



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

Eduarda Gomes Ferrarini

**O óleo de cannabis de amplo espectro atenua as alterações comportamentais  
induzidas pelo modelo experimental de fibromialgia em camundongos**

**Broad-spectrum cannabis oil ameliorates reserpine-induced fibromyalgia  
model in mice**

Florianópolis

2022

Eduarda Gomes Ferrarini

**O óleo de cannabis de amplo espectro atenua as alterações comportamentais induzidas pelo modelo experimental de fibromialgia em camundongos**

**Broad-spectrum cannabis oil ameliorates reserpine-induced fibromyalgia model in mice**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Cypriano Dutra

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Gomes Ferrarini, Eduarda

O óleo de cannabis de amplo espectro atenua as alterações comportamentais induzidas pelo modelo experimental de fibromialgia em camundongos / Eduarda Gomes Ferrarini ; orientador, Rafael Cypriano Dutra, coorientador, Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, 2023.

103 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. Reserpina. 3. Dor Crônica. 4. Mialgia . 5. Sistema Endocanabinoide. I. Cypriano Dutra, Rafael. II. Gasnhar Moreira, Eduardo Luiz. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Neurociências. IV. Título.

Eduarda Gomes Ferrarini

**“O óleo de cannabis de amplo espectro atenua as alterações comportamentais induzidas pelo modelo experimental de fibromialgia em camundongos”**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Rafael Cypriano Dutra, Dr.  
Orientador – UFSC

Prof. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, Dr.  
Coorientador - UFSC

Profª. Micheline Donato, Dra.  
Membro Titular Externo – PGPNSB-UFPB

Profª. Morgana Duarte Da Silva Dra.  
Membro Titular Interno – UFSC

Profº. Paulo Cesar Lock Silveira, Dr.  
Membro Titular Externo – UNESC

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Neurociências.

---

Prof. Aderbal Silva Aguiar, Dr.

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Neurociências – UFSC

---

Prof. Rafael Cypriano Dutra, Dr.

Orientador - UFSC

Florianópolis, 2022.

Este trabalho é dedicado à minha mãe, minha irmã,  
colegas e professores.

## AGRADECIMENTO

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por Ele me proporcionar momentos especiais e também por me ensinar a lutar pelas coisas que gostaria de conquistar. Através dessas lutas cresço como pessoa e moldo minha essência.

Gostaria de agradecer a minha mãe, Kátia, que me deu amparo nos momentos que mais precisei e me deu suporte para sair da depressão. Sem ela não teria superado os momentos difíceis que enfrentei nesse período. Também gostaria de agradecer a minha irmã Rafaela, que sempre sentiu orgulho de mim e me incentivou a buscar meus objetivos.

Ao meu orientador, professor Rafael Cypriano Dutra, que não desistiu de mim mesmo quando eu queria desistir. O professor representa um pai dentro da docência e como um filho gostaria de seguir seus passos.

Além disso, não tenho palavras para demonstrar minha gratidão ao professor Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, que me adotou como coorientador e me auxiliou nesse momento.

Aos meus colegas de laboratório que me auxiliaram nos experimentos e que também me divertiram durante os dias de atividades do laboratório. Sem o auxílio deles eu não conseguiria realizar essa conquista. Aos meus amigos que me aconselharam e ajudaram a relaxar nos momentos mais tensos, me sinto uma pessoa muito abençoada em poder contar com vocês.

Gostaria de agradecer também aos docentes e discentes do programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina, que despertaram em mim a paixão pela Neurociências.

Desejaria homenagear as famílias que perderam seus entes queridos após a pandemia pelo COVID-19, lamentamos muito essas perdas e esperamos nos recuperar desse momento difícil.

Além disso, sou muito grata pela oportunidade de conhecer e ter sido aluna do professor Adair. Sempre me lembrarei dos momentos divertidos e de todos os ensinamentos que pude acompanhar em suas aulas. O céu se enriquece com esse fenômeno da neurociência.

Por fim, gostaria de agradecer principalmente aos animais que foram utilizados nos experimentos. Eles contribuíram e continuam proporcionando avanços tão significativos no âmbito das ciências e assim ajudam a estabelecer tratamentos inovadores para diferentes doenças. Suas vidas foram e são muito importantes para o desenvolvimento da humanidade.

O grande inimigo do conhecimento não é a  
ignorância, é a ilusão de ter conhecimento.

(Stephen Hawking)

## RESUMO

A fibromialgia (FM) é uma doença crônica e idiopática, caracterizada por dor generalizada e além disso sintomas associados como depressão e ansiedade. Uma possibilidade terapêutica está na utilização da cannabis sativa, que apresenta diferentes atividades farmacológicas, como analgésica, antiinflamatória, neuroprotetora e imunomoduladora. Associado a isso, o uso de um óleo com baixas concentrações tetra-hidrocanabidiol (THC) pode reduzir os efeitos adversos psicomiméticos da planta. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito analgésico do óleo de cannabis de amplo espectro com baixa concentração de THC em um modelo experimental de FM. Alodinia mecânica, hiperalgesia térmica, comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso e atividade locomotora foram avaliados após a administração de reserpina (0,25 mg/kg; injetada por via subcutânea (s.c.) uma vez ao dia por três dias consecutivos). Nossos resultados mostraram que a administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro (0,1, 1 e 3 mg/kg, p.o.) em dose única no 4º dia reduziu a alodinia mecânica e hiperalgesia térmica induzida pela reserpina. Relevantemente, o tratamento durante quatro dias com óleo de cannabis de amplo espectro (0,1 mg/kg, p.o.) reduziu a alodinia mecânica 1 h após a administração de reserpina. O tratamento intraplantar com óleo de cannabis reverteu significativamente a nocicepção mecânica e térmica induzida pela injeção de reserpina. Curiosamente, a administração espinal e supraespinal de óleo de cannabis de amplo espectro reduziu completamente a alodinia mecânica e a sensibilidade térmica ao calor induzida pela reserpina. A administração repetida de óleo de cannabis, administrada diariamente por 10 dias, atenuou marcadamente a sensibilidade mecânica e térmica durante o modelo FM e seu comportamento semelhante ao depressivo induzido pela reserpina. Em resumo, o óleo de cannabis de amplo espectro é uma alternativa eficaz para reverter o modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

Palavra-chave: Reserpina, Dor Crônica, Mialgia, Sistema Endocanabinoide.

## ABSTRACT

Fibromyalgia (FM) is an idiopathic disorder characterized by generalized pain and associated symptoms such as depression and anxiety. Cannabis sativa shows different pharmacological activities, such as analgesic, antiinflammatory, neuroprotective, and immunomodulatory. Associated with this, the use of an oil with low concentrations of THC can reduce the psychomimetic adverse effects of the plant. Therefore, the present study aimed to evaluate the analgesic effect of broad-spectrum cannabis oil with low THC concentration in an experimental model of FM. Mechanical hyperalgesia, thermal allodynia, depressive- and anxious-related behavior, and locomotor activity were evaluated after reserpine (0.25 mg/kg; injected subcutaneously (s.c.) once daily for three consecutive days) administration. Our results showed that oral administration of broad-spectrum cannabis oil (0.1, 1, and 3 mg/kg, p.o.) in a single dose on the 4th day inhibited mechanical hyperalgesia and thermal allodynia induced by reserpine. Relevantly, treatment during four days with broad-spectrum cannabis oil (0.1 mg/kg, p.o.) reduced mechanical hyperalgesia 1 h after reserpine administration. Intraplantar treatment with cannabis oil significantly reversed mechanical and heat thermal nociception induced by reserpine injection. Interestingly, spinal and supraspinal administration of broad-spectrum cannabis oil completely inhibited mechanical hyperalgesia and thermal sensitivity induced by reserpine. The repeated cannabis oil administration, given daily for 14 days, markedly mitigated the mechanical and thermal sensitivity during the FM model, and its reduced depressive-like behavior induced by reserpine. In summary, broad-spectrum cannabis oil is an effective alternative to reverse the reserpine-induced fibromyalgia model.

Keywords: Reserpine, Chronic Pain, Myalgia, Endocannabinoid System.

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Classificação da dor e mecanismos envolvidos no seu desenvolvimento.	21
Figura 2 - Cronologia histórica da FM.	22
Figura 3 - Sintomatologia da FM	26
Figura 4- Hipóteses fisiopatológicas da FM	28
Figura 5 – Sensibilização central na FM.	30
Figura 6 – Sensibilização periférica na FM.	33
Figura 7 – Receptores endocanabinoides.	38
Figura 8 – Mecanismo de síntese dos endocanabinoides.	39
Figura 9 – Sinalização retrograda dos endocanabinoides.	41
Figura 10 – Desenho experimental	53
Figura 11 – Efeitos da administração oral com tratamento por 4 dias com óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM	58
Figura 12 – Efeitos da administração oral com tratamento dose única do óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM	59
Figura 13 - Efeitos do tratamento intraplantar com óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM induzido por reserpina	60
Figura 14 - Efeitos da administração intratecal do óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo FM	62

- Figura 15 - Efeitos da administração intratecal e intracerebroventricular de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo FM 63
- Figura 16 - Efeito analgésica do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro após a administração de reserpina 64
- Figura 17 – Efeito do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro após a administração de reserpina no comportamento anedônico e tipo-depressivo. 65
- Figura 18 - Efeito do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro nos distúrbios comportamentais após a administração de reserpina 66

**LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Critérios para avaliação e diagnóstico da FM.	25
Quadro 2 – Lista de medicamentos recomendados pela EULAR, do inglês European League against Rheumatism, para o tratamento da FM.	35

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABRACE - Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança;  
AEA - N-araquidonoiletanolamina  
Anandamida - N-araquidonoiletanolamina;  
ANOVA - análise de variância;  
AUC - área sob a curva;  
CBD - canabidiol;  
CB1 - receptor canabinoide 1;  
CB2 - receptor canabinoide 2;  
CEUA - Comitê de Ética Animal;  
CONCEA - Conselho Brasileiro de Experimentação Animal;  
DSE - transmissão excitatória suprimida;  
DSI - transmissão inibitória suprimida;  
DPOC - doença pulmonar obstrutiva crônica;  
FAAH - amida hidrolase de ácido graxo;  
FM - Fibromialgia;  
GIRKs - canais de potássio retificadores internos;  
GPCRs - receptores acoplados a proteínas G;  
g - gramas;  
h - horas;  
i.c.v. - intracerebroventricular;  
i.pl. - intraplantar;  
i.t. - intratecal;  
kg - quilogramas;  
MAP - proteínas quinases ativadas por mitógenos.  
MCT - triglicerídeos de cadeia média;  
mg - miligramas;  
min - minutos;  
ml - mililitros;  
Mmol - milimolar;  
NFF - características da FM baseada no nociplásico;  
PBS - solução tamponada com fosfato;  
PPAR- $\alpha$  - receptor alfa ativado por proliferador de peroxissoma;

s.c. - injetado subcutaneamente;

SEM - erro padrão da média;

SNC - sistema nervoso central;

SNP – sistema nervoso periférico

SEC – sistema endocanabinoide;

THC - tetra-hidrocanabidiol;

TST - teste de suspensão de cauda;

TRPV1 - membro 1 da subfamília V do canal catiônico potencial do receptor transitório;

VAS - escala visual da dor

v.o. - via oral;

UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina;

µl - microlitros;

5HT3 - serotonigérgico;

2-AG - 2-araquidonoilglicerol

**SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>1.1</b>	<b>DOR E NOCICEPÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>1.2</b>	<b>FIBROMIALGIA</b>	<b>21</b>
<b>1.2.1</b>	<b>Epidemiologia da fibromialgia</b>	<b>23</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Diagnóstico da fibromialgia</b>	<b>24</b>
<b>1.2.3</b>	<b>Sintomatologia da fibromialgia</b>	<b>26</b>
<b>1.2.4</b>	<b>Fisiopatologia da fibromialgia</b>	<b>28</b>
<b>1.2.4.1</b>	<b>Sensibilização Central</b>	<b>29</b>
<b>1.2.4.2</b>	<b>Sensibilização Periférica</b>	<b>31</b>
<b>1.2.5</b>	<b>Tratamentos para a Fibromialgia</b>	<b>33</b>
<b>1.3</b>	<b>CANNABIS SATIVA E SISTEMA ENDOCANABINOIDE</b>	<b>35</b>
<b>1.3.1</b>	<b>Receptores canabinoides</b>	<b>37</b>
<b>1.3.2</b>	<b>Neurotransmissores canabinoides</b>	<b>39</b>
<b>1.3.3</b>	<b>Função do sistema endocanabinoide na sinalização retrógrada</b>	<b>40</b>
<b>1.3.4</b>	<b>Sistema endocanabinoide e dor</b>	<b>41</b>
<b>1.4</b>	<b>SISTEMA ENDOCANABINOIDE E FIBROMIALGIA</b>	<b>42</b>
<b>1.4.1</b>	<b>Via de administração do canabidiol</b>	<b>43</b>
<b>1.4.2</b>	<b>Efeito entourage do extrato de cannabis</b>	<b>44</b>
<b>1.5</b>	<b>MODELOS EXPERIMENTAIS DE FIBROMIALGIA</b>	<b>45</b>

<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>47</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>49</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b>	<b>49</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>49</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>50</b>
<b>4.1</b>	<b>Drogas e reagentes</b>	<b>50</b>
<b>4.2</b>	<b>Óleo de cannabis de amplo espectro</b>	<b>50</b>
<b>4.3</b>	<b>Animais</b>	<b>50</b>
<b>4.4</b>	<b>Modelo de depleção de amina biogênica</b>	<b>51</b>
<b>4.5</b>	<b>Design experimental</b>	<b>51</b>
<b>4.6</b>	<b>Testes comportamentais</b>	<b>54</b>
<b>4.6.1</b>	<b>Teste de Von Frey</b>	<b>54</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Teste de acetona</b>	<b>54</b>
<b>4.6.3</b>	<b>Tail Flick</b>	<b>54</b>
<b>4.6.4</b>	<b>Splash test</b>	<b>55</b>
<b>4.6.5</b>	<b>Teste de suspensão de cauda</b>	<b>55</b>
<b>4.6.6</b>	<b>Teste do labirinto em cruz elevado</b>	<b>55</b>
<b>4.6.7</b>	<b>Teste de campo aberto</b>	<b>56</b>
<b>4.7</b>	<b>Análise estatística</b>	<b>56</b>
<b>5</b>	<b>Resultados</b>	<b>57</b>

<b>5.1</b>	<b>Efeitos da administração de dose oral de óleo de cannabis de amplo espectro na nocicepção evocada por reserpina</b>	<b>57</b>
<b>5.2</b>	<b>Efeitos do tratamento intraplantar com óleo de cannabis de amplo espectro na nocicepção induzida pela administração de reserpina</b>	<b>60</b>
<b>5.3</b>	<b>Efeitos da administração intratecal e intracerebroventricular de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo FM</b>	<b>61</b>
<b>5.4</b>	<b>Efeito do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro na nocicepção e distúrbios comportamentais após a administração de reserpina</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>67</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>75</b>
	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>75</b>
	<b>LIMITAÇÕES NA APLICABILIDADE CLÍNICA</b>	<b>76</b>
	<b>AGENCIAS DE FOMENTOS E APOIADORES</b>	<b>76</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>77</b>
	<b>ANEXO 1</b>	<b>94</b>
	<b>ARTIGO</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As publicações científicas relacionadas a dor aumentaram consideravelmente nos últimos 30 anos. Isso pode ser explicado por uma maior conscientização e interesse compartilhado de várias partes interessadas, incluindo os pacientes que sofrem, organizações de autoajuda de pacientes, médicos, pesquisadores e a indústria farmacêutica. Tais avanços no contexto da dor podem promover pesquisas que esclareçam a fisiopatologia subjacente dessas doenças e, assim, melhorar as propostas terapêuticas (PENNINX; LANGE, 2018).

Além disso, especialistas em dor e clínicos gerais têm experienciado relatos de pacientes que descrevem dor crônica generalizada associada a uma série de outros sintomas, incluindo sono ruim, fadiga e depressão. Este conjunto complexo de sintomas foi reconhecido recentemente como fibromialgia (FM), mas continua sendo um conceito desafiador por várias razões, sendo elas i) legitimidade e utilidade clínica do diagnóstico “FM”, ii) a classificação nosológica, iii) a etiologia e fisiopatologia sugeridas, iv) as opções de tratamento. Tornando assim relevantes os estudos que visam esclarecer essa temática (BAZZICHI et al., 2020; WRIGHT et al., 2021).

### 1.1 DOR E NOCICEPÇÃO

A dor é uma experiência subjetiva que afeta mais de 116 milhões de adultos nos Estados Unidos da América (EUA), gerando altos custos econômicos relacionados ao manejo de doenças dolorosas (BOOKER, 2015). No Brasil, a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor aponta que 30% da população nacional sofre com algum tipo de dor crônica e que 94,9% dos pacientes têm sua atividade profissional comprometida (ATAKA; OKOSHI; ABREU, 2017; LINI et al., 2016). No entanto ela tem um papel imprescindível, uma vez que, ela desempenha um mecanismo defensivo crítico que culmina com a retirada comportamental dos perigos ambientais e dos estímulos nocivos (BARAL; UDIT; CHIU, 2019). Entretanto, embora a dor geralmente tenha um papel adaptativo, ela pode ter efeitos adversos na função e no bem-estar social e psicológico (VADER et al., 2021).

Inicialmente a dor era conceituada com uma resposta sensorial associada aos danos teciduais, sendo ela descrita em 1979 pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP):

“Uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano”(MERSKEY, 1979).

Entretanto, essa visão limitada da dor requeria uma atualização, uma vez que muito avanços nos estudos da dor demonstraram que ela não somente está ligada a potenciais danos teciduais mais também a alterações no processamento e percepção da dor sem associação com lesões e danos prévios aos tecidos (VADER et al., 2021). Tendo isso em mente, a IASP publicou em 2020 uma nova definição do conceito de dor, levando em consideração que a dor é uma experiência pessoal e influenciada em graus variados por fatores biológicos, psicológicos e sociais (RAJA et al., 2020). Além disso, é importante ressaltar que dor e nocicepção são fenômenos diferentes, no qual a dor não pode ser inferida apenas pela atividade nos neurônios sensoriais (RAJA et al., 2020). A nocicepção por sua vez, caracteriza-se pela ativação dos nociceptores, sendo definida como “um processo neural de codificação de estímulos nocivos” (MERSKEY, 1979).

Outro ponto a ser levado em consideração é o fato que a descrição verbal da dor, sendo ela apenas um dos vários comportamentos para expressar dor, considerando assim que a incapacidade de se comunicar não nega a possibilidade de um humano ou animal estarem sentindo dor (RAJA et al., 2020). Logo, o novo conceito de dor revisado e atualizado pela IASP descreve ela como sendo:

“Uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ou semelhante a uma lesão tecidual real ou potencial” (RAJA et al., 2020).

Quando comparados os conceitos de dor e nocicepção fica evidente suas distinções, uma vez que a nocicepção refere ao processo neural que codifica os estímulos nocivos e a dor é uma experiência multidimensional (isto é, sensorial, afetiva e cognitiva) relatada pela pessoa que a vivencia, e não pode ser inferida meramente a partir da atividade dos neurônios sensoriais no processo de nocicepção (SHAHIRI et al., 2022).

Além disso a dor é uma experiência universal e continua a ser a razão predominante para discussões em cuidados de saúde. Tal fato já foi relatado pela *Academy of Pain Medicine* (do inglês Academia de medicina da dor), na qual alertou que a dor atinge mais americanos do que as doenças crônicas como o câncer, diabetes e doenças cardíacas combinadas (ORR; SHANK, 2017).

Segundo a IASP, a dor pode ser classificada em crônica ou aguda, e o que difere entre elas é a permanência temporal, sendo a crônica definida como uma dor que persiste por tempo superior ao curso normal de uma lesão aguda (AZIZ et al., 2015). Diferentemente da dor aguda, a dor crônica é considerada desadaptativa e patológica, e possui três aspectos relevantes para sua caracterização como doença: (i) o comprometimento das atividades funcionais normais do indivíduo; (ii) a presença de sintomatologia específica; (iii) etiopatogenia distinta (RAFFAELI; ARNAUDO, 2017).

Adicionalmente, é possível sugerir que a dor crônica decorra da ativação atípica de múltiplos mecanismos neurofisiológicos no sistema somatossensorial, resultando em anormalidades na percepção da dor (BARAL; UDIT; CHIU, 2019). Ademais, a dor crônica pode ser subdividida segundo seus mecanismos fisiopatológicos e neurobiológicos em (i) dor neuropática, (ii) dor inflamatória, (iii) dor nociceptiva e (iv) dor funcional ou nociplástica (Figura 1) (AZIZ et al., 2015; STENSSON et al., 2020). Essa última, a “dor nociplástica” foi introduzida recentemente como uma nova entidade de dor, após a necessidade de incluir um grupo de condições dolorosas crônica primária que não podiam ser capturadas pelas entidades de dor descritas anteriormente, tais como as dores nociceptiva e neuropática. Este novo descritor de dor abrange várias condições de dor inexplicáveis, sem relação com traumas teciduais, doença e/ou lesões no sistema somatossensorial que conduzam a ativação de nociceptores periféricos, como ocorre no caso da FM, dor lombar inespecífica e outros distúrbios de dor musculoesquelética/visceral primária; ao todo, não há evidência clara de ativação de nociceptores ou lesão ou doença comprovada do sistema nervoso somatossensorial causando a dor (BIDARI; GHAVIDEL, 2022).

Logo, a IASP publicou critérios clínicos referencias para avaliação da dor nociplástica, sendo eles relacionados: i) condição de dor não pode ser explicada por mecanismos nociceptivos ou neuropáticos; ii) a dor deve persistir por mais de 3 meses e; iii) estiver associada à hipersensibilidade à dor (BIDARI; GHAVIDEL, 2022). Tendo isso em vista, alguns avanços foram possíveis nos estudos e cuidados a certa das doenças como no caso da FM.

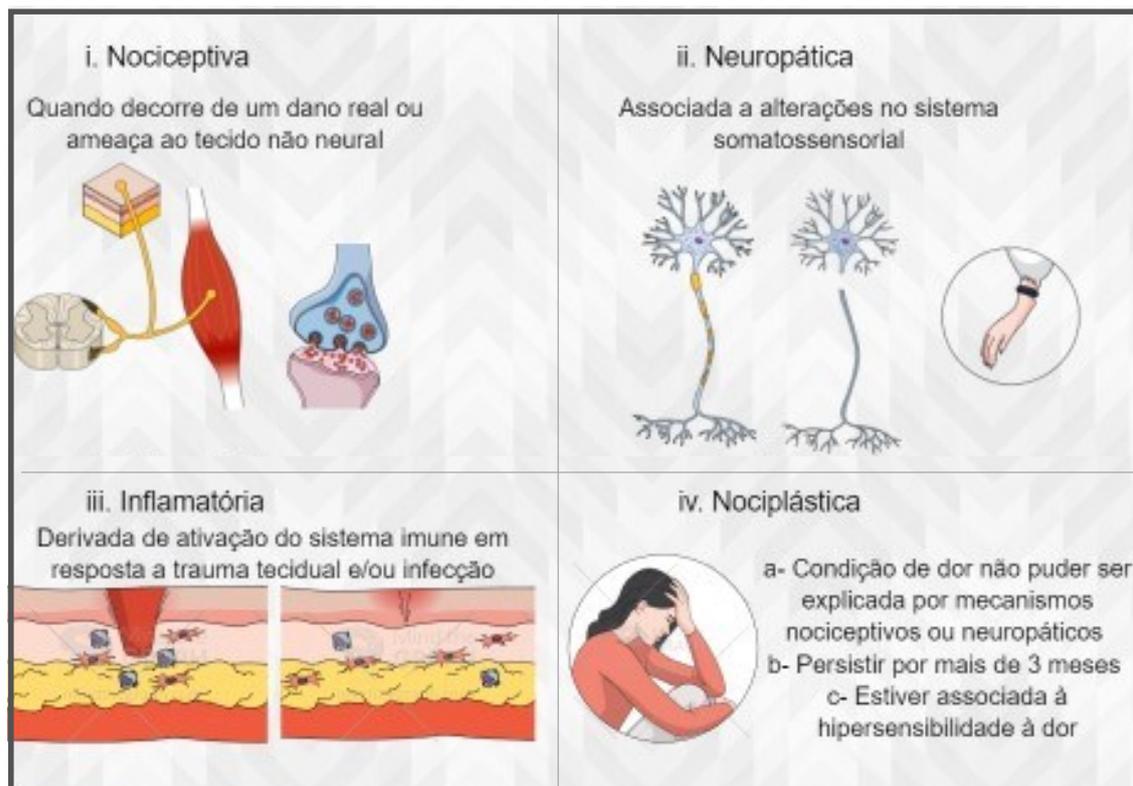


Figura 1 – Classificação da dor e mecanismos envolvidos no seu desenvolvimento.

A dor crônica por sua vez, decorre de um processo desadaptativo e de acordo com o mecanismo fisiopatológico envolvido pode ser subdividida em: (i) dor nociceptiva, quando decorre de um dano real ou ameaça ao tecido não neural; (ii) dor neuropática, associada a alterações no sistema somatossensorial; (iii) dor inflamatória, derivada de ativação do sistema imune em resposta a trauma tecidual e/ou infecção; (iv) e dor nociplástica, sem associação com traumas/lesões teciduais ou doenças que afetem o sistema somatossensorial, tal como a FM.) Fonte: Ilustração elaborada pela autora, a partir de (AZIZ et al., 2015; BARAL; UDIT; CHIU, 2019; SCHMIDT-WILCKE; DIERS, 2017)

## 1.2 FIBROMIALGIA

A FM é uma condição que tem gerado grande dilema por não apresentar uma etiologia conhecida e além disso, por caracterizar uma complexa dor muscular generalizada, com alto nível de invalidação social, decorrentes de múltiplas comorbidades, como distúrbios do sono, fadiga, problemas cognitivos e hipersensibilidade a estímulos físicos/emocionais (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2021). Além desses sintomas, ela também acompanha vários outros sintomas somáticos e psicológicos, como rigidez, distúrbios cognitivos, síndrome da bexiga irritável, cefaleia, anedonia e depressão (ALCIATI et al., 2021). Essa associação de sintomas influencia negativamente a vida diária, e os pacientes comumente relatam grandes mudanças nos hábitos e rotinas como consequência da FM (OFFENBAECHER et al.,

2021). Essa condição tem gerado grande dilema não apenas por representar discordâncias na sua fisiopatologia mas também tem apresentado um alto nível de invalidação social, decorrentes de múltiplas comorbidades apresentadas por essa população (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2021).

Os primeiros relatos históricos compatíveis com o quadro clínico da FM datam de 1592 por Ruhman, entretanto o termo “fibromialgia” só foi reconhecido e citado pela primeira vez na revisão de Hensch no ano de 1976, após muito tempo a legitimação da FM como uma síndrome ocorreu somente em 1981 com a publicação do trabalho de Yunus e colaboradores, responsável por caracterizar o quadro clínico da doença (HENCH, 1976; RUHMAN, 1940; YAKSH, 1985). Apesar disso, somente em 1994, a FM foi reconhecida oficialmente como doença pela Organização Mundial da Saúde (OMS), na 10ª revisão da “Classificação Internacional de Doenças (CID-10)”, a qual listou a FM como uma das “doenças do sistema músculo-esquelético e tecido conjuntivo” (AZIZ et al., 2015). A Figura 2 segue uma cronologia dos eventos marcantes no histórico da FM.



Figura 2 – Cronologia histórica da FM.

Ordem cronológica os eventos históricos marcantes relacionados à FM desde a sua primeira descrição na literatura (1592) até a incorporação dos novos critérios para o seu diagnóstico.) Fonte: Imagem elaborada pela autora com base em (AZIZ et al., 2015; HENCH, 1976; RUHMAN, 1940; WOLFE et al., 2010).

Dentro desse contexto, nos últimos 30 anos, as publicações científicas acerca da FM aumentaram consideravelmente, o que pode ser explicado em parte, pela maior conscientização e interesse da área científica e médica pelo assunto, mas também pelo fato da temática ser amplamente discutível. As questões ainda são conflitantes, sendo elas: (i) critérios de diagnóstico, (ii) etiologia, (iii) fisiopatologia e (iv) tratamento terapêutico (ALCIATI et al., 2021; MOORE et al., 2021; WALITT et al., 2016).

### **1.2.1 Epidemiologia da fibromialgia**

Um importante fato está na FM ser uma síndrome relativamente comum, de tal forma que a sua prevalência na população europeia atinja cerca de 4,7% (BERGER et al., 2020; MCANALLY; BONNET; KAYE, 2020) e em torno de 0,5 a 5% da população global, acometendo principalmente mulheres (DE SANTANA; COBRA; FIGUEIREDO, 2022). Outros estudos apontam taxas de prevalência mundial ainda maiores, podendo variar de 0,2% a 6,6% na população geral (MARQUES et al., 2017), ademais a prevalência em mulheres pode representar três vezes maior do que em homens (OFFENBAECHER et al., 2021).

Já no Brasil, foram relatadas taxas de prevalência da FM de 2% na população em geral, entretanto existem limitações para o acesso ao diagnóstico, o plano de tratamento e acesso à medicação que dificultam o prognóstico dessa população (SOUZA; PERISSINOTTI, 2018).

Algumas discussões tentam esclarecer o fato da doença ser mais prevalente em mulheres, dentre elas está i) as características sociais e culturais dos países ocidentais, nos quais os homens são menos propensos a consultar um especialista para sintomas de dor crônica, limitando a formulação de um diagnóstico correto para os homens; ii) a crença generalizada de que a FM seja uma doença predominantemente feminina; iii) a intensidade geralmente maior dos sintomas de dor nas mulheres em comparação aos homens resulta em uma janela de tempo mais longa para formular um diagnóstico para os homens (IANNUCCELLI et al., 2022). Além disso, o gênero influencia nas manifestações clínicas da FM, com maior prevalência de dor, fadiga e outros sintomas comuns da FM entre as mulheres, enquanto maior frequência de sintomas neuropsiquiátricos entre os homens (IANNUCCELLI et al., 2022).

O preocupante na FM está no fato da doença promover muitos casos de licença por invalidez relacionada ao trabalho, com taxas de desemprego podendo atingir 80,6% dos pacientes com a doença (SKAER, 2014). Acarretando assim, em ônus

socioeconômico que representam gastos substanciais em diversos países e podem variar de dezenas de milhares até milhões de dólares anualmente (FORTI et al., 2019; SKAER, 2014).

Como citado anteriormente a FM acarreta em alto impacto negativo na vida diária, relacionado ao nível de incapacidade que os pacientes com FM são acometidos (VERBUNT; PERNOT; SMEETS, 2008). Assim, os sintomas de longo prazo da FM podem levar à deterioração da qualidade de vida relacionada à saúde (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2021). Esse comprometimento gera altos graus de deficiência, iguais aos apresentados pelos pacientes com doenças reumáticas inflamatórias crônicas como o doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) ou diabetes mellitus, levando assim a impactos negativos na qualidade de vida (ALKHATIB, 2020).

Tendo isso em vista, um estudo transversal e observacional utilizando dados do mundo todo, observou que em 480 pacientes com FM 33% tinham uma capacidade de trabalho reduzida devido à doença e apenas 34% dos pacientes tinham empregos remunerados (OFFENBAECHER et al., 2021). Demonstrando assim que a FM representa uma doença incapacitante, gerando impactos negativos na qualidade de vida dessa população.

### **1.2.2 Diagnóstico da fibromialgia**

Atualmente a FM é diagnosticada com base em sintomas autorrelatados, dentre eles são descritos o número de áreas corporais doloridas a palpação e a intensidade dos sintomas associados (por exemplo, fadiga, sono, dor muscular) (WOLFE et al., 2010); isso porque a doença é comumente caracterizada por sintomas multidimensionais não somente por dor generalizada (BIDONDE et al., 2017; LEE et al., 2021; STAUD; RODRIGUEZ, 2006).

Existem constantes esforços para facilitar o diagnóstico da FM de acordo com os sintomas e avaliações clínicas dos pacientes. Os critérios modificados do *American College of Rheumatology* (ACR – do inglês Colégio Americano de Reumatologia) introduziram uma escala de desconforto polissintomático para conceituar o espectro da FM em vez de um diagnóstico dicotômico realizado antigamente (Quadro 1) (ALCIATI et al., 2021; WOLFE et al., 2010).

Entretanto essa abordagem através da escala quantifica a extensão e a gravidade da dor em um conjunto limitado de sintomas e não se concentra na classe e

nos atributos que a dor pode associar, avaliando a dor por meio de uma abordagem mecanicista (ARNOLD et al., 2019).

Esses critérios baseados em sintomas identificam os pacientes com FM que atendem a um nível mínimo de generalização da dor e associando o status polissintomático, com um subconjunto de relatos fáceis de detectar, mas difíceis de gerenciar. Por outro lado, uma visão mecanicista permite que os médicos diagnostiquem os pacientes menos sintomáticos quando houver características nociplásicas consistentes (MCBETH; MULVEY, 2012).

Quadro 1 – Critérios para avaliação e diagnóstico da FM.

