



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
DERMATOLOGÍA**

**“EFECTO ANTITUMORAL DEL ACEITE DE CANNABIS TÓPICO EN RATONES
CON CARCINOMA BASOCELULAR”**

Nombre del Autor: Bueno Gómez, Viviana Claudia

Nombre del Asesor: Del Solar Chacaltana, Manuel Armando

LIMA – PERÚ

2019

RESUMEN

Introducción: El Carcinoma Basocelular (CBC), es el cáncer más frecuente de piel. Existe evidencia sostenible que el cannabis actúa como antineoplásico mediante mecanismos proapoptóticos en el cáncer de piel no melanoma. El uso tópico de aceite de cannabis en el CBC aún no ha sido probado. *Objetivos:* La siguiente investigación está orientada a comprobar el efecto antitumoral del aceite de cannabis tópico en ratones con carcinoma basocelular. *Materiales y Métodos:* Este estudio será experimental, y prospectivo; el cual constará en dos etapas: La primera mediante la inducción del CBC a través de la exposición a luz ultravioleta A y B (UVA/UVB) en 40 ratones albinos SKH1-hr, en sesiones de 5 veces por semana por 30 minutos hasta completar 90 sesiones. Se seleccionará la muestra tomando en cuenta los criterios de inclusión mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia en dos grupos: Grupo A: control negativo y Grupo B: control positivo. En la segunda etapa, de tratamiento, se aplicará 0.1ml dos veces al día de aceite de cannabis tópico en los ratones del Grupo B por 21 días consecutivos. El análisis del estudio se hará mediante la medición del riesgo relativo que demostrará el efecto antitumoral del aceite de cannabis mediante crecimiento, detenimiento o disminución del área tumoral, de acuerdo a las tres probabilidades existentes; para comprobar o negar las hipótesis de esta investigación. Este procedimiento se verificará a través de un seguimiento y registro fotográfico.

Palabras clave:

Carcinoma basocelular, cáncer de piel, luz ultravioleta, aceite de cannabis, tópico, antitumoral.

INTRODUCCION

La *Cannabis sativa* (cannabis), es una planta originaria del Asia central y fue cultivada por primera vez en China (2727 A.C.), India, Afganistán y Pakistán; en donde se generó el primer registro de sus usos medicinales. (1), (2) Sus propiedades han sido ampliamente aprovechadas por el hombre. Datos históricos revelan su uso como alimento, fuente de fibras; así como fin recreativo, espiritual y para aliviar diversas enfermedades.

En Perú, el cannabis para uso medicinal ya está aprobado. En febrero del año 2019 se reglamentó el uso del cannabis con fines terapéuticos. (3)

Es importante resaltar que los términos *Cannabis sativa* y marihuana, no son sinónimos. El término marihuana se refiere al preparado elaborado de las flores, hojas y tallos provenientes de la planta. (4) El cáñamo o aceite de cáñamo o aceite de semillas de cáñamo, se obtiene de las semillas de la planta y no contiene cannabinoides.

De la misma planta (*Cannabis sativa*), se obtiene dos productos importantes: el hachís y el aceite de cannabis. El hachís se refiere a la resina desecada producida por las inmunofluorescencias femeninas (cogollos). El aceite de cannabis es una mezcla de aceites esenciales y resina extraída de la planta por medio de solventes. (5)

El extracto concentrado de cannabis, también conocido como aceite de cannabis debido a su aspecto pegajoso y viscoso, se está volviendo cada vez más popular. El propósito de la extracción, seguido a menudo por una etapa de evaporación del solvente, es hacer que los cannabinoides y otros componentes beneficiosos, como los terpenos, estén disponibles en una forma altamente concentrada (6). El ejemplo más conocido de un producto de este tipo se llama 'aceite de Rick Simpson', que con respecto a éste, en el informe de la OMS (7) se comenta sobre la facilidad de fabricación ilícita del aceite Rick Simpson o Lágrimas de Phoenix.¹ Simpson informa que su aceite ha curado el cáncer de muchas personas. Sin embargo, sus afirmaciones son evidencias anecdóticas y generalizan a todos, ya que las formas de cáncer son bastante desconocidas (8). Además, lo más preocupante es que el proceso requiere nafta ligera como disolvente, que a menudo se usa como diluyente de pintura. La nafta ligera es excelente para extraer cannabinoides, pero difícil de purgar del extracto final. Simpson afirma que el poder curativo de su aceite puede superar el riesgo de exposición a residuos de disolventes. (9)

