

Evaluación de la actividad biológica de 2 tipos de extractos de Cannabis sp. frente a la línea celular de adenocarcinoma de seno (MCF-7), sensible y resistente a Cisplatino

Mora-Aguilar Juan Sebastián¹; Vargas-Barandica Natalya Maritza²; Rodríguez-García Josefa Antónia³; Lozano-Jiménez Yenny Yolanda⁴.

^{1,2,4} Universidad de La Salle, Semillero Phytozell, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Bogotá, Colombia.

³ Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Programa de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias y Educación.

Palabras Clave: Cáncer de seno, Cannabis, cannabinoides, tratamientos alternativos, resistencia.

INTRODUCCION

En Colombia, el cáncer de mama presenta la mayor incidencia y mortalidad por cáncer en mujeres con un 12.9% del total de defunciones para este grupo poblacional. Si bien depende del tipo de tumor y el estadio en que se encuentra, casi todos los tratamientos incluyen agentes quimioterapéuticos, incluyendo el Cisplatino que se usa en pacientes que se encuentran en situación grave (cáncer de mama metastásico de progresión rápida o enfermedad con síntomas que amenazan la vida del paciente). Sin embargo, este tipo de medicamentos suele provocar efectos adversos que incrementan la morbilidad de los pacientes y en muchos casos los tumores no responden al tratamiento o se generan variantes tumorales quimio resistentes (Abramovici, 2013); (Adams, Jewell, 2007) (Akter, Uddin, Grice, y Tiralongo 2014); (Birdsall, S. Birdsall, T. y Tims, 2016).

Debido a esto, ha aumentado el uso de tratamientos alternativos para combatir el cáncer, dentro de los que se incluye el uso de las plantas *Cannabis* sp., que poseen numerosas propiedades paliativas y antineoplásicas, asociadas a la presencia de cannabinoides, moléculas que actúan sobre el "sistema endocannabinoide" presente en las células de diversos tejidos (Caffarel, Andradas, Mira, Pérez-Gómez, Cerutti, Moreno-Bueno, Sánchez, 2010); (Caffarel, Sarrió, Palacios, Guzmán, y Sánchez, 2006); (Campos, 2015); (Carvalho, Milanezi, Martins, Reis, y Schmitt, 2005); (Fraguas-Sánchez, Martín-Sabroso y Torres-Suárez, 2018); (Instituto Nacional de Cancerología ESE 2017); (Lukhele, y Motadi, 2016).

Este sistema se compone de las proteínas de membrana cannabinoides CB (Abramovici, 2013); (Adams, Jewell, 2007), las cuales presentan una expresión alterada en tejidos tumorales (Lukyanova, Rusetsky, Tregubova y Chakhun, 2009); (Mayorga y Cárdenas, 2009) A pesar de que se sabe que los cannabinoides mayormente presentes en las plantas de *Cannabis* (THC y CBD) tienen efectos antineoplásicos al utilizarse como moléculas aisladas, se ignora la eficacia del uso de extractos naturales (particularmente los fabricados a partir de plantas autóctonas de Colombia) (Fraguas-Sánchez, Martín-Sabroso y Torres-Suárez, 2018); (Messalli, Grauso, Luise, Angelini y Rossiello, 2014); (Moreno-Segura, Alvarez-Castaño y Guzmán-Rodríguez, 2016).

1. OBJETIVO

Con el fin de contribuir al conocimiento del potencial terapéutico de los extractos naturales de fitocannabinoides en cáncer, el presente estudio se propone determinar cuál es el efecto antitumoral de dos tipos de extractos de *Cannabis* sp. sobre células de cáncer de mama.

2. METODOLOGÍA

Los extractos que se utilizarán son extraídos de híbridos de *Cannabis* sp. cultivados por la empresa Breeders S.A.S. Uno de ellos tiene alto contenido de CBD y el otro, un alto contenido de THC. El efecto de estos extractos será determinado sobre dos poblaciones de células de cáncer de mama MCF-7; una sensible y otra resistente al quimiofármaco cisplatino. Para lograr este objetivo, a la línea celular MCF-7 se le inducirá resistencia a cisplatino, mediante la exposición de las células en cultivo, a dosis crecientes del mismo, para posteriormente comparar el efecto de los dos extractos de *Cannabis* sp., sobre las células susceptibles y a las que se indujo la resistencia (OMS, 2017). Adicionalmente, se evaluará la posibilidad de ocurrencia de apoptosis inducida por los extractos por medio de la evaluación del patrón de fraccionamiento de ADN (Pérez-Gómez, Andradas, Blasco-Benito, Caffarel, García-Taboada, Villa-Morales, Sánchez, 2015); (Richardson, Sanders, Palmer, Greisinger y Singletary, 2000) y por cambios en la morfología celular evidenciados con tinción de DAPI (Richardson, Sanders, Palmer, Greisinger y Singletary, 2000); (Romano, Borrelli, Pagano, Cascio, Pertwee y Izzo, 2014).

