

CANNABIS Y SALUD

EDICIÓN #01
MARZO, 2023
2023

TRABAJOS CIENTÍFICOS

- + Efecto citoprotector de cannabis sativa sobre células madre mesenquimales humanas.
- + Relevancia de drosophila melanogaster en la investigación pre-clínica sobre cannabinoides
- + CANNABIS TERAPÉUTICO: Procesos fisiológicos involucrados y características de las principales vías de administración de derivados de cannabis.

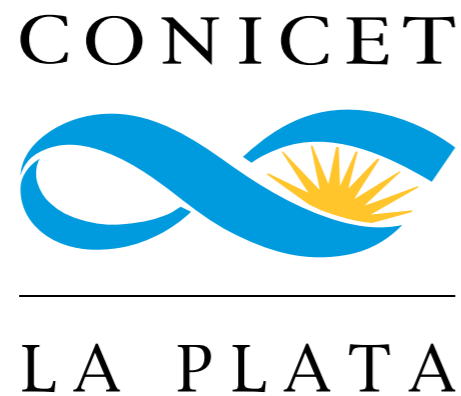
ENTREVISTAS

CANNABIS Y DOLOR

EL QUINTO ELEMENTO

CULTIVO EN FAMILIA

ÁMBITO CIENTÍFICO



Editorial

La ciencia y la academia argentinas han sido cómplices de décadas de prohibicionismo. Conscientes o no, médicos y científicos generaron conceptos y mostraron información tendenciosa que a fin de cuentas sustentaron la guerra contra las drogas. Represión ideológica como base de las visiones científicas que permitió persecuciones y violaciones a los derechos humanos que, lamentablemente aún hoy continúan. No fueron nuestros académicos y científicos los que se dieron cuenta de las cualidades terapéuticas del cannabis, que era mucho más que “una droga de abuso”.

El movimiento cannábico argentino ha promovido, catalizado y condicionado las políticas sobre cannabis. Puso el tema sobre el escritorio de los médicos y las mesadas de laboratorio de los científicos. El movimiento cannábico ha logrado que desde el Ministerio de Salud de la Nación se instalen políticas que logran desandar los caminos prohibicionistas permitiendo el autocultivo y el cultivo colectivo.

Sin duda, la ley 27.350 de 2017 acompaña y protege a cientos de cultivadores en todo el país, a decenas de organizaciones no gubernamentales -ONGs- y a miles de pacientes en un modelo de acceso a Cannabis Terapéutico, inédito a nivel mundial.

Cada día se suman a las ONGs, cooperativas y Pymes con proyectos diversos de cultivo, industrialización y servicios que en conjunto van constituyendo un camino hacia la salud individual y colectiva. Además, el Cannabis Terapéutico interpela el statu quo de los paradigmas de salud, de las políticas y las prácticas de los denominados profesionales de la salud y sus organizaciones, como colegios y asociaciones. Estos actores potencian una de las características que más enriquece al cannabis que es su diversidad: de formas, de terapias, de accesos, de productos, de geografías, de culturas.

Desde la academia y las instituciones científicas a lo largo de todo el territorio se han comenzado a desarrollar líneas de investigación y extensión que cuentan cada vez con mayor cantidad de investigadores, becarios, tesisistas, tesisistas y extensionistas dedicados a temas relacionados con el cannabis en todas las áreas del conocimiento. Sin embargo, el prohibicionismo continúa presente y toma nuevas formas, ahora se preocupa de la calidad de los preparados y de la concentración de THC y prefiere permitir que las compañías extranjeras importen medicamentos con CBD purificado antes de dar lugar a estudios con preparados locales.

En pos de contribuir a este desarrollo del cannabis medicinal proponemos esta revista como herramienta de diálogo con procesos sociales, intercambio de ideas y paradigmas entre profesionales de distintas áreas y para difundir el trabajo de los científicos y tecnólogos de nuestra región.

Pretendemos con “Cannabis y Salud” -CyS- generar un espacio donde los saberes puedan intercambiarse, ponerse en duda, contrastarse y evolucionar colectivamente en diálogo entre autoridades políticas, investigadores, profesionales, cultivadores y usuarios. Por ello, entendemos que la investigación científica, el accionar de nuestros profesionales de la salud, así como las expresiones culturales diversas y legítimas de nuestras sociedades deben estar representadas en esta revista.

“Cannabis y Salud” es una revista dedicada a la exploración científica, médica y psicosocial del cannabis, los cannabinoides y los mecanismos bioquímicos de los endocannabinoides.

CyS es la primera revista científica y de divulgación en Argentina que explora todas las áreas que rodean al Cannabis Terapéutico. Su principal misión es acompañar a los avances que se realicen en nuestra región siendo una plataforma abierta a científicos que desarrollan investigaciones en ciencias básicas o aplicadas, tesisistas, becarios, investigadores clínicos, tecnólogos, agrónomos, así como a los profesionales de las ciencias sociales, jurídicas y regulatorias.

Esperamos que CyS contribuya al desarrollo desprejuiciado del cannabis y que sea una herramienta para que investigadores, jóvenes tesisistas, becarios, residentes y profesionales puedan publicar, en un entorno de calidad académica y a la vez amigable, los resultados de sus estudios e investigaciones; y así construir colectivamente la revista científica de cannabis que nuestra comunidad necesita.

“Los dolores que nos quedan son las libertades que nos faltan”

¡Basta de presos plantar!

Por un Ciencia LIBRE, ÉTICA y SOBERANA



“

Los dolores
que nos quedan
son las libertades
que nos faltan

”

Directora: Dra. Daniela Sedan (CIM-CONICET-UNLP)

Comité Científico - Cannabis y Salud

Director:

Dr. Dario Andrinolo
(CIM - CONICET - UNLP)

Dra. Daniela Sedan
(CIM - CONICET - UNLP)

Dr. Patricio de Urza
(FCE - UNLP)

Lic. Cristian Vaccarini
(CIM - CONICET - UNLP)

Dra. Romina Montiel
Instituto de Oncología Angel
H. Roffo. (UBA).

Dra. Marina Elichiry
Instituto de Oncología Angel H. Roffo.
(UBA)

Dra. Mariela Morante
(Fac. Ciencias Medicas- UNLP)

Lic. Constanza Canali
(Fac. Ciencias Sociales - UBA)

Lic. María Solange Noblia
(Fac. Ciencias de la Salud - UNMDP)

Lic. Fernando Ferreira Ferreyra
(ACCEDA Asociación Civil)

Comité Editor - Cannabis y Salud

Lic. Fernando Ferreira Ferreyra
(ACCEDA Asociación Civil)

Dr. Dario Andrinolo
(CIM - CONICET - UNLP)

Dra. Daniela Sedan
(CIM - CONICET - UNLP)

Carolina López Scondras (Acción
Mediática)

Colaboradores

Entrevistas:

Antual Brunetti - Entrevistas

Fotógrafos:

Diego Cuartas - Fotógrafo

María Ahimsa
de Dios Guerrero - Fotógrafa

Diseño y Maquetación:

Denise Barberón - Diseñadora Gráfica

Web:

Dr. Raúl Requena

EDICIÓN #1 Cannabis y Salud > Buenos Aires Argentina
MAR. 2023 www.cannabissalud.org
info@cannabissalud.org

Sumario

Cannabis y Salud

- 03 EDITORIAL
- 06 Cannabis y Dolor.
Mariela Morante
- 14 El quinto elemento de Kobunco Loza
/ ORGANIZACIONES SOCIALES
- 24 Cultivo en Familia Candela Grossi
/ ORGANIZACIONES SOCIALES
- 32 Científicos: Entrevista Graciela Ponessa
y María Inés Mercado

TRABAJOS CIENTÍFICOS

- 40 Efecto citoprotector de *Cannabis sativa*
sobre células madre mesenquimales
humanas.
- 48 Cannabis Terapéutico: procesos
fisiológicos involucrados y características
de las principales vías de administración
de derivados de cannabis
- 54 Relevancia de *Drosophila melanogaster*
en la investigación pre-clínica sobre
cannabinoides

- 62 QUIÉNES SOMOS



CANNABIS Y DOLOR

Mariela Morante

La Dra. Mariela Morante es médica internista; está certificada en cuidados paliativos y tratamiento del dolor. Se desempeña como profesora de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata en la Cátedra Medicina Interna E. La Dra. Morante es una de las médicas destacadas en la temática del Cannabis Terapéutico ya que no sólo lo emplea en su práctica médica para el tratamiento de sus pacientes; sino que también ha estado del otro lado siendo ella misma una paciente a la que el Cannabis ha ayudado en algún momento. En esta entrevista, la Dra. Morante, comparte con nosotros parte de su experiencia sobre Cannabis y Dolor, al mismo tiempo que nos aporta sus puntos de vista sobre el uso terapéutico del Cannabis.

- ¿Cuál es su vínculo con la medicina para el tratamiento del dolor?

Desde el año 2011 hago tratamiento del dolor. En este sentido, me puse en contacto por primera vez con el cannabis como medicina de pacientes oncológicos que no estaban bien tratados. Cuando en esa época nos decían que la medicación alopática (morfina, metadona, oxicodona) y todos los opioides que nosotros usábamos eran menos efectivos para el tratamiento del dolor que el cigarrillo de marihuana que les daba el sobrino, el nieto o el primo; por primera vez me pregunté: ¿Qué pasó acá que están diciendo que la marihuana es más efectiva que la “medicina” que estoy haciendo? Esto fue un interrogante que se me presentó y que compartí con Marcelo (Marcelo Morante). Él, que es curioso, empezó a investigar, logró ir a Canadá a capacitarse sobre la temática y consiguió que un médico de allá venga a la Facul-

tad de Ciencias Médicas. Así, en el 2014, nos dieron la apertura para traer un especialista. Pensé que en esa época en las universidades todavía no se hablaba nada sobre cannabis y el decano de la Facultad nos permitió entrar con una temática que para nosotros era increíble. Fue el primer contacto que tuve con el cannabis medicinal.

“¿Qué pasó acá que están diciendo que la marihuana es más efectiva que la “medicina” que estoy haciendo?”

Por otro lado, en 2007, me diagnosticaron Lupus; no bien tratado porque soy muy mala paciente, como buena médica. Esta enfermedad me generó convulsiones refractarias al tratamiento alopático tradicional y Marcelo ante mi situación de salud, que no era muy buena, decidió instaurar como terapéutica el cannabis medicinal porque veía que mi calidad de vida estaba muy afectada. Empecé a consumir cannabis como paciente y realmente la asociación

“

¿Qué pasó acá que están diciendo que la marihuana es más efectiva que la “medicina” que estoy haciendo?

”

“

Lo que busco como médica es, si no afecta de manera negativa y beneficia, acompañar y apoyar; porque la subjetividad la tengo que respetar, es el respeto de la autonomía del paciente.

”



de la medicina tradicional más el cannabis medicinal (nunca vamos a saber si fue el huevo o la gallina) me hizo sentir desde lo personal que mejoró mucho mi estado de ánimo, mi voluntad y un montón de cosas; hizo que mejorara el status de mi enfermedad. Cuando logré recuperarme, Marcelo me volvió a acercar al mundo de la medicina; incluso escribimos el libro "Sin Dolor" que cuenta historias de pacientes y el contacto con el cannabis medicinal. Eso fue como una rehabilitación también, porque tenía un trastorno neurocognitivo bastante severo. Marcelo me insistía en que lo ayudara a hacer un libro. Yo no entendía nada, porque decía ¿Cómo voy hacer un libro si no puedo ni hablar bien? Pero fue un estímulo muy importante para poder mejorar mi estado cognitivo. Además me estimularon la voluntad y las ganas de poder volver a ejercer la medicina.

Volví a hacerlo en el 2016/2017 con toda la movida que impulsó la ley 27.350 de Cannabis Medicinal. Marcelo ya estaba más metido en el tema y salimos ahí con el "Primer Congreso de Cannabis" y todo lo que vino a posteriori. En síntesis, la iniciativa surge primero por parte de las consultas sobre el uso de cannabis y también por la experiencia personal que me atravesó completa: si no lo entendía como médica lo iba a entender como paciente.

- ¿Qué cuestiones se deberían considerar para iniciar un tratamiento con cannabis medicinal?

Los pacientes tienen que saber que no sirve para todos, que algunos tienen contraindicaciones, porque tiene interacciones medicamentosas. Por lo general, a la consulta vienen pacientes que consumen un montón de medicamentos: para la presión, para la arritmia, para la diabetes, analgésicos. Entonces uno tiene que evaluar en particular a cada uno para ver si tiene indicación de uso. Por ejemplo, si tiene una arritmia cardiaca está contraindicado, no lo puedo utilizar como herramienta terapéutica. Siempre es

una evaluación particular de cada paciente, viendo ¿qué otras enfermedades padecen?, ¿es plausible de uso de cannabis?, ¿cuál cannabis?, ¿cómo se dosifica?... También hay un montón de cosas que hay que tener en cuenta de la persona: de qué trabaja, cuántas horas trabaja, si trabaja de día o de noche; porque el uso de cannabis también interfiere en el sueño, vigilia y es importante tenerlo en cuenta. Siempre entiendo el deseo de los pacientes o la necesidad de sentirse bien. A veces vienen sin siquiera tener indicación de cannabis, pero se sintieron bien tomándolo. Entonces, evaluó si es que no le genera ninguna mala interacción o síntoma y lo dejo porque el efecto fue de bienestar y es muy subjetivo, no puedo negárselo. Lo que busco como médica es, si no afecta de manera negativa y beneficia, acompañar y apoyar; porque la subjetividad la tengo que respetar, es el respeto de la autonomía del paciente.

- ¿Qué tipo de patologías o sintomatologías pueden tratarse con cannabis?

Yo no hablo de patologías. Son síntomas de ciertas patologías. Está bien la pregunta, porque siempre es sobre qué patologías se pueden tratar con cannabis y en realidad son síntomas. Por ejemplo, no es que el Mal de Párkinson lo trato con cannabis, yo trato ciertos síntomas que generan malestar en este paciente, ayudo a que disminuya el temblor, a que mejore su estado de ánimo; ya que en realidad el Parkinson se trata con medicación alopática. En algunos casos sí, por ejemplo en epilepsia refractaria, donde puedo mejorar las convulsiones que genera. En la diabetes no trato la diabetes en sí, lo que trato es el dolor neuropático, es decir el dolor que produce. Esas son muchas de las situaciones más frecuentes; lo uso para dolor neuropático, las lumbalgias, dolor cervical, las hernias de disco. Los pacientes con artrosis también consultan mucho. No tiene tratamiento porque es un envejecimiento normal de los huesos,

entonces la consulta es en realidad porque esa artrosis le comprime los nervios y le genera un dolor neuropático. En los pacientes con migraña, que en realidad son pacientes ansiosos, muy tensos; el cannabis logra que se relajen y ayuda a no tener tantas crisis. Los pacientes que veo que tienen mayor mejoría son aquellos con fibromialgia, que genera mucha invalidez por dolores musculoesqueléticos generalizados, insomnio, depresión, ansiedad. En ellos se ve realmente un impacto muy positivo del uso de cannabis, así como en aquellos que padecen neuralgia del trigémino, que es también muy invalidante. Mi orientación, más allá de la clínica, es hacia el tratamiento del dolor y lo que está demostrado es que el cannabis sirve mucho para eso y los cuidados paliativos.

- ¿Cómo se definen los cuidados paliativos y cuáles serían sus alcances?

Lo paliativo es el tratamiento que se da cuando algo no tiene cura y genera una disconformidad en tu vida. Yo no te puedo curar tu diabetes, pero si tratar los dolores que te genera tener diabetes, sobre todo en los pies. Si sacamos ese malestar que influye en no poder caminar, no poder dormir, que genera insomnio, irritabilidad, depresión y ansiedad, mejora mucho el estatus general de un paciente. Salí de la Facultad queriendo curar, queriendo salvar vidas; y después me di cuenta de que la gente se moría muy mal, con mucho dolor. Entonces orienté mi formación para poder brindar "un buen morir" porque entendía a la muerte como un hecho natural, pero que no tenía por qué ser de mala manera. Me oriente al paliativismo, es decir, inevitablemente todos nos vamos a morir; pero de qué forma nos vamos a morir es lo que marca la diferencia.

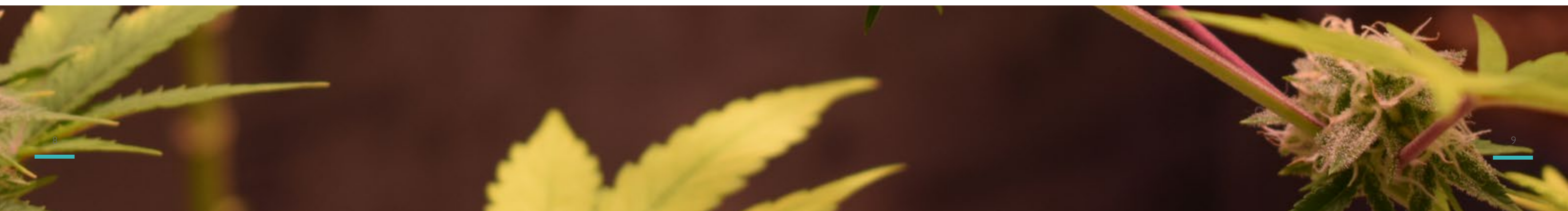
El cannabis como herramienta terapéutica paliativa es excelente porque te mejora la calidad de vida. Muchas medicaciones parecen que tienen efecto mági-

co, pero es porque te sentís tan mal y de repente te sentís bien y decís "esto es magia". Por ejemplo, en lo personal mi estabilización de la enfermedad de Lupus fue como mágica, aunque yo jamás le di el valor mágico al cannabis. Le doy el valor que tiene, me mejoro y está buenísimo si ayuda a pacientes, pero no existen los efectos mágicos porque no es real.

- ¿Cuál es su experiencia en tratamiento de pacientes con dolor?

El paciente con dolor es, para mí, la consulta número uno de cannabis. Realmente es bastante efectivo combinado con la medicina tradicional y permite que los pacientes mejoren mucho la calidad de vida sin tanta toxicidad. Existe numerosa medicación tradicional que, habitualmente genera muchos efectos adversos que la gente ni sabe; como algunos analgésicos de venta libre que dañan el riñón. Lo que me ha servido a mí es que dejen de tomar tantos analgésicos que son tan malos en algunos casos, para tomar cannabis y estar bien. Existen cuatro escalones de analgesia. No es que vamos subiendo al primero y después al segundo, sino que utilizamos el escalón según el grado de dolor: si es fuerte usamos opioides, morfina, metadona, si es leve usamos paracetamol; pero por suerte el cannabis entra en los cuatro escalones de la organización mundial de la salud.

En realidad, aunque no hay muchos estudios realizados, el cannabis tiene un metabolismo hepático y entonces si utilizas muchos medicamentos que tengan que ser metabolizados por el hígado compiten entre sí o puede aumentar o disminuir el efecto a la medicación tradicional. Por ejemplo, hay anticonvulsivos muy utilizados al que el cannabis le saca ese efecto, entonces ahí pueden llegar a competir y generar en un paciente convulsiones usando cannabis. Otro ejemplo son los anticoagulantes, aunque todavía no se conoce bien porque no hay estudios realizados al



“
El paciente con dolor es para mí la consulta número uno de cannabis. Realmente es bastante efectivo combinado con la medicina tradicional y permite que los pacientes mejoren mucho la calidad de vida sin tanta toxicidad
”

respecto. Hay pacientes que usan también inmunomoduladores y es probable que el cannabis compita con algunas medicaciones oncológicas, como contaba la Dra. Cristina Sánchez en el último Congreso de Cannabis; por lo cual a veces es mejor no utilizarlo para que no existan problemas de interacciones medicamentosas y no bajemos el efecto de la medicación. En realidad son contraindicaciones parciales, que en lo particular y creo que Marcelo también, cuando utilizan anti-arrítmicos no lo recomendamos, porque nosotros no tenemos un producto estandarizado por ahora con el que podamos decir tantos miligramos por kilo de peso. Ese es un problema que hemos afrontado todo este tiempo, nos hemos manejado con aceites que no tenemos certeza de su composición.

- ¿Cuál es la situación que se genera en el uso de cannabis sin acompañamiento médico?

En realidad, para mí, el uso de cannabis tiene que ser bajo control médico. Pero, si no es así, le diría a la persona que lo hace sin supervisión que tiene que usar dosis mínimas, muy pequeñas y comenzar con un uso nocturno; porque uno no sabe lo que puede llegar a generar en el cuerpo. Pero tiene que ser con acompañamiento médico, no puedo decirte que, recomiendo el uso de cannabis medicinal libremente, como por ejemplo las cremas que sí las puede utilizar todo el mundo. Muchos pacientes míos se han descompensado con uso de cannabis, entonces yo soy muy cuidadosa, no recomendaría sin asesoramiento, no te digo el seguimiento, pero un primer acercamiento que diga “tengo esta patología, y uso estos medicamentos ¿puedo usar cannabis?”, después no necesitas estar bajo la asistencia permanente. Todos se resguardan con que es una planta natural, pero el opio también y la aspirina, y tienen su toxicidad y sus efectos adversos. En todo este tiempo recorrido te puedo decir que no recomendaría la au-

tomedicación. Se que esto ocurre, los pacientes se sienten muy mal, no se sienten acompañados, hay una planta que dicen todos que es muy buena, que genera bienestar y nadie les va a decir qué tomar, ni cómo, ni qué dosis. Entiendo que suceda, pero desde mi lugar médico no lo puedo compartir.

