

## Trabajo Fin de Grado

Los cannabinoides como agentes antineoplásicos y  
su mecanismo de acción.  
Revisión bibliográfica

Cannabinoids as antineoplastic agents and its  
mechanism of action.  
Bibliographic review

Autor

Javier Ceña Carazo

Director

Sonia Santander Ballestín

Codirector

Sonia Santander Ballestín

Facultad de Medicina  
2017

ÍNDICE

RESUMEN .....	2
ABSTRACT .....	3
INTRODUCCIÓN .....	4
HISTORIA DEL CANNABIS .....	4
CANNABINOIDES .....	4
EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE .....	5
MARCO LEGAL DEL CANNABIS EN ESPAÑA .....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
OBJETIVOS .....	7
RESULTADOS .....	8
GLIOBLASTOMA MULTIFORME .....	8
CÁNCER DE COLON .....	12
HEPATOCARCINOMA.....	13
LEUCEMIA.....	14
CÁNCER DE MAMA .....	15
CÁNCER DE PANCREAS .....	16
CÁNCER DE PULMON.....	17
CÁNCER ORAL.....	18
CÁNCER DE PIEL.....	19
DISCUSIÓN.....	20
CONCLUSIÓN .....	21
BIBLIOGRAFÍA .....	22

RESUMEN

**INTRODUCCIÓN.** El uso terapéutico del cannabis es antiguo. Desde el descubrimiento del sistema endocannabinoide se llevan desarrollando numerosas investigaciones sobre sus efectos terapéuticos. Su legalización está actualmente en debate en muchos países.

**MATERIAL Y MÉTODOS.** Se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre el efecto como antineoplásico de los cannabinoides y sus mecanismos de acción utilizando la base de datos de MEDLINE, centrada en los últimos 10 años, limitando los artículos de revisión y requiriendo la disponibilidad de abstract.

**RESULTADOS.** Distintas investigaciones respaldan el efecto antitumoral de los cannabinoides en una amplia variedad de cánceres. Se describen los mecanismos implicados en su efecto antitumoral, los cambios que experimentan los tumores al recibir tratamiento, así como su uso concomitante con otras terapias.

**DISCUSIÓN.** La utilización de terapias antitumorales con cannabinoides libres de efectos psicoactivos, así como su utilización conjunta con otros agentes antineoplásicos, parecen marcar el futuro de las investigaciones llevadas a cabo en este campo.

**CONCLUSIÓN.** Los cannabinoides han demostrado su eficacia antitumoral, siendo deseables futuras investigaciones que habiliten su uso en la práctica clínica

**PALABRAS CLAVE.** Revisión bibliográfica, cannabinoides, sistema endocannabinoide, uso terapéutico, mecanismo de acción, neoplasia, terapia antineoplásica.

ABSTRACT

**INTRODUCTION.** The therapeutic use of cannabis is ancient. Since the discovery of the endocannabinoid system, several investigations have been carried out on its therapeutic effects. Its legalization is currently under discussion in many countries.

**MATERIALS AND METHODS.** A bibliographic review was carried out on the antineoplastic effect of cannabinoids and its mechanism of action using the MEDLINE database, focused on the last 10 years, limiting review articles and requiring abstract availability.

**RESULTS.** Different studies support the antitumor effect of cannabinoids in a wide variety of cancers. It describes the mechanisms involved in its antitumor effect, the changes that tumors undergo on treatment, as well as its concomitant use with other therapies.

**DISCUSSION.** The use of cannabinoids as antitumor therapies without psychoactive effects, as well as their use combined with other antineoplastic agents, seems to be an important goal in the future investigations in this field.

**CONCLUSION.** Cannabinoids have demonstrated antitumor efficacy, and it would be needed that future research enable its use in clinical practice.

**KEYWORDS.** Bibliographic review, cannabinoids, endocannabinoid system, therapeutic use, mechanism of action, neoplasia, antineoplastic therapy.

### INTRODUCCIÓN

#### HISTORIA DEL CANNABIS

El uso terapéutico del cannabis tiene una larga historia tanto en la medicina tradicional como en la medicina moderna. Su utilización en la medicina moderna comienza cuando O'Shaughnessy en 1843, describió el uso de preparaciones de cannabis crudo en la India para el tratamiento de espasmos musculares y convulsiones. Envió muestras de cannabis indio a Londres donde fueron analizadas y utilizadas para elaborar preparados, que se incluyeron en las farmacopeas británica y americana. Hallazgos posteriores mostraron su uso en la medicina tradicional India para el alivio de multitud síntomas como dolor, fiebre, diarrea, ansiedad, insomnio y falta de apetito.<sup>1,2</sup>

En el siglo XX, la utilización terapéutica del cannabis disminuyó progresivamente debido a su falta de fiabilidad, resultante de la variabilidad en la composición de los preparados y su limitada vida útil. Siendo sustituido en gran medida por otros medicamentos tanto sintéticos como naturales, con una mayor fiabilidad en cuanto a su potencia y estabilidad. Por ejemplo, siendo sustituidos por los opiáceos y opioides para el alivio del dolor, o por los barbitúricos como inductores del sueño y anticonvulsivantes.<sup>2</sup>

Cuando fue declarado ilegal el uso de cannabis en varios países entre los años 1923 y 1952 apenas hubo oposición ya que llevaba mucho tiempo sin apenas utilizarse. En los años 1960 volvió a consumirse pero para un uso recreativo. Sin embargo tras el descubrimiento del sistema endocannabinoide se recobró el interés científico, explorándose sus potenciales usos terapéuticos.<sup>2</sup>

#### CANNABINOIDES

La planta *Cannabis sativa*, permite la obtención de la marihuana (hierba del cannabis) y del hachís (resina de cannabis). Los cannabinoides son las sustancias que poseen una estructura química similar a la encontrada en los primeros constituyentes de la planta del cannabis. Aquellos que son aislados de la planta se denominan fitocannabinoides o cannabinoides naturales. La mayoría de los componentes farmacológicamente activos del cannabis (cannabinoides) fueron aislados, químicamente identificados y sintetizados por Adams y Baker en 1940. Conociéndose su estructura molecular en la década de 1960.<sup>2</sup>

Uno de los principales cannabinoides naturales es el THC (tetrahidrocannabinol), principal componente psicoactivo del cannabis y responsable de su uso recreativo. El CBD (cannabidiol), es otro fitocannabinoide del cual se destaca la ausencia de efectos psicoactivos. Otros cannabinoides son sintéticos, destinados en su mayoría para uso terapéutico como el dronabinol (Marinol®) y nabilona (Cesamet®)<sup>2</sup>

### EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

Los cannabinoides producen sus efectos a través de los receptores cannabinoides situados por todo el organismo. Existen dos tipos de receptores cannabinoides, llamados CB1 y CB2. Se trata de dos receptores acoplados a proteínas G. Los receptores CB1 se encuentran en las terminaciones de las neuronas centrales y periféricas, donde suelen mediar la inhibición de la liberación de una gama de diferentes neurotransmisores. Sin embargo, también son expresados por células inmunes y por otras células no neuronales. Los receptores CB2 a diferencia de los receptores CB1 se localizan en el cerebro, principalmente en las células gliales, en menor número que en el resto del organismo. Localizándose principalmente en las células inmunitarias y, cuando son activados, pueden modular la migración de éstas y la liberación de citoquinas, tanto fuera como dentro del cerebro. El organismo produce sustancias que interaccionan con estos receptores, llamadas endocannabinoides.<sup>1,2</sup>

