



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
BIOMEDICINA**

**ROSANA PEREIRA NOBRE DE LIMA**

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO CANABIDIOL SOB O ESTRESSE  
OXIDATIVO CAUSADO NA LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR  
ISQUEMIA-REPERFUSÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS**

Recife  
2024

ROSANA PEREIRA NOBRE DE LIMA

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO CANABIDIOL SOB O ESTRESSE  
OXIDATIVO NA LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR  
ISQUEMIA-REPERFUSÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Jennyfer Martins de Carvalho

Coorientador: Leucio Duarte Vieira Filho

Recife  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lima, Rosana Pereira Nobre de.

Avaliação do impacto do canabidiol sob o estresse oxidativo causado na lesão renal aguda induzida por isquemia-reperfusão em ratos wistar adultos / Rosana Pereira Nobre de Lima. - Recife, 2024.

45

Orientador(a): Jennyfer Martins de Carvalho

Cooorientador(a): Leucio Duarte Vieira Filho

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

9,76.

1. Fisiologia. 2. Canabidiol . 3. Estresse oxidativo . 4. Isquemia e reperfusão . 5. Lesão renal aguda. I. de Carvalho, Jennyfer Martins. (Orientação). II. Vieira Filho, Leucio Duarte. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

ROSANA PEREIRA NOBRE DE LIMA

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO CANABIDIOL SOB O ESTRESSE  
OXIDATIVO NA LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR  
ISQUEMIA-REPERFUSÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 04/03/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Mestre Jennyfer Martins de Carvalho  
UFPE/Departamento de Fisiologia e Farmacologia

---

Mestre Jeoadã Karollyne Silva  
UFPE/Departamento de Fisiologia e Farmacologia

---

Mestre Valéria Bianca de Souza Santos  
UFPE/Departamento de Fisiologia e Farmacologia

Dedico este trabalho a todas as pessoas que me ajudaram nessa jornada. Dedico primeiramente a Deus, segundo a minha mãe, que além de me dar a vida ficou ao meu lado em toda essa jornada. Dedico também a meu esposo Elias Francisco que assim como minha mãe estava ao meu lado o tempo todo nessa jornada. Dedico também a todos os professores, os quais foram base para essa conquista. Por fim, dedico a todos do laboratório de fisiologia e farmacologia cardio-renal, que além de ter sido um local de aprendizagem, também foi uma rede de apoio muito importante, especialmente o professor Leucio Duarte e a doutoranda e Jennyfer carvalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha orientadora Jennyfer Martins de Carvalho, que além de ser uma ótima orientadora teve todo cuidado em paciência comigo.

Ao professor e coorientador Leucio Duarte Vieira Filho, por toda paciência e conhecimento passado que serviu de base para esse estudo.

Aos órgãos de fomento que financiaram esse projeto, Facepe, CNPq e CAPES.

A todos do laboratório de fisiologia e farmacologia cardiorenal, além da minha orientadora e coorientador, gostaria de destacar alguns nomes: Jeoadã Karollyne, Valéria Bianca, Lucas Siqueira, que me ajudaram bastante nesse processo.

Gostaria de agradecer também a todos do laboratório do CISAM, que durante meu estágio teve toda paciência comigo, além de fornecer uma ótima carga de aprendizagem profissional e humanitária. Gostaria de destacar alguns nomes: José Florêncio, Luiz Siqueira Couceiro, Lorena Luiz, André Lucena, Raquel Evellin e José Gomes. Com certeza serão inesquecíveis na minha vida, pois me forneceram uma experiência rica de aprendizagem e acolhimento.

Gostaria de agradecer aos familiares que me apoiaram e estiveram ao meu lado durante esta jornada: minha mãe Roseane da Paz e ao meu marido Elias Francisco, a meu pai, a minha sogra Edvânia Ferreira e ao meu sogro Jorge Valença. Claro que não poderia esquecer de agradecer a minha falecida avó Maria do Carmo Veloso Nobre, que me ensinou a escrever minhas primeiras palavras e me incentivou muito a seguir por esse caminho. Também gostaria de deixar meus agradecimentos às minhas cadelinhas Minerva e Atena, que também fazem parte da família e foram meu apoio emocional durante toda a graduação.

Por fim, gostaria de agradecer a meus amigos que me apoiaram e torceram por me: novamente agradeço a minha orientadora Jennyfer Carvalho, que além de orientadora também foi minha amiga durante a produção desse trabalho, a Doralice da Paz minha companheira de graduação, Victória Regina a qual tenho orgulho ser amiga, Mirella Rio que escutou meus desabafos e a Jefferson companheiro de estágio.

“A estrada segue sempre em frente  
Deixando a porta onde começa  
Agora distante a estrada continua  
E eu devo segui-la, se eu puder

Conquistando com meus pés ávidos  
Até que ela se junte a um grande caminho  
Onde muitas trilhas e tarefas se encontram”.

(J. R. R. Tolkien. “The Road Goes Ever On”,  
The Lord of the Ring. HarperCollins. Edição  
internacional, 17 de abril de 2007

## RESUMO

A lesão renal aguda (LRA) é definida como a redução súbita da função renal. A LRA tem como característica a possível reversão, porém se não tratada pode evoluir para uma condição crônica. Ocorrendo principalmente em pacientes internados, torna-se um problema de saúde pública. Contudo, as abordagens terapêuticas ainda permanecem escassas. Assim, fármacos que atuam protegendo a função renal e os efeitos adversos da LRA têm ganhado destaque. Nesse contexto, o canabidiol (CBD), proveniente da *Cannabis sativa*, já apresentou efeitos antiinflamatórios e antioxidantes no fígado e no cérebro, tais resultados poderiam ser importantes para tratamento e/ou adjuvante na LRA. Assim, o presente estudo avaliou o impacto do tratamento com canabidiol sob marcadores associados ao estresse oxidativo na lesão renal aguda induzida por isquemia e reperfusão em ratos. Ratos adultos (300–350g, n=10) foram submetidos à indução de LRA através da isquemia-reperfusão (IR). Um grupo sofreu processo cirúrgico semelhante, excetuando a isquemia/reperfusão renal, Sham (n=10). Parte dos animais Sham e IR (n=5 por grupo) receberam tratamento diário com CBD (10 mg/kg de peso corpóreo, via intraperitoneal) iniciado um dia antes do IR e nos três dias seguintes. A outra parte dos animais de cada grupo (n=5 por grupo) recebeu tratamento com o veículo do CBD. Dessa forma foram obtidos 4 grupos experimentais: i) Sham(+veículo); ii) Sham+ CBD; iii) IR(+veículo); e iv) IR+ CBD. Após três dias da cirurgia, os animais foram anestesiados para coleta de amostra sanguínea e do tecido renal. O córtex renal foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  para avaliação de peroxidação lipídica e níveis de glutathiona reduzida (GSH). Os resultados deste estudo mostraram que após 24 horas da indução de lesão renal por isquemia e reperfusão ocorreu elevação da creatinina e da ureia séricas nos grupos IR em relação aos grupos de cirurgia simulada Sham e Sham + CBD, já o grupo IR+ CBD teve redução da creatinina sérica já nas primeiras 24h da LRA instalada, mas que não se refletiu na ureia, mostrando assim, proteção parcial. Porém, 72h após o procedimento cirúrgico, a uréia sérica foi reduzida significativamente em relação ao grupo IR, confirmando a proteção do canabidiol sob a função renal. Para avaliar o potencial antioxidante do tratamento com canabidiol, após 72h da cirurgia os animais foram eutanasiados e o córtex renal foi utilizado para avaliar parâmetros oxidativos e antioxidantes. A peroxidação lipídica, marcador de estresse oxidativo, estava elevada no grupo IR

veículo em relação aos animais que sofreram a cirurgia simulada com e sem tratamento com CBD, mas que no grupo IR+CBD foi revertido pelo tratamento com canabidiol. Já com marcador antioxidante, o GSH no grupo IR+CBD estava elevado significativamente em comparação com os animais sem tratamento bem como ao grupo Sham + CBD confirmando que o CBD conseguiu atenuar de maneira importante o estresse oxidativo induzido pela isquemia e reperfusão. Os dados desse estudo sugerem que o CBD é uma estratégia promissora para prevenir danos oxidativos, fornecendo novas alternativas para o tratamento da LRA.

**Palavras-chave:** Antioxidante. Canabidiol. Estresse oxidativo. Isquemia e reperfusão. Lesão renal aguda.

## **ABSTRACT**

Acute kidney injury (AKI) is defined as a sudden reduction in kidney function. The characteristic of AKI is that it can be reversed, but if left untreated it can develop into a chronic condition. Occurring mainly in hospitalized patients, it has become a public health problem. However, therapeutic approaches remain scarce. Thus, drugs that act to protect kidney function and the adverse effects of AKI have gained prominence. In this context, cannabidiol (CBD), which comes from *Cannabis sativa*, has already shown anti-inflammatory and antioxidant effects in the liver and brain, and these results could be important as a treatment and/or adjuvant in AKI. Thus, the present study evaluated the impact of treatment with cannabidiol on markers associated with oxidative stress in acute kidney injury induced by ischemia and reperfusion in rats. Adult rats (300-350g, n=10) were submitted to AKI induction through ischemia-reperfusion (IR). One group underwent a similar surgical procedure, except for renal ischemia/reperfusion, Sham (n=10). Part of the Sham and IR animals (n=5 per group) received daily treatment with CBD (10 mg/kg body weight, intraperitoneally) starting one day before IR and for the following three days. The other part of the animals in each group (n=5 per group) received treatment with the CBD vehicle. This resulted in 4 experimental groups: i) Sham(+vehicle); ii) Sham+ CBD; iii) IR(+vehicle); and iv) IR+ CBD. Three days after surgery, the animals were anaesthetized to collect blood samples and kidney tissue. The renal cortex was stored at -80°C to assess lipid peroxidation and levels of reduced glutathione (GSH). The results of this study showed that 24 hours after the induction of kidney damage due to ischemia and reperfusion, there was an increase in serum creatinine and urea in the IR group compared to the Sham and Sham + CBD sham surgery groups, while the IR + CBD group had a reduction in serum creatinine in the first 24 hours of AKI, but this was not reflected in urea, thus showing partial protection. However, 72 hours after the surgical procedure, serum urea was significantly reduced compared to the IR group, confirming the protection of cannabidiol on renal function. To assess the antioxidant potential of cannabidiol treatment, the animals were euthanized 72 hours after surgery and the renal cortex was used to assess oxidative and antioxidant parameters. Lipid peroxidation, a marker of oxidative stress, was elevated in the vehicle IR group compared to the animals that underwent the simulated surgery with

and without CBD treatment, but in the IR+CBD group it was reversed by treatment with cannabidiol. As for the antioxidant marker, GSH in the IR+CBD group was significantly elevated compared to the untreated animals as well as the Sham + CBD group, confirming that CBD was able to significantly attenuate the oxidative stress induced by ischemia and reperfusion. The data from this study suggest that CBD is a promising strategy for preventing oxidative damage, providing new alternatives for the treatment of AKI.

