



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
C.d.L. Scienze Biologiche

**Effetti dei tetraidrocannabinoli sulla proliferazione delle cellule del
cancro orale umano, apoptosi, autofagia, stress ossidativo e danno al
DNA**

**Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell
proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage**

Tesi di laurea
Debora Mancinelli

Sessione autunnale
2021/2022

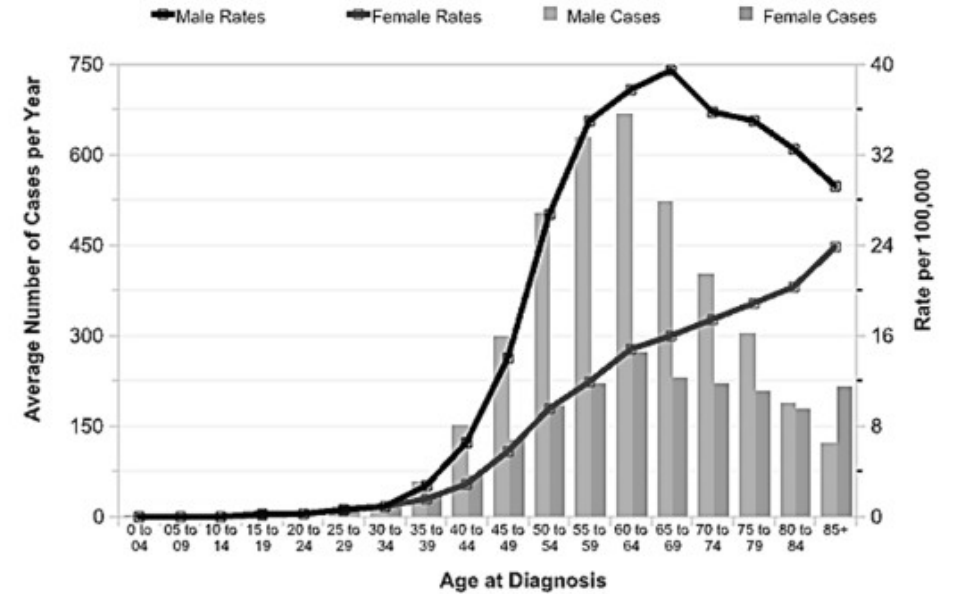
Docente referente
Prof.ssa Francesca Maradonna

INTRODUZIONE

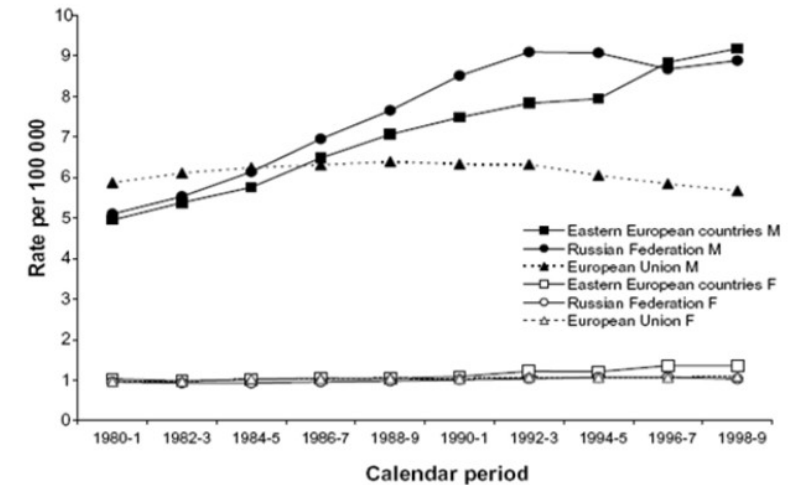
Il cancro è causato dalla comparsa di alterazioni genetiche in alcune popolazioni cellulari, che portano alla loro proliferazione incontrollata e all'invasione di tessuti sani limitrofi.

Secondo la World Health Organization (WHO), ogni anno si contano 657,000 nuovi casi di cancro orale e faringeo e circa 330,000 morti.

Il **carcinoma delle cellule squamose orale (OSCC)** è il cancro orale più diffuso al mondo e i fattori di rischio sono rappresentati dal fumo di tabacco, masticazione della noce di Areca e consumo di alcool; è difficilmente curabile.