El sistema endocannabinoide está constituido por los receptores cannabinoides ligados a proteína G CB1 y CB2, los compuestos endógenos que interaccionan con estos receptores conocidos como endocannabinoides, las enzimas que catalizan la biosíntesis y el catabolismo de los endocannabinoides y los procesos responsables de la captación celular de algunos endocannabinoides. Los dos primeros endocannabinoides que fueron descubiertos fueron anandamida y 2-araquidonilglicerol, los cuales son sintetizados a demanda en respuesta a elevaciones del calcio intracelular.<sup>1,2</sup>

Los efectos de los cannabinoides sobre el sistema endocannabinoide son más potentes y duraderos que los producidos por los endocannabinoides. Pudiendo provocar efectos terapéuticos como efectos no deseados.<sup>1,2</sup>

### MARCO LEGAL DEL CANNABIS EN ESPAÑA

Actualmente el debate sobre el cannabis terapéutico está abierto en España. Siguiendo el modelo de otros estados como Alemania, Italia, Republica Checa, diversos estados de EE.UU, Canadá, Uruguay, Israel y otros países más; se llevó al congreso de los diputados el 19/02/2016 una Propuesta No de Ley para la regularización del cannabis terapéutico.

La actual legislación sobre el cannabis viene recogida en la Ley Orgánica 4/2015, de 30 de marzo, de Protección de la Seguridad Ciudadana. Según la ley es ilegal el consumo y la posesión de cannabis en lugares públicos, respecto al cultivo del cannabis es ilegal si se realiza en lugares visibles al público. Sigue siendo ilegal el cultivo de cannabis destinado al tráfico de drogas. Ante el escenario de un individuo que cultive cannabis deberá ser el juez quien dirima cual es la finalidad de cultivar el cannabis.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Tras la elección del tema “el cannabis y sus efectos terapéuticos” se lleva a cabo la lectura de este artículo.<sup>2</sup> Esto permite conocer los usos del cannabis y la existencia de áreas de investigación para su futuro uso. Decantándonos por el estudio del efecto antineoplásico de los cannabinoides como tema del trabajo.

Para llevar a cabo la revisión bibliográfica sobre el efecto antineoplásico de los cannabinoides, se utiliza MEDLINE como base de datos, utilizando PubMed como motor de búsqueda.

La estrategia de búsqueda fue la siguiente:

- Búsqueda con los siguientes términos MeSH:
  - Cannabinoids/administration and dosage
  - Cannabinoids/adverse effects
  - Cannabinoids/therapeutic use
  - Medical Marijuana/administration and dosage
  - Medical Marijuana/adverse effects
  - Medical Marijuana/therapeutic use
  - Neoplasms/drug effects
  - Neoplasms/drug therapy

Utilizando los operadores booleanos OR y AND. Obteniéndose 186 resultados

- Aplicación de los criterios de selección:
  - Disponibilidad de abstract
  - Limitación en el tiempo a 10 años
  - No se trate de un artículo de revisión, permitiendo una mayor independencia de las conclusiones obtenidas

Utilizando los operadores booleanos AND y NOT. Obteniéndose 28 resultados

Quedando la búsqueda estructurada así:

```
(("Cannabinoids/administration and dosage"[Mesh] OR "Cannabinoids/adverse effects"[Mesh] OR "Cannabinoids/therapeutic use"[Mesh]) OR ("Medical Marijuana/administration and dosage"[Mesh] OR "Medical Marijuana/adverse effects"[Mesh] OR "Medical Marijuana/therapeutic use"[Mesh])) AND ("Neoplasms/drug effects"[Mesh] OR "Neoplasms/drug therapy"[Mesh]) AND (hasabstract[text] AND "2007/04/01"[PDAT] : "2017/03/28"[PDAT]) NOT Review[ptyp]
```

- Se procede a la obtención de los 28 artículos completos, a través del acceso que me permite la Universidad de Medicina de Zaragoza.

## MATERIAL Y MÉTODOS

- Lectura de los artículos encontrados, descartando aquellos que no se ajusten al tema del trabajo. Debido a que siguen otras líneas de investigación como el uso de cannabinoides en el dolor neuropático, en dolor tumoral óseo, como tratamiento paliativo de la quimioterapia o debido a que se centran en el análisis de la prevalencia de su uso.

Este proceso nos da como resultado final los 18 artículos con los que se elabora el trabajo.

## OBJETIVOS

Realizar una revisión sistemática para conocer los efectos de los cannabinoides como agentes antineoplásicos, así como, sus distintos mecanismos de acción.

## RESULTADOS

## GLIOBLASTOMA MULTIFORME

El glioblastoma multiforme (GBM) es el tumor primario maligno más frecuente del SNC, con un pronóstico de vida media desde el diagnóstico de 12-15 meses. La necesidad de confirmar todavía la utilidad de los nuevos antineoplásicos, resalta la necesidad de nuevas terapias contra el GBM.<sup>3</sup> A continuación expondré los hallazgos y los distintos mecanismos sobre los que actúan las terapias con cannabinoides en el GBM.

La resistencia a la terapia es la principal causa de recurrencia del GBM. Una de las terapias consiste en la utilización del cannabidiol (CBD) como modulador de especies reactivas de oxígeno (ERO), junto con inhibidores de la respuesta antioxidante, en diversas líneas de células madre de GBM (GSCs).<sup>4</sup>

El CBD, no interacciona eficientemente con los receptores CB1 y CB2, siendo el sitio inicial donde interactúa desarrollando la acción antitumoral desconocido.<sup>4</sup>

Se observó como el CBD incrementa la supervivencia de los ratones con xenoinjerto de GSC, mediante la producción de ERO, que es revertida por el cotratamiento con vitamina E. En el seguimiento del tratamiento con CBD se observa la aparición de resistencias mediadas por la mejora de la expresión en el sistema Xc de la subunidad antioxidante xCT (SLC7A11) y la transición PN-MES, consistente en una regulación al alza de los marcadores mesenquimales (MES) acompañada de una regulación a la baja de marcadores proneurales (PN).<sup>4</sup>

Estos cambios en GSC tratadas con CBD ocurridos tanto en cultivo como en vivo, se deben a la activación de la transcripción de NRF2. Para evitar esta resistencia al CBD se plantea una terapia conjunta con inhibidores del sistema Xc, los cuales disminuyen los niveles de glutatión reducido (GSH).<sup>4</sup>

Se administra CBD junto con erastin (ERA) y más tarde con su análogo piperazina erastina (PE), demostrando en ambos casos una acción sinérgica mayor que por separado, mediante una mejora en la producción de ERO, que consigue disminuir la supervivencia de GSC, la auto renovación y la invasión. Debido a la limitada solubilidad en disolventes orgánicos de ERA, se sintetizó PE como una alternativa, pero la dificultad para atravesar la barrera hematoencefálica hizo no posible su estudio en modelos en vivo. Ambos ERA Y PE provocan la muerte celular mediante un novedoso mecanismo dependiente del hierro llamado ferroptosis.<sup>4</sup>

