



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE FARMACIA



“Evaluación del efecto de galato de etilo sobre la expresión y localización de β -catenina y E-cadherina en células PC3/PTX resistentes de cáncer de próstata”

TESIS

**Que para obtener el título de:
Licenciado en Farmacia**

P R E S E N T A

Sandra Hernández Sánchez

DIRECCIÓN DE TESIS: Dra. Leticia González Maya

CODIRECCIÓN DE TESIS: Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza

Cuernavaca, Morelos, 2023

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía y mi fortaleza a lo largo de mi vida profesional, por siempre estar conmigo y por ser tan fiel hasta el día de hoy.

A lo más sagrado que tengo mi madre y mi Hermano, respectivamente Esperanza y Arturo, quienes me han enseñado el valor de persistir y nunca desistir, por estar siempre, por ser mi apoyo y por no rendirse nunca, por sus palabras de aliento y por ser mi motivo para seguir adelante siempre.

A mi padre, hasta el cielo este logro, papá, porque también es tuyo y porque sin ti nada de esto hubiera sido posible, gracias a ti he llegado hasta donde estoy ahora, te amo papá, sé que estás muy orgulloso de mí.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de concluir esta etapa, gracias por nunca dejarme sola, por siempre guiarme por el buen camino a lo largo de esta meta, por hacer de mi formación académica la mejor parte de mi vida, gracias infinitas, mi Dios.

Gracias a mi madre, gracias mami, por siempre confiar en mí, por nunca cortarme las alas y dejarme volar muy alto, por nunca dejarme sola, por apoyarme siempre, gracias por tanto esfuerzo y sacrificio, por demostrarme el valor de la valentía para lograr mis metas, gracias por todo, nunca podré pagarte tanto, madre mía, eres la mujer más valiente, mi guerrera, mi vida y mi ejemplo a seguir.

A mi Hermano, por siempre estar, por sus palabras de aliento, por todo su apoyo y por su confianza.

Agradezco a la familia que ha estado conmigo, en especial a mi primo Ramiro, por siempre estar pendiente de mí, por ser mi amigo y mi compañero en esta estancia de estar lejos de mi familia y por ser lo más cercano a mí.

Le doy gracias a una persona muy especial, quien ha estado conmigo siempre, no solo en este proyecto de investigación sino en toda mi vida universitaria, Dra. Jessi, gracias, gracias por ser una persona increíble, estoy agradecida con Dios y con la vida por haberla puesto en mi camino y sé que fue con el mejor propósito. Le agradezco la oportunidad que me dio de trabajar con usted y con su equipo, para desarrollar este proyecto y gracias a esto poder concluir una etapa más en mi vida y por supuesto la más importante, gracias por estar siempre, por su paciencia, por su apoyo y comprensión, quiero decirle que es una persona muy

especial en mi vida y mi ejemplo a seguir y deseo que Dios cumpla todos los anhelos de su corazón, ¡Infinitas gracias, mi Jessi por todo!

A la Dra. Leticia González Maya, por darme la oportunidad de trabajar en su equipo para desarrollar este proyecto y poder concluir una etapa más en mi vida, ¡Gracias Dra. Lety!

Agradezco a la Mtra. Martha, por estar conmigo en esta etapa, por escucharme, por sus consejos y por sus enseñanzas, ¡muchas gracias mi Martitha!

A mi jurado revisor de tesis, Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza, Mtra. Martha Hernández Labra, Dr. Aldo Francisco Clemente Soto, Dra. Verónica Rodríguez López y a la Dra. Angélica Flores Flores, por su tiempo y por sus comentarios para mejorar mi trabajo, ¡Muchas gracias!

A mis compañeros y amigos de la universidad, por su apoyo brindado a lo largo de esta etapa, por sus palabras de aliento, por aquellas tardes y noches de estudio, gracias por su amistad, en especial a Luz Andrea, David Emilio y Leónides.

Quiero agradecer a la mejor amiga que la universidad me dio, quien me ha enseñado que no hace falta estar cerca para demostrar el valor de una amistad, Lizet Marisol, gracias por siempre estar conmigo, por tu apoyo, por tu amistad, por escucharme siempre, por los ánimos que nunca faltaron, gracias, Liz, sin duda eres lo mejor que esta etapa me ha dejado.

A Ángel por estar siempre, por ser mi compañero y confidente a lo largo de esta nueva meta, por apoyarme siempre, por tus palabras de aliento, por creer en mí y por hacerme creer en mí, estaré eternamente agradecida por haber estado conmigo en los momentos más difíciles, ¡muchas gracias, Ángel!

Contenido

Lista de abreviaturas	8
Resumen	9
Abstract.....	11
1. Introducción.....	13
1.1 Cáncer	13
1.2 Epidemiología	13
1.3 Cáncer de próstata.....	16
1.3.1 Factores de riesgo para el cáncer de próstata	17
1.3.2 Tratamiento.....	18
1.3.3 Antimetabolitos	21
1.3.4 Antibióticos citotóxicos.....	22
1.3.5 Agentes alquilantes.....	24
1.3.6 Paclitaxel.....	24
1.3.7 Mecanismo anticancerígeno del Paclitaxel.....	24
1.3.8 Docetaxel	25
1.3.9 Resistencia a múltiples fármacos (MDR)	26
1.3.10 Transportadores ABC	27
1.3.11. Glicoproteína P.....	28
1.4 Vías de señalización implicadas en MDR.....	28
2. Vía Wnt/B-catenina y MDR.....	29
2.1 Antecedentes.....	32
3. Justificación	40
4. Hipótesis	41
5.1. Objetivo general	41
5.2 Objetivos específicos.....	41
6. Metodología	42
6.1 Cultivo celular.....	42

6.2	Conteo celular	42
6.3	Inmunofluorescencia β-catenina	43
6.4	Inmunofluorescencia E-cadherina	43
6.5	Inmunofluorescencia Survivina	44
7.	Resultados y discusión	45
7.1	El GE reduce la expresión de β-catenina en células PC-3/PTX.....	45
7.2	El GE reduce la expresión de E-Cadherina en células PC3/PTX.....	50
7.3	Inmunofluorescencia para la expresión de survivina	54
8.	Conclusiones	60
9.	Referencias	61

Lista de figuras

Figura 1: Número estimado de casos más comunes de cáncer en mujeres de todas las edades en México 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020.	14
Figura 2: Número estimado de casos más comunes de cáncer en hombres de todas las edades en México 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020.	15
Figura 3: Número estimado de casos más comunes de cáncer en ambos sexos de todas las edades en México en 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020..	15
Figura 4: Número estimado de casos más comunes de cáncer en ambos sexos de todas las edades en todo el mundo 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020.	16
Figura 5: Vía de señalización Wnt/ β -catenina, activa e inactiva.....	31
Figura 6: Micrografías de inmunofluorescencia de E-Cadherina en la línea celular PC-3/PTX tratadas con GE 50 μ M y 100 μ M.	46
Figura 7: Micrografías de inmunofluorescencia de E-Cadherina en la línea celular PC-3/PTX tratadas con GE 50 μ M y 100 μ M.	51
Figura 8: Micrografías de inmunofluorescencia de Survivina en la línea celular PC-3/PTX tratadas con GE 100 μ M.	56

Lista de abreviaturas

GE	Galato de Etilo
MDR	Resistencia a múltiples fármacos
PTX	Paclitaxel
Pg-p	Glicoproteína P
GSK3 β	Glucógeno de sintasa quinasa 3
CK I	caseína quinasa I
APC	Axina y poliposis adenomatosa
BCRP	Proteína resistente al cáncer de mamá
PFA	Paraformaldehído
CSC	Células madre cancerosas
ROS	Especies Reactivas del Oxígeno
WA	Withaferina
PSA	antígeno prostático específico
EMT	Estimulación Magnética Transcraneal
CDK	proteína quinasas dependientes de ciclinas
PG	Prostaglandinas
SERM	moduladores selectivos de los receptores de estrógenos
T21	Tambjamina 21
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
SFA	<i>ophra flavescens</i>
TRUS	Ecografía transrectal de la próstata

Resumen

El cáncer de próstata es uno de los tumores más comunes y mortales en todo el mundo. Los tratamientos convencionales, como el Paclitaxel (PTX), con frecuencia no logran resultados satisfactorios, debido a la resistencia que desarrollan las células cancerosas a múltiples medicamentos. La sobreexpresión de la glicoproteína P (P-gp) es uno de los principales mecanismos de esta resistencia a múltiples fármacos (MDR), y se ha sugerido que la vía de señalización Wnt/ β -catenina podría estar involucrada en su regulación. La relación entre la vía Wnt y la MDR radica en que la activación anormal de la vía Wnt/ β -catenina puede estar involucrada en la promoción de la MDR en las células cancerosas. Algunos estudios sugieren que la activación de la vía Wnt/ β -catenina puede inducir la expresión de genes relacionados con la resistencia a fármacos, lo que lleva a una mayor capacidad de las células cancerosas para sobrevivir y proliferar en presencia de tratamientos farmacológicos.