<http://math.unife.it/medicina/lm.odontoiatria/insegnamenti/microbiologia-ed-igiene/modulo-di-igiene-generale-ed-applicata/il-cancro-della-cavita-orale>



La Vecchia et al.,
Trends in oral cancer mortality in
Europe *Oral Oncology* 2004



SCOPO



S A T I V A

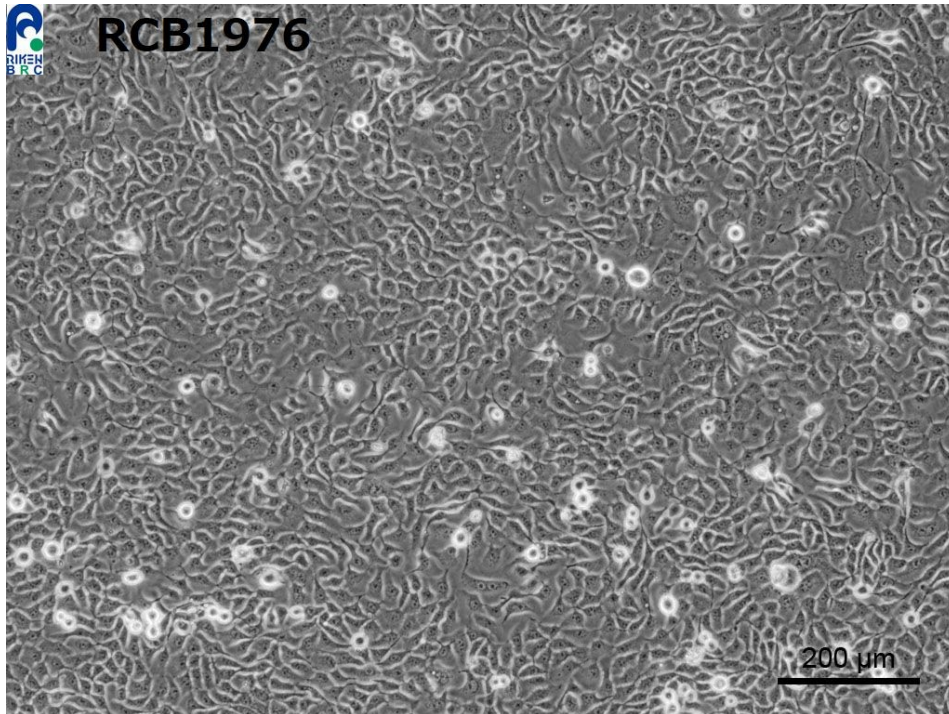
Chemioterapie e/o radioterapie presentano delle limitazioni che potrebbero essere ridotte introducendo molecole naturali estratte dalle piante, come la *Cannabis sativa*. Studi recenti infatti, dimostrano come alcuni cannabinoidi, i suoi componenti attivi, possano avere effetti terapeutici su diverse malattie, incluso il cancro.

L'obiettivo di questo studio, è valutare gli effetti dei cannabinoidi (THC) sulla proliferazione delle cellule del cancro orale, l'induzione di apoptosi/autofagia, stress ossidativo e capacità antiossidanti, focalizzando sulle diverse vie di segnalazione coinvolte nelle risposte delle cellule cancerose.

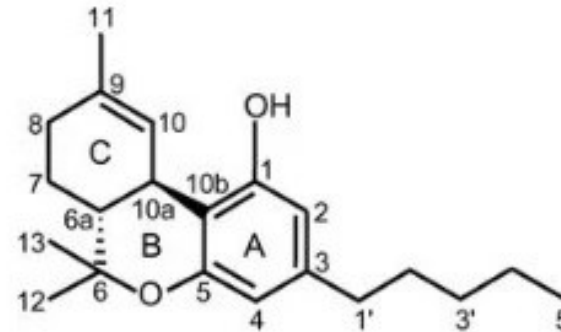
MATERIALI E METODI

Gli attori principali:

Ca9-22, linea cellulare del carcinoma gengivale umano.

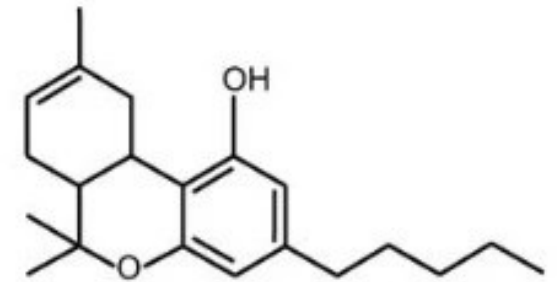


https://cellbank.brc.riken.jp/cell_bank/CellInfo/?cellNo=RCB1976



(-)- Δ^9 -THC

Delta-9-THC



Δ^8 -THC

Delta-8-THC

<https://it.cannabis-mag.com/differenza-delta-8-vs-delta-9/>

MATERIALI E METODI

Effetti del THC sulla proliferazione delle cellule cancerose

Si cerca di capire se il THC risulta tossico per le cellule cancerose e si va quindi a monitorare la vitalità o meno cellulare.