Nosotros no hemos podido generar ni la evidencia ni las guías de dosificación, porque en realidad no contamos con un producto estandarizado. El día que lo tengamos, quizás se puedan hacer las guías. Eso es lo que nos pasa siempre cuando hacen un curso en formación en cannabis con nosotros,

quieren que enseñemos a dosificar y en realidad depende según lo que tengas delante y la mayoría de las veces no lo sabes. Es como a prueba y error, según lo que te van contando, como te va diciendo que se siente el paciente y a medida que evaluás la respuesta es como vos continuas el tratamiento.

- ¿Cómo se imagina los procesos para llegar a esos productos estandarizados?

En realidad cuando se llegue a acomodar el uso, con la reglamentación, la ley, la cuestión política, hay que hacer un ordenamiento muy claro de todo. El producto estandarizado saldrá de donde tenga que salir: de las organizaciones civiles, de los cultivadores solidarios, de la persona que autocultiva, de la industria farmacéutica. Pero tiene que ser controlada, que uno sepa, por cromatografía o por lo que sea, con qué producto cuenta. A partir de ahí tiene que formarse el personal de salud muy bien para poder ayudar, asistir; o generar guías de dosificación de acuerdo a los productos que encontremos, que estén estandarizados. Entonces a partir de ahí decir, “este producto se dosifica de esta determinada manera” pero para eso tenemos que generar evidencia científica, y todo lo que nos falta. Nos tiene que acompañar la ley, porque acá va avanzando un montón, pero siempre es como que la corremos de atrás. Para mí, tienen que



participar todos los actores que hasta este momento fueron parte de esto. El Estado presente tendría que asistir al autocultivo, a las organizaciones civiles, a los cultivadores, si quiere entrar la industria farmacéutica, las facultades. Pero el punto común que no se puede perder de vista es el paciente, su mejoría. Todos esos actores apuntados para darle a ese paciente aquello que requiere para un síntoma; y que él pueda elegir de dónde lo toma, dónde se trata y tener un seguimiento como corresponde, médico o del profesional de salud que sea necesario. El producto tiene que ser seguro. Yo entiendo lo que exige ANMAT, porque hay que tener seguridad; si bien nadie se murió por cannabis, si existen interconurrencias por cannabis.

- ¿Qué le diría a los profesionales que abordan temas de cannabis?

Lo que quiero transmitir es la necesidad de continua formación. Las personas que decidimos entrar en la temática nos tenemos que estar formando todo el tiempo, actualizándonos, porque todavía se desconoce un montón y es una necesidad que los pacientes nos plantearon hace un montón de años. Nosotros tenemos que estar a la altura de las circunstancias, ocuparnos de mejorar su calidad de vida. Es estudiar, investigar, generar protocolos de investigación, generar evidencia, que tanto se nos exige. No decir un NO por un "no" mismo, ni tampoco un "Si usa cannabis porque es una planta", sino formarnos. Ojalá se incorpore como materia en pregrado en todas las facultades y que las nuevas generaciones ya salgan formadas.



PASTELERÍA CON ONDA



holymary.cakes

EL QUINTO ELEMENTO

de Kobunko Loza

Kobunko Loza es uno de los hijos del “Profe Loza”, un mítico cultivador solidario de cannabis de la Ciudad de La Plata que ha tenido una gran influencia en el movimiento cannábico en ese territorio. A continuación, nos relata en primera persona la historia de su padre y de la cepa de cannabis “Quinto Elemento”.

El Profe Loza arrancó su “investigación” –sin saberlo- con la abuela Zulema, su mamá, que tenía asma. Papá y el tío Gustavo, que en esa época eran adolescentes y como tales querían salir más que nada al mundo, pero por esta razón no lo podían hacer. No había posibilidades. Era todo un tema porque, más que nada por las noches, tenía crisis serias y había que inyectarla; cosa que no era para nada fácil porque de tanta inyección se había empezado a complicar encontrarle la vena. ¡Hasta que un día cayó una vecina con una plantita y le dijo “tomá! usa esto para el té que se le acaba el asma y va a dormir toda la noche” (en realidad, la infusión no era precisamente un té sino una tizana)

Le hicieron el “brebaje” y... ¡PUM! ¡durmió toda la noche!!

Veían que no tenía problemas, que evitaban inyectarla, entonces El Viejo se lanzó a investigar de qué se trataba.

Era insoportablemente curioso, entonces comenzó a buscar que era esa planta y a leer libros egipcios, aztecas y todas esas cosas. Mientras tanto, con la abuela bien, podían salir y moverse si tener que estar pendientes ni preocupados. ¡Solamente con una

infusión! ¡MAGIA! De hecho, con Mamá, empezaron a ver de qué se trataba y secaban la planta en una plancha churrasquera y a probar en ellos mismos los efectos porque no tenían ni idea de qué era ni lo que provocaba.

Aparte en ese momento no había nada de información porque decir marihuana era lo mismo que ir preso. En ese momento los chicos, mis hermanos, eran súper chicos y él estaba estudiando ingeniería, a la vez que trabajaba en Marva (una de esas empresas que hacen lavarropas automáticos para los lavaderos). Te digo más; tuvo un rol importante en la creación y el diseño de los lavarropas horizontales (novedosos en aquella época) a tal punto que se lo llevaban a Brasil a dar seminarios.

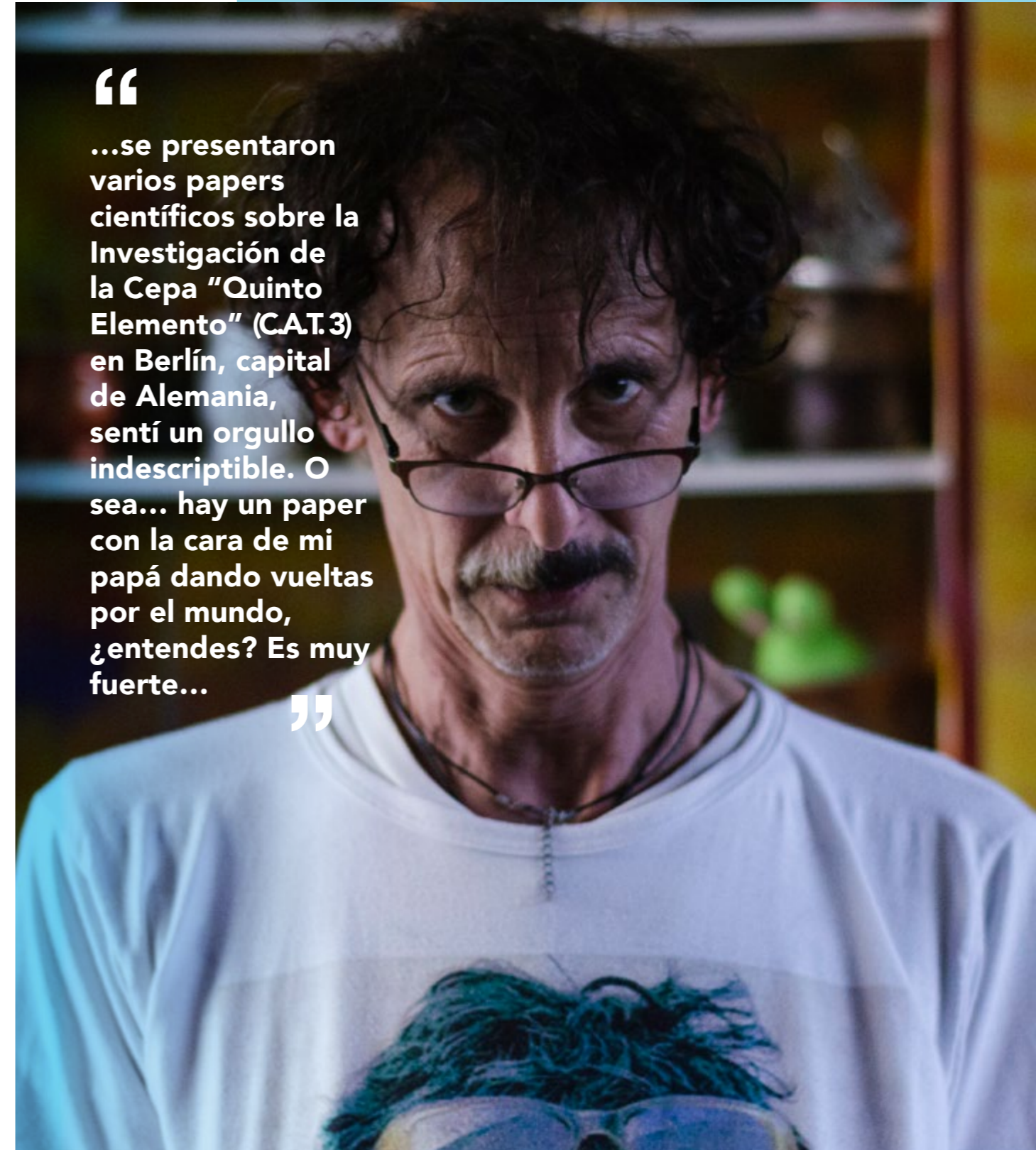
¡El tipo era un GENIO! ero siempre se manejaba “en negro”. No se llevaba para nada bien con los papeles ni con la formalidad.

Pasó el tiempo, fallecieron la abuela y Gustavo, y a él en el 2001, cuando apenas tenía cuarenta y pocos años, le detectaron una Hepatitis Múltiple Agravada. En el diagnóstico le decían que podía llegar a “durar” hasta 8 años aproximadamente (cuidándose y sometiendo a tratamientos experimentales) o, en el caso

“

...se presentaron varios papers científicos sobre la Investigación de la Cepa “Quinto Elemento” (C.A.T.3) en Berlín, capital de Alemania, sentí un orgullo indescriptible. O sea... hay un paper con la cara de mi papá dando vueltas por el mundo, ¿entendes? Es muy fuerte...

”



en que decidiese seguir con la vida que llevaba, podía llegar a “vivir” de 3 a 5 años como máximo. ¡Era una vida normal digamos... con la pequeña diferencia de que tomaba cerveza como loco... en eso era un descontrol! (risas).

El Viejo a pesar de saber que su existencia, por decirlo de alguna manera, tenía “fecha de vencimiento”, en vez de ir para atrás o dejarse caer renunció a los laburos y se dedicó solamente a arreglar heladeras y lavarropas en casa. Y cuando se juntaba algo de plata la usaba para irse de viaje. Es decir: ¡decidió VIVIR en vez de DURAR!

Más tarde se acordó de la plantita de la abuela y retomó sus investigaciones dentro de lo que se podía (en realidad en esa época no se podía hacer nada relacionado con cannabis). Pero estaba muy atrapado con algo que descubrió de los egipcios que era cómo potenciar los elementos. Por ejemplo, el carbón bajo la presión de la montaña hace un giro molecular que lo convierte en diamante. Entonces se dijo “si someto cosas al vacío, no solo las voy a preservar para que no se llenen de hongos, sino que también se van a potenciar sus propiedades. No solo se conserva sino también se potencia el elemento” y se enganchó a fondo con eso. Empezó a sembrar en casa, le trajeron del sur unas plantas y comenzó a cruzarlas. Nunca se quedó quieto.

Comenzó a fabricar aceite y tinturas cannábicas que al principio probaba en sí mismo para analizar en carne propia los efectos. Él decía que “antes que experimenten conmigo los médicos y los científicos prefiero ser mi propio Cobayo o Conejito de Indias”. Al ver que la enfermedad que tenía había frenado su avance, empezaron a acercarse personas con distintas patologías a probar los productos que elaboraba. Ahí vio que había resultados muy positivos y se dio cuenta que esa información no se la podía quedar para él solo.

Ahí nace la idea de “QUINTO ELEMENTO”.

Entonces, junto a Pablo “Cámara” Mansilla, empezaron a armar algo que los representa y los identifica muy fielmente en una manera de ser y de vivir. Pablo es un groso muy groso en todo lo que tiene que ver con filmar y componer imágenes con música under. A ellos se les sumaron Rolf “el Desayudante”, Fede “el Escriba”, y otros tantos como “el Ruso” Platz, Diego “el Inyenero”, Prun “Dubai”, “el Bicho”, “el Primo”, el “Paysa” y un innumerable desfile de personajes y colaboradores eventuales. ¡QUINTO son ELLOS! ¡QUINTO somos TODOS!

Así arrancaron. Explicando detallada y entretenidamente desde cómo se trata la tierra para plantar hasta como conservar lo cosechado. Tuvieron tanta difusión que, al poco tiempo, se dieron cuenta que esa información servía para salvarle la vida a alguien con cáncer. Ahí se volvió famoso. Tenía cantidad de seguidores. Un youtuber a los 45 años. Lo reconocían en la calle, a casa –nunca se cerró la puerta con llave- iban y venían amigos, “fans”, personas a hacerle consultas o a pedirle aceite, lo llamaban a dar conferencias, charlas, talleres, le escribían de Francia, Holanda, Latinoamérica... Una locura lo que pasaba. Era un “gurú” audaz en medio de un contexto prohibicionista y violento. Sobre todo le gustaba mucho ir a dar charlas en la Agrupación Cultivo En Familia porque decía que había “muchas viejitas con ganas de preparar su propia medicina o para algún familiar porque no encuentran solución a sus dolores en la medicina tradicional”. Era tanta la gente a la que le hacían bien sus preparados que pensó “con una sola cosecha por año no me va a alcanzar” así que se propuso someter plantas y semillas al frío del invierno para tener continuidad y cosechas más veces en el año. ¡Y lo logró!

La cepa “Quinto Elemento” arranca a partir de la combinación de plantas provenientes del sur, mezcladas con unas AK 47, más unas Black Widows y otras especies locales. Una vuelta le mandaron una semilla de España, la Monkey, pero no la plantó porque decía que ya había una semilla local en circulación y que, esta última, estaba adaptada a las condiciones de este hemisferio. Él generó de todo eso una semilla de una planta que funciona: ¡“La Quinto”!. Que atendía las necesidades tanto del “fumón” como de quienes sufrían una variedad súper diversa de patologías. Que tenía altos los niveles de TODO. “La salud no tiene precio. Esto tiene que ser gratuito. Es como la sabiduría: se comparte”.

Todo lo que ganaba lo invertía en insumos porque tenía la teoría del Doctor Favalaro, cuando era médico Rural, que curaba a una nena y si la familia no tenía recursos le retribuían sus servicios dándole una gallina o lo que la gente podía darle en lugar de plata. Pero él ponía guita de su laburo arreglando heladeras para llevar adelante sus proyectos. Vivía del trueque. Fue su filosofía de vida. En determinado momento alguien llegó a regalarle una moto eléctrica porque Papá no le quería cobrar nada. ¡Una cosa de locos! Venía acá, a mi casa, casi todos los fines de semana

INCUBO

Grow-tech

Somos un equipo de profesionales que ofrecemos soluciones personalizadas para el desarrollo de proyectos del sector cannábico, uniendo a las comunidades, el medioambiente y la economía para definir beneficios a gran escala.



DESARROLLO DE PROYECTOS
Guía estratégica, planificación para producción



CONSULTORÍA
Regulación, adecuación normativa, compliance



ASESORÍA - SECTOR PÚBLICO
Organismos del Estado



INTEGRACIÓN
Asociaciones Civiles, ONG's, Clubes



PLANES DE NEGOCIOS
Start Ups, PYME's, inversiones

a bañarse porque él apenas si tenía un calefón eléctrico. Una de sus bromas favoritas era: “¿conocen el agua? porque yo no!” (risas).

Un día me cuenta que metió al vacío unas flores en un frasco de vidrio de esos de aceitunas y las pasó de secado casi al punto de deshidratarlas. Se las dio a los catadores que con darle dos pitadas ya “se colocaron”. Pero, inquieto y curioso cómo era, no se quiso quedar solamente con eso y volvió a someter al vacío esas mismas flores junto con cáscara de varios cítricos para hidratarlas y ver cuál era el efecto. Al tiempo volvió a abrir el frasco y se las dio a sus catadores pero, esta vez la ronda fue mucho más corta: “una pitada y PUM!”. Y de esa situación se le ocurrió desarrollar la Unidad de Medida “El Tereso” como una forma de determinar la potencia de las distintas plantas. También creo licor de cannabis conocido como “Tía Marija”. Te aparecía con esas cosas, nunca le importó la plata por eso vivió y murió como un indigente.

La detención

Una mañana escuché en la radio que habían detenido a un cultivador y dije ¡Chau! ¡Se la pegaron a Papá!”. Era el 18 de mayo del 2018. Esa misma mañana, al instante que apareció la noticia, ya había una movida de un montonazo de personas en la fiscalía reclamando por él. Yo no sabía qué hacer. Imaginate... El diario El Día subió un título amarillista diciendo que era “el primer laboratorio narco de cannabis”! un disparate! pero fueron tantos los comentarios defendiendo al Profe que le reventamos las redes y tuvieron que bajarlo. Se armó una red en donde activamos con la gente de Cultivo en Familia, Casa Lumpen y una cantidad impresionante de seguidores, admiradores y personas a las que ayudaba con aceite y productos o que simplemente lo querían por ser un buen vecino y salimos a desmentir y a hablar con todos los medios, tanto locales como nacionales. Nos llamaban y nos mandaban móviles. Mauro SZeta, Telefe Noticias, Somos la Plata, El Dueño Del Circo, el cineasta Julián Caneva, músicos, nenes, nenas, abuelas, artistas, diarios, radios, canales de tv, de internet... Eran MILES. Me acuerdo que Chiche Gelblum mando un móvil a la esquina de mi trabajo y pensé: “¿Para dónde va a llevar la noticia Chiche?”, porque al ser un tema que divide tanto las opiniones



“
**La salud
no tiene precio.
Esto tiene que
ser gratuito.
Es como la
sabiduría:
se comparte**”

no sabes si te van a bancan o te van a pegar un palazo.

Porque, además, también somos conscientes de que hay mucho loco que, a diferencia del Viejo, usan la excusa del Cannabis Medicinal para traficar lisa y llanamente. Pero éramos y somos más de los que te imagines los que teníamos la certeza de que El Viejo no hacía eso. Por eso nos zambullimos de cabeza. En el medio de esas corridas de acá para allá, me llama un amigo y me dice: “llama a este loco que te puede ayudar” y me pasa un número de celular. Imaginate que, con todo el lio ni le di bola. Cuando liberan a Papá y pudimos acomodarnos un poco después de semejante stress, mi amigo Pancho insiste en que haga ese llamado que termino convirtiéndose en un jugador clave: el Ayudante de la Fiscal de “El Caso Loza” Marcos Vogliolo, ¡un gran amigo! A todo eso ya había salido Papá. Tenía un celu para atender a los medios y otro para la familia porque lo volvían loco.

El Viejo no estaba de acuerdo con reclamar con bombos, banderitas y redoblantes. Decía que eso de “la

marchita” y “hacer ruido” nunca llegaba a nada. Que había que hacer algo que sea más contundente que eso para visibilizar el tema. Fue tan así que puso en juego su libertad y su propio cuerpo por la causa. Siempre supo que iba a ser él el que iba a pagar las consecuencias pero que nadie se tenía que quedar sin su medicina. Y lo consiguió porque, después del caso de Papá, la justicia e incluso la Policía tomó otra dimensión sobre lo que sucede con el cannabis.

Andá y cultivá vos

Loza era un tipo muy inteligente que naturalizó muchas cosas como el uso de la menta, la lavanda, del THC ácido y te daba ejemplos. Una especie de chamán. Abrió la cuestión cannábica a la salud, él quería dárselo a gente que lo necesita.

Estando detenido le pidió a la Jueza que no se destruyan las cosas que le habían incautado y que todas

esas cosas sean donadas al Centro de Investigación del Medio Ambiente (CIM) para que se siga investigando el cannabis. Eso fue el puntapié para tener relaciones más estrechas con el CONICET. En ese sentido, Marcos nos dio una mano muy pero muy grande y lo que es más destacable de su labor es que, al igual que “El Profe”, se jugó TODO (incluyendo su puesto en la justicia) convencido de la necesidad y el bien que hay en esta planta. Tanto así que el 1 de julio de 2020, en medio de la pandemia, logró efectivizar algo sin precedentes consiguiendo que nos dieran el sí al entregarle al CIM los materiales incautados. Y allá fuimos: a “hacer historia”.

