



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

## FACULTAD DE FARMACIA

**"Evaluación del efecto de ácido tánico sobre la expresión de  $\beta$ -catenina, E-cadherina y Survivina en células PC-3/PTX resistentes de cáncer de próstata"**

# TESIS

Que para obtener el título de:

**Licenciado en Farmacia**

P R E S E N T A:

**LIZET MARISOL BIBIANO BARRERA**

DIRECCIÓN DE TESIS: Dra. Leticia González Maya

CODIRECCIÓN DE TESIS: Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza



Cuernavaca; Morelos

# **Dedicatoria**

A mis padres Claudia y José; mis hermanos Javier, Emilio y en especial a Pau, tus recuerdos fueron motivo para no rendirme, me esforcé día a día para cumplir la promesa que aquel día te hice; siempre vivirás en mi corazón. Hasta el cielo te dedico este logro que también es tuyo.

# Agradecimientos

A Dios, por haberme permitido concluir una etapa más y por ser mi fortaleza en todo momento.

A mi Padre, por su apoyo incondicional y confianza; tus consejos siempre fueron mi motivación. Gracias por tanto papá, sin ti nada de esto hubiera sido posible.

A mi madre, por todo su cariño, amor y comprensión; por tus consejos y darme siempre lo mejor; gracias por alegrarme la existencia y ser mi refugio.

Agradezco a la familia que estuvo conmigo durante el proceso, por confiar en mí, por darme ánimos y apoyarme siempre, en especial a mi hermano Javier, mi tía Adriana y mis primos Braulio y Samir.

A la Dra. Jessica N. Sánchez Carranza, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por compartir sus conocimientos, por su paciencia y constante apoyo para culminar este proyecto. Infinitas gracias, Dra. Jessi, usted es el claro ejemplo de esfuerzo y dedicación, un ejemplo a seguir.

A la Dra. Leticia González Maya por sus enseñanzas. motivación y consejos, gracias por permitirme ingresar a su grupo de trabajo, también quiero agradecer a todo el equipo del Laboratorio (docentes y compañeros) muchas gracias por permitirme ser parte del Lab 7.

A mi jurado revisor de Tesis, Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez, Mtra. Martha Hernández Labra, Dra. Angelica Flores Flores y el Dr. Heriberto Valencia, gracias por el tiempo en revisar mi trabajo y por las recomendaciones que sin duda enriquecerán este trabajo.

A todos los docentes que durante mi formación académica me motivaron a ser una mejor estudiante, por todas sus enseñanzas y consejos que me sirvieron de mucho; en especial al Dr. Jorge Moreno y Dr. Samuel Enoch.

A Tonatiuh, por tu amor incondicional, apoyo y paciencia. Gracias por confiar en mí, por estar siempre y por demostrarme de una y mil maneras lo bonito que ha sido coincidir contigo en esta vida.

A mis amigos y compañeros de la universidad, por todas esas noches de estudio; gracias por su amistad, enseñanzas y ánimos, ustedes formaron parte de una de las mejores etapas de mi vida, en especial a Chávez, Andrea y Sandra.

## Contenido

I.	LISTA DE ABREVIATURAS .....	1
II.	LISTA DE FIGURAS .....	2
	RESUMEN .....	3
	ABSTRACT .....	4
1.	Introducción .....	5
1.1	Cáncer .....	5
1.2	Epidemiología del cáncer .....	5
1.3	Tratamiento para el cáncer de próstata .....	8
1.3.1	Cirugía .....	8
1.3.2	Radioterapia .....	8
1.3.3	Quimioterapia.....	9
1.4	Resistencia a múltiples fármacos (MDR) en cáncer de próstata .....	14
1.5	Relación de la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina y el cáncer de próstata .....	20
2	Antecedentes .....	22
2.1	Productos naturales contra el cáncer .....	22
2.2	Polifenoles con actividad anticancerígena .....	23
2.3	Moléculas con efecto sensibilizante ante la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina .....	25
3	Justificación .....	29
4	Hipótesis.....	30
5	Objetivo general.....	30
5.1	Objetivos específicos .....	30
6	Metodología.....	31
6.1	Cultivo celular .....	31
6.2	Inmunofluorescencia $\beta$ -catenina .....	32
6.3	Inmunofluorescencia E-cadherina.....	32
7	Resultados y discusión .....	35
7.1	El AT reduce la expresión de $\beta$ -catenina en células PC-3/PTX.....	36
7.2	El AT reduce la expresión de E-cadherina en células PC-3/PTX.....	39
7.3	Expresión de survivina en células PC-3/PTX.....	45
8	Conclusiones .....	52
9	Referencias .....	53

## I. LISTA DE ABREVIATURAS

AG	Ácido gálico
AR	Receptor de andrógenos
AT	Ácido tánico
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosín trifosfato
CCR	Cáncer Colorrectal
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria media
CSC	Cancer stem cells
EC	Células endoteliales
EMT	Transición epitelial-mesenquimatoso
FDA	Food and Drug Administration
GE	Galato de etilo
IARC	International Agency for Research on Cancer
MDR	Resistencia a múltiples fármacos
PFA	Paraformaldehido
P-gp	Glicoproteína P
PTX	Paclitaxel
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SFB	Suero Fetal Bovino

## II. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número estimado de casos más comunes en el mundo, 2020, ambos sexos, todas las edades. ....	6
Figura 2. Número estimado de nuevos casos de cáncer, México 2020, ambos sexos, todas las edades. Fuente: GLOBOCAN,2020. ....	7
Figura 3. Estructura química de Paclitaxel (PubChem, 2023).....	13
Figura 4. Vía de señalización Wnt (Y. Zhang & Wang, 2020) .....	19
Figura 5. Estructura química de Curcumina (PubChem, 2023).....	24
Figura 6. Estructura química de Resveratrol (PubChem,2023).....	26
Figura 7. Estructura química de Ácido Tánico (PubChem,2023) .....	27
Figura 8. Localización y expresión de $\beta$ -cadherina en células PC-3/PTX.....	37
Figura 9. Localización y expresión de E-cadherina en células PC3/PTX tratadas con 25 y 50 $\mu$ M de AT.....	40
Figura 10. Localización y expresión de survivina en células PC-3/PTX tratadas con 50 $\mu$ M de AT.....	46

## RESUMEN

El cáncer de próstata es uno de los tipos tumorales más prevalentes y mortales a nivel mundial, los tratamientos convencionales, como el Paclitaxel, a menudo no son satisfactorios debido a la adquisición de resistencia a múltiples fármacos por parte de las células tumorales. La regulación al alza de glicoproteína P (P-gp) es uno de los principales mecanismos de resistencia; se ha sugerido que la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina puede estar involucrada en su modulación. El ácido tánico (AT) ha demostrado tener múltiples actividades biológicas, incluyendo su efecto quimiosensibilizante en células de cáncer de próstata, por lo que es un compuesto de gran interés para el estudio de las vías de señalización asociadas con la resistencia a múltiples fármacos involucrados en mecanismos de resistencia, particularmente la vía Wnt/ $\beta$ -catenina. Nuestros resultados muestran la modulación de la expresión y localización de  $\beta$ -catenina por ácido tánico en células PC-3/PTX resistentes, sugiriendo que el efecto quimiosensibilizante de ácido tánico reportado puede estar asociado a la modulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina y de su blanco molecular survivina asociado a mecanismos de resistencia. Esta información es valiosa para el desarrollo de nuevos tratamientos contra el cáncer de próstata que sean más efectivos y menos tóxicos para los pacientes, o que puedan emplearse como coadyuvantes en combinación con los tratamientos convencionales.

## ABSTRACT

Prostate cancer is a prevalent and deadly tumor type worldwide. Conventional treatments, such as Paclitaxel, are often unsatisfactory due to tumor cells acquiring resistance to multiple drugs. Upregulation of Glycoprotein P is one of the primary mechanisms of resistance, and the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway has been suggested to be involved in its modulation. Tannic acid has demonstrated multiple biological activities, including its chemosensitizing effect on prostate cancer cells. Therefore, it is a compound of great interest for studying signaling pathways associated with resistance to multiple drugs involved in resistance mechanisms, particularly the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. Our results demonstrate the modulation of  $\beta$ -catenin expression and localization by tannic acid in PTX-resistant PC-3 cells, suggesting that the reported chemosensitizing effect of tannic acid may be associated with the modulation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and its molecular target survivin, which is associated with resistance mechanisms. This information is valuable for developing new, more effective, and less toxic treatments for prostate cancer or using them as adjuvants in combination with conventional treatments.



# 1. Introducción

## 1.1 Cáncer

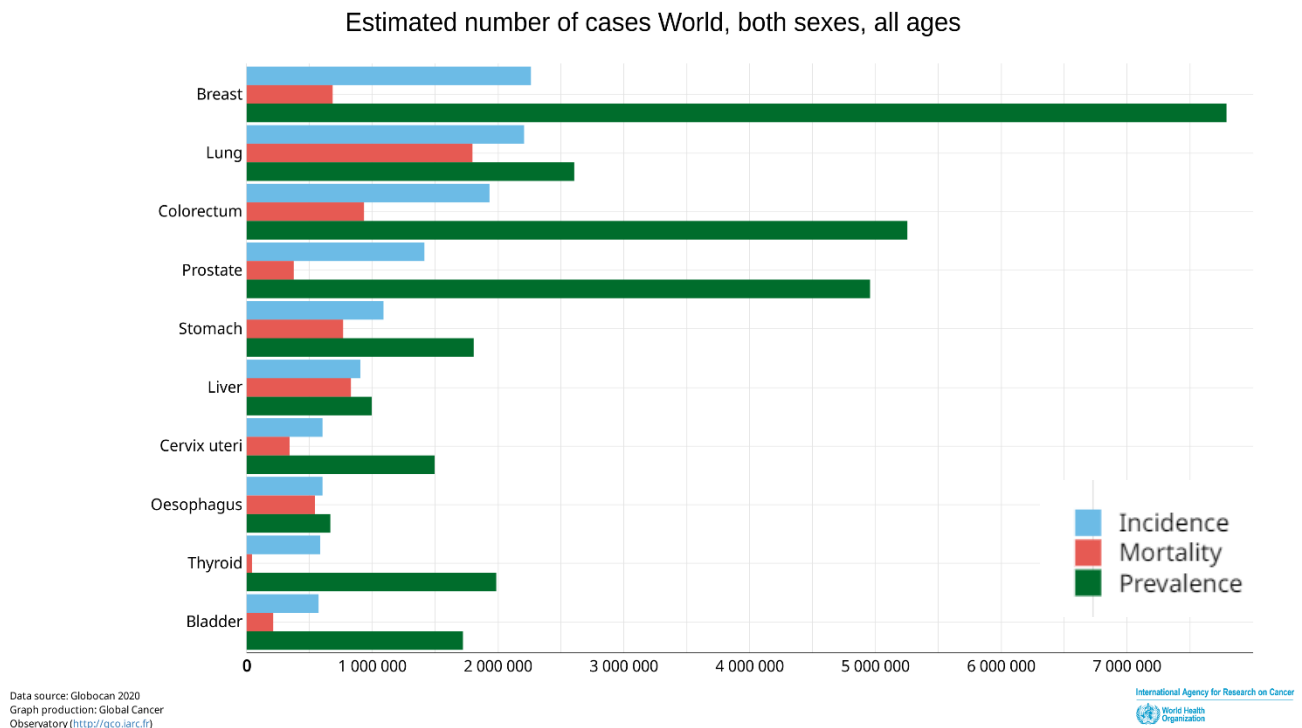
El cáncer es una enfermedad crónica degenerativa que se caracteriza por el crecimiento y la proliferación celular de manera descontrolada (Kaiser, 2021). Esta enfermedad se asocia a múltiples factores genéticos, ambientales y el estilo de vida, que desencadenan una alteración principalmente en las vías de transducción de señales mitógenas, ciclo celular y los mecanismos de muerte lo que conlleva a la formación de agregados que dañan tejidos y órganos del cuerpo. Las células normales sufren alteraciones en el material genético (mutaciones) dando lugar a un proceso llamado carcinogénesis, que es la transformación de una célula normal a una célula cancerosa con capacidad de división, crecimiento y sobrevivencia frente los mecanismos de regulación proliferativa (Catherine Sánchez, 2013).

## 1.2 Epidemiología del cáncer

El cáncer es la segunda causa de muerte según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en la actualidad ha generado una problemática de salud pública a nivel nacional y mundial, se estima que las cifras van en aumento año con año; se prevé 21.9 millones de casos nuevos para el año 2025 (GLOBOCAN, 2021).

Se estimó que en el año 2020 hubo 19.3 millones de nuevos casos de cáncer en todo el mundo. Entre los cánceres diagnosticados con mayor frecuencia es el cáncer de mama con un estimado de 2.3 millones lo que representa el 11.7 % del total de casos nuevos, cáncer de pulmón con 2.2 millones (11.4 %), es el segundo tipo de cáncer comúnmente diagnosticado y la primera causa de muerte. El cáncer colorrectal ocupa el tercer lugar con 1.9 millones de casos nuevos (10.0 %) y el cáncer de próstata con un

estimado de casi 1.4 millones (7.3 %), siendo el cáncer más diagnosticado en hombres. El diagnóstico de cáncer de próstata, pulmón y colorrectal en hombres representa el 43%; en cambio en mujeres existe una mayor incidencia del 50% de casos diagnosticados, siendo el cáncer de mama el más común (Siegel *et al.*, 2020) **Figura 1.**



*Figura 1. Número estimado de casos más comunes en el mundo, 2020, ambos sexos, todas las edades. Fuente: GLOBOCAN 2020.*

La tasa de incidencia conlleva a un aumento de mortalidad por cáncer, entre las causas más comunes de muerte por cáncer destaca el cáncer de pulmón, colorrectal e hígado (Ferlay *et al.*, 2019).

A nivel mundial México representa un número de incidencia de 195,499 para ambos sexos y de todas las edades, a nivel nacional se estiman 190,000 nuevos casos y más de 83,000 muertes por cáncer al año, lo cual representa la tercera causa de muerte en el país (Brau-Figueroa *et al.*, 2020). Según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), actualmente en México existe una mayor incidencia principalmente en cáncer de mama, seguido de cáncer de próstata y colorrectal (**Figura 2**). La tasa de mortalidad por cáncer en México ha ido en aumento durante los últimos años, actualmente el cáncer de próstata es la principal causa de muerte en hombres y cáncer de mama en mujeres (Fernando Aldaco-Sarvide *et al.*, 2018)

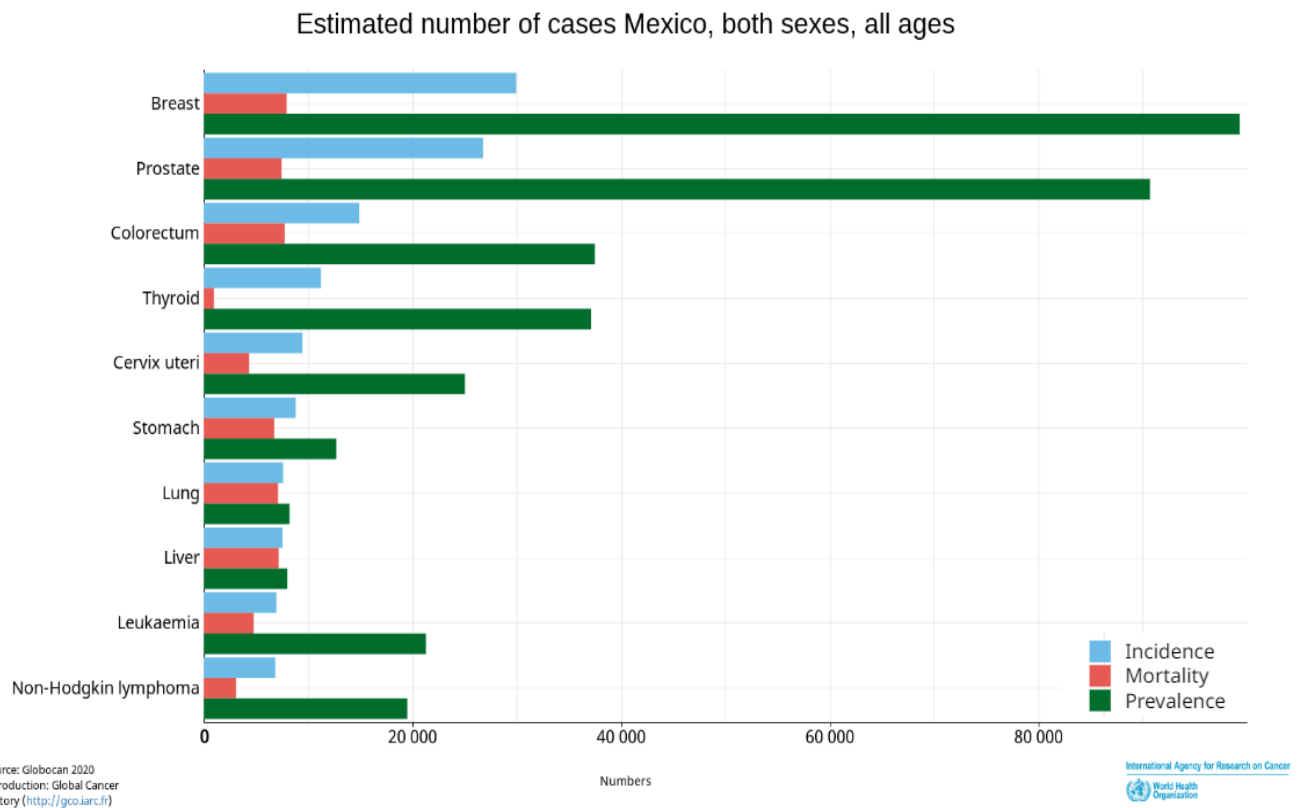


Figura 2. Número estimado de nuevos casos de cáncer, México 2020, ambos sexos, todas las edades. Fuente: GLOBOCAN,2020.