3. RESULTADOS ESPERADOS

La evaluación del efecto citotóxico de los extractos sobre las líneas las dos poblaciones celulares (resistentes y susceptibles), se llevará a cabo mediante el ensayo MTT, para ello se determinará cuál de los dos extractos es más efectivo para inducir la muerte de las células de cáncer de mama, usando como criterio la Concentración Inhibitoria 50 (IC50), de manera que se espera la inducción de un efecto citotóxico con una cantidad menor a 30 µg/ml (Moreno-Segura, Alvarez-Castaño y Guzmán-Rodríguez, 2016); (Ruiz y Díaz-Laviada, 1999).

Se espera que el extracto con mayor proporción de CBD sea más eficaz para inducir mortalidad en las células de adenocarcinoma de mama MCF-7 resistente a cisplatino, dado que dichas células presentan alta expresión de receptores CB2, los cuales tienen mayor afinidad con CBD. Sumado a esto, se espera encontrar evidencia que sugiera la ocurrencia de apoptosis con la identificación de características morfológicas como condensación nuclear y fragmentación escalonada del ADN (Russo, 2011); (SIVIGILA, 2016); (Romano, Borrelli, Pagano, Cascio, Pertwee y Izzo, 2014); (Velasco, Hernández-Tiedra, Dávila y Lorente 2016); (Velasco, Sánchez, y Guzmán, 2016); (Richardson, Sanders, Palmer, Greisinger y Singletary, 2000); (Wanchai, Armer, y Stewart, 2010) Con este estudio se espera iniciar una línea de investigación acerca del aprovechamiento del potencial farmacéutico de las cepas autóctonas de *Cannabis* sp. en Colombia.

EXPRESIONES DE GRATITUD

Agradecemos a la empresa Breeders por querer ayudarnos con los extractos y a nuestras familias por su apoyo y comprensión en esta labor, a nuestro compañeros y amigos que han ayudado a hacer realidad el proyecto: Cristina Zapata, Laura Marcela Pedraza, María Catalina Rangel, Jesica Paola Osorio, Joshua Ruíz, Jorge Cristancho, Jenny Hernández; Nicolás Gacharna, Omar Lugo, Corina Walteros, Andrea Cano, David Zamudio y Raquel Cano. Finalmente, a la Universidad de La Salle por brindarnos la posibilidad de formarnos como profesionales responsables de nuestra sociedad.

REFERENCIAS

- Abramovici, H. (2013). *Information for Health Care Professionals: Cannabis (marihuana, marijuana) and the cannabinoids*. Ottawa.
- Adams, M., & Jewell, A. P. (2007). The use of complementary and alternative medicine by cancer patients. *International Seminars in Surgical Oncology*, 10(4). <https://doi.org/10.1186/1477-7800-4-10>
- Akter, R., Uddin, S. J., Grice, I. D., & Tiralongo, E. (2014). Cytotoxic activity screening of Bangladeshi medicinal plant extracts. *Journal of Natural Medicines*, 68(1), 246–252. <https://doi.org/10.1007/s11418-013-0789-5>
- Birdsall, S. M., Birdsall, T. C., & Tims, L. A. (2016). The Use of Medical Marijuana in Cancer. *Current Oncology Reports*, 18(7), 40. <https://doi.org/10.1007/s11912-016-0530-0>
- Caffarel, M. M., Andradas, C., Mira, E., Pérez-Gómez, E., Cerutti, C., Moreno-Bueno, G., ... Sánchez, C. (2010). Cannabinoids reduce ErbB2-driven breast cancer progression through Akt inhibition. *Molecular Cancer*, 9, 196. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-196>
- Caffarel, M. M., Sarrió, D., Palacios, J., Guzmán, M., & Sánchez, C. (2006). Delta 9-tetrahydrocannabinol inhibits cell cycle progression in human breast cancer cells through Cdc2 regulation. *Cancer Research*, 66(13), 6615–6621. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4566>
- Campos-Castillo, Y. (2015). *Beneficios del uso terapéutico del cannabis en tratamientos para el dolor en oncología en Colombia*. Universidad Militar Nueva Granada. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/10654/6409>
- Carvalho, I., Milanezi, F., Martins, A., Reis, R. M., & Schmitt, F. (2005). Overexpression of platelet-derived growth factor receptor α in breast cancer is associated with tumour progression. *Breast Cancer Research*, 7(5), R788. <https://doi.org/10.1186/bcr1304>