## RESULTADOS

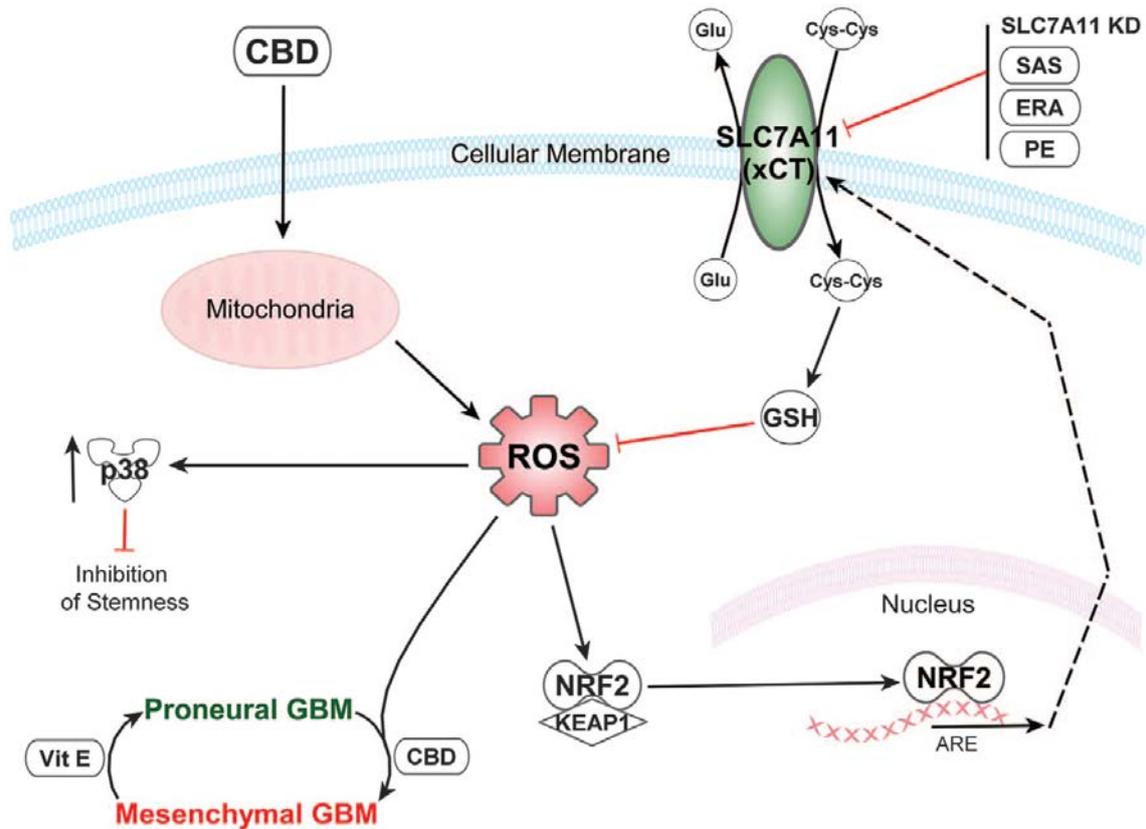


Figura 1: Esquema que resume las señales celulares adaptativas como consecuencia a un incremento de ERO en la terapia con canabidiol.<sup>4</sup>

Otra terapia contra GBM consiste en la utilización del ligando canabinoide KM-233. La diana para el desarrollo de un novedoso tratamiento frente GBM son los receptores CB1 y CB2, para ellos debemos conocer más profundamente sus mecanismos de acción.<sup>3</sup>

En primer lugar se confirmó la citotoxicidad in vitro de KM-233, determinándose que era mediada a través del receptor CB-1, ya que con el antagonista CB1 SR141716A se bloqueaba la actividad de KM-233. También se demostró la eficacia de KM-233 en un xenoinjerto subcutáneo con GBM humano en ratones, mediante la administración de 12mg/Kg, que demostró la reducción del crecimiento del tumor primario. Lo que motivó la investigación de las vías a través de las que actúa KM-233.<sup>3</sup>

Se observó una reducción de la fosforilación en pBAD, que resultó en la consiguiente inhibición de las proteínas anti-apoptóticas BCL-2 y BCL-xL. Además se observó signos de disfunción mitocondrial, junto con vacuolas y compartimentos autofágicos, sugiriendo un mecanismo de autofagia de inicio en la mitocondria.<sup>3</sup>

Se ha sugerido la necesidad de inhibir los factores de señalización Akt y ERK, para el éxito de la terapia con cannabinoides. El tratamiento con KM-233 redujo los niveles de Akt y no interfirió con ERK. A pesar de que se requieren nuevos estudio para determinar si se puede mejorar su uso in vivo. Los resultados muestran como los mecanismos de acción de KM-233 son distintos

## RESULTADOS

de otros cannabinoides como THC, en los que la autofagia esta mediada por mecanismos de estrés en el retículo endoplasmático. Se piensa por tanto que esta doble vía de acción, la vía de la apoptosis intrínseca y la vía de la autofagia, prevendrán la aparición de resistencia contra los tratamientos.<sup>3</sup>

La utilización de temozolamida (TMZ) un agente alquilante, en un tratamiento conjunto con cannabinoides es otra de las terapias utilizadas contra el GBM.<sup>5</sup>

El mecanismo antitumoral de TMZ + THC se basa en la estimulación de la autofagia. La cual es un proceso celular en el que los componentes celulares, incluidos los orgánulos, terminaran degradados por la acción de los lisosomas. El resultado final de este proceso es muy variable, pudiendo provocar la muerte celular programada o contribuir a la protección celular en situaciones de estrés celular. Contribuyendo así a la muerte de las células cancerosas o a la resistencia a la quimioterapia.<sup>5</sup>

La resistencia a TMZ se ha asociado al incremento de la enzima MGMT. Se evalúan diferentes combinaciones de tratamientos en xenoinjertos subcutáneos de GBM humano en ratones que habían adquirido una alta expresión de MGMT como T98G.<sup>5</sup>

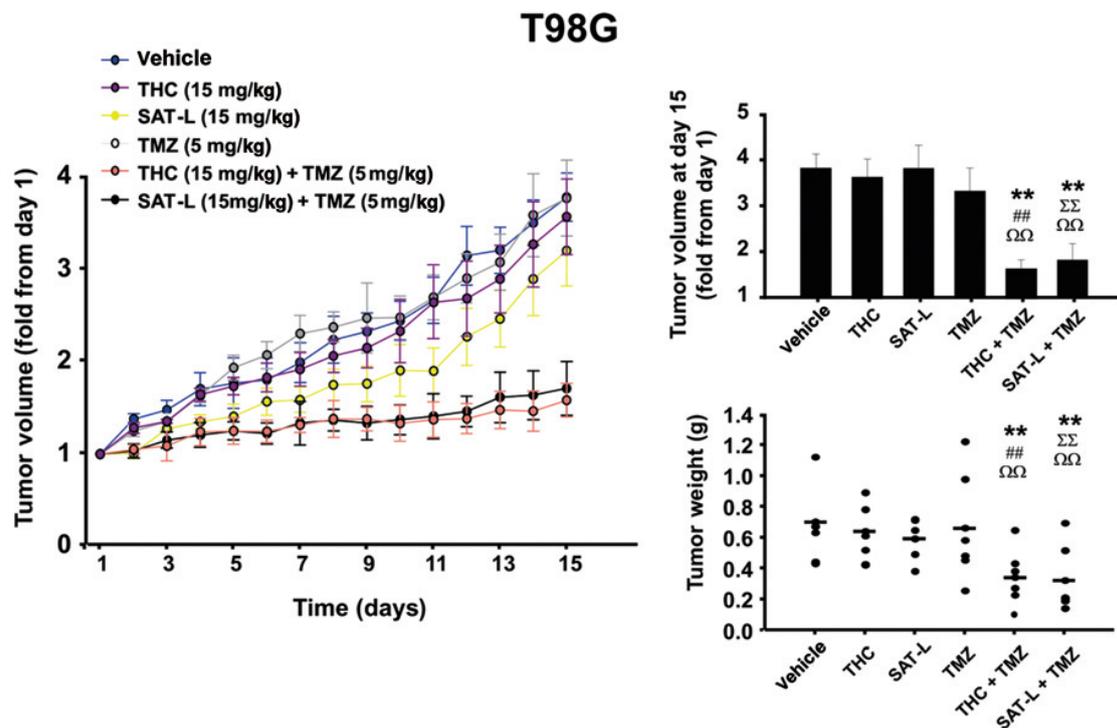


Figura 2: Esquema que muestra la eficacia de los distintos tratamientos en T98G. SAT-L 15mg/Kg (7.5 mg/Kg THC-BDF + 7.5 mg/Kg CBD-BDF).<sup>5</sup>