**Key words:** Acute kidney injury. Antioxidant. Cannabidiol. Ischemia and reperfusion. Oxidative stress.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Estresse oxidativo mitocondrial	15
<b>Figura 2</b> – Estresse oxidativo induzido por isquemia e reperfusão	16
<b>Figura 3</b> – Cadeira transportadora de elétrons	18
<b>Figura 4</b> – Papel protetor da glutatona redutase	19
<b>Figura 5</b> – Atividade redutora da glutatona reduzida	20
<b>Figura 6</b> – Atividade antioxidante do canabidiol	24
<b>Figura 1 resultados</b> – Dados funcionais de 24 horas	27
<b>Figura 2 resultados</b> – Dados funcionais de 72 horas	28
<b>Figura 3 resultados</b> – Dados da peroxidação lipídica e atividade da GSH	30

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>13</b>
2.1	LESÃO RENAL AGUDA	13
2.1.1	Epidemiologia	13
2.1.2	Fisiopatologia	15
2.1.3	Estresse Oxidativo e antioxidantes	17
2.1.4	Creatinina	21
2.1.5	Ureia	22
2.2	CANABIDIOL	22
2.2.1	Definição e Histórico	22
2.2.2	Canabidiol no estresse oxidativo causado por isquemia-reperfusão	23
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>25</b>
3.1	Objetivos Específicos	25
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>25</b>
4.1	ASPECTOS ÉTICOS	25
4.2	PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	26
4.3	MÉTODOS ANALÍTICOS GERAIS	26
4.5	AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO	26
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
<b>5</b>	<b>RESULTADOS OU RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
5.1	Dados funcionais	27
5.2	Peroxidação lipídica, níveis de	29
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>32</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>33</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>41</b>
	ANEXO A – Cópia do parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE Envolvendo Animais	41

## 1 INTRODUÇÃO

A lesão renal aguda (LRA) é um problema de saúde pública em todo o mundo. De acordo com um estudo epidemiológico realizado por Macedo & Mehta (2020) a LRA está relacionada a uma alta taxa de mortalidade. Estudos utilizando a KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) apontam que entre 2004 e 2012, 1 a cada 3 crianças e 1 a cada 5 adultos apresentaram LRA durante atendimento hospitalar, sendo a maior taxa de mortalidade de pacientes hospitalizados relacionada a doentes com LRA (Susantitaphong et. al., 2013; Ono et. al., 2019). Além disso, cabe ressaltar que a lesão renal pode ser um fator de risco para os distúrbios cardiovasculares, que são a principal causa de morte em 2019 de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). A LRA pode se estabelecer, rapidamente, com a redução da função renal e acúmulo de compostos nitrogenados na circulação (Singh et. al., 2012), sendo potencialmente reversível, porém se não controlada pode evoluir para doença renal crônica e hipertensão.

Alterações na instabilidade hemodinâmica são as principais indutoras de alterações agudas da função renal. As intervenções cirúrgicas de reparação, choque hipovolêmico, parada cardíaca, transplantes renais podem resultar em danos no tecido renal mediante a isquemia (Yap et al., 2012). A LRA ocasiona mudanças estruturais em células epiteliais e endoteliais dos rins, resultando na perda de função e reduzindo a taxa de filtração glomerular, que em estágios mais avançados pode ocasionar acúmulo de eletrólitos levando a acidose metabólica (Sharfuddin & Molitoris, 2011).

O estresse oxidativo e a peroxidação lipídica são os principais fatores envolvidos na lesão tecidual durante a Isquemia e Reperfusão (IR) na LRA, induzem reações pró-inflamatórias que ocorrem, principalmente, durante a reperfusão. (Malek & Nematbakhsh, 2015). As principais espécies reativas do oxigênio relacionadas à lesão renal são o peróxido de hidrogênio e o superóxido que podem ser produzidos de maneira basal e estimulados por enzimas pró-oxidativas, como a NADPH oxidase (NOX). Assim, a NOX é destaque por ser a principal fonte de produção de EROs em diversos tipos celulares não-fagocíticos do rim (Kitada et al., 2003).

Apesar das EROs estarem associadas com o dano celular, sabe-se da importância da manutenção de seus níveis balanceados por sua participação como segundo mensageiro na sinalização de diversos processos celulares como sobrevivência, proliferação, crescimento e metabolismo energético (Finkel, 2011).

Dessa forma, é fundamental que a produção de espécies reativas do oxigênio (EROs) seja contrabalanceada por sistemas antioxidantes, onde as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase representam a primeira linha de defesa (Irazabal & Torres, 2020).

Embora haja abordagens terapêuticas direcionadas ao tratamento das repercussões da lesão renal, elas ainda são escassas e ineficientes. Dessa forma, é de grande importância a busca por novas intervenções terapêuticas que atuem pelo menos de forma adjuvante à terapia convencional, sobretudo que sejam voltadas para a proteção antioxidante, devido ao seu papel-chave na fisiopatologia da lesão renal. Nesse contexto, o canabidiol, fitocanabinóide derivado da *Cannabis*, pode ter uma importante aplicação clínica.

Os compostos da *Cannabis sativa*, como o canabidiol (CBD) e o  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol (THC), atuam de maneira análoga aos endocanabinoides do sistema endocanabinóide endógeno (SEC). O CBD, um monoterpene fenólico, não causa efeitos psicoativos como o THC (Pagano et al., 2023; Zou & Zumar). Ele pode agir como agonista dos receptores CB2, receptores vanilóides e do PPAR $\gamma$ , além de ter efeitos protetores na lesão renal induzida por cisplatina, equilibrar o estresse oxidativo através da regulação do fator de transcrição Nrf2 (Suzuki et al., 2023), atua nos receptores serotoninérgicos 1A para proteger as membranas biológicas de danos e reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias (Silvestro et al., 2020). Apesar disso, o entendimento dos mecanismos moleculares de proteção do CBD contra a lesão renal ainda está em estágios iniciais, especialmente em relação aos mecanismos fisiopatológicos da lesão renal aguda induzida por isquemia-reperfusão

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 LESÃO RENAL AGUDA**

#### **2.1.1 EPIDEMIOLOGIA**

A ocorrência da LRA abrange diversas condições clínicas e fatores de risco associados, constituindo a base de sua epidemiologia. Pesquisas recentes esclareceram sua prevalência, incidência e padrões em diferentes populações e ambientes clínicos. Em estudo realizado por Susantitaphong et al. (2019), constatou-se que a LRA é uma complicação frequente entre pacientes hospitalizados, variando a incidência real dependendo da definição utilizada e da

população específica sob investigação. Foi revelado que até 20% dos pacientes hospitalizados podem ser afetados pela LRA.

Além disso, a incidência tem mostrado uma tendência ascendente ao longo do tempo. O que se deve potencialmente ao aumento da conscientização sobre doenças renais, aos avanços nos métodos de detecção e diagnóstico, bem como ao envelhecimento da população e ao aumento da presença de comorbidades. Outro estudo de coorte prospectivo liderado por Coca et al. (2022) ressalta a carga substancial da LRA em termos de comorbidade e mortalidade, com casos graves apresentando taxas de mortalidade hospitalar que podem chegar a 50%. Fatores de risco comuns para o desenvolvimento de LRA incluem idade avançada, comorbidades como diabetes e doença cardiovascular, exposição a agentes nefrotóxicos e procedimentos cirúrgicos de grande porte como transplantes renais.

Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), em menos de 20 anos a doença renal pode ser a quinta maior causa de morte no mundo, além disso, a OMS revelou que entre 2000 e 2019 doenças cardiovasculares representam a principal causa de mortalidade no mundo (OMS, 2020). De acordo com o relatório da OMS ainda se encontra as doenças renais na lista das dez primeiras maiores causas de morte no mundo. Além disso, muito embora a OMS ainda não tenha apresentado ranqueamento das causas de morte dos anos 2020 e 2024, o Centro de Prevenção de Doenças dos Estados Unidos divulgou que as doenças cardíacas foram responsáveis pelo óbito de mais que o dobro que a COVID-19 em 2020 (Murphy et al., 2021). O desenvolvimento de doenças cardíacas é fator predisponente para o desenvolvimento de doenças renais. Assim, a hipertensão é um fator de risco primário para doenças renais (OMS, 2013), sendo uma importante associação entre as duas morbidades o quadro de síndrome cardiorrenal (Kumar et al., 2019). A pressão arterial está relacionada com a função renal, cerca de 80% dos pacientes com doença renal crônica podem desenvolver hipertensão (Santos et al., 2012). A LRA é rapidamente estabelecida, porém tem caráter reversível, mas se não tratada adequadamente pode evoluir para um quadro de doença renal crônica (Goyal et al., 2023).

