



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO: Cannabinoides y Cáncer en pediatría.

Autor: Nisrin Mohamed Doudouh

D.N.I.: 45302565V

Tutor: Maria Pilar Gómez- Serranillos Cuadrado

Convocatoria: Junio del 2016



Abstract: Cannabis sativa, produce una resina rica en sus principios activos conocidos como cannabinoides. Los principales cannabinoides activos son el Δ -9-THC y el cannabidiol. Se sabe que estos cannabinoides pueden atacar directamente a las células cancerosas a través de su unión a receptores CB (cannabinoides), afectando así a las rutas de señalización celular, lo cual puede inducir la supresión del crecimiento celular, así como su muerte, o inhibir la migración de células cancerosas, en especial del cáncer infantil como es el neuroblastoma: tumor más común en los niños.

Introducción. El término “cáncer” agrupa entidades clínicas de diverso origen. En el niño, a diferencia del adulto, la gran mayoría de los tumores son de rápida progresión. El neuroblastoma es el tumor neuroblástico más común y es uno de los tipos más comunes de cáncer en los niños. Los síntomas tempranos de los tumores de neuroblastoma a menudo son vagos y pueden incluir fatiga, fiebre, pérdida de peso y de apetito. Se sabe que los cannabinoides exógenos pueden atacar directamente a las células cancerosas a través de su unión a receptores CB (cannabinoides), afectando así a las rutas de señalización celular, lo cual puede inducir la supresión del crecimiento celular, así como su muerte, o inhibir la migración. Además los cannabinoides pueden actuar indirectamente, inhibiendo el proceso de la angiogénesis o por interferencia con el sistema inmune.

Objetivos. Comprensión actual de los cannabinoides como agentes antitumorales, centrándose en los últimos descubrimientos sobre sus mecanismos moleculares de acción, y su acción en tumores infantiles como es el neuroblastoma.

Material y métodos. Se ha realizado una revisión bibliográfica con el fin de localizar los estudios relacionados con el tema de estudio y evaluar si resultan apropiadas para cumplir el objetivo del estudio.

Resultados. Los estudios seleccionados para la realización del trabajo sugieren que el CBD inhibe la proliferación de células cancerígenas (neuroblastoma) e induce la apoptosis en neuroblastomas. También indican que, de los dos cannabinoides probados, el CBD fue más eficaz en la línea de células SK-N-SH y en xenoinjertos de lo que era el THC más estudiado. Los resultados de acuerdo con los datos muestran un efecto de CBD en otros tumores, tales como glioblastoma, de mama, pulmón, próstata y cáncer de colon. CBD es un cannabinoide no psicoactivo que parece estar desprovisto de efectos secundarios, los resultados apoyan su explotación como un medicamento contra el cáncer eficaz en la gestión de NBS. También la acción antitumoral de los



cannabinoides en gliomas está mediada por los receptores de cannabinoides: de importancia es que en los datos del laboratorio han demostrado que los agonistas selectivos de CB5 que carezcan de los típicos efectos mediados por receptores CB4 psicotrónicas laterales, producen las mismas acciones antitumorales a través de un mecanismo que es también dependiente de la acumulación de ceramida.

Discusión. Como un agente terapéutico potencial, CBD podría tener muchas ventajas, especialmente en comparación con THC psicoactivo. Dado que la mayoría o todos los efectos psicoactivos de los cannabinoides son producidos por la activación de la receptores CB1 central, se ha demostrado que CBD actúa de manera independiente de CB1, está desprovisto de efectos psicoactivos y puede servir como un tratamiento más adecuado, especialmente en niños.

Y en otros estudios establecen que el Tetrahidrocannabinol ejerce una amplia variedad de efectos biológicos mediante la imitación de sustancias endógenas: Anandamida y 2- araquidonoilglicerol que se acoplan de forma específica a receptores cannabinoides de la superficie celular.

Además algunos estudios han demostrado que, en determinadas condiciones, el tratamiento cannabinoide puede estimular la proliferación de células cancerosas in vitro e interferir con la función supresora de tumores del sistema inmune. Del mismo modo, los informes sobre el papel del sistema endocannabinoide en el cáncer son conflictivos.

Conclusión. Los hallazgos sobre la actividad del CDB en apoyo NBL amplían los hallazgos previos acerca de las actividades antitumorales de CDB en otros tumores y sugieren que los extractos de cannabis enriquecidas en el CDB y no en THC podría ser adecuado para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas no psicotrónicas en NBL. El uso del CDB ya sea como agente único o en combinación con agentes de quimioterapia es una posibilidad. La terapia de combinación podría mejorar los efectos antitumorígenicos de otros tratamientos y permitir una reducción en la dosis de quimioterapia, minimizar toxicidad y secuelas a largo plazo. Se necesitan más estudios para poner de relieve las vías involucradas en los efectos antitumorígenico de CDB en NBL.

Palabras claves: Neruoblastoma- cáncer pediátrico- cannabinoides- receptores CB1-Cb2- ceramidas.



Introducción

Cáncer.

El término “cáncer” agrupa entidades clínicas de diverso origen, como cáncer de mama, neuroblastomas, o leucemia entre otras. Actualmente, el cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente, lo que conduce a la formación de agregados que crecen, se nutren del organismo y alteran su fisiología. Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos, donde se encuentran un nicho apropiado para continuar su crecimiento originando una metástasis que en muchas ocasiones es la causa de muerte de los individuos afectados.

El proceso por el cual las células normales se transforman en cancerosas se denomina **carcinogénesis**. Se estableció que la transformación progresiva de células normales a derivados altamente malignos se originaba en alteraciones en el material genético (mutaciones). Estas mutaciones le confieren a una célula la capacidad de dividirse a una tasa mayor que su cohorte y generar una descendencia que conserva esta mutación (clones). Estos presentan mayores capacidades de sobrevivir y crecimiento. Normalmente las células del sistema inmune son capaces de eliminar estas células tumorales, en un proceso denominado **inmunovigilancia tumoral**. Sin embargo, algunos de estos clones pueden adquirir nuevas capacidades que les permiten evadir estos mecanismos de control y se desarrolla una neoplasia.