Entre las proteínas más importantes implicadas en la vía Wnt/ β -catenina se encuentra la β -catenina, E-cadherina y Survivina, siendo Survivina un blanco de la vía Wnt/ β -catenina

Se ha observado que la activación inapropiada de la vía de señalización de Wnt/ β -catenina, conduce a la acumulación de β -catenina en el núcleo de la célula y en la activación de la expresión de genes relacionados con la MDR. En particular, la β -catenina puede estar involucrada en la regulación de genes que codifican proteínas de transporte de fármacos, como las proteínas de resistencia a múltiples fármacos (por ejemplo, las proteínas de la familia ABC). Por su parte

E-cadherina es una proteína de adhesión celular, cuya pérdida o disminución de la expresión se ha asociado con la invasión y la progresión tumoral en algunos tipos de cáncer, y a menudo puede estar asociada con un aumento en la MDR. Finalmente, Survivina es una proteína que se encuentra comúnmente sobre expresada en una variedad de tipos de cáncer. Tiene una función anti apoptótica, lo que significa que puede prevenir la apoptosis y, por lo tanto, contribuir a la supervivencia de las células cancerosas. La sobreexpresión de Survivina también se ha asociado con la MDR en las células cancerosas.

El galato de etilo (GE) que se ha identificado en algunas plantas ha mostrado varias propiedades biológicas entre las que destaca un efecto anticancerígeno. Entre los mecanismos propuestos han demostrado su capacidad para detener el crecimiento de células cancerosas, inducir apoptosis (muerte celular programada), detener la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos en tumores), detener la invasión y metástasis del cáncer. Estudios previos determinaron que GE mostró un efecto quimiosensibilizante a PTX, reduciendo la concentración inhibitoria media (CI₅₀) de PTX. Por lo que en el presente trabajo nos interesó analizar si el mecanismo quiosensibilizante puede estar asociado a la regulación negativa de la vía Wnt/ β -catenina.

Abstract

Prostate cancer is one of the most common and deadly tumors worldwide. Conventional treatments, such as Paclitaxel (PTX), often do not achieve satisfactory results, due to the resistance that cancer cells develop to multiple drugs. Overexpression of P-glycoprotein (P-gp) is one of the main mechanisms of this multidrug resistance (MDR), and it has been suggested that the Wnt/ β -catenin signaling pathway could be involved in its regulation. The relationship between the Wnt pathway and MDR is that abnormal activation of the Wnt pathway may be involved in the promotion of MDR in cancer cells. Some studies suggest that activation of the Wnt pathway can induce the expression of genes related to drug resistance, leading to an increased ability of cancer cells to survive and proliferate in the presence of drug treatments.

Among the most important proteins involved in the Wnt/ β -catenin pathway are β -catenin, E-cadherin and survivin.

β -catenin is a protein that plays a crucial role in the Wnt signaling pathway. It has been observed that inappropriate activation of the Wnt signaling pathway, leading to the accumulation of β -catenin in the cell nucleus, can influence the expression of MDR-related genes. In particular, β -catenin may be involved in the regulation of genes encoding drug transport proteins, such as multidrug resistance proteins (e.g., ABC family proteins). For its part, E-cadherin is a cell adhesion protein that plays a crucial role in the union of epithelial cells between each other. The loss or decrease in E-cadherin expression has been associated with tumor invasion and progression in some types of cancer, and this loss of E-cadherin can often be associated with an increase in MDR. Finally, Survivin is a protein that is

commonly overexpressed in a variety of cancer types. It has an anti-apoptotic function, meaning it can prevent apoptosis and therefore contribute to the survival of cancer cells. Survivin has also been associated with MDR in cancer cells. This means that its overexpression may be related to the ability of cancer cells to resist chemotherapy.

Ethyl gallate (EG), which has been identified in some plants, has shown several biological properties, among which an anticancer effect stands out. Among the proposed mechanisms, they have demonstrated their ability to stop the growth of cancer cells, induce apoptosis (programmed cell death), stop angiogenesis (formation of new blood vessels in tumors), stop cancer invasion and metastasis. Previous studies determined that GE showed a chemosensitizing effect to PTX, reducing the Median Inhibitory Concentration (IC_{50}) of PTX. Therefore, in the present work we were interested in analyzing whether the chemosensitizing mechanism can be associated with the negative regulation of the Wnt/ β -catenin pathway.

1. Introducción

1.1 Cáncer

El cáncer es una de las principales causas de muerte que se presenta en todo el mundo, es una enfermedad heterogénea que se caracteriza principalmente por un proceso de múltiples pasos que es iniciado particularmente por alteraciones genéticas de células normales que se convierten en células malignas (Fabiani, 2020).

Las células cancerosas tienen la capacidad de crecer o duplicarse de una manera descontrolada, además provocan una invasión, teniendo así la capacidad de formar una metástasis o un tumor (Fabiani, 2020).

1.2 Epidemiología

El cáncer ha afectado a seres multicelulares por más de 200 millones de años, es muy importante mencionar que a diferencia de otras enfermedades, el cáncer no es causado por alguna entidad extraña en nuestro cuerpo, si no que sus agentes de destrucción son células humanas, que migran a través del cuerpo para iniciar un tumor, a esto se le conoce como metástasis (Hausman, 2019).

El cáncer es una de las principales causas de incidencia en el mundo, en primer lugar, se encuentra el cáncer de mama (11.7%), en seguida el cáncer de pulmón (11.4%), posteriormente el cáncer colorrectal (10%), cáncer de próstata (7.3%) y el cáncer de estómago (5.6%), esto de acuerdo con la incidencia (Globocan 2020).

De acuerdo con la mortalidad, en primer lugar, se encuentra el cáncer de pulmón (18%), cáncer colorrectal (9.4%), en seguida el cáncer de hígado (8.3%),

posteriormente el cáncer de estómago (7.7%) y el cáncer de mama (6.9%) (Globocan 2020).

En México, el cáncer se ha mantenido como la segunda o tercera causa de muerte. De acuerdo con el sexo, el cáncer de mama es la primera causa de muerte en mujeres y en segundo lugar el cáncer cervicouterino (figura 1). En hombres se encuentra en primer lugar el cáncer de próstata y en seguida se encuentra en cáncer colorrectal, (Figura 2). En ambos sexos de todas las edades en primer lugar se encuentra el cáncer de mama en mujeres y en segundo lugar el cáncer de próstata en hombres (figura 3). En todo el mundo ambos sexos de todas las edades en primero lugar se encuentra el cáncer de mama en mujeres y en cuarto lugar el cáncer de próstata en hombres (figura 4) (globocan 2020).