<b>CRITÉRIO</b>	
Paciente satisfaz os critérios de diagnóstico de FM se as três condições a seguir forem atendidas:	
1) Índice de dor generalizada (WPI) $\geq 7$ e escore de gravidade de sintomas (SS) $\geq 5$ ou WPI 3-6 e escore de SS $\geq 9$ .	
2) Os sintomas estão presentes em um nível semelhante há pelo menos 3 meses.	
3) O paciente não possui distúrbio que explicaria a dor.	
<b>VERIFICAÇÃO</b>	
1) WPI: número de áreas nas quais o paciente teve dor na última semana. Em quantas áreas o paciente teve dor? A pontuação será entre 0 e 19.	<input type="checkbox"/> Ombro esquerdo <input type="checkbox"/> Ombro direito <input type="checkbox"/> Braço esquerdo <input type="checkbox"/> Braço direito <input type="checkbox"/> Antebraço esquerdo <input type="checkbox"/> Antebraço direito <input type="checkbox"/> Quadril esquerdo (nádega e trocânter) <input type="checkbox"/> Quadril direito (nádega e trocânter) <input type="checkbox"/> Perna esquerda <input type="checkbox"/> Perna direita <input type="checkbox"/> Panturrilha esquerda <input type="checkbox"/> Panturrilha direita <input type="checkbox"/> Mandíbula (lateral) <input type="checkbox"/> Mandíbula (centro) <input type="checkbox"/> Peito <input type="checkbox"/> Abdômen <input type="checkbox"/> Parte superior das costas <input type="checkbox"/> Pescoço <input type="checkbox"/> Lombar
2) Escore SS:	<input type="checkbox"/> Fadiga <input type="checkbox"/> Distúrbios do sono <input type="checkbox"/> Sintomas cognitivos <input type="checkbox"/> Sintomas somáticos*
Para cada um dos três sintomas acima, indique o nível de gravidade da última semana usando a seguinte escala: 0 = sem problemas 1 = problemas leves, geralmente leves ou intermitentes 2 = problemas consideráveis moderados, frequentemente presentes e/ou em nível moderado 3 = grave: problemas generalizados, contínuos e perturbadores da vida	
Considerando os sintomas somáticos em geral, indique se o paciente tem: 0 = sem sintomas 1 = poucos sintomas 2 = um número moderado de sintomas 3 = muitos sintomas	
O escore da escala SS é a soma da gravidade dos três sintomas (fadiga, distúrbios do sono, sintomas cognitivos) mais a extensão (gravidade) dos sintomas somáticos em geral. A pontuação final é entre 0 e 12.	
*Sintomas somáticos que podem ser considerados: dor muscular, síndrome do intestino irritável, fadiga / cansaço, problema de raciocínio ou lembrança, fraqueza muscular, dor de cabeça, dor / câimbras no abdômen, dormência / formigamento, tontura, insônia, depressão, constipação, dor no abdome superior, náusea, nervosismo, dor no peito, visão turva, febre, diarreia, boca seca, coceira, chiado no peito, fenômeno de Raynaud, urticária / vergões, zumbido nos ouvidos, vômitos, azia, úlceras orais, perda de / alteração do paladar, convulsões, olhos secos, falta de ar, perda de apetite, erupção cutânea, sensibilidade ao sol, dificuldades auditivas, contusões fáceis, perda de cabelo, micção frequente, micção dolorosa e espasmos na bexiga.	

Fonte: Quadro adaptado pela autora de WOLFE et al., 2010.

Em outro estudo recente, uma nova ferramenta foi proposta para diferenciar os pacientes com FM dos demais mecanismos de desenvolvimento de dor, chamada de características da FM baseada no nociplástico (NFF) que foi desenvolvida e introduzida para a discriminação de pacientes com FM entre pacientes com dor crônica não inflamatória. O NFF difere dos critérios tradicionais de FM guiados por sintomas, pois se concentra nos atributos da dor nociplástica em vez de contar os sintomas e os locais da dor. Representando assim, uma alternativa para o diagnóstico da FM (KHURSHID et al., 2021).

### 1.2.3 Sintomatologia da fibromialgia

A dor nos pacientes com FM é o principal sintoma, entretanto, por ser um sintoma subjetivo, o diagnóstico, e por sua vez o tratamento, representam um desafio clínico (REZENDE et al., 2019).

Além disso, como citado anteriormente, a FM quase sempre está associada à comorbidades, entre as quais incluem: fadiga, nível de atividade física reduzida, depressão, ansiedade, distúrbios do sono, síndrome do intestino irritável e comprometimento de algumas funções corporais (FAVERO et al., 2019; SIECZKOWSKA et al., 2020; SOSA-REINA et al., 2017; STENSSON et al., 2020). Os sintomas da FM são demonstrados na Figura 3.



Figura 3 – Sintomatologia da FM.

Os pacientes com FM não apresentam somente dor crônica, mas além disso também é possível observar fadiga, nível de atividade física reduzida, depressão, ansiedade, distúrbios do sono, síndrome do intestino

irritável que reduzem de forma negativa a qualidade de vida dessa população (Ilustração elaborada pela própria autora com base em (FAVERO et al., 2019; SIECZKOWSKA et al., 2020; SOSA-REINA et al., 2017; STENSSON et al., 2020)).

Somado a isso, existe uma alta prevalência de distúrbios psicológicos, tais como os sintomas depressivos e transtornos de ansiedade, que representam respectivamente cerca de 70% a 47% dessa população (ANDRADE; SIECZKOWSKA; VILARINO, 2019). Dentro dos outros sintomas, cerca de 70% dos pacientes apresentam FM combinada com a síndrome da fadiga crônica, tal associação desencadeia outras repercussões negativas para esses pacientes como o sedentarismo e a reclusão social (TATEM et al., 2014).

Outro sintoma que tem gerado bastante impactos negativos na qualidade de vida desse pacientes são os distúrbios no sono que conduzem a uma exacerbação dos demais sintomas da FM impactando negativamente a qualidade de vida de cerca de 90% dos pacientes (ANDRADE; SIECZKOWSKA; VILARINO, 2019; CHOY, 2015).

Como citado anteriormente, a FM acarreta em alto impacto negativo na vida diária, relacionado ao nível de incapacidade que os pacientes com FM são acometidos (ELLER-SMITH; NICOL; CHRISTIANSON, 2018). Assim, os sintomas a longo prazo podem levar à deterioração da qualidade de vida (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2021). Esse comprometimento gera altos graus de deficiência iguais aos apresentados pelos pacientes com doenças reumáticas inflamatórias crônicas como o DPOC ou diabetes mellitus, levando assim a impactos negativos na qualidade de vida (KAUR et al., 2019).

Em pacientes com FM também foram observados que em testes sensoriais quantitativo demonstram hipersensibilidade acentuada a um amplo espectro de estímulos padronizados. Neste sentido os limiares de dor à pressão contundente dos pacientes são tipicamente reduzida, denominada alodinia<sup>1</sup> mecânica estática, ou também uma pincelada suave pode induzir dor ou alodinia mecânica dinâmica, em 10-20% dos pacientes (SHAHIRI et al., 2022).

Em relação a estímulos térmicos nocivos, (ou seja, estímulos que seriam potencialmente dolorosos em condições normais), pacientes com FM são semelhantes a pacientes com outras doenças crônicas dolorosas, podendo relatar “pós-sensações”

---

<sup>1</sup> Alodinia - A palavra vem da junção de duas palavras gregas, allo (outro) e odyne (dor). Assim, alodinia se refere à uma alteração na forma com que sentimos dor. A partir dessa alteração, um estímulo que não seria doloroso passa a causar dor. Em alguns casos, passar levemente uma pena na pele pode gerar um grande desconforto.

dolorosas, ou seja, sensações que persistem mesmo quando o estímulo cessou (BERWICK; ANDERSSON; GOEBEL, 2022). Em pacientes com FM essa dor persistente ao estímulo térmico podem ocorrer em até 83% dos casos após estímulos térmicos nocivos (por exemplo, 49,5°C - 51,5°C) e em indivíduos saudáveis podem ocorrer com uma frequência de 20% a 37% (BERWICK; ANDERSSON; GOEBEL, 2022).

Tendo isso em vista, o diagnóstico realizado antigamente através dos “*tender point*” (do inglês pontos gatilhos) gera controversa uma vez que os estímulos cutâneos podem provocar uma dor pós-estímulo de forma persistente nesses pacientes. Por esse motivo, esses relatos confirmam que o exame dos pontos dolorosos na FM pode causar desconforto o que justifica o diagnóstico ser realizado através de questionário atualmente (MCBETH; MULVEY, 2012; WOLFE et al., 2010).

#### 1.2.4 Fisiopatologia da fibromialgia

Apesar da extensa pesquisa sobre FM, sua etiologia e patogênese permanecem obscuras. A presente literatura suporta algumas hipóteses, dentre elas o desenvolvimento de sensibilização central como responsável por disseminar o quadro doloroso, onde há hipersensibilidade global do sistema nervoso central (BOOKER, 2015). No entanto, avanços significativos na compreensão da FM foram obtidos na última década e representam a ligação clara entre sensibilização central e periférica (STAUD, 2012).

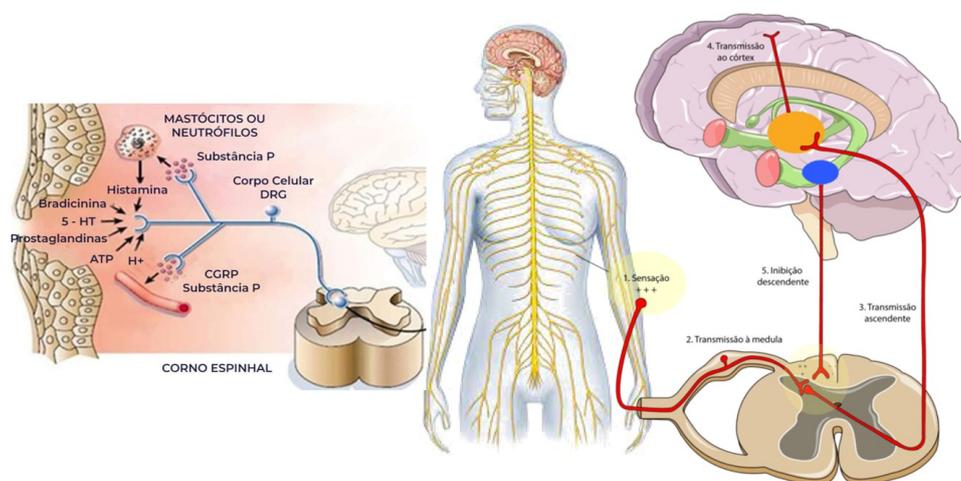


Figura 4 – Hipóteses fisiopatológicas da FM.

As hipóteses fisiopatológicas da FM envolvem anormalidades no processamento da dor, podendo ocorrer de forma periférica com alterações na condução nociceptiva de pequenas fibras. Mas, também podem

ocorrer anormalidades no processamento nociceptivo central com superativação das vias ascendentes da dor e inibição das vias descendentes nociceptivas. Ilustração adaptada pela autora com base em (MEEUS; NIJS, 2007; NEUMEISTER; NEUMEISTER, 2020; STAUD, 2012; STAUD; RODRIGUEZ, 2006).

A complexidade da FM é ainda demonstrada pela variação significativa no quadro clínico entre os pacientes e até mesmo a variabilidade que um mesmo paciente pode apresentar de diferentes sintomas, como demonstrado na Figura 4 (MARQUES et al., 2017). Ademais a FM representa claramente um distúrbio relacionado ao estresse, no qual diferentes estressores psicológicos, físicos, metabólicos, infecciosos e/ou autoimunes são motivadores frequentes da doença (JOCA; PADOVAN; GUIMARÃES, 2003).

É importante notar que nem sempre é possível caracterizar os pacientes com FM em categorias individuais; assim, alguns podem ter um endotipo central mais forte do que o periférico e também alguns pacientes podem apresentar endotipos mistos periféricos e centrais (BIDARI; GHAVIDEL, 2022). De fato, estudos observacionais sugerem que os endotipos de pacientes podem se alterar ao longo do tempo na FM, variando de tipos periféricos dominantes a tipos centrais dominantes (BIDARI; GHAVIDEL, 2022).

#### *1.2.4.1 Sensibilização Central*

Uma das principais hipóteses para o desenvolvimento da FM resulta principalmente de disfunção do SNC, possivelmente com um envolvimento maior quando comparado com as disfunções periférica (KHURSHID et al., 2021).

Um endotipo de envolvimento central na FM pode estar associada a um componente periférico mínimo, mas a um componente cognitivo ou psicossocial dominante que levam a alterações estruturais decorrentes dos eventos estressantes da vida no contexto de antecedentes genéticos (BIDARI; GHAVIDEL, 2022). Manifestando-se como uma sensibilidade aumentada a estímulos sensoriais, além dos padrões de dor localizados generalizados, fadiga, distúrbios do sono (BIDARI; GHAVIDEL, 2022).

Sabe-se que a FM está fortemente relacionada a um fenômeno de sensibilização central caracterizado por disfunção de neurocircuitos, que se correlaciona com a

percepção, transmissão e processamento de estímulos nociceptivos aferentes, afetando manifestações prevalentes de dor no aparelho locomotor (MARTINS et al., 2022).

Primeiramente para entender a possível fisiopatologia da FM é preciso pensar além do fato de que essa é uma doença musculoesquelética e logo não seria predominantemente periférica. Pelo contrário, as investigações acerca do desenvolvimento da doença têm partido principalmente da hipótese de um estado de dor central (ELLER-SMITH; NICOL; CHRISTIANSON, 2018). Em concordância, a localização espacial inespecífica da dor somada à ausência de trauma tecidual como causa primária de hiperalgesia<sup>2</sup> corroboram essa hipótese (MEEUS; NIJS, 2007).

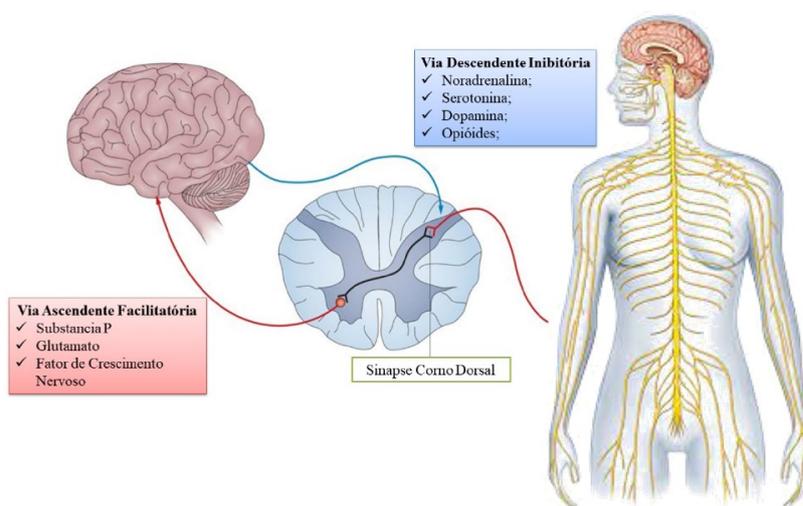


Figura 5 – Sensibilização central na FM.

As vias nociceptivas ascendentes excitatórias (linha vermelha) e descendentes inibitórias (linha azul). Nas vias ascendentes nociceptivas o estímulo oriundo da periferia faz comunicação no corno dorsal da medula espinhal e leva informações para o córtex através de neurotransmissores como substância P e glutamato. O estímulo após ser processado no córtex envia informações inibitórias descendentes, através de neurotransmissores como noradrenalina, serotonina, dopamina e opióides, que retornam informações do córtex para o corno dorsal da medula espinhal.) Fonte: Ilustração adaptada pela autora de CHOY, 2015.

Tendo isso em vista, é possível pensar na FM como resultante de modificações desadaptativas, as quais culminam em processamento anormal dos estímulos dolorosos (ANDRADE; DOMINSKI; SIECZKOWSKA, 2020; CHOY, 2015). Uma vez que os pacientes com FM apresentam aumento dos níveis de neurotransmissores na via nociceptiva ascendente (incluindo: glutamato, substância P e fator de crescimento do nervo) (CHOY,

<sup>2</sup> Hiperalgesia - A hiperalgesia é uma resposta aumentada à dor a partir de um estímulo que geralmente provoca dor. Isso é diferente da alodinia (dor a partir de um estímulo que geralmente não causa dor).

2015), bem como ativação exacerbada da matriz da dor no sistema nervoso central (SNC) o que ocasiona redução do limiar doloroso e deficiência no sistema descendente de modulação inibitória da dor, estado caracterizado por redução nos níveis de neurotransmissores, tais como: noradrenalina, serotonina, dopamina e opioides (ANDRADE; DOMINSKI; SIECZKOWSKA, 2020; SIECZKOWSKA et al., 2020), esse mecanismo está ilustrado na Figura 5.

Além disso, ao mapear a atividade cortical durante a ressonância magnética funcional, Thompson e colaboradores encontraram um padrão invertido da atividade da ínsula o que justifica os sintomas de anedonia recorrentemente associado a FM, podendo assim estar relacionada ao processamento anormais do SNC (THOMPSON et al., 2018). No entanto, o achado de anedonia na FM não exclui a possibilidade de alterações no processamento dos sinais nas entradas de aferentes sensoriais relacionando assim com alterações no sistema periférico (BERWICK; ANDERSSON; GOEBEL, 2022).

#### *1.2.4.2 Sensibilização Periférica*

Além das hipóteses de alterações centrais também existem relatos do desenvolvimento da FM tem como base as modificações no sistema nervoso simpático (SNS) e portanto decorrente de um processo de sensibilização periférica (KAUR et al., 2019). Dentro desse contexto, existem estudos citando a relação entre as alterações na microcirculação e no metabolismo energético muscular a modificações no sistema nociceptivo levando um aumento do tônus muscular presente nos pacientes com FM que desencadeia importantes regulações do fluxo sanguíneo regional causando isquemias musculares e respostas subjacentes ao acúmulo de metabólitos nos músculos em trabalho (BHASKAR et al., 2021). Através desses fatos, os pacientes apresentarem interações complicadas entre processos periféricos e centrais, o que provavelmente predispões ao grande número de sintomas associados. Tais desregulações de múltiplos sistemas tornam a FM uma síndrome complexa e de difícil manejo (GERDLE et al., 2022).

Cabe ressaltar que existem fortes evidências de anormalidades periféricas, incluindo patologia de pequenas fibras com função nociceptora alterada e inervações periféricas termorregulatórias anormais (BERWICK; ANDERSSON; GOEBEL, 2022). Nessa hipótese de sensibilidade periférica alterada além das alterações no processamento de pequenas fibras é possível observar um quadro inflamatório

exacerbado demonstrando ser essencial para a indução e perpetuação da hiperalgesia, podendo ser observado na Figura 6 (ANTUNES et al., 2016). Atualmente, a biópsia de pele e a microscopia confocal da córnea podem definir objetivamente a presença de patologia de pequenas fibras nervosas em indivíduos com FM (FERRO MOURA FRANCO et al., 2020).

Entretanto, esse perfil de endotipo periférico parece se manifestar como dor localizada resistente a tratamentos direcionados periféricamente, diferentemente como ocorre nos casos cujo o mecanismo de lesão ocorra periféricamente (como em tiro ou queimaduras). Levando a acreditar que nesses casos podem se referir à neuropatia de pequenas fibras subjacente, com 49% dos pacientes com FM apresentando uma anormalidade estrutural das pequenas fibras nervosas (BERWICK; ANDERSSON; GOEBEL, 2022).

Embora possa haver um componente de sensibilização cognitivo-emocional à dor nesse tipo, os agressores periféricos são fundamentais para o desenvolvimento da FM nesse subgrupo de pacientes. Além disso, deve-se notar que categorizar a dor como sendo confinada a um grupo mecanicista (neuropatia ou dor nociplástica) é uma simplificação excessiva, e muitos ou mesmo a maioria dos estados de dor representam um quadro de dor mista com sobreposição mecanicista substancial (BIDARI; GHAVIDEL, 2022).

No entanto, o papel da neuroinflamação e da autoimunidade na patogênese da FM foi recentemente destacado. Nas quais as interações de mediadores inflamatórios com nociceptores específicos ou neurônios da medula espinhal ou do cérebro podem levar a vários processos biológicos que podem ocasionar as alterações na excitabilidade, condutividade e transmissibilidade das vias de processamento da dor, levando à amplificação da dor (ELLER-SMITH; NICOL; CHRISTIANSON, 2018).

É importante ressaltar também que alterações em biomarcadores, particularmente citocinas inflamatórias, foram descritas no desenvolvimento e manutenção da FM, apoiando a hipótese de que as citocinas podem desempenhar um papel em suas características clínicas (DA SILVA SANTOS; GALDINO, 2018; STAUD; RODRIGUEZ, 2006) Uma meta-análise mostrou que os pacientes com FM tinham níveis plasmáticos de IL-6 mais elevados em comparação com os controles (SANTOS et al., 2020). Os níveis mais elevados de citocinas encontrados em pacientes com FM sugerem a presença de um sistema de resposta inflamatória e destacam um paralelo entre os sintomas clínicos e os dados bioquímicos (LORENA et al., 2016).

Outro mecanismo associado a FM decorre de diferentes estressores que induzem profundas mudanças fenotípicas nos gânglios da raiz dorsal (DRG). Pode ser postulado que, as alterações moleculares de DRG evocadas por estresse tornam-se antigênicas (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2021). Nas quais, essa resposta localizada dos anticorpos leva à inflamação do nervo sensorial, hiperexcitabilidade e desnervação periférica (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2021; MARTÍNEZ-LAVÍN, 2021). As alterações fenotípicas do DRG também podem explicar os sintomas relacionados à FM, incluindo fadiga crônica e intestino irritável (MARTINEZ-LAVIN, 2013; MARTÍNEZ-LAVÍN, 2021).

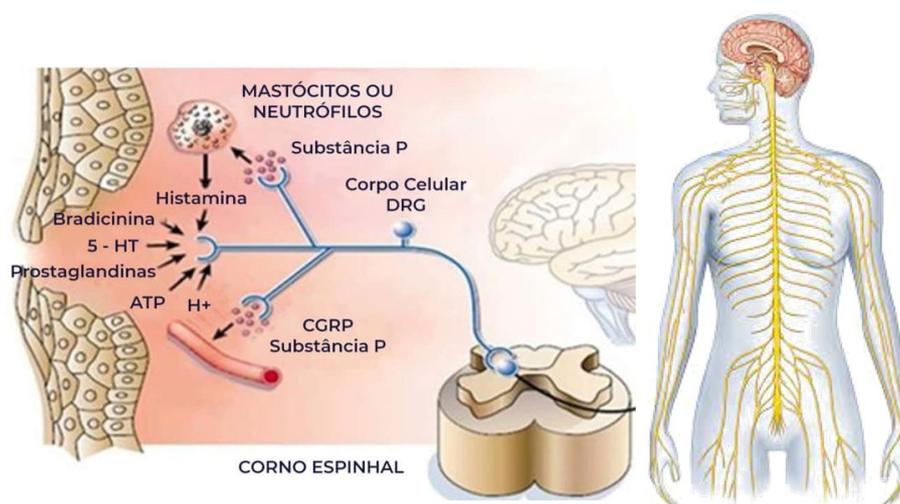


Figura 6 – Sensibilização periférica na FM.

Uma das hipóteses fisiopatológicas da FM ocorre através do aumento da ativação do sistema nervoso autônomo que repercute em maiores tônus musculares e consequentemente no aumento de metabólitos e de fluxo sanguíneo local. Tais alterações levam a liberação de citocinas pró-inflamatórias, as quais sensibilizam as vias nociceptivas conduzindo ao quadro de hiperalgesia. Fonte: Ilustração adaptada pela autora de (LANGFORD et al., 2010; MARTINEZ-LAVIN, 2013; REZENDE et al., 2019).

### 1.2.5 Tratamentos para a Fibromialgia

Dentro da complexidade que a FM representa, o controle e manejo da dor é conhecido por ser difícil de gerenciar de forma eficaz, com apenas uma minoria de pacientes que se beneficiam através de uma intervenção individual; portanto, uma abordagem multidisciplinar, incluindo medicina convencional, complementar e alternativa se faz necessária (WALITT et al., 2016). Neste quesito, os medicamentos convencionais incluindo duloxetina, pregabalina e milnaciprano foram aprovados pelos

Estados Unidos pela *Food and Drug Administration* (FDA – do inglês Administração de drogas e medicamentos) para tratamento da FM. A pregabalina, nesse sentido, é um medicamento da família dos gabapentinóides que atua na subunidade alfa2delta dos canais de cálcio dependentes de voltagem no SNC, reduzindo assim a liberação de neurotransmissores excitatórios e assim atuando na inibição da via ascendente da dor (MCANALLY; BONNET; KAYE, 2020). Já a duloxetina e o milnacipran atua impedindo a recaptação de serotonina e noradrenalina, importantes neurotransmissores no cérebro e atuam na via descendente inibitória da dor aumentando a disponibilidade da serotonina e noradrenalina na fenda sináptica (GUPTA et al., 2021).

No entanto, a maioria dos pacientes com FM não respondem adequadamente e/ou apresentam eventos adversos indesejáveis (HERNANDO-GARIJO et al., 2021). Devido a essas limitações na farmacoterapia, uma abordagem adjuvante envolvendo educação do paciente e modificações no estilo de vida em conjunto com terapias alternativas é recomendada para maximizar o controle sintomático da FM e minimizar os efeitos adversos (ARNOLD et al., 2019).

Neste âmbito, o gerenciamento de pacientes com FM inclui avaliação abrangente, definição de metas, tratamento multimodal, incluindo terapias farmacológicas e não farmacológicas, como atividade física, terapia comportamental, higiene do sono, aconselhamento dietético, educação sobre a doença e abordagens de tratamento (ARNOLD et al., 2019; HERNANDO-GARIJO et al., 2021).

Tentando gerenciar os sintomas, um ponto de partida para o manejo dentro na FM está no controle da inflamação e do estresse oxidativo, que são as principais vias fisiopatológicas da dor crônica e, portanto, um programa de tratamento pode incluir protocolos nutricionais para reduzir o estado pró-inflamatório e, assim, aliviar a dor (SIRACUSA et al., 2021). Neste sentido, a baixa ingestão de certos micronutrientes, incluindo fósforo, ferro, zinco, vitamina B1, vitamina B6, ácido fólico e vitamina C se correlacionou com pontuações mais altas em questionários que demonstram os impactos negativos na qualidade de vida, além de uma baixa ingestão de vitamina B6 também se correlacionou com maior relato de dor em escalar analógicas de dor (SIRACUSA et al., 2021).

Visando controlar as hipóteses fisiopatológicas já descritas neste trabalho, a terapia farmacológica atual engloba drogas neuropáticas, anticonvulsivantes e antidepressivas, focando predominantemente na sintomatologia (BAZZICHI et al., 2020), como demonstrado no Quadro 2. Dentre os medicamentos amplamente citados na literatura

estão: amitriptilina, pregabalina / gabapentina, ciclobenzaprina, duloxetina / milnacipran e tramadol (OLIVEIRA JÚNIOR; ALMEIDA, 2018).

Quadro 2 – Lista de medicamentos recomendados pela EULAR, do inglês European League against Rheumatism, para o tratamento da FM.

Medicamentos recomendados para o tratamento da FM pela <i>European League against Rheumatism</i> (EULAR)				
Nome	Classe da substância	Mecanismo de ação	Dose Recomendada	Grau de recomendação*
<b>Amitriptilina</b>	Antidepressivos tricíclicos	Inibição do transportador pré-sináptico de serotonina e noradrenalina; Antagonista de receptores 5-HT <sub>2A</sub> , 5-HT <sub>2C</sub> , 5-HT <sub>6</sub> , 5-HT <sub>7</sub>	10–50 mg/dia	Fraco
<b>Ciclobenzaprina</b>	Relaxante muscular, derivado antidepressivo tricíclico	Inibição do transportador pré-sináptico de serotonina e noradrenalina; Antagonista do receptor 5-HT <sub>2A</sub>	10-40 mg/dia	Fraco
<b>Duloxetina</b>	Inibidor da recaptação de catecolaminas	Inibição seletiva da recaptação de serotonina e noradrenalina	20-120 mg/dia	Fraco
<b>Milnacipran</b>	Inibidor da recaptação de catecolaminas	Inibição seletiva da recaptação de serotonina e noradrenalina	100–200 mg/dia	Fraco
<b>Pregabalina</b>	Anticonvulsivante	Modulação da subunidade $\alpha_2\delta$ do canal de cálcio pré-sináptico	300-450 mg/dia	Fraco
<b>Gabapentina</b>	Anticonvulsivante	Modulação da subunidade $\alpha_2\delta$ dos canais de cálcio pré-sinápticos; aumento do GABA	1200 mg/dia	Fraco
<b>Tramadol</b>	Opióide fraco	Agonista fraco do receptor $\mu$ , inibição da recaptação de noradrenalina	150 mg/dia	Fraco

\* Segundo recomendações europeias - *European League against Rheumatism* (EULAR). 5-HT = serotonina. GABA = ácido  $\gamma$ -aminobutírico.

Fonte: Quadro adaptada pela autora de SCHMIDT-WILCKE; DIERS, 2017.

Entretanto, cerca de 90% dos pacientes precisam recorrer a terapias alternativas para controlar os sintomas, muito decorre da atuação dessas drogas serem específicas para alguns sistemas (SIRACUSA et al., 2021). Nesse sentido, estudos pré-clínicos são de grande relevância para esclarecer a fisiopatologia da FM e desenvolver novos alvos terapêuticos visando promover novas opções de tratamento, considerando as limitações de eficácia das alternativas terapêuticas atuais (SIRACUSA et al., 2021).

### 1.3 CANNABIS SATIVA E SISTEMA ENDOCANABINOIDE

Dentro dessa temática, um potencial tratamento para a FM é o derivados cannabinoídes que demonstraram ter benefícios para uma série de condições clínicas, incluindo dor, inflamação, epilepsia, distúrbios do sono, sintomas de esclerose múltipla, anorexia, esquizofrenia e outras condições. A transformação de cannabinoídes de preparações à base de plantas em medicamentos de prescrição altamente regulamentados está, portanto, progredindo rapidamente (BRUNI et al., 2018). Os casos

de dores crônicas patológicas, como a dor neuropática e a FM, são consideradas um dos principais problemas de saúde em todo o mundo, pois perduram além da resolução da fonte da dor e podem afetar profundamente a qualidade de vida (SKAER, 2014).

Neste sentido o potencial terapêutico da *cannabis* (*Cannabis sativa*) vem sendo explorado. Essa planta dióica pertencente à família *Cannabaceae* (*Magnoliopsida*, *Urticales*) e possui propriedades médicas e psicoativas descritas desde 4000 aC. Ademais, existe uma variabilidade genética e química dentro da *Cannabis sativa*, nas quais produzem compostos ativos, mas cada variedade produz esses compostos em diferentes concentrações e proporções, que não dependem apenas do histórico genômico, mas também das condições de crescimento e clima, o que significa que podem ser chamadas de variedades químicas, em vez de cepa (BRUNI et al., 2018).

A *Cannabis sativa* tem um papel muito importante na regulação de diversos sistemas fisiológicos porque atua de forma direta e indireta com o sistema endocanabinoide (SEC) para a regulação de uma variedade de processos, podendo fazer da modulação farmacológica fitocanabinoide de estratégia terapêutica promissora para muitas áreas médicas, incluindo os estudos de atividade analgésica, neuroprotetora, anti-inflamatória e antibacteriana (BRUNI et al., 2018; PISANTI et al., 2017).

É importante ressaltar que o SEC desempenha um papel crucial dentro do sistema nervoso em desenvolvimento e no sistema nervoso maduro, onde modula a atividade neuronal e a função da rede. O SEC é um sistema complexo e completo, composto por canabinoides endógenos (endocanabinoides), receptores de canabinoides e as proteínas que transportam, sintetizam e degradam endocanabinoides. Além disso, a maioria dos componentes do SEC são multifuncionais. Assim, em vez de ser um sistema discreto e isolado, o SEC influencia e é influenciado por muitas outras vias de sinalização. Isso é especialmente importante a ser considerado ao avaliar os efeitos dos medicamentos direcionados à SEC (LU; MACKIE, 2021).

Embora a *cannabis* contenha muitos compostos bioativos, a maioria dos efeitos psicoativos advém de uma das suas substâncias chamada de tetrahydrocannabinol (THC) ou  $\Delta^9$ -THC (BERGER et al., 2020), que atua como agonista dos receptores endocanabinoides e reduz a neurotransmissão. No entanto, a *cannabis* também apresenta outros fitocanabinoides de ocorrência natural, por exemplo, o canabidiol (CBD), que não possui as propriedades psicomiméticas induzidas pelo THC (EBBERT; SCHARF; HURT, 2018).

### 1.3.1 Receptores canabinoides

O complexo SEC conta com diversos componentes, nele existem dois subtipos de receptores canabinoides chamados de CB1 e CB2, sendo os receptores CB1 mais abundantes no SNC, enquanto os receptores CB2 estão presentes principalmente em tecidos periféricos com funções imunes (HUANG; CHEN; ZHANG, 2016), os receptores CB1 e CB2 são demonstrados na Figura 7. No SNC, os receptores CB1 estão distribuídos densamente nas regiões motoras e límbicas, em áreas envolvidas na transmissão e modulação da dor (por exemplo, substância cinzenta periaquedutal, medula ventromedial rostral e corno dorsal da medula espinhal), entretanto também são encontrados na periferia (HUANG; CHEN; ZHANG, 2016). Os receptores CB1 e CB2 são receptores acoplados à proteína G do subtipo Gi/Go e mediam a inibição da liberação de neurotransmissores (HUANG; CHEN; ZHANG, 2016) atuando assim em diferentes sistemas dentro do SNC, como demonstrado na Figura 7. Eles inibem a Adenil ciclase e certos canais de cálcio sensíveis à voltagem, estimulam proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAP quinases) e canais de potássio retificadores internos (GIRKs) e recrutam beta- arrestinas, entre outras ações (LU; MACKIE, 2021).