Los *protooncogenes* se relacionan con el crecimiento y proliferación de las células normales. Cuando se encuentran mutados se denominan *oncogenes* y su mutación es de tipo dominante, es decir, sólo es necesario que uno de los alelos sufra una mutación para que la proteína que codifica, gane funcionalidad. Esto generalmente se traduce en aumento de supervivencia y proliferación.

En una célula normal ocurren diariamente alrededor de 20.000 eventos que dañan el ADN y cerca de 10.000 errores de replicación. Las células poseen mecanismos complejos y a veces redundantes para la reparación de alteraciones o daños en el ADN, en los que están involucrados los genes de reparación del ADN.

Las mutaciones de los genes responsables de la carcinogénesis pueden ser heredados o ser adquiridos de Novo (o mutaciones somáticas) generalmente producto de la exposición a sustancias del ambiente (carcinógenos) o agentes biológicos (virus oncogénicos). En la clínica ha representado un gran avance en términos de la introducción de estrategias preventivas a través de la evaluación de familias de alto riesgo. ^[1]



Cáncer en pediatría:

La incidencia del cáncer es baja en el niño en comparación con otras patologías pediátricas como las enfermedades respiratorias e infecciosas, lo que explica que el pediatra general no postule al cáncer como primera posibilidad diagnóstica, lo que a su vez incide en que el diagnóstico sea tardío en muchos casos. En el niño, a diferencia del adulto, la gran mayoría de los tumores son de rápida progresión: leucemia, linfomas, neuroblastoma. Todo aumento de volumen que no tenga características inflamatorias debe hacer sospechar una neoplasia.

Factores ambientales juegan un rol muy importante, en el niño solo se han demostrado correlación con unos pocos factores con no muy notable relevancia.:Radiación ionizante. Radiación ultravioleta. Drogas (se comprobó que el uso de dietilbestrol en la embarazada producida adenocarcinoma vaginal en las hijas). Se sospecha también un efecto carcinogénico del alcohol y de la fenilhidantoína en embarazadas como lo sugieren algunos casos aislados de neuroblastoma. Dieta y sedentarismo. Tabaco. Virus.^[2]

Neuroblastoma.

El neuroblastoma es el tumor neuroblástico más común y es uno de los tipos más comunes de cáncer en los niños. El neuroblastoma es menos común en niños mayores y en adolescentes ^[3]. El neuroblastoma mas peligroso es en niños con más de 18 meses ^[4]. Se desconoce la causa del neuroblastoma. Sin embargo, no se han relacionado las exposiciones químicas o de otro tipo a la causa del neuroblastoma. Los tumores de neuroblastoma se originan en las glándulas suprarrenales o en racimos de células nerviosas próximas a la médula espinal (ganglios). Otros tumores de neuroblastoma se originan en el pecho, cuello o pelvis. Para cuando muchos de los casos se diagnostican, el cáncer ya se ha diseminado a los ganglios linfáticos, hígado, huesos, la médula ósea u otros órganos ^[3]. En el neuroblastoma se amplifica el protooncogen N-myc (familia de protooncogenes MYC) se relaciona con el origen de diversas neoplasias en seres humanos. Estos genes actúan como factores de transcripción y participan en la regulación del ciclo celular, la proliferación, diferenciación celular, la apoptosis y la inmortalización. Los genes MYC se expresan en diferentes tejidos y responden a diversas señales internas y externas; codifican para la síntesis de factores de transcripción que se unen al ADN para regular la expresión de múltiples genes ^[5]. En cuanto a la formación del neuroblastoma, los estudios revelan que se desarrolla en las células neuronales en el sistema nervioso simpático. El sistema nervioso simpático es el órgano que



controla la parte autónoma del sistema nervioso cuya función es controlar todas las funciones del cuerpo, tales como la presión sanguínea, el bombeo cardiaco y la digestión [4].

Síntomas.

Los síntomas tempranos de los tumores de neuroblastoma a menudo son vagos y pueden incluir fatiga, fiebre pérdida de peso y de apetito. A medida que el tumor crece, los síntomas usualmente dependen de la ubicación del tumor. [3]

Localización	Síntomas		
Abdominal ^[3] .	Dolor en el estómago	Pérdida de apetito	Pérdida de peso
Médula espinal (opresión) ^[3] .	Debilidad en las extremidades	Dificultad para moverse y caminar.	
Cáncer diseminado a los huesos ^[3] .	Dolor óseo		
Cáncer diseminado a los huesos alrededor de los ojos ^[3] .	Protuberancia de los ojos con círculos oscuros por debajo de los mismos.		
Sistema nervioso central ^[5]	Vómitos	Cefalea y parestias.	Problemas de conducta

Diagnóstico.

El neuroblastoma, ocasionalmente puede ser diagnosticado antes de que el bebé nazca [4].

Una resonancia magnética, una tomografía computada o CT: Ofrece información detallada sobre el tamaño, forma y posición del tumor. Pruebas de sangre y orina: buscarán efectos potenciales de los tumores en los recuentos sanguíneos y niveles de electrolitos y químicos producidos por la mayoría de tumores de neuroblastoma que se excretan en la orina. Aspiración de médula ósea. Si se encuentra un tumor, es posible que se realice una biopsia para confirmar el diagnóstico^[3].

Tratamiento.