Adicionalmente, segundo a SBN, uma em cada dez pessoas no mundo tem risco de desenvolver doenças renais, e em torno de 10 milhões de brasileiros possuem diferentes graus de doenças renais, 133 mil pessoas são pacientes dependentes de diálise e mais de 20 mil pacientes em hemodiálise, tendo uma taxa

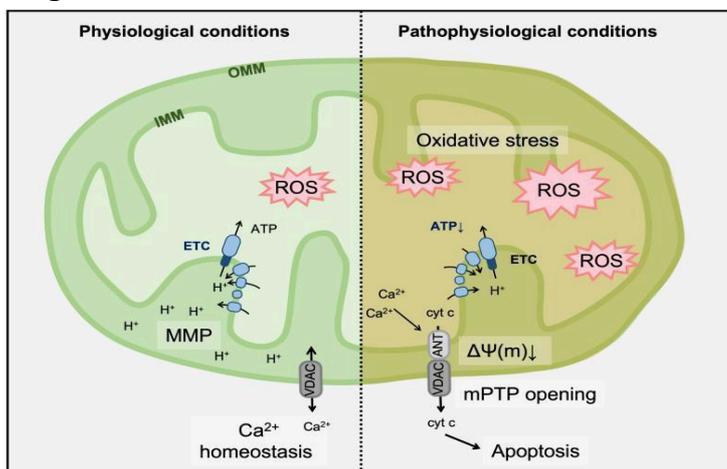
de mortalidade de 15% ao ano, sendo 140 mil desses 10 milhões os casos mais graves. Já em nível mundial, cerca de 850 milhões de pessoas possuem alguma doença renal, segundo a OMS.

### 2.1.2 FISIOPATOLOGIA

Segundo o Ministério da Saúde, LRA consiste na condição em que os rins perdem de forma súbita e rápida a capacidade de efetuar funções básicas. Patologias que causam hipóxia, isquemia, são as formas mais comuns que resultam em LRA (Santos et al., 2023; Ono et al., 2019). A LRA induzida por isquemia-reperfusão (IR) é caracterizada pela restrição do suprimento sanguíneo aos rins seguida pela restauração de fluxo sanguíneo e oxigenação. Durante a reperfusão ocorre alta produção de espécies reativas do oxigênio, o que resulta na formação do estresse oxidativo, promovendo a lesão tecidual (Malek & Nematbakhsh, 2015; McFarlane et al., 2023).

A disfunção mitocondrial tem um papel central na progressão da LRA (Chen, Y. et al., 2024), contribuindo com elevada produção de EROs e disfunção celular. A inflamação também é um dos pontos chaves da fisiopatologia da LRA, sendo a ativação de citocinas pró-inflamatórias crucial para desencadear a lesão tecidual, a resposta imunológica acaba exacerbando a lesão renal sendo característica da fase aguda. (Hussein et al., 2020; Wang et al., 2023). Adicionalmente, a ativação de caspases e indução de apoptose contribui para uma maior perda da função renal (Chen, et al., 2024; Zhang et al., 2023)

**Figura 1- Estresse oxidativo mitocondrial**



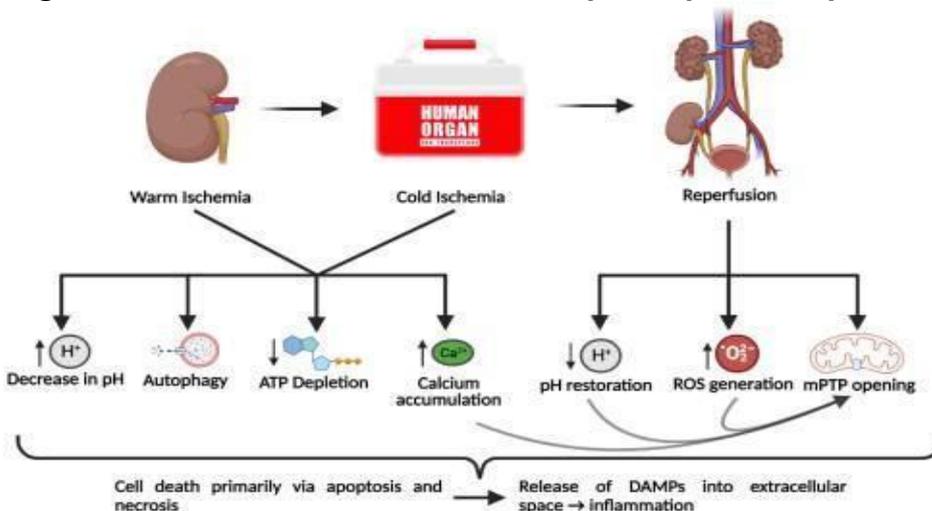
**Fonte: Ho & Shirakawa (2023).** Regulação da permeabilidade mitocondrial (mPTP) para manter a homeostase mitocondrial. O mPTP está entre a membrana

mitocondrial interna (IMM) e a externa (OMM). Essa regulação ocorre mediante canal catiônico dependente de voltagem (VDAC) e a proteína translocadora de adenina (ANT) que age na regulando o potencial de membrana mitocondrial (MMP) para homeostase dessa organela. Em condições de quebra dessa homeostase, o excesso de cálcio e EROs induzem a abertura do mPTP, resultando no apoptose mitocondrial.

Durante a isquemia ocorre a depleção de ATP (adenosina trifosfato), ocasionando alterações em células do lúmen tubular e endoteliais, levando a perda de função e redução da taxa de filtração glomerular (TFG). De maneira adicional, a depleção de ATP também ocasiona a redução da função dos transportadores transmembrana de sódio, elevando a concentração de sódio no filtrado reduzindo a TFG, causando também vasoconstrição, assim, elevando os níveis de citocinas pró-inflamatórias, aumentando a permeabilidade e adesão de leucócitos e agravando os danos teciduais (Sharfuddin & Molitoris, 2023; Su et al., 2023).

A inflamação sistêmica ocasionada, assim como o desbalanço eletrolítico pode levar a disfunção em diversos órgãos distantes, como alterações na contratilidade do miocárdio, injúria vascular e hepatotoxicidade decorrente do estresse urêmico. Os atuais tratamentos também são fatores que estendem a lesão a outros tecidos, como ocorre na hemodiálise, utilização de diurético e medicamentos imunossupressores usados em pacientes com LRA, podendo causar instabilidade hemodinâmica e levar a edemas temporários no encéfalo (Matsuura & Rabb, 2023; Kao et al., 2018).

**Figura 2- Estresse oxidativo induzido por isquemia-reperfusão**



**Fonte: McFarlane et al. (2023).** Mecanismo de lesão renal por IR decorrentes de transplantes de órgãos. A isquemia quente sendo decorrente da interrupção de

perfusão do órgão do doador, durando até sua preservação hipotérmica, marcando o início da isquemia fria.

A produção exacerbada de EROs durante a reperfusão pode ocasionar uma grave depleção de ATP (McFarlane et al., 2023; Sharfuddin & Molitoris, 2011). A peroxidação lipídica mitocondrial causada pelos níveis elevados de EROs leva a uma alteração da função. Dessa maneira, gera alteração da fosforilação oxidativa gerando depleção de ATP que culmina em elevação dos níveis intracelulares de cálcio e ativação de fosfolipases, que exacerbam os danos celulares e de proteicos e no DNA, resultando na apoptose e morte celular (McFarlane et al., 2023; Su et al., 2023)

A peroxidação lipídica é um dos principais fatores na IR que leva a LRA, consiste em reações que EROs reagem com lipídeos vulneráveis de membrana celular, como ácidos graxos poliinsaturados, levando a ativação de mecanismos de morte celular, além de elevar ainda mais os níveis de EROs resultantes da degradação desses lipídeos. (Vašková et al., 2023; Hussein et al., 2020).

### 2.1.3 ESTRESSE OXIDATIVO E ANTIOXIDANTES

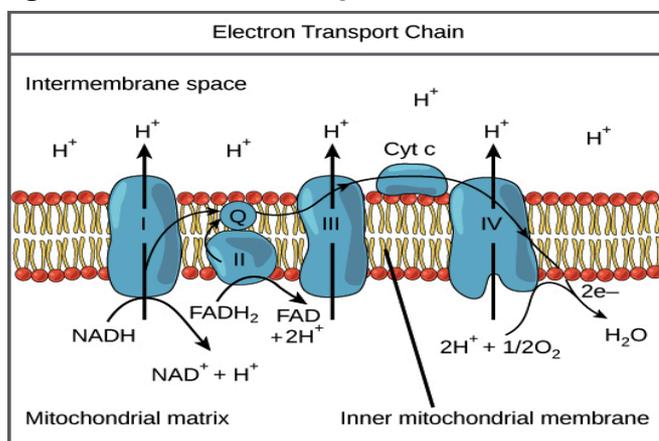
A ocorrência de isquemia e reperfusão envolve processos fisiopatológicos interligados que têm o potencial de causar danos aos tecidos, tendo o estresse oxidativo um papel fundamental neste mecanismo. Conforme afirmado por Granger & Kvietys (2015), o período de isquemia leva a um desequilíbrio na geração de EROs, resultando em seu acúmulo e comprometendo a função celular. A reperfusão subsequente, exacerbada pelas EROs, induz danos oxidativos aos lipídeos, proteínas e DNA, conforme destacado por Song et al. (2023). Esses eventos desencadeiam uma resposta inflamatória e apoptótica, intensificando ainda mais a lesão tecidual, conforme observado no estudo experimental realizado por Li. et al. (2023). Além disso, a pesquisa de Chen. et al. (2024) demonstra que a disfunção mitocondrial durante a isquemia e reperfusão contribui para um aumento na produção de EROs.

Durante a reperfusão ocorre uma elevada geração de EROs e iniciando uma cascata que leva a LRA, devido a formação do estresse oxidativo e a peroxidação lipídica, os quais são os principais fatores que promovem a inflamação durante a lesão renal por IR (Sharfuddin & Molitoris, 2011; Wang et al., 2023). As EROs são produtos de reações metabólicas, podendo ou não ser radicais livres, bem como seu

produto da degradação da membrana de células e mitocôndrias, sendo altamente reativos. As EROs induzem danos ao DNA mitocondrial, reduzindo o potencial da membrana induzindo a oxidação de proteínas e lipídeos, o que leva à mitofagia como forma de reparo, porém acaba agravando a LRA devido a maior produção de EROs (Sharfuddin & Molitoris, 2011; Ho e Shirakawa, 2023). Durante a lesão por IR o metabolismo anaeróbico é predominante, produzindo menos ATP e antioxidantes, levando a acidose e falha as bombas iônicas, a acidose altera a funcionalidade de algumas enzimas do sistema antioxidante, como ocorre com a glutatona reduzida (GSH) decorrente da alteração do seu pKa (McFarlane et. al., 2023; Vašková et al., 2023; Mailloux et al., 2014).