Sobra mucho ego y falta mucha gente como como Papá, como Candela Grossi (Presidenta de Cultivo En Familia), como Darío Andrinolo (Investigador del CIM del CONICET) que saben reconocer la diferencia entre narco y cultivador. Pero la militancia es esencial, más aún en un tema prohibido y en donde hay muy poca información. No es fácil. La perspectiva del inconsciente colectivo era (y en muchos casos aún lo es) que si peleas para tener la libertad de cultivar ma-



DESARROLLO DE PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA CANNÁBICA

rihuana en tu casa es porque querés “porrear gratis” y te gritan “falopero” o “drogadicto” como nos pasó en la puerta de fiscalía cuando exigíamos que suelten a Papá.

Eso es lo que él siempre quiso, pero hay gente que no tiene fuerza para abrir una botella y esa gente necesita que la ayuden. El viejo entendió eso. Ahí empezó todo y se dio cuenta que hay gente que precisa que la asistan.

Cuando en la conferencia de cierre del 2do Congreso Argentino de Cannabis y Salud y el 3ero Cannamericano, que se hizo en La Rioja el año pasado, vi a Darío contando que se presentaron varios papers científicos sobre la Investigación de la Cepa “Quinto Elemento” (CAT 3) en Berlín, capital de Alemania, sentí un orgullo indescriptible. O sea... hay un paper con la cara de mi papá dando vueltas por el mundo, ¿entendes? Es muy fuerte. ¡Mi viejo! un tipo del montón que arreglaba lavarropas en un barrio cualquiera, que vivía colgado de la luz, ¡¡llegó a Berlín!! y vieron esas investigaciones y quedaron atónitos!! ¡¡GUAU!! Darío señaló que lo que se necesita es alimentarse del tema porque los que saben son los que cultivan.

El Viejo también quería esto.

Al tipo no solo se le ocurrió hacer una cepa extraña, también nos obligaba con su manera de ser, sentir, pensar y vivir a que no nos bajemos y que le metamos investigación, creatividad, inteligencia, ciencia, cultivos y justicia alrededor de la planta de cannabis. Se logró romper un paradigma para establecer una nueva mirada sobre el tema. Mi viejo tenía la idea de viajar por la ruta y tirar semillas por ahí para que cada uno se pueda servir desde ahí, desde la naturaleza. Saber que uno va por ahí y siente el aroma y ve las plantas de cannabis. Ese era uno de sus sueños.

Tenemos las mismas ganas y el mismo foco que el primer día. El plan es el mismo: que vos, si querés y tenés al menos un “terroncito” de tierra, puedas plantar en tu casa. Que el Estado dé gratuitamente la semilla a las personas que demuestren que la necesitan. La semilla libre y la despenalización de la planta.





CULTIVO EN FAMILIA

Candela Grossi

“
Mi lucha es por la despenalización de la planta y por el presente de la República”



La Sra. Candela Grossi es Presidenta de la ONG Cultivo en Familia; pero fundamentalmente es una mamá que emprendió hace años una lucha sin descanso por alcanzar y defender la calidad de vida y el bienestar de su hija. En este camino se encontró con Daniel “el profe” Loza, el cultivador que generó la variedad “Quinto Elemento” que muchas familias usan hoy en nuestro país. Este recorrido convierte a Candela en una de las referentes de las ONGs dedicadas al cannabis terapéutico; actores fundamentales del desarrollo de este tema en Argentina. Hoy comparte con nosotros su experiencia, el trabajo realizado y las perspectivas a futuro.

- ¿Cuál es su relación con el cultivador Daniel Loza y la cepa de cannabis “Quinto elemento”?

Mi primer momento con el profe Daniel Loza fue luego de una pelea en una de las charlas que teníamos con la organización Cultivo en familia. Entré prepotentemente y dijo “si quieren flores cultiven” y, como si fuera Mirtha Legrand, se sentó en la cabecera. Yo pensaba, “no me interesan tus flores”. No sabes lo que es ver cómo tu hijo sufre y se da contra la pared. Primero hay que escuchar lo que sucede con esas personas. Yo no tenía contacto con la marihuana en ese momento. Cuando empecé a usar las del viejo (Loza) ahí la relación comenzó a cambiar y él me lo hizo saber. A los días me dijo que me valoraba porque fui la única persona que lo frenó. “Usted se ganó

mi respeto, Doña” me dijo.

Cultivo en Familia nació por Rodrigo Platz, el ruso. Lo conocí el 8 de diciembre de 2016, cuando me enseñó a fabricar aceite para Caro, mi hija. Cuando nos dieron su diagnóstico, le escribí a mi cuñado y le dije que se fije, ya que andaba por el sur, si conseguía aceite de cannabis para traer que podría llegar a servir. Quería probar con mi hija. A las horas, vino mi marido y dijo que lo prepare yo. Me descompose, no lo podía creer. Mi cuñado, por su parte, me avisó que le escriba al ruso Platz y que no le escriba a nadie más. El me pidió fotos de la planta y me confirmó que se podía hacer aceite con eso. Mi mamá compró una caja de alcohol de cereal y la pusimos en el freezer con las flores. Ese día, El Ruso vino a la casa de mi mamá sin conocernos en persona; ahí nos conocimos y nos pusimos a cocinar. En ese momento me comentó que tenía ganas de institucionalizar lo que estaba haciendo y me preguntó si tenía ganas de acompañarlo, pero yo estaba con otra organización, Mamá Cultiva Argentina.

En enero de 2017 se hizo una reunión y se tomaron varias decisiones con las cuales no estaba de acuerdo, y le dije finalmente al ruso que vayamos para adelante, pero le advertí que no sabía nada. En marzo del 2017 empezamos. Se reunían familias y él llevaba aceite para probar. La gente se acercaba en desesperación y necesitaba contención. Es increíble el cambio, porque la gente se sienta en el consultorio con el gotero en la mano. Cuando le conté al neurólogo de Caro se sorprendió y me dijo que no había pruebas científicas respecto al cannabis. Le respondí que los resultados él mismo podía verlos frente a él. La realidad es que los médicos hacen un gran negocio con todo lo que pasa, es todo un negocio para el que tiene un título o tiene plata.

- ¿Cuál fue su experiencia con el cultivo, el aceite y su uso?

Usaba otras dos cepas y “Quinto elemento”. A veces metía otra más, pero usaba cepas altas en THC y la reacción era: “Wow, ¿Cómo le vas a dar esa droga a tu hija?”. Yo, como mucho, le daba una o dos gotas no más de dos veces por día de un aceite alto en THC. En el 2018 la Defensoría del Pueblo me ayudó a través de un recurso de amparo que salió incompleto en 2019, porque obligaba la provisión por parte del Estado de variedades y genéticas enumeradas en el amparo pero no me otorgó el autocultivo para mi hija.

Fue innovador. Tenía solamente una nota de Darío Andrinolo, Investigador del CONICET, sobre cómo funcionaba el cannabis de manera directa e indirecta en el sistema vanilloide; la historia clínica de la psicóloga, otra de la psiquiatra, una historia clínica del neurólogo, una carta mía y los estudios de Caro, mi hija, certificando que ella no tenía daño cerebral. Todo muy escueto porque solo había quince hojas para presentar.

Apelamos el fallo y entró en acción la Defensoría Pública de la Nación, con Pablo Ordóñez como representante de la nena y asesor legal mío. Ahí es cuando el recurso de amparo llega a la Corte Suprema de Justicia de Nación. Luego fueron dos años más de idas y vueltas donde mi recurso de amparo que no tenía filtración alguna generó que no sepan qué contestarme desde, por entonces, la Secretaría de Salud de Nación. Un recurso de este tipo necesita una resolución de 48 horas como máximo y lo patearon dos años.

Hoy estoy inscrita en el REPROCANN (Registro del Programa de Cannabis), pero también lucho por levantar la prohibición del aceite. Como entidad estatal podrían proveerlo, pero la Corte se pone tibia y no termina de aprobar.



- ¿Cómo llegaron a hacer alianzas con otras organizaciones sociales y la Universidad?

A Darío Andrinolo lo conocí en 2017 por medio del ruso Platz, previo al Primer Congreso de Cannabis; pero la vinculación de Cultivo en Familia con la Universidad comenzó por el Congreso. Ahí arrancamos a compartir espacios y también a intercambiar ideas. No me olvido más de una clase de posgrado con Darío, que habló del sistema endocannabinoide y del sistema vanilloide. Son un montón de cuestiones que venía investigando con mi hija y todo eso me quemó la cabeza. Quedé re-flasheada y cuando arrancamos con el recurso de amparo le pedí a Darío que me haga el informe que presenté. Darío venía investigando las plantas de cannabis haciendo mediciones y ya estaba inmerso en este tema. Desde el 2017 arrancó el cultivo universitario, pero al año siguiente fue tomando forma y se conformó el equipo.

- ¿Cómo vivió la detención de Daniel Loza?

El 28 de mayo de 2018 comenzaron los allanamientos y detuvieron a Daniel Loza. Él sabía que alguien iba a caer, y estaba convencido de que iba a ser él. Yo le dije que, si lo tocaban, yo iba a estar; pero él nos echó a todos como una manera de cuidarnos. Cuando lo allanaron fue tremendo, no esperábamos tanta repercusión. Llegaban mensajes de madres diciendo que lo tenía merecido por vender marihuana. Fue un momento horrible. Cuando el 22 de mayo salió dijimos "listo, tarea cumplida." El día de la excarcelación había gente que salió a bancar y que conocía su trabajo. Gente de barrio que se acercaba y decía que era un laburante y que ayudaba a los vecinos. Era muy querido por la gente y eso se vio el día que lo excarcelaron. El movimiento unido logró que lo liberen, Daniel era transparente y cuando la jueza le dijo que no cultive más, él le hizo caso. Pero esa fue la primera palada para enterrarse él mismo. Las plantas eran su vida porque todo el tiempo pensaba qué podía hacer, mostrar o innovar para mejorar la extracción. Era una maquinita.

El viejo estuvo cuatro días y pudo salir a caminar por la calle. Esos fueron los primeros contactos con grandes medios que se interesaron por cómo estaba mi hija, mientras que al viejo lo entrevistaba la jueza. Destaco la empatía de Mauro Szeta (periodista) porque tiene un nieto con autismo, me sentí contenida.

Lo digo porque no es fácil ponerle el cuerpo a los medios porque siempre llegan cascotazos de todos lados.

- ¿Cuáles son los desafíos de los cultivadores?

Las presiones comenzaron cuando el Secretario del Procurador de la Provincia de Buenos Aires nos dijo a las madres de las agrupaciones que teníamos una ley, pero la ley era acotada. Siete mujeres le dijimos que íbamos a seguir cultivando hagan lo que hagan porque queríamos darle nuestro aceite a nuestros hijos e hijas. El procurador se fue boquiabierto y se dio cuenta que no íbamos a dejar de cultivar.

Una vez me contactaron porque habían detenido a un chico que fabricaba aceite para la abuela que tenía cáncer. El ayudante de fiscal en ese momento



se contactó con la policía y les pidió que antes de proceder verificaran que la historia de la abuela era cierta. Y así fue. Con mucha emoción supimos que ese chico pudo seguir adelante con su cultivo sin REPROCANN porque en ese momento no existía. También tenes que tener en cuenta eso, como en el caso de Damián Raña.



En el caso de Arceli Rea, que también fue conocido, el CIM (Centro de Investigaciones del Medio Ambiente) le midió los aceites para que los tuviera al día. Además, mientras se armaban estrategias mediáticas, me senté a hablar con el fiscal Marcos Vogliolo y le dije si ese chico convulsionaba la responsabilidad era toda suya. A los cinco días salió la resolución de la devolución de las plantas, y ¡Regadas!

- ¿De qué manera se relacionan con la CAT 3?

El cuestionamiento del que tanto hablan y les encanta, es que el quinto elemento no tiene patente de obtentor. Por ende, no hay comercialización; el que necesite la cepa, que la pida.

Tenes que comunicarte con nosotros, que semillas siempre hay. Es la primera semilla que se registra a nivel latinoamericano. Una vez que quedó el legado de Loza, nosotros tenemos que mantenerlo, sostenerlo. El objetivo sigue siendo el mismo, que la gente se empodere y cultive, pero también contemplamos el no querer hacerlo. Es un derecho. Uno quizás tampoco pueda, no tenga tiempo o no quiera aprender. Y para eso también hay solución. Cultivo en Familia contempla ambas situaciones y ahí funcionamos como "ayudantes a la causa." De todas maneras, la

gente termina cultivando. Eso me llena de orgullo porque terminan finalmente queriendo aprender o pidiendo esquejes.

- ¿Cómo continúan sus acciones como organización?

Es muy loco pensar que hasta tuvimos reuniones en la Facultad y ocupamos espacios académicos. Te das cuenta de lo cuadrada que es la academia, es una cuestión natural ya que vivimos en una cultura verticalista. No puedo criticarlo, pero puedo decir que hay muchos profesionales de toda índole que no entienden de lo que hablan cuando proponen una alternativa. En la universidad te dicen "si no se puede medir, no sirve" pero hoy me doy cuenta con mi emprendimiento y con perfeccionamiento en la UBA (Universidad de Buenos Aires), que el método científico no calza por ningún lado en lo que es la comunidad. No es solamente hablar de cannabis, sino que hablamos de plantas en general. Hago perfeccionamiento en cosmética natural y eso abarca un montón de plantas. Necesitamos profesionales que se pongan en los zapatos de la persona que tienen al frente. Por eso valoro mucho al neurólogo de Caro, siempre acompañó y se puso en nuestro lugar. Desde, Cultivo en Familia tenemos la posibilidad de tener este

vínculo estrecho con el proyecto "Cannabis y Salud" de la UNLP. Los pibes son el futuro y el presente porque muchos hacen sus tesis sobre cannabis. Mi lucha es por la despenalización de la planta y por el presente de la República.

Es maravilloso todo esto que se está gestando. Que termine un taller y venga un biotecnólogo a decirte que lo que escuchó está buenísimo y te dice que hay que agendar lo que uno sabe, nos llena de orgullo.

El Congreso del 2017 de inter-facultades, fue libre, gratuito, con personalidades de todo el mundo; donde estuvieron presentes funcionarios nacionales, personas que creíamos inalcanzables y hoy estamos trabajando con ellas. Nunca me imaginé esto, era totalmente impensado. Tenía la certeza que el recurso de amparo de Caro tenía que ser algo concreto, sencillo, entendible, para lograr un fin que era la despenalización. No se logró eso porque seguimos luchando contra esa ley, pero entramos al INASE (Instituto Nacional de Semillas). Es muy loco que el responsable del REPROCAN le diga a la Ministra de Salud "una mamá utiliza una semilla autóctona. Eso debe estar en el INASE porque es una semilla nacional!" Siento que la industrialización invisibiliza la lucha, porque hoy los actores que están como referentes quitaron el respaldo a un trabajo previo. Se sorprenden porque la Universidad resta apoyo a estos equipos, pero tampoco hacen nada para cambiar la situación. Mientras hablan de la lucha histórica detrás de esto nos cierran la puerta cuando tienen que hablar de Daniel Loza, el primer muerto en la historia por cannabis porque a él lo mataron los 3 poderes: ejecutivo, legislativo y judicial. Todo esto me duele porque no saben lo que hay detrás y hoy están haciendo un montón de cosas que ya se hicieron antes. Nosotros pusimos el cuerpo y ellos se llevan todo lo demás.

El THC no mata a nadie y nuestra piel tiene un sistema endocannabinoide propio, por eso queremos que se investigue, que se eduque, que nos dejen vivir. Más de un cultivador vive gracias al aceite de cannabis. Es hora de cambiar las políticas de droga en la Argentina, están 20 años atrasados en la política de derechos.



“
El objetivo sigue siendo el mismo, que la gente se empodere y cultive, pero también contemplamos el no querer hacerlo. Es un derecho... Cultivo en Familia contempla ambas situaciones y ahí funcionamos como "ayudantes a la causa".
”

ÁMBITO CIENTÍFICO

Graciela Ponessa
y María Inés Mercado

Desde la sanción de la ley 27.350 de INVESTIGACIÓN MÉDICA Y CIENTÍFICA DEL USO MEDICINAL DE LA PLANTA DE CANNABIS Y SUS DERIVADOS cada vez más grupos de investigación dedican sus esfuerzos a estudiar diversas aristas del Cannabis. Las Dras. Graciela Ponessa y María Inés Mercado son Investigadoras del Instituto de Morfología Vegetal del área de Botánica de la Fundación Miguel Lillo (Tucumán) con reconocida trayectoria en el estudio de plantas medicinales. En esta entrevista nos cuentan cómo se acercaron al Cannabis y como avanzaron desde el Jardín de la República en este tema.

¿Cuál es su experiencia y trayectoria con relación al cannabis?

María Inés Mercado (M.I.M.): - A través de la doctora Ponessa hemos llegado al Cannabis terapéutico. Ella tenía la necesidad de saber sobre esta planta de la que en Tucumán se hablaba muchísimo. Había gente interesada que llegaba al laboratorio donde trabajamos, en el Instituto de Morfología Vegetal del área de Botánica de la Fundación Miguel Lillo (Tucumán), donde nos dedicamos a la botánica taxonómica y ciencias básicas, nos especializamos en la identificación y la investigación de muchas otras temáticas relacionadas a las plantas y sus usos. Muchas veces, cuando hay dudas sobre cuestiones botánicas, llegan a nuestra puerta personas con diferentes intereses, nos solicitan información y preguntan sobre productos seguros de Cannabis.

Graciela Ponessa (G.P.): - En mi caso, hace unos años atrás tuve una neuritis intercostal, fui al médico y lo primero que me receto fue pregabalina. In-

dagué y tenía muchos efectos colaterales, entonces comencé a leer sobre cannabis y la respuesta al dolor, me conecte con gente que estaba preparando el aceite muy caseramente, después fui llevando a que se analice y ahí se abrió el universo del cannabis medicinal.

¿Con quién trabajan y que vínculos han establecido?

M.I.M.: - En una primera instancia Graciela se contactó con cultivadores que hacían productos de forma casera y formó parte de la ONG "Curativa".

G.P.: - Yo después rescindí del grupo, creo que quedan resabios de él y continué el estudio desde la formalidad, desde la academia.

M.I.M.: - Nos hemos vinculado con médicos en Tucumán, que realizaron la especialidad de Cannabis Medicinal en la Universidad de La Plata, con el doctor Morante. Ellos forman parte de la primera cohorte de médicos recibidos egresados en esta especialidad.

G.P.: - Entre ellos el doctor Facundo Álvarez, médico de la Society Cannabis Clinicals; Abigail Grosvald,



“

En el mundo de la ciencia es plantearse una posibilidad y comenzar a probar alternativas. El cannabis tiene esto de la gran ductilidad, la pones en un ambiente diferente y se comporta de formas diferentes.

”

María Inés Mercado (sic.)

médica psiquiatra infanto-juvenil y Agustín Muñoz, médico especialista en traumatología; los únicos que usaban cannabis para algunos cuadros clínicos.

M.I.M.: – A través de todo este interés que había surgido, de conversar con los médicos, de conocer las patologías y la necesidad de las personas que las padecen, se nos ocurrió qué podíamos hacer desde nuestra especialidad en ciencia para ayudar en el desarrollo del cannabis medicinal. Iniciamos un camino de compromiso colaborativo que nos llevó a participar del Congreso Latinoamericano de Cannabis medicinal realizado en Tucumán donde conocimos al Dr. Darío Andrinolo, le comentamos sobre nuestra especialidad en anatomía vegetal y su utilidad como herramienta en otros estudios, para la inscripción de variedades o para determinar aspectos botánicos de la planta que ayudasen a comprender ciertas características químicas. La anatomía vegetal es una herramienta importante para determinar aspectos botánicos de la planta que pueden colaborar en el desarrollo químico.

G.P.: – Viendo la diversidad y la multiplicidad de variedades queríamos indagar si la morfo anatomía podía ser una herramienta diagnóstica de las distintas variedades, confluyendo con las perspectivas químicas, y agronómicas

¿Qué tipo de convenios llevan adelante?

M.I.M.: –En 2019 cuando comenzamos nuestro camino de descubrimiento del cannabis en Tucumán no teníamos establecidas las reglas para el cultivo, a pesar de la existencia de la ley 27.350, en nuestra provincia hasta la fecha no existe ningún dictamen legislativo o de adhesión a la misma. En ese momento tampoco contábamos con las instalaciones necesarias para poder iniciar un cultivo con fines de investigación científica. Sabiendo que en La Plata ya tenían adelantadas las tres Cepas Argentinas Terapéuticas (CAT), le propusimos al Dr. Darío Andrinolo, firmar una carta acuerdo y enviar un becario (el Lic. Cristian Vaccarini) para desarrollar el aspecto anatómico en Tucumán. Pandemia de por medio por supuesto, las muestras llegaron por correspondencia. Encomendados a las energías positivas del universo porque la ley 27.350 era reciente y todavía llegaban noticias de investigadores que tenían problemas legales por intercambiar material para estudio científico.