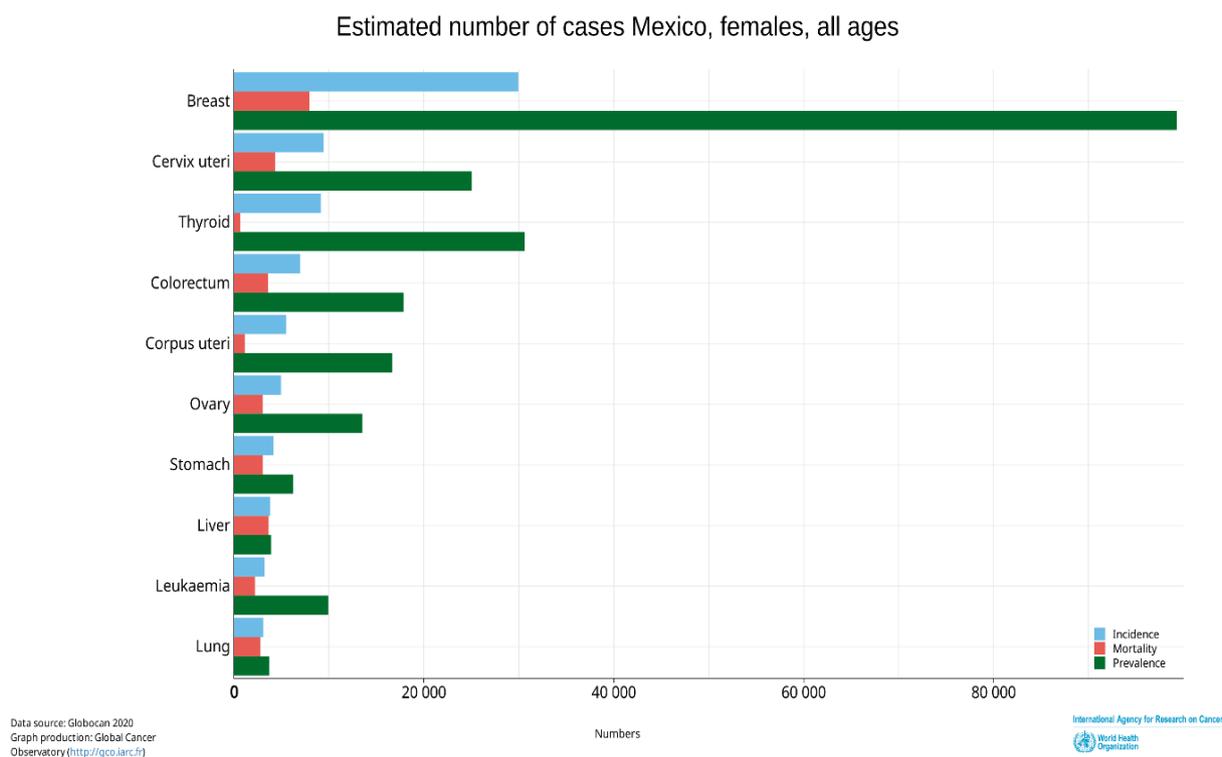


Figura 1: Número estimado de casos más comunes de cáncer en mujeres de todas las edades en México 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020.

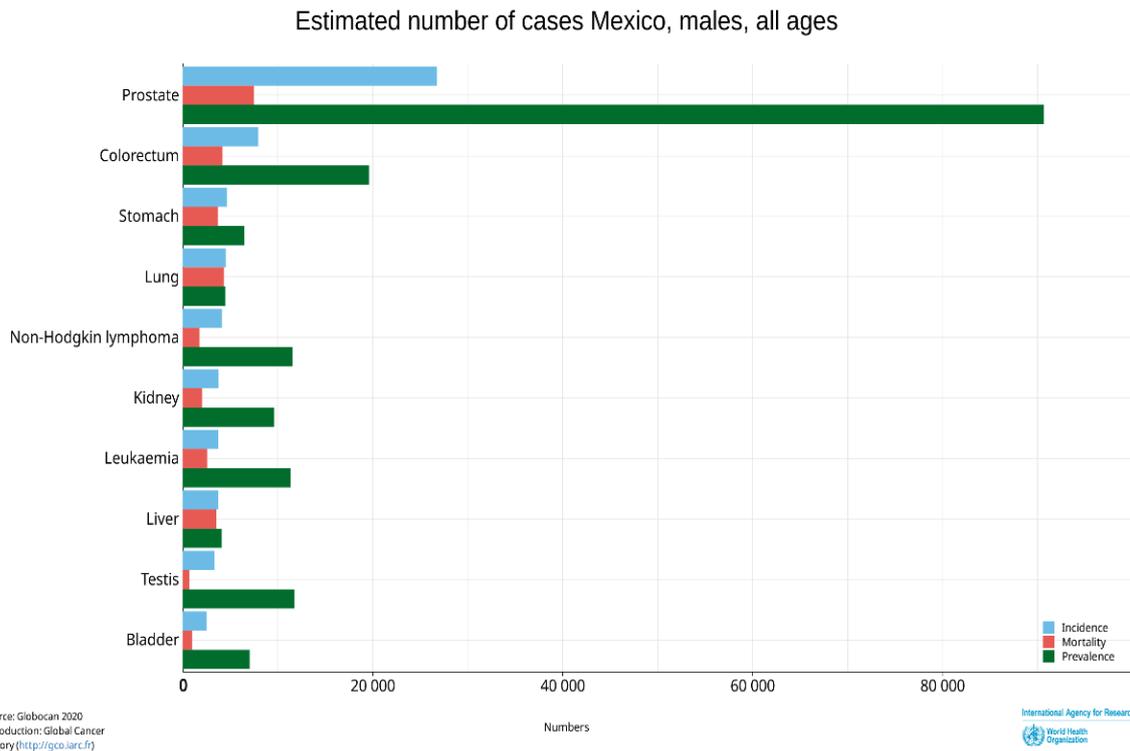


Figura 2: Número estimado de casos más comunes de cáncer en hombres de todas las edades en México 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020.

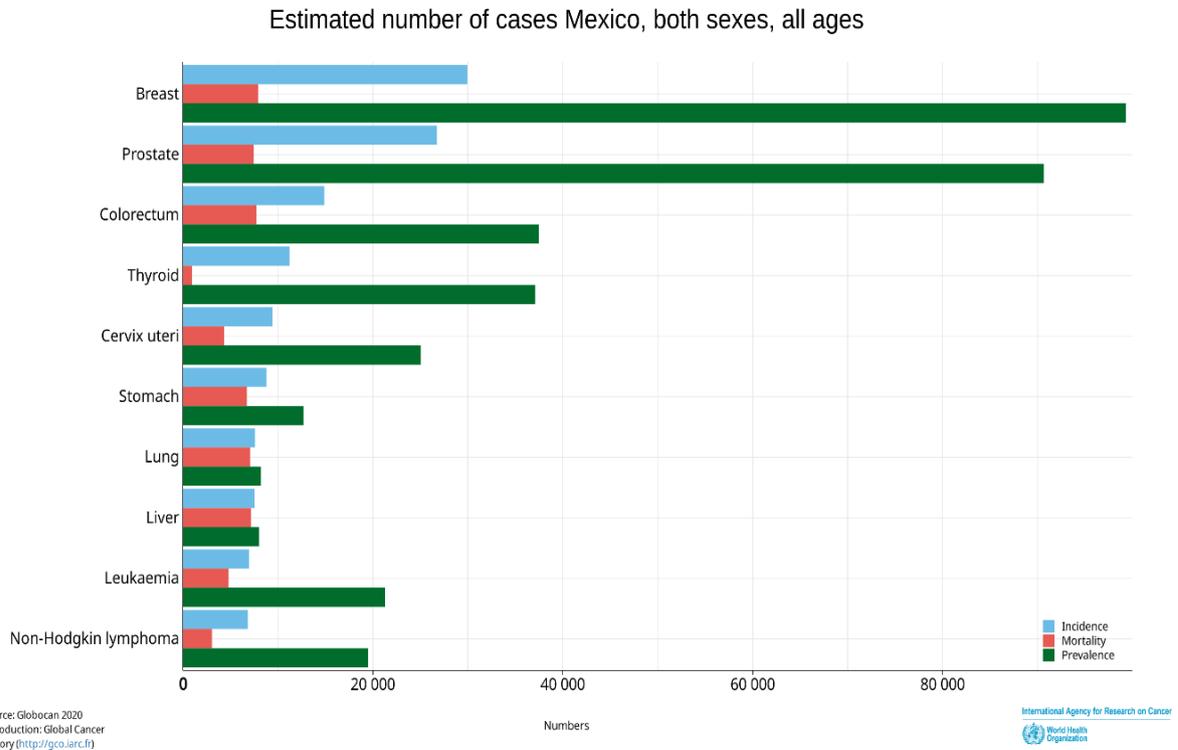


Figura 3: Número estimado de casos más comunes de cáncer en ambos sexos de todas las edades en México en 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020

