

---

TEZA DE DOCTORAT

# Studii de siguranță și efectele biologice ale unui produs pe bază de canabidiol

**(REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT)**

---

Doctorand **Andra Popescu** (căs **Popescu-Samrak**)

---

Conducător științific **Prof. Univ. dr. Ioan Marcus**

---





## INTRODUCERE

Canabidiolul (CBD) este unul dintre fitocanabinoizii non-psihoactivi extrași din planta *Canabis spp.*. Fitocanabinoidul, mai puțin cunoscut, în special în comparație cu mult mai popularul și mult mai restricționatul delta 9- tetrahidrocanabinol (THC), nu pare să provoace nicio dependență sau alte efecte secundare similare. Acest lucru se datorează, în principal, faptului că CBD-ul nu pare să activeze direct receptorii CB<sub>1</sub> și CB<sub>2</sub>, care este principalul mecanism de acțiune al THC-ului (PERTWEE și colab., 2004).

În ultimii ani, canabidiolul a câștigat din ce în ce mai mult teren la nivel mondial ca moleculă terapeutică autonomă sau complementară într-o gamă largă de patologii. Deoarece există unele controverse referitoare la CBD și utilizările sale, nu au fost efectuate studii aprofundate referitoare la siguranța produsului și la utilizările sale în diferite patologii. De asemenea, din cauza faptului că produsele cu canabidiol nu sunt legale în toate țările sau teritoriile din întreaga lume, cercetarea CBD nu este la fel de ușor de făcut. FDA din Statele Unite ale Americii a aprobat o singură formulare de canabidiol, Epidiolex, pentru utilizare în patologiiile epilepsiei refractare la copii, cum ar fi sindromul Lennox-Gastaut și sindromul Dravet (FASINU și colab., 2016). Organismul european de reglementare, EMA, a acordat CBD-ului (Epidyolex) denumirea de "medicament orfan" pentru tratamentul sindromului Lennox-Gastaut, sindromului Dravet și sclerozei tuberoase. Pentru oricare alte patologii, CBD-ul nu a fost aprobat, fiind astfel considerat un supliment, nu un medicament și, prin urmare, este mult mai puțin reglementat decât preparatele farmaceutice convenționale. Numeroase studii preliminare au fost efectuate cercetând alte beneficii potențiale ale canabidiolului, care vor fi discutate mai târziu în această teză.

Principalele probleme atât în medicina umană, cât și în cea veterinară în ceea ce privește aprofundarea cunoștințelor referitoare la utilizarea CBD-ului sunt împărțite. Problema principală cu CBD-ul este că mulți oameni nu cunosc diferența dintre CBD și THC și cred că sunt două molecule cu aceleași proprietăți, ceea ce este, în mod clar, greșit. Sunt două molecule diferite, cu efecte și ținte foarte diferite. Ambele pot fi utilizate în domeniul medicinei, totuși psihoactivitatea moleculei THC este ceea ce îi determină pe oameni să aibă o altă perspectivă asupra acesteia. Legile și reglementările stricte la nivel mondial privind utilizarea THC-ului, dar și a produselor CBD, împiedică, de asemenea, cercetarea ulterioară a subiectului CBD. Încet, pe măsură ce țările fac diferența între cele două molecule, au fost efectuate mai multe cercetări privind CBD-ul și ne putem aștepta la și mai multe. În medicina umană, CBD-ul este utilizat în cea mai mare parte pentru condițiile menționate mai sus, cu alte utilizări "off-label" care vor fi enumerate în această teză. În medicina veterinară, utilizarea CBD-ului este mult mai

reținută, mulți practicieni ezitând să recomande utilizarea acestuia. Statele Unite ale Americii și Canada se află în fruntea utilizării CBD-ului la animalele de companie, în principal la câini. Câteva studii clinice mici, dar care au avut succes, au evidențiat la câini utilitatea CBD-ului ca terapie independentă sau combinată în epilepsie și osteoartrită (MCGRATH și colab., 2019; GAMBLE și colab., 2018; MEIJA și colab., 2021; LISA MORROW și colab., 2020; FEDERICA BRIOSCHI și colab., 2020; GARCIA și colab., 2022; HEIDRUN POTSCSKA și colab., 2022; ANDRA POPESCU și colab., 2022; MOGI și colab., 2019), cu toate acestea, datele la pisici sunt destul de rare.