A distribuição dos receptores CB1 são particularmente enriquecidos no sistema nervoso, mas também estão presentes em diversos órgãos, encontrados no fígado, tecido adiposo, pele, dentre outros. No SNC maduro o CB1 podem ser encontrados em neurônios, sendo mais abundante em certos interneurônios GABAérgicos (MCANALLY; BONNET; KAYE, 2020). O CB1 também possui atuação em uma ampla gama de neurônios, incluindo glutamatérgicos, colinérgicos, glicinérgicos, serotoninérgicos, podendo ser encontrados em todo o cérebro (SHAHBAZI et al., 2020). É importante ressaltar que nos neurônios, os receptores CB1 são numericamente abundantes nos terminais sinápticos, refletindo seu papel principal na modulação da transmissão sináptica, mas também são expressos em no soma e dendritos neuronais, além de se apresentar em algumas mitocôndrias (KENDALL; YUDOWSKI, 2017). Já em células gliais, os receptores CB1 funcionais são expressos por alguns astrócitos, em oligodendrócitos, precursores de oligodendrócitos e na micróglia (SHAHBAZI et al., 2020).

Diferentemente dos receptores CB1, os receptores CB2 são expressos principalmente em células de origem imune incluindo microglia, embora também possam ser expressos em neurônios, particularmente em estados patológicos (CHAVES

et al., 2021). A ativação do receptor microglial CB2 é geralmente associada a atividade anti-inflamatória (SHAHBAZI et al., 2020).

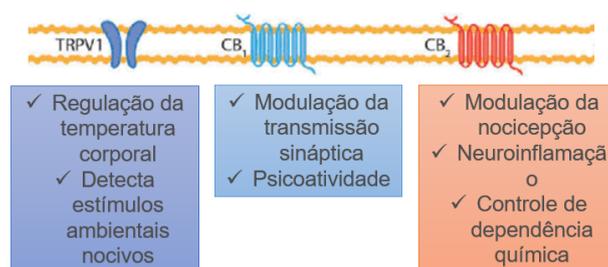


Figura 7 – Receptores endocanabinoides.

Função dos receptores endocanabinoides CB1 (modulação sináptica e atividade psicoativa) e CB2 (modulação nociceptiva, neuroinflamação e controla de dependência química) e a atividade do receptor TRPV1(Regulação da temperatura corporal, detecta estímulos ambientais nocivos) Fonte: Ilustração adaptada pela autora de (HASENOEHRL; STORR; SCHICHO, 2017).

Os fitocanabinoides e os endocanabinoides interagem com os receptores CB1 e CB2 em seus locais ortostéricos. Isso é facilitado pelo fato do tamanho dos receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), que apresentam uma conformação grande oferece ampla oportunidade para locais onde outras moléculas podem se ligar e, sob condições favoráveis, modular a função do receptor (MARSICANO; PIAZZA, 2014). Cabe ressaltar que pouco se sabe sobre a modulação alostérica dos receptores CB2, mas vários moduladores alostéricos positivos e negativos dos receptores CB1 foram descritos (BUSQUETS-GARCIA et al., 2017). Neste sentido um modulador alostérico pode afetar a sinalização de um agonista ortostérico específico, assim um modulador alostérico pode alterar a sinalização do THC, mas não a sinalização canabinoide endógena(BUSQUETS-GARCIA et al., 2017).

Além disso, um segundo modulador alostérico negativo de receptores CB1 é o CBD, que atenua a ativação de CB1 por THC e canabinoides endógenos em vários ensaios in vitro (LAPRAIRIE; BAGHER; KELLY, 2015; STRAIKER et al., 2018). A modulação alostérica negativa de CB1 pelo CBD pode explicar por que alguns, mas não todos os estudos (HANEY et al., 2016; SOLOWIJ et al., 2019), descobriram que cepas de *cannabis* contendo CBD (ou coadministração de CBD com THC) podem produzir psicoatividade menos extrema e por que o consumo frequente de cannabis com alto teor de CBD pode ser menos prejudicial do que o consumo semelhante de cannabis com baixo teor de CBD (LU; MACKIE, 2021) .



Isso contrasta com os neurotransmissores clássicos que são sintetizados e armazenados em vesículas. Os endocanabinoides são sintetizados “sob demanda”, neste sentido o princípio para que essa síntese sob demanda ocorra está no fato dos endocanabinoides usarem como precursor os lipídios da membrana e são liberados pela ativação de algumas enzimas específicas, tipicamente lipases, que são desencadeadas por um sinal específico (por exemplo, proteínas G ou elevação do cálcio intracelular (STRAIKER et al., 2018).

Esse recurso de síntese “sob demanda” dos endocanabinoides possibilita que sejam lançados de maneira temporal e espacial muito precisa. Os fitocanabinoides por sua vez, levam maior tempo para ativação desse sistema, logo essa é uma motivação que estimula a pesquisa de medicamentos que visam a melhor sinalização e produzam efeito por um tempo satisfatório (LU; MACKIE, 2021).

### 1.3.3 Função do sistema endocanabinoide na sinalização retrógrada

O SEC possui uma particularidade interessante, uma das suas funções no sistema nervoso maduro é atuar como um mensageiro retrógrado mediando várias formas de plasticidade sináptica. Neste caso, os endocanabinoides sintetizados pela célula pós-sináptica viajam retrogradamente através da sinapse para ativar os receptores canabinoides pré-sinápticos, suprimindo a neurotransmissão dos terminais que expressam CB1 (ROBBE et al., 2002).

Perante essa premissa, existem formas transitórias e duradouras de plasticidade sináptica mediada por endocanabinoides. Ambas as formas envolvem estimulação do neurônio pós-sináptico (por despolarização e influxo de cálcio ou ativação de um GPCR ligado a Gq). As formas transitórias são denotadas por supressão de excitação estimulada por despolarização (DSE, se a transmissão excitatória for suprimida) ou supressão de inibição estimulada por despolarização (DSI, se a transmissão inibitória for suprimida) e supressão de excitação estimulada por metabotrópico (MSE, se transmissão excitatória é suprimida) ou supressão da inibição estimulada por metabotrópicos (MSI, se a transmissão inibitória for suprimida (ROBBE et al., 2002; WILSON; NICOLL, 2001).

Além da atuação dos endocanabinoides na sinalização retrograda ele também realiza modificações na excitabilidade neuronal de outras maneiras, na (i) modulação direta de canais iônicos, (ii) ativação de canais de potássio retificadores internos (GIRK) e (iii) aprimoramento de canais de cátions ativados por

hiperpolarização. Os endocanabinoides também modulam vários canais iônicos importantes, incluindo serotonina (5HT<sub>3</sub>), TRPV1, GABA-A, glicina e muitos outros (LU; MACKIE, 2021).

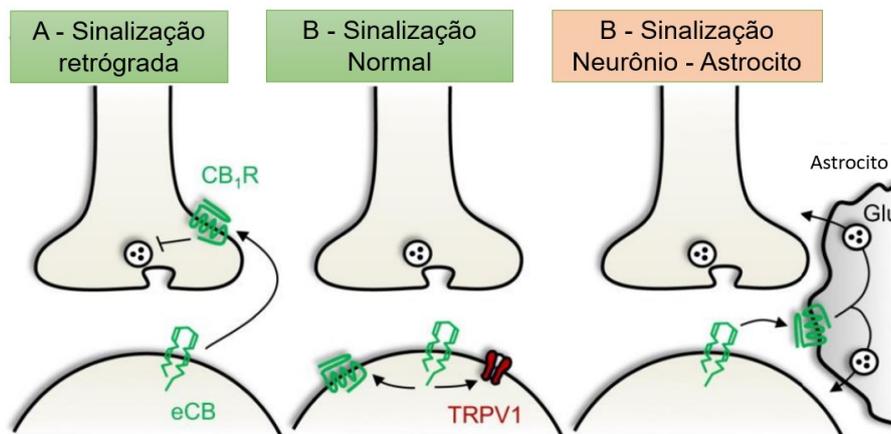


Figura 9 – Sinalização retrógrada dos endocanabinoides.

A sinalização endocanabinoide pode ocorrer de formas diferentes na sinapse como na (A) Sinalização endocannabinoide retrógrada, os endocanabinoides (eCB) são mobilizados a partir de neurônios pós-sinápticos e receptores pré-sinápticos de canabinoides tipo 1 (CB<sub>1</sub>) para suprimir a liberação do neurotransmissor. Nos casos de (B) sinalização normal os endocanabinoides produzidos em neurônios pós-sinápticos ativam os receptores CB<sub>1</sub> pós-sinápticos ou também podem ativar canais TRPV1. No terceiro caso, a (C) sinalização de neurônios e astrocitos os endocanabinoides liberados a partir de neurônios pós-sinápticos estimulam os receptores CB<sub>1</sub> nos astrocitos. Fonte: Ilustração adaptada pela autora de (CASTILLO et al., 2012).

#### 1.3.4 Sistema endocanabinoide e dor

Após a descoberta da via de sinalização sináptica retrógrada mediada por endocanabinoides abriu-se uma nova era para a pesquisa de canabinoides, incluindo avaliações de seu uso terapêutico. Dentro desta temática, os agonistas seletivos de CB<sub>2</sub> mostraram eficiência considerável em uma variedade de modelos pré-clínicos de dor neuropática, além de proporcionar benefícios para pacientes com dor crônica e doenças inflamatórias crônicas como a artrite (OHNO-SHOSAKU; KANO, 2014). Associados a isso, os receptores CB<sub>2</sub> também são particularmente importantes nos circuitos neuronais centrais da dor, pois a atividade agonista induz a liberação de dopamina nas áreas do mesencéfalo, contribuindo para o controle descendente da dor (SHANG; TANG, 2016).

A distribuição fronto-límbica dos receptores canabinoides no cérebro sugere que a cannabis pode interferir nas qualidades afetivas da dor (LEE et al., 2013). Não somente isso, a também cannabis demonstrou melhorar a dor neuropática reduzindo a inflamação de baixo grau consistente na patologia (BRUNI et al., 2018).

No entanto, a terapêutica baseada nos canabinoides apresenta como desafio uma série de eventos adversos (particularmente sonolência ou sedação, confusão, psicose) que pode limitar suas aplicações clínicas. Tendo isso em vista, algumas diretrizes clínicas consideram os medicamentos à base de cannabis como terapias de terceira ou quarta linha para síndromes de dor neuropática crônica, como alternativas terapêuticas as terapias já estabelecidas (por exemplo, anticonvulsivantes, antidepressivos)(BARON et al., 2018; BHASKAR et al., 2021; MOULIN et al., 2014).

#### 1.4 SISTEMA ENDOCANABINOIDE E FIBROMIALGIA

Primeiramente é importante destacar que os pacientes com FM apresentam um perfil inflamatório de baixo grau, demonstrado pelo estudo de Stensson e colaboradores, nele foi possível observar níveis elevados de lipídios circulantes, além disso foram encontradas altas concentrações de endocanabinoides, como AEA, que sugerem que esses lipídios desempenham um papel na fisiopatologia complexa da FM e podem ser sinais de inflamação de baixo grau em curso na FM (STENSSON; GHAFOURI; ERNBERG, 2018).

Além da caracterização inicial dos endocanabinoides plasmáticos em pacientes com FM, Stensson e colaboradores também (2020) investigaram os níveis de N – aciletanolaminas (atuam em atuam em receptores e enzimas do sistema endocanabinoide) e citocinas em 17 mulheres com dor crônica generalizada. Os níveis plasmáticos de N -oleoiletanolamina e N - palmitoiletanolamina foram significativamente maiores em pacientes com dor crônica generalizada em comparação com controles saudáveis. No entanto não foram observadas alterações nos níveis de citocinas e não foi encontrada correlação entre os níveis de lipídios e citocinas. Além disso, as concentrações de 2-AG foram significativamente maiores em pacientes com FM em comparação com controles (STENSSON et al., 2020).

Nesse sentido, evidências recentes trouxeram à tona o uso de canabinoides como tratamento alternativo para a FM (KHURSHID et al., 2021; MATHUR, 2018). Embora as evidências que apoiam o uso de cannabis em condições de dor crônica sejam abundantes e bem estabelecidas, a aplicabilidade clínica e a segurança não foram

devidamente relatadas na FM (BERGER et al., 2020; WALITT et al., 2016). Por exemplo, o uso de cannabis está associado a alguns riscos significativos, por exemplo, desenvolvimento de dependência e deficiências psiquiátricas e cognitivas (BERGER et al., 2020).

Ademais, poucos estudos pré-clínicos investigaram drogas à base de canabinoides em modelos animais de FM, além de ser difícil recomendar ou interpretar uma dosagem específica uma vez que cada cepa e extrato apresenta uma formulação diferente. Outra dificuldade na prescrição dos derivados canabinoides está na variedade do produto de cannabis e as possíveis vias de administração que forneça a terapia mais eficaz para sintomas relacionados à FM (BOURKE et al., 2022).

#### **1.4.1 Via de administração do canabidiol**

Sabendo que o canabidiol representa uma ótima opção terapêutica para o tratamento das dores crônicas, diferentes formas de administração e entrega foram testadas para seu uso terapêutico, entretanto não existe um consenso com relação a isso (BRUNI et al., 2018). As vias mais estudadas são a oral e a inalatória/fumo, entretanto outras vias também são indicadas, como por exemplo a tópica/transdérmica e a retal (PANLILIO et al., 2016). Além disso, a biodisponibilidade oral do CBD é de cerca de 6%, enquanto a administração através de tabagismo fornece cerca de 2% a 56%. Já a inalação por vaporizador tem um efeito terapêutico rápido, enquanto a ingestão oral tem um efeito mais lento e mais sustentado (JAIN; MOORTHY, 2022).

Tendo isso em vista, a farmacocinética e a dinâmica dos canabinoides variam em função da via de administração, com a absorção apresentando uma maior variabilidade das principais etapas farmacocinéticas. A absorção é afetada tanto pela lipofilicidade intrínseca do produto quanto pelas diferenças inerentes aos tecidos dos órgãos (isto é, alveolar, dérmica versus gástrica)(GROTENHERMEN, 2003). Uma variedade de fatores, como alimentação recente (por via oral) profundidade da inalação, quanto tempo a respiração é mantida e temperatura do vaporizador (para inalação) afetam a absorção de canabinoides, que pode variar de 20-30% para administração oral e até 10-60% para inalação (GROTENHERMEN, 2003).

Perante esse problema a combinação de formulações pode proporcionar uma oportunidade de produzir efeitos sistêmicos rápidos e resultados de longo prazo (como por exemplo uma analgesia mais prolongada). Isso pode ser alcançado com a utilização de sprays de canabinoides intranasais, ou adesivos que proporcionam rápida absorção e

efeitos sistêmicos, como também através da administração transdérmica associada a terpenos potencializam a penetração de CBD e THC. Todas essas possibilidades terapêuticas destacam a importância que recentes desenvolvimentos nas ciências farmacológicas, farmacêuticas e tecnológicas resultem em novas estratégias terapêuticas usando tanto canabinoides conhecidos para novas estratégias terapêuticas quanto derivados sintéticos de canabinoides (BRUNI et al., 2018).

#### 1.4.2 Efeito entourage do extrato de cannabis

Um aspecto importante relacionado com os derivados do *cannabis* está no efeito entourage que esses componentes apresentam. O conceito foi inicialmente descrito pelo grupo de Mechoulam para explicar seus achados experimentais, com base em estudos de canabinoides endógenos sintetizados em vários tecidos do corpo (FRIDE et al., 2003).

Dentro desta premissa foi possível observar que, existia uma "sinergia" que indicavam a atuação de dois ou mais compostos ativos podendo produzir um efeito aditivo. Compostos funcionalmente inativos podem exercer seu 'efeito entourage' por diferentes mecanismos, como prevenir a degradação do ingrediente ativo ou afetar sua ligação a um receptor (ANAND et al., 2021).

Entretanto muito ainda precisa ser desvendado quanto aos efeitos dos canabinoides e outros receptores na mediação da atividade entourage, podendo provavelmente ser complexo. Perante esses argumentos alguns estudos pré-clínicos identificaram *crosstalk* entre agonistas canabinoides e o receptor de dor nociva TRPV1, que é dessensibilizado após a ativação, mostrando assim que os efeitos antinociceptivos podem ter influências mais complexas (CHUNG; JUNG; OH, 2011; JARDÍN et al., 2017). Além disso os endocanabinoide anandamida foi relatado como um agonista total do TRPV1, e a amida de ácido graxo relacionada, palmitoil etanolamida (PEA), potencializou os efeitos mediados pelo TRPV1 de anandamida e capsaicina, do influxo de  $Ca^{2+}$  nas células (ANAND et al., 2021).

Essa sinergia entre os compostos do cannabis pode ser comprovada em um estudo com modelo de dor neuropática em ratos, no qual foi realizado o tratamento oral com um extrato controlado de cannabis, contendo vários canabinoides, como canabigerol, canabichromene, cannabidivarina, ácido canabidiólico e outros componentes menores que incluíam terpenos, esteróis, triglicerídeos, alcanos, esqualeno, tocoferol e carotenóides, quando administrado em uma proporção definida,

proporcionou maior eficácia antinociceptiva do que o único canabinoide administrado sozinho (JANG et al., 2008).

Com isso em mente e dentro do contexto da FM, desenvolvimentos biotecnológicos e técnicas de extração permitiram a produção de extratos e óleos de cannabis quase desprovidos de influência psicomimética devido ao isolamento das substâncias psicoativas (BERGER et al., 2020). Tendo isso em vista a Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança (ABRACE) desenvolveu em óleo de cannabis de amplo espectro quase livre de  $\Delta 9$ -THC demonstrando uma relação CBD:THC de 11:1, mas contém todos os fitoquímicos encontrados na planta, incluindo terpenos, flavonóides e outros fitocanabinoides, como CBD (ASSIS et al., 2021). Assim, o presente óleo poderia modular o sistema endocanabinoide podendo reduzir de efeitos potentes na neurotransmissão nociceptiva, neuroendócrinos e processos inflamatórios (ASSIS et al., 2021; WALITT et al., 2016). Nesse contexto, o presente estudo buscou determinar os efeitos do óleo de cannabis de amplo espectro na FM induzida por reserpina em camundongos, avaliando seus efeitos analgésicos usando diferentes vias de administração.

### 1.5 MODELOS EXPERIMENTAIS DE FIBROMIALGIA

Tendo em vista a importância de novos alvos terapêuticos para doenças com a FM, uma importante ferramenta consiste na utilização de modelos animais. Porém, diferentemente dos modelos animais para dor nociceptiva e neuropática, os quais são amplamente reproduzidos na literatura, os modelos animais de FM ainda não possui um modelo considerado padrão ouro para mimetização das características fisiopatológicas da doença em animais (NAGAKURA et al., 2009).

Entretanto a literatura aponta diversos modelos experimentais, dentre eles: dor induzida por solução salina ácida, dor muscular aumentada por fadiga, depleção de aminas biogênicas, assim como estresse induzido pelo frio e pelo som. Esses modelos produzem hiperalgesia crônica e generalizada, sem danos associados ao tecido periférico, mimetizando os sinais clínicos da doença em humanos (NAGAKURA et al., 2012).

Um dos modelos que mais se assemelha as possíveis fisiopatologias encontradas na FM é o modelo mialgia induzida por reserpina (RIM), além de desenvolver um quadro doloroso também mimetiza algumas das características clínicas relacionadas à doença, tais

como comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso (FAVERO et al., 2019; NAGAKURA et al., 2009).

Outra característica que o modelo RIM demonstra é a sua correspondência com o perfil farmacológico presentes nos pacientes com FM, para tal foram observados que a alodinia mecânica associada ao modelo pode ser revertida com a administração de anticonvulsivantes e antidepressivos, bem como não respondem aos anti-inflamatórios não esteroidais (ARNOLD et al., 2019; FERRARINI et al., 2021).

Tudo isso é possível porque através da reserpina (droga utilizada para indução) é possível se ligar irreversivelmente ao transportador de amina vesicular, sendo capaz de conduzir à diminuição de aminas biogênicas no local sináptico. Além disso, acredita-se que esse modelo promova aumento do catabolismo oxidativo dependente da monoamina oxidase e dos níveis de dopamina e serotonina citosólicos, caracterizando assim um modelo de dor crônica por aminas biogênicas disfuncionais (KAUR et al., 2019). Neste sentido, os efeitos e mecanismos dos medicamentos dentro do contexto da FM podem se beneficiar com a utilização dos modelos experimentais, entretanto existem poucos estudos publicados que investigando o papel do sistema endocanabinoide em modelos animais de FM (BOURKE et al., 2022).

## 2. JUSTIFICATIVA

Atualmente existe uma constante busca em novas opções terapêuticas que minimizem o impacto da FM na qualidade de vida dos pacientes, principalmente no que se refere ao controle do quadro álgico (FERRARINI et al., 2021). Dentro desta temática, o sistema endocanabinoide desempenha um papel importante na mediação da interação entre estresse, dor e imunidade (ELLER-SMITH; NICOL; CHRISTIANSON, 2018). Além disso, os endocanabinoides apresentam efeito analgésico mediado pela estimulação dos receptores periféricos e centrais (DA SILVA SANTOS; GALDINO, 2018). Portanto, fazem-se necessários estudos mais aprofundados acerca do efeito analgésico do cannabis e derivados, elucidando os mecanismos subjacentes a essa propriedade e que podem estar relacionados a modulação da dor no contexto da FM.

Embora os efeitos analgésicos dos derivados canabinoides já estejam bem estabelecidos, seu uso na FM ainda carece de maiores esclarecimentos, principalmente devido à escassez de boas opções de tratamento, sendo o exercício físico o único tratamento avaliado como fortemente comprovado para FM (BERGER et al., 2020; FERRARINI et al., 2021). Nesse sentido, esforços recentes têm sido feitos para elucidar mais opções terapêuticas para esses pacientes (SIRACUSA et al., 2021). Além disso, como citado anteriormente a FM é uma doença de etiologia desconhecida, que afeta componentes do sistema nervoso central e periférico (NEUMEISTER; NEUMEISTER, 2020). Perante isso e as evidências na literatura a FM poderia ser uma síndrome relacionada à “deficiência clínica de endocanabinoides”, uma vez que os níveis de endocanabinoides são mais baixos em pacientes com FM, o que pode contribuir para a manifestação de sintomas clínicos associados à doença (RUSSO, 2016). No entanto, existem poucos estudos publicados que apoiem essa hipótese (BOEHNKE et al., 2022).

Um aspecto importante relacionado com a utilização dos derivados da cannabis é seu potencial entourage, que descreve a atividade sinérgica entre os compostos presente na planta, no qual os compostos ativos podem produzir um efeito aditivo ou maior que os efeitos individuais dos compostos separados. Podendo assim, potencializar o efeito biológico de um composto, tal mecanismo leva o nome de "efeito entourage" (ANAND et al., 2021). Neste sentido, se faz necessário uma abordagem farmacêutica moderna para a administração com a *cannabis*, que podem apresentar uma ampla aplicabilidade para o uso médico e, em seguida, passar para o desenvolvimento de extratos de qualidade controlada, a avaliação completa de seus perfis analíticos e estudos para avaliar a entrega da dosagem correta para efeito terapêutico ideal (KAUR et al., 2019).

De acordo com um estudo recente, poucos ensaios clínicos investigaram os efeitos da cannabis, extratos de cannabis, canabinoides sintéticos e drogas moduladoras de endocanabinoides para o tratamento da FM (BOURKE et al., 2022). Além disso, devido à disparidade e inconsistência nas metodologias e desenhos de estudo, há evidências limitadas de eficácia, tolerabilidade e segurança com o tratamento com canabinoides (BOURKE et al., 2022). Para isso, são necessários estudos que visem as posologias e vias de administração utilizadas que representem potenciais efeitos e ainda mantenham a segurabilidade do tratamento (BOURKE et al., 2022). Com isso em mente, nosso principal objetivo foi avaliar os efeitos do óleo contendo uma alta concentração de CBD em um modelo FM, empregando diferentes vias de administração que pudessem diferenciar entre possíveis efeitos centrais e periféricos (MAFFEI, 2020). Pode-se supor que tal metodologia contribuiria para futuros estudos clínicos e pré-clínicos visando um tratamento mais eficaz e personalizado para os pacientes com FM.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O presente estudo teve como objetivo determinar os efeitos antinociceptivos do óleo de cannabis de amplo espectro no modelo experimental de FM induzida por reserpina em camundongos, avaliando seus efeitos analgésicos em diferentes vias de administração.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

1-Avaliar os efeitos do óleo de cannabis de amplo espectro na alodínia mecânica e sensibilidade térmica induzida pelo modelo de FM;

2-Definir melhor dose resposta para os efeitos analgésicos do óleo de cannabis de amplo espectro entre 0.1, 1 ou 3 mg/kg;

3-Determinar os efeitos analgésicos do óleo de cannabis de amplo espectro administrado via oral de forma aguda ou crônica no modelo experimental de FM;

4-Estudar a administração i.c.v., i.pl. e i.t. do óleo de cannabis de amplo espectro no contexto da alodinia mecânica e hiperalgesia térmica ao calor e frio no modelo de FM;

5-Investigar os efeitos da administração do óleo de cannabis de amplo espectro durante 10 dias por via oral e estudar seus efeitos no comportamento tipo-ansioso, tipo-depressivo e locomotor no modelo de indução de FM.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Drogas e reagentes

A reserpina foi adquirida da Sigma Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, EUA); Lyrica® (pregabalina) foi adquirido da Pfizer (Nova York, NY, EUA). A reserpina foi diluída em 0,5% tween 80 (v/v em solução tamponada com fosfato; PBS) e a pregabalina em solução salina (0,9% NaCl). O óleo de cannabis de amplo espectro foi diluído com óleo de triglicerídeos de cadeia média (MCT).

### 4.2. Óleo de cannabis de amplo espectro

O óleo de cannabis de amplo espectro foi produzido e disponibilizado pela Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança, Paraíba – Brasil/Cadastro Nacional de Pessoas Jurídicas – CNPJ sob o número 23.877.015/0001–38. A análise cromatográfica foi realizada e publicada em um estudo anterior e relatou uma proporção de CBD:  $\Delta$ 9-THC de 11:1 e canabinoides totais de 40,2% (15 mg de CBD em 1 ml de óleo) (ASSIS et al., 2021). Em relação à avaliação microbiológica, o óleo estava dentro dos parâmetros de qualidade vigentes (ASSIS et al., 2021).

### 4.3. Animais

Os experimentos foram realizados em camundongos Swiss fêmeas uma vez que a doença é mais prevalente em mulheres, pesando entre 30–40 g, com idade de 60 a 120 dias, ao todo foram utilizados um total de 120 animais. Os animais foram obtidos do biotério central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas de plástico (máximo 15 animais/gaiola, dimensões 49 x 34 x 16 cm ou máximo 05 animais/gaiola dimensões 32 x 20 x 21), localizadas no biotério setorial BIO ARA de camundongos do Departamento de Ciências da Saúde/CTS/ARA/UFSC, que possui ambiente climatizado – ar condicionado *split* – ajustado para  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas (07h00min/19h00min). A água potável e ração comercial foram oferecidas *ad libitum*. Foi utilizada maravalha fornecida pelo Biotério Central da UFSC. Os procedimentos empregados no presente estudo tiveram aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais/UFSC (CEUA nº 2572210218 – Anexo I). O número de animais utilizados e a intensidade dos estímulos nocivos foram os mínimos necessários para demonstrar a instalação dos processos algícos. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos conforme a normatização atual do CONCEA e da CEUA/UFSC, assim como está embasado no princípio dos 3Rs (substituição, redução e refinamento). Os experimentos foram

conduzidos sempre nos mesmos horários (entre 7:00 da manhã e 17:00 da tarde) para redução do estresse e ambientação dos animais aos protocolos propostos. Os procedimentos seguiram as diretrizes de manejo animal “*Laboratory Guidelines for Animal Care*” (COUTO; CATES, 2019). A pontuação da condição corporal de camundongos (ULLMAN-CULLERÉ; FOLTZ, 1999) e o *Grimace Scale* (MILLER; LEACH, 2016) foram utilizados para o controle do bem-estar animal, assim como avaliação de dor espontânea.

#### **4.4. Modelo de depleção de amina biogênica**

A indução da FM foi realizada utilizando o modelo proposto por Nagakura e colaboradores de depleção de aminas biogênicas em camundongos. Para isso, 0,25 mg/kg de reserpina, entretanto a reserpina foi dissolvida em 0,5% de tween 80 (água destilada e 0,5% de tween 80) diferentemente do método proposto por Nagakura, esse método já foi estabelecido em estudos anteriores (FERRARINI et al., 2021; MARTINS et al., 2022). A reserpina foi injetada por via subcutânea (s.c.) uma vez ao dia durante três dias consecutivos em um volume de 10 ml/kg conforme relatado por Nagakura et al. (2009) e posteriormente adaptado para camundongos (BORTALANZA et al., 2002; FERRARINI et al., 2021).

#### **4.5. Design experimental**

Primeiramente, foi avaliada os efeitos da administração oral (p.o.) com óleo de cannabis de amplo espectro em camundongos reserpinizados para a indução da FM, neste sentido foi realizado um tratamento com o óleo em uma única administração comparando três doses diferentes de 0,1, 1 e 3 mg/kg, no final da indução. Além disso, foi realizado um controle positivo com pregabalina 30 mg/kg, p.o., também em uma única administração, a pregabalina é uma medicação amplamente utilizada no tratamento da FM e em estudos anteriores foram utilizadas em camundongo com modelo de RIM(FERRARINI et al., 2021; MARTINS et al., 2022). Além de um grupo que recebeu administração de veículo contendo MCT. A alodinia mecânica e a hiperalgesia térmica ao frio foram avaliadas antes da indução (linha de base), antes do tratamento (0 h) e após 30 min, 1, 2, 3 e 4 h após a administração do tratamento (no dia seguinte ao final da indução – dia quatro). A hiperalgesia térmica ao calor também foi avaliada no basal, 0 h, e após duas horas de tratamento (Figura 10 – A).

Em segundo lugar, foi avaliada a administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro por quatro dias consecutivos (1, 2 e 3º dia de indução e no 4º dia) na

dose de 0,1 mg/kg, foi avaliada a alodinia mecânica basal, 0 h, e após 30 min, 1, 2, 3 e 4 h de tratamento. Além disso, a hiperalgesia térmica ao frio e ao calor também foi analisada no basal, 0 h, e após duas horas de tratamento (Figura 10 – B).

Posteriormente, três experimentos independentes foram realizados para avaliar a administração de óleo de cannabis de amplo espectro (ou veículo) por via intraplantar (i.pl.) – 100 µg/i.pl. (Figura 10 – C), intratecal (i.t.) – 1 µg/i.t. (Figura 10 – D), ou intracerebroventricular (i.c.v.) – 2 µg/i.c.v. (Figura 10 – E). Uma dose única de óleo de cannabis de amplo espectro foi administrada no quarto dia após a primeira administração de reserpina e, após isso, a alodinia mecânica foi avaliada no basal, 0 h, e após 30 min, 1, 2, 3 e 4 h de tratamento. Além disso, a hiperalgesia térmica ao frio e ao calor foi analisada no basal, 0 h e após duas horas de tratamento.

Por fim, foi realizado um protocolo para avaliar os efeitos da administração crônica de óleo de cannabis de amplo espectro (1 mg/kg, p.o., diariamente). O grupo controle não tratado recebeu veículo (p.o., diariamente), ou o grupo controle positivo recebeu pregabalina 30 mg/kg, p.o., todos os dias. O tratamento começou no quarto dia (após a primeira administração de reserpina) e continuou por dez dias consecutivos. As avaliações dos testes comportamentais foram realizadas em todos os grupos antes do dia 0 para obter os limiares táteis e térmicos da linha de base. Posteriormente, nos dias 0, 3 (antes do tratamento), 4, 5, 6, 9, 11, 13 e 14 pós-indução com reserpina, os animais foram submetidos aos seguintes testes comportamentais: (i) hipersensibilidade mecânica / *Von Frey* – dias 0, 3, 4, 9 e 14; (ii) estimulação térmica ao frio / instilação plantar de acetona – dias 0, 3, 4, 9 e 14; (iii) estimulação térmica ao calor / *tail flick* – dias 0, 3, 4, 9 e 14; (iv) comportamentos passivos de enfrentamento do estresse no teste de suspensão de cauda – dias 6 e 13; (v) comportamento anedônico no teste do labirinto em cruz elevado – dias 5 e 12; (vi) comportamento anedônico no *splash* teste – dias 5 e 12; e (vii) comportamento exploratório no teste de campo aberto – dias 4 e 14 (Figura 10 – E).