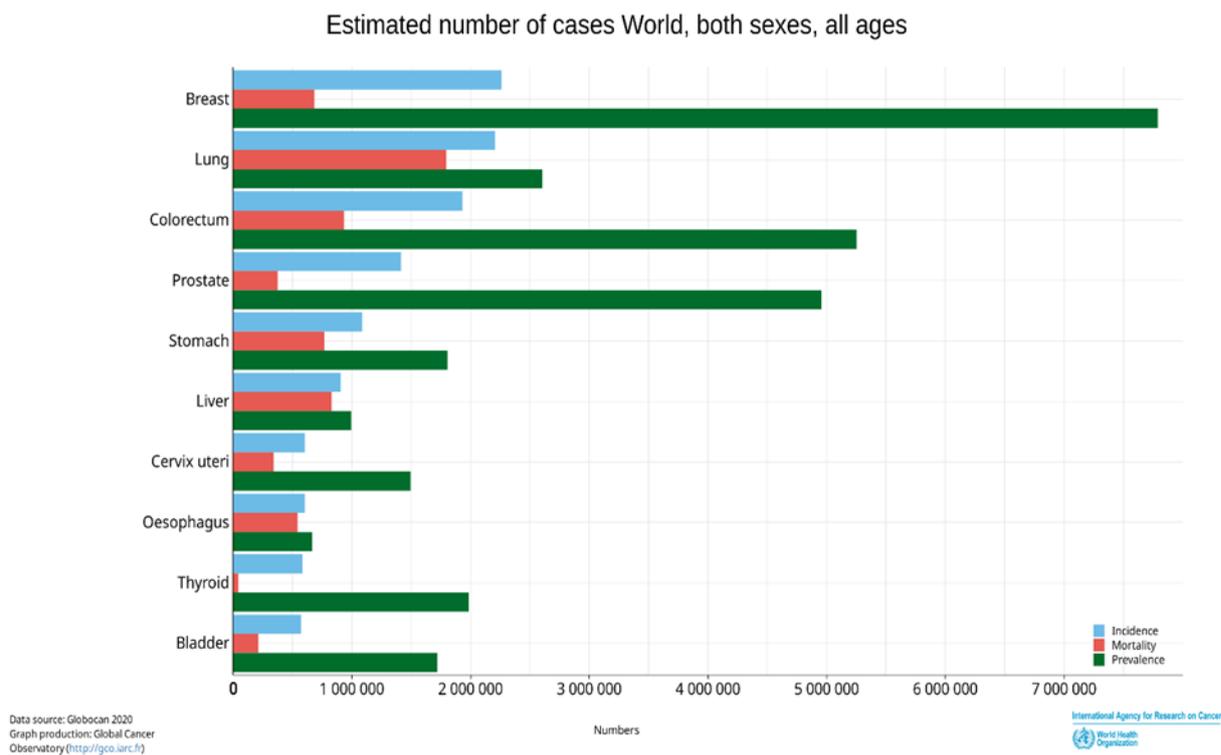


Figura 4: Número estimado de casos más comunes de cáncer en ambos sexos de todas las edades en todo el mundo 2020. Fuente: GLOBOCAN 2020.

1.3 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es uno de los tumores más malignos y comunes que se presenta en varones y se observa en todo el mundo, es importante señalar que la incidencia y mortalidad ha aumentado en los últimos años (Merriel *et al.*, 2018). El cáncer de próstata es un adenocarcinoma, ya que se desarrolla principalmente en la parte glandular del órgano, un tumor de este tipo puede crecer fuera de la próstata (extensión extracapsular) o puede permanecer localizado dentro de la próstata. (W. Leslie *et al.*, 2023)

El cáncer de próstata tiende a crecer lentamente y son de bajo grado, con un riesgo relativamente bajo y una agresividad limitada. En la mayoría de los casos que se presentan no hay síntomas iniciales o tempranos, pero si los hay tardíos, entre estos se pueden incluir fatiga, dolor óseo, insuficiencia renal por

obstrucción uretral bilateral, además el cáncer de próstata puede provocar compresión de la médula ósea provocando hormigueo, debilidad en las piernas y dolor. Todos estos problemas están asociados a la función y rendimiento sexual, por ejemplo, dificultad para lograr una erección o pueden provocar una eyaculación dolorosa. (W. Leslie *et al.*, 2023)

El diagnóstico del cáncer de próstata se basa principalmente en la prueba del antígeno prostático específico (PSA), los niveles elevados de este antígeno son normalmente superiores a 4 ng/ml en la sangre y se presentan inicialmente el 80% del cáncer de próstata y además se encuentra el diagnóstico mediante las biopsias de tejido prostático transrectal guiadas por ecografía (TRUS). Cuando el cáncer se limita a la próstata, se considera potencialmente curable, si este se ha extendido a los huesos o a otros lugares fuera de la próstata se utiliza la cirugía, quimioterapia, inmunoterapia, y radioterapia. (W. Leslie *et al.*, 2023)

1.3.1 Factores de riesgo para el cáncer de próstata

Existen factores que influyen a que un varón padezca cáncer de próstata, como; edad, raza/etnia, antecedentes familiares y geografía.

Edad: la edad es uno de los factores de riesgo más importante, porque debido a que la edad incrementa existe un riesgo mayor a desarrollar cáncer de próstata, antes de los 45 años el riesgo es menor, pero una vez que el varón cumple los 65 años el riesgo es muy alto a padecer este tipo de cáncer (Ferris-i-Tortajada *et al.*, 2011).

Raza: la tasa de incidencia anual de cáncer de próstata ajustadas a la edad presenta grandes variaciones tanto en los países como en los grupos étnico-raciales, por ejemplo, en América existen las tasas más elevadas a nivel

mundial, llegando así a superar los 270 nuevos casos por cada 100,000 hombres por año. Mientras que, Asia es el continente que presenta menor incidencia de todo el mundo, pero también existen algunas diferencias entre sus países (Ferris-i-Tortajada *et al.*, 2011).

Antecedentes familiares: Aproximadamente alrededor del 20% de los pacientes con cáncer de próstata son asociados a antecedentes familiares. Estos son generados no solo de genes compartidos sino también de algún patrón similar de exposición a ciertos carcinógenos ambientales y hábitos de estilo de vida comunes (Rawla, 2019).

Geografía: El cáncer de próstata es más común en la región de noroeste de Europa, islas del caribe, Australia y en Norteamérica, y es menos común en Asia y África (Rawla, 2019).

Aún no se conocen las razones del porqué en unas regiones es menos común y más común en otras, pero probablemente se debe al estilo de vida, por ejemplo, a la alimentación, o también al intenso uso de pruebas de detección para el cáncer de próstata (Asociación americana del cáncer 2019).

1.3.2 Tratamiento

Hay diversos tratamientos que se usan para tratar el cáncer de próstata, normalmente los hombres recurren a la terapia de privación de andrógenos, pero eventualmente desarrollan cáncer metastásico resistente a la castración, es por ello por lo que se han desarrollado nuevas dianas terapéuticas y nuevos fármacos que ayuden a tratar el cáncer de próstata en etapas avanzadas (Higano & Crawford, *et al.*, 2011).

Dentro del tratamiento para el cáncer de próstata se encuentra la cirugía, radioterapia, inmunoterapia y la quimioterapia, que son conocidas como terapias emergentes en etapas avanzadas (Higano & Crawford, *et al.*, 2011).

La cirugía es una opción común para tratar el cáncer de próstata, dada la disminución de carga tumoral a través de cirugías citoreductoras o radicales, asociadas con otras técnicas que también se usan para tratar el cáncer de próstata como, por ejemplo, la radioterapia ha demostrado una mejora de supervivencia en una serie de neoplasias malignas. (Gianfaldoni *et al.*, 2017)

La radioterapia es el tratamiento que se usa posteriormente a la cirugía, en este tipo de tratamiento se usan rayos de alta energía o bien sustancias radioactivas, esto se hace con la finalidad de dañar a las células tumorales, deteniendo de esta manera su crecimiento y su división, la radioterapia se utiliza sola o en combinación. Este tratamiento ha sido una herramienta eficaz para tratar el cáncer durante mucho tiempo (Gianfaldoni *et al.*, 2017).

La radioterapia se considera una opción terapéutica válida, especialmente en aquellos pacientes que no pueden ser tratados quirúrgicamente, o cuando los tumores son de tamaño grande o mal delimitados, también se usa particularmente en tumores que afectan a sitios críticos (Gianfaldoni *et al.*, 2017).

Es importante mencionar que la inmunoterapia se ha convertido en una opción de tratamiento contra el cáncer, y tiene como objetivo manipular la actividad del sistema inmunológico, por ejemplo, las vacunas contra el cáncer, estas no previenen la enfermedad, si no que estimulan al sistema inmunológico para atacar a una enfermedad que ya existe. Muchas vacunas contra el cáncer consisten en células cancerosas, partes de células o antígenos puros, de tal

manera que las células inmunitarias de un paciente se aíslan y se exponen a antígenos cancerosos y, una vez activas, estas células inmunitarias se reintroducen en el cuerpo del paciente y son capaces de suprimir a las células cancerosas. Un ejemplo de vacuna es la Sipuleucel-T (Provenge®) (Sip-T), esta fue la primera vacuna aprobada por la FDA (Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos) y se utilizó para el tratamiento de cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (mCRPC). Sip-T provoca actividad antitumoral mediante la activación de células T, ya que son células específicas de la fosfatasa ácida prostática (PAP), esta enzima se encuentra en la superficie del 95% de las células de cáncer de próstata (Naran *et al.*, 2018). Esto se lleva a cabo tanto en células como también de los mediadores moleculares, con la finalidad de destruir a las células cancerígenas, la ventaja de este tratamiento es que las células normales permanecen intactas (Vásquez *et al.*, 2020).