### **1.3 Tratamiento para el cáncer de próstata**

El diagnóstico de cáncer a tiempo es fundamental para iniciar un tratamiento adecuado y eficaz con el fin de mejorar la salud del paciente. Por lo general los tratamientos utilizados actualmente para tratar el cáncer consiste en radioterapia, quimioterapia y cirugía, aunque hoy en día existen otras formas de terapia contra el cáncer, incluida la inmunoterapia, la terapia endocrina (hormonal) y la terapia con células trocales (Ross et al., 2019).

#### **1.3.1 Cirugía**

La cirugía es la alternativa más eficaz para la eliminación o reducción del tumor, sin embargo, no es el tratamiento de primera opción para muchos tipos de cáncer debido a la localización y etapa en la que se encuentre el tumor, por lo tanto, en un cáncer metastásico se dificulta la intervención quirúrgica. La cirugía consiste en la extirpación del tumor o tejido dañado; en ocasiones la cirugía se combina con un tratamiento adyuvante como es la quimioterapia y radioterapia que contribuye a la eliminación de células cancerosas, además de aliviar los síntomas y mejorar la calidad de vida del paciente (American Cancer Society, 2021).

#### **1.3.2 Radioterapia**

Es el tratamiento local y no quirúrgico más utilizado para tratar diferentes tipos de cánceres, consiste en la aplicación de radiaciones ionizantes como rayos X o rayos gamma con el fin activar vías de señalización citotóxicas que provocan daño a nivel del ADN e inducir la muerte de células cancerosas. Este tratamiento se utiliza para los casos de cáncer avanzado y en lesiones no oncológicas, como tumores benignos o enfermedades neurológicas. De acuerdo con el Comité

Científico de las Naciones Unidas para el estudio de las Radiaciones Atómicas (UNSCEAR) estima que se llevan a diario aproximadamente 10,000 tratamientos de radioterapia a nivel mundial, cabe mencionar que alrededor del 16% de los casos de cáncer se curan con radioterapia. Gracias a los avances tecnológicos, el uso de la radioterapia llega a reducir los efectos secundarios de la terapia convencional (Falzone *et al.*, 2018) y ha permitido mejorar desde el uso rutinario de aceleradores lineales (Linacs) hasta la radioterapia estereotáctica (radioterapia de dosis alta y altamente localizada) (Cree *et al.*, 2019).

### **1.3.3 Quimioterapia**

La terapia antineoplásica por excelencia es la quimioterapia, es el tratamiento de primera opción para muchos tipos de cáncer, para un mejor abordaje del tratamiento en ocasiones se llega a combinar con cirugía y radioterapia. Consiste en el uso de fármacos antineoplásicos para combatir las células cancerosas con el fin de impedir la proliferación tumoral, éstos se clasifican según su mecanismo de acción como: agentes alquilantes, antibióticos citotóxicos, antimetabolitos, hormonales, antihormonales y fármacos antimitóticos modificadores de la respuesta biológica. Se caracterizan por inhibir la actividad metabólica de las células cancerígenas e inducirlas a muerte celular; en general estos fármacos interaccionan con el ácido desoxirribonucleico (ADN) además poseen la capacidad de inhibir el crecimiento y multiplicación de células cancerosas, pero también sobre las células normales ya que actúan durante el proceso de división celular (García Milián *et al.*, 2018).

Actualmente los fármacos antineoplásicos esenciales contra el cáncer recomendados por la OMS incluye nuevos productos diferentes a la quimioterapia tradicional, que consiste en inmunoterapias con inhibidores por ejemplo inhibidores PD-1/PD-L1(Atezolizumab), inhibidor tirosina quinasa (erlotinib), inhibidor de EGFR (anticuerpos monoclonales, nivolumab) y el uso de fármacos biotecnológicos con la finalidad de mejorar la terapia y las tasas de supervivencia en pacientes con cáncer, además de impedir que la toxicidad se extienda a los tejidos sanos (Roxanne Nelson, 2019). Por otra parte, también se pretende el desarrollo y la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas con el fin de evitar la resistencia a medicamentos utilizados durante la quimioterapia, siendo esta una de las principales problemáticas en la actualidad.

- **Agentes alquilantes**

Los agentes alquilantes fueron las primeras sustancias no hormonales con actividad anticancerígena que actúa a nivel del ADN. Su principal mecanismo de acción consiste en la formación de enlaces cruzados entre las dos hebras provocando la detención de la replicación del ADN mediante enlaces covalentes con el fin de bloquear la replicación celular y la transcripción del ARN impidiendo la mitosis y la síntesis de proteínas, por lo tanto, alteran la función del ADN e inducen muerte celular. El descubrimiento de la mostaza nitrogenada como agente alquilante en 1942 por Louis Goodman y Alfred Gilman marco un avance en la quimioterapia debido a su mecanismo de acción que hace que los pares de nitrógeno produzca un ion “aziridinio” intermedio a nivel molecular, además de que es muy reactivo con el material genético de las células tumorales (Karati et al., 2021).

Los agentes alquilantes se pueden dividir en tres grupos, alquilantes clásicos (ciclofosfamida, clorambucilo, ifosfamida, melfalán, trofosfamida), nitrosoureas (carmustina, estramustina, fotemustina) y tetrazinas (dacarbacina y temozolomida) que se utilizan para los diferentes tipos de cáncer como cáncer de mama, cervicouterino, ovario, testículos, leucemia aguda y crónica.

- **Antimetabolitos**

Son agentes inmunosupresores que actúan en las vías biosintéticas e interfieren en la síntesis ADN, bloqueando cadenas enzimáticas esenciales para la síntesis de purinas dando como resultado la inhibición de la proliferación celular, entre los fármacos mayormente utilizados hasta en la actualidad son 6-mercaptopurina y el 5-fluorouracilo que son análogos de purinas y pirimidinas (Falzone *et al.*, 2018)

- **Antibióticos citotóxicos**

Son fármacos de origen natural que tienen la capacidad de inhibir la topoisomerasa II y de alterar el crecimiento de otras células, es decir, pueden impedir la multiplicación celular al interferir con el ADN, entre los fármacos más utilizados son las antraciclinas, epipodofilotoxinas y los derivados de la camptotecina, se utilizan principalmente para el tratamiento de cáncer de mama, gástrico, endometrio y ovario, así como para leucemias y linfomas.

- **Fármacos antimitóticos**

Los agentes antimitóticos actúan mediante la inhibición o estabilización de la polimerización de los microtúbulos provocando la alteración en el ensamblaje del huso que da lugar a la detención de la transición metafase-anafase y bloquea la división celular

e induce la destrucción de células cancerosas mediante apoptosis (Bates & Eastman, 2017).

Los fármacos antimitóticos como los alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, vinorelbina y vinflunina) tienen la capacidad de romper los microtúbulos mediante la unión de alta afinidad a la tubulina, es decir, su unión a la subunidad  $\beta$ -tubulina bloquea la capacidad de polimerización con  $\alpha$ -tubulina en los microtúbulos y desestabiliza la estructura polimérica provocando su desmontaje. En cambio, los taxanos (paclitaxel y docetaxel) son agentes estabilizadores de microtúbulos que previenen la despolimerización de esta forma detienen la división celular.

El Paclitaxel (PTX) es un compuesto diterpenoide tetracíclico también conocido como taxol, taxinol o TM (**Figura 3**). Fue uno de los primeros agentes estabilizadores de microtúbulos. Se aisló originalmente de la corteza del tejo del Pacífico, *Taxus brevifolia*, destaca por su mecanismo de acción la cual consiste en la unión a los 31 aminoácidos N-terminales de la  $\beta$ -tubulina en el microtúbulo que da lugar a la fosforilación en células diferenciadas e indiferenciadas, es decir, la unión estabiliza a los microtúbulos y aumenta la polimerización de los mismos para inducir la muerte celular (Alqahtani *et al.*, 2019). Actualmente es uno de los agentes antineoplásicos de alta eficacia y de amplio espectro.

En 1992, el taxol fue aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) de los EE. UU para uso terapéutico contra cáncer, actualmente ha sido aprobado para tratar cáncer de próstata, mama, ovario, páncreas metastásico, sarcoma de Kaposi y cáncer de pulmón no microcítico (Paier *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2020).



A pesar de los beneficios obtenidos durante el tratamiento con fármacos antimitóticos para el cáncer de próstata, en los últimos años el uso de PTX se ha asociado con la resistencia terapéutica en cuanto a la sobreexpresión de membrana de P-gp, siendo un factor contribuyente de la resistencia intrínseca en pacientes. Entre los posibles mecanismos involucrados con la resistencia a taxanos son las mutaciones de la  $\beta$ -tubulina, la sobreexpresión de ERG y la acetilación o expresión de proteínas implicadas en los microtúbulos que evitan la estabilización y la interacción entre el fármaco con el blanco, de manera que se inhibe la eficacia a taxanos (Gjyrezi *et al.*, 2020).

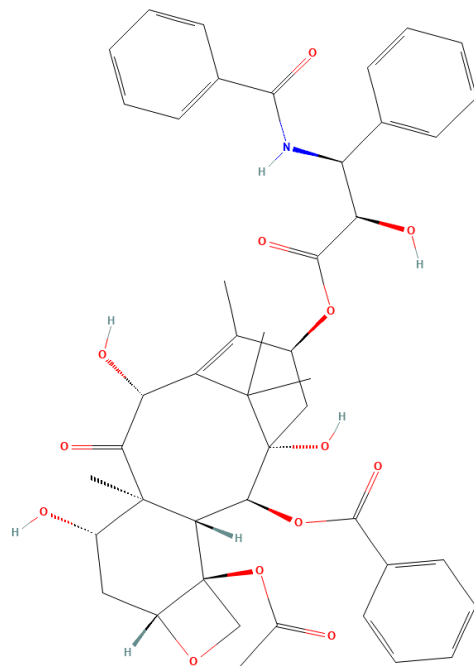


Figura 3. Estructura química de Paclitaxel (PubChem, 2023)

#### 1.4 Resistencia a múltiples fármacos (MDR) en cáncer de próstata

La resistencia a fármacos puede ser intrínseca o adquirida y de manera esporádica durante el tratamiento; la resistencia intrínseca se manifiesta antes del tratamiento farmacológico debido a mutaciones genéticas, heterogeneidad tumoral y activación de vías intrínsecas.

A medida que los fármacos muestran efectos notables durante la terapia inicial, la resistencia adquirida se ha vuelto más común conforme avanza el tratamiento, siendo consecuencia de mutaciones o alteraciones de las dianas del fármaco y cambios en el microambiente tumoral después del tratamiento. Se estima que al menos el 50% de los pacientes con cáncer desarrolla resistencia farmacológica (Wang X *et al.*, 2019).

La MDR se asocia a factores fisiológicos, genéticos e intracelulares que hace que las células cancerosas sean tolerantes a una gran variedad de fármacos anticancerígenos debido a alteraciones en los mecanismos de regulación como mutaciones de los receptores e incremento de la expresión siendo la principal causa de fracaso del tratamiento (Prajoko & Aryandono, 2019).

Es importante mencionar que cada célula cancerosa responde de manera diferente, principalmente las células troncales cancerosas se caracterizan por su plasticidad, capacidad de regeneración y diferenciación que son particularmente responsables de este fenómeno. Otro factor involucrado puede ser la alteración o pérdida de un receptor de superficie celular o transportador de un fármaco que altera el mecanismo de entrada a la célula (Bukowski *et al.*, 2020).

## Transportadores ABC

Durante el tratamiento farmacológico contra el cáncer se ven implicados diferentes mecanismos ligados a la resistencia como el aumento de la salida de fármacos que disminuye la acumulación del fármaco dentro de la célula y la sobreexpresión de P-gp perteneciente a la superfamilia de transportadores *ATP-binding cassette* (ABC) que codifica al gen MDR1 (*Multi Drugs Resistance 1*) (W. Li et al., 2016; Rey-Caro et al., 2020).

Los mecanismos asociados a la resistencia son la superfamilia de transportadores dependientes de ATP (ABC) que cumplen con múltiples funciones fisiológicas principalmente en el transporte de hormonas, lípidos y otras moléculas incluyendo sustratos químicos y fármacos quimioterapéuticos, así como también en la regulación de orgánulos como mitocondrias, lisosomas y el aparato del Golgi.

Los transportadores ABC se conforman por 49 miembros que se subdividen a su vez en siete clases según la homología de su secuencia (ABC-A a ABC-G). Entre otros transportadores que se asocian a la resistencia son ABCC1 Y ABCG2 o *breast cancer resistant protein 1* (BCRP1) que funcionan como bombas dependientes de ATP; además regulan mecanismos fisiológicos en la secreción de hormonas y la expulsión de toxinas al exterior de la célula, el aumento en la función de dichos transportadores han sido una de las principales razones de la resistencia en la quimioterapia (Pascual-Ramos et al., 2016). A continuación, se describen a detalle.

### **ABCB1 (Glicoproteína P o P-gp)**

Se encuentra en la membrana celular y se encarga de la regulación de la distribución, absorción y excreción de sustancias químicas principalmente fármacos, su sobreexpresión disminuye la unión del fármaco al sitio específico, siendo uno de los principales responsables de la resistencia a taxanos, epipodofilotoxinas y antraciclinas (PTX, etopósido, olaparib, DOX y vinblastina)(Bukowski *et al.*, 2020).

### **ABCC1 (ATP binding cassette subfamily C member 1)**

Se encarga de bombear sustratos aniónicos orgánicos y agentes anticancerígenos, principalmente alcaloides de vinca, antraciclinas y camptotecinas. Su sobreexpresión está ligada a la resistencia de fármacos en diferentes tipos de cánceres, como cáncer de pulmón, mama y próstata (Wang, X *et al.*, 2019).

### **ABCG2 o BCRP1 (*breast cancer resistant protein 1*)**

La proteína ABCG2 funciona como una bomba de eflujo debido a que se encarga de transportar una amplia variedad de sustancias fuera de la célula, se encuentra en órganos importantes para la absorción, distribución y la eliminación de fármacos; la sobreexpresión de esta proteína da lugar a la resistencia de varios agentes anticancerígenos principalmente las antraciclinas, la mitoxantrona y las camptotecinas (Zhang, Z *et al.*, 2021).

## **Vías de señalización implicadas en MDR**

Hasta el día de hoy se han identificado algunos de los procesos biológicos y vías que regulan la supervivencia y muerte celular que se asocian con la resistencia en células tumorales siendo los mecanismos de eliminación de fármacos por sobreexpresión no asociados a P-gp, funciones del ATP, mecanismos de asociados la muerte celular mediante apoptosis, alteración en el ciclo celular, mecanismo de desintoxicación (Rey-Caro *et al.*, 2020) y vías de señalización reguladoras del crecimiento como Wnt/ $\beta$ -catenina, Notch, Hippo y Hegehog que facilitan la iniciación, el mantenimiento, la heterogeneidad, invasión y la resistencia terapéutica (Mudra *et al.*, 2021).

