

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

EFFECTO 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.

* crute@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, pAkt 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 tetrahydrocannabinol (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, tetrahydrocannabinol; CBDA, ácido cannabidiólico; THCA, ácido tetrahydrocannabinólico; 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 disecado 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). Iguals 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).

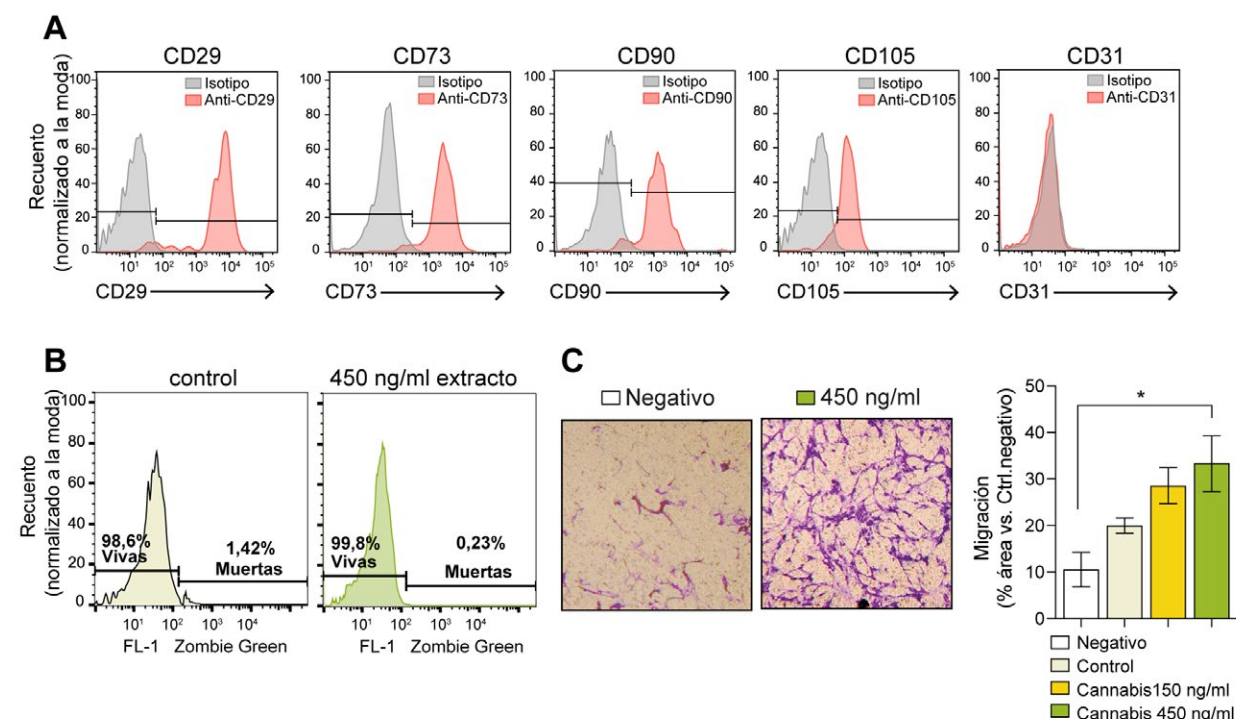


Figura 1

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-

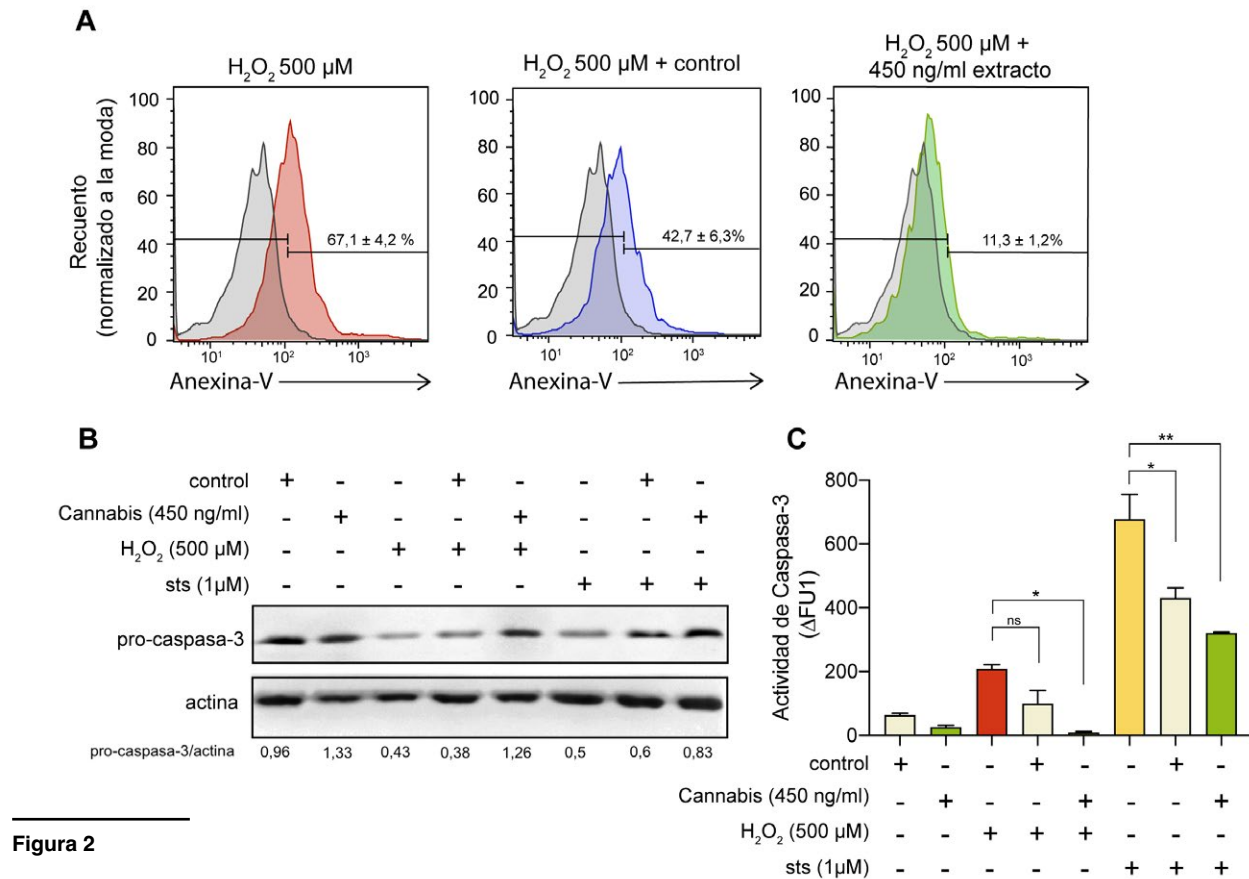


Figura 2

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

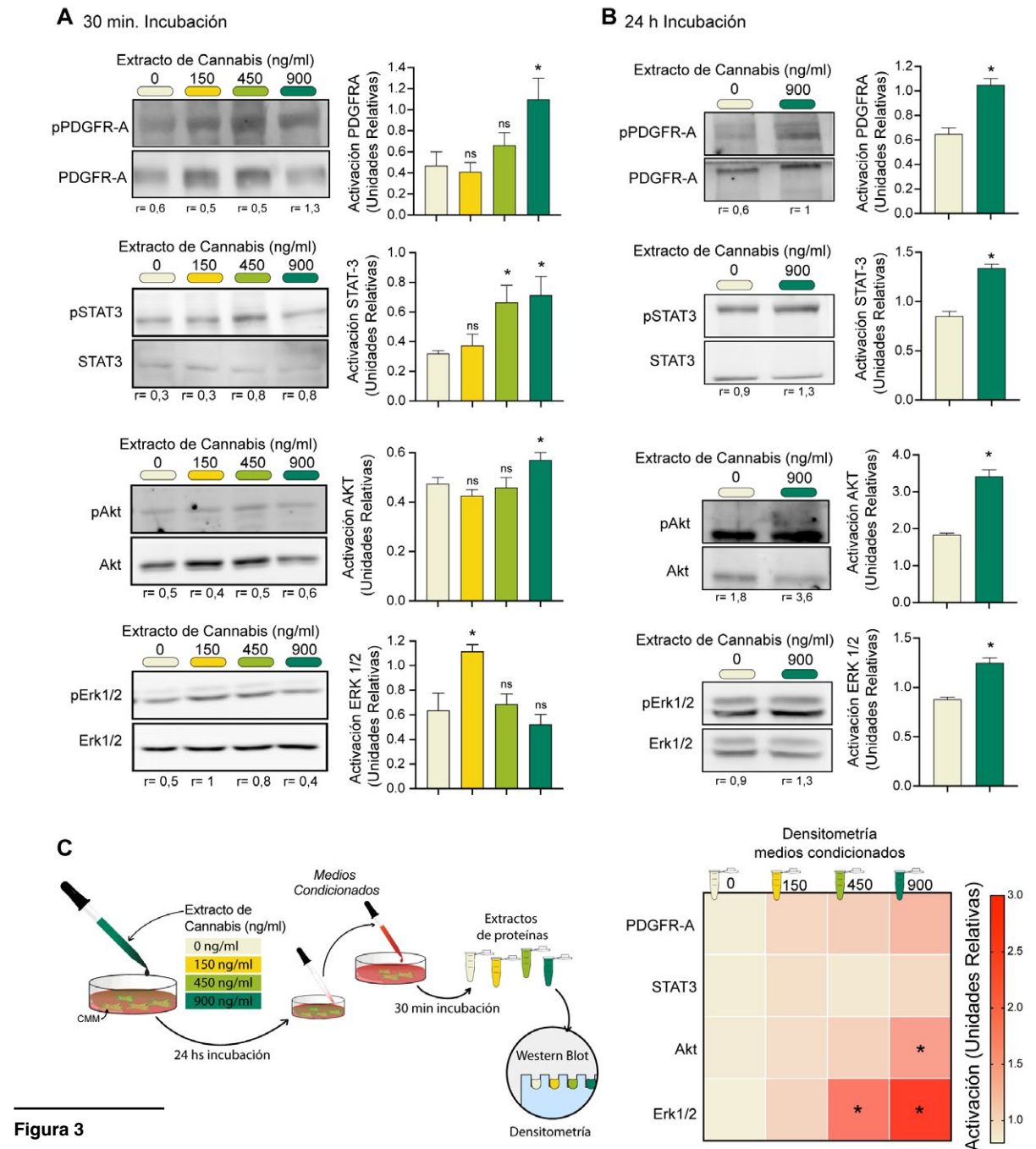


Figura 3

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 PDGFR-A, 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 sobrevida 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, Capasso 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-dihydrocannabidiol 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.