Los resultados muestran como los tratamientos combinados de TMZ (5 mg/Kg) + THC (15mg/Kg) y TMZ (5 mg/Kg) + SAL-T (15 mg/Kg) son los más eficaces en la reducción del crecimiento tumoral.<sup>5</sup>

## RESULTADOS

Estos novedosos tratamientos con cannabinoides estuvieron exentos de fuertes efectos adversos asociados a la quimioterapia. Todo ello avala la utilización de cannabinoides tanto en solitario, como combinados con TMZ en futuras terapias contra el GBM.<sup>5</sup>

El THC induce la muerte de células de GBM humano a través de la inducción de la autofagia mediada por una respuesta de estrés en el retículo endoplasmático. Esta inducción es mediada por la activación de los receptores CB1.<sup>6</sup>

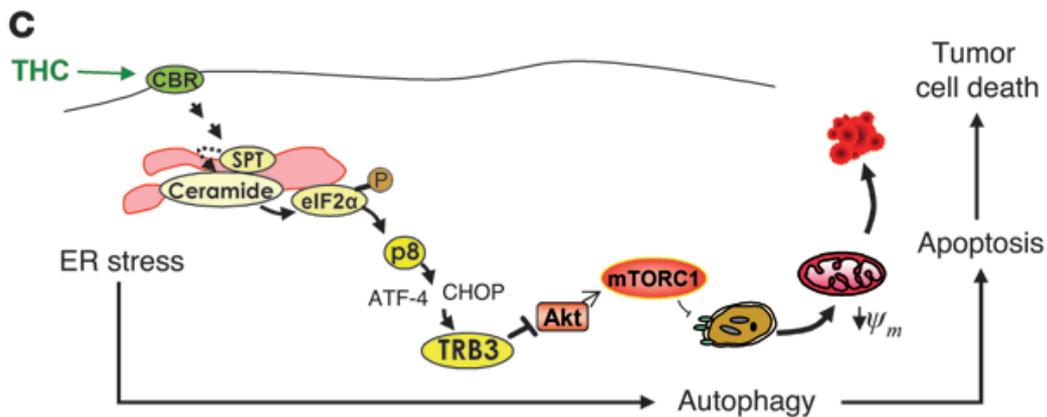


Figura 3: Esquema sobre el mecanismo propuesto por el que el THC inducen la muerte celular.<sup>6</sup>

Los hallazgos sugieren que THC, a través de la activación del receptor CB1 y la estimulación de la síntesis de novo de ceramidas, activa la respuesta del ER al estrés a través de un incremento en la fosforilación de eIF2 $\alpha$ . Esto provoca una regulación al alza de la vía de los factores de señalización p8 y TRB3, provocando la inhibición de Akt, lo que supone una disminución de la actividad de mTORC1 induciendo la autofagia. Lo que conlleva a la apoptosis y la muerte de las células cancerosas.<sup>6</sup>

La inducción de la autofagia es necesaria en la actividad anticancerosa de los cannabinoides en vivo, consiguiendo una reducción del crecimiento tumoral en diferentes modelos de xenoinjertos de GBM. Pero no así en aquellos que eran deficientes en p8 impidiendo la activación de esta vía. Los diferentes estudios estuvieron exentos de fuertes efectos adversos asociados al THC.<sup>6</sup>

La administración de cannabinoides a través de la regulación a la baja del inhibidor tisular de las metaloproteinasas-1 (TIMP-1), tanto en cultivo celulares, xenoinjertos en ratones y dos pacientes con GBM, consiguió una reducción del crecimiento tumoral y de la angiogénesis.<sup>7</sup>

Esto se consiguió tanto con la administración de THC y su interacción con receptores CB1, como con la administración de JWH-133 un agonista selectivo de los receptores CB2. Posibilitando el desarrollo de futuras terapias sin efectos psicoactivos.<sup>7</sup>

CÁNCER DE COLON

Ocupa el tercer puesto en las causas más frecuentes de cáncer en el mundo, tanto en hombres como en mujeres.<sup>8</sup>

En una de las publicaciones se evaluó la eficacia de CBD-CBS, que es un extracto estandarizado de cannabis con alto contenido en CBD, y de CBD puro en la proliferación de las células cancerosas y en distintos modelos en vivo de cáncer de colon.<sup>8</sup>

Phytocannabinoid	Content (% w/w)
Cannabidiol (CBD)	65.9
$\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol	2.4
Cannabigerol	1.0
Cannabidivarin	0.9
Cannabidiolic acid	0.3
Cannabinol	0.1

Figura 4: Tabla con el porcentaje de los principales cannabinoides contenidos en CBD-BDS.<sup>8</sup>

Ambos redujeron la proliferación en células cancerosas sin observarse diferencias significativas, pero no así en células sanas. Este efecto se produjo a través de los receptores CB1 y CB2. Se observó cómo CBD-CBS tenía una elevada acción agonista sobre los receptores CB1 y CB2, mientras que CBD puro tuvo una débil afinidad para ambos receptores. Pensando así, que actúan a través de distintos mecanismos de acción. Se piensa que CBD puede activar CB1 de forma indirecta a través de una potenciación de los niveles de endocannabinoides.<sup>8</sup> Los distintos mecanismos de acción antitumoral del CBD fueron mediados a través de los receptores CB1 y TRPV1 y vía PPAR $\gamma$ .<sup>9</sup> Aunque se precisan más estudios para aclarar como la activación de CB1 y CB2 contribuyen a la acción anticancerosa.<sup>8</sup>

La investigación de los efectos quimiopreventivos en vivo de CBD-CBS, puso de manifiesto que ejercía un efecto quimiopreventivo en la aparición de lesiones precancerosas, criptas aberrantes (86%) y pólipos (79%), producidas por azoximetano (AOM) en ratones. También redujo la formación de cáncer de colon en un 40%, pero sin significación estadística.<sup>8</sup>

La utilización del novedoso análogo del hexa-hidrocannabinol LYR-8 es otra de las terapias evaluadas. Los resultados del estudio mostraron como LYR-8 inhibe el crecimiento tumoral y la angiogénesis en un xenoinjerto subcutáneo de cáncer colorrectal humano (HT-29) en ratones, sin observarse toxicidad manifiesta en los animales.<sup>10</sup>

La acción antitumoral es debida a dos mecanismos distintos. Por un lado la inhibición de la angiogénesis a través de HIF-1 $\alpha$  y su gen diana VEGF, se piensa pueda ser por la inhibición de la síntesis proteica de HIF-1 $\alpha$ . Por otro lado por la inhibición directa de la supervivencia celular a través de la inhibición de la vía Akt y COX-2. Sugiriendo que LYR-8 puede ser un potente anticancerígeno, teniendo un perfil no psicoactivo.<sup>10</sup>