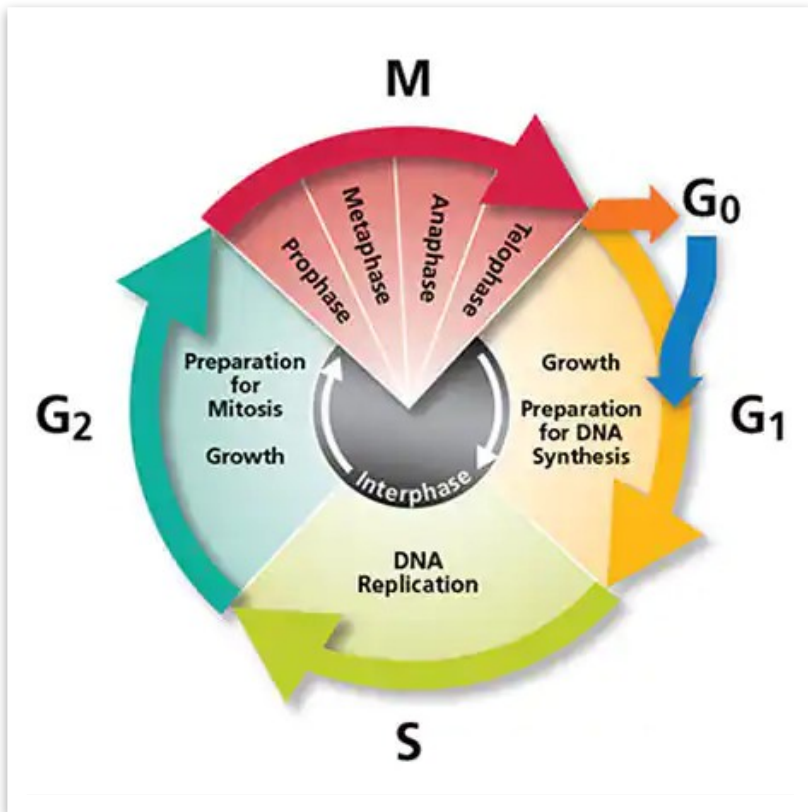
Vengono effettuati diversi saggi:

- MTT assay
- LDH assay
- Hoechst staining
- Colony formation assay



MATERIALI E METODI

Effetti del THC sul ciclo cellulare e l'espressione di diverse molecole



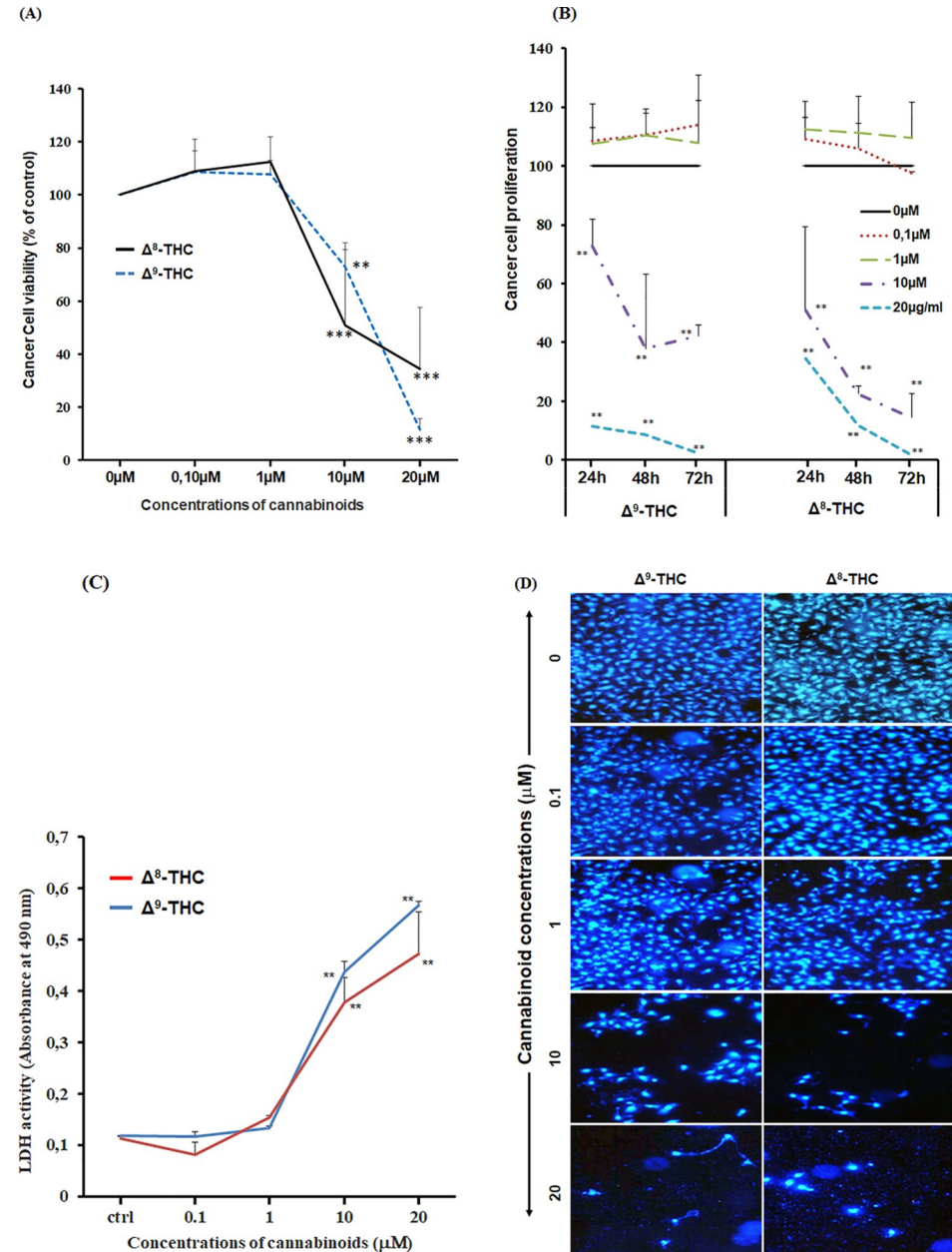
Si fanno poi diverse valutazioni per quanto riguarda:

- l'andamento del ciclo cellulare,
- il verificarsi dell'apoptosi,
- l'attivazione delle caspasi,
- la capacità di riparazione della cellula,
- la produzione di ROS e GSH,
- gli effetti sulle funzioni mitocondriali.

Si effettuano inoltre analisi di Western Blot e valutazione statistica di tutte le analisi effettuate.

RISULTATI

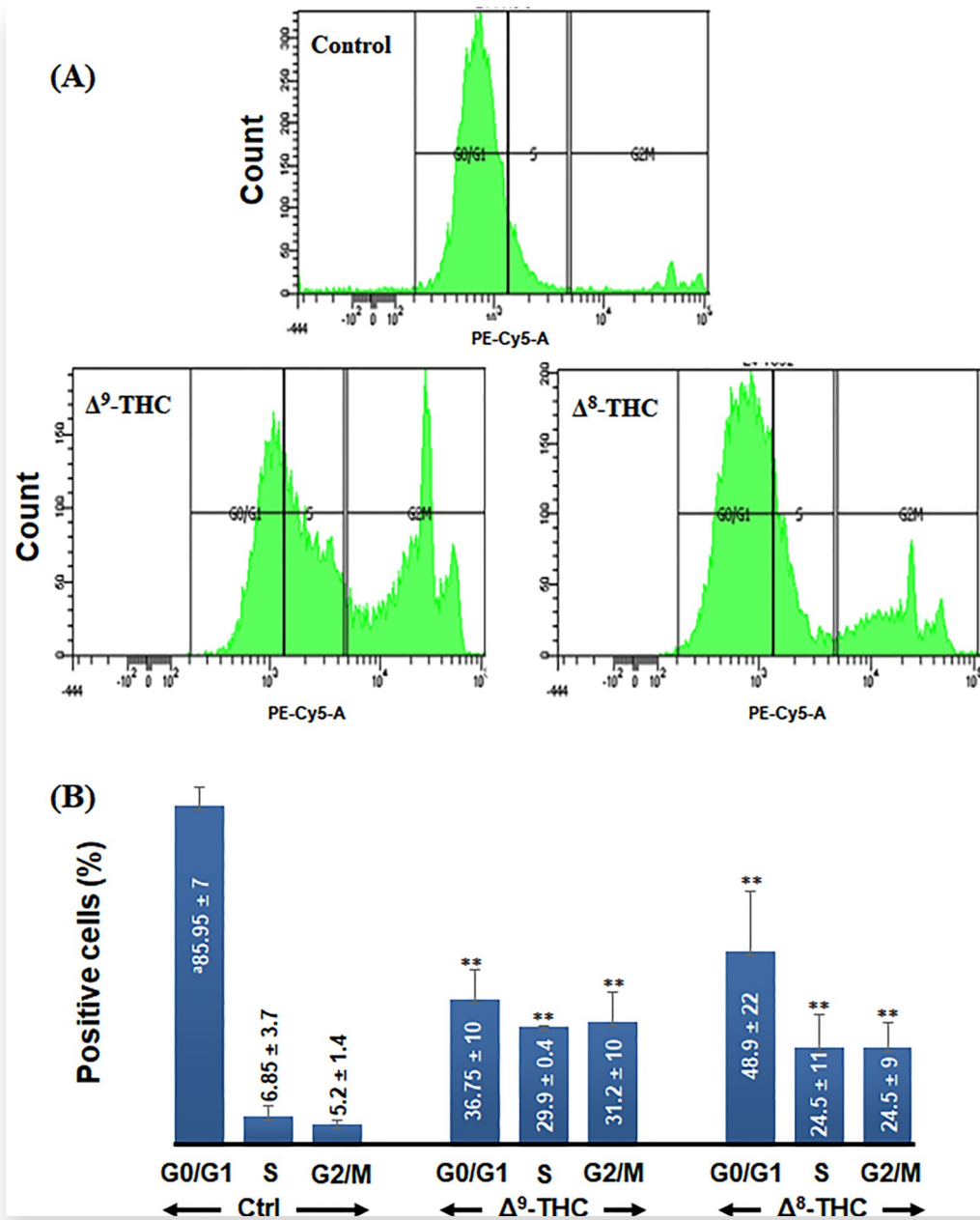
- Δ^9 -THC e Δ^8 -THC HANNO DIMINUITO LA VITALITÀ DELLE CELLULE CANCEROSE ED AUMENTATO L'ATTIVITÀ DELL'LDH



Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

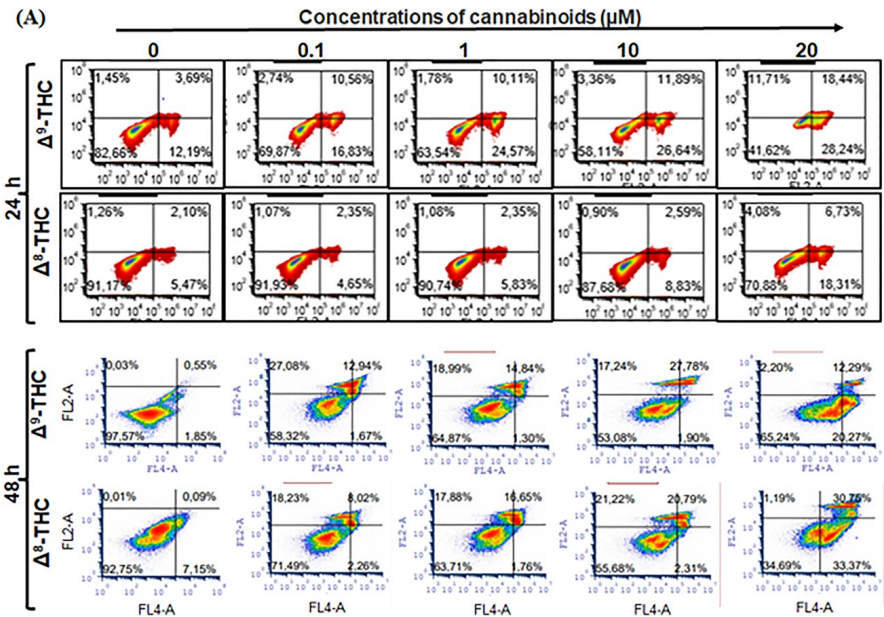
RISULTATI

- Δ^9 -THC e Δ^8 -THC HANNO MODIFICATO L'ANDAMENTO DEL CICLO CELLULARE



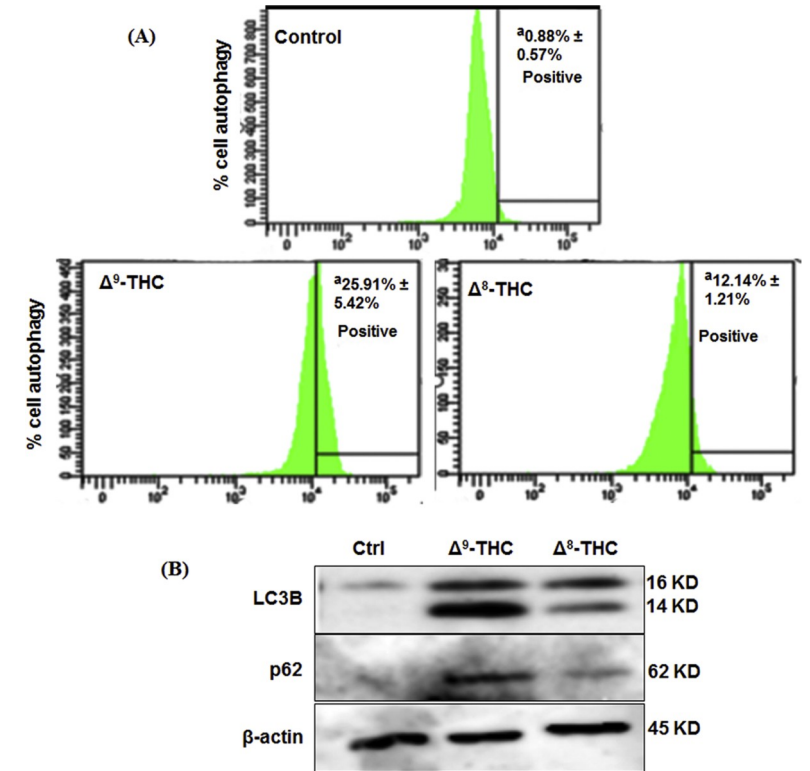
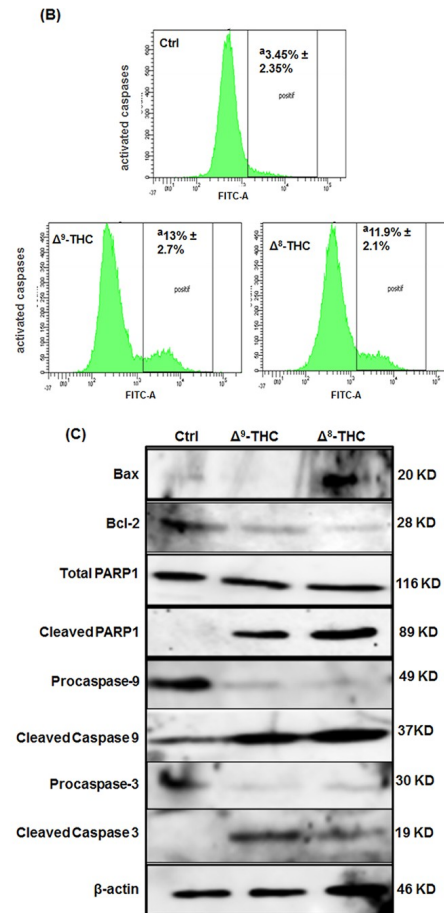
Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