Reportes indican que varias vías asociadas con la progresión del tumor juegan un papel importante en la inducción de MDR, entre las que destacan PI3K/Akt, NF- $\kappa$ B, en particular se asocia a la activación de la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina contribuye a la quimiorresistencia (Zhang *et al.*, 2012).

### **Vía de señalización Wnt**

La vía de señalización Wnt o Wingless se descubrió por Nusse y Varmus en el año de 1982 con la identificación del protooncogén INT1 o también conocido como Wnt 1, siendo un mediador clave de la tumorigénesis en la vía de señalización Wnt debido a su relación con las células troncales cancerosas, la metástasis y el control inmunológico (Zhan *et al.*, 2017)

La vía Wnt se asocia a procesos biológicos ya que actúa como un regulador esencial durante el desarrollo embrionario, el mantenimiento de células troncales, la homeostasis tisular y la cicatrización de heridas (Zhao *et al.*, 2018). En la vía de

señalización Wnt se han identificado 19 glucoproteínas mediadas por receptores Frizzled (FZD) que actúan como ligandos que a su vez estimulan vías de transducción a través de la membrana plasmática, desencadenando una cascada de señalización de manera que se generan cambios transcripcionales en el núcleo de la célula receptora (Bejsovec, 2018). La  $\beta$ -catenina codificada por el gen CTNNB1 es una de las principales proteínas implicadas en esta vía, la  $\beta$ -catenina se localiza en la membrana celular y funciona como un componente fundamental en la adhesión célula-célula mediante interacción con la proteína E-cadherina.

Hasta el día de hoy se han estudiado cuatro vías de señalización Wnt: vía Wnt/Ca<sup>2+</sup> que involucra a la proteína cinasa A; vía de polaridad celular planar, vía que involucra a la proteína cinasa C e interviene en el proceso de miogénesis y la vía canónica Wnt/ $\beta$ -catenina (Zhang, Y. & Wang, 2020).

Generalmente, los ligandos Wnt dan lugar a una respuesta de señalización dependiente (canónica) y señalización independiente (no canónica) de  $\beta$ -catenina. La vía canónica (**Figura 4**) se activa mediante la unión de ligandos Wnt a un receptor FZD junto con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP) 5 y 6, esta unión de Wnt a su receptor genera una fosforilación desordenada (DVL) provocando la desfosforilación de Axin y su disminución en el citoplasma, lo que desestabiliza el complejo de destrucción y por lo tanto se evita la degradación de  $\beta$ -catenina, debido a esto se estabiliza de tal forma que se va acumulando en el citoplasma y posteriormente se transloca hacia el núcleo, de este modo interactúa con los factores de transcripción TCF/LEF para inducir la expresión de genes como c-Myc, ciclina D1, TCF-1, factor de transcripción de inmunoglobulina-2 (ITF-2) y SOX 9 (Sharma et al., 2021).

En cambio, en ausencia de los ligandos Wnt, la vía Wnt/ $\beta$ -catenina se encuentra desactivada lo que conduce a la fosforilación de  $\beta$ -catenina mediante un complejo formado por caseína cinasa (CK1a), glucógeno sintasa q (CK1 $\alpha$ ), glucógeno sintasa cinasa 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ), proteínas como Axin y APC . Una vez fosforilada  $\beta$ -catenina se lleva a cabo la degradación mediante el mecanismo ubiquitinación/proteasoma de tal manera que se obtienen niveles bajos de  $\beta$ -catenina en el citoplasma y en el núcleo; en usencia de  $\beta$ -catenina en el núcleo, el complejo represor TCF/LEF y la proteína TLE/ Groucho, dan lugar a la inhibición de la transcripción de genes (Koni et al., 2020).

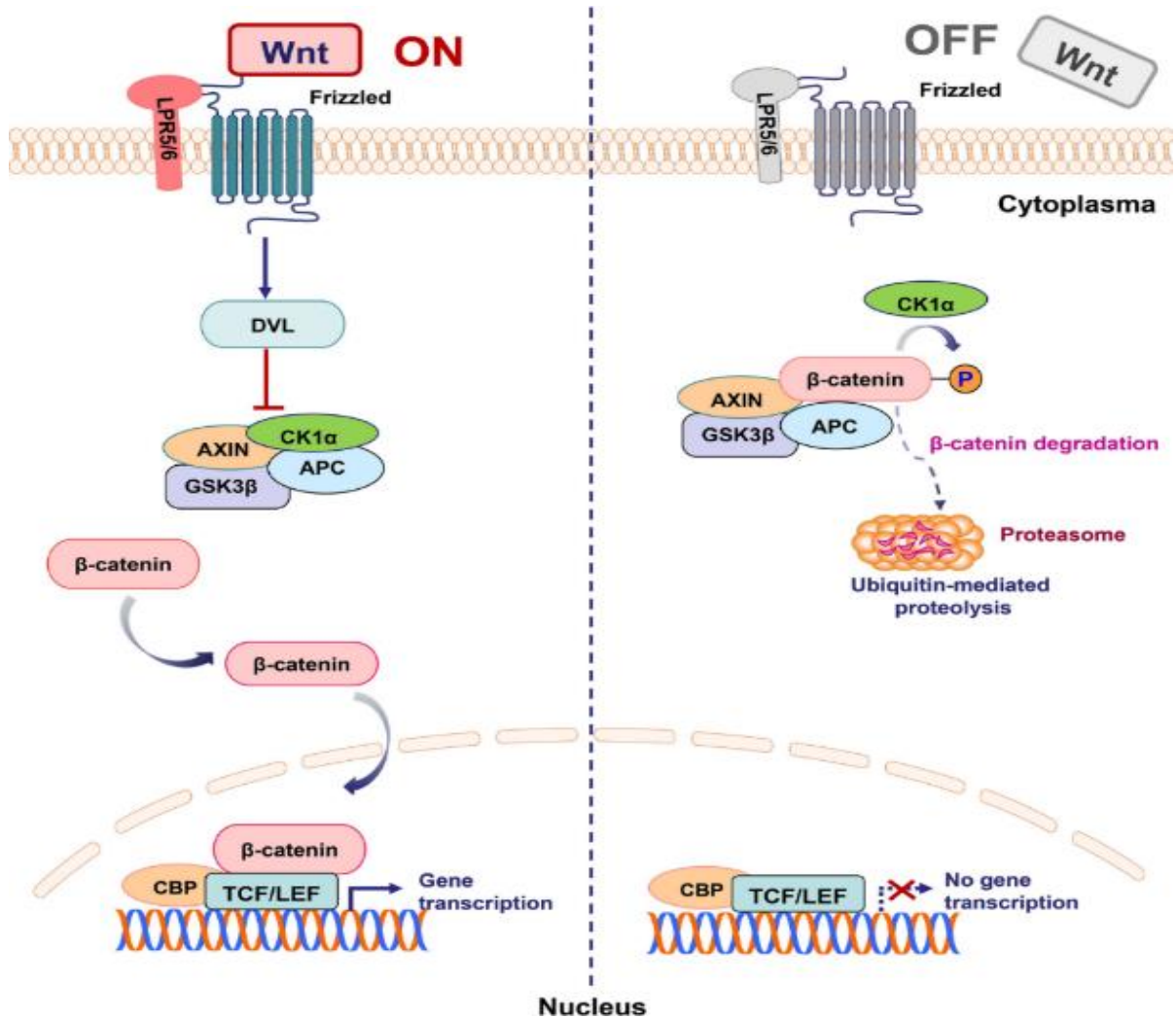


Figura 4. Vía de señalización Wnt (Y. Zhang & Wang, 2020)

Debido a que la vía de señalización Wnt es crucial para el mantenimiento de la homeostasis y el desarrollo de tejidos, su expresión aberrante desencadena mutaciones genéticas, progresión y microambiente tumoral. Estas alteraciones se atribuyen a cambios epigenéticos que conllevan a la transformación maligna, supervivencia y diferenciación anormal de células troncales/progenitoras, además influye en la MDR (Z. Wang *et al.*, 2021).

La MDR contribuye en la alteración de las principales vías de señalización celular como son la vía Wnt, Akt y NF- $\kappa$ B (Ghandadi *et al.*, 2019). Entre las vías de señalización reguladoras del crecimiento que se relacionan con la MDR en diferentes tipos de cáncer son la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, Notch, Hippo y Hedgehog. Esta desregulación da lugar a la proliferación descontrolada de las células troncales cancerosas (CSC) siendo las células con mayor resistencia terapéutica debido a su capacidad de autorrenovación y diferenciación (Mudra *et al.*, 2021).

### **1.5 Relación de la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina y el cáncer de próstata**

Se ha demostrado que la vía Wnt/ $\beta$ -catenina se relaciona con diferentes tipos de cáncer, incluido el cáncer de próstata. Varios factores están involucrados en la desregulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, por ejemplo, las mutaciones genéticas, inhibidores extracelulares y cofactores intracelulares son algunas de las causas que se relacionan con el cáncer (Chesire & Isaacs, 2003).

Estudios previos han demostrado que existe una interacción entre la vía del receptor de andrógenos (AR) y  $\beta$ -catenina, cabe mencionar que la diafonía entre la



señalización de Wnt y AR se relaciona con la progresión y resistencia a la castración en cáncer de próstata, debido a que la  $\beta$ -catenina no solo activa TCF/LEF transcripcionalmente, sino que también sensibiliza el receptor de andrógenos.

Un estudio realizado por (Jung *et al.*, 2013) reportó la expresión de  $\beta$ -catenina citoplasmática oscila entre moderada y alta en el 20% de los casos de cáncer; 35% en cáncer avanzado y el 60% en cáncer metastásico, lo que demuestra que ambas vías se asocian con la progresión del cáncer de próstata.

Por otro lado, se ha demostrado que existe interacción entre el factor de transcripción SOX9, AR y Wnt/ $\beta$ -catenina. La expresión de SOX9 conduce a la reactivación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina de manera que facilita la morfogénesis y agresividad en diferentes líneas celulares derivadas de cáncer de próstata (Khurana & Sikka, 2019).

Además, APC juega un papel importante en la vía de degradación de  $\beta$ -catenina, estudios previos han demostrado que las mutaciones en la función de APC conducen a la estabilización de  $\beta$ -catenina y su traspaso al núcleo, se estima que APC se presenta hasta en un 80% de los cánceres (Schneider & Logan, 2018).

Otro factor involucrado en la vía de señalización Wnt, es el sitio de integración Wnt-1, se encuentra regulado al alza en tejidos de cáncer de próstata al igual que Wnt-2, Wnt-5 y Wnt11 por mencionar algunos. Estudios previos han descrito que los altos niveles conllevan a la invasión celular, de manera similar Foxb2 que es un activador de Wnt que también podría asociarse con la progresión de cáncer de próstata.

Así mismo, el factor de unión al potenciador linfocitario 1 (LEF1), está ligado a la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, su expresión aberrante en la actividad del receptor de andrógenos se asocia con el cáncer de próstata de manera independiente de andrógenos (Santiago *et al.*, 2017). Las mutaciones en los genes RNF43 y ZNRF3 regulan negativamente la vía de señalización Wnt (Ghali *et al.*, 2020) al igual que la pérdida de expresión de los genes *Wnt Inhibitory Factor 1* (WIF1) y *Secreted Frizzled Related Protein 1* (Sfrp1) mediante la metilación del promotor e inhibición de la señalización Wnt (Murillo-Garzón & Kypta, 2017).

## 2 Antecedentes

### 2.1 Productos naturales contra el cáncer

Desde hace tiempo los compuestos naturales han sido de gran interés debido a sus propiedades farmacológicas para tratar muchos tipos de enfermedades crónico-degenerativas. Aproximadamente del 60 al 80% de los fármacos derivan de fuentes naturales, siendo los antibióticos y antineoplásicos los más utilizados en la actualidad (Dehelean *et al.*, 2021). Según la *Food and Drug Administration* (FDA) estima que alrededor del 49% de moléculas aprobadas en la terapia contra el cáncer han sido de origen natural.

Los polifenoles son compuestos fenilpropanoides sintetizados por las plantas como metabolitos secundarios. Se pueden obtener mediante la dieta a través de algunas frutas y legumbres; la ingesta de alimentos ricos en polifenoles tiene efectos quimiopreventivos asociados a su capacidad antioxidante, inmunomodulador, antiinflamatoria y anticancerígena, siendo compuestos dietéticos importantes para la prevención de diversas enfermedades incluido el cáncer. Por lo tanto los polifenoles son

compuestos capaces de regular mecanismos implicados en el ciclo celular, la modulación del sistema inmune y la angiogénesis (Costea *et al.*, 2020).

Se clasifican según su estructura química en flavonoides (flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas y antocianinas) y en moléculas no flavonoides (ácidos fenólicos, lignanos, estilbenos y taninos). Su descubrimiento ha sido el punto de partida para la búsqueda de nuevas alternativas en el tratamiento y el desarrollo de nuevos fármacos contra el cáncer (Sharma *et al.*, 2018).

Los flavonoides y taninos son compuestos altamente antioxidantes que actúan sobre el estrés oxidativo y contribuyen en la eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS). Su actividad antioxidante desempeña un papel fundamental en la prevención de muchas enfermedades asociadas con ROS y RNS, principalmente a la formación de tumores y su progresión (D.-P. Xu *et al.*, 2017).

## **2.2 Polifenoles con actividad anticancerígena**

El potencial anticancerígeno de los polifenoles se debe sus propiedades antioxidantes, antiproliferativas e inductores de apoptosis, por esta razón se consideran supresores de la carcinogénesis. Los polifenoles actúan mediante la modulación de la actividad enzimática de fase I y fase II, las vías de transducción de señales y el ciclo celular, al mismo tiempo que inhiben la proliferación, supervivencia y metástasis de las células cancerosas (Sharma *et al.*, 2018).

Estudios previos han demostrado que el efecto quimiosensibilizante consiste básicamente en revertir el fenotipo de MDR al inhibir la sobreexpresión de los

transportadores ABC dando lugar a una mayor concentración intracelular de fármacos antineoplásicos (H. Li *et al.*, 2018).

Existen muchos compuestos naturales que junto con la terapia han sido una alternativa para la prevención y tratamiento de diversos tipos de cáncer, entre los compuestos bioactivos que destacan por su efecto anticancerígeno y quimiosensibilizante como la curcumina, resveratrol y compuestos fenólicos (Dehelean *et al.*, 2021).

La curcumina (**Figura 5**). Es un compuesto fenólico pertenece al grupo de los curcuminoides, que son los principales componentes de la cúrcuma (*Curcuma longa*). Se ha demostrado que la curcumina posee propiedades antiinflamatorias, antitumorales y quimiosensibilizantes sobre mecanismos asociados a la proliferación, metástasis y angiogénesis, también actúa como un modulador en múltiples vías de señalización en células cancerosas (Subramaniam *et al.*, 2019).

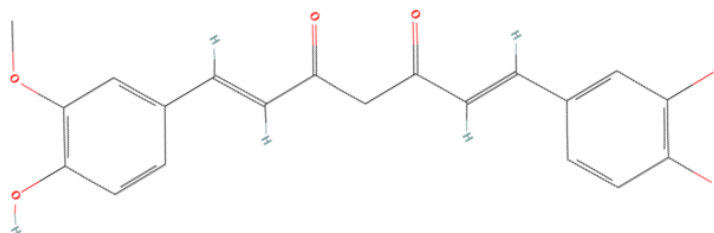


Figura 5. Estructura química de Curcumina (PubChem, 2023)

Estudios previos de curcumina sobre varias líneas de células tumorales demostraron tener efecto inhibitor sobre proliferación e invasión de células de cáncer de mama y de pulmón mediante la regulación negativa de los genes inductores NF- $\kappa$ B,

también sobre el receptor HER2-TK y el receptor del factor de crecimiento epidérmico EGFR, de tal manera que la curcumina ejerce su acción moduladora en mecanismos de tumorigénesis, metástasis y la inducción de apoptosis (Giordano & Tommonaro, 2019).