A principais fontes de EROs durante IR é o sistema xantina oxidoreductase (XO), enzima óxido nítrico sintase endotelial (ONS), cadeia transportadora de elétrons (CTE) e principalmente a NADPH oxidase (NOX), a qual é super expressa durante a LRA por IR (Tretter et al., 2022; Guo & Walz, 2023). O XO é responsável pela produção de  $O_2^-$ , enquanto a NOX é a principal produtora de  $H_2O_2$ , produzindo também  $O_2^-$ : catalisa a transferência de elétrons do NADPH para o  $O_2$ , produzindo  $O_2^-$ . A produção de EROs pela NOX é dependente de EROs (Tretter et al., 2022; Guo & Walz, 2023) , ou seja, é responsável por agravar ainda mais a lesão pelo estresse oxidativo. Em situações de hipóxia, como ocorre na isquemia, a produção de  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  pode ser oriunda da CTE, pelos complexos I, II e III da CTE. Durante a reperfusão, ocorre uma rápida oxidação do succinato que é acumulado pela ação reserva da CTE, levando ao excesso de EROs, superando a atividade do sistema antioxidante, contribuindo ainda mais para esse excesso (Mailloux et al., 2014; McFarlane et al., 2023).

**Figura 3- Cadeia Transportadora de Elétrons**

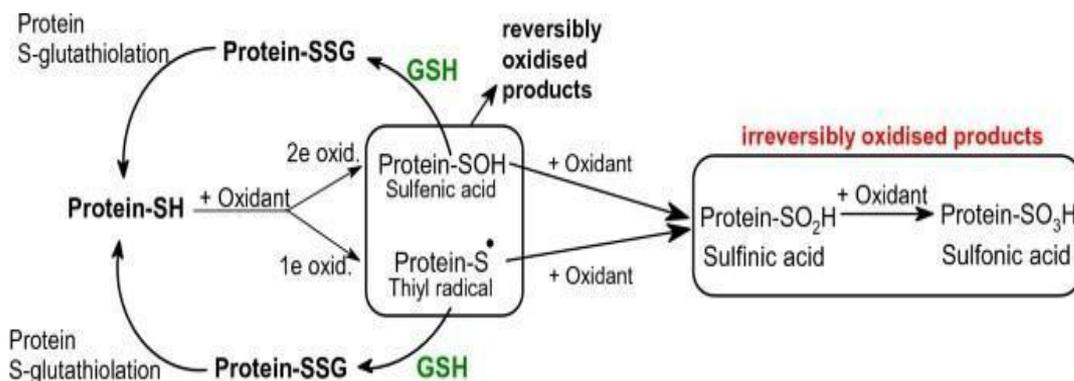


**Fonte: Rye et al. (2016).** Complexos da cadeia transportadora de elétrons.

Em condições homeostáticas, o nível reduzido de EROs é de extrema importância para a sinalização entre células. Quando há produção exacerbada de EROS ocorrem efeitos danosos no organismo, afetando diversas funções fisiológicas, convergindo em morte celular (Guo & Walz, 2023; Pagano et al., 2023). Assim, o mecanismo do sistema antioxidante é estimulado (Tretter et al., 2022; Guo & Walz, 2023). Porém, no caso da isquemia e reperfusão é possível que haja uma retroalimentação negativa desse sistema antioxidante devido a depleção de ATP, fazendo que algumas enzimas como por exemplo, as peroxirredoxinas, fiquem na forma inativa (Malek & Nematbakhsh, 2015).

O sistema antioxidante é composto principalmente pelas enzimas: catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), Glutathiona redutase (GSH). A SOD é responsável pela dismutação do  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$  em, enquanto a CAT reduz  $H_2O_2$  em  $H_2O$  (Tretter et al., 2022; Mailloux et al., 2014; Guo & Walz, 2023). GSH é a principal responsável por proteger conteúdo biológicos contendo cisteína da oxidação quando em níveis elevados de  $H_2O_2$ , como ocorre nas mitocôndrias, protegendo-a da degradação pelo estresse oxidativo (Vašková et al., 2023; Mailloux et al., 2014).

**Figura 4: Papel protetor da Glutathiona reduzida**

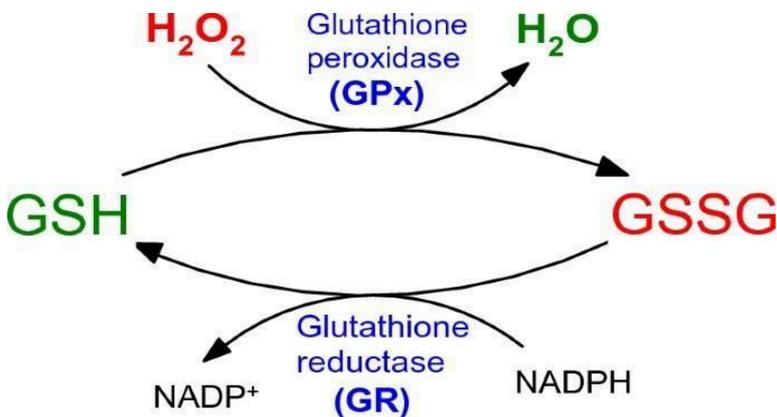


**Fonte: Jomova et al. (2023).** Ação protetora da GSH na oxidação de grupos proteicos -SH.

Desempenhando vários papéis na proteção das células contra o estresse oxidativo a GSH é um antioxidante endógeno vital, possui uma capacidade de rejuvenescer antioxidantes adicionais, como a vitamina C e E. Isso fortalece ainda mais seu papel fundamental na defesa contra danos oxidativos (Nguyen et al.,

2023). Além disso, a glutathionilação está parcialmente envolvida na modulação do sistema imunológico e na regulação da expressão gênica associada à resposta antioxidante (Li et al., 2022). De acordo com Júnior e Torezan (2016), a GSH atua como um fator essencial para as enzimas glutathione peroxidase (GPx) e glutathione S-transferase (GST), que possuem função de neutralizar peróxidos lipídicos e outras EROs, sendo importante na proteção celular contra a peroxidação lipídica. Loguercio et al. (2003) demonstrou a importância da GSH na proteção celular contra a peroxidação lipídica, mostrando que a suplementação com GSH reduziu a peroxidação lipídica em modelos experimentais de IR renal.

**Figura 5- Papel protetor da glutathione redutase**



**Fonte: Jomova et al. (2023).** Ação da glutathione peroxidase (GPx), convertendo a glutathione reduzida (GSH) em glutathione oxidada (GSSG) para reduzir  $H_2O_2$  em  $H_2O$ , e regeneração da GSH a partir da GSSG pela glutathione reductase (GR) a partir da oxidação do NADPH a  $NADP^+$ .

A resposta celular à lesão aguda de isquemia e reperfusão depende fortemente da regulação do sistema antioxidante. Song et al. (2023) e Mazur-Bialy & Irena (2021), enfatizaram o papel fundamental dos fatores de transcrição, particularmente o Nrf2, na regulação do sistema antioxidante em casos de lesão renal aguda causada por isquemia e reperfusão. Tretter et al. (2022) ressaltam o fato de que a ativação do Nrf2 facilita a expressão de enzimas antioxidantes cruciais, como a SOD e a GSH, que são vitais para neutralizar a produção de radicais livres nocivos durante a fase de reperfusão. Guo & Walz (2022) e Wang et al. (2023) mostraram que o estresse oxidativo durante a IR também pode ativar vias intracelulares, como a via MAPK, esta via regula a expressão de genes que estão

envolvidos na atividade antioxidante. Por outro lado, Chen, Y. et al. (2024) levantam a hipótese de que o dano mitocondrial durante a isquemia e reperfusão pode levar a um declínio na produção de antioxidantes endógenos, o que aumentaria ainda mais o nível de estresse.

#### 2.1.4 CREATININA

A produção contínua de creatinina, um composto orgânico nitrogenado, surge da manipulação metabólica da creatina em músculos esqueléticos. Este processo envolve uma fosforilação não enzimática da creatina e da fosfocreatina, resultando na liberação da creatinina na corrente sanguínea e subsequente eliminação pela excreção renal. Segundo Lehninger et al. (2017), a creatinina é formada a partir da quebra da fosfocreatina, através da ação da enzima creatino fosfoquinase, liberando fosfato e gerando creatinina. Em condições normais, a concentração sanguínea de creatinina é relativamente constante e é usada como um marcador bioquímico da função renal. Conforme destacado por Berg et al. (2020), níveis elevados de creatinina sérica podem indicar disfunção renal, uma vez que a sua excreção depende principalmente da taxa de filtração glomerular. Além disso, de acordo com Hall et al. (2019), a creatinina também pode ser utilizada como indicador de desidratação, uma vez que variações na hidratação corporal podem influenciar sua concentração no sangue

A avaliação da creatinina tem papel significativo no diagnóstico e tratamento da LRA. Pesquisas recentes demonstraram o valor da creatinina como um poderoso biomarcador que pode ser usado para identificar a presença de insuficiência renal e prever o prognóstico do paciente Li et al. (2023). Nesse contexto, a creatinina sérica é frequentemente empregada como um indicador comum para avaliar o funcionamento dos rins e identificar LRA, a molécula é baseada na capacidade dos rins de eliminar metabólitos do tecido muscular. Além disso, Zhang et al. (2018) indicam que o aumento dos níveis de creatinina é inversamente proporcional ao grau de dano aos rins e ao risco de complicações, incluindo insuficiência renal e morte. Além disso, Alkassas et al. (2024) reconheceram que a avaliação seriada dos níveis séricos de creatinina ao longo do tempo pode ser benéfica na avaliação da progressão da lesão por IR, o que torna sua mensuração útil na doença renal e na eficácia das estratégias terapêuticas.