Pe măsură ce legile devin mai puțin stricte, proprietarii de animale de companie sunt din ce în ce mai dispuși să exploreze CBD-ul ca potențial agent terapeutic pentru animalele lor de companie, iar percepțiile proprietarilor devin din ce în ce mai deschise ideii. Un sondaj a fost realizat de Kogan și colab. în Statele Unite și a constatat că mai puțin de jumătate dintre medicii veterinari practicanți s-au simțit confortabil să le sugereze proprietarilor pacienților folosirea CBD-ului. În plus, medicii veterinari mai tineri au fost mai predispuși să prescrie CBD în principal pentru gestionarea durerii și epilepsiei decât medicii veterinari mai în vârstă. Participanții au exprimat faptul că organismele de reglementare veterinară ar putea oferi mai mult sprijin în ceea ce privește utilizarea canabidiolului veterinar, mai ales că legile sunt încă neclare cu privire la utilizarea CBD-ului (LORI KOGAN și colab., 2019). Un studiu similar a fost realizat în Slovacia; cu toate acestea, a fost menit să evalueze perspectivele proprietarului asupra CBD-ului. 38,5% dintre respondenți dăduseră sau dădeau, în momentul acela, CBD animalelor lor de companie și majoritatea au găsit informațiile cu privire la CBD pe internet, doar 34% dintre oameni primind informații de la medicii veterinari. Mai mult de jumătate dintre participanții la acest studiu au declarat că folosesc CBD-ul ca tratament concomitent (KATERINA TOMSIC și colab., 2022).

Majoritatea medicilor veterinari sunt de acord că nu există nici pe departe suficiente cercetări privind utilizarea CBD-ului de uz veterinar și sunt necesare mai multe studii pentru ca practicienii să se simtă în siguranță prescriind CBD la animale.

Pe măsură ce legile se schimbă, apar mai multe cercetări și produsele CBD devin mai ușor disponibile, medicilor veterinari le va fi mai ușor să acceseze informații și să poată utiliza canabidiolul împreună cu tratamentele convenționale în diferite patologii pentru câini și pisici.

## SCOPURILE ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

**Ipoieza de lucru** se bazează pe presupunerea că molecula de canabidiol posedă efecte antiepileptice și neuroprotectoare, ceea ce poate duce la utilizarea sa concomitentă în tratarea epilepsiei canine și în neuropatia periferică indusă de chimioterapie atât la animale, cât și la oameni.

Scopul acestei cercetări este de a testa siguranța unui produs canabidiol românesc, foarte concentrat, de a evalua efectele sale terapeutice potențiale în epilepsia canină și de a vedea dacă molecula este sau nu capabilă să atenueze efectele neuropatiei periferice induse de vincristină.

### Obiectivul 1

Obiectivul principal al primului studiu este de a evalua siguranța acută a unui produs canabidiol foarte concentrat. Acest lucru se realizează prin intermediul unui studiu de toxicitate acută în conformitate cu protocoalele OECD, completat cu analize biochimice, histologice și hematologice. În plus, se va face o caracterizare completă a produsului, alături de o analiză a metalelor grele.

### Obiectivul 2

Obiectivul principal al celui de-al doilea studiu este de a evalua eficacitatea canabidiolului în atenuarea severității neuropatiei periferice induse de vincristină. Activitățile specifice ale acestui studiu includ analiza comportamentală a șobolanilor prin intermediul scalei grimace de șobolan, testul Tail Flick și testele de percepție a durerii.

### Obiectivul 3

Obiectivul principal al celui de-al treilea studiu este de a evalua eficacitatea canabidiolului ca tratament concomitent al epilepsiei și osteoartritei la câini. Eficacitatea moleculei va fi evaluată cu analize radiologice, hematologice și biochimice, precum și evaluări ale durerii cu Colorado Pain Scale.

## STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza intitulată "Studii de siguranță și efecte biologice ale unui produs pe bază de canabidiol" constă în 124 pagini scrise conform normelor actuale de editare atât la nivel academic, cât și la nivel național. Teza de doctorat este alcătuită din două părți, cuprinzând 8 capitole și conține 44 figuri, 19 tabele și 208 surse bibliografice.

Prima **parte** a tezei de doctorat cu titlul "Stadiul actual al cunoașterii" este structurată în 3 capitole și acoperă 43 de pagini. Această parte cuprinde informații referitoare la canabidiol cu căile sale de sinteză și diferiți fitocanabinoizi sintetizați din *C. planta sativa* (**Capitolul 1**). Aceasta include, de asemenea, prezentarea sistemului endocanabinoid cu endocanabinoizii și receptorii CB<sub>1</sub> și CB<sub>2</sub> și interacțiunile acestora în organism, precum și farmacocinetica și farmacodinamica canabidiolului. Următorul capitol cuprinde efectele canabidiolului atât în medicina umană, cât și în cea veterinară, alături de datele de siguranță pentru molecula CBD (**Capitolul 2**), în timp ce ultimul capitol constă în informații privind vincristina și neuropatia periferică indusă de chimioterapie (**Capitolul 3**).

Cea **de a doua parte** din această teză de doctorat cuprinde cercetări originale și este alcătuită din 5 capitole care se întind pe 80 de pagini.

Prima parte din capitolele de cercetare originală oferă informații cu privire la obiectivele principale și ipoteza de lucru a tezei, precum și la obiectivele pentru fiecare dintre următoarele studii. Scopul din această cercetare este de a testa siguranța unui produs pe bază de canabidiol românesc, foarte concentrat, pentru a evalua efectele sale terapeutice potențiale în epilepsia canină și pentru a vedea dacă molecula este sau nu capabilă să atenueze efectele neuropatiei periferice induse de vincristină.

**Capitolul 4** conține **Studiul I**: Caracterizarea, analiza metalelor grele și studiul toxicității acute a canabidiolului, iar scopul principal al acestui studiu a fost de a caracteriza fitocanabinoizii și nivelurile lor în uleiul CBD, de a evalua prezența metalelor grele în produs și de a efectua un studiu de toxicitate acută de 14 zile al produsului pe șobolani. Studiul de toxicitate a inclus monitorizarea parametrilor hematologici și biochimici, a fluctuațiilor de greutate în timpul perioadei de studiu și a histopatologiei la sfârșitul studiului.

**Capitolul 5** conține **Studiul II**: Canabidiolul în atenuarea neuropatiei periferice induse de vincristină, iar obiectivul principal al acestui studiu a fost evaluarea eficacității canabidiolului în atenuarea severității neuropatiei periferice induse de vincristină. Diverse teste au fost efectuate pe parcursul experimentului pentru a evalua efectele CBD-ului asupra VIPN, inclusiv teste comportamentale (Tail Flick Test, Paw Withdrawal Test), histopatologie și imunohistochimie, hematologie și biochimie. Rat Grimace Scale-ul a fost, de asemenea, utilizat pentru a monitoriza durerea pe tot parcursul

experimentului.

**Capitolul 6** include **Studiul III**: Canabidiolul în managementul epilepsiei canine și artritei. Obiectivul principal al acestui studiu a fost de a evalua eficacitatea canabidiolului ca tratament concomitent al epilepsiei la câini. Deoarece câinele a fost, de asemenea, diagnosticat cu osteoartrită, s-au făcut și monitorizarea oricăror modificări ale durerii legate de artrită, precum și progresia bolii. Pacientul a fost monitorizat zilnic pe tot parcursul experimentului prin intermediul Colorado Pain Scale și investigațiilor paraclinice (hematologie, biochimie și radiologie), acestea fiind efectuate la fiecare 6 luni.

**Capitolul 7** prezintă concluzii generale și recomandări bazate pe rezultatele celor 3 studii efectuate pentru această teză de doctorat. **Capitolul 8** rezumă originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei.