El tratamiento puede incluir combinaciones de cirugía, radioterapia, quimioterapia y trasplante de médula ósea. Los tratamientos se determinan según el estado de la enfermedad, la edad del niño y la ubicación del tumor. Algunos tumores de neuroblastoma de bajo riesgo desaparecen sin tratamiento alguno y otros pueden ser curados únicamente con cirugía. Sin embargo, muchos



tumores tendrán células tumorales que ya se han diseminado a otras partes del cuerpo cuando se encuentra el tumor por primera vez y requerirán combinaciones intensivas de tratamiento [3].

Si el neuroblastoma crece durante el tratamiento, se le conoce como *Neuroblastoma progresivo*. Si este vuelve a desarrollarse después del tratamiento, es llamado *Neuroblastoma recurrente* [4].

Los supervivientes al tumor, tienen grandes secuelas orgánicas, de ahí que se recurra a la identificación de nuevas estrategias terapéuticas. Cannabinoides y sus derivados han sido usados durante años en medicina popular y en cuidados paliativos.

Actualmente, se ha descubierto que tienen actividad farmacológica-terapéutica en cáncer, incluyendo actividad citostática, apoptótica y antiangiogénica[4].

Cannabis Sativa.

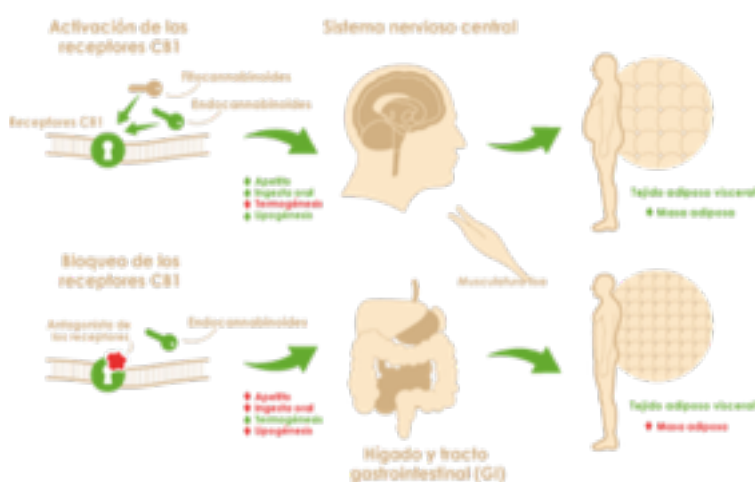
Cannabis, es una planta procedente en Asia central. La planta Cannabis produce una resina que contiene unos compuestos llamados cannabinoides. Algunos cannabinoides son psicoactivos (que actúa en el cerebro y genera cambios en el estado de ánimo o la conciencia). El principal cannabinoide activo del cannabis es el Δ -9-THC. Otro cannabinoide activo es el **cannabidiol (CBD)** que puede aliviar el dolor y la inflamación inferior sin causar los efectos del Δ -9-THC [6].

El término fitocannabinoide se refiere a las sustancias cannabinoides naturales de la planta cannabis (Δ 9-THC y CBD) mientras que cannabinoide incluye todos los productos químicos o sus derivados que se acoplan a receptores cannabinoides presentes en el organismo animal. A los ligandos endógenos (producidos por el organismo) que se unen a los receptores cannabinoides se les denomina endocannabinoides [9].

Los endocannabinoides son ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga derivados de los fosfolípidos de membrana, específicamente del ácido araquidónico. Los dos endocannabinoides principales son la anandamida y el 2-AG. La anandamida una vez sintetizada en la membrana celular de la célula estimulada, se libera hacia la hendidura sináptica donde se une a los receptores cannabinoides. Tras llevar a cabo su misión sobre los receptores cannabinoides, la anandamida se transporta de la hendidura sináptica al interior de la célula mediante difusión pasiva o mediante un transportador selectivo que puede inhibirse de forma selectiva por varios compuestos, como por ejemplo el AM404 (producto de transformación del paracetamol). Sin embargo, este transportador no se ha identificado aún [9].

Aplicaciones del Cannabis.

Cannabis sativa se ha utilizado en la medicina popular para aliviar el dolor, la depresión, amenorrea, la inflamación, la epilepsia, y otras numerosas condiciones médicas. En pacientes con cáncer específicamente, los cannabinoides son bien conocidos por ejercer efectos paliativos: inhibición de las náuseas y vómitos inducidos por la quimioterapia, pero también se aplican para el alivio de dolor y la estimulación del apetito [7]. La presencia de receptores CB-1 y CB-2 en los órganos implicados en la absorción de nutrientes, en la ingesta y el equilibrio de energía, explica la acción terapéutica de los cannabinoides sobre la regulación del equilibrio alimentario y energético. Una de las aplicaciones reconocidas de Δ^9 -THC es el aumento de hambre en casos de anorexia



producida por V.I.H o cáncer terminal. En tales casos Δ^9 -THC activa receptores CB-1 y CB-2 periféricos, produciendo la absorción rápida de glucosa en sangre, que se almacena en forma de grasa en los adipocitos y produciendo, consecuentemente, un aumento del hambre y la ingesta de

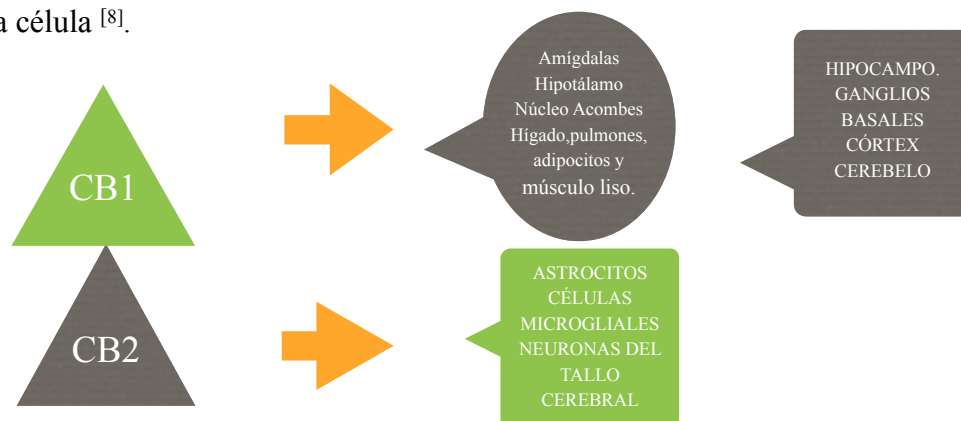
alimentos [8]. Hoy en día, las cápsulas de THC y su análogo sintético nabilona están aprobados para tal fin. El potencial terapéutico de los cannabinoides en oncología podría no estar restringido a sus acciones paliativas antes mencionadas. De este modo, numerosos estudios han proporcionado pruebas de que el THC y otros cannabinoides tienen efectos antitumorales en una amplia gama de modelos animales con cáncer [11].