El aceite de Cannabis, será usado para fines de este estudio, la extracción de Cannabis sativa con aceite de oliva o aceite de sésamo es una práctica común utilizada en farmacia para preparación de extractos medicinales (o preparaciones galénicas). (7) Una metodología ampliamente empleada es calentar la inflorescencia suspendida en aceite de oliva (1 g en 10 ml) en un baño de agua a 98 ° C durante 2 horas. El aceite de oliva es un solvente lipofílico con una buena eficiencia de extracción hacia los cannabinoides y todos los otros componentes de inflorescencia del cannabis (terpenos y flavonoides). (10) De hecho, una extracción casi completa de los principales cannabinoides: Tetrahidrocannabinol (THC) Y Cannabidiol (CBD), se pueden lograr en aceite de oliva. (11)

En relación particular al cáncer de piel, de acuerdo con el último informe de la Agencia Internacional de Investigación Sobre el Cáncer (IARC) Globocan 2018; en el Perú, 3,500 personas fueron diagnosticadas de cáncer de piel al final del 2018; de las cuales 700 fallecieron (12).

¹ Rick Simpson es un paciente de cannabis medicinal canadiense conocido por su campaña para la promoción de un método de extracción por solvente que produce un aceite que él llama "Phoenix Lágrimas".

Existen dos tipos de cáncer de piel: el melanoma y el no melanoma. Dentro del segundo, se encuentra el carcinoma basocelular; considerado el cáncer de piel más frecuente. Su desarrollo está directamente relacionado con la exposición a la radiación ultravioleta, (13) y alteraciones genéticas tales como la mutación del gen supresor de tumores que codifica la proteína 53 (Tp53), siendo el más involucrado en la génesis del cáncer de piel ya que controla las vías de señalización involucradas en la división y la apoptosis celular. También se ha encontrado alteración en la función del gen PTCH1, que regula la proliferación y diferenciación celular. (14), (15).

La luz ultravioleta, juega un rol fundamental en la patogenia del CBC. Se ha observado que después de una exposición prolongada a la luz ultravioleta, en este caso del tipo B (UVB), la tumorigénesis aumentó significativamente en ratones con receptores cannabinoides CB1R / CB2R + / + en comparación con ausencia de los mismos CB1R / CB2R - / - , lo que sugiere un papel dependiente del receptor de la carcinogénesis cutánea inducida por luz UV. (16) En contraste, *Gegotek et al.* Defendieron las propiedades antineoplásicas de los cannabinoides. Los autores encontraron una reducción significativa en los receptores endocannabinoides, anandamida (AEA: endocannabinoide derivado sintético) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG: endocannabinoide derivado sintético) en queratinocitos y fibroblastos después de la radiación UVA y UVB. Determinaron que la AEA mostraba actividad inhibitoria del factor nuclear kappa B (NFkB) independientemente de CB1 / CB2R, lo que respalda las propiedades proapoptóticas de los cannabinoides. (17)

Los hallazgos paradójicos (es decir, los cannabinoides exhiben propiedades pro y antineoplásicas) pueden explicarse por sus efectos dependientes de la concentración. Los niveles nano molares de cannabinoides endógenos asociados con UVB y carcinógenos químicos pueden estimular la tumorigénesis del cáncer no-melanoma; mientras que los niveles micro molares de cannabinoides exógenos pueden disminuir el crecimiento del cáncer no-melanoma. (18) Los datos apoyan un efecto similar dependiente de la concentración de los cannabinoides en el desarrollo del melanoma. Esta sugerencia es consistente con estudios previos que demuestran que las concentraciones bajas de anandamida (<10 µM) aumentaron la proliferación de células en cáncer de piel no melanoma, mientras que las concentraciones altas (> 10 µM) causaron la muerte celular por apoptosis. (18), (19).