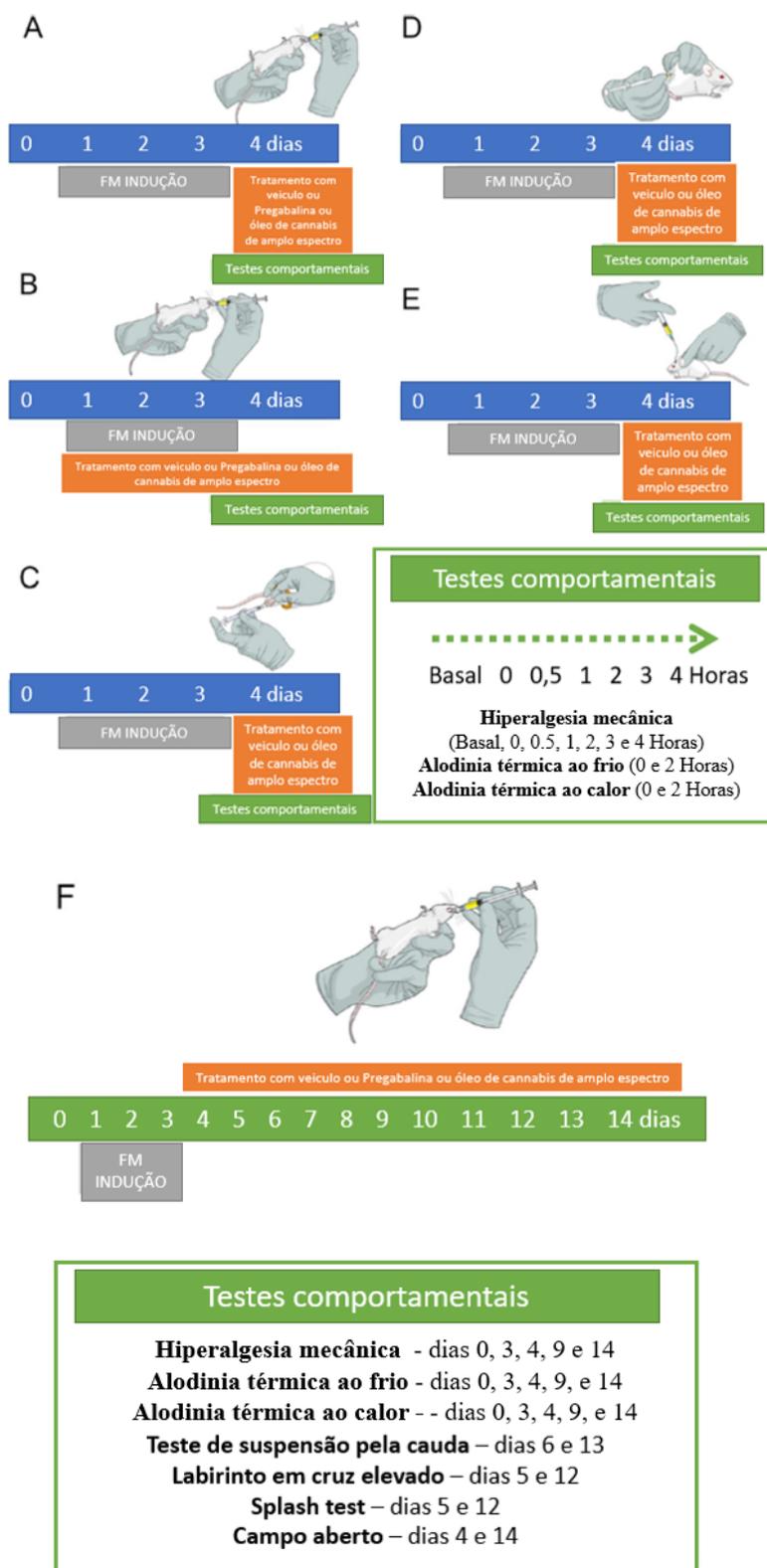


Figura 10 – Desenho experimental.

Desenho experimental - (A) O tratamento com óleo de cannabis de amplo espectro foi realizado durante quatro dias em doses de 0,1, 1 e 3 mg/kg, uma vez ao dia, p.o. por 4 dias. (B) O tratamento com óleo de cannabis de amplo espectro foi realizado em doses de 0,1 mg/kg, uma vez ao dia, p.o. (C) O tratamento

com óleo de cannabis de amplo espectro foi realizado, uma vez ao dia, 100 µg/i.pl. (D) O tratamento com óleo de cannabis de amplo espectro foi realizado, uma vez ao dia, 1 µg/i.t. (E) O tratamento com óleo de cannabis de amplo espectro foi realizado, uma vez ao dia, 2 µg/i.c.v. (F) Tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro por 10 dias, 1 mg/kg diariamente p.o.

## **4.6. Testes comportamentais**

### **4.6.1. Teste de *Von Frey***

A avaliação da hipersensibilidade mecânica consistiu na utilização dos filamentos de *Von-Frey*, no qual o limiar nociceptivo das patas traseiras foi mensurado. Para isso, os animais foram colocados em gaiolas de teste com um piso aramado e foram mantidos nesse local para habituação durante pelo menos 30 minutos. Foram utilizados os filamentos de Von Frey (avaliadores sensoriais Touch-Test®, NC12775-99, North Coast Medical Inc, San Jose, CA, EUA) de 0,4g na pata traseira esquerda. A avaliação consistiu no método de frequência de retirada, no qual, são realizados dez estímulos na pata do animal (com 3 segundos de intervalo entre eles) gerando valor percentual de retirada da pata (BORTALANZA et al., 2002; FERRARINI et al., 2021), a avaliação ocorreu em diferentes momentos (0, 3, 4, 9 e 14 dias pós-indução).

### **4.6.2. Teste de acetona**

O teste de acetona avaliou hiperalgesia ao frio. Usando uma seringa plana, aplicamos 20 µl de acetona na superfície plantar da pata traseira de cada camundongo através do piso de malha metálica e observamos suas respostas. As respostas foram monitoradas por 20 segundos após a aplicação de acetona e pontuadas em uma escala de quatro pontos, conforme descrito anteriormente (FLATTERS; BENNETT, 2004). Por exemplo, 0 = sem resposta; 1 = retirada rápida, movimento ou batida da pata; 2 = retirada prolongada ou sacudidas repetidas da pata; 3 = sacudidas repetidas da pata com lambidas persistentes direcionadas para o lado ventral da pata. As pontuações cumulativas foram então obtidas calculando as três pontuações de cada camundongo e dividindo por cinco, que era o número de ensaios (DEUIS; DVORAKOVA; VETTER, 2017).

### **4.6.3. Tail Flick**

O teste consiste em uma breve imersão da cauda em água quente ( $48 \pm 1$  °C) para medir a latência do limiar térmico, a ponta da cauda do animal era submersa na

água e o tempo ao qual o animal demorava para vocalizar ou responder era cronometrado (MARTINS et al., 2022). A latência da linha de base de 10 segundos foi determinada antes do teste e as latências de retirada foram medidas manualmente com auxílio de um cronômetro.

#### **4.6.4. *Splash test***

Este teste é baseado na avaliação do comportamento de autolimpeza, e assim avalia a capacidade de autocuidado dos animais que podem desenvolver sintomas do tipo-depressivo e anedônico gastaram menos tempo com a limpeza e ficaram mais imóveis. Resumidamente, a solução de sacarose (200 µl de 10%) foi esguichada na pelagem dorsal de cada camundongo, induzindo o comportamento de limpeza. O tempo e o número de grooming foram registrados por 5 minutos como a proporção de autocuidado e comportamentos motivacionais (DA SILVA SANTOS; GALDINO, 2018; DE SOUZA et al., 2021).

#### **4.6.5. Teste de suspensão de cauda**

Os comportamentos/estratégias de enfrentamento a um estresse agudo e inescapável foram avaliados usando o teste de suspensão da cauda (TST). Cada camundongo foi suspenso 50 cm acima do chão, e um pequeno pedaço de fita adesiva em um bastão de madeira próximo ao final da cauda dos camundongos cerca de 2 cm, e uma barreira cercava a visão dos camundongos. O teste durou 6 minutos o tempo total de imobilidade e o número de imobilidades foram avaliados. Os camundongos foram considerados imóveis quando mostraram desapego em escapar da situação adversa, que os camundongos pararam de lutar para superar a posição anormal e ficaram quase imóveis ou completamente imóveis após um período de atividade de luta (SHAKIBA et al., 2019).

#### **4.6.6. Teste do labirinto em cruz elevado**

O labirinto em cruz elevado (LCE) foi executado de acordo com o protocolo descrito em trabalhos anteriores (ASSIS et al., 2021). Neste teste são avaliados os comportamentos tipo ansioso e o enfrentamento ao estresse. O aparato consistia em dois braços abertos (35 cm x 5 cm) e dois braços fechados (35 cm x 5 cm x 15 cm) que se estendiam de uma plataforma central (6 cm x 6 cm). Todo o labirinto foi elevado a uma altura de 50 cm acima do chão. Os camundongos foram alocados individualmente em

um braço aberto voltado para o centro do labirinto, e o número de entradas e o tempo gasto em ambos os braços foram registrados por 5 min. O aumento do percentual de entradas e a redução do tempo gasto nos braços abertos foram considerados perfis ansiolíticos. O aparato foi limpo após a avaliação de cada animal com solução de etanol a 10% (ASSIS et al., 2021).

#### **4.6.7. Teste de campo aberto**

Para descartar a influência do tratamento com óleo de cannabis de amplo espectro desenvolver efeitos relaxantes musculares e sedativos inespecíficos durante o modelo FM que pudessem interferir na atividade locomotora, usamos aparelhos de campo aberto (40 cm × 60 cm × 50 cm). Esse aparato consiste em uma caixa na qual o animal poderia percorrer livremente e no chão do aparelho continha quadrantes demarcados para facilitação da contagem de quadrantes percorridos. O tempo no qual o animal andava pelo aparato e explorava o ambiente foram contados manualmente e o número de quadrantes percorridos foram avaliados por 5 minutos (DA SILVA SANTOS; GALDINO, 2018). O aparato foi limpo após cada animal ser avaliado com solução de etanol a 10% (FERRARINI et al., 2021).

#### **4.7. Análise estatística**

Os resultados são expressos como a média ± erro padrão da média (SEM). Os resultados foram analisados por um modelo misto ANOVA de uma via ou de duas vias. A normalidade e a homogeneidade foram avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Análise de variância (ANOVA) unidirecional (taxa de inibição e teste comportamental) e bidirecional (avaliação da dor) seguida de post-hoc de Bonferroni foram realizadas para analisar as diferenças entre os grupos experimentais e comparadas com o grupo controle. Valores de  $p < 0,05$ ,  $< 0,01$  e  $< 0,001$  foram considerados estatisticamente significantes. Os dados foram analisados usando o software GraphPad Prism versão 9.4.0 para Windows (San Diego, CA, EUA).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Efeitos da administração de dose oral de óleo de cannabis de amplo espectro na nociceção evocada por reserpina

Primeiro, para avaliar o efeito terapêutico da administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro na nociceção de animais injetados com reserpina, o limiar tátil foi medido usando o teste de *Von Frey*. Neste estudo, a administração de reserpina (0,25 mg/kg, s.c.) induziu uma pronunciada hipersensibilidade mecânica após quatro dias. Nesse sentido, a administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro (0,1, 1 e 3 mg/kg, p.o.) em dose única no 4º dia inibiu a alodinia mecânica após duas horas de tratamento (ANOVA de duas vias [F (4, 25) = 8,87, p < 0,01]) (Figura 11 - A), com inibições (área sob a curva) de 45%, 42% e 39% para doses de 0,1, 1 e 3 mg/kg, respectivamente (ANOVA de uma via e efeito do tratamento [F (4, 85) = 4,47, \*\*\*p < 0,001] (Figura 11 - B). Além disso, tratamento durante quatro dias com óleo de cannabis de amplo espectro (0,1 mg/kg, p.o.) reduziu a alodinia mecânica induzida por reserpina 1 h após a sua administração (ANOVA de duas vias [F (12, 147) = 2,55, p < 0,05]) (Figura 12 - A) - inibição de 23% (ANOVA de uma via tamanho do efeito [F (2, 12) = 147,7, \*\*\*p < 0,001]) (Figura. 12 - B). Curiosamente, uma única administração de óleo de cannabis de amplo espectro (0,1 mg/kg, p.o.) reverteu os efeitos nociceptivos causados pela reserpina na hiperalgesia térmica fria após duas horas de tratamento (ANOVA de duas vias [F (4, 25) = 5,39, \*\*\*p < 0,01]) (Figura 11 - C e D). No entanto, não foram observados efeitos significativos na hiperalgesia térmica ao calor com óleo de cannabis de amplo espectro (Figura 11 e Figura 12 - E). Além disso, o tratamento oral de quatro dias com o óleo não demonstrou efeitos significativos na hiperalgesia ao frio (Figura 12 - C e D).

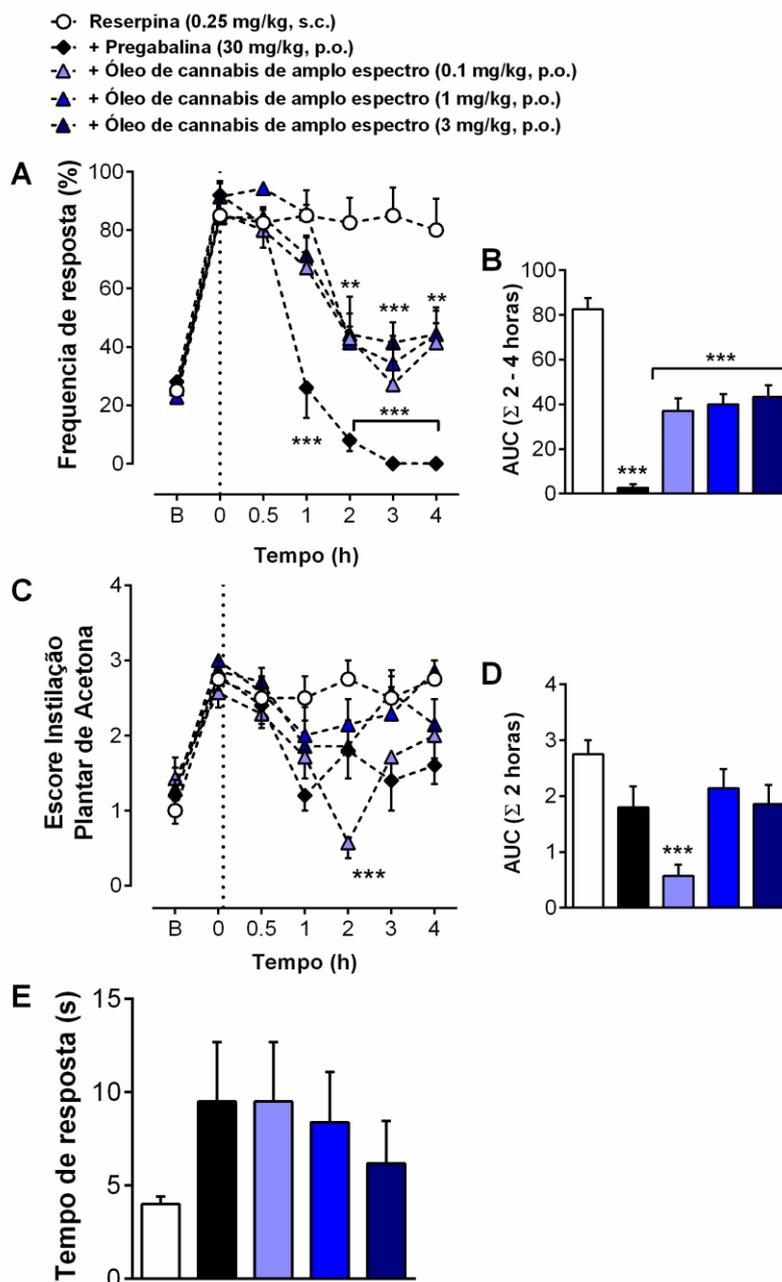


Figura 11 – Efeitos da administração oral com tratamento por 4 dias com óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM

Efeitos anti-hiperalgésicos do óleo de cannabis oral de amplo espectro durante o modelo de reserpina - Tratamento oral com óleo de cannabis de amplo espectro em doses de 0,1, 1 e 3 mg/kg por quatro dias. (A) Teste de Von Frey, (B) área sob a curva de teste de Von Frey, (C) Teste de acetona, (D) Estão sob a curva de teste de acetona e (E) Tail Flick. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de cinco e oito camundongos/grupo e são representativos de dois experimentos independentes. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni). AUC: área sob a curva.

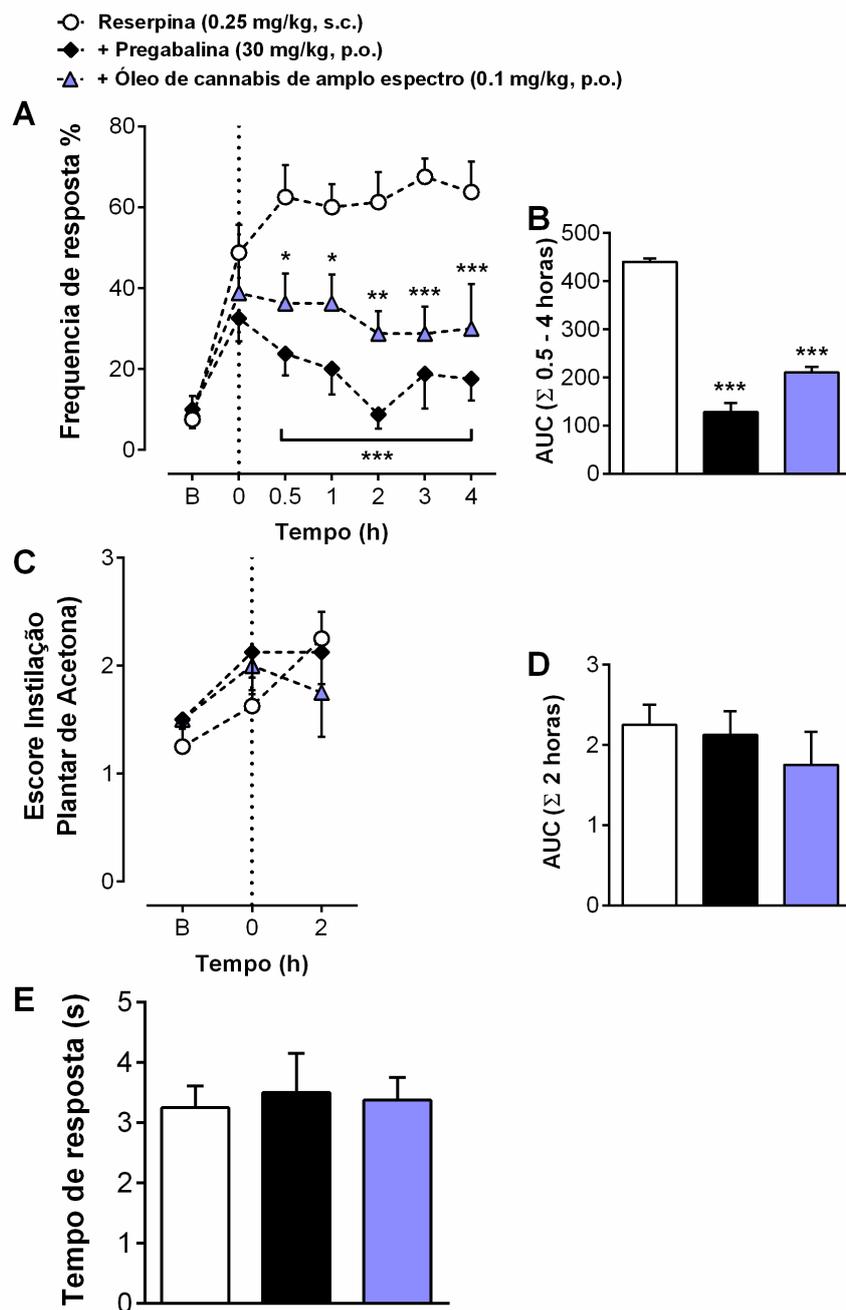


Figura 12 – Efeitos da administração oral com tratamento dose única do óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM

Tratamento de dose única no dia quatro por via oral com óleo de cannabis de amplo espectro na dose de 0,1 mg/kg (A) teste de Von Frey, (B) Área sob a curva do teste de von Frey, (C) teste de acetona, (D) Área sob a curva de teste de acetona e (E) teste de retirada da cauda. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de cinco e oito camundongos/grupo e são representativos de dois experimentos independentes. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni). AUC: área sob a curva.

## 5.2. Efeitos do tratamento intraplantar com óleo de cannabis de amplo espectro na nocicepção induzida pela administração de reserpina

A administração de reserpina induziu uma diminuição significativa no limiar nociceptivo mecânico e térmico em comparação com o grupo tratado com veículo. Portanto, a fim de investigar os efeitos da administração intraplantar de óleo de cannabis de amplo espectro (100 µg) sobre os efeitos nociceptivos de animais injetados com reserpina, o tratamento foi realizado no quarto dia (Figura 13).

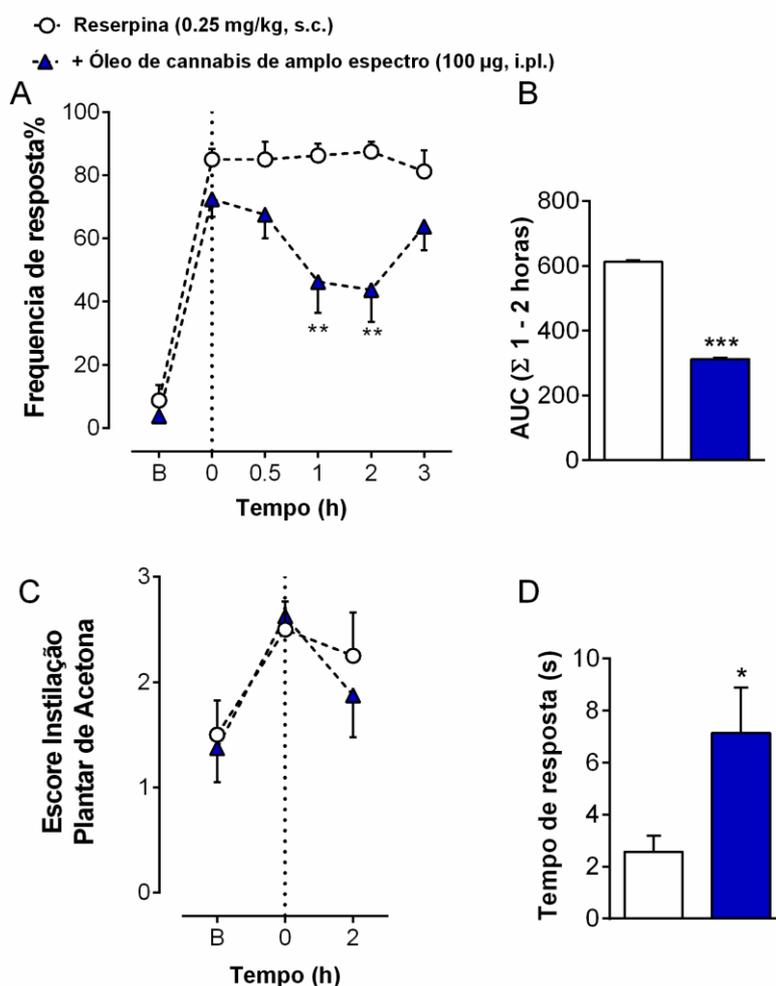


Figura 13 – Efeitos do tratamento intraplantar com óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM induzido por reserpina

Efeitos anti-hiperalgésicos do óleo de cannabis de amplo espectro intraplantar durante o modelo de reserpina - Tratamento de dose única no quarto dia de óleo de cannabis de amplo espectro a uma dose de 100 µg, (A) teste de *Von Frey*, (B) área sob a curva de teste de *Von Frey*, (C) teste de acetona e (D) *Tail Flick*. Cada linha/coluna representa a média ± SEM de oito camundongos/grupo e é representativa de dois experimentos independentes. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (ANOVA)

unidirecional e bidirecional da variância da análise seguida pelo teste post hoc de Bonferroni). AUC: área sob a curva.

O tratamento intraplantar com óleo de cannabis de amplo espectro reverteu significativamente a nocicepção mecânica induzida pela injeção de reserpina após 1 e 2 h de tratamento (ANOVA de duas vias;  $[F(5, 84) = 37,15, p < 0,01]$ , Figura 13 - A), com inibição de 61% (ANOVA de uma via do efeito do tratamento;  $[F(2, 2) = 1,00, p < 0,001]$ , Figura 13 - B). Também foi possível observar que o óleo via intraplantar proporcionou reversão dos efeitos nociceptivos da reserpina na hiperalgesia térmica ao calor (ANOVA de duas vias;  $[F(2, 42) = 5,91, p < 0,05]$ , Figura 13 - D), embora o mesmo efeito não possa ser observado no limiar nociceptivo térmico ao frio (Figura 13 - C).

### **5.3. Efeitos da administração intratecal e intracerebroventricular de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo FM**

Posteriormente, para avaliar os efeitos da administração direta do óleo no SNC, duas vias de administração foram avaliadas neste modelo de reserpina, administração intratecal e intracerebroventricular, nas doses de 1  $\mu\text{g}$  e 2  $\mu\text{g}$  do óleo, respectivamente. Foi possível avaliar que a administração i.t. reverteu os efeitos nociceptivos mecânicos causados pela reserpina após 30 min de administração de óleo de cannabis de amplo espectro (ANOVA de duas vias,  $[F(1, 10) = 9,96, p < 0,001]$ , Figura 14 - A). Este fato pode ser confirmado com a análise da área sob a curva que mostrou inibição da alodinia em 27% (ANOVA de um fator do efeito do tratamento  $[F(3, 3) = 15,40, p < 0,01]$ , Figura 14 - B). Outro aspecto importante foi que o óleo via i.t. também mostrou efeitos moduladores nas vias nociceptivas calor-térmicas (ANOVA de duas vias,  $[F(2, 20) = 53,89, p < 0,05]$ , Figura 14 - D), mas não nas vias frio-térmicas (Figura 14 - C).

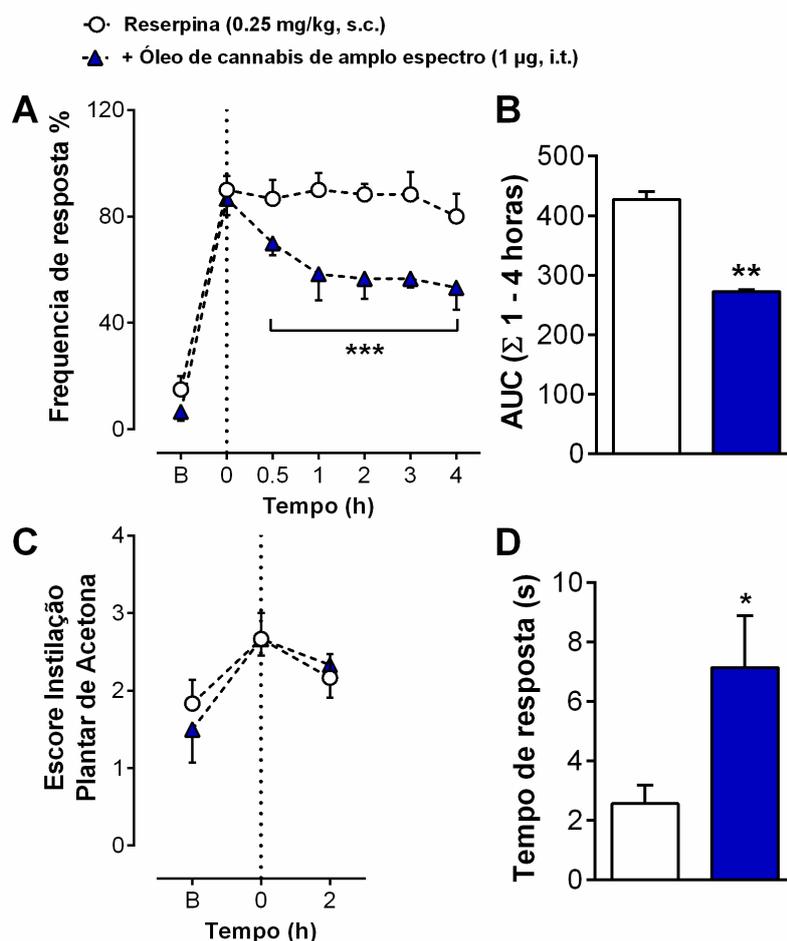


Figura 14 - Efeitos da administração intratecal do óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo FM

Efeitos anti-hiperalgésicos da administração intratecal do óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo de reserpina - Tratamento de dose única no quarto dia de óleo de cannabis de amplo espectro. Os efeitos da injeção intratecal em (A) teste de *Von Frey*, (B) área sob a curva do teste de *Von Frey*, (C) teste de acetona e (D) *Tail Flick*. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de oito camundongos/grupo e é representativa de dois experimentos independentes. \*\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni). AUC: área sob a curva.

Curiosamente, a administração i.c.v. só teve efeitos analgésicos após 3 h de tratamento com óleo (ANOVA de duas vias;  $[F(6, 72) = 28,96, p < 0,001]$ , Figura 15 - A), mostrando uma taxa de inibição de 43% (ANOVA de uma via efeito do tratamento,  $[F(2, 69) = 0,68, p < 0,001]$ , Figura 15 - B), além disso, não foram observados efeitos desta administração nas vias nociceptivas térmicas (Figura 15 - C e D).

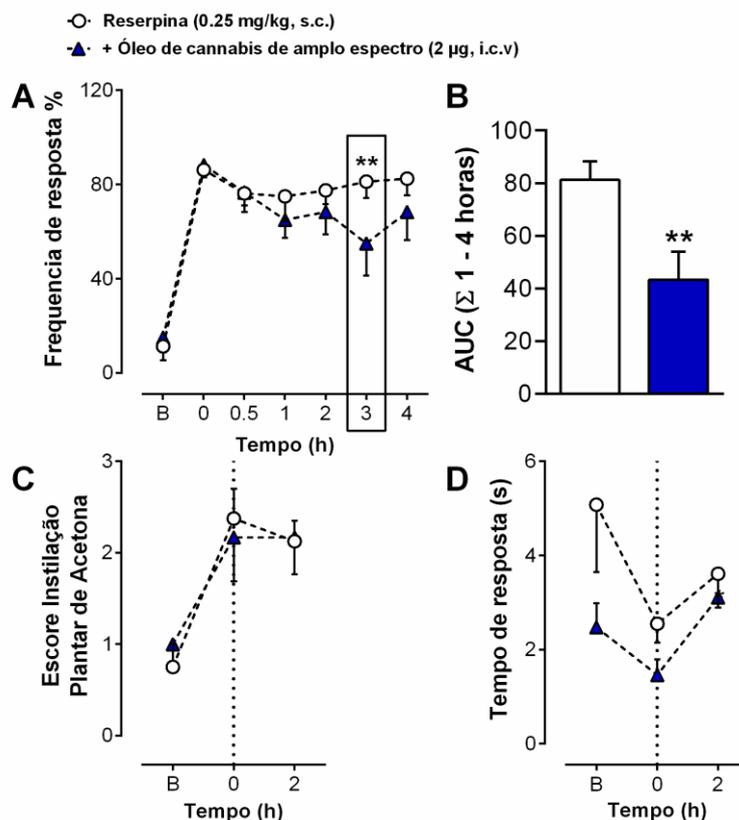


Figura 15 - Efeitos da administração intracerebroventricular de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo FM

Efeitos anti-hiperalgésicos da administração intracerebroventricular do óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo de reserpina - Tratamento de dose única no quarto dia de óleo de cannabis de amplo espectro. Os efeitos da injeção intracerebroventricular em (A) teste de *Von Frey*, (B) área sob a curva do teste de *Von Frey*, (C) teste de acetona e (D) *Tail Flick*. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de oito camundongos/grupo e é representativa de dois experimentos independentes. \*\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni). AUC: área sob a curva.

#### 5.4. Efeitos do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro na nocicepção e distúrbios comportamentais após a administração de reserpina

Por fim, foram avaliados os efeitos da administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro por dez dias consecutivos e sua ação sobre possíveis alterações nociceptivas e distúrbios comportamentais relacionados à indução de fibromialgia pela reserpina. O teste de *Von Frey* demonstrou que após um dia de tratamento o óleo promoveu analgesia mecânica (ANOVA de duas vias;  $[F(2, 21) = 72,03, p < 0,001]$ , Figura 16 – A), relacionando uma taxa de inibição de 45 % (ANOVA de uma via tamanho do efeito,  $[F(2, 69) = 0,68, p < 0,001]$ , Figura 16 - B), no entanto, não

demonstrou efeitos significativos a longo prazo nas alterações nociceptivas térmicas (Figura 16 – C e D).

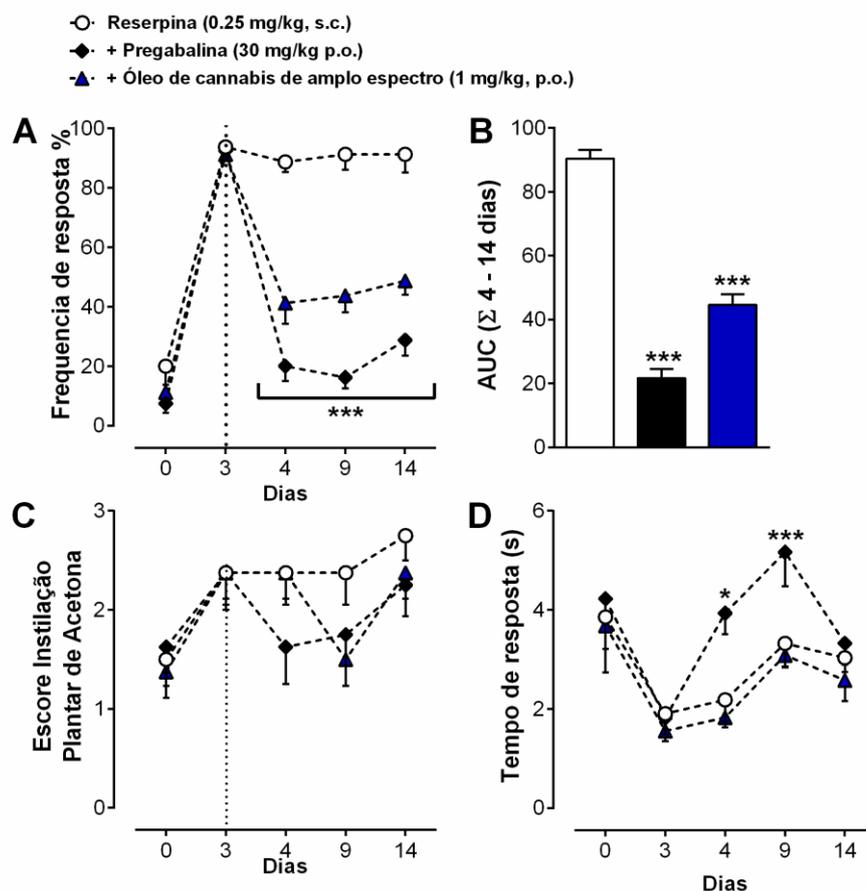


Figura 16 - Efeito analgésico do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro após a administração de reserpina

Efeitos anti-hiperalgésicos da administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo de reserpina por 10 dias - Os efeitos da administração do oral crônico em (A) teste de *Von Frey*, (B) área sob a curva de teste de *Von Frey*, (C) Teste de acetona, (D) *Tail Flick*. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de oito camundongos/grupo e é representativa de dois experimentos independentes. \*\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni e ANOVA unidirecional). AUC: área sob a curva.