Fraguas-Sánchez, A. I., Martín-Sabroso, C., & Torres-Suárez, A. I. (2018). Insights into the effects of the endocannabinoid system in cancer: a review. *British Journal of Pharmacology*, 175(13), 2566–2580. <https://doi.org/10.1111/bph.14331>

Instituto Nacional de Cancerología ESE. (2017). *Análisis de la Situación del Cáncer en Colombia 2015. Primera edición* (Giana Marí). Bogotá D.C. Retrieved from http://www.cancer.gov.co/Situacion_del_Cancer_en_Colombia_2015.pdf

Lukhele, S. T., & Motadi, L. R. (2016). Cannabidiol rather than Cannabis sativa extracts inhibit cell growth and induce apoptosis in cervical cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 335. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1280-0>

Lukyanova, N. Y., Rusetskya, N. ., Tregubova, N., & Chakhun, V. . (2009). MOLECULAR PROFILE AND CELL CYCLE IN MCF-7 CELLS RESISTANT TO CISPLATIN AND DOXORUBICIN. *Experimental Oncology*, 31(2), 87–91. Retrieved from <http://exp-oncology.com.ua/wp/wp-content/uploads/magazine/754.pdf?upload=>

Mayorga, F., & Cárdenas, R. H. (2009). LOS ENDOCANABINOIDES: UNA OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER ENDOCANABINOIDS: A THERAPEUTIC OPTION TO CANCER TREATMENT. *LOS ENDOCANABINOIDES: UNA OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER*, 16(2), 263–271. Retrieved from <http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/viewFile/1963/1608>

Messalli, E. M., Grauso, F., Luise, R., Angelini, A., & Rossiello, R. (2014). Cannabinoid receptor type 1 immunoreactivity and disease severity in human epithelial ovarian tumors. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 211(3), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.04.004>

Moreno-Segura, C. M., Alvarez-Castaño, V. H., & Guzmán-Rodríguez, S. L. (2016). *ANALISIS DE SITUACIÓN DE SALUD (ASIS) COLOMBIA, 2016 Dirección de Epidemiología y Demografía Bogotá, noviembre de 2016.* (Á. alfonso Trujillo-González, Ed.). Bogotá: Ministerio de Salud. Retrieved from <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>

OMS. (2017). OMS | Cáncer de mama: prevención y control. *WHO*. Retrieved from <http://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/es/index1.html>

Pérez-Gómez, E., Andradás, C., Blasco-Benito, S., Caffarel, M. M., García-Taboada, E., Villa-Morales, M., ... Sánchez, C. (2015). Role of cannabinoid receptor CB2 in HER2 pro-oncogenic signaling in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 107(6), djv077. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv077>

Richardson, M. A., Sanders, T., Palmer, J. L., Greisinger, A., & Singletary, S. E. (2000). Complementary/Alternative Medicine Use in a Comprehensive Cancer Center and the Implications for Oncology. *Journal of Clinical Oncology*, 18(13), 2505–2514. <https://doi.org/10.1200/JCO.2000.18.13.2505>

Romano, B., Borrelli, F., Pagano, E., Cascio, M. G., Pertwee, R. G., & Izzo, A. A. (2014). Inhibition of colon carcinogenesis by a standardized Cannabis sativa extract with high content of cannabidiol. *Phytomedicine*, 21(5), 631–639. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.11.006>

Ruiz, A. M., & Díaz-Laviada, I. (1999). Delta9-Tetrahydrocannabinol induces apoptosis in human prostate PC-3 cells via a receptor-independent mechanism. *FEBS, Letters* 48, 400–404.

Russo, E. B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1344–64. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x>

SIVIGILA. (2016). *BOLETÍN EPIDEMIOLÓGICO SEMANAL-SEMANA 52*. Bogotá. Retrieved from [http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn Epidemiologico/2016 Boletín epidemiológico semana 52 -.pdf](http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiologico/2016%20Boletn%20epidemiologico%20semana%2052%20-.pdf)

Velasco, G., Hernández-Tiedra, S., Dávila, D., & Lorente, M. (2016). The use of cannabinoids as anticancer agents. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.05.010>

Velasco, G., Sánchez, C., & Guzmán, M. (2016). Anticancer mechanisms of cannabinoids. *Current Oncology*, 23(March), S23–S32. <https://doi.org/10.3747/co.23.3080>

Wanchai, A., Armer, J., & Stewart, R. (2010). Complementary and Alternative Medicine Use Among Women With Breast Cancer: A Systematic Review. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 14(4), E45–E55. <https://doi.org/10.1188/10.CJON.E45-E55>