La quimioterapia es un tratamiento de primera línea para tratar el cáncer de próstata, en este tipo de tratamiento se utilizan algunos fármacos que están destinados a destruir las células cancerosas de tal manera que evitan que estas sigan creciendo y por ende sigan dividiéndose de manera más rápida que las células normales (Coward *et al.*, 2012).

La quimioterapia también se puede utilizar combinada con la cirugía o la radioterapia, dependiendo del tipo de cáncer y de la ubicación de las células cancerosas (Coward *et al.*, 2012). En este tipo de terapia se utilizan fármacos que están destinados a la destrucción de células cancerígenas entre estos se encuentran a los taxanos, a los cuales se les han atribuido propiedades quimioterapéuticas (Mita *et al.*, 2012).

Para llevar a cabo la selección de un tratamiento quimioterapéutico personalizado para un paciente se debe de basar en la histología tumoral, esto es importante para llevar a cabo la selección del tratamiento que se va a necesitar, es decir depende de qué tan avanzado está el cáncer, tomando en cuenta los datos de los ensayos clínicos (Nygren *et al.*, 2001).

Hay diferentes clases de antineoplásicos, entre estos se encuentran algunos agentes alquilantes, antimetabolitos y algunos productos naturales, también se encuentran los antibióticos citotóxicos y los antimitóticos (Janet L. Stringer *et al.*, 2019).

En la década de los 1940 uno de los primeros medicamentos que se utilizó clínicamente para tratar el cáncer fue el agente alquilante mecloretamina, el cual era una mostaza nitrogenada que resultó eficaz para tratar a los linfomas (Janet L. Stringer *et al.*, 2019).

1.3.3 Antimetabolitos

Las antimetabolitos son agentes citotóxicos, que se han ido desarrollando por más de 50 años, son aquellos fármacos que interfieren en la síntesis del ADN, estos constituyen a una familia de moléculas antitumorales, de manera que actúan inhibiendo los constituyentes del ADN, con la finalidad de evitar que las células se repliquen (Lansiaux *et al.*, 2011).

Dentro de esta familia se encuentran los antifolatos, son los fármacos más antiguos, la aminopterina fue el primer fármaco antimetabolito que entró a la farmacopea (2,4- diamino-pteroilglutamato), este fármaco provocó las primeras remisiones en la leucemia infantil (Lansiaux *et al.*, 2011).

1.3.4 Antibióticos citotóxicos

Los antibióticos citotóxicos además de su actividad antibacteriana, también cuentan con actividad antitumoral, por eso se han desarrollado como agentes anticancerígenos. En Estados Unidos actualmente se usa la bleomicina, doxorubicina, mitroxantrona como antibióticos citotóxicos (Murray *et al.*, 2018).

La bleomicina se utiliza clínicamente para tratar varias neoplasias, entre estas el cáncer testicular curando hasta el 90%, y también se utilizó para tratar el cáncer de ovario, siendo este un antibiótico citotóxico, que requiere de un ion de metal de transición, generalmente Fe (II), este es capaz de fragmentar el ADN, y es el principal determinante de la citotoxicidad de la bleomicina. Este fármaco se aísla de *Streptomyces verticillis*, donde la bacteria utiliza péptidos sintetasas modulares no ribosomales y polipéptidos sintetasas para sintetizar la bleomicina (Murray *et al.*, 2018).

Estudios han demostrado que la bleomicina inhibe la síntesis del ADN de *E. Coli*, y también suprime el crecimiento de células cancerosas, además, este fármaco se ha utilizado, en combinación con otros fármacos, para poder tratar tumores, por ejemplo, se ha utilizado en combinación con vinblastina y cisplatino, para tratar el cáncer de ovario metastásico, lo cual ha resultado eficaz (Murray *et al.*, 2018).

La citotoxicidad de este fármaco se debe a la capacidad que tiene para causar roturas de ADN de cadena doble y sencilla, entonces, esto conduce a la detención prolongada del ciclo celular, la apoptosis y la muerte celular mitótica, haciendo así que se inhiba la replicación de células cancerosas (Murray *et al.*, 2018).

Por otro lado, está la doxorubicina, este fue el primer fármaco anticancerígeno encapsulado en liposomas, que recibió aprobación clínica contra diferentes tumores, entre estos se encuentran tumores sólidos, leucemias trasplantables y linfomas (Rivankar *et al.*, 2014).

Debido a la búsqueda de nuevos compuestos se descubrió una nueva cepa en *Streptomyces peucetius*, la cual generaba un pigmento de color rojo brillante, en el cual se produjo un nuevo antibiótico que tenía actividad antitumoral, de ahí se generó la doxorubicina, este fármaco se utiliza con más frecuencia para tratar el cáncer de próstata, vejiga, mama, estómago, pulmón, ovario, y cáncer de tiroides (Rivankar *et al.*, 2014).

La doxorubicina, actúa inhibiendo la síntesis macromolecular, de tal manera que inhibe la progresión de la topoisomerasa II, este fármaco, estabiliza el complejo de topoisomerasa II después de que se haya roto la cadena de ADN para la replicación, evitando que la doble hélice del ADN vuelva a unirse y de esta manera detener el proceso de replicación (Rivankar, *et al* 2014).

La mitroxantrona también es un antibiótico citotóxico sintético, utilizado clínicamente en el tratamiento para diferentes tipos de cáncer y se desarrolló en un análogo de doxorubicina en un programa en el cual se esperaba encontrar fármacos con actividad antitumoral, y se ha utilizado para tratar cáncer de mama, leucemia aguda y cáncer de próstata (Enache *et al.*, 2016).

La actividad antitumoral de este antineoplásico está relacionada con su capacidad de unirse al ADN evitando la replicación, así como la síntesis del ARN dependiente del ADN (Enache *et al.*, 2016).

1.3.5 Agentes alquilantes

Los agentes alquilantes son moléculas muy antiguas, son derivados del platino, que se usan ampliamente en el tratamiento de tumores sólidos (Lajous *et al.*, 2019).

Los agentes alquilantes actúan de manera directa con el ADN, por el entrecruzamiento entre cadenas o intra-cadena, estos agentes permiten la transferencia de un grupo alquilo de una molécula a otra (Lajous *et al.*, 2019).

1.3.6 Paclitaxel

Otros agentes anticancerígenos que se han utilizado son los agentes antimetabólicos, estos han sido los más exitosos para tratar el cáncer, estos fármacos interactúan con β -tubulina debido a su influencia en la polimerización de la tubulina y su sitio unión con la tubulina (Nagle *et al.*, 2006).

Entre los antimetabólicos más utilizados para el tratamiento de cáncer se encuentra el Paclitaxel (PTX), este es un compuesto diterpenoide tricíclico, es producido de manera natural de la corteza y aguja de *Taxus brevifolia* (Zhu & Chen, 2019). El *Taxus brevifolia* es una planta comúnmente conocida como tejo del pacífico, es un miembro de Taxaceae y se utiliza para aislar PTX de la corteza como un fármaco quimioterapéutico para tratar el cáncer (Islam *et al.*, 2018)

1.3.7 Mecanismo anticancerígeno del Paclitaxel

El PTX ejerce sus efectos contra el cáncer y es uno de los fármacos naturales más exitosos y ampliamente utilizados (Zhu & Chen *et al.*, 2019).

En 1979 se dio a conocer que PTX promueve la unión y estabilización de los microtúbulos, estas estructuras consisten en subunidades repetidas y están compuestas por heterodímeros de α / β -tubulina (Zhu & Chen *et al.*, 2019).

PTX reduce la concentración crítica de las tubulinas ensambladas y aumenta el porcentaje. Durante la profase, los microtúbulos forman un huso para poder tirar de los cromosomas hacia los polos de la célula, posteriormente se despolimerizan y la estructura del huso se desintegra (Zhu & Chen *et al.*, 2019).

La temperatura fría y la exposición de iones de calcio son factores que desencadena la despolimerización de los microtúbulos. Cuando PTX se une a los microtúbulos los estabiliza, y una vez unidos los microtúbulos a PTX hace que resistan a la despolimerización, esto incluso tras el tratamiento de bajas temperaturas o con iones de calcio. El tratamiento con PTX promueve la polimerización de tubulinas y bloquea la progresión de la mitosis (Zhu & Chen *et al.*, 2019).