G.P.: – El material fue enviado con el proyecto incluido y con el conocimiento de las autoridades de ambas instituciones involucradas, el Centro de Investigaciones de Medio Ambiente (CIM) de la Universidad de La Plata y CONICET; y la Fundación Miguel Lillo que firmaron una carta de acuerdo y cooperación mutua para la investigación de cannabis medicinal.

M.I.M.: – La carta acuerdo fue realizada en el marco de dos proyectos vigentes en las respectivas instituciones y amparados (al menos en letras) en la ley 27.350. Entonces nos mandaron los ejemplares femeninos por el momento, de las tres CAT y realizamos el estudio morfo anatómico. Hemos podido determinar que en hojas y flores femeninas hay una correlación entre el rendimiento de metabolitos secundarios (cannabinoides y terpenos), y la densidad de tricomas glandulares, que son los pequeños pelitos que funcionan como biofábricas productoras de estos compuestos químicos como los cannabinoides. Si una de las variedades presenta mayores rendimientos en cannabinoides está directamente correlacionado con la presencia de los tricomas secretores que están presentes tanto en las hojas como en las flores.

G.P.: – También pusimos en evidencia unas estructuras denominadas conductos laticíferos que están registrados en bibliografías, pero no directamente



vinculados a la síntesis de cannabinoides. Había que tener el foco puesto allí, de qué manera se podía extraer cannabinoides de los canales laticíferos que en general son unicelulares, no ramificados, y están siempre en relación con los tejidos floemáticos en tallo y en hoja.

M.I.M.: – Un poco también pensando en economía circular, se nos ocurría que había algo de material que no se estaba aprovechando para las extracciones por lo cual propusimos un estudio histoquímico de esos laticíferos para demostrar que allí también se producen cannabinoides y que son interesantes, ya que son estructuras internas menos expuestas a factores ambientales como la luz y el agua que pueden contribuir a procesos oxidativos, entre otros. Si bien los cultivadores y usuarios de cannabis saben usar todas las partes de las plantas, estamos científicamente lejos muchas veces de poder llegar a comprender cómo llegaron a esas prácticas y nosotros, terminamos aprendiendo mucho de ellos.

G.P.: – A mí se me ocurrió decirle a una amiga que tiene algunas plantas en su casa y procesaba toda la raíz y todo el tallo, trozado, que no haga eso porque hay mucho material que no aporta. “Interesa la corteza por dónde van los tubos floemáticos, entonces quizás, pelando los tallos y pelando la corteza de la

raíz te vas a encontrar con los canales secretores floemáticos y a vos te ahorra la materia y tiempo de extracción porque estarías trabajando con los canales de los laticíferos directamente.”

M.I.M.: – En el mundo de la ciencia es plantearse una posibilidad y comenzar a probar alternativas. El cannabis tiene esto de la gran ductilidad, la pones en un ambiente diferente y se comporta de formas diferentes. No es lo mismo cultivar Indoor, que cultivar afuera donde ha estado expuesta a ataques de insectos, patógenos o algún factor abiótico como una mayor radiación y que por ahí despierta una respuesta inducida en respuesta a ese factor, que no tenías previsto cuándo hacías Indoor y cambia todo tanto para la perspectiva botánica anatómica que es la que vemos nosotros, como a la química que es más importante por el fin medicinal.

G.P.: – Además lo que nos ha interesado mucho del proyecto de Darío (Andrinolo) es que ellos tenían sistematizado el modo de cultivo. Todos los parámetros abióticos y bióticos los tenían estandarizados, es decir que los resultados se podrían repetir si, muestran repetición de condiciones y se podría obtener siempre aceites con parámetros de estabilidad, seguridad y eficacia. ¿Cuáles son los avances en cannabis medicinal?

M.I.M.: – Hemos realizado presentaciones a congresos y estamos preparando un trabajo para publicar que está relacionado a la anatomía y a la histoquímica tanto de las hojas como de las flores. Además, colaboramos con la caracterización morfo anatómica y con la Farmacopea Nacional Argentina. Recientemente se ha creado una categoría nueva de medicamentos a base de cannabis, la cual necesita una monografía de lo que se considera la droga vegetal, que en este caso son las flores femeninas denominadas sumidades floridas. Existe una comisión especial de la ANMAT que está adecuando a la farmacopea la elaboración de la monografía de cannabis como medicamento herbario, con la descripción e imágenes de estructuras anatómicas diagnósticas de flores de cannabis.

G.P.: - En este aspecto se contactó la Doctora Gloria Barbosa, investigadora en el Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal y profesora en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

M.I.M.: – Ahora estamos avanzando con la caracterización de un macho resultado del trabajo de tesis Doctoral del Lic. Cristian Vaccarini (Licenciado en



“Viendo la diversidad y la multiplicidad de variedades queríamos indagar si la morfo anatomía podía ser una herramienta diagnóstica de las distintas variedades, confluyendo con las perspectivas químicas, y agronómicas”

Graciela Ponessa (sic).

Biotecnología y Biología Molecular de la UNLP).

G.P.: – En las plantas macho se ha observado que las anteras a niveles donde se unen las dos tecas (sacos que contienen polen) tienen pelos secretores productores de cannabinoides, entonces es otro dato para tener en cuenta.

M.I.M.: – Un aspecto interesante en los machos, es la viabilidad polínica, es decir, si los granos de polen son viables para realizar la fecundación y producir una progenie. En ese sentido se hacen estudios de viabilidad polínica, que es lo que más interesa en torno a los machos que no tienen tanta concentración de compuestos de interés. En un estudio de mercado no interesa producir un macho más que por la progenie que puede llegar a generar y las características

que se quiere transferir a las mismas para la búsqueda de futuras variedades.

¿Cuál es su relación con integrantes de la comunidad?

G.P.: – Hemos tenido contacto con cultivadores de la región. Hay gente que trabaja muy bien, y que ahora que el REPROCAN ha descomprimido la posibilidad de cultivo, lo están haciendo. Están inscriptos, respetando las normas para poder cultivar en forma seria y más tranquilos.

M.I.M.: – Tomamos contacto con personas que se enteraron de que estamos trabajando en la temática y muchas veces se acercan a preguntar por un interés personal, generalmente por un pariente con una

patología o dolor crónico. Además, se contactaron interesados en producir aceite con fines comerciales, muchas veces se acercan a preguntar de técnicas de cultivos o extracción, por ejemplo, y los remitimos a los cultivadores o químicos que tienen más experiencia. Nuestra perspectiva es desde la ciencia básica. Y sí, muchos amigos y conocidos se acercan a contarnos que un familiar tiene problemas de salud, que está tomando un aceite del que no conoce datos sobre la elaboración y necesitan tener certezas sobre lo que consumen con fines medicinales, en esos casos los contactamos con los laboratorios de análisis químicos. Por suerte en Tucumán contamos con el Instituto de Bioprospección Vegetal (UNT-CONICET) que realiza estos servicios. Ahí está buena la red de información que ha formado la RACME (Red Argentina de Cannabis Medicinal) del CONICET de la que formamos parte, allí se han inscripto todos los laboratorios que brindan servicios de análisis de aceites, y entonces podemos remitir con seguridad para realizar un análisis.

- ¿Cuál es su visión general de desarrollo del cannabis medicinal?

G.P.: – Yo creo que en Tucumán está un poco retrasado, si hay mucho interés de los productores locales. Está el interés genuino de trabajar de forma seria, pero, creo que falta infraestructura en los laboratorios y la pata más fuerte son los que hacen los análisis cromatográficos por HPLC, pero por ejemplo morfológicos estamos nosotros, la universidad de Tucumán de la Facultad de Ciencias Naturales tiene una cátedra de anatomía, y farmacobotánica en farmacia, pero no sé si han incursionado en cannabis

medicinal. Faltan exponencialmente, recursos humanos y tecnología para afianzar los estudios de investigación científica.

M.I.M.: – A nivel político en la provincia nos está faltando algún legislador que tome las riendas y presente un proyecto que respalde la actividad que ya se está realizando, porque hay muchos cultivadores y productores que están interesados en hacer una producción seria y un aceite que pueda llegar a la comunidad. La Ley Nacional ha avanzado un montón, pero nosotros en la provincia no hemos hecho mucho. Está faltando alguna ordenanza provincial que avale un cultivo a mayor escala que no sea solo a través de la inscripción en el REPROCAN y las nueve plantas que se pueden tener como usuario.

- ¿Cuáles son sus perspectivas en este área?

G.P.: – En lo particular yo que ya me jubilé, el único tema que me gustaría seguir trabajando es cannabis. Tengo autorización de la Fundación para realizarlo, pero ya vamos a ver como se plantea en el futuro mediato mi proyección como investigadora formal.

M.I.M.: – Trabajamos en un proyecto global que es de plantas medicinales autóctonas y cultivadas del noroeste argentino y países limítrofes. El cannabis llegó para quedarse como parte del proyecto institucional, surge como una necesidad planteada desde la sociedad.

G.P.: – Está bueno que se sigan realizando trabajos de investigación que mientras más miradas y enfoques multidisciplinares existan hacia el mismo objeto de estudio lo va a acrecentar sin ninguna duda, y todo lo que se estudie en relación al cannabis es un beneficio para todos. Es una planta de uso ancestral.



TRABAJOS CIENTÍFICOS



EFECTO CITOPROTECTOR DE *CANNABIS SATIVA* SOBRE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES HUMANAS.

Julian Gambarte Tudela^{1,2}, Javiera Fontecilla Escobar², Néstor Durán², Patricia Gutierrez¹, Yésica Frontini-Lopez², Sergio Gabriel Rodriguez³, Gastón Álvarez Trentini³, Diego Omar Croci¹, María Celeste Ruete^{2*}

¹ Laboratorio de Glicobiología y Biología Vascular, Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM) - CONICET - UNCuyo. Mendoza

² Laboratorio de Biomedicina de Fitocannabinoides, Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM) - CONICET - UNCuyo. Mendoza

³ Asociación Civil PlantAR Ciencia, La Plata, Buenos Aires.

* cruete@mendoza-conicet.gob.ar

RESUMEN

El uso de cannabis medicinal para el tratamiento de diversas patologías está creciendo sostenidamente al igual que la evidencia que lo respalda. No obstante, gran parte de los datos reportados provienen del estudio de cannabinoides sintéticos o purificados desestimando los efectos terapéuticos debidos a la sinergia entre los diferentes compuestos de los extractos completos de *Cannabis sativa*. Las células madre mesenquimales (CMM) son capaces de promover un entorno regenerativo más allá de su capacidad pluripotencial, promoviendo la restauración tisular y la cicatrización. Sin embargo, su uso presenta grandes desafíos éticos y metodológicos. En este sentido, existe una búsqueda intensiva de opciones terapéuticas que capitalicen los beneficios reparativos de las CMM sin los inconvenientes de histocompatibilidad. De este modo, el secretoma (conjunto de moléculas y estructuras liberadas por una célula) representa un gran candidato ya que conserva muchas de las propiedades regenerativas de las CMM y sin los problemas de uso de terapias celulares. En este trabajo, nos propusimos evaluar el efecto del espectro completo de extractos de *C. sativa* sobre la funcionalidad de CMM humanas derivadas de cordón umbilical. Los datos revelan que los extractos completos de *C. sativa* poseen propiedades citoprotectoras sobre las CMM al promover una marcada reducción de la actividad catalítica de la caspasas-3 en respuesta a un estímulo de estrés oxidativo. Por otro lado, observamos un incremento de la migración celular evidenciando una activación de las CMM. Finalmente, determinamos una de las vías de señalización implicadas en los efectos biológicos de *C. sativa* sobre las CMM demostrando que la activación de la vía de pPDGFR y pSTAT3 tendría un papel protagónico en los efectos biológicos observados en las CMM. En este sentido, el tratamiento con el medio condicionado obtenido de las CMM tratadas con los extractos de *C. sativa* produjo un aumento en los niveles de fosforilación en p-PDGFR, p-STAT3, pAky y pErk. Estos resultados muestran las ventajas del tratamiento de las CMM con los extractos de *C. sativa* potenciando las propiedades regenerativas y abren un nuevo enfoque terapéutico de potencial aplicación en medicina regenerativa basado en el uso del secretoma de CMM pre-tratadas con *C. sativa*.

PALABRAS CLAVE: *Cannabis sativa*, células madre mesenquimales humanas, medicina regenerativa

1. INTRODUCCIÓN

Los fitocannabinoides presentes en la planta de *Cannabis sativa* son productos bioactivos naturales y tienen la capacidad de interactuar con el sistema endocannabinoide humano (SEC) (Pacher y col, 2006; Di Marzo y Silvestri, 2019). El SEC es un sistema de señalización endógena que desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo humano (Joshi y Onaivi, 2019). El principal compuesto psicoactivo del Cannabis, el Δ -9 tetrahidrocannabinol (THC) imita la función de los endocannabinoides para regular la fisiología en procesos inflamatorios (Turcotte y col, 2016). Otro compuesto, el cannabidiol (CBD) ha sido ampliamente estudiado por sus propiedades antieméticas, antiinflamatorias, ansiolíticas y antipsicóticas (Pennypacker y Romero-Sandoval, 2020). Entre los componentes no cannabinoides de los extractos de *C. sativa*, se encuentran compuestos bioactivos como terpenos, flavonoides y compuestos nitrogenados (Gonçalves y col, 2020), los cuales podrían estar implicados en algunos de los efectos terapéuticos observados en los extractos naturales de Cannabis (espectro completo).

Gran parte de la bibliografía está basada en información obtenida a partir de la utilización separada de THC o CBD (Miranda y col, 2020; Mascal y col 2019) subestimando el rol del espectro completo de la planta. En este sentido, una creciente línea de evidencia propone que la interacción entre los compuestos, como así también la presencia de componentes no cannabinoides de los extractos modula y potencia el efecto final de los mismos (Kovalchuk y Kovalchuk, 2020), poniendo de manifiesto la importancia de un estudio exhaustivo de los efectos del espectro completo.

Las células madre de origen mesenquimal (CMM) desempeñan un papel central en el mantenimiento y reparación de tejidos, haciéndolas candidatas ideales para el desarrollo de terapias en medicina regenerativa. Además, estas células expresan receptores del SEC cuya señalización regula su capacidad de autorrenovación, proliferación, diferenciación y supervivencia celular (Galve-Roperh y col, 2013).

Por lo expuesto anteriormente y al observar la creciente variedad de cultivares de *C. sativa*, el objetivo de este trabajo es determinar el efecto de los extractos completos de *C. sativa* sobre las propiedades biológicas de las CMM, generando evidencia científica que sustente el uso del espectro completo de la planta de *C. sativa* con fines terapéuticos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Extracto de *Cannabis sativa*

El extracto se obtuvo a partir de 20 g de inflorescencias secas de *Cannabis sativa* (variedad Juanita Lacrimosa, quimiotipo II, 1:1 THC:CBD) molidas con 400 ml de etanol 96°, agitando durante 10 minutos. La materia vegetal se separó por filtración con gasa estéril y papel de filtro, y se realizó la evaporación del extracto alcohólico a 65° C (resina). La resina se diluyó al 3% p/v en aceite de oliva. Se determinó el contenido de los principales cannabinoides por HPLC-UV los cuales se muestran en la Tabla 1

Componente	mg/ml	%
CBD	26,14	55,9
THC	17,69	37,8
CBDA	2,32	5
THCA	0,53	1,1
CBN	0,06	0,1

Tabla 1. Componentes y concentraciones analizadas del extracto. CBD, cannabidiol; THC, tetrahidrocannabinol; CBDA, ácido cannabidiólico; THCA, ácido tetrahidrocannabinidiólico; CBN, cannabinol.

Las concentraciones usadas en los ensayos se expresaron como ng/ml, se refieren a ng de aceite por ml de vehículo (DMSO) en el que hicimos la dilución del extracto. De acuerdo a los valores de cannabinoides surgidos del análisis del aceite, los valores de referencia se muestran en la Tabla 2.

Extracto (aceite, ng/ml)	CBD (µM)	THC (µM)
150	5	3,5
450	10	7,1
900	20	14,3

Tabla 2. Valores de referencia

Aislamiento y caracterización de cultivos de CMM de cordón umbilical

El protocolo de trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética de la FCM-UNCuyo (EXP_E-CUY:22186/2021). Las CMM humanas fueron obtenidas del cordón umbilical según protocolo modificado de Bannoud y col (2022). Brevemente, se

realizaron cortes transversales del cordón y se expusieron las arterias umbilicales, estas fueron extraídas con tijeras. El tejido localizado debajo de las mismas fue diseccionado en pequeños trozos y colocado en placas tipo petri estériles previamente gelatinizadas. Los cortes fueron incubados a 37°C en medio α -MEM al 10% de SFB y antibiótico (penicilina y estreptomina) por 3 semanas para favorecer la migración y el pegado de las células.

Obtención del secretoma y tratamiento de las CMM

Se trataron CMM con cantidades crecientes de extracto de *C. sativa* durante 24 h. Transcurrido ese tiempo se recogieron los medios condicionados (secretoma) para cada condición. Se realizó una centrifugación a 10000 x g durante 10 min a 4°C y posteriormente a 10000 xg durante 10 min a 4°C para eliminar restos celulares. Posteriormente, se incubaron CMM frescas con los secretomas obtenidos anteriormente durante 30 min. Luego de la incubación, las células se lavaron dos veces con PBS y se lisaron. Las muestras fueron analizadas por Western blot.

Ensayos de migración y proliferación

Los ensayos de proliferación de CMM se realizaron con un kit comercial colorimétrico (CellTiter 96® AQueous, Promega). Para los ensayos de migración, CMM fueron resuspendidas colocadas en la parte superior de un inserto de 8 μ m de poro (Millipore). En la parte inferior de la placa se colocaron 500 μ l de medio con concentraciones crecientes de extracto de *C. sativa*. Luego de 24 h, los insertos fueron removidos, lavados y las células que migraron fueron teñidas con cristal violeta 0,1% (Sigma) en metanol 20%. Se adquirieron imágenes digitales y se cuantificó la migración como el área de células que migraron por mm² mediante el software ImageJ software v1.34 (NIH).

Ensayos de apoptosis

La determinación de los niveles de apoptosis se realizó mediante la tinción con Annexin-V acoplada al fluoróforo R Phycoerythrin (PE, Biolegend) por medio de citometría de flujo (BD FACSAria™ III). La presencia de la isoforma activa de la cisteína-proteasa Caspasa 3 se determinó por citometría de flujo mediante el uso del kit comercial (FITC Active Caspa-

se-3 Apoptosis Kit, BD Pharmigen). Para determinar la actividad enzimática de Caspasa-3 se utilizó el kit comercial (CaspACETM Assay System, Promega).

Ensayos Western blot

Se extrajeron las proteínas totales usando un buffer de lisis RIPA adicionado con inhibidor de proteasa y fosfatasa (Vector Labs). Iguales cantidades de proteínas se resolvieron en geles SDS-PAGE y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa. Las membranas se probaron contra los anticuerpos primarios anti-fosfo-PDGFR α , anti-PDGFR α , anti-fosfo-STAT-3 y anti-STAT-3 (Abcam); anti-fosfo-Akt (Cell Signaling); anti-Akt y anti-fosfo-Erk1/2 (Sigma); anti-Erk1/2, Anti-actina (Santa Cruz), anti-pro-caspasa-3 (BD biosciences). Luego se incubaron anticuerpos secundarios-HRP 1h a temperatura ambiente (Vector Labs). Se detectaron las proteínas con sistema de quimioluminiscencia (Kallium Technologies) usando un analizador de imágenes, LAS 4000. Posteriormente se determinó por densitometría la intensidad de píxeles de las membranas como medida semicuantitativa de los niveles de expresión proteica mediante el software FIJI (ImageJ 2 v2.3.0/1.53f).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el software Prism 8 (GraphPad). Se utilizó análisis de ANOVA de una vía y Tukey post test. Para datos no pareados se utilizó el test T de Student. Los resultados se expresaron como valores de la media \pm SEM de al menos tres experimentos independientes. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del extracto de Cannabis sativa sobre las CMM.

En primera instancia, para confirmar el linaje de las CMM aisladas de cordón umbilical se realizó un análisis fenotípico de marcadores de superficie. Las células mostraron ser positivas para los marcadores CD29, CD73, CD90, CD105, y negativas para el marcador de células endoteliales (CD31) (Figura 1A). Estos resultados indican la identidad de las CMM de acuerdo con lo establecido por la ISCT (Sociedad internacional de terapia celular) (Bourin y col, 2013).