Ainda no que diz respeito à avaliação da LRA por IR, a creatinina continua a ter

um papel significativo como indicador de prognóstico e indicador de resposta ao tratamento. Uma investigação recente de Alkassas et al. (2024) mostrou que a creatinina é um preditor significativo de eventos adversos, incluindo necessidade de terapia renal substitutiva e morte, em pacientes com LRA causada por isquemia e reperfusão. Esses achados concordam com os achados de Li et al. (2022) que documentaram uma associação significativa entre o grau de aumento dos níveis de creatinina e o grau de gravidade da lesão renal aguda em ambientes experimentais. Além disso, Zhang et al. (2018), enfatizaram que o monitoramento frequente dos níveis de creatinina ao longo do tempo pode fornecer informações dinâmicas sobre a resposta do paciente ao tratamento e ajudar na tomada de decisão clínica.

### 2.1.5 URÉIA

De acordo com Lehninger et al. (2017), a ureia consiste numa molécula orgânica sintetizada no fígado a partir da amônia e dióxido de carbono no ciclo da ureia, é excretada principalmente pelos rins na urina, tendo importante papel na regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico do corpo. Além disso, seus níveis séricos é um indicador importante da função renal (Hosten,1990)

A ureia possui um importante papel na LRA induzida por IR. De acordo com (Azarkish et al., 2021), durante o processo isquêmico ocorre uma diminuição do fluxo sanguíneo, acarretando uma redução na excreção de ureia em decorrências do acúmulo ureico de sangue (Naimi et al., 2019). Esse acúmulo contribui para toxicidade celular e disfunção renal durante a fase de reperfusão. Além disso, (Naimi et al., 2019) menciona que a ureia pode exacerbar a LRA por meio da indução do estresse oxidativo e inflamação. A elevação dos níveis de ureia também está relacionada a uma maior mortalidade em pacientes com LRA, como destacado por (Zemaitis et al., 2023). Portanto, a mensuração dos níveis de ureia é considerada um bom marcador de prognóstico na abordagem da LRA induzida por IR, assim como destaca outros estudos (Shang et al., 2020).

## 2.2. CANABIDIOL

### 2.2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO

O CBD é um monoterpene fenólico oriundo principalmente da cannabis, foi isolado pela primeira vez por Adams Hunt e Clark em 1940 da *cannabi sativa L.* (Catilho-Arellano et al., 2023). Há registros da utilização da cannabis medicinal em

cerca de 2.600 a.C. pelo império chinês, sendo um dos objetivos o alívio de dores (Pagano et al., 2023). Foi reintroduzida na medicina novamente em 1843 pelo irlandês Shaughnessy (Johnson & Colby, 2023). No Brasil, na década de 1930, foi citada em compêndios médicos e catálogos de produtos farmacêuticos com inúmeras propriedades terapêuticas, sendo indicada para tratar desde úlceras gástricas, e problemas mentais e insônias (Carlini, 2006).

Apesar do cultivo da *Cannabis sativa* para fins medicinais ainda estar em processo de legalização no Brasil, a importação de medicamentos à base de canabidiol é liberada no Brasil desde 2015. A Anvisa já aprovou a importação de pelo menos 15 produtos à base de canabidiol, em formulações à base de extratos da *Cannabis sativa* ou, em sua maioria, compostos pelo fitofármaco isolado canabidiol. Além disso, já existe pelo menos uma empresa que realiza a formulação do produto no Brasil. De forma geral, o canabidiol é comercializado em formulações sob diversas concentrações, sendo que sua indicação é exclusivamente determinada por profissionais médicos, e sua venda está condicionada à apresentação de receituário do tipo B, com numeração controlada.

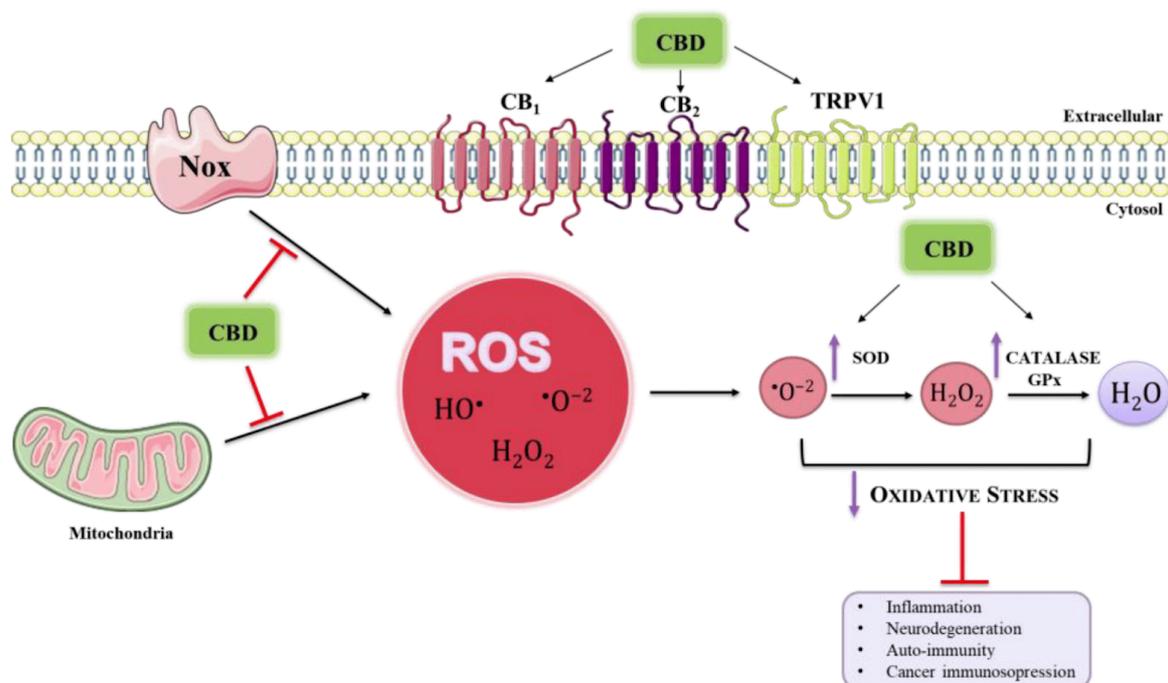
#### 2.2.2 CANABIDIOL NO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO

Durante a LRA por IR ocorre uma perturbação do sistema de oxidação e as células respondem ativando diversas vias, dentre elas as vias endocanabinoides ou as que possuem mediadores endocanabinoides (Pagano et al., 2023). Demonstra ser uma molécula segura para pacientes renais, pois não induz intoxicação, e possui baixos efeitos colaterais, sendo administrada principalmente na forma de óleo (Castillo-Arellano et al., 2023). Foi demonstrado que o potencial antioxidante do CBD se dá principalmente pelo próprio sistema endocanabinoide, via receptor de endocanabinoide 2 (CBD2R), por vias antiinflamatórias, por interação com receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (Castillo-Arellano, et al., 2023; Kuret et al., 2023; Atalay et al., 2020). Também foi demonstrado que o CBD reduz o estresse oxidativo agindo diretamente no sistema de oxirredução, sendo utilizado para reduzir acúmulo de glutamato em animais diabéticos ao reduzir a formação de estresse oxidativo nos neurônios da retina, além de quelar íons metálicos durante a produção de EROs (Atalay et al., 2019; Pagano et al., 2023).

Uma das formas do CBD ajudar a balancear o sistema de oxirredução fisiológico é reduzindo a atividade de enzimas pró-oxidantes, como a XO, as NOX1 e

NOX4 que são umas das principais enzimas produtoras de EROs na LRA por IR (Pagano et al., 2023; Mailloux et al., 2014). O CBD age de forma direta e indireta nos receptores de afinidade, pois intensifica a produção de algumas moléculas endocanabinóides, como exemplo, um dos endocanabinóides estimulados pela administração do CBD é a anandamida (AEA), a qual, assim como o próprio CBD age ativando o receptor endocanabinoide 2 (CBD2R) e receptor alfa ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR- $\alpha$ ), tanto a interação o CBD quanto a da AEA com o PPAR- $\alpha$  regula a expressão de enzimas antioxidantes estimulando-as, como ocorre com a SOD. Além disso, o CBD ainda mostrou influenciar no aumento da GSH em condições inflamatórias (Atalay et al., 2020).

**Figura 6 – Atividade antioxidante do canabidiol**



**Fonte: Pagano et al. (2023).** Mecanismo modulatório do estresse oxidativo pelo CBD, indicando sua eficácia como antioxidante.

Foi demonstrado que o CBD em células uroteliais diminui o RNA mensageiro (mRNA) para produção de TNF- $\alpha$ , reduzindo a produção de EROs induzidas por TNF- $\alpha$ , aumentando a expressão do fator de transcrição sensível a redox (Nrf2) e enzimas antioxidantes como a SOD 1 e 2, hemeoxigenase 1 (Kuret et al., 2023). Dessa forma o CBD age no sistema antioxidante através dos receptores Nrf2, CBD2R, TNF- $\alpha$ , PPAR- $\alpha$  reduzindo a geração de EROs. Além disso, ao mesmo

tempo em que o CBD induz uma resposta antioxidante induz uma resposta pró-inflamatória auxiliando na redução da LRA, estudos demonstraram que o CBD tem efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios na pele de ratos expostos a radiação ultravioleta A e B (UVA/UVB), além de ser utilizado na psoríase devido à melhora de alterações pró-oxidativas (Wroński et. al., 2023). Outro estudo realizado com ratos recém-nascidos com encefalopatia hipóxico isquêmica demonstrou que o CBD está associado a redução do estresse oxidativo e inflamação (Alvarez et. al., 2023), além de reduzir e prevenir danos renais em modelos de camundongos nefropatias agudos e crônicos induzidos por cisplatina e obstrução ureteral unilateral (Suzuki et al., 2023).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o impacto do tratamento com canabidiol sob marcadores associados ao estresse oxidativo na lesão renal aguda induzida por isquemia e reperfusão.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Indução da lesão renal por isquemia-reperfusão em ratos
- Avaliar os marcadores de estresse oxidativo renal em amostra de córtex renal
- Avaliação de dados funcionais: ureia e creatinina

### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1 ASPECTOS ÉTICOS**

O protocolo experimental aqui descrito foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (número de submissão 0094/2022 CEUA-UFPE). Foram utilizados ratos Wistar machos, mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco, em ciclo 12h/12h – claro/escuro, e temperatura em torno de 22°C.