Curiosamente, o tratamento de amplo espectro com óleo de cannabis demonstrou efeitos significativos no comportamento anedônico no segundo dia de tratamento, aumentando o tempo e o número de grooming (ANOVA de uma via tamanho do efeito [F (5, 42) = 0,67 e F (5, 42) = 0,19 respectivamente,  $p < 0,05$ ], Figura 17 – A e B), além de diminuir o comportamento do tipo depressivo pela redução do tempo de imobilidade

no TSC (ANOVA de uma via tamanho do efeito [  $F(5, 42) = 6,90, p < 0,05$ ], Figura 17 – D). No entanto, não foi possível observar os efeitos do óleo nas demais avaliações (Figura 17 – C).

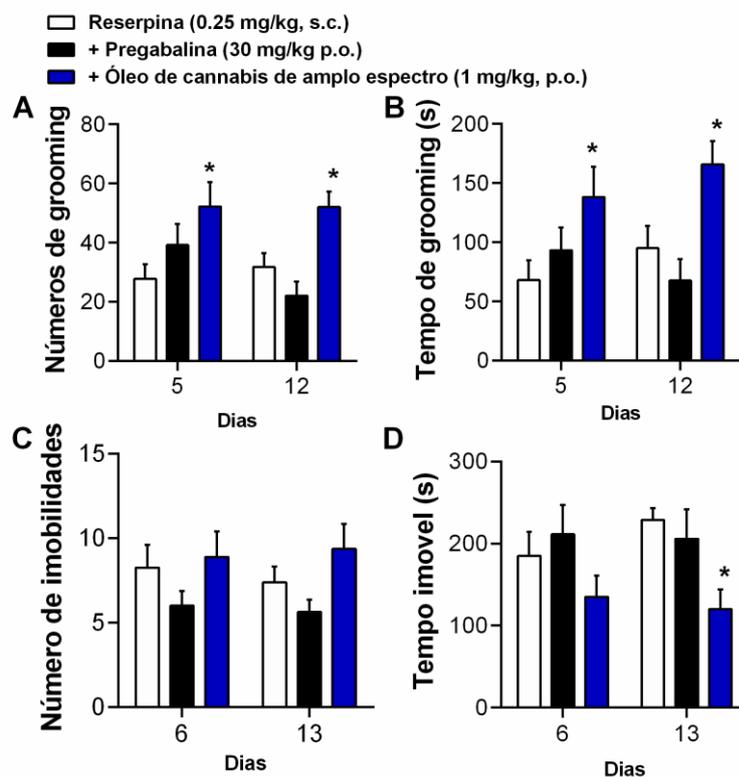


Figura 17 – Efeito do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro após a administração de reserpina no comportamento anedônico e tipo-depressivo.

Efeitos comportamentais anedônico e tipo-depressivo da administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo de reserpina por 10 dias - Os efeitos da administração do oral crônico em (A e B) Comportamento anedônico em número e tempo de grooming, (C e D) Teste de suspensão de cauda e seus efeitos sobre o número de imobilidade e no tempo imóvel. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de oito camundongos/grupo e é representativa de dois experimentos independentes. \*\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,01$  e \*\*\*\* $p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni e ANOVA unidirecional). AUC: área sob a curva.

Ademais, não foi possível observar efeitos significativos da administração do óleo no comportamento do tipo ansioso (Figura 18 – A e B e C). Além disso, também foi possível esclarecer que a administração de óleo não interferiu nas atividades locomotoras (Figura 18 – D).

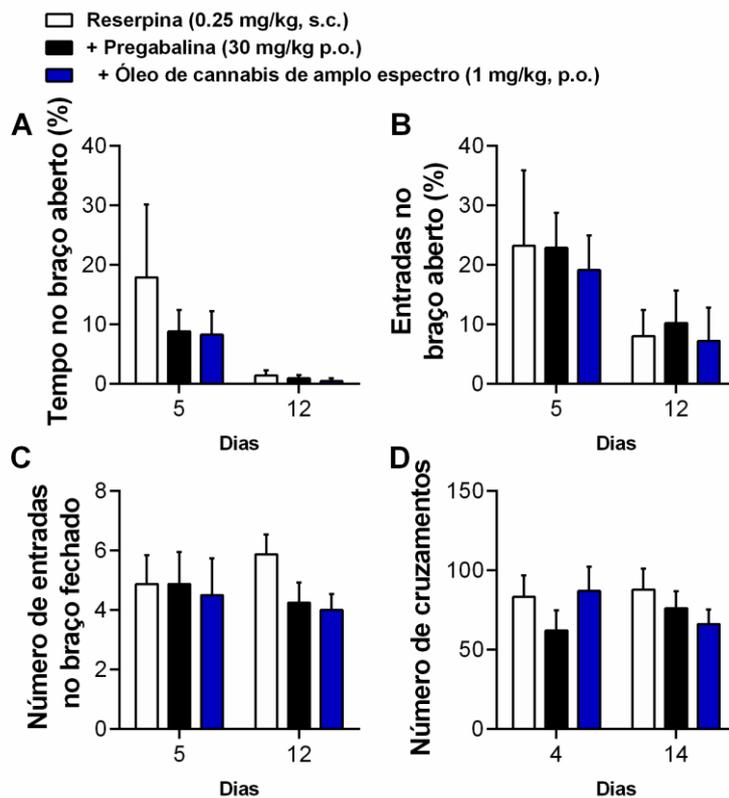


Figura 18 - Efeito do tratamento crônico com óleo de cannabis de amplo espectro nas alterações comportamentais após a administração de reserpina.

Efeitos comportamentais da administração oral de óleo de cannabis de amplo espectro durante o modelo de reserpina por 10 dias no comportamento tipo-ansioso e na atividade locomotora (A, B e C) - Labirinto Cruzado Elevado, porcentagem de tempo e porcentagem de entradas de braços abertos, e número de vezes em braços fechados e, (D) Números de cruzamentos de teste de campo aberto. Cada linha/coluna representa a média  $\pm$  SEM de oito camundongos/grupo e é representativa de dois experimentos independentes.  $**p < 0,05$ ,  $**p < 0,01$  e  $***p < 0,001$  vs. grupo reserpina (análise de variância ANOVA unidirecional e bidirecional seguida pelo teste post hoc de Bonferroni e ANOVA unidirecional). AUC: área sob a curva.

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos do óleo de cannabis de amplo espectro no modelo de FM induzida por reserpina em camundongos. Um dos resultados notáveis obtidos aqui é que o óleo de cannabis de amplo espectro, independentemente da via de administração, foi eficaz na reversão da alodinia mecânica induzida pela reserpina em camundongos. Além disso, a administração crônica de óleo reverteu o comportamento nociceptivo mecânico e térmico (calor) induzido pela reserpina e atenuou o comportamento passivo de enfrentamento do estresse induzido pela reserpina e o comportamento de menor autocuidado em camundongos.

Primeiramente, demonstramos que as injeções de reserpina induzem comportamentos nociceptivos mecânicos e térmicos e do tipo depressivo em camundongos fêmeas. Nesse sentido, a reserpina mimetiza uma condição complexa encontrada em pacientes com FM, que envolve disfunção e depleção de aminas biogênicas no SNC (FERRARINI et al., 2021; MARTINS et al., 2022). Vale ressaltar que múltiplos polimorfismos genéticos afetam a transmissão e o processamento da dor por meio de mecanismos serotoninérgicos, catecolaminérgicos e dopaminérgicos que podem desempenhar um papel importante na etiologia da FM (MARTINS et al., 2022; SIRACUSA et al., 2021). Além disso, o presente estudo observou que camundongos injetados com reserpina apresentaram alodinia mecânica, condição predominantemente observada em pacientes “fibromiálgicos”. Pacientes com FM apresentam uma condição chamada de sensibilização central e modulação anormal da dor, que parece ser o principal mecanismo que causa hipersensibilidade a estímulos dolorosos e redução da inibição da dor descendente (STAUD; RODRIGUEZ, 2006). Aqui, demonstramos que o óleo de cannabis de amplo espectro atenuou a alodinia mecânica induzida pela reserpina. De encontro com nossos achados, Gregorio e colaboradores (GREGORIO et al., 2019) demonstraram que a administração de CBD por via intravenosa (0,1-1 mg/kg) e subcutânea (5 mg/kg/dia por 7 dias) induziu analgesia mecânica em modelos de dor neuropática. Vale ressaltar que os autores demonstraram evidências de que tais efeitos ocorreram por meio da ativação do TRPV1 e pela potencialização da neurotransmissão serotoninérgica. Além disso, os pacientes com FM podem ter o processamento da dor potencialmente prejudicado devido a alterações na conectividade e nos níveis funcionais das concentrações de neurotransmissores inibitórios e excitatórios nas regiões de processamento da dor do cérebro (SCHMIDT-WILCKE; DIERS, 2017). Assim, os pacientes com FM são mais sensíveis a estímulos, como calor e frio e pressão mecânica.

Esses estímulos provocam uma resposta dolorosa que de outra forma não seria desencadeada em indivíduos saudáveis (BERGER et al., 2020).

O tratamento com o controle positivo demonstrou redução do quadro algico, entretanto não demonstrou efeitos significativos no controle das alterações comportamentais observadas no splash test, no teste de suspensão pela cauda e no labirinto em cruz elevado. Tais resultados vão de acordo aos dados publicados na literatura, que demonstram o exercício físico apresentando resultados superiores que a pregabalina (30 mg/Kg durante 8 semanas por via oral) no teste de suspensão pela cauda no mesmo modelo (FERRARINI et al., 2021). Além disso, clinicamente a pregabalina demonstra ter 86,8% de resposta em reduzir o quadro algico dos pacientes com FM e resultados limitados para controle dos sintomas depressivos (FARAG et al., 2022). Tal fato pode estar associado ao mecanismo de ação desse medicamento, a pregabalina é estruturalmente semelhante ao neurotransmissor inibitório ácido gama-aminobutírico (GABA) e atua especificamente nesse sistema (SKAER, 2014), podendo assim não apresentar efeitos significativos nos sintomas de depressão e ansiedade. Além da pregabalina apresentar limitações terapêuticas frente as diferentes manifestações clínicas apresentadas pela FM, alguns efeitos adversos também são relatados e dificultam sua aplicabilidade tais como sonolência, tontura, boca seca e edema periférico (MIGLIORINI; COLAROSSO, 2022). Demonstrando assim, a importância de estudos com outros alvos terapêuticos como os derivados canabinoides que podem apresentar tratamentos mais eficazes para esses pacientes.

Uma das vias que apresentou efeitos analgésicos e comportamentais promissores no presente estudo foi a oral. Tendo isso em mente, umas das principais vantagens apresentadas pela administração oral de canabinoides incluem a existência de compostos de grau farmacêutico, concentrações/doses padronizadas e uma via de administração não complicada. Além disso, os óleos e cápsulas presentes no mercado atualmente permitem uma dosagem mais conveniente e precisa do que sucos ou chás da planta crua. Entretanto, a absorção é lenta, errática e variável. As concentrações plasmáticas máximas geralmente são alcançadas após 60 a 120 minutos, embora isso possa demorar ainda mais (até 6 horas) e pode ser atrasado. Além disso, o metabolismo produz metabólitos psicoativos (BRUNI et al., 2018).

Além dos mecanismos citados acima, acredita-se que exista uma associação entre a hiperalgesia encontrada em pacientes com FM e a presença de hipofunção endocanabinoide central na medula espinhal (BERGER et al., 2020). Nesse sentido, um

relato recente abordou o envolvimento do SEC em modelos de FM. Por exemplo, ASP8477, um inibidor seletivo de ácido graxo amida hidrolase (FAAH, uma enzima catabólica primária para anandamida) restaurou os limiares de pressão muscular durante o modelo de fibromialgia induzida por reserpina em ratos, representando assim um alvo farmacológico promissor para a FM (KISO et al., 2018). Assim, pode-se postular que o óleo de *cannabis* de amplo espectro pode interagir com o sistema endocanabinoide e, assim, modular as vias nociceptivas, resultando nos efeitos analgésicos observados aqui. Um possível alvo terapêutico associado ao óleo utilizado é o potencial do CBD para regular os níveis de anandamida, que por sua vez atua como mensageiro intracelular, amplificando o influxo de cálcio pelos canais TRPV1, controlando assim a liberação de neurotransmissores e modulando o sinal nociceptivo (STENSSON et al., 2020).

Um fato importante neste estudo é a constituição do óleo estudado, que contém maior concentração de CBD em detrimento das concentrações de THC, evitando assim possíveis efeitos colaterais relacionados a este composto. Como mencionado anteriormente, o THC, o principal constituinte psicoativo da *cannabis*, ativa os receptores CB1 e CB2, conseqüentemente induzindo a atividade neuronal central e periférica, e é responsável pelos efeitos analgésicos e psicomiméticos da *cannabis* (ROMERO-SANDOVAL et al., 2018). Por mais que o THC tenha grandes efeitos clínicos, um estudo mostrou que, infelizmente, a maioria dos pacientes que fizeram uso do THC (2,5-15 mg diários por três meses) como forma terapêutica desistiu precocemente devido aos efeitos colaterais do THC, mas aqueles que completaram tiveram reduções marcantes nas escalas analógicas visuais (VAS) de dor subjetiva (WALITT et al., 2016). O óleo de *cannabis* de amplo espectro estudado aqui tem baixos níveis de THC e níveis mais altos de CBD (ASSIS et al., 2021), o principal constituinte não intoxicante da *cannabis* (ROMERO-SANDOVAL et al., 2018). O CBD, por ter baixa afinidade pelo CB1R, não representa os efeitos psicomiméticos encontrados pela ação do THC. Portanto, pode potencializar os efeitos analgésicos (ROMERO-SANDOVAL et al., 2018). Além disso, recentemente nosso grupo não mostrou efeitos do óleo de *cannabis* de amplo espectro no comportamento da tétrede – um ensaio muito útil para caracterizar potenciais efeitos psicomiméticos dos canabinoides (ASSIS et al., 2021), confirmando parâmetros analíticos, de acordo com as informações do fabricante (proporção CBD:Δ9-THC de 11:1 e canabinoides totais de 40,2%).

Como citado anteriormente o CBD demonstra uma vantagem em seus efeitos terapêuticos por não apresentar propriedade psicoativas em termos de indução de

euforia, e além disso proporciona aumento da tolerabilidade e da janela terapêutica do THC, podendo assim potencializar seus efeitos benéficos (ANAND et al., 2021). Além disso, o conteúdo de CBD nas preparações ideais de fitocanabinoides com uma proporção equilibrada de CBD:THC pode aliviar os sintomas psicóticos associados ao THC, em comparação com preparações com baixas proporções de CBD:THC (SCHUBART et al., 2011). O extrato aqui estudado representa uma opção terapêutica segura, uma vez que sua proporção CBD:THC apresenta maior disponibilidade de CBD. Além disso, cabe ressaltar que o CBD por si só foi identificado como tendo efeitos anti-inflamatórios em uma distribuição de resposta à dose em forma de sino em um modelo de dor inflamatória em ratos (ANAND et al., 2021). Este efeito foi significativamente melhorado pela injeção intraperitoneal de todo o extrato da planta geneticamente modificada de *Cannabis sativa* com alto teor de CBD, para fornecer uma resposta de dose correlativa com maiores efeitos de analgesia e inchaço reduzido em comparação com o tratamento com CBD puro (GALLILY; YEKHTIN; HANUŠ, 2015). Tais resultados podem ser comprovados pelo presente estudo, no qual um extrato de *cannabis sativa* com alto teor de CBD também demonstrou efeitos analgésicos.

No presente estudo, avaliamos diferentes vias de administração, sendo elas oral, intraplantar, intratecal e intracerebroventricular. Comparando as vias aqui estudadas, pode-se observar que para a alodinia mecânica, as administrações orais e intratecal mostraram controle da alodinia nos primeiros 30 minutos após o tratamento. Nos estudos de Kiso et al., efeitos semelhantes foram demonstrados, porém, com uma única administração oral de ASP8477 (0,3, 1 e 3 mg/kg), um inibidor da FAAH, demonstrou eficácia na reversão da alodinia mecânica nas doses de 1 e 3 mg/kg no modelo RIM (KISO; WATABIKI; SEKIZAWA, 2020). Isso corrobora para estabelecer a via oral como alvo terapêutico positivo na sensibilidade mecânica neste modelo. Na hiperalgesia ao calor, as vias de administração que apresentaram efeitos significativos foram a intraplantar e a intratecal, e as demais vias não representaram efeitos antinociceptivos. Ainda há muito a ser esclarecido sobre os efeitos analgésicos térmicos de alvos terapêuticos canabinoides em vias periféricas e centrais, principalmente relacionados a modelos de dor crônica como a FM. Nesse sentido, outros estudos utilizando modelos de dor neuropática e dor inflamatória investigaram possíveis mecanismos utilizando microinjeções de antagonistas CB1R, TRPV1 e PPAR $\alpha$  antes de uma microinjeção de URB597 no córtex insular, uma importante região cerebral envolvida no processamento da dor e emoção no cérebro. Foi possível observar que o bloqueio de CB1R e PPAR $\alpha$ ,

mas não de TRPV1, reverteu os efeitos antinociceptivos do URB597 (KIM; KIM; WORDS, 2018; KWILASZ et al., 2014). Assim, demonstrando que, possivelmente, os efeitos analgésicos do óleo estudado podem estar correlacionados com a regulação inflamatória e com a ativação do sistema endocanabinoide, mas dificilmente com o controle da sensibilidade ao calor. Curiosamente, apenas a administração oral de 0,1 mg/kg (dose única) mostrou reparo na hiperalgesia ao frio após duas horas de tratamento. Tal resultado também pode ser observado com a administração intraperitoneal de um inibidor da FAAH – URB597, enquanto os autores correlacionam os efeitos antinociceptivos com o aumento dos níveis de endocanabinoides como anandamida e 2-araquidonoil glicerol (LOMAZZO et al., 2015). Além disso, observou-se que o óleo administrado por via intratecal apresentou efeito após meia hora de tratamento na analgesia mecânica. Este fato pode estar relacionado às alterações que a reserpina causa em nível espinhal, uma vez que o modelo de mialgia induzido pela reserpina induz área de edema intersticial na medula espinhal, e redução da área de motoneurônios no corno ventral da medula espinhal (FERRARINI et al., 2021). Clinicamente, os canabinoides são mais comumente prescritos para administração oral ou inalatória, mas essas diferentes vias de administração têm diversos efeitos colaterais. Estes incluem sonolência, tontura, sedação, torpor/desorientação, fadiga/cansaço, náusea, má coordenação, diminuição da concentração, dor de cabeça, hipervigilância, edema, insônia e aumento do apetite (DESHPANDE et al., 2015). No entanto, os principais efeitos colaterais psicomiméticos foram relacionados à administração do produto por via inalatória devido aos efeitos do THC, e esses efeitos são amplificados quando consumidos por métodos de absorção mais rápida, como fumar ou vaping, em comparação com a injeção oral (COHEN; WEIZMAN; WEINSTEIN, 2019; KURLYANDCHIK; TIRALONGO; SCHLOSS, 2021). Além disso, a farmacocinética e a farmacodinâmica diferem entre inalação e ingestão oral, influenciando o início e a duração dos efeitos adversos de cada método de administração (LUCAS; GALETTIS; SCHNEIDER, 2018). Por esse motivo, é importante avaliar diferentes formas de administração para determinar qual prescrição pode trazer o melhor resultado para esses pacientes.

Outro ponto importante relacionado com o extrato aqui estudado é nos seus potenciais efeitos entourage, neste sentido os efeitos de entourage podem ser estendidos a combinações de canabinoides com outros mecanismos de analgesia estabelecidos ou sobrepostos (ANAND et al., 2021). Tendo isso em vista, os efeitos antinociceptivos dos

canabinoides demonstraram afetar o sistema opioide e vice-versa, assim os agonistas canabinoides demonstraram aumentar o efeito dos agonistas dos receptores  $\mu$ -opioides em modelos de analgesia e, mais importante, reduzem a dependência de drogas opioides (YESILYURT et al., 2003). Além disso, a ativação do receptor de canabinoides também aumenta o efeito analgésico dos AINEs, de modo que as combinações de canabinoides com AINEs ou inibidores da ciclo-oxigenase como o diclofenaco, pode fornecer analgesia eficaz, minimizando os efeitos colaterais gastrointestinais (GRIM et al., 2015). Demonstrando assim, que os extratos e derivados dos canabinoides oferecem inúmeras possibilidades terapêuticas, podendo beneficiar ainda mais os pacientes com FM e outras doenças.

O SEC está associado a múltiplas ações bioquímicas, modulando não apenas a dor e a inflamação, mas também as emoções, a ansiedade e o estresse. Diferenças basais nos níveis de endocanabinoides e N-acetiletanolaminas foram relatadas entre FM em comparação com pessoas saudáveis (STENSSON et al., 2020). Ao contrário dos achados do presente estudo, muitos autores demonstraram os efeitos ansiolíticos da administração de CBD. O CBD também tem efeitos proliferativos nas células progenitoras do hipocampo, aumentando os níveis de anandamida e é mediado pela ativação secundária dos receptores CB1 e CB2 (JAVIER et al., 2013). Além disso, como a anandamida é conhecido neuromodulador central que está envolvido na extinção de memórias traumáticas, pode-se especular que alterações nos níveis de anandamida repercutam em alterações estruturais no cérebro, principalmente com ênfase em alterações estruturais na amígdala e hipocampo do cérebro (KAUFMANN et al., 2008). Enfatizando esses achados, de Assis et al. (ASSIS et al., 2021) demonstraram efeitos ansiolíticos do óleo de *cannabis* de amplo espectro (0,1 mg/kg, p.o.) em modelos de estresse agudo e crônico, afirmando que o presente óleo tem potencial ansiolítico; no entanto, em diferentes modelos experimentais. Outro mecanismo associado aos efeitos antidepressivos e ansiolíticos do CBD é o seu papel na regulação dos neurotransmissores serotoninérgicos (CHAVES et al., 2021; GUIMARÃES et al., 1990).

Um fato que deve ser entendido se refere a formulação dos derivados do *cannabis*, que podem desempenhar um papel crucial aumentando a solubilidade e a estabilidade físico-química dos fármacos, tendo isso em vista os canabinoides são moléculas altamente lipofílicas com solubilidade aquosa muito baixa (2-10  $\mu\text{g/mL}$ ), que são suscetíveis à degradação, especialmente em solução, pela ação da luz e da

temperatura, bem como podem sofrer auto-oxidação (BRUNI et al., 2018). Por esse motivo se faz necessário estudos que avaliam a absorção desses medicamentos, bem como os efeitos deles sistemicamente. Um aspecto importante está no fato da absorção ser afetada tanto pela lipofilicidade intrínseca do produto quanto pelas diferenças inerentes aos tecidos dos órgãos (podendo ser alveolar, dérmica, gástrica entre outras). Uma variedade de fatores, como alimentação recente pode afetar a absorção por via oral, ou profundidade da inalação, quanto tempo a respiração é mantida e temperatura do vaporizador nas vias de administração inalatórias, esses fatores podem comprometer a absorção e pode variar de 20-30% para administração oral e até 10-60% para inalação(BRUNI et al., 2018).

O modelo do tipo FM reproduzido no presente estudo mostrou-se uma ferramenta importante para avaliar o comportamento do tipo ansioso e depressivo. Numerosos estudos usando o modelo mialgia induzida por reserpina relataram aumento dos tempos de imobilidade no teste de natação forçada e teste de suspensão da cauda e diminuição dos tempos de natação no teste de nado forçado, indicativo de comportamento tipo depressivo em ratos e camundongos (BOURKE et al., 2022). Uma descoberta importante neste estudo foi que a administração crônica de óleo de *cannabis* de amplo espectro teve repercussões nos efeitos analgésicos e reverteu o comportamento passivo de enfrentamento do estresse induzido pela reserpina e o comportamento de menor autocuidado em camundongos. Diante dos dados aqui discutidos, é possível supor que os canabinoides podem alterar o processamento da dor, reduzir a inflamação de baixo grau e permitir a modulação da função emocional e cognitiva em pacientes com FM, pois possuem propriedades anti-inflamatórias, antiepilépticas, anti-isquêmicas, e propriedades antieméticas. No entanto, é difícil comparar os efeitos do óleo estudado no presente estudo com outros estudos já publicados, pois a *cannabis* medicinal, apesar de ser considerada segura e bem tolerada, possui grande diversidade de espécies de *cannabis* e diferentes métodos de preparo. A este respeito, são necessárias mais pesquisas para determinar os efeitos da droga/dosagem de *cannabis* usada em pesquisas e ambientes clínicos (KURLYANDCHIK; TIRALONGO; SCHLOSS, 2021).

Por fim, existem evidências crescentes de ensaios clínicos que defendem os efeitos benéficos dos canabinoides derivados de plantas, endógenos ou sintéticos para proporcionar alívio da dor (ANAND et al., 2021). Entretanto, o presente estudo pode contribuir para que essa ferramenta farmacológica também possa ser utilizada

futuramente utilizada no tratamento da FM, proporcionando assim subsídios para mais investigações sobre o assunto. Além disso, os dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos disponíveis na literatura para THC e CBD indicam que sua lipofilicidade impede a biodisponibilidade oral e que o extenso metabolismo hepático de primeira passagem resulta em menor concentração plasmática de pico em relação à inalação, com atrasos mais longos para atingir o pico de concentração (PANLILIO et al., 2016). Assim, estudar diferentes vias de administração proporcionou desvendar os efeitos antinociceptivo do extrato e a durabilidade dos efeitos esperado.

## 7. CONCLUSÃO

No presente estudo, foi possível observar que, independentemente da via de administração, o óleo de *cannabis* de amplo espectro mostrou-se eficaz na reversão dos efeitos de alodinia mecânica do modelo de fibromialgia induzida por reserpina. Dentre as diferentes doses estudadas no presente estudo a de 0,1 mg/Kg por via oral demonstrou melhoras significativas na alodinia mecânica associada a hiperalgesia térmica ao frio. A administração intratecal e intraplantar apresentaram redução da alodinia mecânica associada a analgesia térmica ao calor, entretanto não foram observados resultados relevantes no controle nociceptivos térmico ao frio. Já a via intracerebroventricular demonstrou ter efeitos analgésicos na alodinia mecânica, mas não nas alterações nociceptivas térmicas. Além disso, o tratamento crônico com óleo de *cannabis* de amplo espectro mostrou efeitos analgésicos na alodinia mecânica e hiperalgesia ao calor e atenuou o comportamento passivo de enfrentamento do estresse induzido pela reserpina e o comportamento de autocuidado em camundongos. Cabe ressaltar que o tratamento com o óleo de *cannabis* de amplo espectro demonstrou mais efetividade que o controle positivo nas alterações comportamentais apresentadas pelo modelo experimental. Conjuntamente, nossos resultados apontam para o óleo de *cannabis* de amplo espectro como uma alternativa terapêutica para os distúrbios causados pela FM.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

Claramente, os achados do presente estudo podem auxiliar na terapia de pacientes com FM, entretanto, algumas vias de administração aqui estudadas são de difícil transposição para a prática clínica. Outro ponto limitante deste estudo é o fato de não abordar possíveis mecanismos pelos quais o óleo de *cannabis* de amplo espectro atua. Nesse sentido é necessário desenvolver mais estudos que respondam a tais lacunas.

Além disso, avanços recentes na pesquisa de canabinoides para o tratamento da dor são promissores, com a identificação de novos canabinoides endógenos e vegetais, modos de ação e tratamentos iniciais de combinação. Com base nessas descobertas, futuros ensaios clínicos podem mostrar que os canabinoides, em combinação, proporcionam melhor eficácia e menos efeitos colaterais, e são uma opção favorável em comparação com outras drogas, principalmente os opioides. Os mecanismos subjacentes

a estes potenciais efeitos sinérgicos ou de entourage serão revelados através de uma série de técnicas, na sinalização da dor ou nas vias de modulação da periferia e do SNC.

Por fim, existe uma necessidade de avaliações mais robustas sobre os efeitos dos canabinoides, comparando suas formulações de combinação única ou associadas a outras terapêuticas. Além disso, é importante ressaltar que são necessários ensaios clínicos e estudos *in vitro* para testar diretamente os efeitos sinérgicos e de entourage dos canabinoides para o alívio da dor, conforme relatado em modelos comportamentais pré-clínicos.

### **LIMITAÇÕES NA APLICABILIDADE CLÍNICA**

Uma limitação deste estudo está no fato de existir apenas um número limitado de estudos clínicos rigorosos sobre o assunto, devido ao status ilegal dos canabinoides na maioria dos países. Logo, o presente estudo pretende contribuir com a literatura e assim proporcionar maior respaldo aos profissionais da área da saúde e consolidar assim essa forma terapêutica.

Outra limitação deste estudo está no fato dos derivados do *cannabis* não ser livre de efeitos colaterais. Por esse motivo, mais estudos sobre os efeitos colaterais dessa medicação e interação medicamentosa precisa ser desvendado. Além disso, os efeitos entourage que o extrato apresenta abre grande possibilidade terapêutica, mas também requerem maiores estudos para segurabilidade na sua administração.

Por fim, foram estudadas diferentes formas de administração que demonstraram efeitos analgésicos, entretanto os dados publicados podem ser de difícil transposição para o tratamento cotidiano dos pacientes com FM, principalmente no que se refere a administração intratecal e intracerebroventricular.

### **AGENCIAS DE FOMENTOS E APOIADORES**

Este trabalho contou com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Pós-Graduação em Neurociências (PPG-NEURO/UFSC), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e Programa INCT-INOVAMED (bolsa 465430/2014–7). Outro incentivador foi a associação ABRACE na Paraíba – Brasil que forneceu o óleo estudado no presente estudo.

## REFERÊNCIAS

ALCIATI, A.; NUCERA, V.; MASALA, I. F.; GIALLANZA, M.; LA CORTE, L.; GIORGI, V.; SARZI-PUTTINI, P.; ATZENI, F. One year in review 2021: Fibromyalgia. **Clinical and Experimental Rheumatology**, [S. l.], v. 39, n. 3, p. S3–S12, 2021.

ALKHATIB, Ahmad. Antiviral functional foods and exercise lifestyle prevention of coronavirus. **Nutrients**, [S. l.], v. 12, n. 9, p. 1–17, 2020. DOI: 10.3390/nu12092633.

ANAND, Uma; PACCHETTI, Barbara; ANAND, Praveen; SODERGREN, Mikael Hans. Cannabis-based medicines and pain: A review of potential synergistic and entourage effects. **Pain Management**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 395–403, 2021. DOI: 10.2217/pmt-2020-0110.

ANDRADE, Alexandro; DOMINSKI, Fábio Hech; SIECZKOWSKA, Sofia Mendes. What we already know about the effects of exercise in patients with fibromyalgia: An umbrella review. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, [S. l.], v. 50, 2020. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2020.02.003.

ANDRADE, Alexandro; SIECZKOWSKA, M.; VILARINO, Guilherme T. Resistance Training Improves Quality of Life and Associated Factors in Patients With Fibromyalgia Syndrome. [S. l.], p. 1–7, 2019. DOI: 10.1016/j.pmrj.2018.09.032.

ANTUNES, Juliana Sobral; LOVISON, Keli; KARVAT, Jhenifer; PERETTI, Ana Luiza; VIEIRA, Lizyana; HIGUCHI, Guilherme Hideaki; BRANCALHÃO, Rose Meire Costa; DE FÁTIMA CHASKO RIBEIRO, Lucinéia; BERTOLINI, Gladson Ricardo Flor. Nociceptive and neuronal evaluation of the sciatic nerve of Wistar rats subjected to compression injury and treated with resistive exercise. **Pain Research and Management**, [S. l.], v. 2016, p. 1–7, 2016. DOI: 10.1155/2016/6487160.

ARNOLD, Lesley M. et al. AAPT Diagnostic Criteria for Fibromyalgia. **Journal of Pain**, [S. l.], v. 20, n. 6, p. 611–628, 2019. DOI: 10.1016/j.jpain.2018.10.008.

ASSIS, Pollyana Mendonça De; FERRARINI, Eduarda Gomes; BALDASSO, Gabriela Mantovani; CYPRIANO, Rafael. Broad-spectrum Cannabis oil alleviates behavioral symptoms associated with stress-related anxiety and depression in mice. [S. l.], v. 21678, 2021. DOI: 10.34172/PS.2021.59.

ATAKA, Flávia Yumi; OKOSHI, Raquel Lie; ABREU, Yuri Louro Bruno De. Epidemiological and psychosocial profile of informal caregivers of patients with chronic

pain. **Revista Dor**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 238–244, 2017. DOI: 10.5935/1806-0013.20170108.