HEPATOCARCINOMA

El hepatocarcinoma es el tumor sólido primario más frecuente del hígado y se estima que representa el 5% de todas las neoplasias malignas.<sup>11</sup>

Se evalúa la acción antitumoral de THC y JWH-015, un agonista selectivo de CB2. Demostrándose dos mecanismos independientes a través de los que originan la autofagia y la apoptosis disminuyendo el crecimiento tumoral.<sup>11</sup>

Por un lado incrementa la fosforilación de eIF2 $\alpha$ , un marcador de estrés del ER activando a la pseudo quinasa TRIB3, la cual regula y es necesaria para la activación de PPAR $\gamma$  y la inhibición de la vía Akt/mTORC1, induciendo así la autofagia. Demostrándose la acción antiproliferativa modulada por una regulación al alza de la vía PPAR $\gamma$ . Por otro lado la activación de AMPK se debe a la kinasa CaMMKs, dependiente de cambios del calcio intracelular.<sup>11,12</sup>

Estos mecanismos fueron evaluados in vitro y in vivo en modelos murinos con xenoinjertos subcutáneos de células humanas HepG2. Contribuyendo al desarrollo de nuevas estrategias frente al hepatocarcinoma.<sup>11,12</sup>

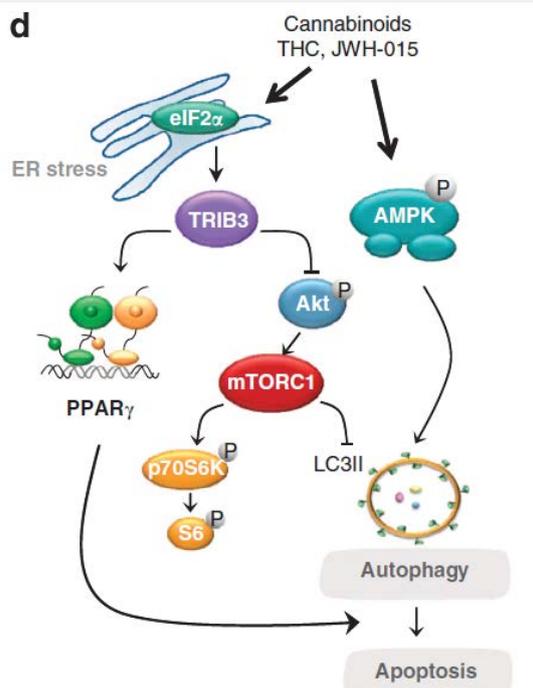


Figura 5: Esquema sobre el mecanismo propuesto por el cual los cannabinoides inducen la muerte de las células de hepatocarcinoma.<sup>11</sup>

### LEUCEMIA

Se ha demostrado la actividad antitumoral de dronabinol, un derivado del THC, en varios tipos de cánceres. Pero existe controversia respecto a su eficacia en la leucemia aguda.<sup>13</sup>

En este estudio se muestra la capacidad antiproliferativa y proapoptótica en un amplio espectro de líneas celulares de leucemia aguda y blastos nativos leucémicos cultivados ex vivo. Este efecto se observó preferentemente en blastos con diferenciación linfóide y en blastos con diferenciación mielóide que expresaban marcadores linfóides.<sup>13</sup>

El efecto proapoptótico de dronabinol fue mediado tanto a través de receptores CB1, como receptores CB2. La expresión de los receptores CB era un requisito para la respuesta a la terapia y su expresión fue mayor en los tejidos cancerosos que en los tejidos sanos. Esto puede suponer una mayor capacidad para focalizar su efecto terapéutico, disminuyendo posibles efectos secundarios.<sup>13</sup>

Se observó como la eficacia antitumoral del dronabinol era dosis-dependiente, pudiendo llegar a dosis utilizadas in vivo por su buen perfil de seguridad. Aun así las dosis tolerables tenían una amplia variabilidad siendo necesario comenzar con dosis sub-efectivas, e ir aumentándolas para inducir tolerancia a los efectos psicoactivos. También se demostró su eficacia antitumoral in vivo, en el plasma extraído de un paciente tratado con dronabinol bajo cuidados paliativos en el contexto de caquexia tumoral, sin ningún tratamiento concomitante.<sup>13</sup>

En otro estudio se evalúa la acción sinérgica del tratamiento concomitante con THC y diversos agentes anti leucemiantes, como citarabina, doxorubicina y vincristina. Se vio como el tratamiento conjunto potenciaba su acción antitumoral, reduciendo la viabilidad de las células tumorales.<sup>14</sup>

Esta susceptibilidad de las células leucémicas expuestas al THC, a la acción citotóxica de los agentes antileucemiantes, es mediada por una reducción de pERK. Requiriéndose para ello una reducción de MAPK.<sup>14</sup>

El mecanismo exacto de ésta no ha sido dilucidado, parece ser debido a una regulación a la baja de pERK, en la vía MAPK/ERK. A pesar de ello se pone de manifiesto la eficacia de la utilización de cannabinoides en terapias combinadas.<sup>14</sup>

## CÁNCER DE MAMA

Se evalúan las distintas vías antitumorales de los cannabinoides en el cáncer de mama y la capacidad de un agonista de CB2, O-1663, para estimularlas en el cáncer de mama en estadio avanzado.<sup>15</sup>

Los dos cannabinoides más abundantes de la planta *cannabis sativa* son el THC y el CBD. El THC activa los receptores CB1 y CB2, provocando sus efectos psicoactivos a través de receptores CB1. La acción antitumoral mediada por el THC se debe a la síntesis de novo de ceramidas, dando lugar al estrés del retículo endoplasmático y a la muerte celular mediada por apoptosis.<sup>15</sup>

Por su parte el CBD no interacciona eficientemente con los receptores CB1 y CB2, y no tiene efectos psicoactivos. El mecanismo por el que actúa no es bien conocido in vivo, pero en estudios in vitro parece deberse a una interacción en un único sitio intracelular que regula la homeostasis del calcio, conllevando a la producción de EROs.<sup>15</sup>

En este estudio se ha concluido que la acción antitumoral del CBD in vivo, está directamente relacionada con la regulación a la baja de Id-1. Se ha observado que la capacidad de CBD de inhibir la invasión celular del cáncer es hasta cuatro veces más potente que su capacidad antiproliferativa y de muerte celular. El CBD es efectivo inhibiendo la progresión metastásica, aumentando la supervivencia en modelos preclínicos de cáncer de mama, siendo necesarias dosis mucho más elevadas para conseguir una acción antiproliferativa e inducir la autofagia en tumores primarios. Por su parte el THC ejerce una potente acción antiproliferativa induciendo la muerte celular mediada por apoptosis en tumores primarios.<sup>15</sup>

Este efecto del THC, puede ser reproducido por agonistas selectivos de CB2, sin efectos psicoactivos. Por ello se investigó acerca de un único compuesto capaz de inhibir la expresión de Id-1 y de interaccionar eficientemente con los receptores cannabinoides. El O-1663 es capaz de activar los receptores CB2, y es más potente en inducir la formación de EROs y de inhibir la expresión de Id-1 que CBD. Produciendo un incremento de la supervivencia en modelos con ratones con cáncer de mama ortotópico (línea celular 4T1) e intravenoso (células de cáncer humano MDA-MB231) en estadio avanzado.<sup>15</sup>