#### 4.2 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Ratos Wistar adultos machos (300–350 g, n=10), com idade em torno de 90 dias, foram submetidos à indução de lesão renal através da isquemia-reperfusão (IR). Para isso, os ratos foram anestesiados com combinação de cetamina/xilazina (80/10 mg/kg de peso corpóreo, via intraperitoneal). Uma laparotomia foi realizada para ter acesso aos pedículos renais. O fluxo sanguíneo de ambas artérias renais foi obstruído por um período de 30 minutos através do posicionamento de pinças de microaneurisma em ambos os pedículos renais. Após esse período, os animais obtiveram a perfusão renal restabelecida que durou 72h, e sequencialmente sofreram a sutura da incisão feita na região abdominal. Um grupo sofreu processo cirúrgico semelhante, excetuando a isquemia/reperfusão renal, o grupo SHAM (n=10). Parte dos animais Sham e IR (n=5 por grupo) receberam tratamento diário com CBD (10 mg/kg de peso corpóreo, via intraperitoneal) iniciado um dia antes do IR e nos 3 (três) dias seguintes. A dose de CBD sugerida apresenta efeitos protetores sobre a lesão cardíaca induzida por isquemia-reperfusão (Franco-Vadillo et al., 2021). Dessa forma foram obtidos 4 grupos experimentais: i) Sham ii) Sham + CBD; iii) IR; e iv) IR + CBD. Após três dias da IR e cirurgia simulada, os animais foram anestesiados (cetamina e xilazina, 80 e 10 mg/kg de peso corpóreo, respectivamente) para coleta de amostra sanguínea (veia cava inferior) e coleta do tecido renal. O córtex renal foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  para avaliação dos seguintes parâmetros: i) peroxidação lipídica e níveis de glutathiona reduzida (GSH). Além disso, após 24 da IR e cirurgia simulada, foi coletada amostra de sangue caudal. A amostras de soro de 24h e 72h foram utilizadas para avaliar os níveis séricos de creatinina e ureia. Os animais foram tratados com Óleo de canabidiol de 20mg/mL (Canabidiol Prati-Donaduzzi 20mg/mL). Os grupos tratados receberam doses de 10mg/kg administrados via intraperitoneal por 4 dias.

#### 4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS GERAIS

A creatinina sérica e a ureia sérica foram mensuradas através de um kit comercial (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil).

#### 4.4 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

A avaliação do estresse oxidativo compreendeu a mensuração: i) da peroxidação lipídica; e ii) dos níveis de glutathiona reduzida (GSH). A peroxidação

lipídica foi avaliada através da dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, do inglês thiobarbituric acid reactive substances) em homogenato de tecido, de acordo com o método de Ohkawa et al.(1979). O mesmo homogenato foi utilizado para determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) através da dosagem de grupamentos sulfidrilas não-protéicos (Sedlak & Lindsay, 1968).

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os dados foram submetidos para confirmação da distribuição de normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk. Considerando a ausência de variações significativas na distribuição gaussiana, as médias dos grupos foram comparadas por meio de análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida do teste de Tukey, utilizando o software GraphPad Prism 5 (versão 5.01, GraphPad Software, Inc.). As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

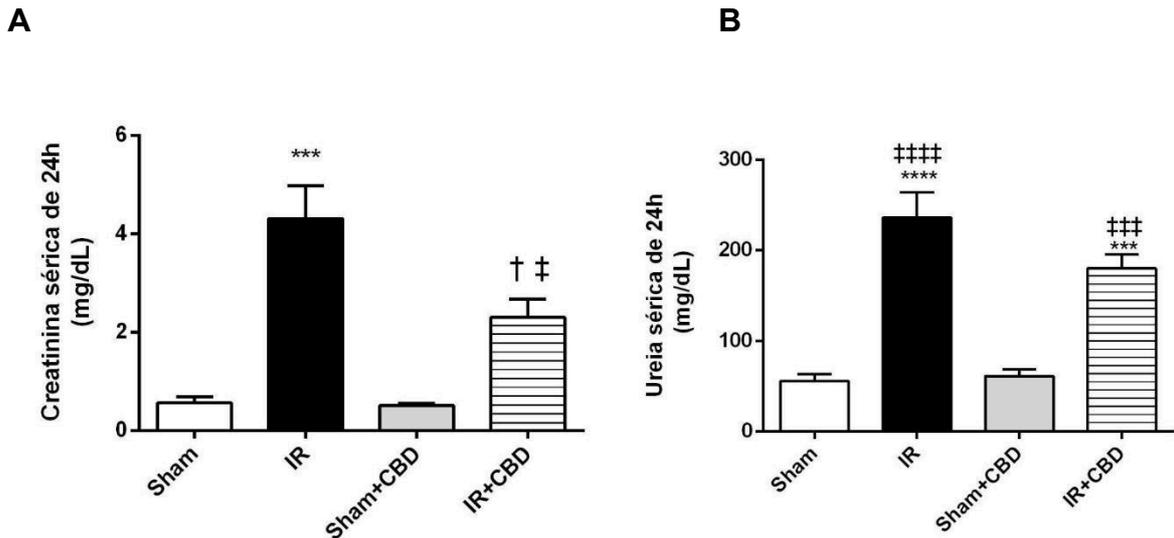
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 DADOS FUNCIONAIS

Os resultados obtidos neste estudo (figura 1 e 2) são consistentes com estudos recentes que investigam o potencial do CBD na prevenção de danos renais (Pan et al., 2009). Após 24 horas da indução da lesão, como mostrada na figura 1A, ocorreu elevação substancial da creatinina sérica no grupo IR veículo comparação aos grupos Sham e Sham + CBD, que foram submetidos a uma cirurgia simulada. Porém, no grupo IR que recebeu o tratamento com canabidiol, já houve redução da creatinina nas primeiras 24 horas após a LRA. A avaliação da ureia sérica realizada em intervalos de 24 e 72 horas após a IR revelou padrões diferentes entre os grupos experimentais. Em 24 horas (fig. 1.B), foram observados níveis séricos elevados de uréia no grupo IR indicando a ocorrência de lesão renal aguda. Por outro lado, o tratamento com CBD não resultou em alterações significativas em comparação com o grupo sem tratamento, sugerindo uma possível falta de efeito do CBD sob a ureia sérica 24h após a lesão.

Creatinina é produzida endogenamente no corpo, sendo filtrada pelo glomérulo e não é reabsorvida (Hosten, 1990), dessa forma a creatinina sérica é considerada um bom marcador de função renal, elevando-se quando a filtração glomerular é

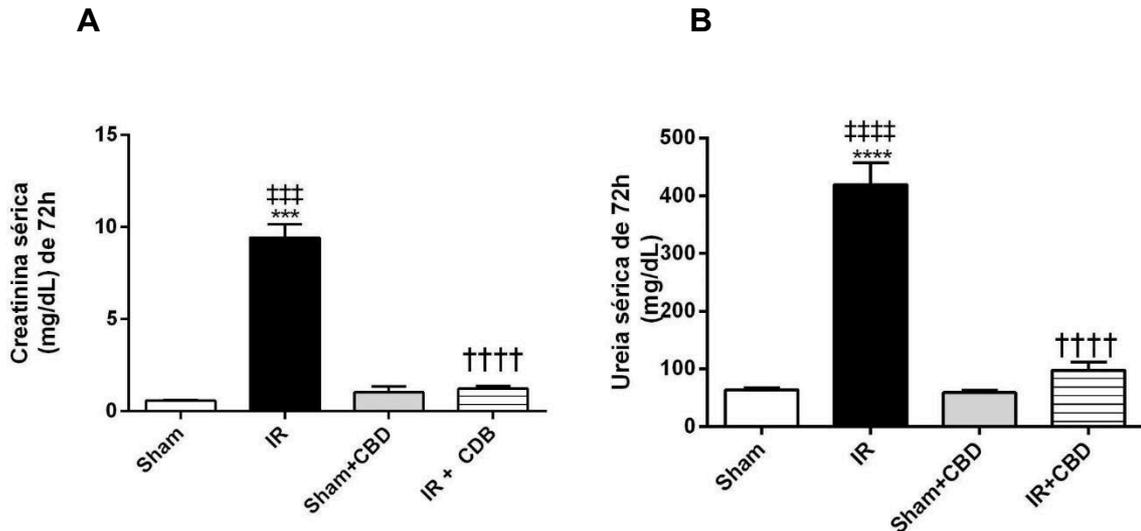
comprometida (Goyal et al., 2023). A concentração de creatinina no plasma eleva-se à medida que a taxa de filtração glomerular (TFG) reduz (Salazar et al., 2014).



**Figura 1. Efeitos do CBD sob a creatinina sérica (A) e Ureia sérica (B) em 24h após cirurgia simulada e cirurgia com indução da IR.** Sham: grupo submetido a simulação da cirurgia de isquemia/reperfusão; Isquemia-reperfusão (IR): animais submetidos à lesão renal por isquemia/reperfusão; Sham+CBD: grupo Sham submetido ao tratamento com CBD; IR+CBD: grupo IR submetido ao tratamento CBD (10mg/kg corpóreo). Os dados são expressos como média  $\pm$  EPM. O n experimental variou entre 5-6 animais por grupo. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de duas vias seguida do teste de Tukey: <sup>\*\*\*</sup>P<0,001 Vs. Sham; <sup>†</sup>P<0,05 Vs. IR; e <sup>‡</sup>P<0,05 Vs. Sham+CBD.