AZIZ, Qasim et al. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, [S. l.], v. 156, n. 6, p. 1003–1007, 2015.

BARAL, Pankaj; UDIT, Swalpa; CHIU, Isaac M. Pain and immunity: implications for host defence. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 19, n. 7, p. 433–447, 2019. DOI: 10.1038/s41577-019-0147-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-019-0147-2>.

BARON, Eric P.; LUCAS, Philippe; EADES, Joshua; HOGUE, Olivia. Patterns of medicinal cannabis use , strain analysis , and substitution effect among patients with migraine , headache , arthritis , and chronic pain in a medicinal cannabis cohort. [S. l.], 2018.

BAZZICHI, L.; GIACOMELLI, C.; CONSENSI, A.; GIORGI, V.; BATTICCIOTTO, A.; DI FRANCO, M.; SARZI-PUTTINI, P. One year in review 2020: Fibromyalgia. **Clinical and Experimental Rheumatology**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. S3–S8, 2020.

BERGER, Amnon A.; KEEFE, Joseph; WINNICK, Ariel; GILBERT, Elasa; ESKANDER, Jonathan P.; YAZDI, Cyrus; KAYE, Alan D.; VISWANATH, Omar; URITS, Ivan. Cannabis and cannabidiol (CBD) for the treatment of fibromyalgia. **Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology**, [S. l.], v. 34, n. 3, p. 617–631, 2020. DOI: 10.1016/j.bpa.2020.08.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2020.08.010>.

BERWICK, Richard J.; ANDERSSON, David A.; GOEBEL, Andreas. Aftersensations and Lingering Pain After Examination in Patients with Fibromyalgia Syndrome. [S. l.], v. 00, n. June, p. 1–11, 2022.

BHASKAR, Arun et al. Consensus recommendations on dosing and administration of medical cannabis to treat chronic pain : results of a modified Delphi process. [S. l.], v. 1, p. 1–12, 2021.

BIDARI, Ali; GHAVIDEL, Banafsheh. Nociceptive pain concept , a mechanistic basis for pragmatic approach to fibromyalgia. **Clinical Rheumatology**, [S. l.], n. 0123456789, 2022. DOI: 10.1007/s10067-022-06229-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10067-022-06229-5>.

BIDONDE, J.; AJ, Busch; CL, Schachter; TJ, Overend; SY, Kim; SM, Góes; BODEN, C.; HJA, Foulds. Aerobic exercise training for adults with fibromyalgia (

Review ). **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [S. l.], n. 6, 2017. DOI: 10.1002/14651858.CD012700.www.cochranelibrary.com.

BOEHNKE, Kevin F.; GAGNIER, Joel J.; MATAALLANA, Lynne; WILLIAMS, David A. Original Reports Cannabidiol Product Dosing and Decision-Making in a National Survey of Individuals with Fibromyalgia. **The Journal of Pain**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 45–54, 2022. DOI: 10.1016/j.jpain.2021.06.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2021.06.007>.

BOOKER, Staja Q. African Americans ' Perceptions of Pain and Pain Management : A Systematic Review. [S. l.], 2015. DOI: 10.1177/1043659614526250.

BORTALANZA, Léslei B.; FERREIRA, Juliano; HESS, Sonia C.; DELLE MONACHE, Franco; YUNES, Rosendo A.; CALIXTO, João B. Anti-allodynic action of the tormentic acid, a triterpene isolated from plant, against neuropathic and inflammatory persistent pain in mice. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 453, n. 2–3, p. 203–208, 2002. DOI: 10.1016/S0014-2999(02)02428-7.

BOURKE, Stephanie L.; KATRIN, Anne; ELIZABETH, Saoirse; SULLIVAN, O.; NUTT, David J.; FINN, David P. Pharmacology & Therapeutics Cannabinoids and the endocannabinoid system in fi bromyalgia: A review of preclinical and clinical research. **Pharmacology and Therapeutics**, [S. l.], v. 240, p. 108216, 2022. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108216. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108216>.

BRUNI, Natascia; PEPA, Carlo Della; OLIARO-BOSSO, Simonetta; PESSIONE, Enrica; GASTALDI, Daniela; DOSIO, Franco. Cannabinoid delivery systems for pain and inflammation treatment. **Molecules**, [S. l.], v. 23, n. 10, 2018. DOI: 10.3390/molecules23102478.

BUSQUETS-GARCIA, Arnau; SORIA-GÓMEZ, Edgar; REDON, Bastien; MACKENBACH, Yarmo; CHAOULOFF, Francis; VARILH, Marjorie; FERREIRA, Guillaume; PIAZZA, Pier-vincenzo; MARSICANO, Giovanni. Europe PMC Funders Group Pregnenolone blocks cannabinoid-induced acute psychotic-like states in mice. **Mol Psychiatry**, [S. l.], v. 22, n. 11, p. 1594–1603, 2017. DOI: 10.1038/mp.2017.4.Pregnenolone.

CASTILLO, Pablo E.; YOUNTS, Thomas J.; CHÁVEZ, Andrés E.; HASHIMOTODANI, Yuki. Endocannabinoid Signaling and Synaptic Function. **Neuron**, [S. l.], v. 76, n. 1, p. 70–81, 2012. DOI: 10.1016/j.neuron.2012.09.020.

CHAVES, Yane Costa; GENARO, Karina; CRIPPA, José Alexandre; DA

CUNHA, Joice Maria; ZANOVELI, Janaina Menezes. Cannabidiol induces antidepressant and anxiolytic-like effects in experimental type-1 diabetic animals by multiple sites of action. **Metabolic Brain Disease**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 639–652, 2021. DOI: 10.1007/s11011-020-00667-3.

CHOY, Ernest H. S. The role of sleep in pain and fibromyalgia. **Nature Reviews Rheumatology**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 513–520, 2015. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.56.

CHUNG, Man Kyo; JUNG, Sung Jun; OH, Seog Bae. Role of TRP channels in pain sensation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [S. l.], v. 704, p. 615–636, 2011. DOI: 10.1007/978-94-007-0265-3\_33.

COHEN, Koby; WEIZMAN, Abraham; WEINSTEIN, Aviv. Positive and Negative Effects of Cannabis and Cannabinoids on Health. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, [S. l.], v. 105, n. 5, p. 1139–1147, 2019. DOI: 10.1002/cpt.1381.

CORREA-RODRÍGUEZ, María; RUEDA-MEDINA, Blanca; CASAS-BARRAGÁN, Antonio; TAPIA-HARO, Rosa María; MOLINA, Francisco; AGUILAR-FERRÁNDIZ, María Encarnación. Dietary Intake Assessment, Severity of Symptoms, and Pain in Women with Fibromyalgia. **Clinical Nursing Research**, [S. l.], v. 30, n. 8, p. 1164–1173, 2021. DOI: 10.1177/10547738211012464.

DA SILVA SANTOS, R.; GALDINO, Giovane. Endogenous systems involved in exercise-induced analgesia. **Journal of Physiology and Pharmacology**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 3–13, 2018. DOI: 10.26402/jpp.2018.1.01.

DE GODOY-MATOS, Amélio F.; GUEDES, Erika Paniago; DE SOUZA, Luciana Lopes; VALÉRIO, Cynthia Melissa. The endocannabinoid system: a new paradigm in the metabolic syndrome treatment. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 390–399, 2006.

DE SANTANA, Felipe Mendonça; COBRA, Jayme Fogagnolo; FIGUEIREDO, Camille Pinto. Cognitive biases in fibromyalgia diagnosis. **Joint Bone Spine**, [S. l.], p. 105339, 2022. DOI: 10.1016/j.jbspin.2021.105339.

DE SOUZA, Leticia et al. Impact of different fructose concentrations on metabolic and behavioral parameters of male and female mice. **Physiology and Behavior**, [S. l.], v. 228, n. September 2020, p. 113187, 2021. DOI: 10.1016/j.physbeh.2020.113187. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113187>.

DESHPANDE, Amol; MAILIS-GAGNON, Angela; ZOHEIRY, Nivan;

LAKHA, Shehnaz Fatima. Efficacy and adverse effects of medical marijuana for chronic noncancer pain: Systematic review of randomized controlled trials. **Canadian Family Physician**, [S. l.], v. 61, n. 8, p. e372–e381, 2015.

DEUIS, Jennifer R.; DVORAKOVA, Lucie S.; VETTER, Irina. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [S. l.], v. 10, n. September, p. 1–17, 2017. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00284.

EBBERT, Jon O.; SCHARF, Eugene L.; HURT, Ryan T. Medical Cannabis. **Mayo Clinic Proceedings**, [S. l.], v. 93, n. 12, p. 1842–1847, 2018. DOI: 10.1016/j.mayocp.2018.09.005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.09.005>.

ELLER-SMITH, Olivia C.; NICOL, Andrea L.; CHRISTIANSON, Julie A. Potential mechanisms underlying centralized pain and emerging therapeutic interventions. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [S. l.], v. 12, n. February, p. 1–18, 2018. DOI: 10.3389/fncel.2018.00035.

FARAG, Hussein M.; YUNUSA, Ismaeel; GOSWAMI, Hardik; SULTAN, Ihtisham. Comparison of Amitriptyline and US Food and Drug Administration – Approved Treatments for Fibromyalgia A Systematic Review and Network Meta-analysis. **JAMA Netw Open**, [S. l.], v. 5, n. 5, p. 1–15, 2022. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.12939.

FAVERO, Gaia; BONOMINI, Francesca; FRANCO, Caterina; REZZANI, Rita. Mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of a fibromyalgia model: The potential benefits of melatonin. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 3, 2019. DOI: 10.3390/ijms20030765.

FERRARINI, Eduarda Gomes; GONÇALVES, Elaine Cristina Dalazen; FERRAREIS MENEGASSO, Jaíne; RABELO, Bruna Daniel; FELIPETTI, Francielly Andressa; DUTRA, Rafael Cypriano. Exercise Reduces Pain and Deleterious Histological Effects in Fibromyalgia-like Model. **Neuroscience**, [S. l.], v. 465, p. 46–59, 2021. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2021.04.017.

FERRO MOURA FRANCO, Katherinne; LENOIR, Dorine; DOS SANTOS FRANCO, Yuri Rafael; JANDRE REIS, Felipe José; NUNES CABRAL, Cristina Maria; MEEUS, Mira. Prescription of exercises for the treatment of chronic pain along the continuum of nociplastic pain: A systematic review with meta-analysis. **European Journal of Pain (United Kingdom)**, [S. l.], n. September, p. 1–20, 2020. DOI: 10.1002/ejp.1666.

FLATTERS, Sarah J. L.; BENNETT, Gary J. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. *Pain*, [S. l.], v. 109, n. 1–2, p. 150–161, 2004. DOI: 10.1016/j.pain.2004.01.029.

FORTI, Marta Di et al. The contribution of cannabis use to variation in the incidence of psychotic disorder across Europe ( EU-GEI ): a multicentre case-control study. [S. l.], p. 427–436, 2019. DOI: 10.1016/S2215-0366(19)30048-3.

FRIDE, Ester; FOOX, Anat; ROSENBERG, Elana; FAIGENBOIM, Moran; COHEN, Vickey; BARDA, Lena; BLAU, Hannah; MECHOULAM, Raphael. Milk intake and survival in newborn cannabinoid CB1 receptor knockout mice: Evidence for a “CB3” receptor. *European Journal of Pharmacology*, [S. l.], v. 461, n. 1, p. 27–34, 2003. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01295-0.

GALLILY, Ruth; YEKHTIN, Zhannah; HANUŠ, Lumír Ondřej. Overcoming the Bell-Shaped Dose-Response of Cannabidiol by Using &lt;i>Cannabis</i> Extract Enriched in Cannabidiol. *Pharmacology & Pharmacy*, [S. l.], v. 06, n. 02, p. 75–85, 2015. DOI: 10.4236/pp.2015.62010.

GERDLE, Björn; LEINHARD, Olof Dahlqvist; LUND, Eva; BENGTSSON, Ann; LUNDBERG, Peter; FORSGREN, Mikael Fredrik. Fibromyalgia : Associations Between Fat Infiltration , Physical Capacity , and Clinical Variables. [S. l.], n. May, p. 2517–2535, 2022.

GREGORIO, Danilo De; MCLAUGHLIN, Ryan J.; POSA, Luca; OCHOA-SANCHEZ, Rafael; ENNS, Justine. Cannabidiol modulates serotonergic transmission and reverses both allodynia and anxiety-like behavior in a model of neuropathic pain. [S. l.], v. 160, p. 136–150, 2019.

GRIM, Travis W.; GHOSH, Sudeshna; HSU, Ku-lung; CRAVATT, Benjamin F.; KINSEY, Steven G.; LICHTMAN, Aron H. models. [S. l.], n. 804, p. 405–411, 2015. DOI: 10.1016/j.pbb.2014.07.008.Combined.

GROTENHERMEN, Franjo. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cannabinoids. [S. l.], v. 42, n. 4, p. 327–360, 2003.

GUIMARÃES, F. S.; CHIARETTI, T. M.; GRAEFF, F. G.; ZUARDI, A. W. Antianxiety effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology*, [S. l.], v. 100, n. 4, p. 558–559, 1990. DOI: 10.1007/BF02244012.

GUPTA, Harshit; GIRMA, Brook; JENKINS, Jack S.; KAUFMAN, Sarah E.; LEE, Christopher A.; ALAN, D. Milnacipran for the Treatment of Fibromyalgia. *Health Psychology Research*, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1–13, 2021. DOI:

10.52965/001c.25532.

HANEY, Margaret et al. Oral Cannabidiol does not Alter the Subjective, Reinforcing or Cardiovascular Effects of Smoked Cannabis. **Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 41, n. 8, p. 1974–1982, 2016. DOI: 10.1038/npp.2015.367.

HASENOEHRL, Carina; STORR, Martin; SCHICHO, Rudolf. Cannabinoids for treating inflammatory bowel diseases: where are we and where do we go? **Expert Review of Gastroenterology and Hepatology**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 329–337, 2017. DOI: 10.1080/17474124.2017.1292851. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/17474124.2017.1292851>.

HENCH, P. K. Nonarticular rheumatism, 22nd rheumatism review: review of the American and English literature for the years 1973 and 1974. **Arthritis Rheum**, [S. l.], v. 19, p. 1–10, 1976.

HERNANDO-GARIJO, Ignacio; JIMÉNEZ-DEL-BARRIO, Sandra; MINGO-GÓMEZ, Teresa; MEDRANO-DE-LA-FUENTE, Ricardo; CEBALLOS-LAITA, Luis. Effectiveness of non-pharmacological conservative therapies in adults with fibromyalgia: A systematic review of high-quality clinical trials. **Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation**, [S. l.], v. 35, n. 1, p. 3–20, 2021. DOI: 10.3233/bmr-200282.

IANNUCELLI, Cristina; LUCCHINO, Bruno; GIOIA, Chiara; DOLCINI, Giulio; RABASCO, Jole; VENDITTO, Teresa. Gender influence on clinical manifestations , depressive symptoms and brain - derived neurotrophic factor ( BDNF ) serum levels in patients affected by fibromyalgia. **Clinical Rheumatology**, [S. l.], p. 2171–2178, 2022. DOI: 10.1007/s10067-022-06133-y. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10067-022-06133-y>.

JAIN, Nibha; MOORTHY, Arumugam. Cannabinoids in rheumatology: Friend , foe or a bystander? [S. l.], n. March, p. 416–428, 2022. DOI: 10.1002/msc.1636.

JANG, M. H.; PIAO, X. L.; KIM, J. M.; KWON, S. W.; PARK, J. H. Inhibition of cholinesterase and amyloid- $\beta$  aggregation by resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. **Phytotherapy Research**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 544–549, 2008. DOI: 10.1002/ptr. Disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/117934759/abstract>.

JARDÍN, Isaac et al. TRPs in pain sensation. **Frontiers in Physiology**, [S. l.],

v. 8, n. JUN, p. 1–10, 2017. DOI: 10.3389/fphys.2017.00392.

JAVIER, D<sub>1</sub>; GALVE-ROPERH; GUIMARA, Ismael; S, Francisco Guzma. The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. *[S. l.]*, p. 1407–1419, 2013. DOI: 10.1017/S1461145712001502.

JOCA, Sâmia Regiane L.; PADOVAN, Cláudia Maria; GUIMARÃES, Francisco Silveira. Estresse, depressão e hipocampo. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, *[S. l.]*, v. 25, n. suppl 2, p. 46–51, 2003. DOI: 10.1590/s1516-44462003000600011.

KAUFMANN, Ines et al. Anandamide and neutrophil function in patients with fibromyalgia. *[S. l.]*, p. 676–685, 2008. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.02.009.

KAUR, Anudeep; SINGH, Lovedeep; SINGH, Nirmal; BHATTI, Manpreet S.; BHATTI, Rajbir. Ameliorative effect of imperatorin in chemically induced fibromyalgia: Role of NMDA/NFκB mediated downstream signaling. **Biochemical Pharmacology**, *[S. l.]*, v. 166, n. March, p. 56–69, 2019. DOI: 10.1016/j.bcp.2019.05.012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.05.012>.

KENDALL, Debra A.; YUDOWSKI, Guillermo A. Cannabinoid receptors in the central nervous system: Their signaling and roles in disease. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, *[S. l.]*, v. 10, n. January, p. 1–10, 2017. DOI: 10.3389/fncel.2016.00294.

KHURSHID, Hajra; QURESHI, Israa A.; JAHAN, Nasrin; WENT, Terry R.; SULTAN, Waleed; SAPKOTA, Alisha; ALFONSO, Michael. A Systematic Review of Fibromyalgia and Recent Advancements in Treatment: Is Medicinal Cannabis a New Hope? **Cureus**, *[S. l.]*, v. 6, n. 8, p. 1–11, 2021. DOI: 10.7759/cureus.17332.

KIM, Young Sun; KIM, Nayoung; WORDS, Key. Sex-Gender Differences in Irritable Bowel Syndrome. *[S. l.]*, v. 24, n. 4, 2018.

KISO, Tetsuo; MORIYAMA, Ai; FURUTANI, Masako; MATSUDA, Ritsuko; FUNATSU, Yukiko. Effects of pregabalin and duloxetine on neurotransmitters in the dorsal horn of the spinal cord in a rat model of fibromyalgia. **European Journal of Pharmacology**, *[S. l.]*, v. 827, n. September 2017, p. 117–124, 2018. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.03.011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.03.011>.

KISO, Tetsuo; WATABIKI, Tomonari; SEKIZAWA, Toshihiro. **ASP8477, a fatty acid amide hydrolase inhibitor, exerts analgesic effects in rat models of neuropathic and dysfunctional pain**. [s.l.] : Elsevier B.V., 2020. DOI:

10.1016/j.ejphar.2020.173194. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173194>.

KURLYANDCHIK, Inna; TIRALONGO, Evelin; SCHLOSS, Janet. Safety and Efficacy of Medicinal Cannabis in the Treatment of Fibromyalgia: A Systematic Review. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 198–213, 2021. DOI: 10.1089/acm.2020.0331.

KWILASZ; ABDULLAH; POKLIS; LICHTMAN; NEGUS. Effects of the Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) Inhibitor URB597 on Pain-Stimulated and Pain-Depressed Behavior in Rats. **Behav Pharmacol**, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 119–129, 2014. DOI: 10.1097/FBP.000000000000023.Effects.

LANGFORD, Dale J. et al. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. **Nature Methods**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 447–449, 2010. DOI: 10.1038/nmeth.1455. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.1455>.

LAPRAIRIE, R. B.; BAGHER, A. M.; KELLY, M. E. M. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB 1 receptor. [S. l.], v. 14, 2015. DOI: 10.1111/bph.13250.

LEE, Jeungchan et al. 3D magnetic resonance spectroscopic imaging reveals links between brain metabolites and multidimensional pain features in fibromyalgia. **European Journal of Pain (United Kingdom)**, [S. l.], v. 25, n. 9, p. 2050–2064, 2021. DOI: 10.1002/ejp.1820.

LEE, Michael C.; PLONER, Markus; WIECH, Katja; BINGEL, Ulrike; WANIGASEKERA, Vishvarani; BROOKS, Jonathan; MENON, David K.; TRACEY, Irene. Amygdala activity contributes to the dissociative effect of cannabis on pain perception. **Pain**, [S. l.], v. 154, n. 1, p. 124–134, 2013. DOI: 10.1016/j.pain.2012.09.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2012.09.017>.

LEWEKE, F. Markus. Anandamide dysfunction in prodromal and established psychosis. **Current pharmaceutical design**, [S. l.], v. 18, n. 32, p. 5188–93, 2012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22716147>.

LINI, Ezequiel Vítório; TOMICKI, Camila; GIACOMAZZI, Rodrigo Britto; DELLANI, Marcos Paulo; DORING, Marlene; PORTELLA, Marilene Rodrigues. Prevalence of self-referred chronic pain and interurrences in the health of the elderly. **Revista Dor**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 279–282, 2016. DOI: 10.5935/1806-0013.20160089.

LOMAZZO, Ermelinda; BINDILA, Laura; REMMERS, Floor; LERNER,

Raissa; SCHWITTER, Claudia; HOHEISEL, Ulrich. Therapeutic Potential of Inhibitors of Endocannabinoid Degradation for the Treatment of Stress-Related Hyperalgesia in an Animal Model of Chronic Pain. **Neuropsychopharmacology**, [S. l.], p. 488–501, 2015. DOI: 10.1038/npp.2014.198.

LORENA, Suélem Barros De; PIMENTEL, Eduardo Augusto dos Santos; FERNANDES, Vanessa Medeiros; PEDROSA, Márcio Botelho; RANZOLIN, Aline; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto. Evaluation of pain and quality of life of fibromyalgia patients. **Revista Dor**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 8–11, 2016. DOI: 10.5935/1806-0013.20160003.

LU, Hui Chen; MACKIE, Ken. Review of the Endocannabinoid System. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 607–615, 2021. DOI: 10.1016/j.bpsc.2020.07.016.

LUCAS, Catherine J.; GALETTIS, Peter; SCHNEIDER, Jennifer. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 84, n. 11, p. 2477–2482, 2018. DOI: 10.1111/bcp.13710.

MAFFEI, Massimo E. Fibromyalgia: Recent advances in diagnosis, classification, pharmacotherapy and alternative remedies. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 21, n. 21, p. 1–27, 2020. DOI: 10.3390/ijms21217877.

MARQUES, Amelia Pasqual; SANTO, Adriana de Sousa do Espírito; BERSANETI, Ana Assumpção; MATSUTANI, Luciana Akemi; YUAN, Susan Lee King. Prevalence of fibromyalgia: literature review update. **Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)**, [S. l.], v. 57, n. 4, p. 356–363, 2017. DOI: 10.1016/j.rbre.2017.01.005.

MARSICANO, Giovanni; PIAZZA, Pier Vincenzo. Pregnenolone Can Protect the Brain from Cannabis Intoxication. **Science**, [S. l.], v. 343, n. 6166, p. 94–98, 2014. DOI: 10.1126/science.1243985.Pregnenolone.

MARTINEZ-LAVIN, Manuel. Small fibre neuropathy, fibromyalgia and dorsal root ganglia sodium channels. **Brain**, [S. l.], v. 136, n. 9, p. 8–9, 2013. DOI: 10.1093/brain/awt114.

MARTÍNEZ-LAVÍN, Manuel. Is fibromyalgia an autoimmune illness? **Clinical Rheumatology**, [S. l.], v. 40, n. 10, p. 3865–3866, 2021. DOI: 10.1007/s10067-021-05888-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10067-021-05888-0>.

MARTINS, Carlos Pereira; PAES, Rodrigo Sebben; BALDASSO, Gabriela Mantovani; FERRARINI, Eduarda Gomes; SCUSSEL, Rahisa; ZACCARON, Rubya Pereira; MACHADO-DE-ÁVILA, Ricardo Andrez; SILVEIRA, Paulo Cesar Lock; DUTRA, Rafael Cypriano. Pramipexole, a dopamine D3/D2 receptor-preferring agonist, attenuates reserpine-induced fibromyalgia-like model in mice. *[S. l.]*, v. 17, n. 2, p. 450–458, 2022.

MATHUR, Meeta. **Bioactive Molecules in food**. [s.l.] : Springer reference, 2018.

MCANALLY, Heath; BONNET, Udo; KAYE, Alan D. Gabapentinoid Benefit and Risk Stratification: Mechanisms Over Myth. **Pain and Therapy**, *[S. l.]*, v. 9, n. 2, p. 441–452, 2020. DOI: 10.1007/s40122-020-00189-x. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40122-020-00189-x>.

MCBETH, John; MULVEY, Matthew R. Fibromyalgia: Mechanisms and potential impact of the ACR 2010 classification criteria. **Nature Reviews Rheumatology**, *[S. l.]*, v. 8, n. 2, p. 108–116, 2012. DOI: 10.1038/nrrheum.2011.216.

MEEUS, Mira; NIJS, Jo. Central sensitization: A biopsychosocial explanation for chronic widespread pain in patients with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. **Clinical Rheumatology**, *[S. l.]*, v. 26, n. 4, p. 465–473, 2007. DOI: 10.1007/s10067-006-0433-9.

MERSKEY, H. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. **Pain**, United States, v. 6, n. 3, p. 249, 1979.

MIGLIORINI, Filippo; COLAROSSO, Giorgia. Pregabalin administration in patients with fibromyalgia : a Bayesian network meta - analysis. **Scientific Reports**, *[S. l.]*, p. 1–8, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-16146-x. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16146-x>.

MOORE, R. Andrew; FISHER, Emma; HÄUSER, Winfried; BELL, Rae Frances; PERROT, Serge; BIDONDE, Julia; MAKRI, Souzi; STRAUBE, Sebastian. Pharmacological therapies for fibromyalgia (fibromyalgia syndrome) in adults - an overview of Cochrane Reviews. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, *[S. l.]*, v. 2021, n. 8, 2021. DOI: 10.1002/14651858.CD013151.pub2.

MOULIN, D. E.; BOULANGER, A.; CLARK, A. J.; CLARKE, H.; DMD, T. Dao; FINLEY, G. A. Pharmacological management of chronic neuropathic pain: Revised consensus statement from the Canadian Pain Society. *[S. l.]*, v. 19, n. 6, p. 328–

335, 2014.

NAGAKURA, Yukinori; OE, Tomoya; AOKI, Toshiaki; MATSUOKA, Nobuya. Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia. **Pain**, [S. l.], v. 146, n. 1–2, p. 26–33, 2009. DOI: 10.1016/j.pain.2009.05.024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2009.05.024>.

NAGAKURA, Yukinori; TAKAHASHI, Masayasu; NOTO, Takahisa; SEKIZAWA, Toshihiro; OE, Tomoya; YOSHIMI, Eiji; TAMAKI, Keisuke; SHIMIZU, Yasuaki. Different pathophysiology underlying animal models of fibromyalgia and neuropathic pain : Comparison of reserpine-induced myalgia and chronic constriction injury rats. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 226, n. 1, p. 242–249, 2012. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.09.023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.09.023>.

NEUMEISTER, Michael W.; NEUMEISTER, Eryn L. Fibromyalgia. **Clinics in Plastic Surgery**, [S. l.], v. 47, n. 2, p. 203–213, 2020. DOI: 10.1016/j.cps.2019.12.007.

OFFENBAECHER, Martin et al. Pain is not the major determinant of quality of life in fibromyalgia: results from a retrospective “real world” data analysis of fibromyalgia patients. **Rheumatology International**, [S. l.], v. 41, n. 11, p. 1995–2006, 2021. DOI: 10.1007/s00296-020-04702-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04702-5>.

OHNO-SHOSAKU, Takako; KANO, Masanobu. ScienceDirect Endocannabinoid-mediated retrograde modulation of synaptic transmission. **Current Opinion in Neurobiology**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 1–8, 2014. DOI: 10.1016/j.conb.2014.03.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2014.03.017>.

OLIVEIRA JÚNIOR, José Oswaldo De; ALMEIDA, Mauro Brito De. The current treatment of fibromyalgia. **Brazilian Journal Of Pain**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 255–262, 2018. DOI: 10.5935/2595-0118.20180049.

ORR, Patty Montgomery; SHANK, Bettina Cobb. The Role of Pain Classification Systems in Pain Management. [S. l.], v. 29, p. 37044, 2017.

PANLILIO, Leigh V; GOLDBERG, Steven R.; JUSTINOVA, Zuzana; SECTION, Preclinical Pharmacology; NEUROSCIENCE, Behavioral. Cannabinoid abuse and addiction: Clinical and preclinical findings. [S. l.], v. 97, n. 6, p. 616–627, 2016. DOI: 10.1002/cpt.118.Cannabinoid.

PENNINX, Brenda W. J. H.; LANGE, Sjors M. M. Facts and myths pertaining to fibromyalgia. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 63–73, 2018. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15602020>.

PISANTI, Simona et al. Pharmacology & Therapeutics Cannabidiol : State of the art and new challenges for therapeutic applications. [S. l.], 2017. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.041.

RAFFAELI, William; ARNAUDO, Elisa. Pain as a disease: An overview. **Journal of Pain Research**, [S. l.], v. 10, p. 2003–2008, 2017. DOI: 10.2147/JPR.S138864.

RAJA, Srinivasa N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, [S. l.], v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001939.

REZENDE, Rafael Marins; PELÚZIO, Maria do Carmo Gouveia; DE JESUS SILVA, Franciany; LUCIA, Emanuel Mattos Della; FAVARATO, Lukiya Silva Campos; MARTINO, Hercia Stampini Duarte; NATALI, Antônio José. Does aerobic exercise associated with tryptophan supplementation attenuates hyperalgesia and inflammation in female rats with experimental fibromyalgia? **PLoS ONE**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 1–14, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0211824.

ROBBE, David; KOPF, Manfred; REMAURY, Anne; BOCKAERT, Joel; MANZONI, Olivier J. Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 99, n. 12, p. 8384–8388, 2002. DOI: 10.1073/pnas.122149199.

ROMERO-SANDOVAL, E. Alfonso; FINCHAM, Jack E.; KOLANO, Ashley L.; SHARPE, Brandi N.; ALVARADO-VÁZQUEZ, P. Abigail. Cannabis for Chronic Pain: Challenges and Considerations. **Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 38, n. 6, p. 651–662, 2018. DOI: 10.1002/phar.2115.

RUHMAN, W. No Title The earliest book on rheumatism. **Br J Rheumatol**, [S. l.], v. 2, p. 140–162, 1940.

RUSSO, Ethan B. Clinical Endocannabinoid Deficiency Reconsidered: Current Research Supports the Theory in Migraine, Fibromyalgia, Irritable Bowel, and Other Treatment-Resistant Syndromes. **Cannabis and Cannabinoid Research**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 154–165, 2016. DOI: 10.1089/can.2016.0009.

SANTOS, Dourivaldo Silva; LAURIA, Pedro Santana Sales; EVANGELISTA,

Afrânio Ferreira; AZEREDO, Francine Johansson; COSTA, Jorge Alberto Vieira; SOARES, Milena Botelho Pereira; DRUZIAN, Janice Izabel; VILLARREAL, Cristiane Flora. Beyond inflammation: Centrally mediated antinociceptive properties of *Spirulina platensis* LEB-18 biomass via the opioid system. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 72, n. June, p. 104083, 2020. DOI: 10.1016/j.jff.2020.104083.

SCHMIDT-WILCKE, Tobias; DIERS, Martin. New insights into the pathophysiology and treatment of fibromyalgia. **Biomedicines**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 1–11, 2017. DOI: 10.3390/biomedicines5020022.

SCHUBART, Christian D.; SOMMER, Iris E. C.; VAN GASTEL, Willemijn A.; GOETGEBUER, Rogier L.; KAHN, René S.; BOKS, Marco P. M. Cannabis with high cannabidiol content is associated with fewer psychotic experiences. **Schizophrenia Research**, [S. l.], v. 130, n. 1–3, p. 216–221, 2011. DOI: 10.1016/j.schres.2011.04.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2011.04.017>.

SHAHBAZI, Fred; GRANDI, Victoria; BANERJEE, Abhinandan; TRANT, John F. Cannabinoids and Cannabinoid Receptors: The Story so Far. **iScience**, [S. l.], v. 23, n. 7, p. 101301, 2020. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101301. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101301>.

SHAHIRI, T. Shiva; RICHEBÉ, Philippe; RICHARD-LALONDE, Melissa; GÉLINAS, Céline. Description of the validity of the Analgesia Nociception Index (ANI) and Nociception Level Index (NOL) for nociception assessment in anesthetized patients undergoing surgery: a systematized review. **Journal of Clinical Monitoring and Computing**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 623–635, 2022. DOI: 10.1007/s10877-021-00772-3. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10877-021-00772-3>.

SHAKIBA, Saeed et al. Evaluation of the pharmacological involvement of ATP-sensitive potassium (KATP) channels in the antidepressant-like effects of topiramate on mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [S. l.], v. 392, n. 7, p. 833–842, 2019. DOI: 10.1007/s00210-019-01636-z.

SHANG, Yuchao; TANG, Yuying. The central cannabinoid receptor type-2 (CB2) and chronic pain. [S. l.], v. 7454, n. November, 2016. DOI: 10.1080/00207454.2016.1257992. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/00207454.2016.1257992>.

SIECZKOWSKA, Sofia Mendes; VILARINO, Guilherme Torres; DE SOUZA, Loiane Cristina; ANDRADE, Alexandre. Does physical exercise improve quality of life in patients with fibromyalgia? **Irish Journal of Medical Science**, [S. l.], v. 189, n. 1, p.

341–347, 2020. DOI: 10.1007/s11845-019-02038-z.

SIRACUSA, Rosalba; DI PAOLA, Rosanna; CUZZOCREA, Salvatore; IMPELLIZZERI, Daniela. **Fibromyalgia: Pathogenesis, mechanisms, diagnosis and treatment options update**. [s.l.: s.n.]. v. 22 DOI: 10.3390/ijms22083891.