Los melanomas humanos expresan CB1R / CB2R y la activación de estos receptores se asocia con una disminución del crecimiento y un aumento de la apoptosis en ratones. In vitro e in vivo, el THC induce autofagia, pérdida de viabilidad celular y apoptosis en el melanoma.(19) El THC y el CBD inhibieron la viabilidad, la proliferación y el crecimiento tumoral del melanoma en ratones con xenoinjertos de melanoma de tipo salvaje BRAF16. (20)

Otros estudios muestran que el endocannabinoide, AEA, elimina efectivamente las células del cáncer no melanoma. Éstas sobre expresan la enzima ciclooxygenasa-2 (COX-2), diferenciándola de los queratinocitos normales. Se determinó que la AEA fue metabolizada por la COX-2 a un nuevo metabolito deoxi-prostaglandina-etanolamida J2 (15d-PGJ2-EA) cuya producción fue necesaria para la muerte celular de la AEA. (21)

Por otra parte, el CBC a pesar de ser el cáncer de piel más frecuente, es una neoplasia cutánea de malignidad limitada, crecimiento lento y poca capacidad para dar metástasis. Por su lento crecimiento se asocian con baja mortalidad, pero un pequeño porcentaje de estos tumores, pueden desarrollar recurrencia local o metástasis. Localmente puede ser muy agresivo; si no es tratado a tiempo, este carcinoma tiene la propiedad de destruir los tejidos vecinos, causando ulceración e invadiendo en profundidad cartílago y hueso. Su alta frecuencia lo convierte en una patología de gran interés e importancia para

la ciencia médica; por este motivo, el CBC ha sido y sigue siendo objeto de estudio en distintos lugares del mundo, para conocer aún más sobre su comportamiento clínico, factores de riesgo y características histológicas. (15).

En un estudio realizado en España (22) se pudo comprobar a través de la radiación ultravioleta en los ratones SKH-1 (ratones albinos) el 100% desarrollo neoplasias malignas (cáncer de piel o carcinoma basocelular), así como los signos típicos del fotoenvejecimiento. De acuerdo a este estudio se inocula el carcinoma basocelular a través del siguiente procedimiento: Fueron expuestos 20 ratones SKH-1 a radiaciones ultravioleta, que se aplicaban tres veces a la semana durante 60 min (80 sesiones). Las zonas expuestas a las radiaciones fueron estudiadas macro y microscópicamente. (23)

En otro estudio realizado en la Academia de Oxford (24), la luz UV es un carcinógeno completo, que induce cánceres de piel tanto de células basales como de células escamosas. De acuerdo a este estudio se evidencia el procedimiento de crecimiento de carcinoma basocelular por radiación UV de la siguiente manera: Se incluyeron veintiséis animales tanto en el control no irradiado como en los grupos UV. La irradiación se inició utilizando una dosis de luz que era el 70% de la dosis de luz necesaria para producir edema en experimentos preliminares. Esta fuente de luz fue seleccionada porque imita la exposición al sol natural y se puede administrar fácilmente sobre la gran área de superficie requerida para la irradiación de colonias de ratones. Los ratones se irradiaron durante 5 días / semana comenzando a una dosis de 0.035 J / m² de UVB y 11.34 J / m² de UVA, según lo medido por un medidor internacional de luz - IL1700 (International Light, Newburyport, MA). La dosis de luz se incrementó en un 10% cada semana a una dosis de 0.069 J / cm². La dosis final acumulada fue de 2,62 J / cm² UVB y los ratones fueron irradiados por 13 semanas, momento en el cual se suspendió la radiación UV. Cuando el 90% de los animales en el grupo irradiado tenía al menos un tumor, los ratones se dividieron en dos grupos para que el número y la multiplicidad del tumor fueran aproximadamente iguales (P <0,31). Los tumores se iniciaron con mayor frecuencia en la parte inferior de la espalda y el cuello de los animales irradiados con rayos UV. No se observaron tumores en áreas no expuestas a los rayos UV. (24)

De esta forma se puede evidenciar, la presencia de tumores de tipo carcinoma basocelular por las radiaciones de la luz UV realizados en ratones, y dan paso a la confirmación del origen de los mismos.

Existe evidencia en el uso de cannabis como tratamiento de cáncer no melanoma, es por ello que esta investigación está plenamente justificada. La expresión de receptores cannabinoides en los queratinocitos, nos advierte que los cannabinoides influyen en el desarrollo del carcinoma de células escamosas y basales; por lo que la experimentación en ratones podrá demostrar las interacciones con el cannabis tópico, para detener el progreso de tumores de carcinoma basocelular. (24), (25)

Además, existe evidencia sostenible que el cannabis actúa como antineoplásico mediante mecanismos proapoptóticos en el cáncer de piel tanto melanoma como no melanoma, pero aún no hay estudios centrados en carcinoma basocelular y tampoco en el efecto tópico del cannabis. (26), (27)

Es muy difícil establecer una dosis estandarizada del aceite de cannabis o del Cannabis en general, debido a la compleja farmacodinamia de los cannabinoides a las variaciones individuales entre plantas, a las variaciones genéticas entre pacientes, a las enfermedades y a las expresiones de los receptores cannábicos en cada una de las entidades mórbidas. (28) Por tal razón, la dosis sugerida para el extracto de cannabis es de 2 a 2.5 mg por dosis a 20-40mg por dosis.