Porém, após 72 horas, o grupo IR apresentou maior aumento nos níveis séricos de uréia (fig.2 B), confirmando piora do dano renal. Surpreendentemente, os níveis séricos de uréia foram significativamente reduzidos no grupo IR tratado com CBD em comparação com o grupo IR não tratado, atingindo valores semelhantes aos do grupo sham, ou seja, níveis basais. É possível observar na figura 2.A que os níveis de creatinina sérica permaneceram reduzidos no grupo IR tratado em comparação ao grupo IR sem tratamento, enquanto no grupo sham não houve diferença significativa com tratamento. Estes dados sugerem um potencial efeito protetor do CBD na redução do estresse oxidativo e na proteção da função renal, sendo

consistente com outros estudos como o realizado por Soliman et al. (2023), no qual demonstraram que a administração de CBD em modelos animais de ratos com lesão renal, resultou numa diminuição significativa dos níveis de ureia e creatinina. Esses achados destacam o potencial terapêutico do CBD em doenças renais.



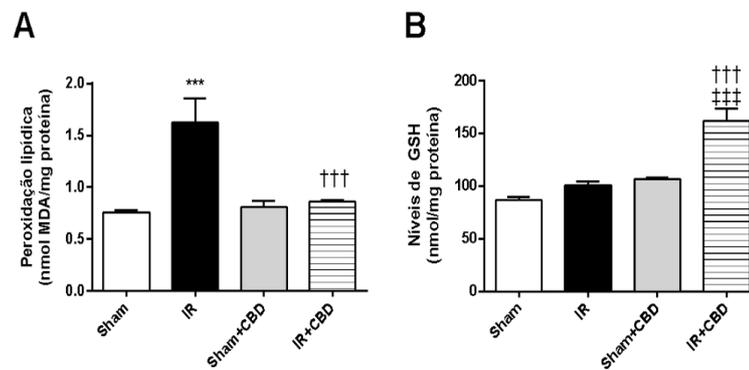
**Figura 2. Efeitos do CBD sob a creatinina sérica (A) e Ureia sérica (B) em 72h após cirurgia simulada e cirurgia com indução da IR.** Sham: grupo submetido a simulação da cirurgia de isquemia/reperfusão; Isquemia-reperfusão (IR): animais submetidos à lesão renal por isquemia/reperfusão; Sham+CBD: grupo Sham submetido ao tratamento com CBD (10mg/kg corpóreo); IR+CBD: grupo IR submetido ao tratamento CBD. Os dados são expressos como média  $\pm$  EPM. O n experimental variou entre 5-6 animais por grupo. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de duas vias seguida do teste de Tukey: \*\*\*P<0,001 Vs. Sham; †P<0,05 Vs. IR; e ‡P<0,05 Vs. Sham+CBD.

## 5.2 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA E NÍVEIS DE GSH

A peroxidação lipídica possui um papel significativo na patogênese da LRA induzida por IR. A interrupção do fluxo sanguíneo seguida pela reperfusão sanguínea leva à produção exacerbada de EROs, desencadeando a peroxidação lipídica da membrana de células e organelas, como a mitocôndria (Santos et al., 2018, Yang et al., 2016). O grupo sham não tratado obteve valores esperados em níveis basais, enquanto o grupo IR obteve valores significativamente elevados de peroxidação lipídica, reforçando o papel desse mecanismo na patogênese da LRA induzida por IR. Essa elevada peroxidação lipídica é exacerbada durante a IR em

decorrência da elevada produção de EROs durante a reperfusão, sendo um importante marcador de dano oxidativo em tecidos renais (Tan et al., 2023; Santos et al., 2020). Durante o experimento, observou-se uma redução significativa nos níveis de peroxidação lipídica do grupo IR tratado com CBD, sendo semelhante a valores basais. Esse resultado sugere um efeito potencialmente benéfico do CBD na modulação da peroxidação lipídica durante a IR oferecendo insights valiosos sobre os mecanismos subjacentes aos efeitos renoprotetores do CBD. Quanto ao grupo sham tratado com CBD, não houve alterações significativas nos níveis de peroxidação lipídica em comparação ao grupo sham não tratado, mantendo os níveis basais.

A avaliação dos níveis de GSH revelou resultados clinicamente relevantes (fig. 3B). O grupo sham apresentou níveis basais de GSH, consistente com a função fisiológica normal desse antioxidante endógeno (An et al., 2009). No entanto, foi observado que no grupo IR sem tratamento, não houve aumento nos níveis de GSH em comparação ao grupo sham, sugerindo um possível mecanismo de bloqueio ou redução dos níveis da GSH induzido pela isquemia-reperfusão. Por outro lado, a administração do CBD no grupo IR resultou num aumento significativo nos níveis de GSH em comparação a todos os outros grupos. Estes dados sugerem um efeito sinérgico entre o tratamento com CBD e a resposta antioxidante endógena, dado que a GSH é um antioxidante endógeno de extrema importância para a neutralização de peróxidos lipídicos (Oliveira et al., 2022; Loguercio et al., 2003). Dessa forma, esses dados demonstram o papel fundamental da GSH na proteção contra a peroxidação lipídica durante a LRA por IR, dado que houve uma redução significativa de peroxidação lipídica (fig. 3.A) acompanhada do aumento significativo dos níveis de GSH com a administração do CBD (fig. 3.B), mostrando a eficácia terapêutica do CBD como antioxidante na LRA induzida por IR.



**Figura 3. Efeitos do CBD na peroxidação lipídica (A) e níveis de GSH (B) em ratos wistar submetidos à cirurgia simulada e a cirurgia com indução da IR.**

Sham: grupo submetido a simulação da cirurgia de isquemia/reperfusão; Isquemia-reperfusão (IR): animais submetidos à lesão renal por isquemia/reperfusão; Sham+CBD: grupo Sham submetido ao tratamento com CBD (10mg/kg corpóreo); IR+CBD: grupo IR submetido ao tratamento CBD. MDA = malondialdeído; GSH = glutationa reduzida; DHE = dihidroetídeo. Os dados são expressos como média  $\pm$  EPM. O número experimental variou entre 4-5 animais por grupo. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de duas vias seguida do teste de Tukey \*\*\*P<0,001 Vs. Sham; †††P<0,001 Vs. IR; ‡‡‡P<0,001 Vs. Sham+CBD.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo investigou os efeitos do tratamento com CBD na proteção contra LRA induzida por IR em ratos. Os resultados desse estudo revelaram que o tratamento com CBD promoveu uma significativa redução do estresse oxidativo, que se deu pela redução da peroxidação lipídica. Sendo sugerido que esses efeitos são decorrentes do aumento da atividade de enzimas antioxidantes GSH. Além disso, foi observado uma melhora da função renal nos animais tratados com CBD, indicada pela preservação dos níveis de creatinina e ureia sérica, sugerindo uma redução do dano no tecido renal.

Esses achados sugerem que o CBD é potencialmente significativo na prevenção e tratamento da LRA induzida por IR atuando como antioxidante e como renoprotetor eficaz. A capacidade do CBD em modular e reduzir o estresse oxidativo pode ser explorada como uma estratégia terapêutica promissora para pacientes em risco de desenvolver LRA ou aqueles que já apresentam esta condição. Contudo, são necessários mais estudos clínicos para validar esses resultados em humanos e elucidar completamente os mecanismos adjacentes aos efeitos renoprotetores do CBD. No entanto, com base nos dados obtidos neste estudo, o CBD emerge como uma terapia potencialmente valiosa no manejo da LRA induzida por IR e merece uma investigação mais aprofundada.

## REFERÊNCIAS

AN, L. et al. Measurement of glutathione in normal volunteers and stroke patients at 3T using J-difference spectroscopy with minimized subtraction errors. **Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine**, v. 30, n. 2, p. 263-270, 2009.

ATALAY, S. et al. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 21, 2019.

AL-NAIMI, M. S. et al. Nephrotoxicity: Role and significance of renal biomarkers in the early detection of acute renal injury. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 10, n. 3, p. 95, 2019.

ALKASSAS, A., et al. Biomarker array for prediction of acute kidney injury after percutaneous coronary intervention for patients who had acute ST segment elevation myocardial infarction. *Heart and Vessels*, 39(3), 206–215. 2024.

AYALA, Antonio et al. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, 2014.

AZARKISH, F. et al. The influence of renal ischemia-reperfusion injury on remote organs: The histological brain changes in male and female rats. **Brain Circulation**, v. 7, n. 3, p. 194, 2021.

BERMUDEZ-GONZALEZ, J.L. et al. Role of the Antioxidant Activity of Melatonin in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, p. 627, 2022.

BOENO, F.P. et al. Acute effects of strength exercise with blood flow restriction on vascular function of young healthy males. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 17, p. 122-127, 2018.

AEBI, H. [13] Catalase in vitro. In: **Methods in enzymology**. Academic press, p.

121-126. 1984.

CARLINI, Elisaldo Araújo. A história da maconha no Brasil. **Jornal brasileiro de psiquiatria**, v. 55, p. 314-317, 2006.

CASTILLO-ARELLANO, J. et al. Os efeitos polifarmacológicos do canabidiol. **Moléculas**, v. 28, n. 7, pág. 3271, 2023.

Chen, Y. et al. Mitochondrial metabolism and targeted treatment strategies in ischemic-induced acute kidney injury. *Cell Death Discovery*, 10(1), 2024.

COCA, S. G. et al. Long-term risk of mortality and other adverse outcomes after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. **American journal of kidney diseases**, v. 53, n. 6, p. 961-973, 2009.

FINKEL, Toren. Signal transduction by reactive oxygen species. **Journal of Cell Biology**, v. 194, n. 1, p. 7-15, 2011.

FRANCO-VADILLO, A. et al. Cannabidiol-mediated RISK PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways decreasing reperfusion myocardial damage. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 9, n. 4, p. e00784, 2021.