La administración conjunta de THC y CBD produjo resultados similares a O-1663, teniendo este una menor afinidad por CB1 y sus respectivos efectos psicoactivos. No se describió toxicidad manifiesta en los modelos de cáncer de mama metastásico en ratones tratados con O-1663.<sup>15</sup>

Se ha visto que aparte de los efectos antitumorales directos de los cannabinoides, la inhibición de la expresión de Id-1 y la inducción de la autofagia, potencian la actividad de las terapias usadas como primera línea de tratamiento. Estos resultados sugieren la posible utilización de los cannabinoides en futuras terapias antitumorales.<sup>15</sup>

### CÁNCER DE PÁNCREAS

El adenocarcinoma de páncreas es uno de los cánceres más agresivos y devastadores con un ratio de muerte según incidencia del 99%. La monoterapia con gemcitabina (GEM), ha sido el tratamiento estándar en la última década en pacientes no candidatos a cirugía, con una respuesta menor del 20%, que consistía en una modesta mejora de la calidad de vida.<sup>16</sup>

Se ha investigado el efecto del tratamiento combinado con GEM y tres agonistas específicos de receptores CB; ACPA y SR1 para CB1 y GW para CB2, en el crecimiento celular del adenocarcinoma de páncreas.<sup>16</sup>

Se demostró que los tres cannabinoides inducían la producción de ERO, el estrés en el retículo endoplasmático y la muerte celular por autofagia. Siendo estos efectos potenciados por GEM.<sup>16</sup>

La inducción de la producción de ERO fue significativamente mayor con el tratamiento de GEM/cannabinoides, que la obtenida por separado. Consiguiendo inducir la autofagia a través de un mecanismo dependiente de ERO, siendo este necesario para la acción sinérgica del tratamiento combinado.<sup>16</sup>

Se observó cómo este sinergismo en la inhibición del crecimiento celular, dependiente del incremento de EROS, fue más potente en las líneas celulares resistentes a GEM respecto a las sensibles GEM. Sugiriendo que el aumento de la producción de ERO puede ser una buena estrategia para vencer la resistencia a GEM.<sup>16</sup>

Los receptores CB1 y CB2 están sobre expresados en distintos tumores, mientras que apenas se expresan en tejidos sanos. Sugiriendo que los tratamientos con cannabinoides ejercerán predominantemente su efecto sobre tejidos tumorales.<sup>16</sup>

Los resultados muestran como GEM induce la expresión de los receptores CB1 y CB2 a través de un mecanismo dependiente de NF-kB. El mecanismo molecular que provoca la inducción de NF-kB por GEM es desconocido, tan solo demostrándose que es independiente de la producción de ERO.<sup>16</sup>

También se observó la eficacia del tratamiento combinado de GEM/SR1, inhibiendo el crecimiento de células de adenocarcinoma pancreático humano (PaCa44) en un modelo de xenoinjerto murino, sin observarse toxicidad manifiesta.<sup>16</sup>

## RESULTADOS

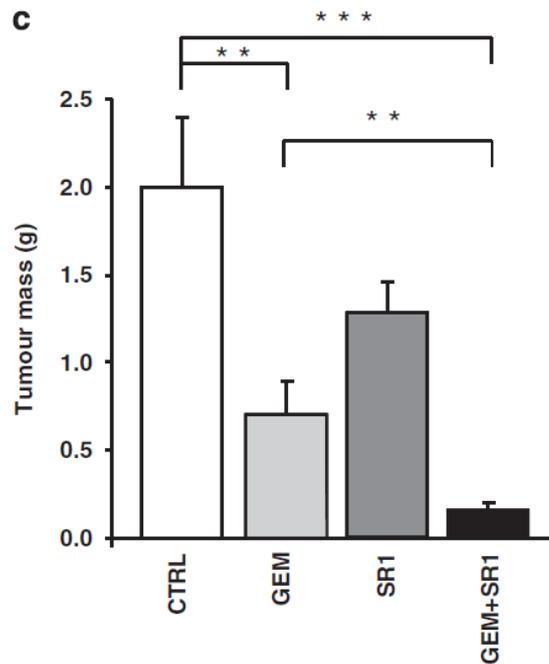


Figura 6: Esquema que muestra el efecto de los distintos tratamientos en un modelo de xenoinjerto con células de adenocarcinoma pancreático humano (PaCa44) en ratones. Obteniendo una reducción de la masa tumoral respecto al control de 65, 34 y 92 % en ratones en tratamiento con GEM, SR1 y GEM/SR1 respectivamente.<sup>16</sup>

## CÁNCER DE PULMÓN

Se estudió la acción del CBD en la expresión y liberación del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y su posible impacto en la capacidad anti-invasiva del CBD en células humanas de cáncer de pulmón.<sup>17</sup>

Los resultados sugieren que CBD es capaz de inhibir la expresión de PAI-1, siendo esto responsable al menos en parte de la acción anti-invasiva del CBD. Esta inhibición es específica, no afectando otros componentes del sistema plaminogeno/plasmina, como uPA o uPAR.<sup>17</sup>

La inhibición de la expresión de PAI-1 y la acción anti-invasiva fueron revertidas mediante antagonistas de tres receptores, el antagonista del receptor CB1 (AM-251), el antagonista del receptor CB2 (AM-630) y el antagonista del receptor TRPV1 (capsacepina). Sugiriendo que el CBD ejerce su función interaccionando con estos receptores.<sup>17</sup>

Debido a la baja afinidad que tiene el CBD para activar los receptores CB1 y CB2. Una posible explicación en la participación de los receptores CB1 y CB2 en la acción de CBD, puede residir en un efecto inhibitor de este compuesto sobre la enzima ácido graso amida hidrolasa (FAAH). Esto supone la reducción de la captación celular y de la degradación de la anandamida, prolongando el efecto de este endocannabinoide sobre los receptores CB1 y CB2.<sup>17</sup>

## RESULTADOS

Utilizando distintas líneas celulares humanas de cáncer de pulmón, células de tumor primario y un modelo en vivo de metástasis intravenosa en ratones. Se analizó la contribución de la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) en la acción anti-invasiva del CBD.<sup>18</sup>

La cual fue recientemente descrita que era mediada vía receptor cannabinoide, TRPV1, y la regulación al alza del inhibidor tisular de la metaloproteinasa-1 (TIMP-1) dependiente de la activación de MAPK.<sup>18</sup>

Los resultados mostraron como CBD inducía el aumento de la expresión de ICAM-1 y TIMP-1 mRNA. La expresión de ICAM-1 y la regulación al alza mediada por TRPV1, así como la acción anti-invasiva, fueron revertidas mediante, el antagonista del receptor CB1 (AM-251), el antagonista del receptor CB2 (AM-630) y el antagonista del receptor TRPV1 (capsacepina).<sup>18</sup>

La expresión de ICAM-1 inducida por CBD también fue revertida por el inhibidor de la activación de p42/44 MAPK (PD98059), sugiriendo que la expresión de ICAM-1 inducida por CBD ocurre a través de esta vía.<sup>18</sup>

Se postuló de acuerdo a otros estudios previos que ICAM-1, puede iniciar la fosforilación de p42/44 MAPK, provocando la activación de AP-1 y la producción de citoquinas o moléculas de adhesión. Teniendo en cuenta que la región promotora de TIMP-1 tiene un sitio de unión para AP-1, esta puede ser una posible explicación.<sup>18</sup>

También se observó la acción anti-invasiva de CBD en un xenoinjerto murino subcutáneo con células humanas de cáncer de pulmón (A549), a través de la regulación al alza de ICAM-1 y TIMP-1.