La concentración de cannabinoides se mide por proporciones en los aceites de cannabis. Pueden ser de CBD alto con THC bajo, CBD bajo con THC alto o CBD y THC

en cantidades iguales en baja y alta proporción. Según la Cannapedia (Enciclopedia de variedades de Cannabis Medicinal en Israel), un efecto antitumoral podría lograrse en proporciones de T10/C2 (10% de THC y 2% de CD), T10/C10 (10% de CBD y 10% de THC), T15/C3 (15% de THC y 3% de CBD), T20/C4 (20% de THC y 4% de CBD). Hasta el día de hoy, no hay muertes atribuibles a la ingesta de Cannabis, aunque la dosis letal estimada es de 30mg THC/kg en humanos y 1000mg/kg en ratas. (29), (30)

Al probar que existe un efecto antitumoral al aplicar aceite de cannabis en ratones inoculados con carcinoma basocelular, daríamos paso a posteriores estudios en humanos; y esto ofrecería una alternativa de tratamiento a los pacientes con carcinoma basocelular en un futuro.

HIPÓTESIS

H0: El aceite de cannabis tópico no tiene efecto antitumoral en ratones con carcinoma basocelular.

H1: El aceite de cannabis tópico tiene efecto antitumoral en ratones con carcinoma basocelular.

OBJETIVOS

Objetivo general

Comprobar el efecto antitumoral del aceite de cannabis tópico en ratones con carcinoma basocelular.

Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento del carcinoma basocelular en ratones expuestos a la luz ultravioleta A y B (UVA/UVB).
- Describir los efectos de la aplicación del aceite de cannabis tópico en ratones con carcinoma basocelular.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño de estudio:

Experimental, donde se manipula una variable o diversas variables (30), en este sentido se medirá los efectos del aceite de cannabis en la piel del animal con carcinoma basocelular; haciendo manipulación de variables (31).

Población:

Universo: Ratones albinos SKH1-hr. (32)

Población: Ratones albinos SKH1-hr de 7 semanas de vida con peso promedio de 20-25 gr.

Unidad de análisis: ratón albino.

Criterios de Inclusión:

- Ratones albinos SKH1-hr macho.
- Ratones albinos SKH1-hr con evidencia de carcinoma basocelular en la piel, luego del periodo de inducción.
- Ratones albinos con evidencia de carcinoma basocelular en la piel con signos vitales estables.

Criterios de exclusión:

- Ratones albinos SKH1-hr hembra

- Ratones albinos con evidencia de carcinoma basocelular en la piel que no presenten signos vitales estables.

Muestra

El método de muestreo de la población animal es no probabilístico, ya que no tenemos acceso a una lista completa de los individuos que forman la población (marco muestral) y, por lo tanto, no conocemos la probabilidad de que cada individuo sea seleccionado para la muestra.(33) Atendiendo a las características de la población investigada y de los objetivos de la investigación el tipo de método es no probabilístico por conveniencia, el cual consiste en seleccionar una muestra de la población por el hecho de que sea accesible. Es decir, los individuos empleados en la investigación se seleccionan porque están fácilmente disponibles, no porque hayan sido seleccionados mediante un criterio estadístico. En este orden de ideas la muestra tomada ha sido de 40 ratones albinos SKH1-hr, (33) y de ellos, los que tuvieron evidencia de crecimiento de carcinoma basocelular.

Definición operacional de variables:

Aceite de Cannabis: El aceite de cannabis es una mezcla de aceites esenciales y resina extraída de la planta por medio de solventes. (5) *Variable independiente, cualitativa nominal dicotómica.* Aplicando el aceite de cannabis tópico, generará un efecto antitumoral en los ratones (sí o no).

Carcinoma Basocelular: La ubicación del CBC es casi exclusiva de la piel provista de folículos pilosos, por lo que se ha sugerido su origen en la unidad pilosebácea (34). *Variable dependiente, cuantitativa continua de razón.* Se medirá mediante la presencia o ausencia del mismo.