1.3.8 Docetaxel

Otro de los antimitóticos que se utiliza es el docetaxel, este fármaco fue descubierto como un análogo semisintético de PTX y mostró actividad similar *in vitro* en ensayos de polimerización de tubulina y crecimiento celular. El Docetaxel tiene una serie de propiedades que pueden convertirlo en un tratamiento superior al PTX, es 5 veces más potente en células resistentes al taxol, y por lo tanto tiene un tiempo de resistencia más prolongado a células cancerígenas, además tiene un mayor comportamiento farmacocinético (Nagle *et al.*, 2006).

Debido a su gran éxito para tratar el cáncer, los taxanos son la única línea de quimioterapia que han demostrado ser eficaces y que han logrado prolongar

la supervivencia en hombres con cáncer de próstata, el mecanismo de acción de los taxanos se ha estudiado extensamente de manera *in vitro*, en las líneas celulares los taxanos se unen a la tubulina y de esta manera ayudan a estabilizar los microtúbulos, dando como resultado una amplia organización de las fibras finas (Gjyrezi *et al.*, 2020).

Sin embargo, una de las problemáticas de los taxanos es la resistencia a múltiples fármacos (MDR), ya que esto se ha vuelto un gran tema de investigación durante mucho tiempo, una de las razones por la que existe la resistencia de los taxanos es porque los microtúbulos no se estabilizan de tal manera que impiden la interacción del fármaco y del objetivo. También se incluyen las mutaciones de beta-tubulina, debido a que se han identificado en líneas celulares y se ha demostrado que están asociadas a la resistencia de taxanos *in vitro*, sin embargo, estas no se han observado en pacientes (Gjyrezi *et al.*, 2020).

Otra de las razones por la que existe la resistencia de los taxanos es por la sobre expresión de los transportadores de eflujo del fármaco, estos interfieren en la acumulación del fármaco, la función de estos es que expulsan al fármaco, evitando que este cumpla su función (Gjyrezi *et al.*, 2020).

1.3.9 Resistencia a múltiples fármacos (MDR)

La MDR se da cuando las células se vuelven resistentes a los tratamientos que son contra el cáncer (Thomas *et al.*, 2020).

MDR es uno de los obstáculos más importantes en el tratamiento de cáncer y esto se asocia con mecanismos como un incremento en la salida de

fármacos, la reducción de apoptosis o bien la alteración del mecanismo de los fármacos (Sanchez-Carranza *et al.*, 2019).

Cuando se adquiere el fenotipo de MDR en células cancerosas estas se hacen resistentes a fármacos antineoplásicos y es una de las principales causas del fracaso de la quimioterapia en algunos tipos de cáncer. La expresión de la glicoproteína P (P-gp), contribuye en la resistencia de manera que expulsa a los fármacos o regula la muerte celular programada.

Los tratamientos contra el cáncer deben de integrarse en la secuencia terapéutica, con la finalidad de que todo el paciente reciba la inmensa mayoría de los tratamientos de manera correcta (Puente Vázquez, 2017).

1.3.10 Transportadores ABC

Los transportadores ABC, están asociados e involucrados en el bombeo activo de muchos sustratos a través de la membrana celular. El transporte mediado por estas proteínas modula la farmacocinética de muchos fármacos y también de los xenobióticos (Liu & Pan, 2019).

La sobreexpresión de este tipo de transportadores por parte de células cancerosas se ha asociado como un factor en el desarrollo de MDR (Liu & Pan, 2019).

Este tipo de transportadores ABC se sobre expresan en varios tejidos del cuerpo, como en el hígado, riñón, y en el cerebro, además desempeñan un papel importante en la absorción, distribución y excreción de fármacos, sin embargo, una de las principales funciones de estos transportadores es la expulsión de

fármacos que se utilizan en la quimioterapia para tratar el cáncer (Liu & Pan, 2019).

1.3.11. Glicoproteína P

La P-gp también conocida como proteína MDR1, es un transportador de eflujo que influye en la absorción, distribución y eliminación de fármacos (Liu & Pan *et al.*, 2019). P-gp facilita que los fármacos sean expulsados de manera rápida, la función principal de esta proteína es limitar la exposición sistémica de los compuestos. La coadministración de un fármaco que inhibe o induce a P-gp puede aumentar o disminuir a P-gp (Elmeliegy *et al.*, 2020).

1.4 Vías de señalización implicadas en MDR

Existen varios mecanismos que están asociados con la progresión de MDR en el cáncer, entre ellos se incluyen las bombas de expulsión de fármacos (Liu *et al.*, 2020). MDR es un fenómeno que conlleva a la resistencia a fármacos, evitando que estos cumplan con su función quimioterapéutica. Sin embargo, también hay vías de señalización las cuales se asocian a la MDR, como la vía PI3K/AKT (fosfatidilinositol 3 kinasa), esta vía se activa mediante la producción de fosfoinosítidos fosforilados en 3', es una vía de señalización que está muy implicada en MDR y en muchos tipos de cáncer, como por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de ovario, leucemia, carcinoma hepatocelular y cáncer de próstata (Liu *et al.*, 2020).

Muchos de los tumores en los cuales está implicada esta vía de señalización tienden a tener cambio en PI3K, el fenotipo de resistencia acompaña a la vía de activación PI3K/AKT, generando así una señal de

supervivencia para resistir a los fármacos anticancerosos citotóxicos (Liu *et al.*, 2020).

La activación anormal de la vía PI3K/AKT inhibe la apoptosis que es inducida por la quimioterapia mediante la potenciación de genes antiapoptóticos. Por mencionar algunos; Bcl-2 y XIAP, y también la reducción de genes apoptóticos, como Bax para modular la MDR. Además la vía PI3K/AKT regula la sobre expresión de P-gp para que de esta manera se efectúe la MDR (Liu *et al.*, 2020).

2. Vía de señalización Wnt/ β -catenina y MDR

La vía de señalización canónica Wnt, (también conocida como vía de señalización de Wnt/ β -catenina) es una vía en la cual se llevan a cabo una serie de interacciones de proteínas que funcionan de manera frecuente en el desarrollo embrionario y también en el cáncer, además está involucrada en procesos fisiológicos normales en los adultos. La vía Wnt/ β - catenina también regula la pluripotencialidad celular y determina el destino de diferenciación de las células durante el desarrollo (Zhao *et al.*, 2022).

Los componentes de la vía Wnt, como la β -catenina suelen ser proteínas especializadas que han aparecido junto a la cascada de la señalización Wnt, las cuales desempeñan un papel importante en esta vía. Es importante mencionar que esta vía es una parte integral de muchos procesos biológicos, en los cuales se encuentra incluido el desarrollo embrionario, la regulación del ciclo celular, la inflamación y por supuesto el cáncer. Los componentes de esta vía se han identificado como marcadores confiables y objetivos potenciales para el

tratamiento de cáncer. La vía Wnt tiene dos transducciones, la canónica y la no canónica (Zhao *et al.*, 2022).

La vía canónica Wnt/ β -catenina se caracteriza por la unión Wnt a un complejo receptor el cual está formado por LRP5 (lipoproteínas de baja densidad 5) Y LRP6 (lipoproteínas de baja densidad 6), además, de diez miembros de proteínas que pertenecen a la familia FZD (Zhao *et al.*, 2022).

Cuando la proteína β -catenina citoplasmática está en estado estable con ligandos esta es fosforilada por un complejo de glucógeno sintasa cinasa 3 β (GSK3 β), caseína cinasa I (CK I) axina y poliposis adenomatosa (APC) (Zhao *et al.*, 2022).

Axin es una sustancia que favorece la formación de un complejo con GSK3 β y APC, una vez que se forma el complejo, GSK3 β promueve la fosforilación de β -catenina para su eventual degradación por el proteasoma (Zhao *et al.*, 2022).

Cuando en la vía Wnt/ β catenina está la presencia del ligando Wnt este se une a su complejo de receptor central y activa la señalización de Wnt reclutando proteína sistólica (Dvl) y de esta manera interrumpiendo la formación de complejos los cuales están integrados por Axin/GSK3/APC, lo que hace que sea inhibida la degradación de β -catenina y de esta manera hace que se acumule en el citoplasma y se transloque en el núcleo, activando la expresión de genes que están implicados en la proliferación celular (Zhao *et al.*, 2022).