En el cáncer de próstata la curcumina se evaluó mediante estudios *in vitro* utilizando líneas celulares de cáncer de próstata sensibles a los andrógenos LNCaP, se demostró que la curcumina redujo la proliferación de un 20-30% en comparación de las células no tratadas. También se observó que la expresión de la proteína receptora de andrógenos disminuyó significativamente, por otro lado, redujo la supervivencia y el crecimiento celular de manera dosis dependiente (Termini et al., 2020).

### **2.3 Moléculas con efecto sensibilizante ante la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina**

El Resveratrol (**Figura 6**) es un metabolito de origen natural que abunda en la uva, las bayas y frutos rojos; es un compuesto prometedor debido a que inhibe la proliferación e induce apoptosis en células cancerígenas mediante la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina; el efecto quimiosensibilizante del resveratrol aumenta la eficacia del fármaco y disminuye los efectos secundarios del mismo. Se ha reportado que dosis bajas de resveratrol ejerce un efecto quimiosensibilizante sobre células de linfoma no Hodking (LNH) y mieloides múltiples (MM) resistentes a PTX, de manera que disminuye la expresión de la proteína antipoptótica Bcl-x, así mismo, aumenta la expresión de Bax y el factor activador de la proteasa de apoptosis-1 (Apaf-1) (Cocetta *et al.*, 2021).

De igual forma, el ácido tánico (AT), demostró tener actividad antiproliferativa en la línea 4T1 derivada de cáncer de mama, además disminuyó la capacidad de metástasis y aumento de la muerte celular mediante apoptosis (Wu et al., 2019).

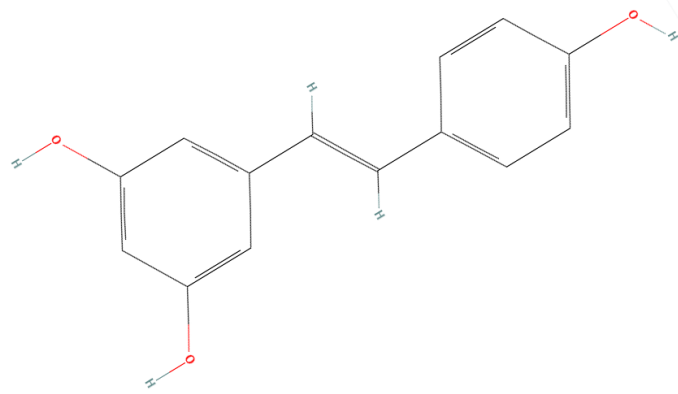


Figura 6. Estructura química de Resveratrol (PubChem,2023)

El Gigantol es otro compuesto de origen natural extraído de plantas del género *Dendrobium* perteneciente a las orquídeas medicinales, se ha demostrado que posee propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas; su efecto en células de cáncer de pulmón inhibió la proliferación y migración celular. Por otro lado, en la línea celular HepG2 indujo apoptosis mediante la supresión de la vía señalización PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B (H. Chen *et al.*, 2017). Otro estudio reportado por (Yu *et al.*, 2018) demostró que el Gigantol inhibió la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina en células de cáncer de mama mediante la supresión de LRP6 fosforilado de manera que disminuyó la expresión de  $\beta$ -catenina citosólica, por lo tanto redujo significativamente la expresión de genes involucrados en la vía Wnt, siendo Axin2 y survivina.

Se han realizado investigaciones previas por parte de nuestro grupo de trabajo en el cual se ha estudiado los compuestos presentes en la especie *Caesalpinia coraria*, debido a que posee múltiples compuestos fenólicos como el ácido tánico (AT), ácido gálico (AG) y el galato de etilo (GE); estos compuestos demostraron actividad citotóxica

y quimiosensibilizante sobre diferentes líneas celulares incluida la línea celular PC-3 de cáncer de próstata (Hernández Solano, 2022).

El AT (**Figura 7**) es un compuesto polifenol perteneciente a la familia de los taninos hidrolizables, se encuentra principalmente en varias fuentes naturales como frutas y en algunas bebidas como el vino tinto y el té verde. Entre sus propiedades bioactivas, el AT posee múltiples propiedades quimiopreventivas, antitumorales, antioxidantes, antiinflamatorio y quimiosensibilizantes lo cual lo hace un candidato para tratar muchos tipos de cáncer incluido el cáncer de próstata (Nagesh *et al.*, 2018).

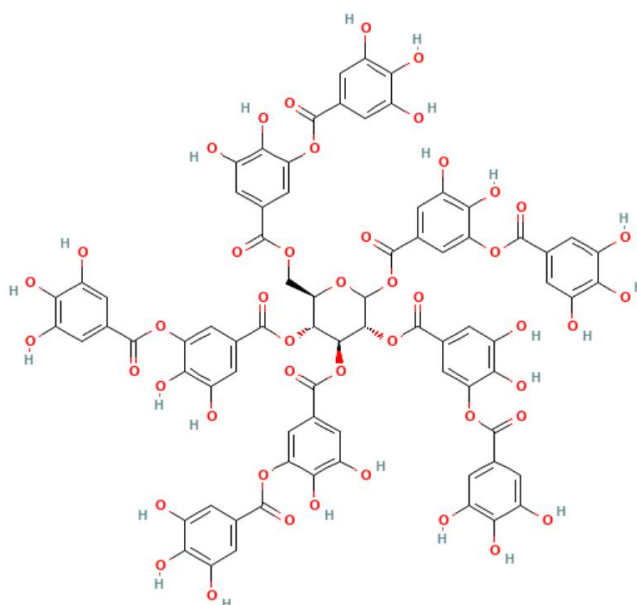


Figura 7. Estructura química de Ácido Tánico (PubChem,2023)

Se ha demostrado que el AT desempeña un efecto regulador en algunas vías de señalización asociadas la oncogénesis y a la MDR, cabe destacar que el AT mejora la quimiosensibilidad en células cancerosas resistentes a medicamentos (A. Youness *et al.*, 2021).

Se realizaron estudios previos sobre la actividad anticancerígena del AT sobre la proliferación, detención del ciclo y muerte celular en diferentes líneas de cáncer Hep3B, HepG2, PC-3, Ca Ski y HeLa, de las cuales las células Hep3B mostraron una mayor sensibilidad seguido de las células PC-3, además se obtuvieron resultados significativos sobre la detención del ciclo y muerte celular mediante apoptosis, siendo las células PC-3 y Hep3B las más afectadas después del tratamiento con AT (Sánchez-Carranza *et al.*, 2017).

Es importante mencionar que los agentes quimiosensibilizantes al combinarse con fármacos quimioterapéuticos contribuye en la eficacia y en la reversión del fenotipo de MDR, por otro lado su efecto regulador sobre las vías de señalización, ciclo celular e inducción de apoptosis los convierte en una alternativa para el tratamiento contra el cáncer (Cocetta *et al.*, 2021).

En el 2021, (Hernández Solano, 2022) determinó que el AT posee efecto quimiosensibilizante en células resistentes PC-3/PTX, dicho estudio consistió en combinar concentraciones diferentes de AT con PTX, se obtuvieron resultados significativos con base al efecto del AT, ya que revirtió el fenotipo de resistencia a PTX en células resistentes de cáncer de próstata de manera dosis dependiente.



### 3 Justificación

El cáncer de próstata es una de las enfermedades más prevalentes y mortales a nivel mundial. Los tratamientos convencionales, como el PTX, a menudo presentan resultados insatisfactorios debido a la adquisición de MDR mediada por Pg-p en células tumorales. Estudios recientes han sugerido que la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina puede estar involucrada en la modulación de la expresión de Pg-p en células de cáncer de próstata.

El AT ha demostrado tener múltiples actividades biológicas, incluyendo su efecto quimiosensibilizante en células de cáncer de próstata. Como tal, el AT es un polifenol de gran interés. Por lo tanto, este proyecto propone investigar el papel del AT en la regulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina. Los hallazgos de este estudio podrían proporcionar información relevante para el desarrollo de nuevos tratamientos contra el cáncer de próstata que sean más efectivos y menos tóxicos para los pacientes y/o puedan emplearse como coadyuvantes en combinación de los tratamientos convencionales.

## 4 Hipótesis

El AT modula la expresión y localización de  $\beta$ -catenina, E-cadherina y survivina en células PC-3/PTX resistentes de cáncer de próstata.

## 5 Objetivo general

Analizar el efecto del AT sobre la expresión y localización de  $\beta$ -catenina y E-cadherina y survivina en células PC-3/PTX resistentes de cáncer de próstata.

### 5.1 Objetivos específicos

- Analizar el efecto de AT sobre la expresión y localización de  $\beta$ -catenina por inmunofluorescencia en células PC-3/PTX.
- Analizar el efecto de AT sobre la expresión y localización de E-cadherina por inmunofluorescencia en células PC-3/PTX.
- Analizar el efecto de AT sobre la expresión y localización de survivina por inmunofluorescencia en células PC-3/PTX.

## 6 Metodología

### 6.1 Cultivo celular

La línea celular PC-3/PTX se generó por (Hernández Solano, 2021) a partir de las células parentales PC-3 obtenidas de ATCC (American Type Culture Collection USA), mediante selección gradual para resistencia con una concentración creciente de PTX. Brevemente, las células se trataron durante 48 h con concentraciones desde 5nM hasta 300nM, posteriormente se determinó la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) para PTX en la línea PC-3 y PC-3/PTX siendo 14.89nM y 392.3 nM respectivamente. Las células se cultivaron continuamente en presencia de PTX para mantener la resistencia adquirida.

Las células PC-3/PTX se cultivaron en Medio RPMI-1640 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), suplementado con suero fetal bovino al 10% (SFB, Invitrogen) y glutamina 2 mM en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y 37°C.

#### **Conteo celular**

Previamente al experimento se realizó el conteo celular, se utilizó azul de tripano y la cámara de Neubauer para determinar el número de células viables por mililitro.

$$No. de células = \left( \frac{No. de células}{No. de cuadrantes} * 1x10^4 \right) x Factor de dilución$$

Acabado el conteo celular, se realizaron los cálculos adecuados para determinar la densidad de células viables por pozo a utilizar en cada experimento.

## 6.2 Inmunofluorescencia $\beta$ -catenina

Para evaluar su efecto sobre la expresión y localización de  **$\beta$ -catenina** se sembraron  $2 \times 10^4$  células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio y se realizó el tratamiento con AT a concentraciones previamente determinadas por (Hernández Solano, 2021) a 25  $\mu$ M y 50  $\mu$ M respectivamente, las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Posteriormente las células se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM (PIPES 100 mM pH 6.9, EGTA 5 mM, MgCl<sub>2</sub> 2mM). Después de 15 minutos, se añadió PFA/NaHCO<sub>3</sub> y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Seguido, las placas fueron enjuagadas con PBS y tratadas con Triton X-100 al 0.1% (Sigma Aldrich), las células se incubaron con el anticuerpo primario  **$\beta$ -Catenina** (1:2000, C19220; BD Biosciences, San Jose, CA, USA), durante la noche a 4°C. Posteriormente se añadió el anticuerpo secundario (anti-ratón Alexa 647 1:100, A-21235, Molecular Probes) y se incubó durante una hora a 37°C. La tinción de los núcleos (fluorescencia azul) se realizó con Hoechst (300  $\mu$ M, 33342, Thermo Fisher Scientific) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes.

## 6.3 Inmunofluorescencia E-cadherina

Para evaluar su efecto sobre la expresión y localización de **E-cadherina** se sembraron  $2 \times 10^4$  células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio posteriormente se realizó el tratamiento con AT a concentraciones previamente determinadas por (Hernández Solano, 2021) a 25 $\mu$ M y 50  $\mu$ M respectivamente, las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Posteriormente las células se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM

(PIPES 100 mM pH 6.9, EGTA 5 mM, MgCL<sub>2</sub> 2mM). Después de 15 minutos, se añadió PFA/NaHCO<sub>3</sub> y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Seguido, las placas fueron enjuagadas con PBS y tratadas con Triton X-100 al 0.1% (Sigma Aldrich), y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Seguido, las placas fueron enjuagadas con PBS y tratadas con Triton X-100 al 0.1% (Sigma Aldrich), las células se incubaron con el anticuerpo primario anti-mouse **E-cadherina** (1:2500, cat 610182, BD Transduction Biosciences), durante la noche a 4°C. Posteriormente se añadió el anticuerpo secundario (anti-ratón Alexa 647 1:100, A-21235, Molecular Probes) y se incubó durante una hora a 37°C. Las células fueron teñidas con Hoechst (300 µM, 33342, Thermo Fisher Scientific) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes.

### **Inmunofluorescencia Survivina**

Para evaluar su efecto sobre la expresión y localización de **Survivina** se sembraron 2x10<sup>4</sup> células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio y se trataron con AT a concentraciones previamente establecidas a 25 µM y 50 µM (Hernández Solano, 2021). Las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>, posteriormente las células se fijaron con PFA al 4% en buffer PEM. Después de 15 minutos, se añadió PFA/NaHCO<sub>3</sub> y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Seguido, las placas fueron enjuagadas con PBS y tratadas con Triton X-100 al 0.1% (Sigma Aldrich), las células se incubaron con el anticuerpo primario **anti- survivina** (1:500, T9026, Sigma Aldrich), durante la noche a 4°C. Posteriormente se añadió el anticuerpo secundario (anti-rabbit Alexa 488 1:100, A-

21235, Molecular Probes) y se incubó durante una hora a 37°C. Las células fueron teñidas con Hoechst durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopía focal. Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes.

## 7 Resultados y discusión

Una cantidad creciente de estudios indican que los polifenoles son capaces de sensibilizar a los tumores resistentes a medicamentos quimioterapéuticos a través de diversos mecanismos.

La activación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina está involucrada en la progresión del cáncer, relacionada con la sobreexpresión de  $\beta$ -catenina en núcleo y citoplasma, lo cual se asocia a tumores de mayor tamaño y en etapas de cáncer avanzado, dando lugar a la progresión y metástasis afectando significativamente la tasa de supervivencia general (Han & Llim, 2020). Además, puede aumentar la expresión de proteínas antiapoptóticas, lo que reduce la sensibilidad de las células cancerosas a la apoptosis inducida por la quimioterapia.

La activación de la vía Wnt puede disminuir la eficacia de las terapias dirigidas al reducir la expresión de los receptores o aumentar la actividad de las proteínas que confieren resistencia a estas terapias, así como la sobreexpresión de los transportadores ABC (Li H *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2015; Naus *et al.*, 2007). Por lo tanto, la inhibición de la vía Wnt puede ser una estrategia efectiva para superar la resistencia a estas terapias en algunos casos de cáncer.

Estudios previos en nuestro grupo de trabajo por (Hernández Solano, 2021) mostraron un efecto quimiosensibilizante de AT sobre líneas celulares PC-3/PTX, este efecto quimiosensibilizante de AT potencializó el efecto de paclitaxel sobre su blanco,  $\beta$ -tubulina.

Por lo que en la búsqueda del mecanismo de acción del efecto quimiosensibilizante de AT fue de nuestro interés explorar su efecto sobre la modulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.