Sistema Nervioso central: Receptores Cannabinoides.

El cuerpo humano posee sitios específicos de acople para los cannabinoides en la superficie de muchos tipos de células, y nuestro organismo produce varios endocannabinoides, derivados de ácidos grasos, que se acoplan a receptores cannabinoides (CB) activándolos. Juntos, receptores cannabinoides y endocannabinoides, constituyen el *sistema endocannabinoide*. Algunos fitocannabinoides como el Δ -9-THC (o dronabinol), el cannabinoide farmacológicamente más activo de la planta de cannabis, se acopla a ambos tipos de receptores cannabinoide CB1 y el CB2,



los cuales se han localizado en el SNC (cerebro y médula espinal), así como en muchos tejidos y órganos periféricos, cuya activación da lugar a múltiples efectos: euforia, ansiedad, sequedad de boca, relajación muscular, hambre, reducción del dolor. Todos estos receptores son proteínas transmembrana, capaces de transmitir una señal extracelular al interior de la célula [8].



La distribución de los receptores CB-1 en el cerebro se correlaciona con las acciones farmacológicas de los cannabinoides. Su alta densidad en los ganglios basales se asocia con los efectos en la actividad locomotora. La presencia del receptor en el hipocampo y el córtex están relacionados con los efectos sobre el aprendizaje y la memoria y con propiedades psicotrópicas y antiepilépticas. La baja toxicidad y letalidad se relacionan con la baja expresión de los receptores en el tallo encefálico. El sistema endocannabinoide interactúa con múltiples neurotransmisores, la interacción con estos neurotransmisores es la responsable de la mayoría de los efectos farmacológicos de los cannabinoides. Los cannabinoides sintéticos y fitocannabinoides ejercen su acción por la interacción con los receptores cannabinoides [8]. Los ligandos endógenos para los receptores cannabinoides CB1, la anandamida (N-araquinoiletanolamina) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG), se han identificado y caracterizado, siendo el 2-AG el ligando cannabinoide endógeno más prevalente en el cerebro y los estudios electrofisiológicos sugieren que 2-AG, en lugar de la anandamida, es el verdadero ligando natural para los receptores de cannabinoides y es el endocannabinoide implicado en la señalización retrógrada en el cerebro [10]. Encontramos altos niveles de 2-AG en el cerebro, con una concentración de casi 200 veces superior que la anandamida [9]. La mayoría de los efectos producidos por los cannabinoides en el sistema nervioso y en tejidos no neuronales se basan en la activación del receptor CB1. En contraste, el receptor CB2 se describió inicialmente a estar presente en el sistema inmune, pero fue más recientemente cuando

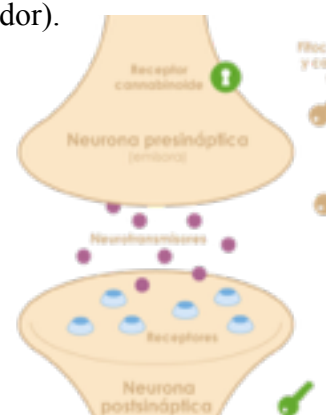


se demostró que también se expresa en células de otros tejidos. En particular, la expresión de los receptores CB1 y CB2 se han encontrado en muchos tipos de células cancerosas, pero no necesariamente se correlaciona con la expresión de estos receptores en el tejido original [11]. Dependiendo del cannabinoide específico, de la dosis y de la fisiopatológica, el sistema endocannabinoide tiene efectos inmunodepresores o inmunoestimuladores[8].

Implicaciones del sistema endocannabinoide.

Los endocannabinoides actúan como neuromoduladores, tales como GABA (el principal neurotransmisor inhibitor) y glutamato (el principal neurotransmisor excitador).

Los endocannabinoides son neurotransmisores retrógrados que se liberan desde la neurona postsináptica. Los endocannabinoides no se ubican en las vesículas sinápticas (vesículas situadas dentro de la neurona presináptica que contiene los neurotransmisores) y se sintetizan según la demanda de fosfolípidos de membrana, y se liberan inmediatamente a la hendidura sináptica.



Está ahora bien establecido que estas moléculas también tienen efectos que son independientes del receptor. Los mecanismos implicados en los efectos antitumorales de los cannabinoides incluyen inhibición de la proliferación y la detención del crecimiento, la inducción de la estimulación de la apoptosis, la inhibición de la angiogénesis, la autofagia y efectos antimetastásicos. Sin embargo, el mecanismo de acción antitumorigénico del CBD es aún desconocido[8].

Los componentes principales de Cannabis sativa (THC y CBD) los cannabinoides sintéticos, y el endocannabinoide anandamida tienen actividad antitumoral de THC en humanos [11].

Acciones Antineoplásicas.

Existen efectos directos e indirectos de los cannabinoides sobre el cáncer, que se pueden explicar a través de diferentes mecanismos de acción. Se sabe que los cannabinoides exógenos pueden atacar directamente las células cancerosas a través de su unión a receptores CB, afectando así a las rutas de señalización celular, lo cual puede inducir la supresión del crecimiento celular, así como su muerte, o inhibir la migración. Además los cannabinoides pueden actuar indirectamente, inhibiendo el proceso de la angiogénesis o por interferencia con el sistema inmune.