GRANGER, D. N., & KVIETYS, P. R. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biology*, 6, 524–551. 2015.

GOYAL, A. et al. Acute kidney injury. StatPearls. 2023.

Guo, H., & Bechtel-Walz, W. The interplay of autophagy and oxidative stress in the kidney: What do we know? *Nephron*, 147(10), 627–642. 2023.

HO, H.J.; SHIRAKAWA, H. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in chronic kidney disease. **Cells**, v. 12, n. 1, p. 88, 2022.

HOSTEN, Adrian O. BUN and Creatinine. **Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition**, 1990.

HURTADO-CARNEIRO, Verónica et al. Preventing oxidative stress in the liver: an opportunity for glp-1 and/or pask. **Antioxidants**, v. 10, n. 12, p. 2028, 2021.

HUSSEIN, Y. et al. Modulation of oxidative stress, inflammatory and apoptotic response by curcumin against cerebral ischemia reperfusion injury in a mouse model. **Interdisciplinary Neurosurgery**, v. 21, p. 100741, 2020.

IBRAHIM, E.A. et al. Determination of acid and neutral cannabinoids in extracts of different strains of Cannabis sativa using GC-FID. **Planta Medica**, v. 84, n. 04, p. 250-259, 2018.

IRAZABAL, Maria V.; TORRES, Vicente E. Reactive oxygen species and redox signaling in chronic kidney disease. **Cells**, v. 9, n. 6, p. 1342, 2020.

JOHNSON, Julie K.; COLBY, Alexander. History of cannabis regulation and medicinal therapeutics: it's complicated. **Clinical therapeutics**, v. 45, n. 6, p. 521-526, 2023.

JOMOVA, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. **Archives of toxicology**, v. 97, n. 10, p. 2499-2574, 2023.

JÚNIOR, G.; TOREZAN, V. **Efeitos do pré-condicionamento isquêmico e suplementação de glutamina na isquemia e reperfusão renal-Estudo experimental em ratos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016.

KAO, C.C. et al. Remote organ failure in acute kidney injury. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 118, n. 5, p. 859-866, 2019.

KITADA, M. et al. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C- $\beta$  activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. **Diabetes**, v. 52, n. 10, p. 2603-2614, 2003.

Kumar,U. et al. Cardiorenal Syndrome: Pathophysiology. *Cardiol Clin*, 37, 251–265. 2019.

LEE, A.S. et al. Vascular endothelial growth factor-C and-D are involved in lymphangiogenesis in mouse unilateral ureteral obstruction. **Kidney international**, v. 83, n. 1, p. 50-62, 2013.

NELSON, D. L., & COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre. Artmed Editora. 2022

LI, Jun et al. Potential therapeutic effects of Chinese meteria medica in mitigating drug-induced acute kidney injury. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1153297, 2023.

Li, Z. et al. The pathogenesis of ischemia-reperfusion induced acute kidney injury depends on renal neutrophil recruitment whereas sepsis-induced AKI does not. *Frontiers in Immunology*, 13. 2022.

LIU, W. et al. Kidney Injury: Focus on Molecular Signaling Pathways. **Current Medicinal Chemistry**, 2024.

LOGUERCIO, C. et al. Glutathione supplementation improves oxidative damage in experimental colitis. **Digestive and liver disease**, v. 35, n. 9, p. 635-641, 2003.

LOWRY, O.H. Measurement with the folin phenol reagent. **J Biol Chem.**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MACEDO, Etienne; MEHTA, Ravindra L. Regional differences in Acute Kidney Injury incidence and mortality in developing countries: recent trends. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 42, p. 268-270, 2020.

MAILLOUX, R.J.; JIN, X.; WILLMORE, W.G. Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. **Redox biology**, v. 2, p. 123-139, 2014.

MALEK, M.; NEMATBAKHSH, M. Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. **Journal of renal injury prevention**, v. 4, n. 2, p. 20, 2015.

MATSUURA, Ryo; DOI, Kent; RABB, Hamid. Acute kidney injury and distant organ dysfunction-network system analysis. **Kidney international**, 2023.

MAZUR-BIALY, A.I.; POCHEĆ, E. The time-course of antioxidant irisin activity: role of the Nrf2/HO-1/HMGB1 axis. **Antioxidants**, v. 10, n. 1, p. 88, 2021.

MCFARLANE, Liam et al. Pre-Treatment of Transplant Donors with Hydrogen Sulfide to Protect against Warm and Cold Ischemia-Reperfusion Injury in Kidney and Other Transplantable Solid Organs. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3518, 2023.

MISRA, H.P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

Murphy, S.L. et al. Mortality in the United States, 2020. NCHS Data Brief, no 427. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. 2021.

NAKADA, Tomohisa; KUDO, Toshiyuki; ITO, Kiyomi. Quantitative consideration of clinical increases in serum creatinine caused by renal transporter inhibition. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 51, n. 9, p. 1114-1126, 2023.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

ONO, S. et al. Functional regulation of von Willebrand factor ameliorates acute ischemia-reperfusion kidney injury in mice. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 14453, 2019.

Organização Mundial da Saúde (2020)  
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.  
Acesso em 13/05/2022.

PAGANO, C. et al. Cannabinoids in the modulation of oxidative signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2513. 2023.

Rye, C. et al. *Chapter summary*. Biology; OpenStax. October 21. 2016.

SANTOS, P.C.J.L.; KRIEGER, J.E.; PEREIRA, A.C. Renin–angiotensin system, hypertension, and chronic kidney disease: pharmacogenetic implications. **Journal of pharmacological sciences**, v. 120, n. 2, p. 77-88, 2012.

SANTOS, A. L. et al. The good, the bad, and the ugly of ROS: New insights on aging and aging-related diseases from eukaryotic and prokaryotic model organisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–23. 2018.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SHARFUDDIN, A.A. & MOLITORIS, B.A. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. **Nature Reviews Nephrology**, v. 7, n. 4, p. 189-200, 2011. WROŃSKI, Adam et al. Phytocannabinoids in the pharmacotherapy of psoriasis. *Molecules*, v. 28, n. 3, p. 1192, 2023.

SHANG, Y. et al. Kidney ischemia-reperfusion elicits acute liver injury and inflammatory response. **Frontiers in Medicine**, v. 7, p. 201, 2020.

SILVESTRO, Serena et al. Molecular targets of cannabidiol in experimental models of neurological disease. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5186, 2020.

SONG, Z. et al. Melatonin attenuates lung ischemia-reperfusion injury through SIRT3 signaling-dependent mitophagy in type 2 diabetic rats. **Experimental Lung Research**, v. 49, n. 1, p. 101-115, 2023.

SOLIMAN, N.A., *et al.* Prospective affirmative therapeutics of cannabidiol oil mitigates doxorubicin-induced abnormalities in kidney function, inflammation, and renal tissue changes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (2023).

SU, Lianjiu et al. Mitochondria ROS and mitophagy in acute kidney injury. **Autophagy**, v. 19, n. 2, p. 401-414, 2023.

SUSANTITAPHONG, P. et al. World incidence of AKI: a meta-analysis. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 8, n. 9, p. 1482, 2013.

SUZUKI, Sayuri; FLEIG, Andrea; PENNER, Reinhold. CBGA ameliorates inflammation and fibrosis in nephropathy. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 6341, 2023.

TAN, M. et al. Glutathione system enhancement for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress and ferroptosis. **Cell Death & Disease**, v. 14, n. 2, p. 131, 2023.

TRETTNER, V. et al. Understanding cellular redox homeostasis: A challenge for precision medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 106, 2021.

VAŠKOVÁ, J. et al. Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1447, 2023.

WANG, Z., Zhou, L., & Sun, W.. Immune regulation in acute kidney injury: potential therapeutic targets. *Eur J Pharmacol*, 909. 2023.

YANG, L., Wu, L., & Du, G.-H. (2016). Glucagon-Like Peptide-1 Protects against Cardiac Microvascular Injury in Diabetes via a cAMP/PKA/Rho-Dependent Mechanism. *Diabetes*, 65(10), 2624–2635. <https://doi.org/10.2337/db15-16>

YAP, S.C. et al. Acute kidney injury and extrarenal organ dysfunction: new concepts and experimental evidence. **The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v. 116, n. 5, p. 1139-1148, 2012.

ZEMAITIS, M. R., Foris, L. A., Katta, S., & Bashir, K. *Uremia*. StatPearls Publishing. 2023.

ZHANG, X.G. et al. The impact of insulin pump therapy to oxidative stress in patients with diabetic nephropathy. **European Journal of Medical Research**, v. 23, n. 1, p. 1-11, 2018.

ZHANG, Zhongwei et al. Clinical characteristics and outcomes of acute kidney injury in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023.

ZOU, Shenglong; KUMAR, Ujendra. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in the central nervous system. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 3, p. 833, 2018.

## ANEXOS

## Parecer Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE Envolvendo Animais



Universidade Federal de Pernambuco  
 Centro de Biociências  
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
 50670-620 / Recife - PE - Brasil  
 Fones: 2125 8842  
 ceaa@ufpe.br

Recife, 23 de dezembro de 2022

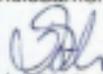
Ofício nº 105/22

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
 Prof. Leucio Duarte Vieira Filho  
 Departamento de Fisiologia e Farmacologia  
 Processo nº0094/2022

Certificamos que a proposta intitulada "Investigação pré-clínica do canabidiol como ferramenta terapêutica para o tratamento da lesão renal: mecanismos celulares e moleculares de ação". Registrado com o nº0094/2022 sob a responsabilidade da Prof Leucio Duarte Vieira Filho Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 06/12/2022

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Fevereiro/2023 a Julho/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico - Rattus norvegicus (Linhagem Wistar)
Nº de animais	104 animais
Peso/idade	350g / 120 dias
Sexo	Macho (104)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (UFPE)
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (UFPE)

Atenciosamente

  
 Prof. Sebastião H. F. Silva  
 -Presidente CEUA/UFPE  
 SIAPE 2345691