Debido a que la regulación al alza de ICAM-1 en células endoteliales, podía provocar toxicidad a través de la interacción con leucocitos, se estudió como actuaba el CBD. Observándose como inhibía la expresión de ICAM-1 en células endoteliales humanas de la arteria coronaria expuestas a altos niveles de glucosa. Sugiriendo que la inducción de la expresión de ICAM-1 puede estar limitada a las células cancerosas.<sup>18</sup>

## CÁNCER ORAL

Se investigó el efecto de los agonistas de los receptores cannabinoide WIN55, 212-2 (no-selectivo), ACEA (agonista CB1) y AM1241 (agonista CB2), sobre la proliferación y viabilidad in vitro y en vivo de células de cáncer oral.<sup>19</sup>

Se utilizaron células humanas de carcinoma escamoso (SCC), las cuales expresaban los receptores CB1 y CB2. Se observó como todos los agonistas redujeron la viabilidad celular in vitro, siendo WIN55, 212-2 el que lo consiguió a una menor concentración. Sin embargo solo el agonista CB2 AM1241 fue capaz de disminuir la proliferación, inhibiendo el crecimiento tumoral en vivo. Es posible que el micro ambiente tumoral afecte los niveles de expresión y/o el mecanismo de acción de los receptores cannabinoide, haciendo que el agonista CB2 sea más eficaz.<sup>19</sup>

## RESULTADOS

### CÁNCER DE PIEL

Se estudió el efecto de diferentes cannabinoides sintéticos sobre la inflamación y la carcinogénesis en vivo en ratones.<sup>20</sup>

Para ello se indujo la inflamación mediante la aplicación de 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) disuelto en acetona en la oreja de los ratones. Se demostró como JWH-018, JWH-122 y JWH-210 ejercían una potente acción anti-inflamatoria frente a la inflamación mediada por TPA en la oreja de los ratones.<sup>20</sup>

Observándose como existe una relación entre la estructura y la acción anti-inflamatoria de los cannabinoides sintéticos. En los que pequeñas diferencias en su estructura química pueden afectar a su actividad biológica.<sup>20</sup>

Se estudió el efecto de los cannabinoides sintéticos JWH-018, JWH-122 y JWH-210 en la carcinogénesis inducida en la piel de los ratones mediante la aplicación inicial tópica de 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA), potenciada con la aplicación tópica de TPA dos veces a la semana. Los resultados mostraron una potente actividad de los distintos cannabinoides frente al desarrollo de tumores detallada en la tabla.<sup>20</sup>

Compound	Dose $\mu\text{M}$ / mouse		Weeks of promotion																				
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Control	-	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	1.1	3.1	5.3	7.3	8.5	9.3	10.3	11.1	11.5	11.9	12.4	13.0	13.4	13.9	14.0
		S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	1.5	3.9	6.8	9.4	9.4	9.5	9.9	10.1	10.3	10.1	10.2	10.2	10.0	9.9	9.9
JWH-018	0.02	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0*	0.0*	0.1**	0.3*	0.7*	1.1**	1.3**	1.8**	2.1**	2.7**	3.1**	3.4**	4.1*	4.5*	5.0*	5.1*
		S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.8	1.4	1.9	2.2	2.6	2.9	3.3	3.5	3.7	4.0	4.3	4.7
	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0*	0.0*	0.0**	0.1**	0.1**	0.1**	0.1**	0.3**	0.3**	0.5**	0.7**	0.9**	0.9**	1.1**	1.2**	1.5**	1.5**
	S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.4	0.4	0.7	0.7	1.1	1.1	1.4	1.5	1.8	1.8	2.2	2.2
JWH-122	0.2	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0*	0.0*	0.2*	0.7	1.2	1.7*	2.4*	2.9*	3.4*	3.7*	4.1*	4.3*	5.0*	5.3*	6.1	6.3
		S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	1.1	1.9	2.3	3.1	3.3	3.8	3.8	4.2	4.3	5.0	5.2	5.9	6.0
	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0*	0.0*	0.0**	0.2*	0.6*	0.7**	0.9**	1.1**	1.3**	1.4**	1.5**	1.8**	1.8**	2.1**	2.2**	2.3**	2.3**
	S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	1.1	1.1	1.5	1.7	2.1	2.1	2.2	2.5	2.5	2.9	3.0	3.1	
JWH-210	0.2	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0*	0.0*	0.3*	0.8	1.6	2.1*	2.8*	3.5*	4.3*	4.5*	5.2	5.3*	6.0	6.3	6.8	7.0
		S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.4	2.8	3.4	4.0	4.5	5.2	5.4	5.9	6.0	6.4	6.7	7.0	7.1
	Mean	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0*	0.0*	0.1**	0.3*	0.7*	0.9**	1.1**	1.4**	1.8**	1.9**	2.2**	2.3**	2.7**	2.8**	3.1**	3.2**	
	S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.6	1.2	1.7	2.1	2.4	2.9	2.9	3.3	3.3	3.9	4.0	4.4	4.5	

Figura 7: Tabla que muestra el número de tumores inducidos por el método DMBA/TPA en ratones control y tratados con JWH-018, JWH-122 y JWH-210. S.D (desviación estándar).<sup>20</sup>

## DISCUSIÓN

Los distintos estudios que se han analizado muestran los efectos de la acción de los cannabinoides como terapia antitumoral en distintos cánceres. Esta acción antitumoral de los cannabinoides ha sido comprobada *in vivo*.<sup>6,8,11-13,15-20</sup> Los principales cannabinoides estudiados han sido CBD,<sup>4,5,8,9,15,17,18</sup> THC<sup>5-7,14,15</sup> y diversos cannabinoides sintéticos, con diferente capacidad agonista para CB1 y CB2.<sup>3,7,10-12,15,16,19,20</sup> Se han encontrado diferentes vías, a través de las que los cannabinoides desempeñan su acción antitumoral.

Una de ellas es la inducción de la autofagia, que conduce a la muerte celular por apoptosis. Pudiendo ser mediada por una respuesta de estrés en el retículo endoplasmático,<sup>6,11,12,15</sup> un novedoso mecanismo de autofagia iniciado en la mitocondria<sup>3</sup> o a través del sistema AMPK dependiente de calcio.<sup>11,12</sup>

Se han obtenido efectos dispares respecto al efecto de los cannabinoides sobre MAPK y su consecuente acción antitumoral. Por un lado es necesaria la regulación a la baja de MAPK para provocar la susceptibilidad de las células leucémicas expuestas al THC, a la acción de los agentes antileucemiantes.<sup>14</sup> Mientras que CBD ejerce su acción antitumoral frente al cáncer de pulmón induciendo el aumento de la expresión de ICAM-1 y TIMP-1, dependiente de la activación de MAPK.<sup>18</sup> En este caso la activación de TIMP-1 ejerce un efecto antitumoral,<sup>18</sup> sin embargo en el GBM la regulación a la baja de TIMP-1 consiguió una reducción del crecimiento tumoral y de la angiogénesis.<sup>7</sup> Esto puede ser debido en ambos casos a que se los estudios se realizan en tumores diferentes

Otra vía por la cual los cannabinoides ejercen su acción antitumoral es mediante el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO),<sup>4,15,16</sup> provocada tanto por la acción de los cannabinoides, como por el uso de terapias concomitantes.

La utilización de los cannabinoides en terapias concomitantes con otros antineoplásicos,<sup>4,5,14-16</sup> ha demostrado un sinergismo en los tratamientos, con efectos antitumorales mayores que los demostrados por separado.