## REZULTATELE CERCETĂRII ORIGINALE

**Capitolul 4.** Scopul studiului nostru de toxicologie acută a fost de a confirma sau infirma siguranța utilizării produsului CBD cu spectru complet. Acest studiu este concludent și demonstrează că acest produs CBD, foarte concentrat, nu prezintă citotoxicitate acută *in vitro* sau *in vivo*, folosit chiar și în doze foarte mari. Studiile asupra culturilor celulare au arătat atât viabilitatea, cât și proliferarea celulară.

Studiul histopatologic post-mortem efectuat pe ficat și rinichi, precum și pe alte organe ale diferiților subiecți nu a arătat, printre altele, prezența nici a depozitării, nici a modificărilor morfo-funcționale de tip necrotic. Siguranța acută a produsului CBD, indiferent de doză, fără asociere cu apariția efectelor secundare nedorite sau a mortalității la diferiții subiecți ai studiului, a fost observată în acest studiu. De asemenea, s-a observat că 100% dintre subiecți au luat în greutate fără nicio modificare a stării clinice sau a parametrilor comportamentali.

Nu a fost evidențiată mortalitate, inclusiv la doza maximă de 2000 mg / kg. Nu a fost demonstrată toxicitate la nivel de organ prin studiul nostru la această doză, indicând astfel o siguranță relativ ridicată a utilizării *in vivo* a produsului.

**Capitolul 5.** Acest studiu a avut ca scop evaluarea eficacității canabidiolului în atenuarea severității neuropatiei periferice induse de vincristină.

În ceea ce privește rezultatele obținute, pare că, în aceste circumstanțe, CBD-ul conferă un anumit nivel de neuroprotecție șobolanilor în timpul administrării vincristinei. Grupul Vin + CBD a prezentat cea mai mică cantitate de pierdere în greutate și, statistic, cel mai mic grad de durere ( $P = 0,049$ ), reflexe mai rapide pentru testul de

retragere a labei ( $P = 0,021$ ) și un timp de reacție mai rapid la alcoolul glacial ( $P = 0,030$ ) decât grupurile VIN și Vin + GABA.

În ceea ce privește greutatea corporală, pierderea în greutate a fost de așteptat în cursul acestui experiment, din cauza administrării vincristinei, deoarece este un efect secundar comun. Canabidiolul a redus cantitatea de pierdere în greutate în grupul experimental, în comparație cu grupurile care au primit vincristină și gabapentină sau numai vincristină.

Pentru testele comportamentale efectuate în cadrul acestui experiment, canabidiolul ameliorează efectele vincristinei, în comparație cu celelalte două grupuri experimentale. Aceste constatări sunt similare cu cele publicate în studiile preliminare, deoarece CBD-ul este o substanță neuroprotectoare, însă mecanismele implicate nu sunt deocamdată clare.

**Capitolul 9. Acest studiu** a avut ca scop evaluarea eficacității canabidiolului ca tratament concomitent al epilepsiei și osteoartritei la câini. Pacienta noastră a avut crize epileptice de aproximativ 3 ori în prima lună de tratament CBD, deși a fost pe o terapie zilnică cu fenobarbital și fenitoină la o doză de 100 mg / animal, fiecare. După prima lună de administrare a CBD-ului, pe lângă terapia cu fenobarbital și fenitoină, convulsiile au fost reduse considerabil, în frecvență și în severitate. În același timp, după 6 luni de tratament, se observă îmbunătățirea anumitor valori biochimice, înapoi în limitele normale. Administrarea CBD-ului a dus la scăderea crizelor epileptiforme și la ameliorarea durerii și contracțiilor musculare asociate patologiei epilepsiei, evitând astfel distrugerea țesutului muscular, evidențiată printr-o scădere a enzimei creatinfosfokinazei.