En tumores cerebrales, los cannabinoides inducen la muerte celular porque estimulan la **síntesis de ceramida de Novo**, resultando en apoptosis ^[9].

Hay dos vías principales por las que se puede generar ceramida:

- 1) Síntesis de Novo: Se lleva a cabo en retículo endoplásmico y aparato de Golgi, y empieza con la condensación de la serina y normalmente el palmitoil CoA, llevada a cabo por la enzima serin palmitoil transferasa (SPT) para dar 3- cetoesfinganina, la cual es posteriormente reducida a esfinganina y convertida a dihidroceramida por la enzima dihidroceramida sintetasa, también llamada ceramida sintasa. El siguiente paso es la desaturación de la dihidroceramida para generar ceramida, la cual sirve como precursor para esfingomielina y otros esfingolípidos complejos como cerebrósidos y gangliósidos, que se forman por la acción de sustituyeres específicos en la posición C1. La síntesis de esfingomielina está catalizada por la esfingomielina sintasa que transfiere fosforilcolina a la ceramida, generando esfingomielina y diacilglicerol. La ceramida también puede ser formada directamente de la esfingosina por la acción de la ceramida sintasa. La degradación de ceramida incluye una desacilación llevada a cabo por las ceramidasa, que rinde un ácido graso y esfingosina. Esta reacción regula los niveles relativos de ceramida y esfingosina y es crucial para regular el destino celular. La esfingosina es rápidamente convertida por la encima esfingosina quinasa a esfingosina 1-P que es uno de los esfingolípidos bioactivos mas importantes. Por otro lado, la ceramida también puede ser fosforilada por la enzima ceramida quintas para dar ceramida 1-P.
- 2) Mediante degradación de la esfingomielina de la membrana por las esfingomielinasas.

Ambas reacciones son altamente reguladas. Mientras que la ceramida activa señales de muerte, la ceramida 1-P y la esfingosina 1-P activan señales de supervivencia celular. Por lo tanto niveles relativos de estos metabólicos son lo que determinaran si la célula entra en apoptosis o si prolifera.

[12]

Mecanismo de acción de cannabinoides para la inducción de síntesis de ceramidas.

Estudios experimentales determinan que la exposición de las células de glioma a los cannabinoides desencadena la generación de dos picos de ceramida. El primer pico, que se producen a pocos minutos del tratamiento cannabinoide y no desempeña un papel importante en la inducción de la apoptosis. El segundo pico de la ceramida comienza en día 3 del tratamiento con cannabinoides, alcanzando un máximo en el día 5, y está estrechamente relacionado con la muerte apoptótica de

las células de glioma. Sin embargo, el mecanismo por el que los cannabinoides generan este pico sostenido de ceramida, es hasta ahora, desconocida.

Material y métodos.

Se ha realizado una revisión bibliográfica con el fin de seleccionar los estudios relacionados con el tema de estudio y evaluar si resultan apropiadas para desentrañar nuestro objetivo.

En primero lugar identificamos palabras y conceptos clave para investigar (neruoblastoma- cáncer pediátrico- cannabinoides- receptores CB1-Cb2- ceramidas). Con estas palabras introducidas la base de datos pubmed. En la base de datos por la introducción de “cáncer pediátrico- cannabinoides” aparecen 15 artículos relacionados con nuestro tema de búsqueda. Los criterios de inclusión para seleccionar artículos para fijar nuestros resultados fueron:

Fecha de publicación: 2015-2016
Idioma del artículo: Inglés.
Base de datos: Pubmed.
Estudios experimentales y de metaanálisis.

Durante la búsqueda de información seleccionamos artículos publicados anteriormente para obtener una mejor comprensión de los resultados y para definir conceptos no aclarados, para estos artículos fijamos un margen de periodo desde la actualidad hacia 13 años atrás.

Tras la búsqueda de artículos y leer las referencias pertinentes, se procede a la toma de notas, organización de referencias y al análisis e integración de los materiales.

En resumen, seleccionamos un total de 15 artículos para definir la investigación.



Resultados

Cannabinoides y sus derivados han sido utilizados durante años en medicina popular y cuidados paliativos. Actualmente se ha descubierto que tiene actividad farmacológica-terapéutica en cáncer, incluyendo actividad citostática, apoptótica y antiangiogénica^[4].

El potencial terapéutico de los cannabinoides en oncología conducen al desarrollo de varios estudios clínicos para investigar la actividad antitumoral de THC en humanos ^[11].

Estudios experimentales

Una de las dos líneas de células progenitoras neuronales humanas: SK-N-SH y ReNcell CX, se muestra que los RNAs no codificantes se expresan abundantemente en dichas células, solo un 26% de los genes expresados codifican para proteínas. Cuando las dos células eran diferenciadas tras 72 horas se observó que las SK-N-SH expresaba diferencialmente 222 genes, y 19 en las ReNcell CX. Los genes con expresión diferente entre los dos puntos de tiempo de la diferenciación están implicados en enfermedad de Alzheimer y en cáncer^[14].

1- En neuroblastomas: Investigación in vitro e in vivo del efecto anti-neuroblastoma que tienen muchos componentes del Cannabis, THC y cannabidiol:

Se determinó experimentalmente los efectos de los compuestos sobre la viabilidad, la invasión, la distribución del ciclo celular y la muerte celular programada en las células SK-N-SH en neuroblastomas humanos. Este estudio experimental tuvo como objetivo caracterizar tanto los efectos in vivo e in vitro de los cannabinoides en un tumor pediátrico, neuroblastoma, y desentrañar el mecanismo responsable de estos efectos^[4].