Efecto antitumoral: Dícese de la sustancia o el fármaco que impide el crecimiento de tumores, el crecimiento anormal de las células. (35) *Variable interviniente cualitativa nominal politómica.* Se describirá si hubo crecimiento del tumor, detenimiento del crecimiento del tumor o disminución del tumor.

Procedimientos y técnicas

I Etapa: Inducción del carcinoma basocelular y selección de grupos.

Los animales estarán sometidos a un periodo de inducción del carcinoma basocelular mediante la exposición continua a rayos UV (UVA y UVB) de dos lámparas por cada Jaula, cinco veces por semana durante 30 min, hasta completar 90 sesiones. Tendrán agua y comida en dosis normales según las condiciones experimentales, mantenidos en jaulas individuales en todo el periodo de la prueba, a una temperatura constante de 20 - 25° C y humedad relativa entre 70 - 80° C.

Dosis de exposición a los rayos UV: Inicialmente para inducir el carcinoma basocelular, los ratones serán expuestos a sesiones de rayos ultravioleta comenzando a una dosis de 0.035 J / m² de UVB y 11.34 J / m² de UVA, según lo medido por un medidor internacional de luz - IL1700, 5 veces por semana, durante 30 min. La dosis de luz se incrementará en un 10% cada semana a una dosis de 0.069 J / cm². La dosis final acumulada será de 2,62 J / cm² UVB. Se requerirán 90 sesiones para que los animales desarrollen carcinoma basocelular y demuestren lesiones de foto-envejecimiento.

Selección: Se seleccionaron sólo los animales que cumplen con los criterios de inclusión para el presente ensayo.

Preparación de los animales: Los ratones que presenten evidencia luego del periodo establecido, de foto-envejecimiento y hechos los estudios sobre la efectiva inducción del carcinoma basocelular con prueba histopatológica, a través de la toma de una biopsia cutánea, se procederán a seleccionar en dos grupos:

Grupo 1: (Control negativo) este grupo de animales no será tratado con el aceite de cannabis tópico en las lesiones.

Grupo 2: (Control positivo) Animales tratados tópicamente con el aceite de cannabis.

II Etapa: Tratamiento.

Dosis de exposición al aceite de cannabis una vez inducido el carcinoma: Al grupo de control positivo será suministrada la siguiente dosis: 0.1 ml, 2 veces al día, de aceite de cannabis de manera tópica sobre las lesiones de la piel durante 21 días consecutivos, con comida y agua en condiciones de laboratorio *ab libitum* y jaulas separadas. Posteriormente se tomarán fotografías que mantendrán el seguimiento del procedimiento.

Aspectos éticos del estudio

Los animales serán tratados teniendo en cuenta la Declaración universal de los derechos del animal, aprobada en Londres (23 de septiembre de 1977), referida a protección de los animales y la Constitución y legislación peruana. Estos documentos norman el uso de animales en experimentación e investigación.

Con aprobación del comité institucional de ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Comité de Ética Institucional para el uso de animales – CIA); previa inscripción a la SIDISI (Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación) y llenado de formato F2. Cumpliría con las condiciones del manual del CIA (mediano a alto riesgo).

Plan de Análisis

El plan de análisis se hará de acuerdo a los objetivos.

Para comprobar si hubo o no efecto antitumoral, se realizará mediante el cálculo del *Riesgo Relativo (RR)*.

Se denomina riesgo a la probabilidad de ocurrencia de un evento, típicamente enfermar, morir o curar. Por su parte, Riesgo Relativo es la probabilidad de que un individuo, libre de enfermedad y susceptible de ella, la desarrolle en un periodo determinado, condicionada a que el individuo no muera a causa de otra enfermedad durante el periodo. Se espera que a través de los rayos (UVA/UVB) durante un periodo de tiempo determinado (90 sesiones de 30 min diarios 5 veces por semana) los ratones albinos *SKH1-hr*, desarrollen la enfermedad de carcinoma basocelular. De acuerdo a esto, se realizará la prevalencia como estimador de la probabilidad de que los animales tengan la enfermedad en el momento determinado para el estudio. Y para este caso se utilizará el cociente entre el riesgo en el grupo con el factor y el grupo de referencia como índice de asociación.