După ultima criză observată în prima lună de administrare a CBD-ului, nu s-au mai înregistrat convulsii pe o perioadă de 8 luni. După 4 luni de "liniște" clinică a epilepsiei, fenitoina a fost eliminată din tratament, deoarece hepatotoxicitatea acestui compus este bine cunoscută. După alte 3 luni fără prezența simptomatologiei epilepsiei, fenobarbitalul a fost de asemenea îndepărtat din tratamentul câinelui. Aceste acțiuni au fost resimțite, în sensul că la analiza biochimică efectuată la 3 luni după eliminarea fenobarbitalului, toți parametrii biochimici au ajuns în limite normale, iar datorită efectelor CBD-ului miorelaxant și analgezic, inclusiv leziunile musculare observate la primele analize biochimice, nu s-au regăsit în analizele efectuate ulterior. De asemenea, au fost observate două crize epileptice ușoare, de scurtă durată, la o lună și, respectiv, la două luni, după eliminarea fenobarbitalului din tratament. Acestea ar putea fi, de asemenea, atribuite faptului că animalul a avut anterior o "fereastră" de 4 zile în care nu i s-a administrat niciun tratament anticonvulsiv, din cauza unei probleme cu transportul produsului CBD. Au urmat alte 5 luni de lipsă a activității convulsive, punctate de o ușoară criză epileptică sincronă cu apariția căldurii, după care s-a decis creșterea dozei de CBD la 4 mg / kg greutate corporală. De atunci, nu au mai fost înregistrate alte crize epileptice până la sfârșitul studiului.



## CONCLUZII GENERALE

**Capitolul 7** al tezei de doctorat prezintă concluziile generale la care s-a ajuns ca urmare a proiectului de cercetare actual iar acestea sunt următoarele:

1. Produsul special de canabidiol produs de SEVA SRL, nu este contaminat cu metale grele, iar caracterizarea se potrivește exact cu ceea ce este menționat pe etichetă.
2. Canabidiolul este relativ sigur și a fost bine tolerat de șobolani, chiar și în doze foarte mari. Nu produce toxicitate *in vitro* sau *in vivo* acută la șobolani. *Experimentele in vitro* pe culturi celulare arată chiar proliferarea celulelor la concentrații mai mari.
3. Canabidiolul prezintă un grad mare de neuroprotecție într-un model de neuropatie periferică indusă de chimioterapie la șobolani, diminuând durerea și gradul de hipoalgezie. În plus, canabidiolul a diminuat incapacitatea de a simți temperaturile scăzute și a provocat o pierdere mai mică în greutate la șobolani.
4. Canabidiolul oferă efecte antiepileptice foarte bune la câini și acționează ca analgezic în durerea cronică cauzată de osteoartrită, totuși nu poate opri progresia naturală a osteoartritei la animalele mai în vârstă.
5. Acest produs canabidiol nu a crescut parametrii biochimici, în special AST și ALT după 17 luni de utilizare zilnică, în contradicție cu ceea ce au afirmat unele articole publicate anterior.

## RECOMANDĂRI

În general, recomandările mele cu privire la utilizarea canabidiolului în medicina veterinară pentru diferite patologii, inclusiv epilepsie și osteoartrită, sunt următoarele:

Canabidiolul este eficient și poate fi utilizat ca tratament conjunctiv sau tratament independent în anumite cazuri de epilepsie la câini, după înțărirea lentă a animalului de la medicamentele antiepileptice convenționale. Doza inițială trebuie să fie de 2-2,5 mg / kg și apoi poate fi crescută treptat dacă este necesar la 5-6 mg / kg.

Canabidiolul este eficient și poate fi utilizat în osteoartrita canină, unde acționează atât ca analgezic, cât și ca agent antiinflamator.

Canabidiolul poate ameliora severitatea neuropatiei periferice induse de vincristină și poate fi mai util ca tratament conjunctiv în protocoalele de chimioterapie, în principal în medicina umană, mai degrabă decât în medicina veterinară, deoarece prevalența VIPN în medicina veterinară este scăzută.

Este dificil de spus cu certitudine că toate produsele canabidiol disponibile pe piață sunt create în mod egal, deoarece studiile anterioare au arătat că lipsa reglementării nutraceuticelor derivate din plante duce la etichetarea și denaturarea greșită.