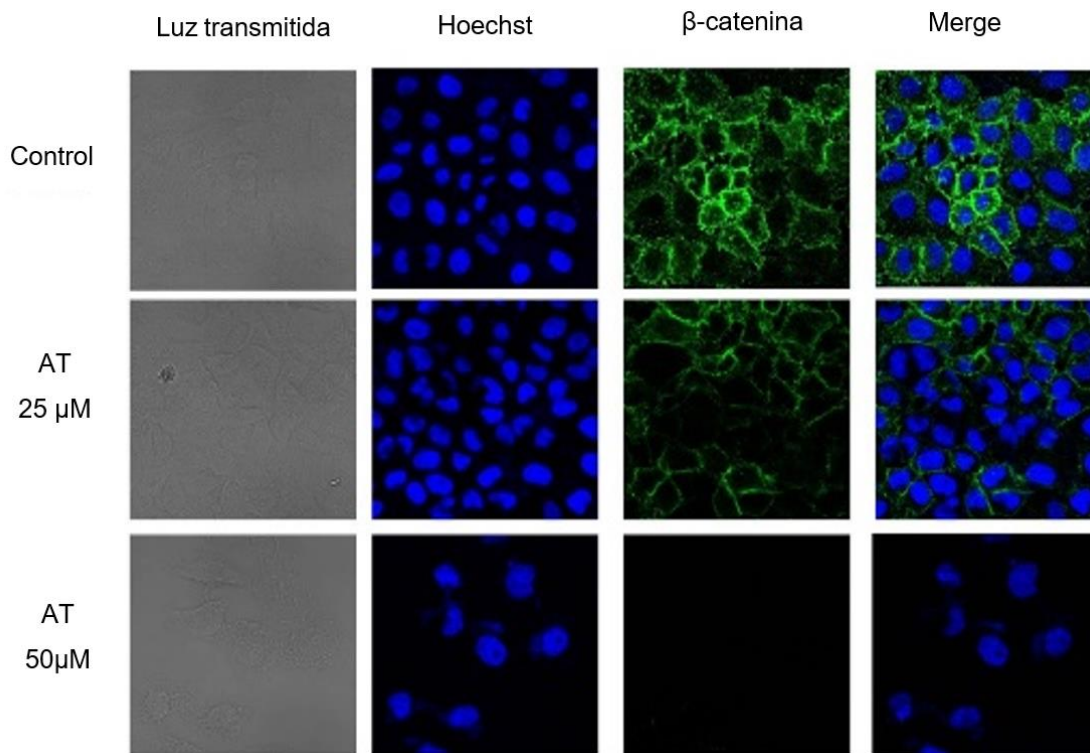
Por tal motivo iniciamos evaluando el efecto de AT sobre la localización y expresión de  $\beta$ -catenina en la línea celular PC-3/PTX, pues la localización de la  $\beta$ -catenina en la célula es crucial para su función en la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina. La activación de esta vía conduce a la acumulación de la  $\beta$ -catenina en el citoplasma y su translocación al núcleo, donde actúa como un factor de transcripción para activar la expresión de genes específicos (Han & Llim, 2020).

### 7.1 El AT reduce la expresión de $\beta$ -catenina en células PC-3/PTX

Para analizar la localización y expresión de  $\beta$ -catenina, se utilizó la técnica de inmunofluorescencia, que es un método de alta sensibilidad que permite la detección y localización de antígenos específicos en células o tejidos (Im et al., 2019).

En la **Figura 8** se muestran los resultados obtenidos de la inmunofluorescencia que se realizó en las células PC-3/PTX. La primera columna se muestra la luz transmitida, la segunda columna hace referencia a la tinción del núcleo celular por Hoechst, la tercera columna muestra la expresión de  $\beta$ -catenina y la cuarta columna al *Merge* que es básicamente el empalme de las imágenes entre el núcleo de la célula y la expresión de  $\beta$ -catenina. Las células sin tratamiento se muestran en la primera fila donde es posible observar que las células PC-3/PTX presentan una sobreexpresión de  $\beta$ -catenina localizada en mayor medida en citoplasma y membrana, algunas células muestran su localización en núcleo y en membrana.





*Figura 8. Localización y expresión de  $\beta$ -cadherina en células PC-3/PTX*

Para evaluar el efecto del AT se utilizaron concentraciones de 25  $\mu$ M y 50  $\mu$ M respectivamente. En la segunda fila las células se sometieron a una concentración de 25 $\mu$ M de AT, de manera que disminuyó la expresión de  $\beta$ -catenina en el citoplasma notoriamente, de tal modo que la expresión y localización de  $\beta$ -catenina se muestra solo en la membrana celular.

Con el fin de verificar que el efecto del AT era dosis-dependiente, se realizó el tratamiento a una concentración de 50  $\mu$ M, por lo tanto, a esta concentración se inhibió por completo la expresión de  $\beta$ -catenina, es decir, su localización es casi nula en la célula, nuestros resultados sugieren que AT modula la expresión y localización de  $\beta$ -catenina, sugiriendo su efecto sobre la inhibición de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.

Los resultados obtenidos se pueden asociar con una regulación negativa de la vía Wnt/ $\beta$ catenina debido a que inhibe la traslocación de la  $\beta$ -catenina hacia el núcleo, lo que coincide con (Srivastava NS & Rai, 2019) demostró que la quercetina inhibe la actividad transcripcional de la  $\beta$ -catenina y la expresión de genes diana de la vía de señalización Wnt.

En otro estudio publicado por (Dai et al., 2018) se analizó el efecto del resveratrol sobre la vía de señalización Wnt en células de cáncer gástrico. Demostraron que el resveratrol reduce los niveles de expresión de  $\beta$ -catenina y promueve su degradación de manera que inhibe de la expresión de genes diana de la vía Wnt como c-myc, cyclin D1 entre otros.

Por otro lado, (Barati et al., 2022) demostró que el extracto *Teucrium persicum* Boiss inhibió la actividad transcripcional de la  $\beta$ -catenina en células de cáncer de próstata. Además, moduló expresión de  $\beta$ -catenina sobre la membrana celular, lo cual se asocia con la regulación negativa de la vía Wnt, la estabilidad del complejo proteico E-cadherina/ $\beta$ -catenina y la unión adherente.

La glicoproteína de superficie E-cadherina es una de las moléculas más importantes que hacen posible la adhesión intercelular en los tejidos, esta proteína está implicada en la formación y mantenimiento de las uniones estrechas y adherentes entre células, lo que es esencial para el mantenimiento de la integridad del epitelio. La reducción/pérdida de la expresión de E-cadherina se reconoce como parte de los principales eventos moleculares que impulsan la pérdida de adhesión célula-célula, por lo tanto, están asociados con la progresión del cáncer, invasión y la metástasis del cáncer. Cabe mencionar que un tumor es más invasivo porque ha perdido su capacidad

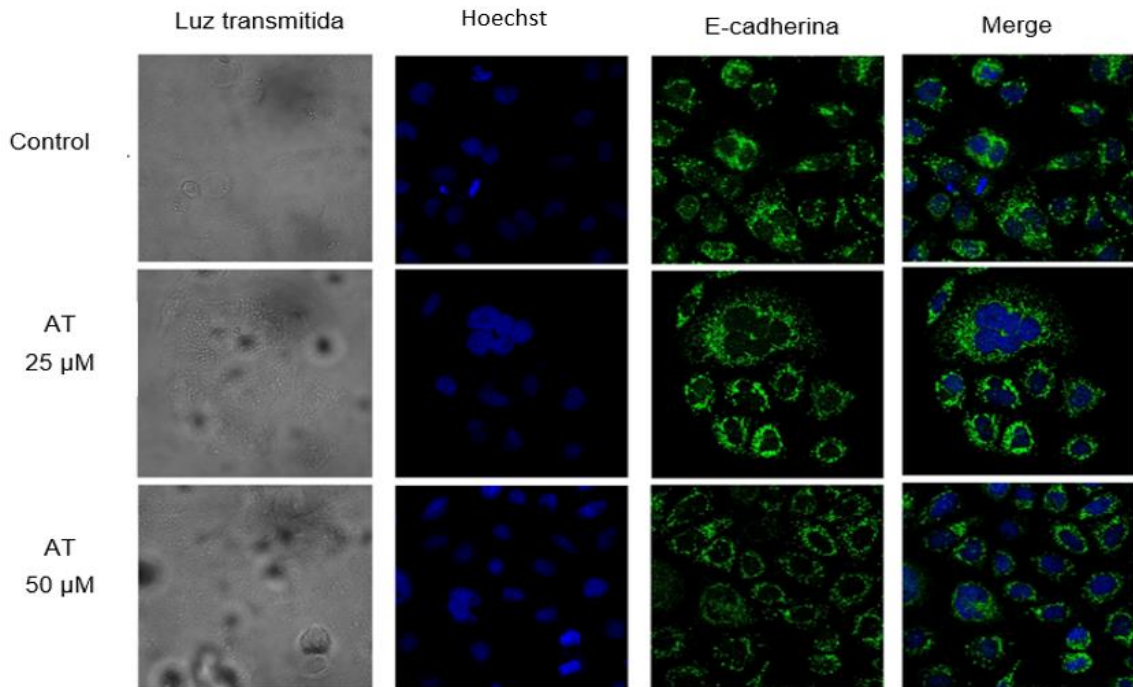
de adhesión intercelular; por lo tanto, se puede suponer que la falta de expresión de esta molécula de adhesión permitiría en los adenocarcinomas un comportamiento más invasivo en tejidos cercanos (Debies & Welch, 2001).

Además, se considera a E-cadherina como un regulador negativo de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, ya que su función es impedir la translocación de la  $\beta$ -catenina al núcleo y la activación de la vía. La pérdida de la E-cadherina puede llevar a la activación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina y a la proliferación celular descontrolada, lo que puede contribuir al desarrollo y progresión del cáncer (Oloumi *et al.*, 2004). En este sentido nos interesó evaluar el efecto de AT sobre E-cadherina, a continuación, se describen los resultados.

## 7.2 El AT reduce la expresión de E-cadherina en células PC-3/PTX

Se analizó el efecto del AT sobre E-cadherina con el fin de determinar los niveles de expresión y localización en células PC-3/PTX, esto debido a lo mencionado anteriormente de su papel regulatorio sobre la activación de la vía Wnt, además de su importante papel de E-cadherina como una proteína de adhesión celular

En la **Figura 9** se muestra los resultados obtenidos mediante una inmunofluorescencia. En la primera columna se muestra la luz transmitida y las condiciones del experimento. Para la identificación de los núcleos las células fueron teñidas con Hoechst, lo cual se asocian a una fluorescencia de color azul mostrada en la segunda columna. En la tercera columna se muestra la expresión de E-cadherina que corresponde a la fluorescencia color verde y la cuarta columna hace referencia al *Merge*.



*Figura 9. Localización y expresión de E-cadherina en células PC3/PTX tratadas con 25 y 50  $\mu$ M de AT*

En la primera se encuentran las células sin tratamiento y la expresión de E-cadherina no se observa de manera clara, es decir, su localización sobre bordes membranales de las células PC- 3/PTX no está bien definida.

En cambio, en el tratamiento con AT a 25  $\mu$ M (segunda fila) se observa una mayor expresión de E-cadherina en la membrana plasmática con una clara definición de bordes membranales. De manera similar, se puede observar una localización más definida de E-cadherina en la membrana a una concentración de 50  $\mu$ M de AT, como se muestra en la tercera fila.

Las células tienen la capacidad de controlar la intensidad de su adhesión y su unión a otras células mediante diversos mecanismos. Pueden variar el tipo y la cantidad

de moléculas de adhesión que exponen en su membrana plasmática mediante el control de su síntesis y degradación, o temporalmente retenerlas en compartimentos internos a través de procesos de endocitosis y exocitosis. Otra forma de controlar la adhesión celular es a través de la activación o inactivación temporal de las moléculas de adhesión que se encuentran en la membrana plasmática. En condiciones normales, la E-cadherina se une a la membrana celular y evita que la  $\beta$ -catenina se acumule en el citoplasma y se traslade al núcleo. Sin embargo, cuando la E-cadherina se degrada o se pierde, la  $\beta$ -catenina se libera y se acumula en el citoplasma, para su posterior desplazamiento al núcleo y activar la transcripción de genes asociados con la proliferación y la supervivencia celular.

El efecto del AT mostrado sobre  $\beta$ -catenina y E-cadherina se relaciona con lo publicado por (Stepniak *et al.*, 2009) donde ellos revisan los mecanismos moleculares y celulares de la adhesión intercelular e indican que la interacción entre la E-cadherina y la  $\beta$ -catenina en la membrana celular es esencial para la formación y estabilidad de los complejos adherentes. También mencionan que las mutaciones en las proteínas de la adherencia intercelular, incluyendo la E-cadherina y la  $\beta$ -catenina, desestabilizan la adhesión intercelular y están asociadas con enfermedades como el cáncer. La pérdida de la función de la E-cadherina promueve la localización de  $\beta$ -catenina en el citoplasma promoviendo la invasión y metástasis de las células tumorales.

Por su parte (Mukherjee *et al.*, 2014) demostró que la curcumina disminuye la migración de las células de cáncer de mama al aumentar la expresión de la proteína E-cadherina. La E-cadherina (proteína de adhesión celular) ayuda a mantener la estructura y función normales de los tejidos. Además, se encontró que la curcumina amplifica las

interacciones E-cadherina con la proteína  $\beta$ -catenina, lo que contribuye a la disminución de la migración de las cancerígenas.

Por lo tanto, la expresión E-cadherina puede contribuir a la regulación de vías de señalización implicadas en apoptosis (Chiu *et al.*, 2016) muestran que antrocin "un compuesto bioactivo de *Antrodia cinnamomea*" promueve la expresión de E-cadherina, y esto favorece la regulación de Fas, DR5 y Bax y la activaciones de caspasa-3, -8 y -9. Además, también se observó una disminución de la fosforilación de FAK, MMP y vimentina; así mismo atenúa la fosforilación de ERK y c-Fos. Todos estos efectos promueven la inhibición del crecimiento, migración y la invasión celular e induce la apoptosis.

Los mecanismos que generan reducción/pérdida de la expresión de E-cadherina comprenden la mutación del gen CDH1 (Baranwal & Alahari, 2009), la mutación truncada (Strathdee, 2002) la hipermetilación del promotor (Graff *et al.*, 1995) y la inactivación transcripcional (Batlle *et al.*, 2000). Varios estudios han demostrado que ~38 % de los tumores de alto grado muestran una reducción/pérdida de la expresión de E-cadherina y este fenómeno se ha relacionado con un comportamiento tumoral agresivo.

Por su parte, se ha demostrado que existen varias vías oncogénicas que contribuyen a la transición epitelial-mesenquimatoso (EMT) que se asocia con la progresión tumoral y metástasis, siendo uno de los principales factores asociados a la pérdida de proteínas de expresión como son E-cadherina y  $\beta$ -catenina. En este sentido, (Wang H *et al.*, 2013) describen cómo el resveratrol, un compuesto natural encontrado en algunas plantas y en el vino tinto, puede inhibir la EMT inducida por TGF- $\beta$ 1 en células de cáncer de pulmón. La EMT es un proceso en el que las células epiteliales adquieren

características de células mesenquimales y se vuelven más móviles y agresivas, lo que puede contribuir a la invasión y metástasis del cáncer. En el estudio encontraron que el resveratrol modula la expresión de la proteína E-cadherina, que es importante para mantener las células unidas y adheridas entre sí en los tejidos epiteliales. La pérdida de E-cadherina es un marcador de EMT y se ha asociado con la progresión del cáncer. Además, el resveratrol también demostró que reduce la migración y la invasión de las células de cáncer de pulmón en un ensayo de invasión *transwell* y un ensayo de cicatrización de heridas.

Respecto al cáncer colorrectal (CCR) (Barboura *et al.*, 2022) muestran que el AT fue capaz de inhibir la proliferación en células y de modular la adhesión celular en células CRC SW480, SW480 humanas y CRC CT26 murinas. Se reportó una  $CI_{50}$  de tratamiento de 6  $\mu$ M y 22  $\mu$ M para SW480 y SW620 respectivamente, y de 5.5  $\mu$ M para las células CT26 murinas a las 48 horas de tratamiento, de las cuales las células SW480 y CT26 presentaron una mayor sensibilidad a AT. El efecto fue mediante la inhibición de la transición epitelial-mesenquimatosa (EMT) inducida por TGF-  $\beta$ 1, así como la inhibición de la proteína Slug y en diferentes vías de señalización por medio de la disminución y activación de las cinasas ERK1/2, AKT y P38.

En algunos estudios, se ha demostrado que la disminución o pérdida ha sido implicada en la EMT y en la progresión del cáncer en varios tipos de cáncer, incluyendo cáncer de mama, cáncer de ovario y cáncer de pulmón. Se ha sugerido que la pérdida de la E-cadherina puede aumentar la plasticidad de las células cancerosas y contribuir a la MDR (Bruner & Derksen, 2018; De Las Rivas *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2015; Song & Faber, 2019).

En este sentido (Chen P *et al.*, 2015) investigaron el efecto de curcumina, un compuesto natural que se encuentra en la cúrcuma, en células resistentes al cisplatino en cáncer de pulmón. Los autores encontraron que curcumina puede aumentar la expresión de la E-cadherina y reducir la resistencia al cisplatino al inhibir la vía FA/BRCA.

Mientras que (Chen X *et al.*, 2012) encontraron que la pérdida de E-cadherina, está asociada con el crecimiento y la invasión de las células de carcinoma colorrectal, así como con la MDR y la metástasis hepática. Además, los autores sugieren que la E-cadherina puede ser un posible biomarcador para la detección temprana y la progresión del carcinoma colorrectal (Kar *et al.*, 2015).