A) Ensayo in vivo: Para estudiar la actividad antitumoral in vivo de los cannabinoides, los tumores neuroblastoma fueron inducidos en inmunodeficientes diabéticos no obesos (NOC/SCID) por inyección subcutánea. Brevemente 1 millón de células SK-N-SH en suspensión, se inyectaron por vía subcutánea en el flanco trasero de ratones NOD/SCID de 5 a 8 semanas de edad. Los ratones se mantuvieron en un entorno libre de patógenos y controlaron semanalmente el crecimiento tumoral. Los tumores secundarios fueron detectados por palpación y se midieron con calibradores externos. Cuando los tumores habían alcanzado un tamaño medio de 400 mm³, los ratones se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento y control. Luego fueron inyectados por vía intraperitoneal durante 14 días con THC (20mg/kg al día), el CBD (20 mg/kg



al día), o vehículo (etanol) o se dejaron sin tratar. Al final del periodo de tratamiento, los ratones se sacrificaron, y los tumores se extirparon y se procesaron por análisis adicionales: determinación de la tasa de crecimiento del tumor en el modelo de xenoinjerto del ratón. El crecimiento del tumor se redujo significativamente en ratones tratados con TCH y CBD que en el tratado con vehículo o ratones no tratados. Curiosamente, se observó la respuesta al tratamiento a ser mejor en el grupo tratado con CBD que en el grupo tratado con THC: El volumen del xenoinjerto al final de tratamiento en el grupo de tratados con CBD fue de 2,31 cm³, en comparación con 4,28 cm³ en el grupo no tratado. En el grupo tratado con THC, el volumen medio fue de 3,46 cm³, que solo fue significativa con el grupo no tratado.

B) Ensayo in vitro. La respuesta después del tratamiento, de células SK-N-SH tras 24 h con CBD y THC, fue mejor con CBD que la respuesta al tratamiento con la misma concentración del THC. Los resultados obtenidos en los estudios in vitro se pueden resumir como sigue:

Ambas moléculas, y en particular CBD, reducen la viabilidad de las células del neuroblastoma.

El efecto de CBD parecía estar mediado por la muerte celular por apoptosis, que se demuestra por cambios en la morfología, la acumulación de células sub-G1 y por aumento de la expresión de la caspasa 3 escindida.

La capacidad de invasión de las células NBL también se redujo con el tratamiento con CBD.

Sobre la base de ese primer conjunto de resultados, se estudió el efecto de la CBD y el THC en los xenoinjertos de tumores generados en ratones NOD/SCID de células SK-N-SH que ya habían demostrado la mayor sensibilidad al efecto de esas moléculas. De acuerdo con los resultados de los experimentos in vitro, THC y CBD reducen la tasa de crecimiento de xenoinjertos, aunque con el CBD se muestra un efecto superior.

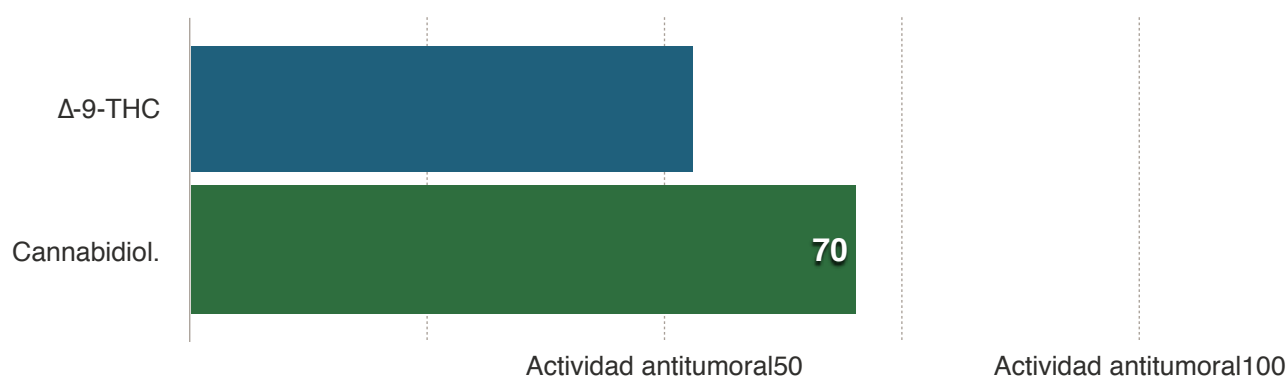
Los datos obtenidos in vitro sugieren que el CBD inhibe la proliferación de células cancerígenas (neuroblastoma) e induce la apoptosis en neuroblastomas. Los resultados de acuerdo con los datos muestran un efecto de CBD en otros tumores, tales como glioblastoma, de mama, pulmón, próstata y cáncer de colon.

Δ -9-THC es el segundo cannabinoide más abundante en Cannabis sativa, se ha demostrado que induce la apoptosis, inhibe la viabilidad de las células tumorales y la invasión de varios tejidos por parte de las células tumorales, como este estudio demostró. Recientemente se informó que CBD también mejora la producción de especies reactivas en células del cáncer para regular a la baja el factor metastásico, y para regular al alza el factor pro-proliferación.



El mecanismo por el cual CBD produce los efectos observados aún no ha sido completamente aclarado, pero parece ser independiente de los receptores CB1 y CB2. Sin embargo, los mecanismos moleculares antitumorales del CBD no han sido estudiados en NBL. Varios estudios han demostrado que la activación de estos receptores con agonistas de distintos CBD median la muerte celular en una variedad de líneas celulares NBL, incluyendo SK-N-SH, la línea celular de CBD sensible en nuestro estudio [4]. Las líneas de células de neuroblastoma y glioma, obtenidas originariamente a partir de células tumorales únicas, suponen una oportunidad especial para investigar las diferencias que existen entre las neuronas y la glía[15].