SKAER, Tracy L. Fibromyalgia: Disease synopsis, medication cost effectiveness and economic burden. **PharmacoEconomics**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 457–466, 2014. DOI: 10.1007/s40273-014-0137-y.

SOLOWIJ, Nadia et al. A randomised controlled trial of vaporised  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol alone and in combination in frequent and infrequent cannabis users: acute intoxication effects. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, [S. l.], v. 269, n. 1, p. 17–35, 2019. DOI: 10.1007/s00406-019-00978-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00406-019-00978-2>.

SOSA-REINA, M. Dolores; NUNEZ-NAGY, Susana; GALLEGO-IZQUIERDO, Tomás; PECOS-MARTÍN, Daniel; MONSERRAT, Jorge; ÁLVAREZ-MON, Melchor. Effectiveness of Therapeutic Exercise in Fibromyalgia Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. **BioMed Research International**, [S. l.], v. 2017, 2017. DOI: 10.1155/2017/2356346.

SOUZA, Juliana Barcellos De; PERISSINOTTI, Dirce Maria Navas. The prevalence of fibromyalgia in Brazil – a population-based study with secondary data of the study on chronic pain prevalence in Brazil. **Brazilian Journal Of Pain**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 345–348, 2018. DOI: 10.5935/2595-0118.20180065.

STAUD, Roland. Abnormal endogenous pain modulation is a shared characteristic of many chronic pain conditions. **Expert Review of Neurotherapeutics**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 577–585, 2012. DOI: 10.1586/ern.12.41.

STAUD, Roland; RODRIGUEZ, Miguel E. Mechanisms of disease: Pain in fibromyalgia syndrome. **Nature Clinical Practice Rheumatology**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 90–98, 2006. DOI: 10.1038/ncprheum0091.

STENSSON, NICLAS; GERDLE, BJÖRN; ERNBERG, MALIN; MANNERKORPI; KOSEK, KAISA; GHAFOURI, EVA; BIJAR. Increased Anandamide and Decreased Pain and Depression after Exercise in Fibromyalgia. [S. l.], n. 8, p. 1617–1628, 2020. DOI: 10.1249/MSS.0000000000002293.

STENSSON, Niclas; GHAFOURI, Nazdar; ERNBERG, Malin. The relationship of endocannabinoidome lipid mediators with pain and psychological stress in women with fibromyalgia – a case control study. [S. l.], 2018. DOI:

10.1016/j.jpain.2018.05.008.

STRAIKER, Alex; DVORAKOVA, Michaela; ZIMMOWITCH, Anaelle; MACKIE, Ken. Cannabidiol Inhibits Endocannabinoid Signaling in Autaptic Hippocampal Neurons. *[S. l.]*, n. July, p. 743–748, 2018. DOI: 10.1124/mol.118.111864.

TATEM, Kathleen S.; QUINN, James L.; PHADKE, Aditi; YU, Qing; GORDISH-DRESSMAN, Heather; NAGARAJU, Kanneboyina. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. **Journal of Visualized Experiments**, *[S. l.]*, n. 91, p. 1–7, 2014. DOI: 10.3791/51785.

THOMPSON, Scott J.; PITCHER, Mark H.; STONE, Laura S.; TARUM, Farid; NIU, Gang; CHEN, Xiaoyuan; KIESEWETTER, Dale O.; SCHWEINHARDT, Petra; BUSHNELL, M. Catherine. Chronic neuropathic pain reduces opioid receptor availability with associated anhedonia in rat. **Pain**, *[S. l.]*, v. 159, n. 9, p. 1856–1866, 2018. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001282.

VADER, Kyle et al. The Revised IASP Definition of Pain and Accompanying Notes: Considerations for the Physiotherapy Profession. **Physiotherapy Canada**, *[S. l.]*, v. 73, n. 2, p. 103–106, 2021. DOI: 10.3138/ptc-2020-0124-gee.

VERBUNT, Jeanine A.; PERNOT, Dia H. F. M.; SMEETS, Rob J. E. M. Disability and quality of life in patients with fibromyalgia. *[S. l.]*, v. 8, p. 1–8, 2008. DOI: 10.1186/1477-7525-6-8.

WALITT, Brian; KLOSE, Petra; FITZCHARLES, Mary Ann; PHILLIPS, Tudor; HÄUSER, Winfried. Cannabinoids for fibromyalgia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, *[S. l.]*, v. 2016, n. 7, 2016. DOI: 10.1002/14651858.CD011694.pub2.

WILSON, Rachel I.; NICOLL, Roger A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *[S. l.]*, v. 410, n. March, p. 2–6, 2001.

WOLFE, Frederick et al. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. **Arthritis Care and Research**, *[S. l.]*, v. 62, n. 5, p. 600–610, 2010. DOI: 10.1002/acr.20140.

WRIGHT, Robert C.; JUNGHAENEL, Doerte U.; RIVAS, Ryan; HRISTIDIS, Vagelis; ROBBINS, Megan L. A new approach to capturing pain disclosure in daily life in-person and online. **Journal of Health Psychology**, *[S. l.]*, v. 26, n. 13, p. 2577–2591, 2021. DOI: 10.1177/1359105320918322.

YAKSH, Tony L. Pharmacology of Spinal Adrenergic Systems Which Modulate Spinal Nociceptive Processing. [*S. l.*], v. 22, p. 845–858, 1985.

YASAR, Sevil; REDHI, Godfrey H.; GOLDBERG, Steven R. The Endogenous Cannabinoid 2-Arachidonoylglycerol Is Intravenously Self-Administered by Squirrel Monkeys. [*S. l.*], v. 31, n. 19, p. 7043–7048, 2011. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6058-10.2011.

YESILYURT, Ozgur; DOGRUL, Ahmet; GUL, Husamettin; SEYREK, Melik; KUSMEZ, Ozkan; OZKAN, Yalcin; YILDIZ, Oguzhan. Topical cannabinoid enhances topical morphine antinociception. **Pain**, [*S. l.*], v. 105, n. 1–2, p. 303–308, 2003. DOI: 10.1016/S0304-3959(03)00245-8.

## ANEXO 1 – CERTIFICADO DO CEUA



Universidade Federal  
de Santa Catarina

Comissão de Ética no  
Uso de Animais



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Identificação de novos alvos terapêuticos não farmacológicos e farmacológicos em modelos de dor crônica não inflamatória em camundongos.", protocolada sob o CEUA nº 2572210218, sob a responsabilidade de **Rafael Cypriano Dutra e equipe; Eduarda Gomes Ferrarini; Elaine Cristina Dalazen Gonçalves; Graziela Vieira; Luciano Daniel da Silva; Tainara Ribeiro Gonçalves** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 10/05/2018.

We certify that the proposal "Identification of novel non-pharmacological and pharmacological therapeutic targets in chronic non-inflammatory pain models in mice.", utilizing 756 Heterogenics mice (756 females), protocol number CEUA 2572210218, under the responsibility of **Rafael Cypriano Dutra and team; Eduarda Gomes Ferrarini; Elaine Cristina Dalazen Gonçalves; Graziela Vieira; Luciano Daniel da Silva; Tainara Ribeiro Gonçalves** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 05/10/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **04/2018** a **04/2023** Área: **Ciências da Saúde**

Origem: **Biotério Central**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **2 a 3 meses**

N: **756**

Linhagem: **Swiss**

Peso: **25 a 45 g**

Resumo: Fibromialgia (FM) é uma doença multifatorial caracterizada por dor crônica oriunda de resposta não inflamatória. O aumento da atividade física apresenta efeitos positivos na modulação e/ou percepção da dor nesses pacientes, embora até o presente momento não exista consenso acerca da modalidade e da intensidade do exercício físico que melhor se aplica na reabilitação desses pacientes. Assim, o objetivo inicial desse projeto será investigar os efeitos de diferentes modalidades de exercício físico de média e alta intensidade na hiperalgesia, comportamento cognitivo e emocionalidade, aspectos imunológicos e neuronais no modelo experimental de fibromialgia em camundongos. Serão utilizados camundongos Swiss, de 6 a 12 semanas de idade, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. A FM será induzida pela injeção intramuscular de solução salina ácida (aplicada no dia 0 e dia 5) e reserpina (0,25 mg/kg, subcutânea, dia 1 e 3). Os animais serão randomizados em diferentes grupos experimentais e as modalidades de exercícios avaliadas serão: aquáticos, resistência na esteira, exercício espontâneo na roda angular e força com escalada. Todos os procedimentos serão submetidos ao Comitê de Ética no Uso de Animais/UFSC. O protocolo será realizado em quatro semanas e as avaliações ocorrerão ao final de cada semana do protocolo (avaliação da hiperalgesia, comportamental e lactato sérico). Por fim, serão avaliados os níveis de neurotransmissores e monoaminas em tecidos periféricos e centrais.

Local do experimento: Os experimentos serão realizados no Laboratório de Autoimunidade e Imunofarmacologia (LAIF).

Florianópolis, 10 de maio de 2018

Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Junior  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Alcina Martins de Castro  
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Catarina



Contents lists available at ScienceDirect

Biomedicine &amp; Pharmacotherapy

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/bioph](http://www.elsevier.com/locate/bioph)

## Broad-spectrum cannabis oil ameliorates reserpine-induced fibromyalgia model in mice

Eduarda Gomes Ferrarini<sup>a,b</sup>, Rodrigo Sebben Paes<sup>a</sup>, Gabriela Mantovani Baldasso<sup>a</sup>, Pollyana Mendonça de Assis<sup>c</sup>, Murilo Chaves Gouvêa<sup>d</sup>, Paola De Cicco<sup>e</sup>, Nádia Rezende Barbosa Raposo<sup>c</sup>, Raffaele Capasso<sup>e,\*,1</sup>, Eduardo Luiz Gasnhar Moreira<sup>b</sup>, Rafael Cypriano Dutra<sup>a,b,\*,2</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Autoimmunity and Immunopharmacology, Department of Health Sciences, Campus Araranguá, Universidade Federal de Santa Catarina, 88906-072 Araranguá, SC, Brazil

<sup>b</sup> Post-Graduate Program of Neuroscience, Center of Biological Sciences, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis, SC, Brazil

<sup>c</sup> Center of Research and Innovation in Health Sciences, School of Pharmacy, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36096-330 Juiz de Fora, MG, Brazil

<sup>d</sup> Associação Brasileira de Apoio Cannabis e Esperança, Parque Sítion de Lucena, 697, 58028-470 João Pessoa, PB, Brazil

<sup>e</sup> Department of Pharmacy, University of Naples Federico II, 80131 Naples, Italy

<sup>f</sup> Department of Agricultural Sciences, University of Naples Federico II, 80055 Portici, Italy

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Broad-spectrum cannabis oil  
Cannabis sp.  
Reserpine-induced

### ABSTRACT

Fibromyalgia (FM) is an idiopathic disorder characterized by generalized pain and associated symptoms such as depression and anxiety. Cannabis sativa shows different pharmacological activities, such as analgesic, anti-inflammatory, neuroprotective, and immunomodulatory. Associated with this, the use of an oil with low concentrations of THC can reduce the psychomimetic adverse effects of the plant. Therefore, the present study aimed to evaluate the analgesic effect of broad-spectrum cannabis oil with low THC concentration in an experimental model of FM. Mechanical hyperalgesia, thermal allodynia, depressive- and anxious-related behavior, and locomotor activity were evaluated after reserpine (0.25 mg/kg; injected subcutaneously (s.c.) once daily for three consecutive days) administration. Our results showed that oral administration of broad-spectrum cannabis oil (0.1, 1, and 3 mg/kg, p.o.) in a single dose on the 4th day inhibited mechanical hyperalgesia and thermal allodynia induced by reserpine. Relevantly, treatment during four days with broad-spectrum cannabis oil (0.1 mg/kg, p.o.) reduced mechanical hyperalgesia 1 h after reserpine administration. Intraplantar treatment with cannabis oil significantly reversed mechanical and heat thermal nociception induced by reserpine injection. Interestingly, spinal and supraspinal administration of broad-spectrum cannabis oil completely inhibited mechanical hyperalgesia and thermal sensitivity induced by reserpine. The repeated cannabis oil administration, given daily for 14 days, markedly mitigated the mechanical and thermal sensitivity during the FM model, and its reduced depressive-like behavior induced by reserpine. In summary, broad-spectrum cannabis oil is an effective alternative to reverse the reserpine-induced fibromyalgia model.

Abbreviations: FM, Fibromyalgia; CNS, central nervous system; THC, tetrahydrocannabinol; CBD, cannabidiol; MCT, Medium-chain triglycerides; ABRACE, Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança; CEUA, Animal Ethics Committee; UFSC, Universidade Federal de Santa Catarina; p.o., oral route; i.pl., intraplantar; i.t., intrathecal; i.c.v., intracerebroventricular; ANOVA, analysis of variance; CONCEA, Brazilian Council of Animal Experimentation; g, grams; h, hours; TST, tail suspension test; kg, kilograms; mg, milligrams; min, minutes; ml, milliliters; PBS, phosphate-buffered solution; SEM, standard error of mean; ST, splash test; mmol, millimolar; AUC, area under the curve;  $\mu$ l, microliters; MCT, medium-chain triglyceride oil; s.c., injected subcutaneously; PPAR- $\alpha$ , peroxisome proliferator-activated receptor alpha; TRPV1, transient receptor potential cation channel subfamily V member 1; CB1, cannabinoid receptor 1; FAAH, fatty acid amide hydrolase.

\* Corresponding author.

\* Corresponding author at: Laboratory of Autoimmunity and Immunopharmacology, Department of Health Sciences, Campus Araranguá, Universidade Federal de Santa Catarina, 88906-072 Araranguá, SC, Brazil.

E-mail addresses: [duferrarini@gmail.com](mailto:duferrarini@gmail.com) (E.G. Ferrarini), [rodrigo.paes@hotmail.com](mailto:rodrigo.paes@hotmail.com) (R.S. Paes), [baldasso.gabriela@gmail.com](mailto:baldasso.gabriela@gmail.com) (G.M. Baldasso), [pomensis@hotmail.com](mailto:pomensis@hotmail.com) (P.M. de Assis), [murilo.gouvea@hotmail.com](mailto:murilo.gouvea@hotmail.com) (M.C. Gouvêa), [paola.decicco@unina.it](mailto:paola.decicco@unina.it) (P.D. Cicco), [nadia.barbosa@ufjf.br](mailto:nadia.barbosa@ufjf.br) (N.R.B. Raposo), [raficapas@unina.it](mailto:raficapas@unina.it) (R. Capasso), [rafaelcdutra@gmail.com](mailto:rafaelcdutra@gmail.com) (E.L.G. Moreira), [rafael.dutra@ufsc.br](mailto:rafael.dutra@ufsc.br) (R.C. Dutra).

<sup>1</sup> ORCID id: 0000-0002-3335-1822

<sup>2</sup> ORCID id: 0000-0002-6938-2161

<https://doi.org/10.1016/j.bioph.2022.113552>

Received 13 June 2022; Received in revised form 28 July 2022; Accepted 14 August 2022

Available online 18 August 2022

0753-3322/© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Masson SAS. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Fibromyalgia (FM), a syndrome of unknown etiology, is a complex and chronic disease characterized by generalized muscle pain, accompanied by various somatic and psychological symptoms, e.g., fatigue, stiffness, sleep disturbances, cognitive disorders, irritable bladder syndrome, headache, anhedonia, and depression [1]. Its prevalence is around 0.5–5%, mainly affecting women [2]. It is noteworthy that the biological underpinnings of this condition remain unclear, making it challenging to investigate potential factors that could modulate FM-related symptoms [3]. Although several hypotheses describe this pathology, there is no strong consensus on its pathophysiology, with many aspects still inexplicable [4]. However, it is well-known that FM is strongly related to a central sensitization phenomenon characterized by neurocircuitry dysfunction, which correlates with the perception, transmission, and processing of afferent nociceptive stimuli, thus affecting prevalent manifestations of pain in the locomotor system [5].

The current pharmacological therapy, e.g., neuropathic, anticonvulsant, and antidepressant drugs, predominantly focus on symptomatology [6], with limited efficacy since they cannot contemplate all the repercussions presented by FM patients. Thus, about 90% of patients need to resort to alternative therapies to control symptoms [7]. In this regard, preclinical studies are of great relevance to bringing light to the pathophysiology of FM, and developing new therapeutic targets aiming at promoting novel treatment options, considering the efficacy limitations of the current therapeutic alternatives [7].

In this regard, recent evidence brought to light the use of cannabinoids as an alternative treatment for FM [8,9]. Although the evidence supporting cannabis use in chronic pain conditions is abundant and well established, clinical applicability and safety have not been properly reported in FM [10,11]. For instance, cannabis use is associated with some significant risks, e.g., addiction and psychiatric, cognitive, and developmental impairments [11]. It is well-known that cannabis interacts with the central nervous system (CNS) through endocannabinoid receptors and signaling molecules that produce analgesia and psychomimetic effects. One of the well-known psychoactive substances in cannabis is the tetrahydrocannabinol (THC) or  $\Delta^9$ -THC [11], which acts as an agonist of endocannabinoid receptors and reduces neurotransmission. However, cannabis also features other naturally occurring phytocannabinoids, e.g., cannabidiol (CBD), that lacks the psychomimetic properties induced by THC [12]. With this in mind, biotechnological developments and extraction techniques have allowed the production of cannabis extracts and oils almost devoid of psychomimetic influence due to the isolation of the psychoactive substances [11]. Therefore, the broad-spectrum cannabis oil is nearly  $\Delta^9$ -THC free, but it contains all of the phytochemicals found in the plant, including terpenes, flavonoids, and other phytocannabinoids such as CBD [13]. Against this backdrop, the present study determined the broad-spectrum cannabis oil effects on reserpine-induced FM in mice, evaluating its analgesic effects using different routes of administration.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Drugs and reagents

Reserpine was acquired from Sigma Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, USA); Lyrica® (pregabalin) was purchased from Pfizer (New York, NY, USA). Reserpine was diluted in 0.5 % tween 80 (v/v in phosphate-buffered solution; PBS), and pregabalin in saline solution (0.9 % NaCl). Broad-spectrum cannabis oil was diluted with medium-chain triglyceride oil (MCT).

### 2.2. Broad-spectrum cannabis oil

The broad-spectrum cannabis oil was produced and analyzed by the Brazilian Association ABRACE (Associação Brasileira de Apoio Cannabis

Esperança, Paraíba – Brazil/ National Register of Legal Entities - CNPJ under the number 23.877.015/0001-38). The chromatographic analysis was performed and published in a previous study and reported a CBD:  $\Delta^9$ -THC proportion of 11:1 and total cannabinoids of 40.2 % (15 mg of CBD in 1 ml of the oil) [13]. Regarding the microbiological assessment, the oil was under the current quality parameters [13].

### 2.3. Animals

The experiments were carried out in female Swiss mice (30–40 g, 60–120 days of age,  $n_{total} = 120$  animals) since the disease is more prevalent in women, obtained from the Federal University of Santa Catarina. Animals (maximum of 8 mice group-housed in clear transparent plastic cages with dust-free sawdust bedding) were kept under a 12 h light/dark cycle (artificial light on at 7:00 a.m.) and temperature ( $22 \pm 2$  °C). They were fed a pelleted and extruded mouse diet ad libitum and had unrestricted access to drinking water. Animals were acclimated to laboratory settings for at least 1 h before testing and were used only once throughout the experiments. The daily experimental procedures were always performed at the same time and respected the light/dark cycle. All procedures in this study were performed following the ARRIVE 2020 and “Principles of Laboratory Animal Care” from NIH Publication No. 85-23 and were approved by the Animal Ethics Committee of the Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA-UFSC, protocol number 2572210218). Behavioral evaluations were performed between 8:00 a.m. and 5:00 p.m.

### 2.4. Biogenic amine depletion model

The induction of FM was performed using the model proposed by Nagakura and collaborators of depletion of biogenic amines in mice. For this, 0.25 mg/kg of reserpine was dissolved in 0.5 % tween 80 (distilled water and 0.5 % tween 80). Reserpine was injected subcutaneously (s.c.) once daily for three consecutive days in a volume of 10 mL/kg as reported by Nagakura et al. (2009) and later adapted to mice [14,15].

### 2.5. Experimental design

Firstly, to evaluate the effects of oral administration (p.o.) with broad-spectrum cannabis oil in reserpine-injected mice, treatment with the oil was performed a single administration comparing three different doses of 0.1, 1, and 3 mg/kg, at the end of the induction. In addition, a positive control was performed with pregabalin 30 mg/kg, p.o., a single administration. Mechanical hyperalgesia and cold thermal allodynia were evaluated before induction (baseline), before treatment (0 h), and after 30 min, 1, 2, 3, and 4 h after treatment administration the day following the end of the induction (day four). Thermal allodynia to heat was also evaluated at baseline, 0 h, and after two hours of treatment (Fig. 1 – A). Secondly, we performed the oral administration of broad-spectrum cannabis oil at for four consecutive days (1, 2 and 3rd day of induction and on the 4th day) dose of 0.1 mg/kg on the fourth day after the first reserpine administration, and after that, assessed the baseline mechanical hyperalgesia, 0 h, and after 30 min, 1, 2, 3, and 4 h of treatment. Moreover, thermal allodynia to cold and heat was also assessed at baseline, 0 h, and after two hours of treatment (Fig. 1 – B).

Afterward, three independent experiments were carried out to evaluate the administration of broad-spectrum cannabis oil (or vehicle) through intraplantar (i.pl.) - 100  $\mu$ g/i.pl. (Fig. 1 – C), intrathecal (i.t.) - 1  $\mu$ g/i.t. (Fig. 1 – D), or intracerebroventricular (i.c.v.) - 2  $\mu$ g/i.c.v. (Fig. 1 – E) route. The single dose of broad-spectrum cannabis oil was administered on the fourth day after the first reserpine administration, and after that, mechanical hyperalgesia was assessed at baseline, 0 h, and after 30 min, 1, 2, 3, and 4 h of treatment. Moreover, thermal allodynia to cold and heat was assessed at baseline, 0 h, and after two treatment hours. Finally, a protocol was carried out to evaluate the effects of the chronic administration of broad-spectrum cannabis oil

(1 mg/kg, p.o., daily). The untreated-control group received vehicle (p.o., daily), or positive control group received pregabalin 30 mg/kg, p.o., every day. Treatment started on the fourth day after the first reserpine administration and continued for ten consecutive days. Behavioral test assessments were performed in all groups before day 0 to obtain baseline tactile and thermal thresholds. Subsequently, on days 0, 3 (before treatment), 4, 5, 6, 9, 11, 13, and 14 post-reserpine induction, the animals were submitted to the following behavioral tests: (i) mechanical hypersensitivity – days 0, 3, 4, 9, and 14; (ii) thermal stimulation to cold – days 0, 3, 4, 9 and 14; (iii) thermal stimulation to heat – days 0, 3, 4, 9 and 14; (iv) passive stress-coping behaviors in the tail suspension test – days 6 and 13; (v) anxiety-like behavior in the elevated plus maze test – days 5 and 12; (vi) anhedonic-like behavior in the splash test – days 5 and 12; and (vii) exploratory behavior in the open field test behavior – days 4 and 14 (Fig. 1 – E).

## 2.6. Behavioral tests

### 2.6.1. Mechanical hyperalgesia

For evaluation of mechanical hyperalgesia, we used the von Frey test (0.4 g filament – the ventral surface of the right hind paw) [14,15] at different time points (0, 3, 4, 9, and 14 days post-induction).

### 2.6.2. Acetone test

The acetone test assessed cold allodynia. Using a flat-top syringe, we applied 20  $\mu$ l of acetone to the plantar surface of each mouse's hind paw through the metallic mesh floor and observed their responses. Responses were monitored for 20 s after acetone application and scored on a four-point scale, as described previously [16]. For example, 0 = no response; 1 = quick withdrawal, flick, or stamp of the paw; 2 = prolonged withdrawal or repeated flicking of the paw; 3 = repeated flicking of the paw with persistent licking directed at the ventral side of the paw. The cumulative scores were then obtained by calculating each mouse's three scores and dividing by five, which was the number of assays [17].

### 2.6.3. Tail flick

The test consists of a briefly immersion of the tail in hot water ( $43 \pm 1^\circ\text{C}$ ) to measure the thermal threshold's latency [5]. For the animal that did not show nociceptive behavior after 15 s, the stimulus was suspended to avoid tissue damage. Baseline latency (10 s) was determined before testing, and withdrawal latencies were measured manually.

### 2.6.4. Splash test

This test is based on the evaluation of self-cleaning behavior. Briefly, sucrose solution (200  $\mu$ l of a 10 %) was squirted on each mouse's dorsal coat inducing grooming behavior. The time and numbers of grooming were recorded for 5 min as the ratio of self-care and motivational behaviors [18,19].

### 2.6.5. Tail suspension test

Passive stress-coping behavior was assessed using the tail suspension test (TST). Each mouse was suspended 50 cm above the floor, and a small piece of the adhesive tape to a wooden stick near the end of the mouse tail about 2 cm, and a barrier surrounded the mice's views. The mice's tail test lasted 6 min. Immobility latency, total immobile time, and the number of immobility were evaluated. Mice were considered immobile when they showed hopelessness, which the mice stopped struggling to overcome the abnormal position, and were nearly immobile or completely motionless after a period of struggling activity [20].

### 2.6.6. Elevated plus maze test

The elevated plus maze (EPM) was executed according to the protocol previously described [13]. The apparatus consisted of two open arms (35 cm  $\times$  5 cm), and two closed arms (35 cm  $\times$  5 cm  $\times$  15 cm) that extended from a central platform (6 cm  $\times$  6 cm). The entire maze was elevated to a height of 50 cm above the floor. Mice were individually allocated in an open arm facing the center of the maze, and the number of entries and time spent in both arms were recorded for 5 min. The increase in the percentage of entries and reduction time spent in the

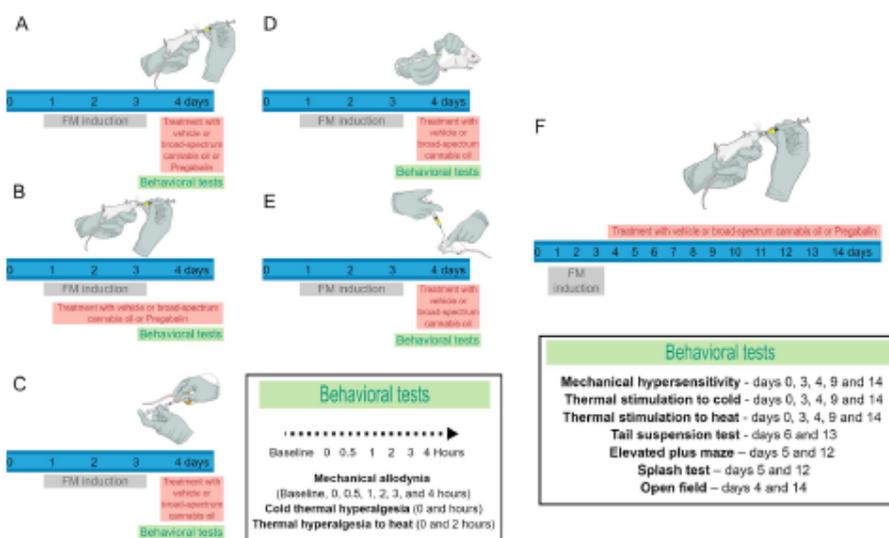


Fig. 1. Experimental design - (A) Broad-spectrum cannabidiol treatment was performed for four days at doses of 0.1, 1 and 3 mg/kg, once a day, p.o. for 4 days. (B) Broad-spectrum cannabidiol treatment was performed at doses of 0.1 mg/kg, once a day, p.o. (C) Broad-spectrum cannabidiol treatment was performed, once a day, 100  $\mu$ g/l.p.l. (D) Broad-spectrum cannabidiol treatment was performed, once a day, 1  $\mu$ g/l.t. (E) Broad-spectrum cannabidiol treatment was performed, once a day, 2  $\mu$ g/l.c.v. (F) Chronic treatment with broad-spectrum cannabidiol for 10 days, 1 mg/kg daily p.o.

open arms was considered anxiolytic-like profiles. The apparatus was cleaned out after each animal was evaluated with 10% ethanol solution [13].

### 2.6.7. Open field test

To investigate the possibility of broad-spectrum cannabis oil treatment developing non-specific muscle-relaxing and sedative effects during the FM model, we used open-field apparatus (40 cm × 60 cm × 50 cm). The time spent in ambulation and rearing behavior were counted manually for 5 min [18]. The maze was wiped clean after each animal was evaluated with 10% ethanol solution [14].

### 2.7. Statistical analysis

Results are expressed as the mean ± standard error of the mean (SEM). Results were analyzed by a mixed-model one-way or two-way ANOVA. Normality and homoscedasticity were evaluated using Shapiro-Wilk's and Levene's tests, respectively. One-way (inhibition rate and behavioral test) and two-way (pain assessments) analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni's post-hoc were performed to analyze the differences among experimental groups and compared with the control group. P values of < 0.05 < 0.01 and < 0.001 were considered statistically significant. Data were analyzed using GraphPad Prism software version 9.4.0 for Windows (San Diego, CA, USA).

## 3. Results

### 3.1. Effects of oral dose administration of broad-spectrum cannabis oil on reserpine-evoked nociception

First, to assess the therapeutic effect of oral administration of broad-spectrum cannabis oil on the nociception of reserpine-injected animals, the tactile threshold was measured using the von Frey test. In this study, the administration of reserpine (0.25 mg/kg, s.c.) induced a pronounced mechanical hypersensitivity after four days. In this sense, oral administration of broad-spectrum cannabis oil (0.1, 1 and 3 mg/kg, p.o.) in a single dose on the 4th day inhibited mechanical hyperalgesia after two hours of treatment (two-way ANOVA [F (4, 25) = 8.87,  $p < 0.01$ ] (Fig. 2 - A), with inhibitions (area under the curve) of 45%, 42% and 39% for doses 0.1, 1 and 3 mg/kg, respectively (one-way ANOVA of treatment effect [F (4, 85) = 4.47,  $***p < 0.001$ ] (Fig. 2 - B). Moreover, treatment during four days with broad-spectrum cannabis oil (0.1 mg/kg, p.o.) reduced reserpine-induced mechanical hyperalgesia 1 h after reserpine administration (two-way ANOVA [F (12, 147) = 2.55,  $p < 0.05$ ] (Fig. 2 - F) - inhibition of 23% (one-way ANOVA of treatment effect [F (2, 12) = 147.7,  $***p < 0.001$ ] (Fig. 2 - G). Interestingly, a single administration of broad-spectrum cannabis oil (0.1 mg/kg, p.o.) reversed the nociceptive effects caused by reserpine on cold thermal allodynia after two hours of treatment (two-way ANOVA [F (4, 25) = 5.39,  $***p < 0.01$ ] (Fig. 2 - C and D). However, no significant effects on heat thermal allodynia with broad-spectrum cannabis oil were observed (Fig. 2 - E and J). In addition, the four-day oral treatment with the oil did not demonstrate significant effects on cold allodynia (Fig. 2 - H and I).

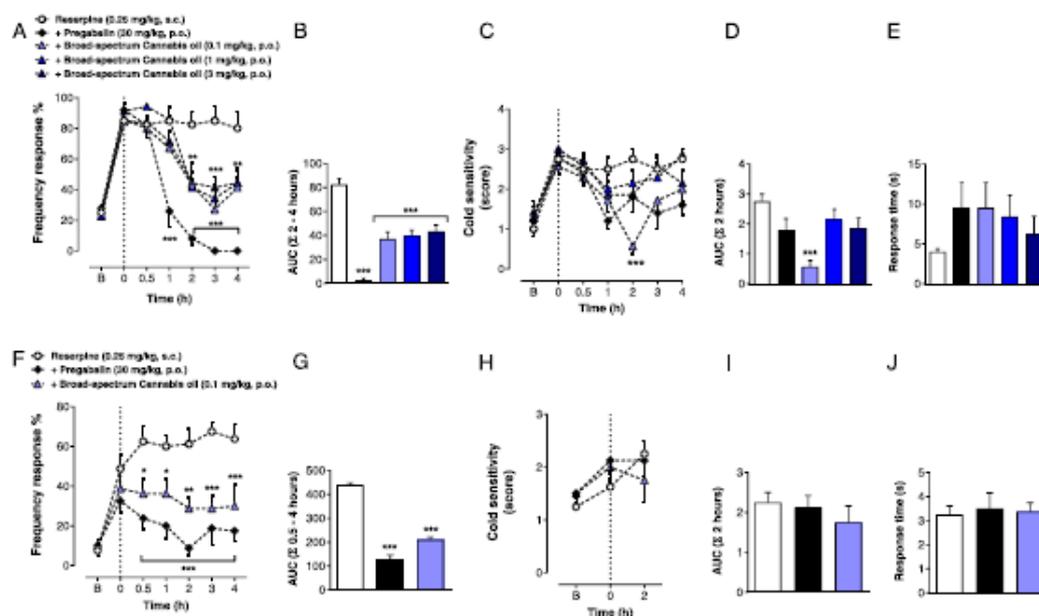


Fig. 2. Anti-hyperalgesic effects of oral broad-spectrum cannabis oil during reserpine model - Oral treatment with broad-spectrum cannabis oil at doses of 0.1, 1 and 3 mg/kg for four days. (A) Von Frey test, (B) area under the von Frey test curve, (C) Acetone test, (D) Area under the acetone test curve and (E) Tail flick test. Single-dose treatment on day four orally with broad-spectrum cannabis oil at a dose of 0.1 mg/kg (F) Von Frey test, (G) Area under the von Frey test curve, (H) Acetone test, (I) Area under the acetone test curve, and (J) Tail flick test. Each line/column represents the mean ± SEM of five and eight mice/group and are representative of two independent experiments. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  and  $***p < 0.001$  vs. reserpine group (one-way and two-way ANOVA analysis of variance followed by Bonferroni's post hoc test). AUC: area under the curve.