La acción de los cannabinoides es ejercida a través de los receptores cannabinoides CB1 y CB2, los cuales se encuentran expresados en niveles más altos en los tejidos tumorales, con apenas expresión en los tejidos sanos.<sup>13,16</sup> Sugiriendo que los tratamientos con cannabinoides ejercerán predominantemente su efecto sobre tejidos tumorales

Se ha observado como el cannabidiol (CBD) tiene una baja afinidad por los receptores CB1 y CB2.<sup>4,8,15,17</sup> Sugiriendo algunos estudios que CBD ejerce su acción sobre los receptores CB1 y CB2 mediado por endocannabinoides.<sup>8,17</sup>

También se ha observado que la acción antitumoral del CBD es preferentemente anti-metastática, inhibiendo la invasión celular, respecto a su acción anti-proliferativa en tumores primarios.<sup>15,17,18</sup>

## DISCUSIÓN

Una limitación al uso de cannabinoides en medicina son sus efectos psicoactivos, mediados a través del receptor CB1. Aunque están en el rango de los aceptados para otras medicaciones, especialmente en pacientes con cáncer, y tienden a desaparecer con su uso continuado, terapias sin efectos psicoactivos son deseables en el desarrollo de las terapias antineoplásicas con cannabinoides.

La ausencia de efectos psicoactivos fue descrita en diversos estudios,<sup>4,7,10,17,18</sup> utilizando otros el término “no toxicidad manifiesta”.<sup>5,6,10,15,16</sup> También se describió la necesidad de comenzar con dosis sub-efectivas para inducir tolerancia, debido a la variabilidad observada en las dosis tolerables.<sup>13</sup>

## CONCLUSIÓN

Numerosos estudios avalan la eficacia de los cannabinoides en el tratamiento de diversos tipos de cánceres, tanto en solitario como combinados con otras terapias. El descubrimiento de distintos mecanismos a través de los que actúan, incentiva a seguir investigando en este campo. Permitiendo el desarrollo de tratamientos más eficaces y con menos efectos adversos. La casi inexistencia de experimentación en humanos, junto con la eficacia y seguridad observada en la literatura científica, hace deseable en un futuro el desarrollo de ensayos clínicos con cannabinoides como agentes antineoplásicos. Ya sea en solitario o en combinación con otras terapias.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández-Ruiz J, Romero J, Ramos JA. *Endocannabinoids and Neurodegenerative Disorders: Parkinson's Disease, Huntington's Chorea, Alzheimer's Disease, and Others.*; 2015. doi:10.1007/978-3-319-20825-1\_8.
2. Functioning C, Health M, Use MC, Pregnancy D, Use C. Clearing the Smoke on Cannabis Series. *Initiatives*. 2016;(March):1-8.
3. Gurley SN, Abidi AH, Allison P, et al. Mechanism of anti-glioma activity and in vivo efficacy of the cannabinoid ligand KM-233. *J Neurooncol*. 2012;110(2):163-177. doi:10.1007/s11060-012-0958-5.
4. Singer E, Judkins J, Salomonis N, et al. Reactive oxygen species-mediated therapeutic response and resistance in glioblastoma. *Cell Death Dis*. 2015;6(1):e1601. doi:10.1038/cddis.2014.566.
5. Torres S, Lorente M, Atima Rodríguez-Forn Es F, et al. A Combined Preclinical Therapy of Cannabinoids and Temozolomide against Glioma. 2011;10(January):90-104. doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0688.
6. Salazar M, Carracedo A, Salanueva ÍJ, et al. Cannabinoid action induces autophagy-mediated cell death through stimulation of ER stress in human glioma cells. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1359-1372. doi:10.1172/JCI37948.of.
7. Blázquez C, Carracedo A, Salazar M, et al. Down-regulation of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in gliomas: a new marker of cannabinoid antitumoral activity? *Neuropharmacology*. 2008;54(1):235-243. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.06.021.
8. Romano B, Borrelli F, Pagano E, Cascio MG, Pertwee RG, Izzo AA. Inhibition of colon carcinogenesis by a standardized Cannabis sativa extract with high content of cannabidiol. *Phytomedicine*. 2014;21(5):631-639. doi:10.1016/j.phymed.2013.11.006.
9. Aviello G, Romano B, Borrelli F, et al. Chemopreventive effect of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol on experimental colon cancer. *J Mol Med*. 2012;90(8):925-934. doi:10.1007/s00109-011-0856-x.
10. Thapa D, Kang Y, Park P-H, et al. Anti-tumor Activity of the Novel Hexahydrocannabinol Analog LYR-8 in Human Colorectal Tumor Xenograft Is Mediated through the Inhibition of Akt and Hypoxia-Inducible Factor-1&#945; Activation. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(6):924-932. doi:10.1248/bpb.35.924.
11. Vara D, Morell C, Rodríguez-Henche N, Diaz-Laviada I. Involvement of PPAR $\gamma$  in the antitumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*. 2013;4:e618. doi:10.1038/cddis.2013.141.

## BIBLIOGRAFÍA

12. Vara D, Salazar M, Olea-Herrero N, Guzmán M, Velasco G, Díaz-Laviada I. Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. *Cell Death Differ.* 2011;18(7):1099-1111. doi:10.1038/cdd.2011.32.
13. Kampa-Schittenhelm KM, Salitzky O, Akmut F, et al. Dronabinol has preferential antileukemic activity in acute lymphoblastic and myeloid leukemia with lymphoid differentiation patterns. *BMC Cancer.* 2016;16(1):25. doi:10.1186/s12885-015-2029-8.
14. Liu WM, Scott K a, Shamash J, Joel S, Powles TB. Enhancing the in vitro cytotoxic activity of Delta9-tetrahydrocannabinol in leukemic cells through a combinatorial approach. *Leuk Lymphoma.* 2008;49(9):1800-1809. doi:10.1080/10428190802239188.
15. Murase R, Kawamura R, Singer E, et al. Targeting multiple cannabinoid anti-tumour pathways with a resorcinol derivative leads to inhibition of advanced stages of breast cancer. *Br J Pharmacol.* 2014;171(19):4464-4477. doi:10.1111/bph.12803.
16. Donadelli M, Dando I, Zaniboni T, et al. Gemcitabine/cannabinoid combination triggers autophagy in pancreatic cancer cells through a ROS-mediated mechanism. *Cell Death Dis.* 2011;2(4):e152. doi:10.1038/cddis.2011.36.
17. Ramer R, Rohde A, Merkord J, Rohde H, Hinz B. Decrease of plasminogen activator inhibitor-1 may contribute to the anti-invasive action of cannabidiol on human lung cancer cells. *Pharm Res.* 2010;27(10):2162-2174. doi:10.1007/s11095-010-0219-2.
18. Ramer R, Bublitz K, Freimuth N, et al. Cannabidiol inhibits lung cancer cell invasion and metastasis via intercellular adhesion molecule-1. *FASEB J.* 2012;26(4):1535-1548. doi:10.1096/fj.11-198184.
19. Manuscript A, Attenuate C, Pain C, Model M. NIH Public Access. 2012;488(3):247-251. doi:10.1016/j.neulet.2010.11.039.Cannabinoids.
20. Nakajima J, Nakae D, Yasukawa K. Structure-dependent inhibitory effects of synthetic cannabinoids against 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and skin tumour promotion in mice. *J Pharm Pharmacol.* 2013;65(8):1223-1230. doi:10.1111/jphp.12082.