En la siguiente tabla se representan esquemáticamente los resultados de un estudio que permita evaluar el *RR*, en la columna nF figuran los eventos (“casos”: a_0) y los “no casos” (b_0) en la categoría que no tiene el factor y en la columna F los de la categoría que sí tiene el factor.

	nF	F
Casos	a_0	a_1
No casos	b_0	b_1
Total	n_0	n_1

Dónde:

$$RR = \frac{\hat{R}_1}{\hat{R}_0} = \frac{a_1/n_1}{a_0/n_0}$$

De acuerdo a lo anterior no es objetivo de este estudio determinar la prevalencia entre los animales que desarrollan carcinoma basocelular inducido con rayos UVA, sino comparar los efectos del aceite de cannabis en los animales que se les aplica y en los que no. Así

que se propone este procedimiento para saber si los animales que desarrollan carcinoma basocelular, mediante los criterios de inclusión y de exclusión, tendrán o no posterior reducción del CBC (efecto antitumoral); pudiendo medir el efecto del aceite de cannabis aplicado tópicamente únicamente en los animales cuyas características físicas y biopsia demuestren carcinoma basocelular. Este procedimiento se verificará a través de un registro fotográfico diario que demostrará crecimiento del tumor, detenimiento del crecimiento del tumor, o disminución del tumor, de acuerdo a las tres probabilidades existentes, para comprobar o negar las hipótesis de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Editorial, Revista de la Sociedad Química del Perú. El Aceite de Cannabis. [Online].; 2017 [cited 2019 Mayo 19. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n3/a01v83n3.pdf> .
2. Actualización de la revisión y síntesis de la evidencia sobre regulación del uso médico de Cannabis [Internet]. Gobierno del Perú. [cited 2019Jun17]. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/279702-actualizacion-de-la-revision-y-sintesis-de-la-evidencia-sobre-regulacion-del-uso-medico-de-cannabis>
3. Peru21 R. Publican reglamento de ley de cannabis medicinal y sus derivados. [Online].; 2019 [cited 2019 mayo 19. Available from: <https://peru21.pe/lima/ejecutivo-publico-reglamento-ley-cannabis-medicinal-derivados-nndc-461655> .
4. Rodriguez Carranza R. Los productos de Cannabis sativa: situación actual y perspectivas en medicina. [Online].; 2012 [cited 2019 mayo 19. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33252012000300009 .
5. Redaccion Infodrogas. www.infodrogas.org. [Online].; 2019 [cited 2019 mayo 19. Available from: <https://www.infodrogas.org/drogas/cannabis?start=3> .
6. The Fortieth meeting of the Expert Committee on Drug Dependence (ECDD) OMS. CANNABIDIOL (CBD) Informe de Revision Critica. [Online].; 2018 [cited 2019 Mayo 19. Available from: <https://www.who.int/medicines/access/controlled-substances/WHOCBDReportMay2018-2.pdf?ua=1> .
7. International Association for Cannabinoid Medicine. www.cannabis-med.org. [Online].; 2019 [cited 2019 mayo 19. Available from: <https://www.cannabis-med.org/index.php?tpl=page&id=35&lng=es> .