RISULTATI



Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

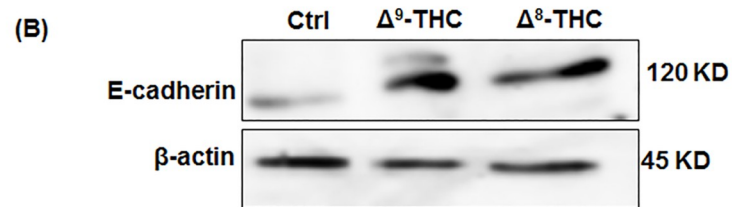
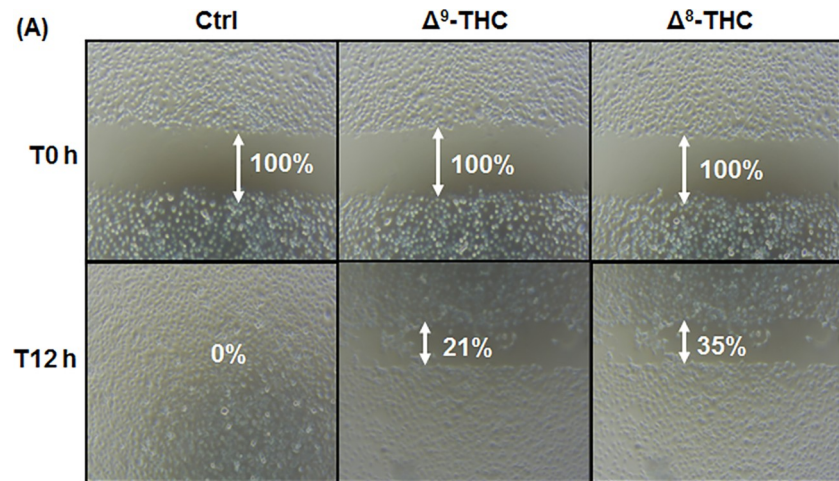
- $\Delta^9\text{-THC}$ e $\Delta^8\text{-THC}$ HANNO AUMENTATO L'ATTIVITÀ DELLA CASPASI 3 RIDUCENDO LA PROLIFERAZIONE CELLULARE



Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

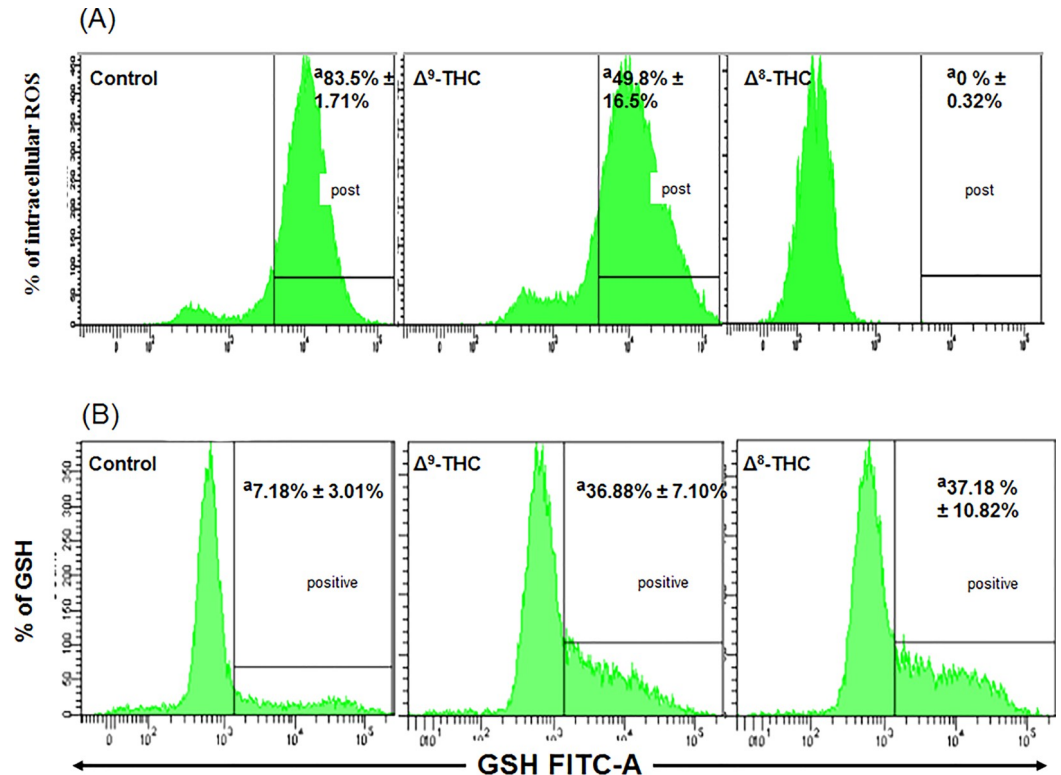
- $\Delta^9\text{-THC}$ e $\Delta^8\text{-THC}$ HANNO PROMOSSO L'AUTOFAGIA DELLE CELLULE CANCEROSE