La vía Wnt/ β -catenina, es capaz de determinar el destino celular, la proliferación celular, la supervivencia y la diferenciación celular, además, puede regular el desarrollo embrionario, la apoptosis y los cáncer (Zhao *et al.*, 2022).

Sin embargo, la vía de señalización Wnt no canónica puede regular las respuestas transcripcionales y no transcripcionales en las células (Zhao *et al.*, 2022).

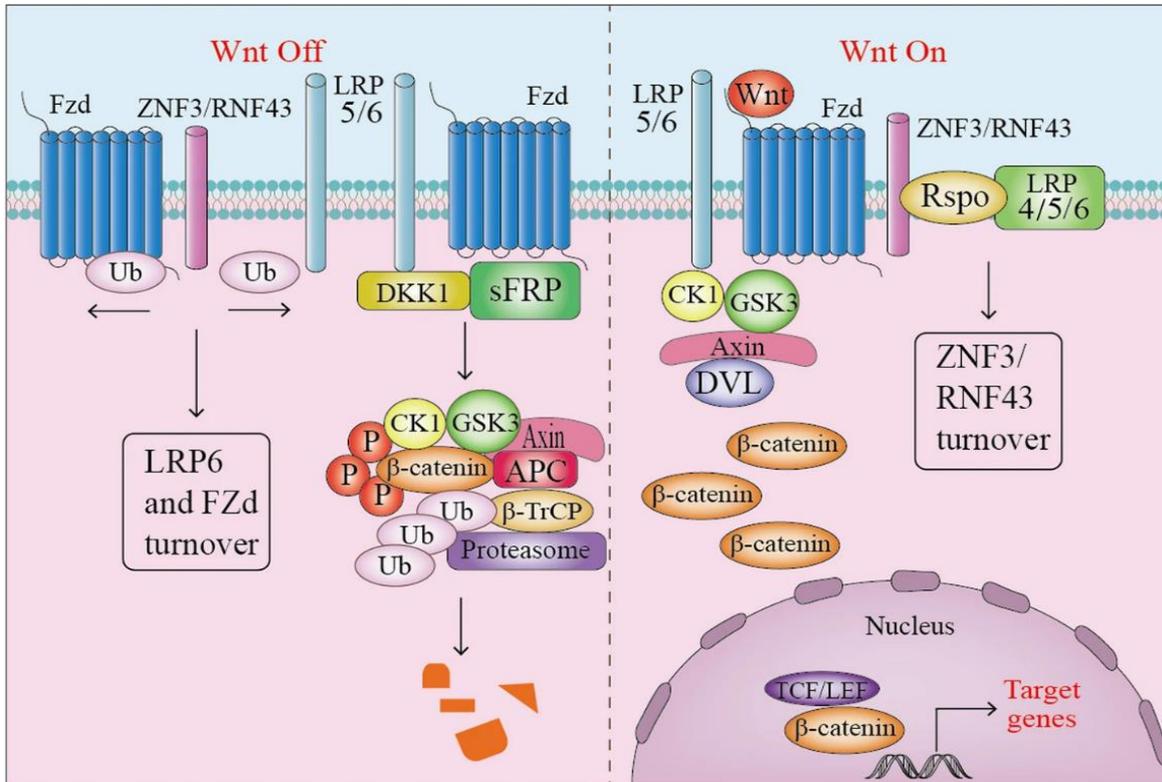


Figura 5: Vía de señalización Wnt/β-catenina, activa e inactiva, donde se muestra que en células cancerosas la vía esta activa y en células normales la vía se encuentra inactiva (Zhao *et al.*, 2022).

Es importante mencionar que la vía Wnt/β-catenina y la MDR tienen una estrecha relación, es decir ambas representan un obstáculo importante en el tratamiento contra el cáncer (Zhang *et al.*, 2012).

La vía Wnt/β-catenina juega un rol importante en la progresión tumoral del cáncer de próstata, y sobre todo en la MDR de la quimioterapia, la proteína β-catenina se sobre expresa en el cáncer de próstata en donde esta vía se encuentra activa (Jiménez-Guerrero *et al.*, 2021).

Jiménez-Guerrero *et al.*, en el 2021 realizaron un estudio con el objetivo de analizar el rol de la vía Wnt/ β -catenina en la resistencia a PTX, además estudiar la eficacia terapéutica de la inhibición en células de cáncer de vejiga utilizando las líneas celulares 5637 y HT1197, en donde observaron que esta vía contribuía a la MDR, en particular al PTX. En conjunto sugieren que la vía Wnt/ β -catenina está altamente asociada con MDR.

2.1 Antecedentes

La quimioterapia es uno de los principales enfoques para tratar el cáncer, esta enfermedad inicialmente responde a los medicamentos tradicionales de primera y segunda línea, pero en algunas ocasiones ciertos pacientes adquieren resistencia y recaen dentro de los 5 años posteriores (Yuan *et al.*, 2022).

Debido a la problemática y al avance de los casos de cáncer, la búsqueda de nuevos compuestos para tratar el cáncer en los últimos años ha cobrado gran auge. Los productos naturales han sido ampliamente utilizados en la investigación, tales como los alcaloides, flavonoides y taxanos, debido a que este tipo de productos presentan una baja toxicidad, pero presentan buena eficacia para tratar este tipo de enfermedades (Yuan *et al.*, 2022).

Los productos naturales son una fuente históricamente rica de compuestos biológicamente activos, que cuentan con diferentes estructuras químicas que han sido de gran importancia para la industria farmacéutica, pero que además han sido conocidos debido a que tienen una alta capacidad para influir en múltiples vías de señalización que están particularmente relacionadas con el cáncer, y con otros efectos farmacológicos incluidas actividades antifibróticas, antioxidantes y antibacterianas, por lo que se convierte en

moléculas interesantes de estudio para ser investigados y explotados como fuente farmacéutica, para el tratamiento de diferentes tipos de enfermedades (Liu *et al.*, 2019; Meerson *et al.*, 2021).

Por ejemplo, los alcaloides se han destacada dentro de los productos naturales por su potencial antineoplásico. Estos compuestos se unen a subunidades α y β de la tubulina en la fase S del ciclo celular, de esta manera evitan que la tubulina no pueda polimerizarse para poder formar microtúbulos que intervienen en funciones celulares, tales como; formación del huso mitótico y el desplazamiento de neurotransmisores a través de axones. Se incorporan algunas estructuras microtubulares formando protofilamentos que generan una desintegración creciente (Gómez Del Rio, 2006).

Algunos alcaloides que se han utilizado son la vincristina y la vinblastina, estos compuestos se extraen de la planta *Catharanthus rose*, conocida particularmente como vinca, una de sus propiedades más destacadas es que poseen efectos antitumorales (Gómez Del Rio, 2006).

Entre los compuestos naturales con mayores actividades reportadas se encuentran los polifenoles. El monómero básico en los polifenoles es el anillo fenólico y generalmente estos se clasifican como flavonoides, ácidos y alcoholes fenólicos (Abbas *et al.*, 2017).

Los flavonoides pertenecientes a los polifenoles cuentan con actividades anticancerígenas y se han originado a partir de fuentes naturales.

Los flavonoides son polifenoles que están compuestos por 15 átomos de carbono en su estructura química, presentando 2 anillos bencénicos que van conectados a través de un anillo heterocíclico que contiene oxígeno. Estos están presentes

en una gran variedad de plantas, frutas, verduras, nueces y en té. Existen alrededor de 6000 flavonoides que han sido aislados e identificados, pero también han sido divididos en subclases (Meerson *et al.*, 2021; Ponte *et al.*, 2021).

En general estos compuestos presentan gran actividad biológica por el anillo fenólico entre estos los más destacados y estudiados son, la quercetina y apigenina, son los que más se encuentran en los alimentos (Meerson *et al.*, 2021).

Cao *et al.*, en 2015, realizaron un estudio con el objetivo de explorar como la quercetina interactúa con las células madre del cáncer de próstata, en este estudio se evaluó el efecto de quercetina sobre los marcadores de la superficie de células madre en cáncer de páncreas, para examinar por inmunofluorescencia si la quercetina inhibe la expresión de los marcadores de la superficie celular, y observaron que las células de cáncer de páncreas mostraron una disminución en la expresión de β -catenina, de tal manera que indicaron que la quercetina disminuye la expresión de β -catenina.

Existe evidencia de que los compuestos fenólicos pueden dirigirse a varias vías de señalización que estén relacionadas con la apoptosis, como por ejemplo la vía PI3K/AKT (Yuan *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2019; Madunic *et al.*, 2018).