Sunt necesare studii suplimentare pentru a investiga efectele benefice ale canabidiolului la pisici, deoarece există o deficiență severă de cercetare în acest domeniu. Sunt necesare studii suplimentare atât la pisici, cât și la câini pentru a investiga beneficiile suplimentare ale CBD-ului la feline și la câini.

În ceea ce privește studiul neuropatiei, recomandarea mea este ca studiul să se desfășoare pe o perioadă cronică de timp deoarece canabidiolul este un produs derivat din plante și necesită o perioadă mai lungă de timp pentru a se acumula în sistem și pentru a oferi efecte terapeutice.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Brioschi, F. A., Di Cesare, F., Gioeni, D., Rabbogliatti, V., Ferrari, F., D'Urso, E. S., Amari, M., & Ravasio, G. (2020). Oral transmucosal cannabidiol oil formulation as part of a multimodal analgesic regimen: Effects on pain relief and quality of life improvement in dogs affected by spontaneous osteoarthritis. *Animals*, 10 (9), 1505. <https://doi.org/10.3390/ani10091505>
2. Fasinu, P. S., Phillips, S., ElSohly, M. A., & Walker, L. A. (2016). Current status and prospects for cannabidiol preparations as new therapeutic agents. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 36 (7), 781–796. <https://doi.org/10.1002/phar.1780>
3. Gamble, L.-J., Boesch, J. M., Frye, C. W., Schwark, W. S., Mann, S., Wolfe, L., Brown, H., Berthelsen, E. S., & Wakshlag, J. J. (2018). Pharmacokinetics, safety, and clinical efficacy of cannabidiol treatment in osteoarthritic dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00165>
4. Garcia, G. A., Kube, S., Carrera-Justiz, S., Tittle, D., & Wakshlag, J. J. (2022). Safety and efficacy of cannabidiol-cannabidiolic acid rich hemp extract in the treatment of refractory epileptic seizures in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. doi:10.3389/fvets.2022.939966
5. Kogan, L., Schoenfeld-Tacher, R., Hellyer, P., & Rishniw, M. (2019). US veterinarians' knowledge, experience, and perception regarding the use of cannabidiol for canine medical conditions. *Frontiers in Veterinary Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00338>
6. McGrath, S., Bartner, L. R., Rao, S., Packer, R. A., & Gustafson, D. L. (2019). Randomized blinded controlled clinical trial to assess the effect of oral cannabidiol administration in addition to conventional antiepileptic treatment on seizure frequency in dogs with intractable idiopathic epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 254 (11), 1301–1308.
7. Mejia, S., Duerr, F. M., Griffenhagen, G., & McGrath, S. (2021). Evaluation of the effect of cannabidiol on naturally occurring osteoarthritis-associated pain: A pilot study in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 57 (2), 81–90. <https://doi.org/10.5326/jaaha-ms-7119>
8. Mogi, C., & Fukuyama, T. (2019). Cannabidiol as a potential anti-epileptic dietary supplement in dogs with suspected epilepsy: Three case reports. *Pet Behaviour Science*, (7), 11–16. <https://doi.org/10.21071/pbs.v0i7.11800>

9. Morrow, L., & Belshaw, Z. (2020). Does the addition of cannabidiol alongside current drug treatments reduce pain in dogs with osteoarthritis? *Veterinary Record*, 186 (15), 493–494. <https://doi.org/10.1136/vr.m1594>
10. Pertwee, R. G. (2004). The pharmacology and therapeutic potential of cannabidiol. *Cannabinoids*, 32–83.
11. Popescu, A., Bazarea, D. R., Dreanca, A., Sarpataki, O., Sevastre, B., & Marcus, I. (2022). The effects of cannabidiol on canine epilepsy and arthritis – A case study. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 79 (2), 70–76. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:2022.0028>
12. Potschka, H., Bhatti, S. F. M., Tipold, A., & McGrath, S. (2022). Cannabidiol in canine epilepsy. *The Veterinary Journal*, 290, 105913. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2022.105913>
13. Tomsič, K., Rakinić, K., & Seliškar, A. (2022). Slovenian pet owners' experience, attitudes, and predictors regarding cannabinoid use in dogs and cats. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.796673>