Por su parte, (Lu *et al.*, 2012) encontraron que la línea celular MCF-7/Adr, una línea celular resistente a múltiples fármacos, tiene niveles reducidos de E-cadherina en comparación con la línea celular MCF-7 sensible a los fármacos. Además, la MCF-7/Adr también presentó un aumento en la capacidad invasiva en comparación con la MCF-7. Los resultados sugieren que la pérdida de E-cadherina puede estar involucrada en la mejora de la capacidad invasiva de la MCF-7/Adr y podrían tener implicaciones importantes en la MDR a los tratamientos del cáncer de mama.

En general todos estos reportes convergen en que la pérdida de E-cadherina se ha relacionado con la activación de la vía de señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina. Por su parte, se ha demostrado que la pérdida de E-cadherina se asocia con un aumento en la expresión de survivina en diferentes tipos de cáncer.

La survivina, es una proteína antiapoptótica que promueve tanto la proliferación celular como la angiogénesis, lo que proporciona ventajas a un tumor de rápido crecimiento y, en consecuencia, a una transformación neoplásica. Además de su papel



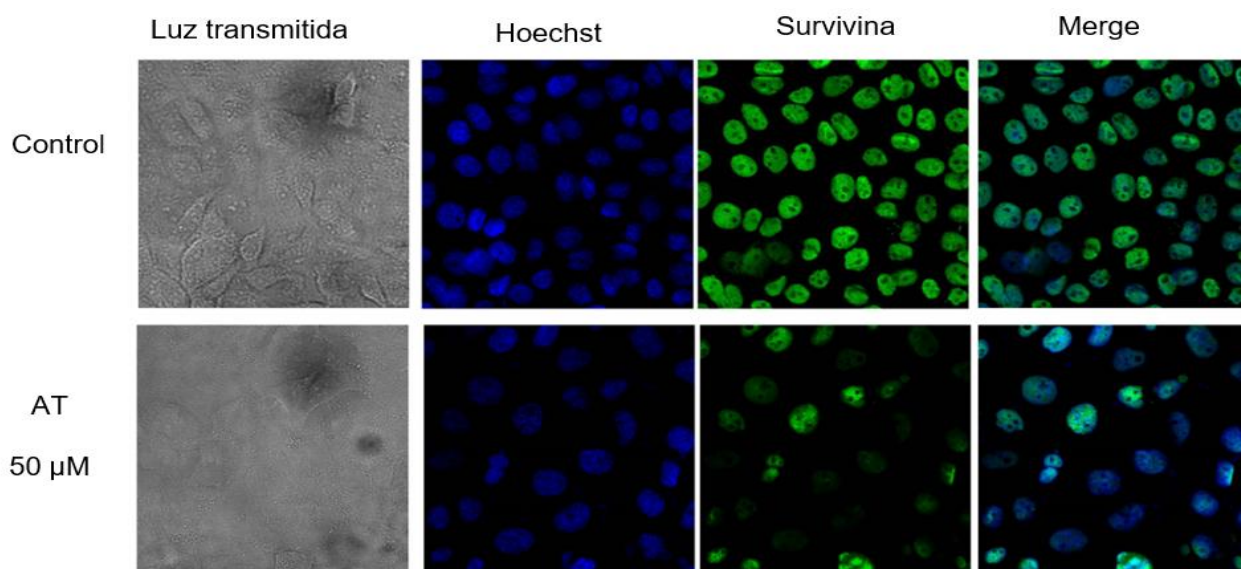
directo en la carcinogénesis, la survivina también puede desempeñar un papel clave en la progresión del cáncer y la angiogénesis tumoral debido a su alta expresión en las células endoteliales durante la fase de remodelación y proliferación de la angiogénesis (Lee *et al.*, 2006; Mita *et al.*, 2008).

### **7.3 Expresión de survivina en células PC-3/PTX**

Se ha observado que la sobreexpresión de la proteína survivina puede estar relacionada con la MDR en diferentes tipos de cáncer. Esto se debe a que survivina puede inhibir la apoptosis o muerte celular programada, que es un proceso natural que las células utilizan para autodestruirse cuando están dañadas o disfuncionales. Además, estudios han demostrado que la inhibición de survivina puede aumentar la sensibilidad de las células cancerosas a los medicamentos anticancerígenos y mejorar la eficacia del tratamiento, lo que sugiere que la regulación de esta proteína puede ser una estrategia terapéutica útil en pacientes con cáncer, además de que survivina es un blanco molecular de  $\beta$ -catenina por lo que su regulación también se relaciona con la regulación negativa de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.

En este sentido, nos interesó analizar el efecto de AT sobre la expresión y localización de survivina, para lo cual se utilizó la técnica de inmunofluorescencia para determinar su expresión y localización en las células PC-3/PTX.

En la **figura 10** en la primera fila se muestran los resultados de la expresión y localización de survivina en células sin tratamiento; en la segunda fila las células tratadas a una concentración de AT a 50  $\mu$ M. Los núcleos fueron teñidos con Hoechst para la identificación del núcleo celular la cual se asocia a la fluorescencia de color azul; la fluorescencia color verde corresponde a la expresión de la survivina y el Merge representa el empalme de ambas tinciones. También es posible observar una sobreexpresión citoplasmática de survivina en las células PC-3/PTX sin tratamiento. Con base al análisis de expresión de survivina, en las células tratadas con AT a 50  $\mu$ M se detectó una menor tinción citoplasmática indicando que los niveles de expresión disminuyeron en gran parte de las células PC-3/PTX.



*Figura 10. Localización y expresión de survivina en células PC-3/PTX tratadas con 50  $\mu$ M de AT.*

Estos resultados son interesantes debido a que hay reportes que indican que la regulación negativa de la expresión de survivina elevó la sensibilidad a la quimioterapia y promueve la apoptosis. Por ejemplo un estudio en células de cáncer de ovario A2780

realizado por (Tang *et al.*, 2016) demostró que punicalagina (PUN), un polifenol aislado de *depunica granatum*, a una concentración de 0, 3, 6, y 12  $\mu$ M durante 24 horas reguló a la baja la expresión de survivina mediante la inhibición de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina de manera dependiente de la dosis. De manera similar en células PC-3 de cáncer de próstata, se reportó un efecto regulador al alza de Bax y Bak, así como una disminución en Bcl-XL y Bcl-2. Mientras que (Liu *et al.*, 2010) encontraron que la inhibición de la expresión de survivina también redujo la expresión de P-glicoproteína/MDR1, lo que sugiere una conexión entre ambas proteínas en la MDR en estas células.

Recientemente autores encontraron que la hipoxia aumentó la expresión de survivina y la MDR de las células sugiriendo que survivina puede desempeñar un papel importante en la MDR inducida por la hipoxia en células de carcinoma de laringe, y puede ser un objetivo terapéutico potencial para mejorar la eficacia del tratamiento contra el cáncer.

Por su parte, una de las vías responsables de la progresión tumoral mediada por survivina es la promoción de la angiogénesis en las células cancerosas. Survivina aumenta la expresión de VEGF y promueve la proliferación de células endoteliales (EC) por mecanismos que aún no están claros. Se ha sugerido la existencia de un bucle de retroalimentación positiva que conecta la expresión de survivina en las células tumorales con la transcripción dependiente de  $\beta$ -catenina-Tcf/Lef potenciada por PI3K/Akt que induce la secreción de VEGF y la angiogénesis (Fernández *et al.*, 2014).

El silenciamiento del gen survivina mediado por ARN de interferencia pequeño (ARNip) aumenta la apoptosis, inhibe la formación de tumores y la angiogénesis en células de cáncer de mama y de cuello uterino *in vivo* (Li *et al.*, 2006).

La expresión de VEGF inducida por survivina también contribuye a la quimiorresistencia al estimular la organización de la tubulina en distintas fibras (Tran et al., 2002). La survivina está especialmente regulada al alza en las CE vasculares tumorales en comparación con los tejidos normales, lo que confiere MDR en las CE vasculares tumorales (Virrey *et al.*, 2008). Por lo tanto, la inhibición de survivina en el tumor promoverá no solo la muerte de las células tumorales, sino que también sensibilizará a las células de la red vascular del tumor a los fármacos quimioterapéuticos.

En general todos los resultados presentados anteriormente determinaron el efecto antitumoral y sensibilizante del AT mediante la inhibición de la expresión de  $\beta$ -catenina y su localización en membrana, incremento en la expresión de E-cadherina y su localización en membrana y la inhibición de la expresión de survivina proteína antiapoptótica y blanco molecular de  $\beta$ -catenina, estos resultados sugieren que AT tiene efecto en la inhibición de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.

Nuestros resultados concuerdan con varios estudios que indican que la activación de la vía Wnt puede aumentar la expresión de las proteínas MDR, lo que lleva a una mayor resistencia a los tratamientos contra el cáncer. Además, se ha demostrado que la inhibición de la vía Wnt puede disminuir la expresión de MDR y aumentar la sensibilidad de las células cancerosas a los fármacos.

Por ejemplo, se han demostrado que la activación de TCF7, un regulador transcripcional positivo en la señalización de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, induce señalización anormal de Wnt/ $\beta$ -catenina, e induce resistencia a gedatolisib en células de cáncer de colon (Park *et al.*, 2019), también se asocia que la enzima conjugadora de ubiquitina 2, proteínas UBE2S y UBE2M puede activar la vía de señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina,

promoviendo la resistencia a olaparib en cáncer de ovario y resistencia a 5-FU en cáncer colorrectal, respectivamente (Hu *et al.*, 2021; J. Xu *et al.*, 2020).

Por su parte, la regulación de la expresión de  $\beta$ -catenina aumenta efectivamente la sensibilidad de las células de cáncer de ovario a los fármacos quimioterapéuticos y revierte la MDR de platino (Barghout *et al.*, 2015). Otro estudio en pacientes con cáncer de mama resistente al carboplatino encontró que la activación canónica de señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina regula la expresión de marcadores tumorales y promovió la resistencia al carboplatino. Inhibición de la Wnt/ $\beta$ -catenina restauró la sensibilidad del tejido tumoral al carboplatino (Abreu de Oliveira *et al.*, 2021), también revirtió la resistencia a la enzalutamida en el cáncer de próstata (Zhang Z *et al.*, 2018).

Además, se ha demostrado que ARN pequeños también puede regular la vía de señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina para promover o inhibir la adquisición de MDR quimioterapéuticos. Por ejemplo, MiR-624-5p regula la expresión de la proteína 3 que contiene el dominio pirina de la familia de receptores tipo nod (NLRP3) a través de la vía de señalización EMT/IL-1/Wnt/ $\beta$ -catenina, y promueve resistencia a gemcitabina en células de cáncer de ovario. MiR-331-3p activa Wnt/ $\beta$ -catenina y promueve la resistencia a la quimioterapia fármacos en el cáncer de próstata (Z. Zhang *et al.*, 2018).

El regulador 1 de BMP (CRIM1) inhibe la señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina y revierte la resistencia a cetuximab en el cáncer colorrectal (Han *et al.*, 2022).

Otro estudio muestra que la activación de la vía de señalización de PI3K/Akt y un aumento en la expresión del factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1) regulado por la  $\beta$ -catenina nuclear y la reprogramación metabólica de la glucosa inducida, confiriendo resistencia al fluorouracilo (5-FU) en el cáncer colorrectal (Dong *et al.*, 2022). En cáncer

colorrectal, la expresión de carnitina palmitoiltransferasa 2 (CPT2) se regula negativamente, activando la vía ROS/Wnt/ $\beta$ -catenina e inducción de resistencia al oxaliplatino en el cáncer colorrectal (H. Li *et al.*, 2021).

Por otro lado, en la línea de carcinoma de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) el AT indujo la detección del ciclo celular y la migración de las células cancerosas mediante la vía de señalización TGF- $\beta$ 1. Se reportó el efecto del AT en la línea celular CPCNP siendo A549 y H1299 a una concentración de 25  $\mu$ M y 50  $\mu$ M durante 24 horas de tratamiento. En la línea A549 el AT inhibió la expresión de SOX2, OCT4 y NANOG que están asociados a la viabilidad de las células troncales cancerosas, también la reguló las proteínas involucradas en ciclo celular tales como P53, P21, P18, BAX y BCL-2. De igual forma se observó un efecto sobre la sobre la vía EMT y la vía VEGF/VEGFR2 que tienen un papel importante en la migración, proliferación y supervivencia celular. El AT demostró tener un efecto dependiente de la dosis (Pattarayan *et al.*, 2018).

Por su parte, estudios muestran que la regulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina puede regular factores pro-apoptóticos e inhiben los factores anti-apoptóticos, promoviendo así la apoptosis endógena (Scaria *et al.*, 2020). Por ejemplo, en la línea de cáncer gingival YD-38 AT arrojó una  $CI_{50}$  que osciló entre 50 y 70  $\mu$ M, las células se trataron con concentraciones crecientes de AT durante 48 horas, el efecto del AT redujo al 50% la viabilidad celular e indujo la detención de la fase G1/S del ciclo celular a una concentración de 60  $\mu$ M. El estudio reveló que el AT disminuyó la expresión Bcl-2 y Bcl-XL y aumentó la expresión de Bax y la activación de caspasa -3 de manera que confirma la inducción de apoptosis, el efecto causado se debió a la supresión de la vía

JaK2/STAT3 (Darvin *et al.*, 2015). Por su parte otro estudio, indica que matrine también puede inducir daño mitocondrial al promover el efecto proapoptótico de genes Bax, Bid, Bad y Bim, y la regulación negativa de los genes inhibidores de la apoptosis Bcl-2, Mcl-1 y Bcl-XL para promover la apoptosis endógena. Estudios muestran que matrine regula la expresión de ABCB1, lo que reduce el flujo de salida del fármaco, lo que también puede estar relacionado con la inhibición de NF- $\kappa$ B y facilitar la vía apoptótica intrínseca mediante la regulación negativa del factor antiapoptótico Bcl-2 (Chen X *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2018).

En este estudio fue posible determinar el efecto antitumoral y sensibilizante del AT mediante la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina.

## 8 Conclusiones

Con base a los resultados de nuestro estudio, se sugiere que el efecto quimiosensibilizante del tratamiento con AT en células PC-3/PTX, esta mediado por la modulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina

- El AT disminuye la expresión de  $\beta$ -catenina y promueve su localización en la membrana, evitando su traslocación al núcleo y la expresión de genes implicados en la proliferación celular.
- AT incrementa los niveles de E-cadherina en membrana, lo cual se asocia a la regulación negativa de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.
- At disminuye la expresión de survivina, blanco molecular de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina.