RISULTATI



Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

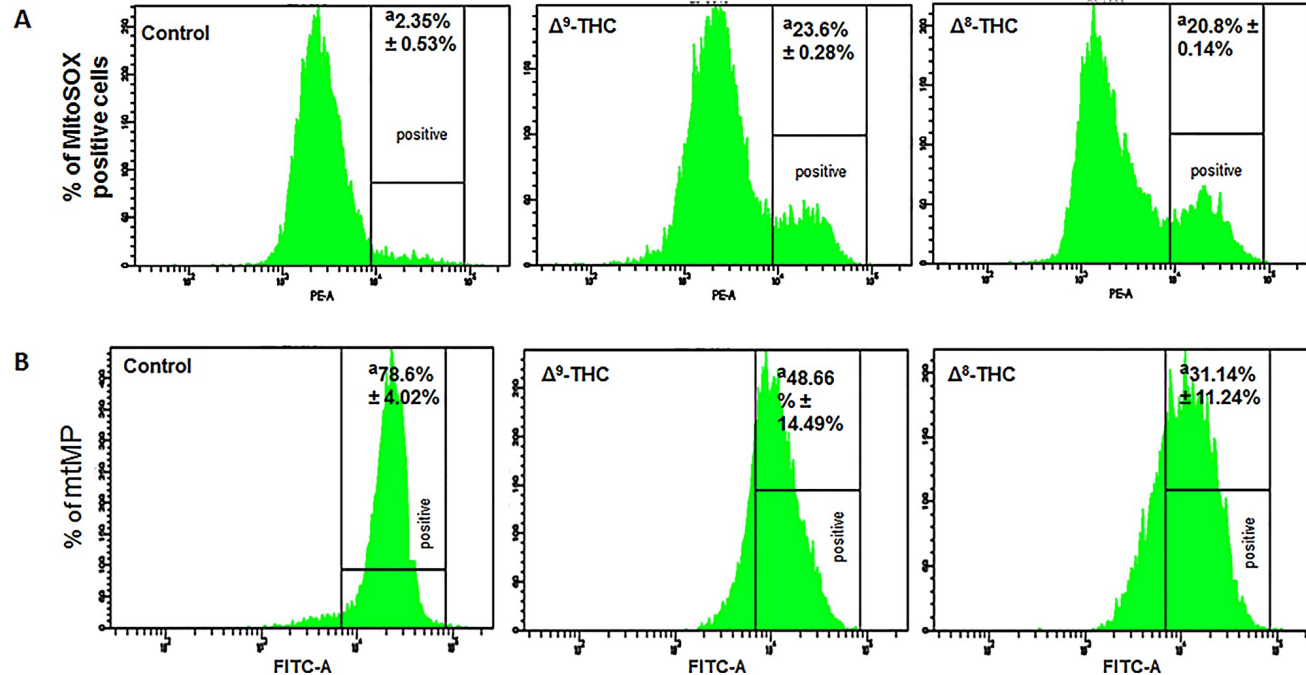
- Δ^9 -THC e Δ^8 -THC HANNO SOPPRESSO LA MIGRAZIONE/INVASIONE E TRANSIZIONE EPITELIO-MESENCHIMALE NELLE CELLULE CANCEROSE



Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

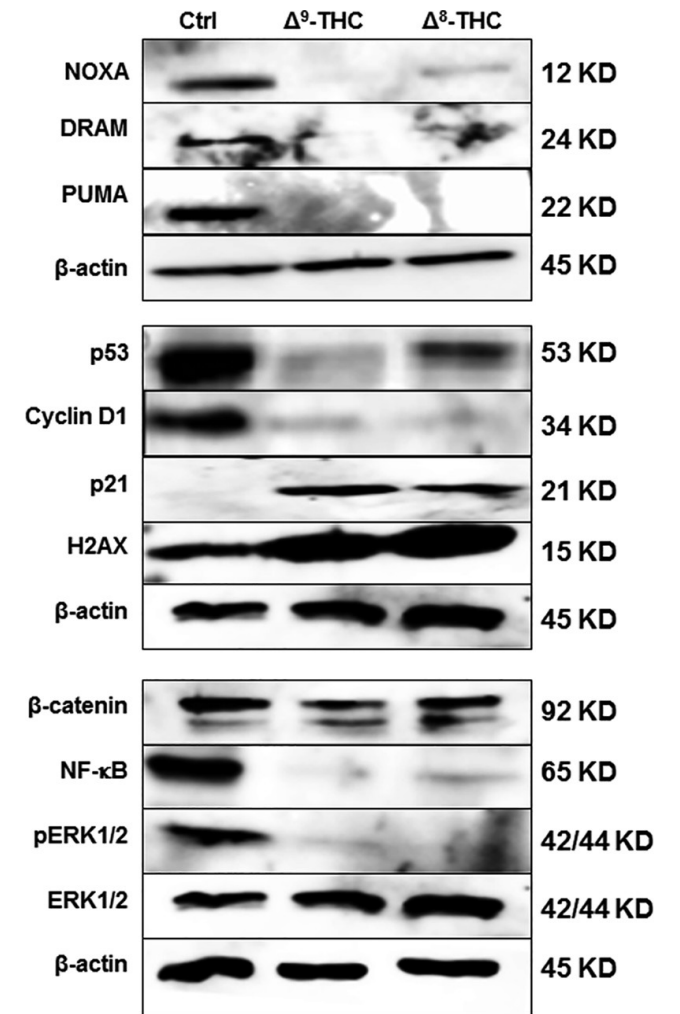
- Δ^9 -THC e Δ^8 -THC HANNO INIBITO LO STRESS OSSIDATIVO E AUMENTATO L'ATTIVITÀ DEGLI ANTIOSSIDANTI

RISULTATI



Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage

- Δ⁹-THC e Δ⁸-THC HANNO INTERFERITO CON LA VITALITÀ CELLULARE TRAMITE L'ATTIVITÀ MITOCONDRIALE



- Δ⁹-THC e Δ⁸-THC HANNO INTERAGITO CON LE CELLULE DEL CANCRO ORALE ATTRAVERSO DIVERSE VIE

DISCUSSIONE

L'esposizione a Δ 9-THC e Δ 8-THC porta a:

- elevati livelli di danno al DNA;
- una sovraespressione dell'istone H2AX;
- l'inibizione della defosforilazione di Cdc2;
- effetti sull'inibitore p21 che regola le CDK e p53;
- l'induzione dell'espressione di LC3B e p62;
- l'inattivazione di DRAM (Damage-Regulated Autophagy Modulator);
- l'inibizione di marker di transizione epiteliale-mesenchimale come le E-caderine;
- la downregulation di enzimi che degradano l'ECM;
- un'upregulation di ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) e TIMP-1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1);
- riduzione della formazione di ROS (reactive oxygen species) e aumento di GSH;
- aumento del superossido mitocondriale (mitoSOX) e riduzione del potenziale di membrana mitocondriale;
- Soppressione della via di segnalazione Wnt/ β -catenina;
- Inattivazione della via NF-kB.

CONCLUSION E

- Lo studio dimostra che i cannabinoidi $\Delta 9$ -THC e $\Delta 8$ -THC sono stati in grado di ridurre la proliferazione delle cellule del cancro orale ed aumentarne il tasso di morte cellulare.
- Gli effetti agiscono su diverse vie.
- Quando il meccanismo di morte cellulare è indotto dai cannabinoidi, il processo di autofagia precede quello apoptotico.
- Lo studio è una prova che i cannabinoidi possano essere efficaci nella terapia contro il cancro ma i risultati devono essere interpretati attentamente, perché la pianta di cannabis possiede diversi isomeri di THC che possono avere effetti diversi sulle cellule.



BIBLIOGRAFIA

Immagini tratte da:

- <http://math.unife.it/medicina/lm.odontoiatria/insegnamenti/microbiologia-ed-igiene/modulo-di-igiene-generale-ed-applicata/il-cancro-della-cavita-orale>
- https://cellbank.brc.riken.jp/cell_bank/CellInfo/?cellNo=RCB1976
- <https://it.cannabis-mag.com/differenza-delta-8-vs-delta-9/>
- <https://www.mynewlab.com/blog/working-alone-in-a-laboratory-your-safety-guide/>
- <https://www.thermofisher.com/it/en/home/life-science/cell-analysis/cell-viability-and-regulation/cell-cycle.html>
- **Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage**

Informazioni da:

- **Effects of tetrahydrocannabinols on human oral cancer cell proliferation, apoptosis, autophagy, oxidative stress, and DNA damage**