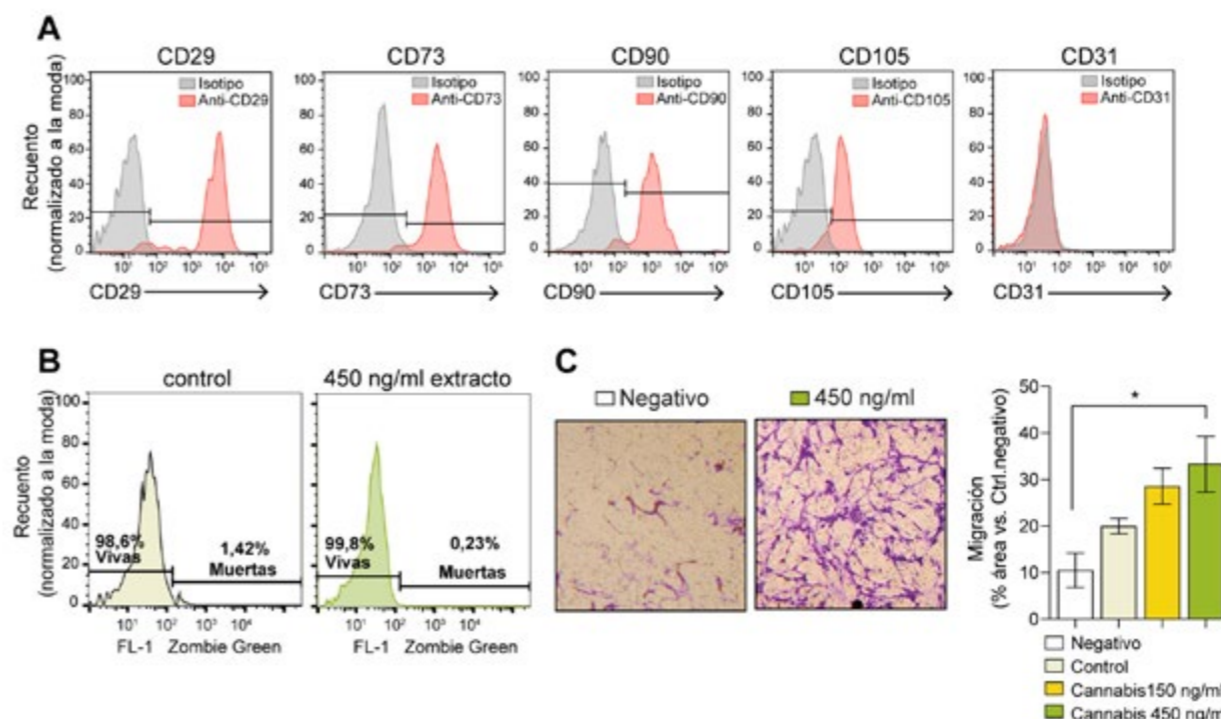


Figura 1

Efecto de extractos de Cannabis sativa sobre células madre mesenquimales. A) Fenotipo de las células madre mesenquimales (CMM) purificadas de cordón umbilical determinado por citometría de flujo. Histogramas celestes (control de isotipo), histogramas rojos (anticuerpos específicos). B) Efecto del tratamiento con el extracto de *C. sativa* (450 ng/ml) sobre la viabilidad de las CMM determinado por citometría de flujo con la sonda Zombie Green™. Las células vivas son capaces de excluir el marcador por lo cual se ven negativas. C) Migración de CMM en presencia de concentraciones crecientes del extracto de *C. sativa*. Izquierda: imágenes representativas, derecha: cuantificación del área de células migrantes relativa al control negativo. Los resultados se expresaron como valores de la media \pm SEM de tres experimentos independientes. * representa valores $p < 0,05$.

Dado que la viabilidad de las CMM es crucial para su capacidad regenerativa, se estudió la citotoxicidad de tratamiento con el extracto de cannabis. El tratamiento de las CMM con distintas concentraciones del extracto completo de la variedad de Cannabis sativa Juanita lacrimosa no mostró evidencias de toxicidad a concentraciones máximas de 450 ng/ml durante 48 h (Figura 1B).

Uno de los eventos más significativos durante la reparación de los tejidos dañados es la movilización de las CMM hacia los sitios de injuria o lesiones. En este sentido, se evaluó el efecto del espectro completo de *C. sativa* sobre la capacidad de migración de las CMM. Se observó una mayor migración en CMM en presencia de extractos de Cannabis con un comportamiento concentración-dependiente (Figura 1C). Estos datos nos indican que las CMM toleran altas concentraciones del extracto de cannabis y éste favorece la migración. En función de los resultados decidimos profundizar en los efectos de *C. sativa* sobre las CMM.

Los extractos de Cannabis sativa protegen a las CMM de la apoptosis

El siguiente paso fue determinar si el extracto de cannabis posee efecto citoprotector sobre las CMM. A tal fin, se determinaron los niveles de apoptosis o muerte celular programada en las CMM expuestas a un estímulo fisiológico de estrés oxidativo severo (H₂O₂, 500 μ M; 24 h). El porcentaje de células apoptóticas (evaluadas por la presencia de fosfatidilserina en la cara externa de la membrana) fue significativamente menor en presencia del extracto de Cannabis respecto del control con vehículo (aceite de oliva) (Figura 2A). Estos datos reflejan un claro efecto anti-apoptótico del extracto completo sobre las células madre, evento esencial para proponer una estrategia terapéutica con ellas.

Con el fin de ahondar en los mecanismos por los cuales se produce esta citoprotección, se analizó la activación de la proteína efectora de la apoptosis caspasa-3. Esta cisteína proteasa se activa por cli-

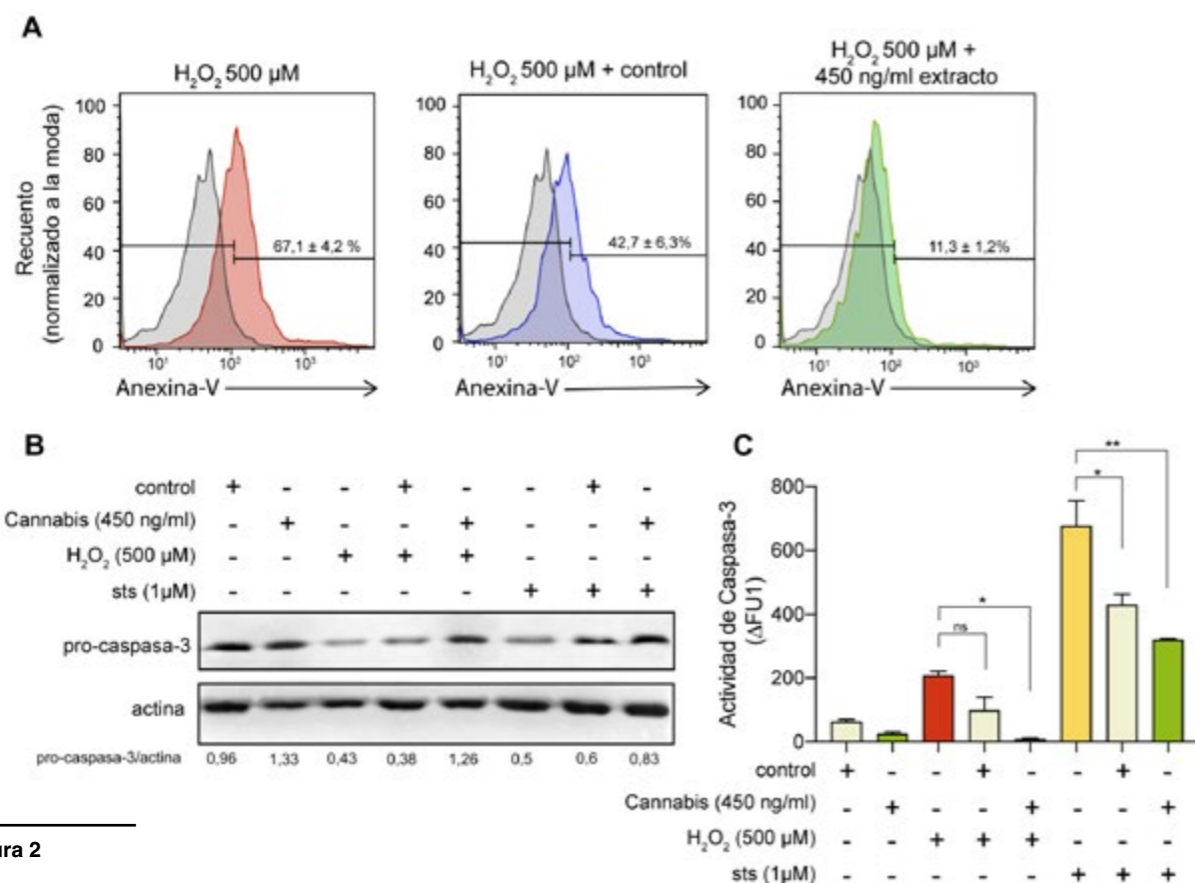


Figura 2

Efecto de extractos de *cannabis sativa* sobre la apoptosis de células madre mesenquimales. **A)** Análisis de apoptosis con Anexina-V por citometría de flujo en CMM tratadas con 500 μM H₂O₂ durante 24h en presencia o ausencia del extracto de *C. sativa* (150 ng/ml). **B)** Análisis de Western blot de CMM tratadas con distintos estímulos apoptóticos (500 μM H₂O₂ o estaurosporina, sts 1 μM) en presencia o ausencia del extracto de *C. sativa* (150 ng/ml). Se usó actina como control de carga. La pérdida de reactividad del anticuerpo anti-pro-caspasa-3 es indicativo de la activación de la forma activa caspasa-3. **C)** Determinación de la actividad enzimática de caspasa-3 en CMM en presencia o ausencia del extracto de *C. sativa* (150 ng/ml). Como control positivo de actividad se usó STS (1 μM) y como control de especificidad de la actividad se usó el inhibidor selectivo de caspasa ZVAD-FMK (10 μM). Los resultados se expresaron como valores de la media ± SEM de tres experimentos independientes, excepto (B) que fueron dos experimentos independientes. * representa valores de p<0,05.

vaje de la proforma pro-caspasa-3 desencadenando la fase efectora de la muerte celular programada. Se analizaron los niveles de pro-caspasa-3 en presencia de H₂O₂ (500 μM; 24 h) o estaurosporina (1 μM; 4 h, inductor químico de la apoptosis) en CMM pre tratadas con el extracto de Cannabis. El análisis de Western blot mostró que en células tratadas con el extracto (450 ng/ml) y luego incubadas con los inductores de apoptosis los niveles de pro-caspasa-3 fueron similares al control, indicando que no hubo activación de la proteína, y por lo tanto, confirmando la capacidad protectora del extracto utilizado (Figura 2B). Adicionalmente, se evaluó la actividad enzimática de caspasa-3 confirmando que la misma disminu-

ye selectivamente en células pre tratadas con *C. sativa* (Figura 2C), corroborando el efecto antiapoptótico del extracto completo de Cannabis sobre las CMM.

Vías de señalización implicadas en la respuesta al tratamiento con el extracto de *C. sativa*.

Finalmente, nos propusimos determinar las vías de señalización posiblemente implicadas en los efectos del Cannabis sobre las CMM. El factor de crecimiento derivado de plaquetas (Platelet-Derived Growth

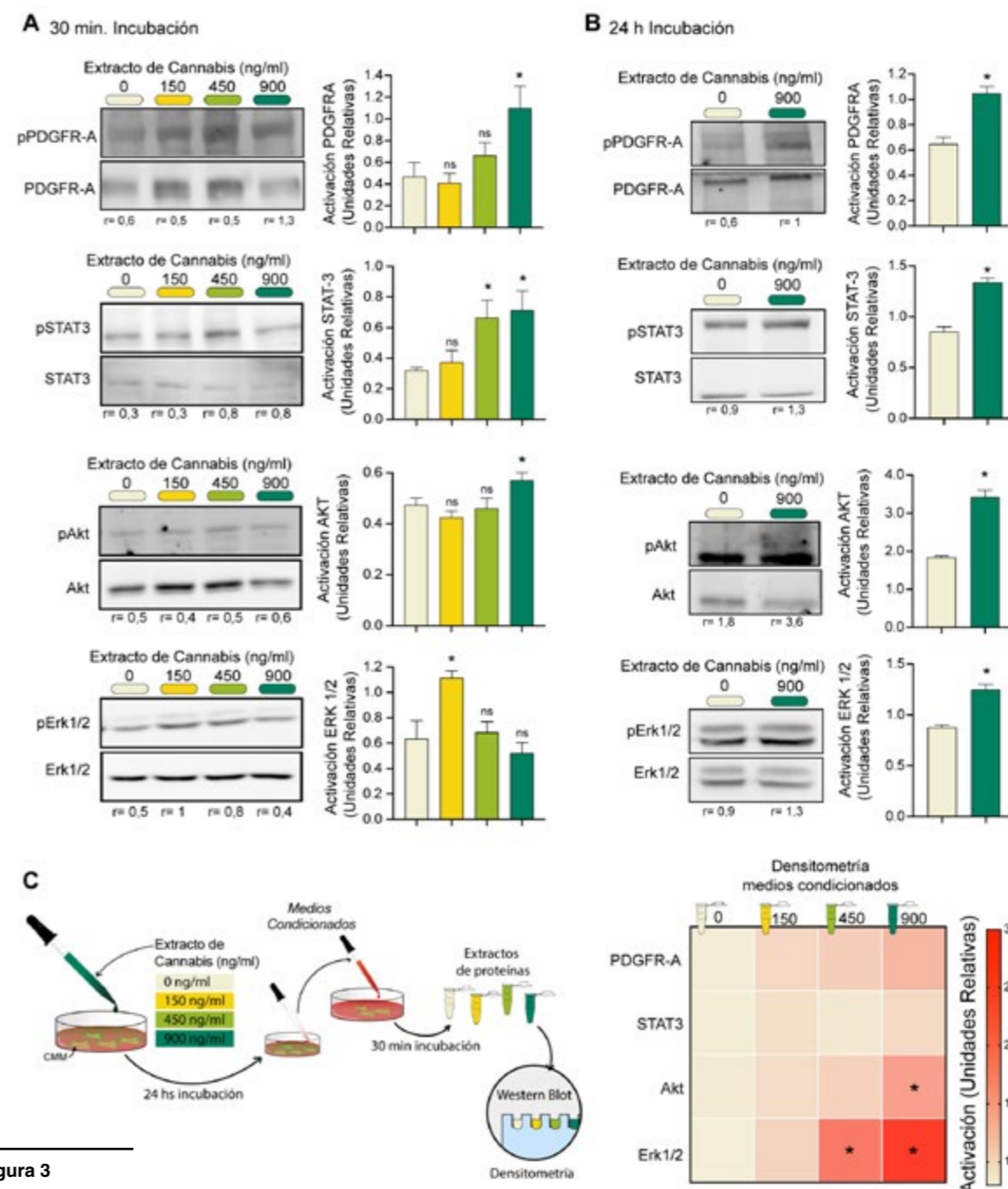


Figura 3

Efecto de extractos de *Cannabis sativa* y medios condicionados sobre la vía de señalización de PDGFR en células madre mesenquimales. Análisis por Western blot de la fosforilación de PDGFRA, STAT3, Akt y Erk luego del tratamiento con el extracto de *C. sativa*: **A)** Las CMM fueron tratadas por 30 min con diferentes concentraciones del extracto, **B)** Las CMM fueron tratadas durante 24 h con la concentración máxima del extracto. **C)** CMM tratadas durante 24 h con las distintas concentraciones del extracto, luego se recuperó el medio condicionado (MC) de cada condición y se incubaron CMM frescas durante 30 min con los MC obtenidos (izquierda), derecha: representación colorimétrica de los valores de al menos dos densitometrías de los WB obtenidos. * representa valores de p<0,05. Los resultados se expresaron como valores de la media ± SEM de tres experimentos independientes.

Factor, PDGF) regula la sobrevivencia y la proliferación de las CMM al activar la vía de señalización de PI3K/Akt y MAPK/Erk, y la activación de STAT-3 implicada en la migración y los efectos biológicos de las CMM. La incubación de las CMM con extractos completos de *C. sativa* indujo la activación rápida (30 min) del receptor de PDGF (PDGFRA) y la consecuente activación de la vía involucrada en su señalización como pSTAT3, pAkt y pErk (Figura 3A), si bien con comportamientos cinéticos diferentes. Interesantemente, el efecto sobre la activación de esta vía de señalización se mantuvo en el tiempo por al menos 24h, lo que permite suponer que la activación involucra mecanismos asociados a efectos biológicos de largo plazo y que el efecto de los cannabinoides no satura la señalización (Figura 3B). Entre los mayores obstáculos del uso de CMM en estrategias terapéuticas están el rechazo inmunológico del injerto, la capacidad de las CMM de diferenciarse en diferentes linajes celulares espontáneamente, la aparición de tumores, una respuesta inmune contra el huésped. En estudios recientes que proponen al secretoma como un agente efector de las CMM sin los problemas de implantar células enteras (Damayanti y col, 2021; Ahangar y col, 2020; Múzes y Sipos, 2022). En este sentido, Johnson y col. (2014) demostraron que las CMM secretan una serie de proteínas neuroprotectoras y sugieren que la secreción del PDGF puede desempeñar un papel importante en la neuroprotección en un modelo de células ganglionares de la retina mediada por las CMM. Basándonos en este trabajo y en los resultados mencionados anteriormente, se analizó el efecto del secretoma (medio condicionado de CMM tratadas con el extracto de *C. sativa*) sobre la activación de PDGFR. Aunque los datos necesitan futuras validaciones adicionales, nuestros hallazgos nos permiten inferir que el secretoma obtenido de las CMM tratadas con 900 ng/ml del extracto de Cannabis induce un aumento de la activación de las proteínas de la vía de señalización de PDGFR respecto a medio condicionado de CMM sin tratar (Figura 3C). En concordancia con nuestros resultados, se ha reportado que el tratamiento de células madre tratadas con cannabinoides pueden aumentar su capacidad regenerativa en el tratamiento de heridas (Miller y col, 2021). Esta evidencia y nuestros datos son alentadores y nos impulsan a proponer un nuevo uso de los extractos de Cannabis en medicina regenerativa como moduladores de la biología y del secretoma de CMM.

4. CONCLUSIONES

El tratamiento con los extractos de *C. sativa* modula la vía de señalización de PDGFR en las CMM favoreciendo la viabilidad y migración celular, e inhibiendo la apoptosis. Este trabajo resalta que el uso de Cannabis puede mejorar la eficacia terapéutica de estrategias en medicina regenerativa que buscan mejorar las funciones biológicas de las células madre. Por otro lado, nuestros datos proponen por primera vez el efecto beneficioso de Cannabis para generar medio condicionado de CMM (secretoma) lo cual podría mejorar la traslación a la clínica de este enfoque prometedor.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la asistencia técnica de Elisa Bocanegra; La asistencia metodológica y la discusión crítica a Alfredo García y Nadia Bannoud; a la fundación PlantAR Ciencia por su labor para promover y colaborar con la investigación científica en Cannabis; a la RACME por la discusión, ayuda y por canalizar los intereses de diversos actores sociales.

6. CONTRIBUCIÓN DE CADA AUTOR

JGT: diseño y ejecución de experimentos, análisis de datos, discusión de resultados. JFE, ND, PG, YFL, SR y GAT: ejecución de experimentos, discusión de resultados. DOC y MCR: conceptualización del trabajo, diseño experimental, análisis de datos, escritura del manuscrito. Todos los autores aprobaron la versión del manuscrito.

7. DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES DE LOS AUTORES.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

8. FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación (ANPCYT), MCR: PICT2018-00668, DOC: PICT2016-0205, PICT2019-0532, JGT: PICT2019-00739; y por CONICET, MCR: PIP-0370-2015.