## 9 Referencias

A. Youness, R., Kamel, R., A. Elkasabgy, N., Shao, P., & A. Farag, M. (2021). Recent Advances in Tannic Acid (Gallotannin) Anticancer Activities and Drug Delivery Systems for Efficacy Improvement; A Comprehensive Review. *Molecules*, 26(5), 1486. <https://doi.org/10.3390/molecules26051486>

Abreu de Oliveira, W. A., Moens, S., El Laithy, Y., van der Veer, B. K., Athanasouli, P., Cortesi, E. E., Baietti, M. F., Koh, K. P., Ventura, J.-J., Amant, F., Annibaldi, D., & Lluis, F. (2021). Wnt/ $\beta$ -Catenin Inhibition Disrupts Carboplatin Resistance in Isogenic Models of Triple-Negative Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2021.705384>

Alqahtani, F. Y., Aleanizy, F. S., El Tahir, E., Alkahtani, H. M., & AlQuadeib, B. T. (2019). Paclitaxel. *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology*, 44, 205-238. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2018.11.001>

American Cancer Society. (2021). *Tipos de tratamiento contra el cáncer*. <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento.html>

Baranwal, S., & Alahari, S. K. (2009). Molecular mechanisms controlling E-cadherin expression in breast cancer. *Biochemical and biophysical research communications*, 384(1), 6-11. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.04.051>

Barati, N., Tafrihi, M., & A Najafi, S. M. (2022). Membrane Localization of  $\beta$ -Catenin in Prostate Cancer PC3 Cells Treated with Teucrium persicum Boiss. Extract. *Nutrition and Cancer*, 74(5), 1819-1828. <https://doi.org/10.1080/01635581.2021.1961829>

Barboura, M., Cornebise, C., Hermetet, F., Guerrache, A., Selmi, M., Salek, A., Chekir-Ghedira, L., Aires, V., & Delmas, D. (2022). Tannic Acid, A Hydrolysable Tannin, Prevents Transforming Growth Factor- $\beta$ -Induced Epithelial-Mesenchymal Transition to Counteract Colorectal Tumor Growth. *Cells*, 11(22), 3645. <https://doi.org/10.3390/cells11223645>

Barghout, S. H., Zepeda, N., Xu, Z., Steed, H., Lee, C.-H., & Fu, Y. (2015). Elevated  $\beta$ -catenin activity contributes to carboplatin resistance in A2780cp ovarian cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 468(1-2), 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.10.138>

Bates, D., & Eastman, A. (2017). Microtubule destabilising agents: Far more than just antimetabolic anticancer drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 83(2), 255-268. <https://doi.org/10.1111/bcp.13126>

Battle, E., Sancho, E., Francí, C., Domínguez, D., Monfar, M., Baulida, J., & García De Herreros, A. (2000). The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nature Cell Biology*, 2(2), 84-89. <https://doi.org/10.1038/35000034>

Bejsovec, A. (2018). Wingless Signaling: A Genetic Journey from Morphogenesis to Metastasis. *Genetics*, 208(4), 1311-1336. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300157>

Brau-Figueroa, H., Palafox-Parrilla, E. A., Mohar-Betancourt, A., Brau-Figueroa, H., Palafox-Parrilla, E. A., & Mohar-Betancourt, A. (2020). El Registro Nacional de Cáncer en México, una realidad. *Gaceta mexicana de oncología*, 19(3), 107-111. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.20000030>

Bruner, H. C., & Derksen, P. W. B. (2018). Loss of E-Cadherin-Dependent Cell-Cell Adhesion and the Development and Progression of Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(3), a029330. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029330>

Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020). Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3233. <https://doi.org/10.3390/ijms21093233>

Catherine Sánchez, N. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(4), 553-562. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70659-X](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70659-X)

Chen, H., Huang, Y., Huang, J., Lin, L., & Wei, G. (2017). Gigantol attenuates the proliferation of human liver cancer HepG2 cells through the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Oncology Reports*, 37(2), 865-870. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5299>

Chen, P., Li, J., Jiang, H.-G., Lan, T., & Chen, Y.-C. (2015). Curcumin reverses cisplatin resistance in cisplatin-resistant lung cancer cells by inhibiting FA/BRCA pathway. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 36(5), 3591-3599. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2996-4>

Chen, X., Wang, Y., Xia, H., Wang, Q., Jiang, X., Lin, Z., Ma, Y., Yang, Y., & Hu, M. (2012). Loss of E-cadherin promotes the growth, invasion and drug resistance of colorectal cancer cells and is associated with liver metastasis. *Molecular Biology Reports*, 39(6), 6707-6714. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1494-2>

Chen, Z., Nishimura, N., Okamoto, T., Wada, K., & Naora, K. (2019). Molecular Mechanism of Matrine from *Sophora alopecuroides* in the Reversing Effect of Multi-Anticancer Drug Resistance in K562/ADR Cells. *BioMed Research International*, 2019, 1269532. <https://doi.org/10.1155/2019/1269532>

Chesire, D. R., & Isaacs, W. B. (2003). Beta-catenin signaling in prostate cancer: An early perspective. *Endocrine-Related Cancer*, 10(4), 537-560. <https://doi.org/10.1677/erc.0.0100537>

Chiu, K.-Y., Wu, C.-C., Chia, C.-H., Hsu, S.-L., & Tzeng, Y.-M. (2016). Inhibition of growth, migration and invasion of human bladder cancer cells by antrocin, a sesquiterpene lactone isolated from *Antrodia cinnamomea*, and its molecular mechanisms. *Cancer Letters*, 373(2), 174-184. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.11.046>

Cocetta, V., Quagliariello, V., Fiorica, F., Berretta, M., & Montopoli, M. (2021). Resveratrol as Chemosensitizer Agent: State of Art and Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 2049. <https://doi.org/10.3390/ijms22042049>

Costea, T., Vlad, O. C., Miclea, L.-C., Ganea, C., Szöllősi, J., & Mocanu, M.-M. (2020). Alleviation of Multidrug Resistance by Flavonoid and Non-Flavonoid Compounds in Breast, Lung, Colorectal and Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 401. <https://doi.org/10.3390/ijms21020401>

Dai, H., Deng, H.-B., Wang, Y.-H., & Guo, J.-J. (2018). Resveratrol inhibits the growth of gastric cancer via the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Oncology Letters*, 16(2), 1579-1583. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8772>

De Las Rivas, J., Brozovic, A., Izraely, S., Casas-Pais, A., Witz, I. P., & Figueroa, A. (2021). Cancer drug resistance induced by EMT: Novel therapeutic strategies. *Archives of Toxicology*, 95(7), 2279-2297. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03063-7>

Debies, M. T., & Welch, D. R. (2001). Genetic basis of human breast cancer metastasis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 6(4), 441-451. <https://doi.org/10.1023/a:1014739131690>

Dehelean, C. A., Marcovici, I., Soica, C., Mioc, M., Coricovac, D., Iurciuc, S., Cretu, O. M., & Pinzaru, I. (2021). Plant-Derived Anticancer Compounds as New Perspectives in Drug Discovery and Alternative Therapy. *Molecules*, 26(4), 1109. <https://doi.org/10.3390/molecules26041109>

Dong, S., Liang, S., Cheng, Z., Zhang, X., Luo, L., Li, L., Zhang, W., Li, S., Xu, Q., Zhong, M., Zhu, J., Zhang, G., & Hu, S. (2022). ROS/PI3K/Akt and Wnt/ $\beta$ -catenin signalings activate HIF-1 $\alpha$ -induced metabolic reprogramming to impart 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 41(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02229-6>

Falzone, L., Salomone, S., & Libra, M. (2018). Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1300. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01300>

Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in

2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144(8), 1941-1953. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>

Fernández, J. G., Rodríguez, D. A., Valenzuela, M., Calderon, C., Urzúa, U., Munroe, D., Rosas, C., Lemus, D., Díaz, N., Wright, M. C., Leyton, L., Tapia, J. C., & Quest, A. F. (2014). Survivin expression promotes VEGF-induced tumor angiogenesis via PI3K/Akt enhanced  $\beta$ -catenin/Tcf-Lef dependent transcription. *Molecular Cancer*, 13, 209. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-209>

Fernando Aldaco-Sarvide, P. P.-P., Guadalupe Cervantes-Sánchez, & Aura Argentina Erazo-Valle-Solís. (2018). *Mortality from cancer in Mexico: 2015 update | Gaceta Mexicana de Oncología*. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.M18000158>

García-Milián, A. J., Gálvez-Alvarez, Y., González-del Sol, M., León-Cabrera, P., García-Milián, A. J., Gálvez-Alvarez, Y., González-del Sol, M., & León-Cabrera, P. (2018). Patrón de consumo de antineoplásicos utilizados para el tratamiento del cáncer en La Habana del 2011-2015. *Horizonte sanitario*, 17(1), 39-50. <https://doi.org/10.19136/hs.a17n1.1989>

Ghali, F., Patel, D., Jamieson, C., Parsons, J. K., & McKay, R. R. (2020). Characterization of Wnt signaling pathway (WSP) aberrations in advanced prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 38(6\_suppl), 203-203. [https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.6\\_suppl.203](https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.6_suppl.203)

Ghandadi, M., Valadan, R., Mohammadi, H., Akhtari, J., Khodashenas, S., & Ashari, S. (2019). Wnt- $\beta$ -catenin Signaling Pathway, the Achilles' Heels of Cancer Multidrug Resistance. *Current Pharmaceutical Design*, 25(39), 4192-4207. <https://doi.org/10.2174/1381612825666191112142943>

Giordano, A., & Tommonaro, G. (2019). Curcumin and Cancer. *Nutrients*, 11(10), 2376. <https://doi.org/10.3390/nu11102376>

Gjyrezi, A., Xie, F., Voznesensky, O., Khanna, P., Calagua, C., Bai, Y., Kung, J., Wu, J., Corey, E., Montgomery, B., Mace, S., Gianolio, D. A., Bublely, G. J., Balk, S. P., Giannakakou, P., & Bhatt, R. S. (2020). Taxane resistance in prostate cancer is mediated

by decreased drug-target engagement. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(6), 3287-3298. <https://doi.org/10.1172/JCI132184>

GLOBOCAN. (2021). *Cáncer mañana*. <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>

Graff, J. R., Herman, J. G., Lapidus, R. G., Chopra, H., Xu, R., Jarrard, D. F., Isaacs, W. B., Pitha, P. M., Davidson, N. E., & Baylin, S. B. (1995). E-cadherin expression is silenced by DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. *Cancer Research*, 55(22), 5195-5199.

Han, H., Li, Y., Qin, W., Wang, L., Yin, H., Su, B., & Yuan, X. (2022). MiR-199b-3p contributes to bought resistance to cetuximab in colorectal cancer by targeting CRIM1 via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Cancer Cell International*, 22(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02460-x>

Hernández Solano, B. E. (2021). *Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata*. [El autor]. <http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/2548>

Hu, W., Li, M., Chen, Y., & Gu, X. (2021). UBE2S promotes the progression and Olaparib resistance of ovarian cancer through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Journal of Ovarian Research*, 14(1), 121. <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00877-y>

Huang, J., Li, H., & Ren, G. (2015). Epithelial-mesenchymal transition and drug resistance in breast cancer (Review). *International Journal of Oncology*, 47(3), 840-848. <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.3084>

Im, K., Mareninov, S., Diaz, M. F. P., & Yong, W. H. (2019). An introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1897, 299-311. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5\\_26](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_26)

Jung, S. J., Oh, S., Lee, G. T., Chung, J., Min, K., Yoon, J., Kim, W., Ryu, D. S., Kim, I. Y., & Kang, D. I. (2013). Clinical Significance of Wnt/ $\beta$ -Catenin Signalling and Androgen Receptor Expression in Prostate Cancer. *The World Journal of Men's Health*, 31(1), 36-46. <https://doi.org/10.5534/wjmh.2013.31.1.36>

Kaiser, J. (2021). Cancer. En T. K. Shackelford & V. A. Weekes-Shackelford (Eds.), *Encyclopedia of Evolutionary Psychological Science* (pp. 871-874). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-19650-3\\_3034](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19650-3_3034)

Kar, R., Palanichamy, J. K., Banerjee, A., Chattopadhyay, P., Jain, S. K., & Singh, N. (2015). Survivin siRNA increases sensitivity of primary cultures of ovarian cancer cells to paclitaxel. *Clinical & Translational Oncology: Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, 17(9), 737-742. <https://doi.org/10.1007/s12094-015-1302-2>

Karati, D., Mahadik, K. R., Trivedi, P., & Kumar, D. (2021). Alkylating Agents, the Road Less Traversed, Changing Anticancer Therapy. *Anticancer Agents Med Chem*. PubMed. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210811105344>

Khan, M., Maryam, A., Mehmood, T., Zhang, Y., & Ma, T. (2015). Enhancing Activity of Anticancer Drugs in Multidrug Resistant Tumors by Modulating P-Glycoprotein through Dietary Nutraceuticals. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 16(16), 6831-6839. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.16.6831>

Khurana, N., & Sikka, S. C. (2019). Interplay Between SOX9, Wnt/ $\beta$ -Catenin and Androgen Receptor Signaling in Castration-Resistant Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2066. <https://doi.org/10.3390/ijms20092066>

Koni, M., Pinnarò, V., & Brizzi, M. F. (2020). The Wnt Signalling Pathway: A Tailored Target in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/ijms21207697>

Lee, G.-H., Joo, Y.-E., Koh, Y.-S., Chung, I.-J., Park, Y.-K., Lee, J.-H., Kim, H.-S., Choi, S.-K., Rew, J.-S., Park, C.-S., & Kim, S.-J. (2006). Expression of survivin in gastric cancer and its relationship with tumor angiogenesis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 957. <https://doi.org/10.1097/01.meg.0000230086.83792.56>

Li, H., Chen, J., Liu, J., Lai, Y., Huang, S., Zheng, L., & Fan, N. (2021). CPT2 downregulation triggers stemness and oxaliplatin resistance in colorectal cancer via

activating the ROS/Wnt/ $\beta$ -catenin-induced glycolytic metabolism. *Experimental Cell Research*, 409(1), 112892. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112892>

Li, H., Krstin, S., & Wink, M. (2018a). Modulation of multidrug resistant in cancer cells by EGCG, tannic acid and curcumin. *Phytomedicine*, 50, 213-222. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.169>

Li, Q.-X., Zhao, J., Liu, J.-Y., Jia, L.-T., Huang, H.-Y., Xu, Y.-M., Zhang, Y., Zhang, R., Wang, C.-J., Yao, L.-B., Chen, S.-Y., & Yang, A.-G. (2006). Survivin stable knockdown by siRNA inhibits tumor cell growth and angiogenesis in breast and cervical cancers. *Cancer Biology & Therapy*, 5(7), 860-866. <https://doi.org/10.4161/cbt.5.7.2893>

Li, W., Zhang, H., Assaraf, Y. G., Zhao, K., Xu, X., Xie, J., Yang, D.-H., & Chen, Z.-S. (2016). Overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance: Molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies. *Drug Resistance Updates*, 27, 14-29. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2016.05.001>

Liu, F., Liu, S., He, S., Xie, Z., Zu, X., & Jiang, Y. (2010). Survivin transcription is associated with P-glycoprotein/MDR1 overexpression in the multidrug resistance of MCF-7 breast cancer cells. *Oncology Reports*, 23(5), 1469-1475. [https://doi.org/10.3892/or\\_00000786](https://doi.org/10.3892/or_00000786)

Lu, L., Zhou, D., Jiang, X., Song, K., Li, K., & Ding, W. (2012). Loss of E-cadherin in multidrug resistant breast cancer cell line MCF-7/Adr: Possible implication in the enhanced invasive ability. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16(9), 1271-1279.

Mita, A. C., Mita, M. M., Nawrocki, S. T., & Giles, F. J. (2008). Survivin: Key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 14(16), 5000-5005. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0746>

Mudra, S. E., Sadhukhan, P., Ugurlu, M. T., Alam, S., & Hoque, M. O. (2021). Therapeutic Targeting of Cancer Stem Cells in Lung, Head and Neck, and Bladder Cancers. *Cancers*, 13(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/cancers13205098>



Mukherjee, S., Mazumdar, M., Chakraborty, S., Manna, A., Saha, S., Khan, P., Bhattacharjee, P., Guha, D., Adhikary, A., Mukherjee, S., & Das, T. (2014). Curcumin inhibits breast cancer stem cell migration by amplifying the E-cadherin/ $\beta$ -catenin negative feedback loop. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(5), 116. <https://doi.org/10.1186/scrt506>

Murillo-Garzón, V., & Kypka, R. (2017). WNT signalling in prostate cancer. *Nature Reviews. Urology*, 14(11), 683-696. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.144>

Nagesh, P. K. B., Hatami, E., Chowdhury, P., Kashyap, V. K., Khan, S., Hafeez, B. B., Chauhan, S. C., Jaggi, M., & Yallapu, M. M. (2018). Tannic Acid Induces Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis in Prostate Cancer. *Cancers*, 10(3), 68. <https://doi.org/10.3390/cancers10030068>

National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 969516, Curcumin. Retrieved July 11, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Curcumin>.

National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 36314, Paclitaxel. Retrieved July 11, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Paclitaxel>.

National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 445154, Resveratrol. Retrieved July 11, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Resveratrol>.

National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 16131300, Tannic Acid. Retrieved July 11, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tannic-Acid>.

