblastoma multiforme: a meta-analysis. **Revista Da Associacao Medica Brasileira (1992)**, v. 65, n. 3, p. 424–433, 1 mar. 2019.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a Free web Tool to Evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 3 mar. 2017.

DOAN, N. B. et al. Acid ceramidase confers radioresistance to glioblastoma cells. **Oncology Reports**, v. 38, n. 4, p. 1932–1940, abr. 2017.

DOMINGOS, V. et al. Sarcoma Radioinduzido Pós-Tratamento de Glioblastoma: Relato de Caso. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 62, n. 1, p. 51–57, 31 mar. 2016.

DUMITRU, C. A.; SANDALCIOGLU, I. E.; KARSAK, M. Cannabinoids in Glioblastoma Therapy: New Applications for Old Drugs. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 11, 16 maio 2018.

GRANDE, R. M. **Classificação dos subtipos moleculares de glioblastomas por meio de painel imunohistoquímico**. Tese—Fundação Antônio Prudente: [s.n.].

GUJAR,A.D.etal.AnNAD⁺-dependent transcriptional program governs self-renewal and radiation resistance in glioblastoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 51, 7 dez. 2016.

HADJIPANAYIS, C. G.; WIDHALM, G.; STUMMER, W. What is the Surgical Benefit of Utilizing 5-ALA for Fluorescence-Guided Surgery of Malignant Gliomas? **Neurosurgery**, v. 77, n. 5, p. 663–673, 1 nov. 2015.

HELDIN, C.-H. Targeting the PDGF signaling pathway in tumor treatment. **Cell Communication and Signaling**, v. 11, n. 1, p. 97, 2013.

HERNÁNDEZ-TIEDRA, S. et al. Dihydroceramide accumulation mediates cytotoxic autophagy of cancer cells via autolysosome destabilization. v. 12, n. 11, p. 2213–2229, 16 set. 2016.

HUA, T. et al. Crystal Structure of the Human Cannabinoid Receptor CB1. **Cell**, v. 167, n. 3, p. 750-762.e14, out. 2016.

HUA, T. et al. Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB 1. **Nature**, v. 547, n. 7664, p. 468–471, 1 jul. 2017.

HUA, T. et al. Activation and Signaling Mechanism Revealed by Cannabinoid Receptor-Gi Complex Structures. **Cell**, v. 180, n. 4, p. 655-665.e18, fev. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Câncer. Estimativa. **Incidência de câncer no Brasil 2023**. Rio de Janeiro: INCA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>. Acesso em: 25 fev. 2023.

JANE KELLY LUDWIG; SANTOS; ÉDER MAIQUEL SIMÃO. Radioterapia de Glioblastoma: Reorganização das Vias de Manutenção do Genoma. **Scientia Plena**, v. 10, n. 7, 4 ago. 2014.

KARACHI, A. et al. Temozolomide for immunomodulation in the treatment of glioblastoma. **Neuro-Oncology**, v. 20, n. 12, p. 1566–1572, 4 maio 2018.

KOLBE, M. R. et al. THC Reduces Ki67-Immunoreactive Cells Derived from Human Primary Glioblastoma in a GPR55-Dependent Manner. **Cancers**, v. 13, n. 5, p. 1064, 3 mar. 2021.

LAH, T. T. et al. Cannabigerol Is a Potential Therapeutic Agent in a Novel Combined Therapy for Glioblastoma. **Cells**, v. 10, n. 2, p. 340, 5 fev. 2021.

LAH, T. T. et al. The Cytotoxic Effects of Cannabidiol and Cannabigerol on Glioblastoma Stem Cells May Mostly Involve GPR55 and TRPV1 Signalling. **Cancers**, v. 14, n. 23, p. 5918, 30 nov. 2022.

LEE, J. H.; LEE, J. H. The origin-of-cell harboring cancer-driving mutations in human glioblastoma. **BMB Reports**, v. 51, n. 10, p. 481–483, 31 out. 2018.

LIGRESTI, A.; DE PETROCELLIS, L.; DI MARZO, V. From Phytocannabinoids to

Cannabinoid Receptors and Endocannabinoids: Pleiotropic Physiological and Pathological Roles Through Complex Pharmacology. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1593–1659, out. 2016.

LOPES, T. G.; CASTILHO-FERNANDES, A.; TEDESCO, A. C. Ampla caracterização do Glioblastoma e abordagens terapêuticas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 2, p. 12–25, dez. 2012.

LOUIS, D. N. et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Acta Neuropathologica**, v. 131, n. 6, p. 803–820, 9 maio 2016.

MAEKAWA, R. S.; LOUREIRO, A. P. DE M. . **Efeito da nicotinamida ribosídeo no metabolismo de células BEAS-2B**. In: 30º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA USP. Universidade de São Paulo, 2022. Disponível em: <<https://uspdigital.usp.br/siicusp/siicPublicacao.jsp?codmnu=7210>>. Acesso em: 27 mar. 2023

MANTAMADIOTIS, T. Towards Targeting PI3K-Dependent Regulation of Gene Expression in Brain Cancer. **Cancers**, v. 9, n. 12, p. 60, 30 maio 2017.

MOLINARO, A. M. et al. Genetic and molecular epidemiology of adult diffuse glioma. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 7, p. 405–417, 21 jun. 2019.

NAM, J. Y.; DE GROOT, J. F. Treatment of Glioblastoma. **Journal of Oncology Practice**, v. 13, n. 10, p. 629–638, out. 2017.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. [s.l.] Artmed Editora, 2019.

OLIVEIRA, V. D. P. D.; AIRES, D. M. P. COMPLICAÇÕES BUCAIS DA RADIOTERAPIA NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 7, n. 1, p. 69–86, 7 nov. 2018.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 22 abr. 2015.

PIRES, D. E. V.; KAMINSKAS, L. M.; ASCHER, D. B. Prediction and Optimization of Pharmacokinetic and Toxicity Properties of the Ligand. **Methods in Molecular Biology**, p. 271–284, 2018.

POLJSAK, B. NAD⁺ in Cancer Prevention and Treatment: Pros and Cons. **Journal of Clinical & Experimental Oncology**, v. 5, n. 4, 2016.

POTHARAJU, M.; MATHAVAN, A.; MANGALESWARAN, B. Effect of time interval between surgery and radiation therapy initiation in glioblastoma patients on overall survival. **Journal of Clinical Oncology**, v. 36, n. 15_suppl, p. e14047–e14047, 20 maio 2018.

RAJARATNAM, V. et al. Glioblastoma: Pathogenesis and Current Status of Chemotherapy and Other Novel Treatments. **Cancers**, v. 12, n. 4, 10 abr. 2020.

RAJMAN, L.; CHWALEK, K.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic Potential of NAD-Boosting Molecules: The In Vivo Evidence. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 3, p. 529–547, mar. 2018.

SIEGEL, R. L. et al. Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 73, n. 1, p. 17–48, 12 jan. 2023.

SILVA, R. R. DA et al. Therapeutic use of medicinal cannabis in people with degenerative neurological disease / Uso terapêutico da cannabis medicinal em pessoas com doença neurológica degenerativa. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 14, 30 set. 2022.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 4 fev. 2021.

WEINBERG, R. A.; AL, E. **A biologia do câncer**. [s.l.] Porto Alegre Artmed, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE. **WORLD CANCER REPORT : cancer research for cancer development**. [s.l.] IARC, 2020.

ZHANG, H. et al. NAD⁺ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. **Science**, v. 352, n. 6292, p. 1436–1443, 28 abr. 2016.