9. REFERENCIAS

- Ahangar P, Mills SJ, Cowin AJ. 2020. Mesenchymal Stem Cell Secretome as an Emerging Cell-Free Alternative for Improving Wound Repair. *Int J Mol Sci*; 21:1–15.
- Bannoud N, García PA, Gambarte-Tudela J, Sundblad V, Cagnoni AJ, Bach CA, Pérez Saez JM, Blidner AG, Maller SM, Mariño K V., Salatino M, Cerliani JP, et al. 2022. Untangling Galectin-Mediated Circuits that Control Hypoxia-Driven Angiogenesis. *Methods Mol Biol*; 2442:635–653.
- Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, Redl H, Rubin JP, Yoshimura K, Gimble JM. 2013. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*; 15:641–648.
- Damayanti RH, Rusdiana T, Wathoni N. 2021. Mesenchymal Stem Cell Secretome for Dermatology Application: A Review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*; 14:1401–1412.
- Di Marzo V, Silvestri C. 2019. Lifestyle and Metabolic Syndrome: Contribution of the Endocannabinoidome. *Nutrients*; 11.
- Galve-Roperh I, Chiurchiù V, Díaz-Alonso J, Bari M, Guzmán M, Maccarrone M. 2013. Cannabinoid receptor signaling in progenitor/stem cell proliferation and differentiation. *Prog Lipid Res*; 52:633–650.
- Gonçalves ECD, Baldasso GM, Bicca MA, Paes RS, Cappasso R, Dutra RC. 2020. Terpenoids, cannabimimetic ligands, beyond the cannabis plant. *Molecules*; 25.
- Johnson T V., Dekorver NW, Levasseur VA, Osborne A, Tassoni A, Lorber B, Heller JP, Villasmil R, Bull ND, Martin KR, Tomarev SI. 2014. Identification of retinal ganglion cell neuroprotection conferred by platelet-derived growth factor through analysis of the mesenchymal stem cell secretome. *Brain*; 137:503–519.
- Joshi N, Onaivi ES. 2019. Endocannabinoid System Components: Overview and Tissue Distribution. *Adv Exp Med Biol*; 1162:1–12.
- Kovalchuk O, Kovalchuk I. 2020. Cannabinoids as anticancer therapeutic agents. *Cell Cycle*; 19:961–989.
- Mascal M, Hafezi N, Wang D, Hu Y, Serra G, Dallas ML, Spencer JPE. 2019. Synthetic, non-intoxicating 8,9-dihydrocannabinoid for the mitigation of seizures. *Sci Rep*; 9.
- Miller H, De Leo N, Badach J, Lin A, Williamson J, Bonawitz S, Ostrovsky O. 2021. Role of marijuana components on the regenerative ability of stem cells. *Cell Biochem Funct*; 39:432–441.
- Miranda CC, Barata T, Vaz SH, Ferreira C, Quintas A, Bekman EP. 2020. hiPSC-Based Model of Prenatal Exposure to Cannabinoids: Effect on Neuronal Differentiation. *Front Mol Neurosci*; 13.
- Múzes G, Sipos F. 2022. Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome: A Potential Therapeutic Option for Autoimmune and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Cells*; 11.
- Pacher P, Bátkai S, Kunos G. 2006. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev*; 58:389–462.
- Pennypacker SD, Romero-Sandoval EA. 2020. CBD and THC: Do They Complement Each Other Like Yin and Yang? *Pharmacotherapy*; 40:1152–1165.
- Turcotte C, Blanchet M-R, Laviolette M, Flamand N. 2016. The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. *Cell Mol Life Sci*; 73:4449.

CANNABIS TERAPÉUTICO: PROCESOS FISIOLÓGICOS INVOLUCRADOS Y CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE DERIVADOS DE CANNABIS

Daniela Sedan^{1,2*}, Luciano Malaissi^{1,2}, Cristian Adrián Vaccarini¹,
Cristina Daniela Bugvila¹, Darío Andrinolo^{1,2}.

¹Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM – CONICET – UNLP).

²Área de Toxicología. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP).

* danielasedan@yahoo.com.ar

RESUMEN

Si bien las formas más comunes de administración de cannabis son por vía inhalatoria (por vaporización de inflorescencias secas de cannabis o por el fumado de un cigarrillo de cannabis), por vía oral (ingiriendo aceite de cannabis o diversas preparaciones culinarias) y dérmica (mediante la aplicación de cremas o ungüentos), existen también otras vías que se encuentran en investigación y que cada vez más se emplean en ciertas situaciones tales como la administración sublingual, gotas conjuntivales, supositorios para administración rectal y óvulos vaginales. Dado que la absorción de los cannabinoides dependerá fundamentalmente de las características fisicoquímicas de los compuestos, de las barreras, membranas y procesos fisiológicos que deben atravesar a su paso, la vía inhalatoria presentará la mayor biodisponibilidad y en el menor tiempo posible, seguida por la vía oral y finalmente la dérmica; siendo esta última más efectiva para procesos locales como los inflamatorios. Dado que THC y CBD presentan propiedades lipofílicas similares, ambos cannabinoides seguirán cinéticas de absorción similares en las distintas vías. Así mismo sufrirán en general el mismo tipo de reacciones de metabolización catalizadas por el CYP450, que derivarán en sus metabolitos (fundamentalmente 11-OH-THC, THC-COOH, 7-OH-CBD). En este trabajo se resumen los procesos y características particulares de las principales vías de administración de derivados de cannabis: oral, inhalatoria y dérmica.

PALABRAS CLAVES: Cannabis terapéutico, vías de administración, THC, CBD.

INTRODUCCIÓN

Si bien el Cannabis se ha empleado con fines terapéuticos desde épocas milenarias (Ben Amar, 2006; Mechoulam y Parker, 2013), en los últimos años se ha producido un resurgimiento de estas aplicaciones en Argentina y en el mundo superando largos períodos de prohibicionismo. Actualmente, gracias a la actividad de ONGs abocadas al empleo terapéutico de los derivados de Cannabis y al avance en la legislación de distintos países (Ley 27.350 y su decreto

reglamentario RESOL-2021-800-APN-MS en Argentina), la sociedad en general se ha familiarizado con esta temática e incorporado términos como flores, resinas, cremas, aceites de cannabis, CBD y THC desde una óptica de utilidad terapéutica; diferente de la visión exclusivamente punitiva de los años previos. Esta situación ha motivado también que la comunidad busque y aprenda de forma autodidacta conceptos como sistema endocannabinoide, efecto séquito,

vías de administración, métodos de procesamiento y análisis de los derivados de cannabis, con el fin de poder emplear estos fito-derivados en el tratamiento de diversos síntomas y/o patologías; en el mejor de los casos acompañados por profesionales de la salud.

Si bien se han identificado más de 550 compuestos en las plantas de Cannabis sativa L., entre los que se encuentran fitocannabinoides, terpenos y flavonoides (ElSohly y Gul, 2014; Ahmed y col, 2015); los fitocannabinoides, Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD), son los compuestos que se encuentran mayormente presentes en los derivados de cannabis y a los cuales se les atribuyen principalmente las propiedades terapéuticas vinculadas a la planta. Tradicionalmente el THC se indica como el responsable del efecto psicoactivo del Cannabis, presentando también propiedades analgésicas, antieméticas y antiespásticas (NAS., 2017); mientras que las principales propiedades del CBD son antiinflamatorias, analgésicas, ansiolíticas y antipsicóticas (Greydanus y col, 2013; Pertwee, 2014).

Habitualmente se emplean distintas formas de administración, dependiendo del tipo de derivado de cannabis utilizado y del fin terapéutico buscado. En general las formas de administración empleadas más frecuentemente contemplan la vía inhalada, oral y dérmica. Cada una de estas vías presenta características fisiológicas propias (Casarett y col, 2008) que generan diferencias en los niveles de cannabinoides alcanzados, en los metabolitos de los mismos presentes y en los efectos producidos. Existen en la literatura un gran número de trabajos que estudian en diversos modelos de exposición en animales y estudios en humanos, la dinámica de los cannabinoides en el organismo (Ohlsson y col, 1982; Wall y col, 1983; Lichtman y col, 2000; Brenneisen, 2001; Grotenhermen, 2003). Por ello, dado el avance del empleo terapéutico de derivados de cannabis en nuestro país, es objetivo de este trabajo revisar los principales procesos que sufren los cannabinoides al ingresar por diferentes vías en el organismo y como se metabolizan y eliminan.

PROCESOS FISIOLÓGICOS Y CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

1. ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL

Los derivados de cannabis administrados por esta vía son fundamentalmente aceites obtenidos en distintas bases oleosas e hidrolatos; así como la incorporación de extractos de cannabis en ciertos alimentos (gomitas, galletitas, brownies, etc). Los

cannabinoides que ingresen por esta vía se encontrarán sometidos a ciertos procesos fisiológicos que tendrán impacto en el tiempo en el que se alcance el pico máximo de concentración, la proporción que ingrese efectivamente al organismo y la biodisponibilidad de los mismos. Garret y Hunt (1974) han propuesto que, en el ambiente ácido del estómago podrían existir reacciones de degradación del THC, así como una facilitación de transformación del Δ^9 -THC en su isómero Δ^8 -THC y la protonación de ciertos oxígenos presentes en el CBD que culminan con su ruptura. Así mismo, han propuesto también que el THC sea degradado en cierta proporción en el intestino. El proceso de absorción se completa en el intestino, donde una vez atravesado el epitelio intestinal, los compuestos alcanzan la circulación enterohepática que tiene como primer destino el hígado, donde se lleva a cabo el llamado metabolismo de primer paso (Figura 1). Los principales metabolitos que se producen en el hígado son el 11-hidroxi-THC (11-OH-THC), el 11-nor-9-carboxi-THC (THC-COOH) y el 7-hidroxi-CBD (7-OH-CBD), a través de reacciones catalizadas por diversas enzimas pertenecientes a la familia del Citocromo P450 (CYP450) (Grotenhermen, 2003). Estas situaciones influyen en la concentración máxima de los cannabinoides presentes en plasma y en la proporción entre cannabinoides y metabolitos de los mismos. En estudios realizados con cannabinoides marcados administrados en una base oleosa se ha determinado que entre el 90 y el 95% de la marca había sido absorbida, sin diferenciar si correspondía al cannabinoide intacto o a algún subproducto del mismo (Wall y col, 1983; Lemberger y col, 1972). Así mismo, se ha descrito que el CBD inhibe parcialmente el metabolismo del THC por inhibición del sistema oxidante CYP450 (Yamamoto y col, 1995; Jaeger y col, 1996; Bornheim y col, 1998; Grotenhermen, 2003). Nadulski y col. (2005) han observado en un estudio en humanos, esa inhibición parcial de la metabolización de THC por la co-ingestión con CBD por vía oral; especialmente durante las primeras horas después de la ingesta porque en este momento ambos compuestos alcanzan concentraciones relativamente altas en el hígado.

Según se ha establecido la absorción por esta vía resulta lenta, con una gran variabilidad entre individuos, presentando concentraciones máximas de los cannabinoides en sangre en períodos que van de 60 min a 4 hs. (Figura 2) o incluso 6 hs. en algunos casos, mostrando para algunos individuos más de un pico plasmático (Timpone y col, 1997; Sporkert y col, 2001; Grotenhermen, 2003; Nadulski y col, 2005). Así mismo, en un estudio con voluntarios, se observaron variaciones en la absorción en relación al sexo: las mujeres presentaron mayores concentraciones máximas (Cmax) de THC, 11-OH-THC y CBD alcanzadas en tiempos menores que los varones vinculadas a un

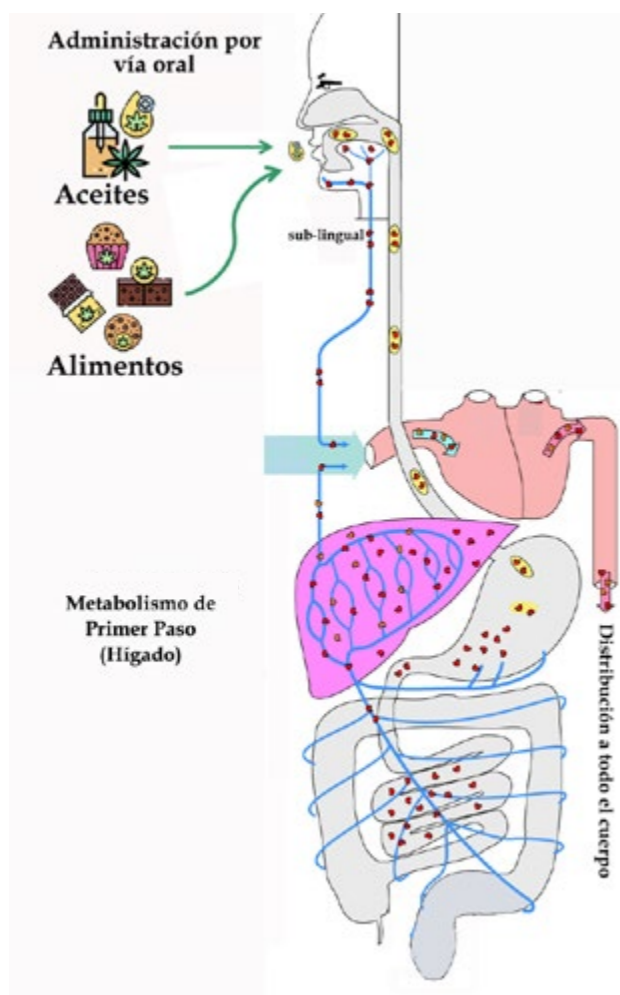


Figura 1

Ingreso de cannabinoides al organismo en administración por vía oral. Los cannabinoides, tales como THC y CBD (motas rojas) contenidos en aceites y alimentos (galletitas, chocolates, brownies, etc) preparados a base de cannabis son deglutidos; pudiendo sufrir algunos procesos de modificación a nivel estomacal para luego ser absorbidos en el intestino delgado alcanzando la circulación entero-hepática. A partir de allí son transportados en sangre inicialmente al hígado donde se transformarán parcialmente en metabolitos tales como 11-OH-THC, 7-OH-CBD, THC-COOH (motas naranjas) por acción del CYP450 (metabolismo de primer paso hepático). Los cannabinoides y sus metabolitos son distribuidos a todo el organismo, siendo transportados en circulación. Nótese que la administración sublingual, evita el metabolismo de primer paso hepático, siendo en este caso absorbidos por la delgada mucosa sublingual altamente irrigada. *Modificado de Sanchez, 2007 y empleando iconos diseñados por Freepik y Pixelmeetup de Flaticon.*

menor peso corporal y un menor volumen de distribución de las mujeres. También vieron un leve aumento en la Cmax de THC y CBD al administrar un desayuno estándar 1 hs después de la ingestión de la cápsula de cannabinoides; atribuyendo ese aumento a que la absorción del alimento favorecería la absorción del remanente de cannabinoides que no habían sido absorbidos hasta ese momento.

Así mismo, la biodisponibilidad de THC y CBD, debido al extenso metabolismo de primer paso, alcanza sólo entre un 3 y 14%. Los cannabinoides circularán en sangre encontrándose cerca del 90% en plasma, unidos a lipoproteínas, y un 10% asociados a los glóbulos rojos. La distribución de los cannabinoides estará influida por las características fisicoquímicas de estos compuestos, ya que no se han detectado hasta el momento transportadores específicos que participen en este proceso; y por el contenido lipídico y la irrigación de los distintos tejidos. Se ha encontrado que sólo el 1% del THC, administrado de forma intravenosa, se encuentra en el cerebro en el momento del pico máximo de concentración plasmática probablemente debido a la alta perfusión de dicho órgano; lo cual hace que el THC sea movilizado rápidamente hacia y desde el cerebro (Chiang y col, 1987). Debemos considerar que los cannabinoides atraviesan la barrera placentaria, alcanzan la leche materna y que el principal tejido involucrado en el almacenamiento de cannabinoides es el tejido graso. Así mismo, la vida media de los cannabinoides y sus metabolitos en plasma es variable, entre 6 hs y 7 días, ya que el momento en que se alcanza el equilibrio entre plasma y tejidos depende de procesos fisiológicos y de la vía de administración y las dosis administradas. Los cannabinoides se excretan, fundamentalmente como metabolitos ácidos, un 20 al 35% en orina y un 65 al 80% en heces; encontrándose menos del 5% inalterados en heces luego de una administración oral. El tiempo en el que se encuentran en heces y orina puede variar de días a semanas (Grotenhermen, 2003).

2. ADMINISTRACIÓN POR VÍA INHALATORIA

Las sustancias que se absorben por esta vía serán aquellas que ingresen con el aire inspirado, y atravesarán la barrera alvéolo-capilar, a favor de su gradiente de concentración y de acuerdo a sus características fisicoquímicas, ingresando a circulación sanguínea (Figura 3). En este sentido los cannabinoides contenidos en las inflorescencias de cannabis deberán ser vaporizados previamente; proceso que se consigue básicamente mediante calentamiento a altas temperaturas en vaporizadores o mediante el fumado del cigarrillo de cannabis. Por cualquiera de estos métodos se consigue la vaporización de los

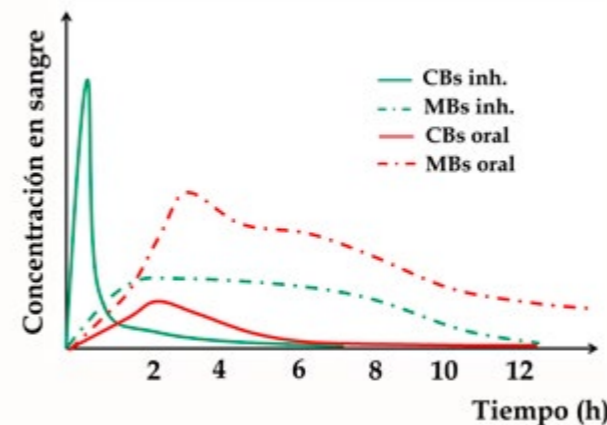


Figura 2

Concentración sanguínea de principios activos vs. tiempo post-administración. Esquema de niveles de cannabinoides (CBs: THC, CBD; líneas sólidas) y de metabolitos (MBs; líneas punteadas) en sangre en función del tiempo luego de una administración por vía oral (líneas rojas) o por vía inhalatoria (líneas verdes).

cannabinoides de interés, encontrándose fundamentalmente en sus formas neutras. Debemos tener en cuenta que en el fumado se generan numerosos productos tóxicos derivados de la pirolisis del material vegetal, tal como ocurre con un cigarrillo de tabaco, por lo cual se aconseja emplear vaporizadores para la administración por vía inhalatoria ya que permiten evitar la generación de los compuestos tóxicos. Las diferencias fundamentales al emplear esta vía de administración respecto de lo descrito en el caso de la vía oral residen en una menor cantidad de procesos fisiológicos involucrados desde que los cannabinoides ingresan al organismo y alcanzan efectivamente la circulación sanguínea; y en la ausencia del metabolismo de primer paso. En este caso los cannabinoides llegarán a la circulación pulmonar, de allí serán dirigidos en sangre hasta el corazón y luego distribuidos a todo el organismo. Esta situación hace que los niveles máximos de cannabinoides en sangre se alcancen más rápidamente, entre 3 y 10 min. (Figura 2) luego de ingresar por vía inhalatoria; y que por lo tanto su biodisponibilidad también sea mayor, entre un 10 y un 35%. Debemos considerar que la biodisponibilidad por esta vía dependerá de la profundidad y duración de la inhalación, así como de cuanto se contenga la respiración. Los procesos de metabolización, distribución y excreción de los cannabinoides ingresados por esta vía siguen los mismos procesos básicos descritos en el caso de la vía oral.

3. ADMINISTRACIÓN POR VÍA DÉRMICA

Esta vía es empleada frecuentemente en la utilización de cremas, ungüentos y otros derivados destinados al alivio de procesos inflamatorios mediante aplicación local de estos productos. En este contexto la absorción de los cannabinoides será más lenta que

Vía Inhalatoria

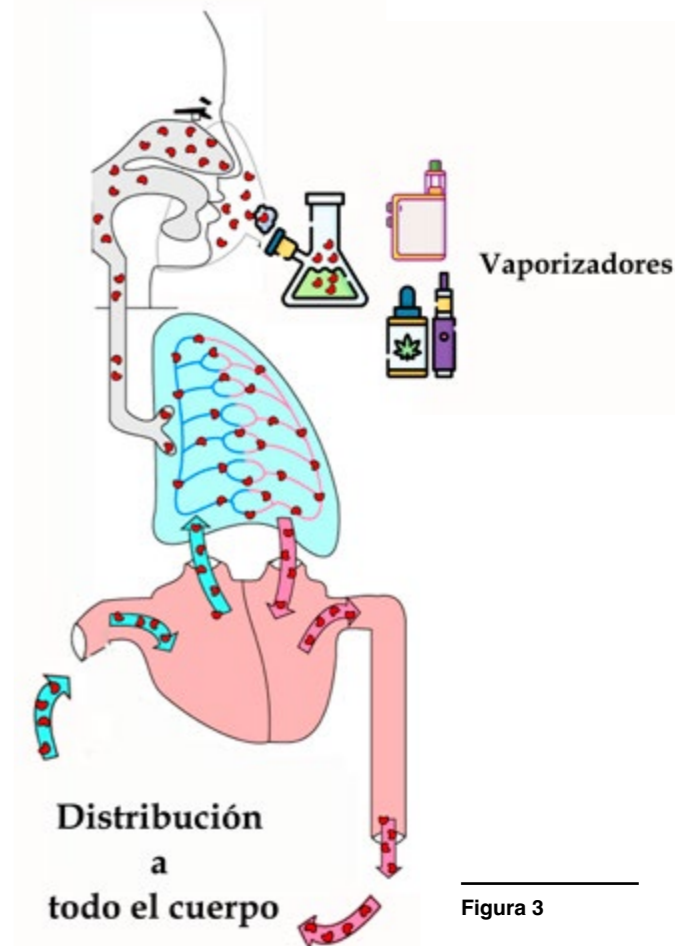


Figura 3

Ingreso de cannabinoides al organismo en administración por vía inhalatoria. Los cannabinoides vaporizados, a partir del calentamiento de material vegetal en diferentes dispositivos que emplean temperaturas controladas (vaporizadores o vapeadores), ingresan en el aire inhalado y llegan a los alvéolos pulmonares donde atraviesan rápidamente la barrera alvéolo-capilar. Luego el corazón bombea la sangre que contiene los cannabinoides absorbidos a todo el organismo, alcanzando así los tejidos donde ejercerán su acción. Nótese que en esta vía de administración se evita el metabolismo de primer paso hepático. *Modificado de Sanchez, 2007 y empleando iconos diseñados por Freepik y Pixelmeetup de Flaticon.*

en el caso de la vía oral, debido fundamentalmente a la mayor cantidad de capas, las que conforman la piel normalmente, que estos compuestos deberán atravesar para llegar a circulación. En este caso tampoco se producirá un metabolismo de primer paso. Los factores que facilitarán la absorción por esta vía, fundamentalmente la penetración en la piel sana, serán aquellos que permitan hidratación de la piel y una mejor vehiculización del producto. En este caso, los niveles en sangre serán mucho menores que los observados luego de una administración oral (Grotenhermen, 2003).

4. PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES

Además de las vías clásicas de administración comentadas anteriormente se encuentran en estudio otras posibles vías de administración que den respuesta a alivios de síntomas y patologías en otras localizaciones del organismo o que permitan también alcanzar niveles relativamente elevados en circulación y que sean alternativas a la vía inhalatoria. En este sentido la vía sublingual permite una absorción rápida y que evita el metabolismo de primer paso hepático, debido a que la mucosa presenta un espesor reducido y está altamente irrigada. Esta vía ha sido utilizada como vía de rescate en el caso de convulsiones en niños mediante la aplicación de resinas o aceites. Otras vías para el tratamiento de afecciones localizadas son la administración mediante gotas oftálmicas, supositorios rectales y óvulos vaginales. La investigación en este sentido se dirige fundamentalmente a dos aspectos, las características farmacocinéticas y biodisponibilidad alcanzada por la administración a través de estas vías; y a las formulaciones adecuadas que permitan optimizar estos procesos y los efectos benéficos obtenidos mediante estas vías de administración.

Los avances en el conocimiento del empleo terapéutico/medicinal el cannabis junto con las adecuaciones en las leyes involucradas en la regulación de estos productos y aplicaciones, nos presentan un nuevo escenario donde las aplicaciones del cannabis con fines terapéuticos tengan un desarrollo más efectivo; estableciendo un nuevo paradigma en cuanto a dichos usos terapéuticos.

REFERENCIAS

- Ahmed S.A., Ross S.A., Slade D., Radwan M. M., Khan I. A., ElSohly M. A. 2015. Minor oxygenated cannabinoids from high potency Cannabis sativa L. *Phytochemistry*, 117: 194-199.
- Ben Amar M. 2006. Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 1-25.
- Bornheim L.M., Grillo M.P. 1998. Characterization of cytochrome P450 3A inactivation by cannabidiol: possible involvement of cannabidiol-hydroxyquinone as a P450 inactivator. *Chem Res Toxicol*, 11: 1209-16
- Brenneisen R. 2001. Pharmakokinetik. In: Grotenhermen F., editor. Cannabis und Cannabinoide. Pharmakologie, Toxikologie und Therapeutisches Potenzial. Göttingen: Hans Huber Verlag, 87-92.
- Casarett L.J., Doull J. and Klaassen C.D. 2008. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (version 7th ed). 7th ed. New York: McGraw-Hill.
- Chiang C.N., Rapaka R.S. 1987. Pharmacokinetics and disposition of cannabinoids. *NIDA Res Monogr*, 79: 173-88
- El Sohly M., Gul W. 2014. In Handbook of Cannabis; Pertwee, R., Ed; Oxford University Press: Oxford; pp3-22.
- Garrett E.R., Hunt C.A. 1974. Physicochemical properties, solubility, and protein binding of Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *J Pharm Sci*, 63: 1056-64.
- Greydanus D.E., Hawver E.K., Greydanus M.M. and Merrick J. 2013. Marijuana: current concepts. *Frontiers in Public Health*, 1-17.
- Grotenhermen F. 2003. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cannabinoids. *Clin Pharmacokinet*, 42 (4).
- Jaeger W., Benet L.Z., Bornheim L.M. 1996. Inhibition of cyclosporine and tetrahydrocannabinol metabolism by cannabidiol in mouse and human microsomes. *Xenobiotica*, 26: 275-84.
- Lemberger L., Weiss J.L., Watanabe A.M., Galanter I.M., Wyatt R.J., Cardonet P.V. 1972. Delta-9-tetrahydrocannabinol. Temporal correlation of the psychologic effects and blood levels after various routes of administration. *N Engl J Med*, 286: 685-8.
- Lichtman A.H., Peart J., Poklis J.L., Bridgen D.T., Razdan R.K., Wilson D.M., Poklis A., Meng Y., Byron P.R., Martin B.R. 2000. Pharmacological evaluation of aerosolized cannabinoids in mice. *Eur J Pharmacol*, 399: 141-9.
- Mechoulam R. and Parker L. 2013. The endocannabinoid system and the brain. *Annual review of psychology*, 62: 21-47.
- Nadulski T., Pragst F., Weinberg G., Roser P., Schnelle M., Fronk E-M., Stadelmann A.M. 2005. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study About the Effects of Cannabidiol (CBD) on the Pharmacokinetics of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) After Oral Application of THC Verses Standardized Cannabis Extract. *Ther Drug Monit*, 27:799-810.
- National Academy of Sciences (NAS). 2017. The Health Effects of Cannabis and Cannabinoids: The Current State of Evidence and Recommendations for Research.
- Ohlsson A., Lindgren J.E., Wahlén A., Agurell S., Holmlister L.E., Gillespie H.K. 1982. Single dose kinetics of deuterium labelled Δ^1 -tetrahydrocannabinol in heavy and light cannabis users. *Biomed Mass Spectrom*, 9 (1): 6-10.
- Pertwee R.G. 2014. Handbook of Cannabis, Oxford: Oxford University Press.
- Sánchez A. Y.L. 2007. Vías de administración de fármacos. *Revista Electrónica de PortalesMedicos.com* – ISSN 1886-8924 –<https://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/775/1/Vias-de-Administracion-de-Farmacos.html>
- Sporkert F., Pragst F., Ploner C.J., Tschirch A., Stadelmann A.M. Pharmacokinetic investigation of delta-9-tetrahydrocannabinol and its metabolites after single administration of 10mg Marinol in attendance of a psychiatric study with 17 volunteers. Poster at the 39th Annual International Meeting, International Association of Forensic Toxicologists; 2001 Aug 26-30; Prague, Czech Republic.
- Timpone J.G., Wright D.J., Li N., Egorin M.J., Enama M.E., Mayers J., Galetto G. 1997. The safety and pharmacokinetics of single-agent and combination therapy with megestrol acetate and dronabinol for the treatment of HIV wasting syndrome. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 13: 305-15.
- Wall M.E., Sadler B.M., Brine D., Taylor H., Perez-Reyes M. 1983. Metabolism, disposition, and kinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol, in men and women. *Clin Pharmacol Ther*, 34: 352-63.
- Wall M.E., Sadler B.M., Brine D., Taylor H., Perez-Reyes M. 1983. Metabolism, disposition, and kinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol, in men and women. *Clin Pharmacol Ther*, 34:352-363.
- Yamamoto I., Watanabe K., Narimatsu S., Yoshimura H. 1995. Recent advances in the metabolism of cannabinoids. *Int J Biochem Cell Biol*, 27: 741-6.

RELEVANCIA DE DROSOPHILA MELANOGASTER EN LA INVESTIGACIÓN PRE-CLÍNICA SOBRE CANNABINOIDES

Paola Ferrero^{1,2}

¹ Centro de Investigaciones Cardiovasculares “Dr Horacio E Cingolani” (CONICET/UNLP)

² Universidad Nacional del Noroeste de la provincial de Buenos Aires (UNNOBA).

pvferrero@comunidad.unnoba.edu.ar

RESUMEN

El conocimiento del sistema endocannabinoide humano proviene, en gran parte, del estudio de modelos animales incluidos ratones, peces y la mosca de la fruta, quienes poseen también un sistema endocannabinoide. En función de esto, fitocannabinoides y cannabinoides sintéticos, ejercen efectos en los organismos, mediados a través de receptores y enzimas que intervienen en la síntesis y degradación de ligandos endógenos. Este trabajo tiene como objetivo presentar una síntesis de los aportes que la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* ha realizado al conocimiento de enfermedades humanas modeladas en este organismo y al uso de cannabinoides con fines terapéuticos. Se presenta un ejemplo de parkinsonismo y uno de epilepsia, producidos por mutaciones de genes homólogos al humano como *dj-1b* y *eag*, respectivamente. En los pacientes, los cannabinoides son utilizados en estas enfermedades para controlar síntomas y mejorar la calidad de vida. *Drosophila melanogaster* responde a los fitocannabinoides, lo que se evidencia por cambios en la movilidad y la actividad cardíaca. El análisis de la función del corazón, implementado en este organismo, tiene sentido en función de que ambas patologías cursan con afecciones cardíacas en el humano. Aquí se explican las vías de administración de cannabinoides, los compuestos utilizados y los parámetros de la actividad cardíaca modificados por estos compuestos en la mosca de la fruta. Este recorrido por la investigación de cannabinoides en *Drosophila melanogaster*, valida su utilidad para futuros *screenings* genéticos explorando cannabinoides en diversas líneas de moscas transgénicas, con el fin de conocer elementos del sistema endocannabinoide menos explorados en el humano.

PALABRAS CLAVES: cannabinoides- *Drosophila melanogaster* – parkinsonismo – epilepsia – corazón

1. EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN LAS ESPECIES ANIMALES

El sistema endocannabinoide (SEC) no es exclusivo del humano; está presente en el resto de los mamíferos y en otros grupos de vertebrados como peces, anfibios, reptiles y aves. Entre los invertebrados, se han identificado componentes del sistema endocannabinoide en erizos de mar, sanquiuelas, cnidarios y nematodos (McPartland y Pruitt 2002; Silver, 2019). El estudio de algunos insectos ha dado lugar a la conclusión de que el sistema endocannabinoide no está presente en este grupo de organismos (McPartland y col, 2001; 2006). Sin embargo, hallazgos posteriores han confirmado lo contrario (Kalliulina y col, 2011; Gómez y col, 2019; He y col, 2020; Jacobs y col, 2020).

El SEC regula muchos aspectos de la fisiología animal; y está compuesto por tres grupos de componentes: 1) los ligandos endógenos, como la anandamida y el 2-araquidonilglicerol (2-AG) 2) los receptores, entre los que se encuentran receptores acoplados a proteína G (CB1r y CB2r) y 3) las enzimas que degradan y reciclan los ligandos como la ácido graso amido hidrolasa (FAAH) y la monoacilglicerol lipasa (MGL) (Silver 2019). Los elementos más estudiados son la anandamida y el 2-AG, las enzimas que intervienen en su metabolismo como la FAAH y la MGL y los receptores CB1 y CB2 (Riquelme-Sandoval y col, 2020). Las comparaciones entre organismos se han basado en estudiar estos componentes, pero existen otros elementos que han sido menos explorados. Además, la respuesta de un organismo ante los fitocannabinoides o los cannabinoides sintéticos, sugiere que existe una vía de señalización responsable del efecto de estas sustancias aún cuando no se hayan identificado en él, los componentes canónicos del sistema endocannabinoide descrito en otras especies. La mosca de la fruta es un ejemplo de esto.

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* es un insecto holometábolo con un ciclo de vida corto que se puede criar fácilmente en el laboratorio. Su estudio ha contribuido al conocimiento de mecanismos de la herencia y el desarrollo en otras especies, incluida la humana. Alrededor del 75% de los genes humanos tienen homólogos en *Drosophila*; y el diseño de moscas transgénicas ha permitido modelar enfermedades humanas neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer, enfermedades cardíacas, renales, diabetes, obesidad, entre otras. Además, *Drosophila melanogaster* ha sido utilizada para estudiar sustancias como alcohol, tabaco, cocaína, metanfetaminas, cafeína y cannabinoides (Ferrero P, 2021).

La mosca de la fruta no posee receptores CB1 y CB2 (McPartland y Pruitt, 2002). Sin embargo, la presencia de endocannabinoides en su hemolinfa (Kalliulina y col, 2015) abrió la posibilidad de considerarla un modelo viable para estudiar los cannabinoides.

2. DROSOPHILA MELANOGASTER COMO MODELO PARA ESTUDIAR ENFERMEDADES HUMANAS

Aquí describiremos dos enfermedades humanas modeladas en la mosca de la fruta que han sido de nuestro interés para abordar un tratamiento con cannabinoides: un tipo de parkinsonismo y uno de epilepsia. En pacientes, la administración de cannabinoides en ambos casos contribuye a paliar los síntomas de las enfermedades (Buhmann y col, 2019; Morano y col, 2020), pero se conoce poco sobre los efectos en otros órganos como el corazón.

2.1 MODELO DE PARKINSONISMO

La enfermedad de Parkinson (EP) es de las enfermedades neurodegenerativas progresivas más frecuentes en humanos. Los síntomas se asocian con la muerte progresiva de neuronas dopaminérgicas del cerebro. A nivel celular, es posible que en estas células ocurra un aumento del estrés oxidativo como consecuencia de una disfunción mitocondrial. Un subgrupo de los casos de EP pueden atribuirse a causas genéticas (Funayama y col, 2022).

Existen variadas líneas de moscas transgénicas para abordar parkinsonismos asociados a causas genéticas. Uno de ellos se basa en la alteración de la proteína DJ-1. Esta proteína, altamente conservada entre especies, en humanos está codificada por el gen PARK7. Se expresa de forma ubicua en todos los tejidos corporales y está implicada en varios procesos celulares, incluido el control homeostático de las especies reactivas de oxígeno (Biosa y col, 2017). Mutaciones en *dj-1* se han vinculado a la aparición temprana de EP (Repici y col, 2019). Dada la relevancia de esta proteína en el control del estado oxidativo de las células, su alteración puede tener un impacto no solo en la actividad de las neuronas, sino en la función cardíaca.

2.2 MODELO DE EPILEPSIA

La epilepsia es un trastorno neurológico caracterizado por episodios repentinos recurrentes de alteracio-

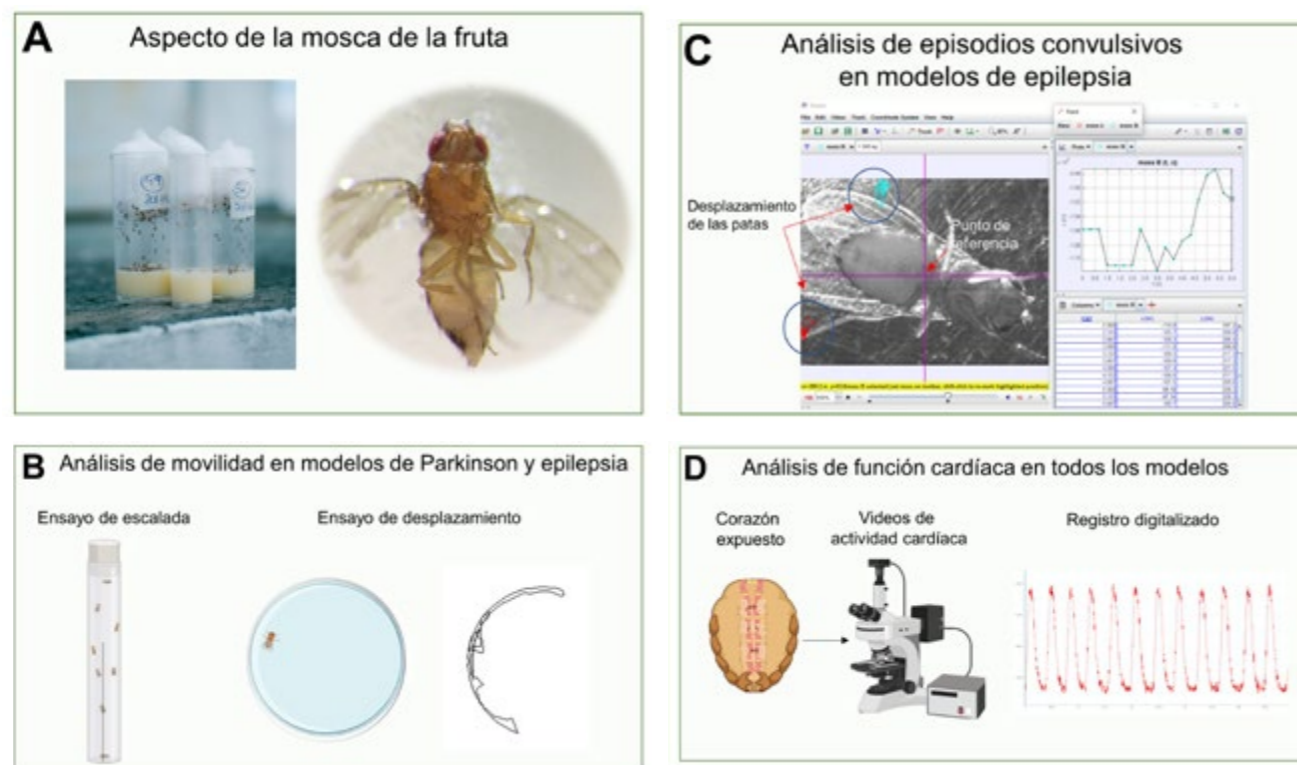


Figura 1

Técnicas utilizadas en el estudio de *Drosophila melanogaster* y su respuesta a cannabinoides

A. Aspecto de *Drosophila melanogaster*. Se muestra un vial con individuos en su interior y una imagen de la mosca de la fruta observada en un microscopio estereoscópico con un aumento 3X. B. Dos ensayos para evaluar movilidad: 1. el ensayo de escalada permite contar la cantidad de moscas capaces de escalar una distancia de 8 cm de altura desde la base, dentro del vial. Es útil para medir actividad motora en el modelo de parkinsonismo; 2. el ensayo de desplazamiento permite medir la distancia, el desplazamiento y la velocidad de la mosca en una superficie delimitada por una caja de Petri de 60 mm de diámetro. Es útil para evaluar actividad motora luego de episodios convulsivos en moscas con epilepsia. C. Análisis la intensidad de los episodios convulsivos en un modelo de epilepsia. Se puede medir el movimiento de las patas durante la convulsión, a partir de una posición de referencia. D. Registro de la actividad cardíaca. El movimiento del corazón es registrado mediante una cámara de alta velocidad a 250 marcos por segundo y el registro es digitalizado para medir parámetros de la función cardíaca.

nes sensoriales y motoras, causadas por una actividad eléctrica anormal en el cerebro. Las epilepsias genéticas constituyen el 30% de todas las epilepsias (Hebbar y Mefford, 2020) y los estudios epidemiológicos han demostrado que las personas con epilepsia tienen una mayor prevalencia de enfermedad cardíaca estructural (Keezer y col, 2016).

Los sistemas nerviosos de las moscas y de los mamíferos presentan similitudes en los componentes de las membranas excitables. Los genes que codifican para los canales de Na⁺, K⁺ y Ca²⁺, y los receptores de acetilcolina, glutamato y ácido gama-

aminobutírico, están conservados en la mosca de la fruta. Una descarga eléctrica de intensidad suficiente aplicada al cerebro de *Drosophila*, provoca una actividad neuronal en espiga de aspecto similar a las convulsiones observadas en otros animales con sistemas nerviosos complejos, incluidos los humanos (Parker y col, 2011). Existen diferentes líneas de moscas transgénicas que presentan alteraciones en genes asociados con el desarrollo de epilepsia. A su vez, los episodios convulsivos en estas moscas pueden ser desencadenados por estímulos eléctricos, mecánicos, temperatura o anestesia (Mituzaiter y col, 2021).

3. ESTUDIO DE LOS CANNABINOIDES EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Nuestro grupo de investigación fue el primero en mostrar que existía una respuesta funcional a los fitocannabinoides en la mosca de la fruta, pese a la ausencia de receptores CB1 y CB2 (Gomez y col, 2019). Desarrollamos en el laboratorio un dispositivo sencillo y portable, para vaporizar varios individuos simultáneamente (Santalla y col, 2021), una ventaja conferida por *Drosophila*, a diferencia de otros modelos animales. Utilizamos una cepa con alto contenido de THC (relación THC:CBD 18:1) en una línea de *Drosophila*, *Canton S*, y demostramos que los fitocannabinoides modulan la función del corazón. Un tratamiento crónico de corta duración, aumenta las arritmias cardíacas, mientras que un tratamiento prolongado, favorece la contractilidad (Gomez y col, 2019). Seguidamente, exploramos modelos de enfermedad. La Figura 1 resume las técnicas utilizadas en el estudio de *Drosophila melanogaster* y su respuesta a cannabinoides en nuestro laboratorio.

Individuos adultos de la línea DJ-1 β que presentan un fenotipo de parkinsonismo, respondieron a los fitocannabinoides. Estos fueron expuestos a una cepa con un contenido de CBD:THC 1:1 mediante vaporización a partir de los 20 días de la vida del adulto, cuando las manifestaciones motoras del parkinsonismo comenzaban a hacerse evidentes. La exposición a esta cepa de *Cannabis sativa*, previno las alteraciones motoras y redujo las arritmias cardíacas inducidas por la enfermedad (Figura 2A).