8. Tecniagricola R. Descripción de la planta Cannabis Sativa. [Online].; 2012 [cited 2019 mayo 19. Available from: <http://www.tecnicoagricola.es/descripcion-de-la-planta-cannabis-sativa/> .
9. Bewley-Taylor D, Blickman T, Jelsman M. Auge y caída de la prohibición del cannabis La historia del cannabis en el sistema de control de drogas de la ONU y opciones de reforma. [Online].; 2014 [cited 2019 Mayo 19. Available from: <https://www.tni.org/files/download/auge-y-caida-web.pdf> .
10. Ferrari LA, Giannuzzi L. Marihuana Medicinal: su potencial aplicación como medicamento en diversas patologías y los riesgos que entrañan su uso. Breve Revisión. [Online].; 2016 [cited 2019 mayo 19. Available from: [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/C17126C7C077EBEB05258106005F0727/\\$FILE/Marihuana-medicinal-articulo-Ferrari-Giannuzzi-21-Agosto-2016-Concluido.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/C17126C7C077EBEB05258106005F0727/$FILE/Marihuana-medicinal-articulo-Ferrari-Giannuzzi-21-Agosto-2016-Concluido.pdf) .
11. The Fortieth meeting of the Expert Committee on Drug Dependence (ECDD) OMS. Extracts and tinctures of cannabis, Section 1: Chemistry. [Online].; 2018 [cited 2019 Mayo 19. Available from: <https://www.who.int/medicines/access/controlled-substances/Section1Chemistry.pdf?ua=1> .
12. Fundació Institut Catalá de farmacologia. <http://w3.icf.uab.es>. [Online].; 2007 [cited 2019 mayo 19. Available from: <http://w3.icf.uab.es/ficf/es/bin/view/Cannabis/FarmacologiaBasica?skin=print.cannabis> .
13. Molina-Holgado FMH/E. El sistema endocannabinoide cerebral en la enfermedad de Alzheimer. [Online].; 2019 [cited 2019 mayo 19. Available from: <https://www.fundacion-canna.es/el-sistema-endocannabinoide-cerebral-en-la-enfermedad-de-alzheimer> .
14. Lucena S. Identificación de factores implicados en la resistencia del carcinoma basocelular a la terapia fotodinámica. UAM. Departamento de Biología. [Online].; 2017 [cited 2019 mayo 28. Available from: <http://hdl.handle.net/10486/682516> .
15. Jean L. Bologna, MD, Julie V. Schaffer, MD and Lorenzo Cerroni, Dermatology. 4th edition, Elsevier 2018.
16. Cano A. Modelo de Fotocarcinogenesis cutanea en ratones SKH-1 por radiacion ultravioleta. Revista Española de Patología. 2010 Diciembre; 43(4).
17. Garcia R. Proyecto de uso de Cannabis como medicamento. Universidad San Ignacio de Loyola. [Online].; 2018 [cited 2019 mayo 30. Available from: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:lke3iEtzEiYJ:repositorio.usil.edu.pe/handle/USIL/3701+&cd=16&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe> .

18. Soliman E, Van Dross R. Anandamide-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis are mediated by oxidative stress in non-melanoma skin cancer: Receptor-independent endocannabinoid signaling [Internet]. *Molecular carcinogenesis*. U.S. National Library of Medicine; 2016 [cited 2019Jun17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26513129>
19. Armstrong JL, Hill DS, McKee CS, Hernandez-Tiedra S, Lorente M, Lopez-Valero I, et al. Exploiting cannabinoid-induced cytotoxic autophagy to drive melanoma cell death [Internet]. *The Journal of investigative dermatology*. U.S. National Library of Medicine; 2015 [cited 2019Jun17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25674907>
20. Lucena Blas SR. <http://handle.net/10486/682516>. [Online].; 2017. Available from: <http://handle.net/10486/682516> .
21. Van Dross RT. Metabolism of anandamide by COX-2 is necessary for endocannabinoid-induced cell death in tumorigenic keratinocytes [Internet]. *Molecular carcinogenesis*. U.S. National Library of Medicine; 2009 [cited 2019Jun17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19148897>
22. Espejo Porras F. Relevancia del receptor cannabinoide CB2 en la esclerosis, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. [Online].; 2018 [cited 2019 mayo 19. Available from: <https://eprints.ucm.es/51199/1/T40826.pdf> .
23. Pereira L. Aproximación al Cannabis Medicinal o endocannabinología. [Online].; 2018 [cited 2019 mayo 20. Available from: <http://www.codajic.org/sites/www.codajic.org/files/Aproximacion%20cannabis%20-%20Ecuador%202018.pdf> .
24. Pentland A. *Carcinogenesis*, Volume 20, Issue 10, Oxford Academic. October 1999. [Online].; 1999 [cited 2019 mayo 30. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article/20/10/1939/2529787> .
25. Bouchard N. The endocannabinoid system of the skin in health and disease: novel perspectives and therapeutic opp [Internet]. *Issuu*. [cited 2019Jun17]. Available from: https://issuu.com/nicobouchard/docs/the_endocannabinoid_system_of_the_s
26. Kupczyk P, Reich A, Szepietowski JC. Cannabinoid system in the skin – a possible target for future therapies in dermatology [Internet]. *Experimental Dermatology*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111); 2009 [cited 2019Jun17]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-0625.2009.00923.x>
27. Abood ME, Pertwee RG. *Cannabinoids*. Berlin: Springer; 2005.
28. R.G. Pertwee (ed.), *Endocannabinoids, Handbook of Experimental Pharmacology*: Springer 2015.