Novo, M. C. T., Osugui, L., dos Reis, V. O., Longo-Maugéri, I. M., Mariano, M., & Popi, A. F. (2015). Blockage of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by quercetin reduces survival and proliferation of B-1 cells in vitro. *Immunobiology*, 220(1), 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2014.09.001>

Oloumi, A., McPhee, T., & Dedhar, S. (2004). Regulation of E-cadherin expression and beta-catenin/Tcf transcriptional activity by the integrin-linked kinase. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1691(1), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.12.002>

Paier, C. R. K., Maranhão, S. S., Carneiro, T. R., Lima, L. M., Rocha, D. D., da Silva Santos, R., de Farias, K. M., de Moraes-Filho, M. O., & Pessoa, C. (2018). Natural products as new antimitotic compounds for anticancer drug development. *Clinics*, 73, e813s. <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e813s>

Park, Y.-L., Kim, H.-P., Cho, Y.-W., Min, D.-W., Cheon, S.-K., Lim, Y. J., Song, S.-H., Kim, S. J., Han, S.-W., Park, K. J., & Kim, T.-Y. (2019). Activation of WNT/ $\beta$ -catenin signaling results in resistance to a dual PI3K/mTOR inhibitor in colorectal cancer cells harboring PIK3CA mutations. *International Journal of Cancer*, 144(2), 389-401. <https://doi.org/10.1002/ijc.31662>

Pascual-Ramos, V., Atisha-Fregoso, Y., Lima, G., Fragoso-Loyo, H., Jákez-Ocampo, J., & Contreras-Yáñez, I. (2016). La actividad funcional de los transportadores ABCB1 (P-gp) y ABCG2 (BCRP1) en pacientes con artritis reumatoide (AR) está determinada por la actividad de la enfermedad (AE). *Gaceta Médica de México*, 14.

Prajoko, Y. W., & Aryandono, T. (2019). The Effect of P-Glycoprotein (P-gp), Nuclear Factor-Kappa B (Nf-kb), and Aldehyde Dehydrogenase-1 (ALDH-1) Expression on Metastases, Recurrence and Survival in Advanced Breast Cancer Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 20(5), 1511-1518. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.5.1511>

Rey-Caro, L. A., Pinzón, P., & Cruz-Rodríguez, N. (2020). Mecanismos moleculares emergentes y células madre leucémicas en la quimiorresistencia de tumores hematológicos. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 52(2), 129-144. <https://doi.org/10.18273/revsal.v52n2-2020007>

Ross, K. H., Gogineni, K., Subhedar, P. D., Lin, J. Y., & McCullough, L. E. (2019). Obesity and cancer treatment efficacy: Existing challenges and opportunities. *Cancer*, 125(10), 1588-1592. <https://doi.org/10.1002/cncr.31976>

Roxanne Nelson. (2019). *Nuevas listas de antineoplásicos y pruebas diagnósticas esenciales de 2019 de la OMS*. Medscape. <http://espanol.medscape.com/verarticulo/5904274>

Sánchez-Carranza, J. N., Alvarez, L., Marquina-Bahena, S., Salas-Vidal, E., Cuevas, V., Jiménez, E. W., Veloz G., R. A., Carraz, M., & González-Maya, L. (2017). Phenolic Compounds Isolated from *Caesalpinia coriaria* Induce S and G2/M Phase Cell Cycle Arrest Differentially and Trigger Cell Death by Interfering with Microtubule Dynamics in Cancer Cell Lines. *Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 22(4), 666. <https://doi.org/10.3390/molecules22040666>

Santiago, L., Daniels, G., Wang, D., Deng, F.-M., & Lee, P. (2017). Wnt signaling pathway protein LEF1 in cancer, as a biomarker for prognosis and a target for treatment. *American Journal of Cancer Research*, 7(6), 1389-1406.

Scaria, B., Sood, S., Raad, C., Khanafer, J., Jayachandiran, R., Pupulin, A., Grewal, S., Okoko, M., Arora, M., Miles, L., & Pandey, S. (2020). Natural Health Products (NHP's) and Natural Compounds as Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer; Mechanisms of Anti-Cancer Activity of Natural Compounds and Overall Trends. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/ijms21228480>

Schneider, J. A., & Logan, S. K. (2018). Revisiting the Role of Wnt/ $\beta$ -catenin Signaling in Prostate Cancer. *Molecular and cellular endocrinology*, 462(Pt A), 3-8. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.02.008>

Sharma, A., Kaur, M., Katnoria, J. K., & Nagpal, A. K. (2018). Polyphenols in Food: Cancer Prevention and Apoptosis Induction. *Current Medicinal Chemistry*, 25(36), 4740-4757. <https://doi.org/10.2174/0929867324666171006144208>

Sharma, A., Mir, R., & Galande, S. (2021). Epigenetic Regulation of the Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Pathway in Cancer. *Frontiers in Genetics*, 12, 681053. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.681053>

Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics, 2020. CA: A *Cancer Journal for Clinicians*, 70(1), 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>

Song, K.-A., & Faber, A. C. (2019). Epithelial-to-mesenchymal transition and drug resistance: Transitioning away from death. *Journal of Thoracic Disease*, 11(6), E82-E85. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.06.11>

Srivastava NS, & Rai. (2019). Curcumin and quercetin synergistically inhibit cancer cell proliferation in multiple cancer cells and modulate Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and apoptotic pathways in A375 cells. *Phytomedicine*, 52, 117-128. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.224>

Strathdee, G. (2002). Epigenetic versus genetic alterations in the inactivation of E-cadherin. *Seminars in Cancer Biology*, 12(5), 373-379. [https://doi.org/10.1016/s1044-579x\(02\)00057-3](https://doi.org/10.1016/s1044-579x(02)00057-3)

Subramaniam, S., Selvaduray, K. R., & Radhakrishnan, A. K. (2019). Bioactive Compounds: Natural Defense Against Cancer? *Biomolecules*, 9(12), 758. <https://doi.org/10.3390/biom9120758>

Tang, J.-M., Min, J., Li, B.-S., Hong, S.-S., Liu, C., Hu, M., Li, Y., Yang, J., & Hong, L. (2016). Therapeutic Effects of Punicalagin Against Ovarian Carcinoma Cells in Association With  $\beta$ -Catenin Signaling Inhibition. *International Journal of Gynecological Cancer: Official Journal of the International Gynecological Cancer Society*, 26(9), 1557-1563. <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000000805>

Termini, D., Den Hartogh, D. J., Jaglanian, A., & Tsiani, E. (2020). Curcumin against Prostate Cancer: Current Evidence. *Biomolecules*, 10(11), 1536. <https://doi.org/10.3390/biom10111536>

Tran, J., Maestro, Zubin, Yu, J. L., Rak, J., Dumont, D. J., & Kerbel, R. S. (2002). A role for survivin in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(7), 4349-4354. <https://doi.org/10.1073/pnas.072586399>

Virrey, J. J., Guan, S., Li, W., Schönthal, A. H., Chen, T. C., & Hofman, F. M. (2008). Increased survivin expression confers chemoresistance to tumor-associated endothelial cells. *The American Journal of Pathology*, *173*(2), 575-585. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071079>

Wang, H., Zhang, H., Tang, L., Chen, H., Wu, C., Zhao, M., Yang, Y., Chen, X., & Liu, G. (2013). Resveratrol inhibits TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and suppresses lung cancer invasion and metastasis. *Toxicology*, *303*, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.09.017>

Wang, X., Zhang, H., & Chen, X. (2019). Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resistance*, *2*(2), 141-160. <https://doi.org/10.20517/cdr.2019.10>

Wang, Z., Zhao, T., Zhang, S., Wang, J., Chen, Y., Zhao, H., Yang, Y., Shi, S., Chen, Q., & Liu, K. (2021). The Wnt signaling pathway in tumorigenesis, pharmacological targets, and drug development for cancer therapy. *Biomarker Research*, *9*, 68. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00323-7>

Wu, H., Chen, L., Zhu, F., Han, X., Sun, L., & Chen, K. (2019). The Cytotoxicity Effect of Resveratrol: Cell Cycle Arrest and Induced Apoptosis of Breast Cancer 4T1 Cells. *Toxins*, *11*(12), 731. <https://doi.org/10.3390/toxins11120731>

Xu, D.-P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.-J., & Li, H.-B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(1), 96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>

Xu, J., Lv, G., Xu, B., & Jiang, B. (2020). Overexpression of UBE2M through Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling is associated with poor prognosis and chemotherapy resistance in colorectal cancer. *Translational Cancer Research*, *9*(9), 5614-5625. <https://doi.org/10.21037/tcr-20-2641>

Yang, Y.-H., Mao, J.-W., & Tan, X.-L. (2020). Research progress on the source, production, and anti-cancer mechanisms of paclitaxel. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 18(12), 890-897. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(20\)60032-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(20)60032-2)

Yu, S., Wang, Z., Su, Z., Song, J., Zhou, L., Sun, Q., Liu, S., Li, S., Li, Y., Wang, M., Zhang, G.-Q., Zhang, X., Liu, Z.-J., & Lu, D. (2018). Gigantol inhibits Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and exhibits anticancer activity in breast cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 59. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2108-x>

Zhan, T., Rindtorff, N., & Boutros, M. (2017). Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 36(11), 1461-1473. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.304>

Zhang, Y., & Wang, X. (2020). Targeting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, 13, 165. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00990-3>

Zhang, Z., Cheng, L., Li, J., Farah, E., Atallah, N. M., Pascuzzi, P. E., Gupta, S., & Liu, X. (2018). Inhibition of the Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway Overcomes Resistance to Enzalutamide in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Research*, 78(12), 3147-3162. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-3006>

Zhang, Z., Gao, S., Xu, Y., & Zhao, C. (2021). Regulation of ABCG2 expression by Wnt5a through FZD7 in human pancreatic cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 23(1), 52. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11690>

Zhao, Y., Tao, L., Yi, J., Song, H., & Chen, L. (2018). The Role of Canonical Wnt Signaling in Regulating Radioresistance. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(2), 419-432. <https://doi.org/10.1159/000491774>

Zhou, B.-G., Wei, C.-S., Zhang, S., Zhang, Z., & Gao, H.-M. (2018). Matrine reversed multidrug resistance of breast cancer MCF-7/ADR cells through PI3K/AKT signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(5), 3885-3891. <https://doi.org/10.1002/jcb.26502>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Secretaría de Docencia

Jefatura de Licenciatura en Farmacia

Fecha: 11 de mayo del 2023  
Asunto: VOTOS APROBATORIOS  
Medio de notificación: Electrónico  
Folio: FF/D/SD/JLF/76/2023

**DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**U.A.E.M**  
**PRESENTE**

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis **“Evaluación del efecto de ácido tánico sobre la expresión de  $\beta$ -catenina, E-cadherina y Survivina en células PC3/PTX resistentes de cáncer de próstata”** presentado por la pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Lizet Marisol Bibiano Barrera (10010931)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**Jurado**

**Firma**

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

\_\_\_\_\_

Dra. Jessica Neyelli Sánchez Carranza

\_\_\_\_\_

M. en C. Martha Hernández Labra

\_\_\_\_\_

Dr. Heriberto Abraham Valencia González

\_\_\_\_\_

Dra. Angélica Flores Flores

\_\_\_\_\_



Atentamente

**“Por una humanidad culta  
una Universidad de excelencia”**

**M.P.D. REYNA AMÉRICA SERRANO LÓPEZ**  
**SECRETARIA DE DOCENCIA**

C.c.p.: archivo  
\*BEDM

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México. C.P. 62209, Edificio 61, ala C, 2° piso.  
Tel. (777) 329 7000.



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ** | Fecha:2023-05-13 08:23:10 | Firmante

xyVb5GAKgdiYQ80IAbh8sZrrl/rfHsUYRPTQl2zEDuyw1pBoZEg447WlwYpccHASuuIBX9cNF+5HfdG0DZ+v40+cC9dPN1RZVOHa0EWe2lErfI/vHZw+XULaPDvmSu4yF1GECD4rVq7MHrm0/POD3Xp5VlptB+UEDl3YhEwJE+yi8eleVsC8qxH4hd1c6F2yK3KmevKT0WrTsci/TA50LCoNIDZu1YUMJsatnSjP810M95GRADxe6RrCH4oi/3+JyIN/5zr3eHFZ2jQM9AG8LKIL7FSyOxVIQ/bf0QSCcmz3TecbHYKjdTZ0onkkSG8fKvr0767hQh4+xOS5BSKNg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[25z0nN46R](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/MadPvmTLB8fP9wPeih2riR0M7ipGeHe4>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**JESSICA NAYELLI SANCHEZ CARRANZA | Fecha:2023-06-19 03:28:54 | Firmante**

fLurROp0l1JTZh1Av47N1fnpRr9iY/A2b+UJZSVXy6Wlnx8XjFfSN7eDYvJY2Hd5ogatP+KUYQY8O8drEH3VqkchO5yqwC/Nd/giwH4tCSrWHPGfe+mA4YVZ5tlwH+WDTn08+tcaOLoeKGNq9WfU/lxyyI73AdqXPkedLleJt0dFPw1fkBWT7ZkRi1RbxoU/SQnKZxWL6vb2ncnsVEnge0qORZxJukUaV8vzen1aExdsMyyBk0NWwNREyxZw2VNdyQ0wnHoBouJ6P1Xmf7QhdSWmLA69j+OoifkI4BB1zwK8Od9Ljx3IGSbolrVQqVBoCykbsbJZrtDQD2JSOhmzbQ==

**HERIBERTO ABRAHAM VALENCIA GONZÁLEZ | Fecha:2023-06-19 09:22:38 | Firmante**

OTa6xfRAXh5bt7QD4rLd9PiiXzbaVJTdRNWp1EUTUcNQT+cWDbKyF3wAXsOpchokgFAK30SehgQpT+xHpdul6p1DeNFsI8GwoCC0suN917gzDAJJUWlsSvEQjyXDKuxMDG/tMY9x10Buj6iKw0gzMI0T7hauJFvoS5bsAjX7kZkhS3H1GFO+WUrTYN5SCBxDRCs1hH5NVxBbsBHBZZNa3sy6zj02M3Koeahhfwk4wNkZAIPlk/tkzmnN1PSSfqqqjyMgXDq25HeS Qlf26QhVUgAFXwXgzWgPSEVjBftrQceBWPuw29xOrKiOWyLxKOG+DUPk0b1UMqBKHn6qOUzASQ==

**MARTHA HERNANDEZ LABRA | Fecha:2023-06-19 11:36:04 | Firmante**

qU+vAZNThRoA0QOUU34gDfpm1ycyGoqNIKe5Phqic0RG8eRRi5T/ie4vWjkdGJFq+Sxx8QjWRgNlv0zHYFyp1FdKpNo/OcSVAZ0r0uAN7y5XFNMXEj2j+MwFZIXo1/D4SFRr1xFB/gIT7q6mx6cc783tVZNIJye9ryeoKvA9qsM8CmAVhPHOTiAbX5d+A0Rt1i8A+xxJ6cX8I1cUQki7D4BSBT2CsHthR+2A3xaf5b7EuZFDhi28bUssQxWg7+CSI3VUtNqsOb8KfvAFhICplopPhXbV3O6vBvRGM1OBBF1xlYulPB/Cmn3pBt5k4eWsuMFUcK6HJxa9FwQyPig==

**JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2023-06-19 11:57:19 | Firmante**

eUxMUWecIQWitXrWH4aH2ifLPKANpV27ZXbHqNKOPINGyhLdgvWTvZLQFuW+MNijzj6qJIGqIU6q2AHkcxHlgL2Rh4QSLKsMbtYZPnkbIPi5Llh9+kJVoxTP5VOWSI+SwLnBtoLIDCQhyt/LDlcdE//eRn/q4MMiRTE35BRjzZMMX1RC7Th10kq1gPh51Yu0SjOzPBRSpTqng/mTNwZdOPhTjQavz+Qh6tj4VdO2/ROZeZt7XILC0S4MSiL+91+VdWEFTq8bY/oSRxsaRbkIZ/N04hQEeqLCY4Lvx+d9O3GnW6VScJQ/G2HAARoxHz2qticN0Z9F14EuJIOHS2RWFw==

**ANGELICA FLORES FLORES | Fecha:2023-06-22 08:58:31 | Firmante**

SICZGgzllPcVYHXtd3fw8LhUeSH8jZHPYDBagi8NbjjJFZbVZIq+QcbacixFdsI8HHZKeYBfWvtuPtQy2GMgS6SKCiMigc2oP2ktsXIBFT+HMdJtMxv8T3TApeRZdSBmmhKMIWifeq2bgyzAGqBzWRaRWr8Q8COG+IWDnlcaBnDO+FuDEa+a8KRLCXaPrMfELDClonRiAx3cO0KCZ6n3C2i3yy2iBXiZkRNqt3HQ2ZJnfYBMSMEIYZEGDj0KuaEzQl9DUpCxJwAUEcunVX/aXg40/ytZvbJgDJoqSHPCVxAecO/Z+XzNCIS1xGgrn7Kjab8O+JSXRwDJ305IQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



E1hlwxQsZ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ge8hgdv3P9INGI8khEjoOnzokS0EWSsT>