Por otro lado, la vía digestiva es una de las más utilizadas en el tratamiento con cannabinoides en pacientes. Nosotros exploramos los efectos de la administración de CBD por vía digestiva en nuestro modelo de epilepsia con una mutación del gen *ether a go-go*, que codifica para un canal de K⁺ modulado por nucleótidos cíclicos (Kuebler y col, 2001) cuyo homólogo humano es el gen KCHN1. El método de administración de CBD, denominado CA.FE (del inglés *capillary feeder*) consiste en proveer mediante capilares, una cantidad medible de comida con o sin una droga específica. De este modo, ha sido posible administrar dosis precisas de CBD a lo largo de cinco días a individuos adultos y analizar el movimiento, la duración de los episodios convulsivos y la actividad cardíaca. La figura 2B muestra que el CBD redujo la cantidad de bradicardias detectadas en individuos sometidos a episodios convulsivos. Estos ensayos, aún en curso, podrán ser reproducidos con diferentes extractos y cepas, con el fin de comparar sus efectos considerando también, la interacción entre cananb-

inoides, terpenos, flavonoides y otros compuestos. La tabla 1 resume los estudios de nuestro laboratorio en individuos sanos y en los modelos de enfermedad.

Los efectos de los cannabinoides en la mosca han sido abordados también por otros grupos de investigación. Por ejemplo, He y col, mostraron que el CBD reduce la preferencia de moscas adultas por el alcohol (He y col, 2021). Por otro lado, en un modelo diferente de epilepsia, la anandamida, el 2AG y sus metabolitos reducen los episodios convulsivos. Se observó que los efectos de la anandamida eran bloqueados por la capsaicina, un antagonista de los receptores TRPV1 en el mamífero. Así, identificaron el producto de un gen semejante a los TRPs del mamífero, como mediador de la respuesta (Jacobs y col, 2020). Estos hallazgos, validaron nuestros primeros datos publicados cuando todavía se consideraba que la mosca de la fruta no era viable para estudiar cannabinoides, por carecer de receptores CB1 y CB2.

4. CONCLUSIONES

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* es un modelo robusto para estudiar endocannabinoides, fitocannabinoides y componentes sintéticos. Su SEC cuenta con mediadores cuyos genes están conservados en relación con otras especies, como receptores y enzimas que intervienen en el metabolismo de los ligandos. Es un modelo en el que se pueden utilizar la vía inhalatoria y digestiva, controlar la dosificación y evaluar comportamiento, movilidad y función cardíaca entre otros parámetros. Se puede alterar genéticamente cada componente del SEC, así como modelar enfermedades humanas para investigar los efectos de la administración de cannabinoides.

5. AGRADECIMIENTOS

Al equipo de trabajo del Dr Andrinolo, Mamá Cultiva y asociación Civil PlantAr Ciencia por el aporte de cepas de *Cannabis sativa* y la colaboración en los estudios realizados.

6. CONFLICTO DE INTERESES

La autora declara no tener conflictos de intereses.

7. FINANCIAMIENTO

PICT 2014-2549 y PIP 2021-2930, titular PF.

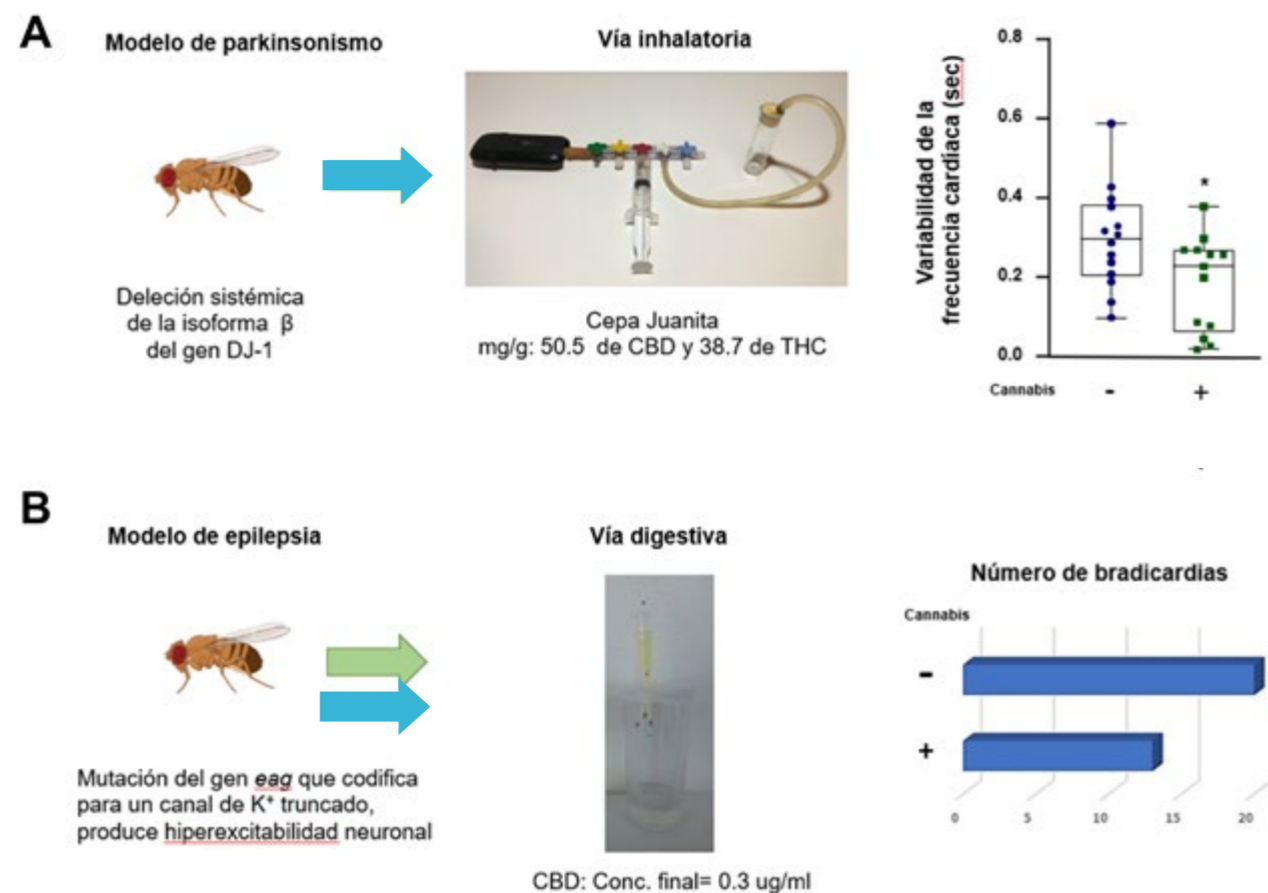


Figura 2

Vías de administración de cannabinoides en el estudio de dos enfermedades modeladas en la mosca de la fruta

A. Moscas transgénicas que constituyen un modelo de parkinsonismo fueron vaporizadas con una cepa de *Cannabis sativa*. Se muestra uno de los parámetros evaluados, que es la variabilidad de la frecuencia cardíaca, expresada a través del índice de arritmias (IA). Si el IA es mayor, existe mayor variabilidad de la frecuencia de los latidos cardíacos. Las moscas con fenotipo de parkinsonismo presentan mayor IA. La administración de cannabinoides en este grupo, redujo dicha variabilidad. B. Moscas transgénicas que constituyen un modelo de epilepsia. En este grupo, se administró CBD (GW Pharmaceuticals Pharm GmbH; Frankfurt, Germany). Uno de los parámetros evaluados fue la presencia de bradicardias. Las bradicardias representan una prolongación del intervalo diastólico o entre latidos. En el modelo de epilepsia estudiado, la administración de CBD redujo la cantidad de bradicardias manifestadas en los individuos con episodios convulsivos inducidos por éter.

Tabla 1: Resumen de los modelos de *Drosophila melanogaster*, tratados con cannabis en nuestro laboratorio

Abreviaturas: 1. BDSC: Bloomington Drosophila Stock Center. 2. Mat herbario: material vegetal colocado en el vaporizador. 3. Vol vaporizado: volumen total vaporizado.

Modelos experimentales	Administración de cannabinoides	Tipo de tratamiento	Compuesto explorado	Parámetros evaluados
Línea salvaje <i>Canton S</i> <i>BDSC</i> <i>stock # 9514</i>	Vía inhalatoria	Crónico, en individuos adultos durante 10 a 13 días	Cepa de <i>Cannabis sativa</i> con relación THC:CBD 18:1 En mg/g: 1 de CBD y 113.7 de THC. Mat herbario ² : 0.03g. Vol vaporizado: 80 ml diarios.	Sobrevida Comportamiento Actividad cardíaca
Parkinsonismo Alteración del gen <i>dj-1b</i> <i>BDSC</i> <i>stock # 33601</i>	Vía inhalatoria	Crónico, en individuos adultos durante 20 días a partir del día 25	Cepa de <i>Cannabis sativa</i> con relación THC:CBD 1:1 En mg/g: 50.5 de CBD y 38.7 de THC. Mat herbario: 0.03g. Vol vaporizado ³ : 80 ml diarios.	Sobrevida Habilidades motoras Actividad cardíaca
Epilepsia Alteración del gen <i>eag-1</i> <i>BDSC</i> <i>stock # 8187</i>	Vía digestiva	Crónico, en individuos adultos durante 5 días, antes de la inducción de episodios epilépticos en moscas de 10 y 30 días de edad	CBD puro Conc. final= 0.3 ug/ml en la comida	Frecuencia y duración de los episodios convulsivos Habilidades motoras Actividad cardíaca

8. REFERENCIAS

- Biosa A, Sandrelli F, Beltramini M, Greggio E, Bubbaco L, Bisaglia M (2017). Recent findings on the physiological function of DJ-1: Beyond Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 108:65-72. doi: 10.1016/j.nbd.2017.08.005. Epub 2017 Aug 18. PMID: 28823929.
- Buhmann C, Mainka T, Ebersbach G, Gandor F (2019). Evidence for the use of cannabinoids in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 126(7):913-924. doi: 10.1007/s00702-019-02018-8. Epub 2019 May 27. PMID: 31131434.
- Ferrero, PV. (2021). How similar are you to the fruit fly? *Drosophila melanogaster* as model for studying human diseases. *Physiological Mini Reviews.*14:5.
- Funayama M, Nishioka K, Li Y, Hattori N. (2022). Molecular genetics of Parkinson's disease: Contributions and global trends. *J Hum Genet.* doi: 10.1038/s10038-022-01058-5. Epub ahead of print. PMID: 35821405.
- Gómez IM, Rodríguez MA, Santalla M, Kassis G, Colman Lerner JE, Aranda JO, Sedán D, Andrinolo D, Valverde CA, Ferrero P. (2019). Inhalation of marijuana affects *Drosophila* heart function. *Biol Open.* 8(8):bio044081. doi: 10.1242/bio.044081. PMID: 31324618; PMCID: PMC6737967.
- He J, Tan AMX, Ng SY, Rui M, Yu F. (2021). Cannabinoids modulate food preference and consumption in *Drosophila melanogaster*. *Sci Rep.*11(1):4709. doi: 10.1038/s41598-021-84180-2. PMID: 33633260; PMCID: PMC7907270.
- Hebbard M, Mefford HC. (2020). Recent advances in epilepsy genomics and genetic testing. *F1000Res.* 9:F1000 Faculty Rev-185. doi: 10.12688/f1000research.21366.1. PMID: 32201576; PMCID: PMC7076331.
- Jacobs JA, Sehgal A. (2020). Anandamide Metabolites Protect against Seizures through the TRP Channel Water Witch in *Drosophila melanogaster*. *Cell Rep.* 31(9):107710. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107710. PMID: 32492422; PMCID: PMC9161705.
- Khaliullina H, Bilgin M, Sampaio JL, Shevchenko A, Eaton S. Endocannabinoids are conserved inhibitors of the Hedgehog pathway. (2015). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112(11):3415-20. doi: 10.1073/pnas.1416463112. Epub 2015 Mar 2. PMID: 25733905; PMCID: PMC4371992.
- Keezer MR, Sisodiya SM, Sander JW. (2016). Comorbidities of epilepsy: current concepts and future perspectives. *Lancet Neurol.* 15(1):106-15. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00225-2. Epub 2015 Nov 6. Erratum in: *Lancet Neurol.* 2016 Jan;15(1):28. PMID: 26549780.
- Kuebler D, Zhang H, Ren X, Tanouye MA. (2001). Genetic suppression of seizure susceptibility in *Drosophila*. *J Neurophysiol.* 86(3):1211-25. doi: 10.1152/jn.2001.86.3.1211. PMID: 11535671.
- McPartland J, Di Marzo V, De Petrocellis L, Mercer A, Glass M. (2001). Cannabinoid receptors are absent in insects. *J Comp Neurol.*436(4):423-9. doi: 10.1002/cne.1078. PMID: 11447587.
- McPartland, J & Pruitt, P. (2002). Sourcing the Code: Searching for the Evolutionary Origins of Cannabinoid Receptors, Vanilloid Receptors, and Anandamide. *J Cannabis Ther.* 1. 10.1300/J175v02n01_04.
- McPartland JM, Agraval J, Gleeson D, Heasman K, Glass M. (2006). Cannabinoid receptors in invertebrates. *J Evol Biol.*19(2):366-73. doi: 10.1111/j.1420-9101.2005.01028.x. PMID: 16599912.
- Mituzait J, Petersen R, Claridge-Chang A, Baines RA. (2021). Characterization of Seizure Induction Methods in *Drosophila*. *eNeuro.* 8(4):ENEURO.0079-21.2021. doi: 10.1523/ENEURO.0079-21.2021. PMID: 34330816; PMCID: PMC8387149.
- Morano A, Fanella M, Albini M, Cifelli P, Palma E, Giallonardo AT, Di Bonaventura C. (2020). Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy: Current Status and Future Prospects. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 16:381-396. doi: 10.2147/NDT.S203782. PMID: 32103958; PMCID: PMC7012327.
- Parker L, Howlett IC, Rusan ZM, Tanouye MA. (2011). Seizure and epilepsy: studies of seizure disorders in *Drosophila*. *Int Rev Neurobiol.*99:1-21. doi: 10.1016/B978-0-12-387003-2.00001-X. PMID: 21906534; PMCID: PMC3532860.
- Repici M, Giorgini F. (2019). DJ-1 in Parkinson's Disease: Clinical Insights and Therapeutic Perspectives. *J Clin Med.* 8(9):1377. doi: 10.3390/jcm8091377. PMID: 31484320; PMCID: PMC6780414.
- Riquelme-Sandoval A, Sá-Ferreira C, Miyakoshi L, Hedin-Pereira C. (2020). New Insights Into Peptide Cannabinoids: Structure, Biosynthesis and Signaling. *Frontiers in Pharmacology.* 11. 10.3389/fphar.2020.596572.
- Santalla M, Gómez IM, Valverde CA, Ferrero P. (2021). A low-cost Portable Device to Deliver Smoke, Volatile or Vaporized Substances to *Drosophila melanogaster*, Useful for Research and/or Educational Assays. *Bio Protoc.* 2021 Dec 5;11(23):e4244. doi: 10.21769/BioProtoc.4244. PMID: 35005089; PMCID: PMC8678554.
- Silver RJ. (2019). The Endocannabinoid System of Animals. *Animals (Basel).* 9(9):686. doi: 10.3390/ani9090686. PMID: 31527410; PMCID: PMC6770351.

Quiénes somos

Comite Editorial

Dra. Daniela Sedan | Directora. Bioquímica y Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Investigadora de CONICET perteneciente al Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM-CONICET-UNLP). Docente del Área de Toxicología (FCE-UNLP). Directora del proyecto de Extensión “Cannabis y Salud Comunitaria” perteneciente al Programa de Extensión de Ambiente y Salud Comunitaria de la UNLP. Integrante de la Cátedra Libre de Cannabis y Salud de la UNLP.

Lic. Fernando Ferreira Ferreyra | Lic. en Trabajo Social. UBA. Especialista en Urgencias y Violencia Familiar (UBA). Especialización en Trabajo Social en Salud Orientación Salud Mental. Ministerio de Salud de la pcia. de Buenos Aires. Presidente de la Asociación Civil Acceda Cannabis Medicinal. Docente en la materia “Desafíos y tensiones en torno a la intervención del Trabajo Social en el campo del cannabis terapéutico”. Facultad de Ciencias Sociales de la UBA. Docente y coordinador general del curso para el diseño de políticas públicas en cannabis en los municipios de Lamadrid y Tandil, pcia de Buenos Aires.

Comité Científico

Dr. Dario Andrinolo | Dr. en Ciencias Biomédicas (Universidad de Chile). Investigador principal de CONICET. Profesor de Toxicología de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP. Vicedirector del Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM-CONICET- UNLP). Coordinador del Proyecto de Extensión “Cannabis y Salud Comunitaria” perteneciente al Programa de Extensión de Ambiente y Salud Comunitaria de la UNLP. Integrante de la Cátedra Libre de Cannabis y Salud de la UNLP.

Dra. Mariela Morante | Médica Especialista en Medicina Interna. Certificada en Cuidados Paliativos y Experta en Dolor del Instituto de Neurociencias Alexander Luria. Coordinadora y Docente del curso de postgrado de Endocannabinología y terapéutica cannábica. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. Presidenta de la Sociedad Argentina de Endocannabinología y Terapéutica Cannábica. Docente en formaciones de posgrado en Cannabis en las Universidades de Quilmes, Rosario, Entre Ríos, la Federación Médica de Buenos Aires. Docente y coordinadora de contenidos clínicos en curso para el diseño de políticas públicas en cannabis en los municipios de Lamadrid y Tandil, pcia de Buenos Aires.

Dra. Romina Montiel | Médica especialista en Medicina General. Certificación en Cuidados Paliativos por la Academia Nacional de Medicina. Postgrado en Endocannabinología de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Postgrado en Salud Social y Comunitaria (Ministerio de Salud de la Nación/UBA). Médica de planta del equipo interdisciplinario de Cuidados Paliativos del Instituto de Oncología Ángel Roffo (UBA). Integrante del Equipo de atención en el Programa Integral de Usos de Cannabis Medicinal de San Vicente.

Dra. Marina Elichiry | Médica especialista en Medicina General. Posgrado en Cuidados Paliativos Instituto Pallium. Integrante del Programa Público de Uso Integral de Cannabis Medicinal de San Vicente. Integrante del Servicio de Cuidados Paliativos Instituto Oncológico Ángel Roffo (UBA). Docente en capacitación en curso para el diseño de políticas públicas en cannabis en los municipios de Lamadrid y Tandil, pcia. de Buenos Aires.

Lic. Constanza Canali | Licenciada en Trabajo Social (UBA). Especialista en Medicina Social y Comunitaria – (Ministerio de Salud de la Nación/UBA) Diplomada en Cannabis por la UNAJ. Integrante del Equipo del Programa Integral de Usos de Cannabis Medicinal de San Vicente. Docente de la carrera de Trabajo Social de la Facultad de Ciencias Sociales de la UBA. Docente y coordinadora operativa en capacitación en curso para el diseño de políticas públicas en cannabis en los municipios de Lamadrid y Tandil, pcia de Buenos Aires.

Lic. María Solange Noblia | Licenciada en Servicio Social. Becaria en Investigación (UNMDP). Doctoranda en Trabajo Social (UNMDP). Docente de la carrera de Servicio Social (UNMDP). Integrante del Grupo G-TEP de Teoría Social, Estudios Descoloniales y Pensamiento Crítico, Centro Miembro Pleno del Comité Latinoamericano y Caribeño de Ciencias Sociales (CLACSO). Integrante del Grupo ELE de Ética, Lenguaje y Epistemología (UNMDP). Integrante de RESET – Política de drogas y Derechos Humanos. Integrante del Grupo de Extensión Conciencia Cannabis (UNMDP).

Dr. Patricio J. de Urraza | Bioquímico y Doctor en Ciencias Bioquímicas de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesor con dedicación exclusiva de Microbiología General, Área Microbiología e Inmunología del Departamento de Ciencias Biológicas Facultad de Ciencias Exactas (UNLP). Coordinador del proyecto de Extensión “Cannabis y Salud Comunitaria”, perteneciente al Programa de Extensión de Ambiente y Salud Comunitaria de la UNLP. Director de la Cátedra Libre de Cannabis y Salud de la UNLP.

Lic. Cristian Adrián Vaccarini | Licenciado en Biotecnología y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Becario Doctoral CONICET. Integrante del Proyecto de Extensión “Cannabis y Salud Comunitaria” perteneciente al Programa de Extensión de Ambiente y Salud Comunitaria de la UNLP. Integrante de la Cátedra Libre de Cannabis y Salud de la UNLP.

Staff Cannabis & Salud:

Carolina Lopez Scondras: coordinadora

Antual Brunetti: entrevistas

Denise Barberón: diseño gráfico

Raúl Requena: diseño web



CANNABIS Y SALUD



2023 | www.cannabisysalud.org
Bs.As., Argentina

Escanear el código para más información.