Resultados del estudio experimental.



Los dos compuestos tienen actividad antitumoral in vitro e impiden el crecimiento de xenoinjertos de tumores in vivo. El resultado demuestra acción antitumoral del CBD en células del neuroblastoma. Porque CBD es un cannabinoide no psicoactivo que parece estar desprovisto de efectos secundarios, los resultados apoyan su explotación como un medicamento contra el cáncer eficaz en la gestión de NBL [4].

2- En Gliomas:

Cultivo de células de glioma y viabilidad.

La línea de glioma C6 de rata se cultivó y a partir de dos subclases de células de glioma C6, que se han caracterizado en términos de la apoptosis inducida por cannabinoide, se utilizaron en este estudio: El subclón C6.9 que es sensible a la apoptosis THC inducida, y el subclón C6.4 que es resistente a la apoptosis inducida por THC. La viabilidad celular se determinó por exclusión de azul de tripano, soluciones madre de THC.



Determinación de los niveles de ceramida.

Los niveles de ceramida se determinan después de la incubación de las células en diferentes condiciones, los lípidos saponificados son extraídos, y se incuban con E.coli diacilglicerol quinasa en presencia de ATP.

Potencial terapéutico:

La acción antitumoral de los cannabinoides en gliomas está mediada por los receptores de cannabinoides: de importancia es que en los datos del laboratorio han demostrado que los agonistas selectivos de CB5 que carezcan de los típicos efectos mediados por receptores CB4 psicotrópicas laterales, producen las mismas acciones antitumorales que sus homólogos no selectivos a través de un mecanismo que es también dependiente de la acumulación de ceramida ^[13].

Estudios de revisión bibliográfica.

Mecanismo de los efectos antitumorales:

Los cannabinoides alteran la progresión del tumor en varios niveles. Su efecto más frecuente es la inducción de muerte de células cancerosas por apoptosis y la inhibición de la proliferación de las células cancerosas. Además en vivo han demostrado que los cannabinoides alteran la angiogénesis tumoral la invasión y la metástasis.

Los estudios iniciales demostraron que el THC y otros cannabinoides inducen la muerte apoptótica de las células de glioma por la estimulación CB-1 y CB-2 dependiente de las síntesis de Novo de la ceramida.

Los cannabinoides inducen la autofagia en varios tipos de células cancerosas en cultivo, la inhibición de la autofagia impide la acción antitumoral de cannabinoides en varios modelos animales con cáncer, lo que demuestra que la autofagia es importante como actividad antineoplásica del cannabinoide. Por otra parte, el bloqueo de la autofagia previene la apoptosis inducida por cannabinoides y la muerte celular, mientras que el bloqueo de la apoptosis previene la la muerte celular inducida por cannabinoides, pero no la autofagia. Estas observaciones indican que la autofagia es un proceso previo a la apoptosis en el mecanismo de la muerte celular inducida por cannabinoides. En contraste, la viabilidad de las células normales (no cancerosas) no se ve afectada o, bajo ciertas condiciones, incluso mejoradas por los cannabinoides. Por lo tanto, la estimulación de los receptores de cannabinoides parece ser diferente en cuanto a la activación de diferentes mecanismos de señalización en las células transformadas y no transformadas. Las razones



moleculares precisas para esta variación en el comportamiento se mantienen como una importante cuestión abierta en el campo de cannabinoides.

Otra observación importante, es que en algunos tipos de células cancerosas (tales como las células del glioma), el bloqueo farmacológico de cualquiera receptor CB1 o CB2 previene la muerte celular inducida por cannabinoide, sin embargo en otros tipos de células cancerosas (páncreas o hígado), antagonistas de CB2 pero no de CB1 inhiben las acciones antitumorales de cannabinoides. La razón por la que los cannabinoides producen sus acciones antitumorales a través de uno u otro tipo de receptores, dependiendo del tipo de célula de cáncer aún no se ha establecido [11].

Discusión

Algunos estudios establecen que: Como un agente terapéutico potencial, CBD podría tener muchas ventajas, especialmente en comparación con THC psicoactivo. Dado que la mayoría o todos los efectos psicoactivos de los cannabinoides son producidos por la activación de la receptores CB1 central. Se ha demostrado que CDB actúa de manera independiente de CB1, desprovisto de efectos psicoactivos y puede servir como tratamiento más adecuado, especialmente en niños. Además, comparte las propiedades paliativas y bajo perfil de toxicidad descritos para otros cannabinoides, no tiene ninguno de los fuertes efectos secundarios asociados con agentes quimioterapéuticos, y podría tener actividad sinérgica con sustancias antineoplásicas^[4]. Y en otros estudios establecen que el Tetrahidrocannabinol ejerce una amplia variedad de efectos biológicos mediante la imitación de sustancias endógenas: Anandamida y 2- araquidonoilglicerol que se acoplan de forma específica a receptores cannabinoides de la superficie celular.

La administración de los endocannabinoides o inhibidores de enzimas que degradan endocannabinoides reduce el crecimiento de diversos tipos de xenoinjerto de tumor y por lo tanto podría ser una estrategia razonable para conseguir los propósitos contra el cáncer. Sin embargo, como se discutió aquí anteriormente, el papel del sistema endocannabinoide, incluyendo las enzimas degradadoras de endocannabinoides, en el control de la generación y progresión del tumor no se entiende bien. Los estudios clínicos están dirigidos a analizar la eficacia de los cannabinoides como agentes antitumorales que deben basarse en el uso de derivados de plantas o agonistas sintéticos de los receptores de cannabinoides, más que en los endocannabinoides o inhibidores de la degradación de los endocannabinoides [11]. Además algunos estudios han demostrado que, en determinadas condiciones, el tratamiento cannabinoide puede estimular la proliferación de células cancerosas *in vitro* e interferir con la