29. Fuente JRde la. Marihuana y salud. México, D.F.: Fondo De Cultura Económica; 2015.
30. Mechoulam R. Cannabis - the Israeli perspective [Internet]. Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. U.S. National Library of Medicine; 2016 [cited 2019Jun17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26426888>
31. Ferrer J. Conceptos Basicos de Metodologia de la Investigacion.. [Online].; 2010 [cited 2019 mayo 30. Available from: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:HP_t3yIH_WQJ:metodologia02.blogspot.com/p/operacionalizacion-de-variables.html+%&cd=24&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe .
32. Siddhart K. <https://explorable.com/es/estudio-correlacional>. [Online].; 2011 [cited 2019 MAYO 30. Available from: <https://explorable.com/es/estudio-correlacional> .
33. Ortega C. Selección de Muestras para el Estudio de Poblaciones Animales en Acuicultura. Facultad de Veterinaria (Univ. de Zaragoza). 1998.
34. Negrin-Diaz L. Carcinoma Basocelular, Dermatología Venezolana 46(1). [Online].; 2008 [cited 2019 mayo 20. Available from: <http://svderma.org/revista/index.php/ojs/article/viewFile/75/75> .
35. Llopis J. Relacion entre variables cualitativas. [Online].; 2012 [cited 2019 mayo 30. Available from: <https://estadisticaorquestainstrumento.wordpress.com/2012/11/30/tema-7-relacion-entre-variables-cualitativas/> .

PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA

Presupuesto

Descripción	Cant.	S/ C.U	S/C.T
Insumos			
Aceite de Cannabis	06	300.00	1.800.00
Ratones albinos HR-1	40	20.00	800.00
Comida para ratones x 60 días (2 pqt x mes)	04	17.00	68.00
Repuestos y Accesorios			
Tóner	20	20,00	400,00
USB			
Lampara Uva de 36w(390nm) (40\$) al cambio	08	40,00	320,00
en soles tasa: 3.36	04	134.4	537.60
Jeringas (caja)	05	16.00	80.00
Guantes (caja)	05	42.00	210.00
Jaula	40	25.00	1.000.00
Cámara Fotográfica Nikon (499\$) al cambio en	01	1.676.64	1.676.64
soles tasa: 3.36	20	15.00	300.00
Punch	02	24.00	48.00

Laminas Porta y Cubre Objetos (caja x 100 und)			
Papelería en General, Útiles, Materiales de Oficina y otros			
Papel Bond A4	40,000	20,00	800,00
Correctores	03	3,00	9,00
Resaltadores	04	2,00	8,00
Lapiceros	3000	1,00	3000,00
Empastados	20	30,00	600,00
Capacitación en Seminario			784,00
TOTAL			12.441,24

Cronograma

N	Actividades	Meses												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	Elaboración del Proyecto	■												
2	Aprobación del Proyecto		■	■										
3	Ejecución del Proyecto				■	■	■	■	■					
4	Etapa I			■	■	■	■	■	■					
5	Resultados Etapa I							■	■	■				
6	Etapa II							■	■	■				
7	Resultados Etapa II								■	■				
8	Revisión del informe								■	■				
9	Conclusiones y recomendaciones									■	■	■		
10	Sustentación de la Investigación												■	

ANEXOS

Anexo 1.

Hos: HR1 (SKH1-hr) Hairless Mice



Descripción: Homozygous Mutante

Apariencia: Albino

Anexo 2.

Aceite Cannabis



Anexo 3.

Ilustración 1 Aspecto Físico de la Cannabis sativa L. (Linnaeus)



Fuente (tecniaagricola, 2012)

Tabla 1 Leyenda de ilustración 1 Aspecto Físico de la Cannabis sativa L. (Linnaeus)

<i>A – Flor masculina</i>	<i>B- Flor femenina</i>
<i>1 – Flor con estambres</i>	<i>5 – Flores pistiladas con brácteas</i>
<i>2 – Estambre (antera y filamento corto)</i>	<i>6 – Flores pistiladas sin brácteas</i>

<p>3 – <i>Estambre</i></p> <p>4 – <i>Granos de polen</i></p>	<p>7 – <i>Flor pistilada mostrando ovario</i></p>
--	---

- 8 – Semillas (aquenio), con brácteas
- 9 – Semillas sin brácteas
- 10 – Semillas (vista lateral)
- 11 – Semillas (sección transversal)
- 12 – Semillas (sección longitudinal)
- 13 – Semillas sin pericarpio (cáscara)

Fuente (tecnigrícola, 2012).