### 3.2. Effects of intraplantar treatment with broad-spectrum cannabis oil on nociception induced by reserpine administration

Reserpine administration induced a significant decrease in mechanical and thermal nociceptive threshold compared to the untreated-control group. Therefore, in order to investigate the effects of intraplantar administration of broad-spectrum cannabis oil (100 µg) on the nociceptive effects of reserpine-injected animals, treatment was performed on the fourth day (Fig. 3). Intraplantar treatment with broad-spectrum cannabis oil significantly reversed mechanical nociception induced by reserpine injection after 1 and 2 h of treatment (two-way ANOVA; [F (5, 84) = 37.15,  $p < 0.01$ ], Fig. 3 - A), with inhibition of 61% (one-way ANOVA of treatment effect; [F (2, 2) = 1.00,  $p < 0.001$ ], Fig. 3 - B). It was also possible to observe that the oil via intraplantar provided reversal of the nociceptive effects of reserpine on thermal allodynia (two-way ANOVA; [F (2, 42) = 5.91,  $p < 0.05$ ], Fig. 3 - D), although the same effect could not be observed in the cold thermal nociceptive threshold (Fig. 3 - C).

### 3.3. Effects of intrathecal and intracerebroventricular administration of broad-spectrum cannabis oil during the FM model

Posteriorly, to evaluate the effects of direct administration of the oil into CNS, two administration routes were evaluated in this reserpine model, intrathecal and intracerebroventricular administration, in doses of 1 µg and 2 µg, respectively. It was possible to assess that i.t. reversed the mechanical nociceptive effects caused by reserpine after 30 min of broad-spectrum cannabis oil administration (two-way ANOVA, [F (1,

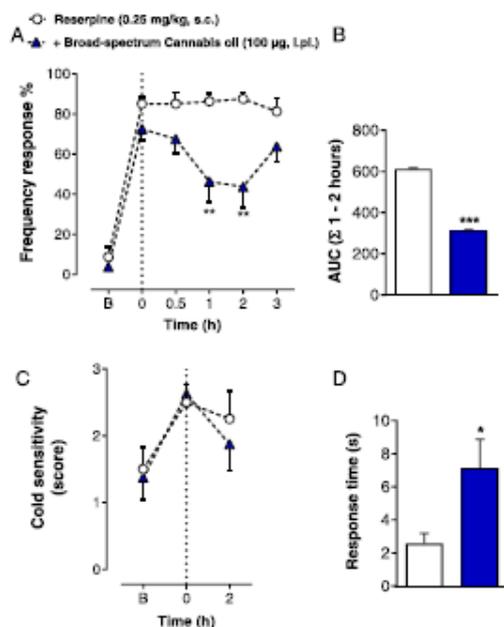


Fig. 3. Anti-hyperalgesic effects of intraplantar broad-spectrum cannabis oil during reserpine model - Single-dose treatment on day four broad-spectrum cannabis oil at a dose of 100 µg. (A) Von Frey test, (B) area under the von Frey test curve, (C) Acetone test, and (D) Tail flick test. Each line/column represents the mean  $\pm$  SEM of eight mice/group and are representative of two independent experiments. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  and \*\*\*  $p < 0.001$  vs. reserpine group (one-way and two-way ANOVA of analysis variance followed by Bonferroni's post hoc test). AUC: area under the curve.

10) = 9.96,  $p < 0.001$ ], Fig. 4 - A). This fact can be confirmed with the analysis of the area under the curve that showed inhibition of hyperalgesia by 27% (one-way ANOVA of treatment effect [F (3, 3) = 15.40,  $p < 0.01$ ], Fig. 4 - B). Another important aspect was that the oil via i.t. also showed modulating effects on heat-thermal nociceptive pathways (two-way ANOVA, [F (2, 20) = 53.09,  $p < 0.05$ ], Fig. 4 - D), but not on cold-thermal pathways (Fig. 4 - C). Interestingly, i.c.v. administration only had analgesic effects after 3 h of treatment with oil (two-way ANOVA; [F (6, 72) = 20.96,  $p < 0.001$ ], Fig. 4 - E), showing an inhibition rate of 43% (one-way ANOVA of treatment effect, [F (2, 69) = 0.68,  $p < 0.001$ ], Fig. 4 - F), in addition, no effects of this administration on thermal nociceptive pathways were observed (Fig. 4 - G and H).

### 3.4. Effect of chronic treatment with broad-spectrum cannabis oil on nociception and behavioral disturbances after reserpine administration

Finally, we evaluated the effects of oral administration of broad-spectrum cannabis oil for ten consecutive days and its action on possible nociceptive changes and behavioral disorders related to the induction of fibromyalgia-like by reserpine. The von Frey test demonstrated that after one day of treatment the oil promoted mechanical analgesia (two-way ANOVA; [F (2, 21) = 72.03,  $p < 0.001$ ], Fig. 5 - A), relating an inhibition rate of 45% (one-way ANOVA of treatment effect, [F (2, 69) = 0.68,  $p < 0.001$ ], Fig. 5 - B), however, it did not demonstrate significant long-term effects on thermal nociceptive changes (Fig. 5 - C and D). Interestingly, the broad-spectrum treatment with cannabis oil demonstrated significant effects on anhedonic-like behavior on the second day of treatment, increasing the time and number of groomings (one-way ANOVA of treatment effect [F (5, 42) = 0.67 and F (5, 42) = 0.19 respectively,  $p < 0.05$ ], Fig. 5 - E and F), in addition to decreasing the depressive-like behavior by reducing the immobility time in the TSC (one-way ANOVA of treatment effect [F (5, 42) = 6.90,  $p < 0.05$ ], Fig. 5 - G). However, it was not possible to observe the effects of the oil in the other evaluations (Fig. 5 - H). Also, it was not possible to observe significant effects of oil administration on anxious-like behavior (Fig. 5 - I and J and IO). Furthermore, it was also possible to clarify that the administration of oil did not interfere with locomotor activities (Fig. 5 - L).

## 4. Discussion

Pharmacological options have demonstrated effectiveness in the management of FM, such as amitriptyline (tricyclic antidepressant), duloxetine, milnacipran (serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors), tramadol (opioid), gabapentin and pregabalin (anticonvulsant), although most of these drugs provide only modest benefits. Moreover, they are often associated with side effects, compromising adherence [21]. Considering this evidence, the present study evaluated the effects of broad-spectrum cannabis oil on reserpine-induced fibromyalgia-like model in mice. One of the remarkable results obtained herein is that the broad-spectrum cannabis oil, regardless of the route of administration, was effective in mitigating reserpine-induced mechanical and thermal hyperalgesia in mice. Moreover, chronic administration of oil reversed reserpine-induced mechanical and thermal (heat) nociceptive behavior and attenuated reserpine-induced passive stress-coping behavior and lower-self-care behavior in mice.

Firstly, we demonstrated that reserpine injections induced mechanical and thermal nociceptive and depressive-like behaviors in female mice. In this regard, reserpine mimics a complex condition found in FM patients, which involves a dysfunction and depletion of biogenic amines in the CNS [5,14]. It is noteworthy that multiple genetic polymorphisms affect the transmission and processing of pain through serotonergic, catecholaminergic, and dopaminergic mechanisms that may play an important role in the etiology of FM [5,7]. Moreover, the present study observed that reserpine-injected mice showed mechanical hyperalgesia,

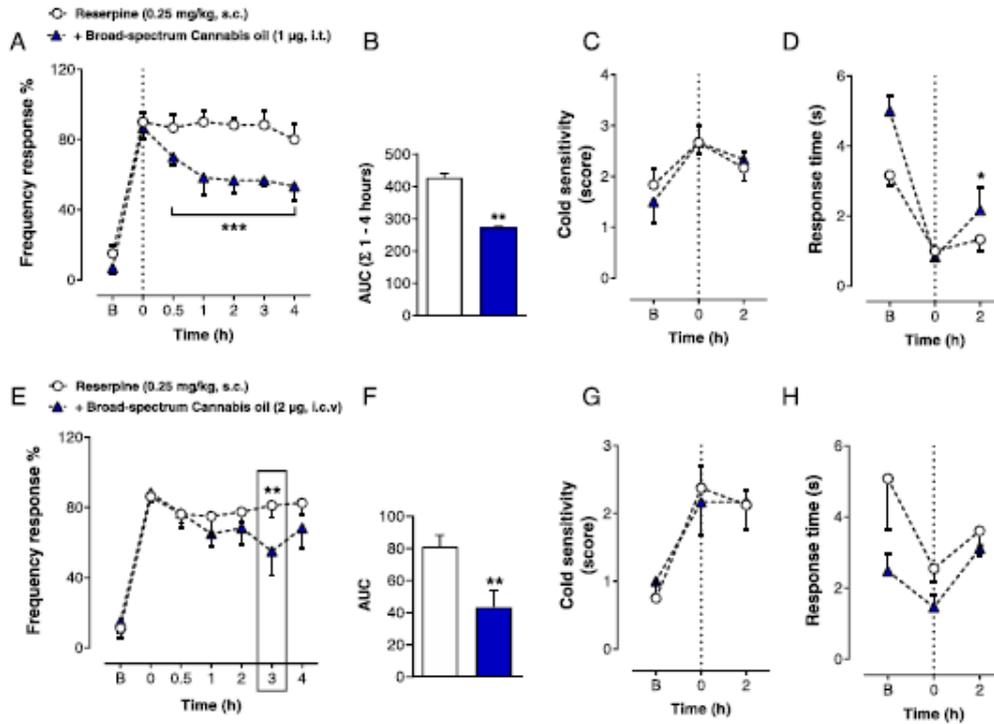


Fig. 4. Anti-hyperalgesic effects of intrathecal and intracerebroventricular administration broad-spectrum cannabis oil during reserpine model - Single-dose treatment on day four broad-spectrum cannabis oil. The effects of intrathecal injection in (A) Von Frey test, (B) area under the von Frey test curve, (C) Acetone test, and (D) Tail flick test. The effects of intracerebroventricular administration in (E) Von Frey test, (F) area under the von Frey test curve, (G) Acetone test, and (H) Tail flick test. Each line/column represents the mean  $\pm$  SEM of eight mice/group and are representative of two independent experiments. \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$  and \*\*\*\* $p < 0.001$  vs. reserpine group (one-way and two-way ANOVA analysis of variance followed by Bonferroni's post hoc test). AUC: area under the curve.

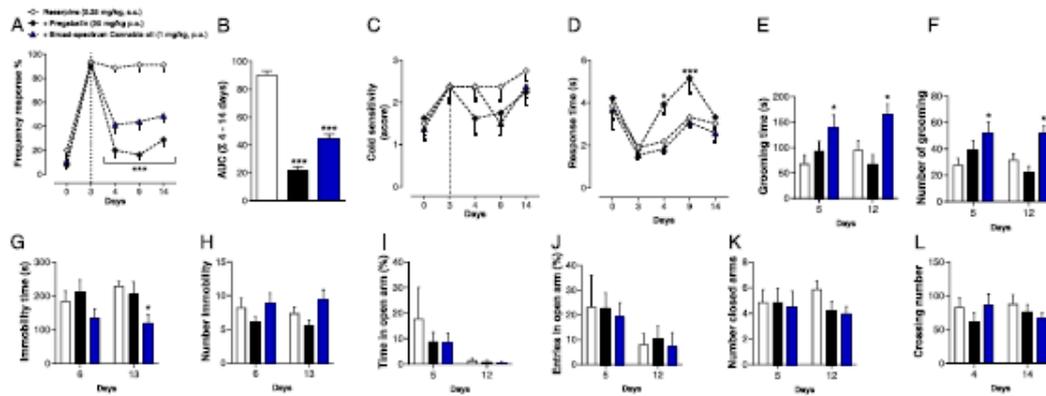


Fig. 5. Anti-hyperalgesic and behavioral effects of oral administration broad-spectrum cannabis oil during reserpine model for 10 days - The effects of administering the oral chronic in (A) Von Frey test, (B) area under the von Frey test curve, (C) Acetone test, (D) Tail flick test, (E and F) Anhedonic-like behavior in time and number grooming, (G and H) Tail suspension test and its effects on the time of immobility and number, (I and J) - Elevated Cross Maze, percentage of time and open arms entries, and numbers of times in closed arms and, (L) Open field test crossing numbers. Each line/column represents the mean  $\pm$  SEM of eight mice/group and are representative of two independent experiments. \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$  and \*\*\*\* $p < 0.001$  vs. reserpine group (one-way and two-way ANOVA analysis of variance followed by Bonferroni's post hoc test and one-way ANOVA). AUC: area under the curve.

a condition predominantly observed in “fibromyalgic” patients. FM patients have a condition called central sensitization and abnormal pain modulation, which seems to be the primary mechanism that causes hypersensitivity to painful stimuli and reduced descending pain inhibition [22]. Herein, we demonstrated that broad-spectrum cannabis oil mitigated the reserpine-induced mechanical hyperalgesia. In agreement with our findings, Gregorio and colleagues [23] demonstrated that administration of CBD intravenously (0.1–1 mg/kg) and subcutaneously (5 mg/kg/day for 7 days) induced mechanical analgesia in neuropathic pain models. Of note, the authors demonstrated evidence that such effects occurred through TRPV1 activation and by potentiating serotonergic neurotransmission. Additionally, FM patients may have potentially impaired pain processing due to changes in connectivity and functional levels of inhibitory and excitatory neurotransmitter concentrations in pain-processing regions of the brain [24]. Thus, FM patients are more sensitive to stimuli, such as heat and cold and mechanical pressure. These stimuli provoke a pain response that would not otherwise be triggered in healthy individuals [11]. In addition to the mechanisms mentioned above, it is believed that there is an association between the hyperalgesia found in patients with FM and the presence of central endocannabinoid hypofunction in the spinal cord [11]. In this sense, recent report has elucidated the involvement of the endocannabinoid system in FM models. For instance, ASP0477, a selective inhibitor of fatty acid amide hydrolase (FAAH, a primary catabolic enzyme for anandamide) restored muscle pressure thresholds during reserpine-induced fibromyalgia model in rats, thus representing a promising pharmacological target for the FM [25]. Thus, one might posit that the broad-spectrum cannabis oil can interact with the endocannabinoid system and thus modulate the nociceptive pathways, resulting in the analgesic effects observed herein. A possible therapeutic target associated with the oil used is the potential of CBD to regulate the levels of anandamide, which in turn acts as an intracellular messenger, amplifying the influx of calcium via TRPV1 channels, thus controlling the release of neurotransmitters, and modulating the nociceptive signal [26].

An important fact in this study is the constitution of the studied oil, which contains few concentrations of THC, therefore preventing possible side effects related to this compound. As previously mentioned, THC, the main psychoactive constituent of cannabis, activates CB1 and CB2 receptors, consequently inducing central and peripheral neuronal activity, and is responsible for the analgesic and psychomimetic effects of cannabis [27]. As much as THC has great clinical effects, a study has shown that, unfortunately, most patients who used THC (2.5–15 mg daily for three months) as therapeutic form gave up early due to THC side effects, but those who completed it had marked reductions in visual analog scales (VAS) of subjective pain [10]. The broad-spectrum cannabis oil studied here has low levels of THC and higher levels of CBD [13], the main non-intoxicating constituent of cannabis [27]. CBD, because it has a low affinity for CB1R, does not represent the psychomimetic effects found by the action of THC. Therefore, it can potentiate the analgesic effects [27]. Moreover, recently our group showed no effects of broad-spectrum cannabis oil in the tetrad behavior – a very useful assay to characterize potential psychomimetic effects of cannabinoids [13], confirming analytical parameters, according to the manufacturer’s information (CBD:Δ9-THC proportion of 11:1 and total cannabinoids of 40.2 %).

In the present study, we evaluated different routes of administration, being them oral, intraplantar, intrathecal and intracerebroventricular. Comparing the routes studied here, it can be observed that for mechanical hyperalgesia, oral and intrathecal administrations showed control of hyperalgesia in the first 30 min after treatment. In studies by Kiso et al., similar effects were demonstrated, however, with a single oral administration of ASP0477 (0.3, 1 and 3 mg/kg), a FAAH inhibitor, it demonstrated effectiveness in reversing mechanical hyperalgesia at doses of 1 and 3 mg/kg in the RIM model [25]. This corroborates to establish the oral route as a positive therapeutic target in mechanical

sensitivity in this model. In the heat allodynia, routes of administration that showed significant effects were intraplantar and intrathecal, and other routes did not represent antinociceptive effects. Much remains to be clarified about the thermal analgesic effects of cannabinoid therapeutic targets in peripheral and central pathways, mainly related to chronic pain models such as FM. In this sense, other studies using neuropathic pain and inflammatory pain models have investigated possible mechanisms using microinjections of CB1R, TRPV1 and PPARα antagonists before a microinjection of URB597 in the insular cortex, an important brain region involved in pain and emotion processing in the brain. It was possible to observe that blocking CB1R and PPARα, but not TRPV1, reversed antinociceptive effects of URB597 [28,29]. Thus, demonstrating that, possibly, the analgesic effects of the studied oil may be correlated with inflammatory regulation and with the activation of the endocannabinoid system, but hardly with the control of heat sensitivity. Interestingly, only the oral administration of 0.1 mg/kg (single dose) showed repair in cold allodynia after two hours of treatment. Such a result can also be observed with the intraperitoneal administration of a FAAH inhibitor – URB597, whereas the authors correlate the antinociceptive effects with increased levels of endocannabinoids such as anandamide and 2-arachidonoyl glycerol [30]. Moreover, it was observed that the oil administered intrathecally showed effect after half an hour of treatment on mechanical analgesia. This fact may be related to the alterations that reserpine causes at the spinal level since the myalgia model induced by reserpine induces area of interstitial edema in the spinal cord, and a reduction in the area of motoneurons in the ventral horn of the spinal cord [14]. Clinically, cannabinoids are most commonly prescribed for oral or inhaled administration, but these different routes of administration have diverse side effects. These include drowsiness, dizziness, sedation, torpor/disorientation, fatigue/tiredness, nausea, poor coordination, decreased concentration, headache, hypervigilance, edema, insomnia, and increased appetite [31]. However, the main psychomimetic side effects were related to the administration of the product via inhalation due to the effects of THC, and these effects are amplified when consumed through methods with faster absorption, such as smoking or vaping, compared to oral injection [32,33]. Furthermore, pharmacokinetics and pharmacodynamics differ between inhalation and oral ingestion, influencing onset and duration of adverse effects of each method of administration [34]. For this reason, it is important to evaluate different forms of administration to determine which prescription could bring the best result for these patients.

The endocannabinoid system is associated with multiple biochemical actions, modulating not only pain and inflammation, but also emotions, anxiety, and stress. Baseline differences in endocannabinoids and N-acetylanolamines levels were reported among FM compared with healthy people [26]. Unlike the present study’s findings, many authors have demonstrated the anxiolytic effects of CBD administration. CBD has proliferative effects on hippocampal progenitor cells by increasing anandamide levels and is mediated by secondary activation of CB1 and CB2 receptors [35]. Furthermore, since anandamide is known central neuromodulator that is involved in the extinction of traumatic memories, it can be speculated that changes in anandamide levels have repercussions on structural changes in the brain, especially with emphasis on structural changes in the amygdala and hippocampus of the brain [36]. Emphasizing these findings, de Assis et al. [13] demonstrated anxiolytic effects of broad-spectrum cannabis oil (0.1 mg/kg, p.o.) in acute and chronic stress models, stating that the present oil has anxiolytic potential; however, in different experimental models. Another mechanism associated with the antidepressant and anxiolytic effects of CBD is its role in regulating serotonergic neurotransmitters [37,38].

The fibromyalgia-like model reproduced in the present study proved to be an important tool for assessing anxious and depressive-like behavior. Numerous studies using the RIM model reported increased immobility times in the forced swimming test and tail suspension test and decreased swimming times in the forced swimming test, indicative of depressive-like behavior in rats and mice [39]. An important finding

in this study was that the chronic administration of broad-spectrum cannabis oil had repercussions on analgesic effects and reversed the reserpine-induced passive stress-coping behavior and lower-self-care behavior in mice. Given the data discussed here, it is possible to assume that cannabinoids can alter pain processing, reduce low-grade inflammation, and allow the modulation of emotional and cognitive function in FM patients, as they have anti-inflammatory, antiepileptic, anti-ischemic, and antiemetic properties. However, it is difficult to compare the effects of the oil studied in the present study with other studies already published since medical cannabis, even though it is considered safe and well-tolerated, has a great diversity of cannabis species and different methods of preparation. In this regard, more research is needed to determine the effects of the cannabis drug/dosage used in research and clinical settings [33].

In the present study, it was possible to observe that, regardless of the route of administration, broad-spectrum cannabis oil proved to be effective in reversing the mechanical hyperalgesia effects of the reserpine-induced fibromyalgia model. Furthermore, chronic treatment with broad-spectrum cannabis oil showed analgesic effects on mechanical hyperalgesia and heat allodynia and mitigated reserpine-induced passive stress-coping behavior and lower-self-care behavior in mice. Conjointly, our results point to broad-spectrum cannabis oil as a therapeutic alternative for the disorders caused by FM. Clearly, the findings of the present study may help in the therapy for patients with FM, however, some administration routes studied here are difficult to transpose to clinical practice. Another limiting point of this study is the fact that it does not address possible mechanisms by which broad-spectrum cannabis oil acts. In this sense it is necessary to develop more studies that answer such gaps.

#### Funding

This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Pós-Graduação em Neurociências (PPG NEURO/UFSC), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), and Programa INCT-INOVARMED (grant 465430/2014-7), all from Brazil. E.G.F. and P.M.A. were recipient of a Ph.D. fellowship from CAPES-Brazil; R.S.P. and G.M.B. are undergraduate students in Physiotherapy receiving grants from CNPq; E.L.G.M. and R.C.D. are recipients of a research productivity fellowship from the CNPq. The authors are grateful to the ABRACE association in Paraíba – Brazil for providing the broad-spectrum oil obtained from *Cannabis sp.* used in this study.

#### ORCID iD authorship contribution statement

Study design and concept, and manuscript writing: EGF, ELOM, RC, RCD; experiment implementation and manuscript drafting: EGF, RSP, OMB, PMA, MCG, PDC, RC, RCD; figure production: EGF, RCD; data analysis: EGF, RSP, OMB, PMA, MCG, NRBR, RC, ELOM, RCD; experiment support: EGF, RSP, OMB, PMA, MCG, PDC, NRBR, RC, ELOM, RCD. All authors read and approved the final manuscript.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### References

- [1] A. Alezi, V. Nucera, L.F. Masala, M. Giannanza, L. La Corte, V. Giorgi, P. Sarzi-Puttini, F. Atzeni, One year in review 2021: fibromyalgia, *Clin. Exp. Rheumatol.* 39 (2021) S3–S12.

- [2] F.M. de Santana, J.F. Cobre, C.P. Figueredo, Cognitive biases in fibromyalgia diagnosis, *J. Bone Spine* (2022), 105339, <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2021.105339>.
- [3] M. Correa-Rodriguez, R. Rueda-Medina, A. Casas-Barragán, R.M. Tapia-Haro, F. Molina, M.E. Aguilar-Ferrández, Dietary intake assessment, severity of symptoms, and pain in women with fibromyalgia, *Clin. Nurs. Res.* 30 (2021) 1164–1173, <https://doi.org/10.1177/10547738211012464>.
- [4] A. Kaur, I. Singh, N. Singh, M.S. Bhatti, R. Bhatti, Anxiolytic effect of imperatorin in chemically induced fibromyalgia: role of NMDA/NFkB mediated downstream signalling, *Biochem. Pharmacol.* 166 (2019) 56–69, <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.05.012>.
- [5] C.P. Martins, R.S. Paes, G.M. Baldasso, E.G. Ferrarini, R. Scussel, R.P. Zaccaron, R. A. Machado-de-Avila, P.C.L. Silveira, R.C. Dutra, Pramipexole, a dopamine D3/D2 receptor-preferring agonist, attenuates reserpine-induced fibromyalgia-like model in mice, *J. Behav. Neurosci.* 17 (2022) 450–458.
- [6] L. Bazzichi, C. Giacomelli, A. Consensì, V. Giorgi, A. Batticciotto, M. Di Franco, P. Sarzi-Puttini, One year in review 2020: fibromyalgia, *Clin. Exp. Rheumatol.* 38 (2020) S3–S8.
- [7] R. Siracusa, R. Di Paola, S. Cuzzocrea, D. Impellizzeri, Fibromyalgia: Pathogenesis, mechanisms, diagnosis and treatment options update, 2021, <https://doi.org/10.3390/jms22083991>.
- [8] M. Mathur, Bioactive Molecules in food, Springer reference, 2018.
- [9] H. Klusheid, L.A. Qureshi, N. Jahan, T.R. West, W. Sultan, A. Sajkota, M. Alfonso, A systematic review of fibromyalgia and recent advancements in treatment: Is medicinal cannabis a new hope? *Cureus* 6 (2021) 1–11, <https://doi.org/10.7759/cureus.17332>.
- [10] R. Walitt, P. Klose, M.A. Fitzcharles, T. Phillips, W. Häuser, Cannabinoids for fibromyalgia, *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016 (2016), <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011694.pub2>.
- [11] A.A. Berger, J. Keefe, A. Winnick, E. Gilbert, J.P. Eskander, C. Yazdi, A.D. Kaye, O. Viswanath, I. Urits, Cannabis and cannabidiol (CBD) for the treatment of fibromyalgia, *Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 34 (2020) 617–631, <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2020.08.010>.
- [12] J.O. Ebbert, E.L. Scharf, R.T. Hurt, Medical cannabis, *Mayo Clin. Proc.* 93 (2018) 1842–1847, <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.09.005>.
- [13] P.M. De Assis, E.G. Ferrarini, G.M. Baldasso, R. Cyrillano, Broad-spectrum Cannabis oil alleviates behavioral symptoms associated with stress-related anxiety and depression in mice, 21678 (2021), <https://doi.org/10.34172/PS.2021.59>.
- [14] E.G. Ferrarini, E.C.D. Gonçalves, J. Ferrareis Menegasso, B.D. Rabelo, F. A. Felipetti, R.C. Dutra, Exercise reduces pain and deleterious histological effects in fibromyalgia-like model, *Neuroscience* 465 (2021) 46–59, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.04.017>.
- [15] L.B. Bortolanza, J. Ferreira, S.C. Hess, F. Delle Monache, R.A. Yunes, J.S. Calixto, Anti-allodynic action of the tormentic acid, a triterpene isolated from plant, against neuropathic and inflammatory persistent pain in mice, *Eur. J. Pharm.* 453 (2002) 203–208, [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02428-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02428-7).
- [16] S.J.L. Flatters, G.J. Bennett, Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy, *Pain* 109 (2004) 150–161, <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.01.029>.
- [17] J.R. Denis, L.S. Dvorakova, L. Vetter, Methods used to evaluate pain behaviors in rodents, *Front. Mol. Neurosci.* 10 (2017) 1–17, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>.
- [18] D.S. Santos, P.S.S. Lauria, A.F. Evangelista, F.J. Azeredo, J.A.V. Costa, M.B. P. Soares, J.I. Druzian, C.F. Villarreal, Beyond inflammation: centrally mediated antinociceptive properties of *Spirulina platensis* LEB-18 biomass via the opioid system, *J. Funct. Foods* 72 (2020), 104083, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104083>.
- [19] L. De Souza, W. de, M. Barros, R.M. De Souza, E. Delanogare, A.E. Machado, S. P. Braga, G.K. Rosa, G.M. Nardi, A. Rafacho, G.F.F. Speretta, E.L.G. Moreira, Impact of different fructose concentrations on metabolic and behavioral parameters of male and female mice, *Physiol. Behav.* 228 (2021), 113187, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113187>.
- [20] S. Shakiba, M. Rezaee, K. Afshari, K. Kazemi, K. Alsadat Sharifi, N.S. Haddadi, A. Haj-Mirzaian, A. Kamalian, S.Z. Jazayeri, K. Richter, A.R. Dehpour, Evaluation of the pharmacological involvement of ATP-sensitive potassium (KATP) channels in the antidepressant-like effects of toprimate on mice, *Naunyn-Schmiede Arch. Pharmacol.* 392 (2019) 833–842, <https://doi.org/10.1007/s00210-019-01636-z>.
- [21] R.A. Moore, E. Fisher, W. Häuser, R.F. Bell, S. Perrot, J. Bidonde, S. Makri, S. Straube, Pharmacological therapies for fibromyalgia (fibromyalgia syndrome) in adults – an overview of Cochrane Reviews, *Cochrane Database Syst. Rev.* 2021 (2021), <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013151.pub2>.
- [22] R. Staud, Abnormal endogenous pain modulation is a shared characteristic of many chronic pain conditions, *Expert Rev. Neurother.* 12 (2012) 577–585, <https://doi.org/10.1586/ern.12.41>.
- [23] D. De Gregorio, R.J. Melançon, L. Posa, R. Ochoa-sanchez, J. Enns, Cannabidiol modulates serotonergic transmission and reverses both allodynia and anxiety-like behavior in a model of neuropathic pain 160 (2019) 136–150.
- [24] T. Schmidt-Wilcke, M. Diers, New insights into the pathophysiology and treatment of fibromyalgia, *Biomedicine* 5 (2017) 1–11, <https://doi.org/10.3390/biomed5020022>.
- [25] T. Kiso, T. Watabiki, T. Sekizawa, ASP8477, a fatty acid amide hydrolase inhibitor, exerts analgesic effects in rat models of neuropathic and dysfunctional pain, *Elsevier B.V.*, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173194>.
- [26] N. Stensson, B. Gredle, M. Erberg, Mannerkorpi, K. Kosk, E. Ghafouri, Bijar, Increased Anandamide and Decreased Pain and Depression after Exercise in

- Fibromyalgia, (2020) 1617–1628. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002293>.
- [27] E.A. Romero-Sandoval, J.E. Fincham, A.L. Kolano, B.N. Sharpe, P.A. Alvarado-Vázquez, Cannabis for chronic pain: challenges and considerations, *Pharmacotherapy* 38 (2018) 651–662, <https://doi.org/10.1002/phar.2115>.
- [28] Y.S. Kim, N. Kim, K. Words, Sex-gender differences in irritable bowel syndrome, 24 (2018).
- [29] Kwilasz, Abdullah, Poklis, Lichtman, Negus, Effects of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor URB597 on pain-stimulated and pain-depressed behavior in rats, *Behav. Pharm.* 25 (2014) 119–129, <https://doi.org/10.1097/FBP.000000000000023>.Effects.
- [30] E. Lomazzo, L. Bindila, F. Remmers, R. Lerner, C. Schwitler, U. Hobeisel, Therapeutic potential of inhibitors of endocannabinoid degradation for the treatment of stress-related hyperalgesia in an animal model of chronic pain, *Neuropsychopharmacology* (2015) 488–501, <https://doi.org/10.1038/npp.2014.198>.
- [31] A. Deshpande, A. Mailis-Gagnon, N. Zohairy, S.F. Lakha, Efficacy and adverse effects of medical marijuana for chronic noncancer pain: systematic review of randomized controlled trials, *Can. Fam. Physician* 61 (2015) e372–e381.
- [32] K. Cohen, A. Weizman, A. Weinstein, Positive and negative effects of cannabis and cannabinoids on health, *Clin. Pharmacol. Ther.* 105 (2019) 1139–1147, <https://doi.org/10.1002/cpt.1381>.
- [33] I. Kuryandchik, E. Tiralongo, J. Schloss, Safety and efficacy of medicinal cannabis in the treatment of fibromyalgia: a systematic review, *J. Altern. Complement. Med.* 27 (2021) 198–213, <https://doi.org/10.1089/acm.2020.0331>.
- [34] C.J. Lucas, P. Galetti, J. Schneider, The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids, *Br. J. Clin. Pharm.* 84 (2018) 2477–2482, <https://doi.org/10.1111/bcp.13710>.
- [35] D. Javier, Galve-roperh, I. Guimara, F.G.S., The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system, (2013) 1407–1419. <https://doi.org/10.1017/S1461145712001502>.
- [36] I. Kaufmann, G. Schelling, C. Eisner, H. Peter, T. Krauseneck, M. Vogesser, D. Hauer, P. Campolongo, A. Chouker, A. Beyer, M. Thiel, Anandamide and neutrophil function in patients with fibromyalgia, (2008) 676–685. <https://doi.org/10.1016/j.psychneu.2008.02.009>.
- [37] F.S. Guimarães, T.M. Chiaretti, F.G. Graeff, A.W. Zuardi, Anxiolytic effect of cannabidiol in the elevated plus-maze, *Psychopharmacology* 100 (1990) 558–559, <https://doi.org/10.1007/BF02244012>.
- [38] Y.C. Chaves, K. Genaro, J.A. Crippa, J.M. da Cunha, J.M. Zanoveli, Cannabidiol induces antidepressant and anxiolytic-like effects in experimental type-1 diabetic animals by multiple sites of action, *Metab. Brain Dis.* 36 (2021) 639–652, <https://doi.org/10.1007/s11011-020-00667-3>.
- [39] S.L. Bourke, A. Katrin, S. Elizabeth, O. Sullivan, D.J. Nutt, D.P. Finn, Pharmacology & therapeutics cannabinoids and the endocannabinoid system in fibromyalgia: a review of preclinical and clinical research, *Pharmacol. Ther.* 240 (2022), 108216, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108216>.