función supresora de tumores del sistema inmune. Del mismo modo, los informes sobre el papel del sistema endocannabinoide en el cáncer son conflictivos. Los informes relativos a la función biológica del sistema endocannabinoide en la fisiopatología del cáncer son escasos. Aunque hay algunas excepciones que podrían ser tumor-específica en los que los receptores de cannabinoides y sus ligandos endógenos tienen actividad reguladora en el tejido tumoral en comparación con el tejido no tumoral. Además varios estudios han asociado los niveles de expresión de los receptores de cannabinoides, endocannabinoides o enzimas que metabolizan los endocannabinoides con células tumorales, lo que sugiere que el sistema endocannabinoide podría ser sobre-activador en el cáncer y por tanto, pro-tumorigénico. Por el contrario, y en línea con la evidencia que apoya la hipótesis de que la activación farmacológica de los receptores de cannabinoides disminuye el crecimiento tumoral, la regulación al alza de las enzimas degradadoras de endocannabinoides se ha observado en tumores humanos agresivos y líneas de células cancerosas, lo que indica que la señalización endocannabinoide también puede tener un papel-tumor supresor^[11].

La ruta más ampliamente utilizada de la administración de la marihuana recreativa y la automedicación es el tabaquismo. A pesar de que el THC y otros fitocannabinoides se absorben rápidamente por inhalación, el tabaquismo es una opción poco atractiva clínica. Trabajos preclínicos en modelos animales se ha utilizado normalmente la administración peritumoral de los cannabinoides. Asimismo, en el único ensayo clínico en el que un cannabinoide se ensayó como un agente antitumoral, el THC se administró localmente (entrega intracraneal a los pacientes con glioblastoma multiforme). Sin embargo, esta vía de administración tiene muchas limitaciones obvias. Actualmente medicamentos basados en cannabis disponibles se administran en forma de cápsulas o usando un spray en la mucosa oral. Los modelos preclínicos en animales han arrojado datos que indican que la administración sistémica (oral o intraperitoneal) de los cannabinoides disminuye efectivamente el crecimiento tumoral y por lo que parece razonable que los estudios clínicos futuros con el objetivo de determinar la eficacia de cannabinoides como agentes antitumorales utilizan vía oral o bucal de la administración ^[11].



Conclusiones

El uso del CBD ya sea como agente único o en combinación con los compuestos existentes y agentes de quimioterapia es una posibilidad terapéutica para el NBL. La terapia de combinación podría mejorar los efectos antitumorigénico de otros tratamientos y permitir una reducción en la dosis de quimioterapia, toxicidad y minimizar las secuelas a largo plazo. Se necesitan más estudios para poner de relieve las vías involucradas en los efectos antitumorigénico de CBD en NBL. La ruta más ampliamente utilizado de la administración de cannabinoides es el hábito de fumar una opción poco atractiva clínica, especialmente en los niños. Nuestro trabajo indica que la administración de CBD sistémica intraperitoneal reduce eficazmente el crecimiento del tumor [4].

Bibliografía.

[1]: *Knowing and understanding the cancer cell: Physiopathology of cancer.*

Dra. N. Catherine Sánchez.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S071686401370659X>.

[2]: *Revista Chile de pediatría. Vol 71. N° 4. Cáncer en Pediatría. Aspectos generales.*

Santiago July 2000. Lautaro Vargas P. [http://www.scielo.cl/scielo.php?](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062000000400002&lng=en&nrm=iso&ignore=.html)

script=sci_arttext&pid=S0370-41062000000400002&lng=en&nrm=iso&ignore=.html

[3]: *2001, 2010 The University of Texas MD Anderson. Cánceres Center, Revised 03/18/10. Patient Education Office.*

[4]: *In vitro and in vivo efficacy of non-psychoactive cannabidiol in neuroblastoma [http://](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4791143/)*

www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4791143/

[5]: *Alteraciones del gen c- Myc en la oncogénesis. Mariano Ospina Pérez, Carlos Mario Muñeton Peña. <https://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/iatreia/article/view/10639>*

[6]: *Cannabis and cannabinoids (PDQ) Patient Version. Integrative, alternative and*

complementary therapies. Editorial Boards. Publish: April 2016. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65875/>

[7]: *Revista Froniers in Neuroscience. Dra Inmaculada Ballesteros Yáñez en laboratorio dirigido por el Dr. Cambell en la Universidad de Southern, California (Los Ángeles, USA). [https://](https://www.uclm.es/cr/medicina/noticia20151027.html)*

www.uclm.es/cr/medicina/noticia20151027.html

[8]: *Sistema endocannabinoide. Fundación canna. <http://www.fundacion-canna.es/sistema-endocannabinoide>.*

- [9]: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042009000200011&script=sci_arttext&tlng=pt
- [10]: *The endogenous Cannabinoid 2- Arachidonoyglycerol is intravenously self administered by squirrel monkeys.* <http://www.jneurosci.org/content/31/19/7043.full>).
- [11]: *Anticancer mechanisms of cannabinoids* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4791144/>
- [12]: *Dra. Sánchez.* http://www2.uah.es/dianas/00101001_sanchez.pdf
- [13]: *De novo-synthesized ceramida is involved in cannabinoid-induced apoptosis. Teresa Goy Mez Del Pulgar, Guillermo Velasco, Cristina Say NCHEZ, Amador HARO and Manuel GUZMAY. Department of Biochemistry and Molecular Biology I, School of Biology, Complutense University, 28040, Madrid. Spain.* <http://www.biochemj.org/content/ppbiochemj/363/1/183.full.pdf>
- [14]: *Revista Froniers in Neurosciencie. Dra Inmaculada Ballesteros Yáñez en el laboratorio dirigido por el Dr. Campbell en la Univestity of Southern California (Los Angeles, USA).* <https://www.uclm.es/cr/medicina/noticia20151027.html>.
- [15]: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/desarrollolineas.htm>.