Este se ha identificado y aislado de las nueces, *Euphorbia fischeriana*, se utiliza como antioxidante y además posee propiedades antiproliferativas, actúa también contra la inflamación y la hipertensión, además es un aditivo alimentario aprobado (Mohan *et al.*, 2015; Latos-Brozio & Masek, 2020).

Por ejemplo, Cui *et al.*, 2015 llevaron a cabo un estudio en donde el objetivo principal era investigar la actividad quimioterapéutica de GE, sobre líneas celulares MDA-MB-231 (altamente invasivas) y MCF-7 (poco invasivas), estas líneas celulares fueron tratadas con GE, para poder analizar el efecto que ejercía sobre la proliferación celular y la apoptosis, además analizar la expresión de Bcl-2/Bax (proteína asociada a la apoptosis). Se determinó que efectivamente el GE inhibe la proliferación celular y además induce la apoptosis de forma dependiente de la dosis y del tiempo, de tal manera que significa que el GE es un componente bioactivo importante en la quimioterapia para tratar el cáncer, además los resultados indicaron que el GE suprime la proliferación y la invasión de las células de cáncer de mama mediante la modulación de la vía de señalización PI3K/Akt.

En otro estudio realizado por Kim *et al.*, en 2012, utilizaron una línea celular de leucemia promielocítica humano, HL-60, donde examinaron la viabilidad celular, los cambios morfológicos, el contenido y la fragmentación del ADN y además evaluaron la expresión de proteína relacionada con la apoptosis 24 o 48 h después de que fueron tratadas GE a concentraciones 50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 200 μM y 300 μM . En los resultados determinaron que efectivamente el GE produce cambios morfológicos y observaron un encogimiento de la membrana celular y el desarrollo de cuerpos apoptóticos, de tal manera que GE disminuye la viabilidad celular de manera dependiente del tiempo y la dosis, determinando que el GE si presenta un efecto citotóxico sobre la línea celular HL-60. Además, confirmaron que el GE presenta efectos de inducción a apoptosis.

Por su parte, también se les han atribuido a los compuestos fenólicos efectos moduladores en vías de señalización alteradas como la vía Wnt/ β -catenina en cáncer.

La regulación de la vía Wnt/ β -catenina se ha asociado con diversas enfermedades, incluido el cáncer. Se han propuesto varios componentes moleculares de la señalización como blancos innovadores para la terapia del cáncer, se han identificado muchos compuestos de origen natural como potentes moduladores de esta vía y como candidatos prometedores para el desarrollo de fármacos quimiopreventivos y terapéuticos para tratar el cáncer. Entre estos se encuentran la curcumina, quercetina, la berberina y los ginsenósidos (Sferrazza *et al.*, 2020; Jiménez-Guerrero *et al.*, 2021).

Reportes indican que los compuestos fenólicos tienen un alto potencial quimiopreventivo en el riesgo de cáncer, debido al consumo de estos. Por ejemplo, estudios de metaanálisis indican que los polifenoles presentes en el té verde reducen el riesgo de padecer cáncer de próstata (Bhosale *et al.*, 2020). Además, los compuestos fenólicos combinados con agentes quimioterapéuticos potencializan su eficacia (Niedzwiecki *et al.*, 2016).

Es conocido que una de las principales problemáticas en la terapia de cáncer es la MDR. Bukowski *et al.*, en 2020 documentaron que la MDR es la causa de más del 90% de muerte en pacientes con cáncer que reciben quimioterapia o administración de medicamentos para tratar el cáncer. Por lo que la búsqueda de moléculas que puedan revertir la resistencia en los últimos años ha cobrado un gran auge. Los mecanismos de resistencia son varios incluyendo la sobreexpresión de bombas de eflujo como P-gp, Inhibición de

moléculas proapoptóticas, la proteína de resistencia al cáncer de mama (BCRP), y activación de vías de señalización implicadas en proliferación como la vías ERK, MAP y recientemente se ha documentado que la vía Wnt/ β -catenina puede estar involucrada a la resistencia a múltiples fármacos, además esta vía se ha identificado como un mecanismo fundamental para el mantenimiento de las células madre cancerosas (CSC), debido a que participa en diversos tipos de cáncer y en diferentes procesos, entre ellos la autorrenovación, la desdiferenciación, la inhibición de apoptosis o metástasis (Jiménez-Guerrero *et al.*, 2021).

Uno de los principales mecanismos por el cual las células se vuelven resistentes es la regulación positiva de varios transportadores ABC, como por ejemplo P-gp, la BCRP y la proteína resistente a múltiples fármacos (MRP1), las cuales tienen como función eliminar eficazmente el fármaco, de tal manera que este no lleve a cabo su efecto terapéutico (Dantzig *et al.*, 2018).

El transportador ABC también ha influido en el desarrollo de medicamentos contra el cáncer, a partir de compuestos que son naturales, como ejemplo el compuesto natural de camptotecina (CPT) y sus derivados han demostrado una gran actividad con base a sus propiedades antitumorales, pero hay una alta expresión de la BCRP, lo cual causó un aumento de 400 a 1000 veces en la resistencia a los derivados de este compuesto.

Otro compuesto natural que se asocia con una baja biodisponibilidad es el resveratrol que cuenta con efectos benéficos para enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas y para el cáncer. La baja biodisponibilidad de este compuesto se puede atribuir principalmente a la

eliminación eficiente por parte de la BCRP y el metabolismo de fase II (Dantzic *et al.*, 2018).

Como se mencionó anteriormente apigenina ha sido destacado por sus efectos quimiopreventivos, este compuesto ha demostrado que tiene una gran cantidad de efectos anticancerígenos contra tumores resistentes a múltiples fármacos, modelos de leucemia y xenoinjertos de osteosarcoma (Dantzic *et al.*, 2018).

De acuerdo con Dantzic *et al.*, en 2018, investigaron la relación entre la apigenina y la expresión de transportador ABC, la acumulación de apigenina se vio afectada por la expresión de P-gp, mientras que los tratamientos de apigenina muestran inhibición tanto de P-gp como de la BCRP .

Todos los componentes naturales, altamente bioactivos y con poca biodisponibilidad dependen de los inhibidores del transportador ABC o también de las modificaciones sintéticas para poder mejorar su actividad clínica (Dantzic *et al.*, 2018).

En la primera generación, el verapamilo y la ciclosporina A, se aprobaron por su eficacia en la reversión de MDR en la ciclina A, en la segunda generación de modulares de P-gp, valsopodar y dexperapamilo, se diseñaron para aumentar la especificidad. En ensayos *in vitro* los dos fármacos mostraron gran potencia y especificidad, sin embargo, en la clínica sus efectos fueron pocos en cuanto a la reversión de MDR, y además mostraron varios efectos secundarios, esto se debió a que inhiben el metabolismo de los fármacos contra el cáncer mediado por CYP450. Además, hubo una tercera generación de inhibidores, tales como tariquidar y zosuquidar, los cuales se desarrollaron con una potencia mejorada y

con una actividad inhibitoria de CYP450 minimizada. Estos compuestos eran más potentes y presentaban menos interacciones farmacocinéticas o menos efectos secundarios, sin embargo, aun así, se observó una mayor toxicidad de los regímenes de quimioterapia con un beneficio clínico limitado (Dantzig *et al.*, 2018).

Actualmente es de gran interés el diseño de nuevos agentes naturales que presenten potencia a la reversión de MDR (Dantzig *et al.*, 2018).

En nuestro grupo de trabajo en los últimos años se han estudiado compuestos fenólicos aislados de *Caesalpinea coriaria* entre los que se encuentran el ácido gálico, ácido tánico y GE, los cuales han mostrado efecto citotóxico e inducción de apoptosis en varias líneas celulares de cáncer, también mostraron inducción de apoptosis (Sánchez Carranza, *et al.*, 2017).

En nuestro grupo de trabajo se llevaron a cabo estudios anteriores por Hernández-Solano en el año 2022, en donde estos mostraron que GE si tiene efecto quimiosensibilizante sobre la línea celular estudiada, PC-3/PTX resistente de cáncer de próstata.

Por lo tanto, en el presente trabajo analizamos si el efecto quimiosensibilizante de GE puede estar asociado a la regulación de la vía de señalización Wnt/ β -Catenina. Por lo que nos centramos en el efecto de GE sobre la expresión y localización de las proteínas β -catenina, E-cadherina y Survivina.

3. Justificación

En hombres, el cáncer de próstata es la segunda causa de muerte en el mundo y la principal causa de mortalidad e incidencia en México. La MDR es uno de los principales obstáculos en la eficacia de la quimioterapia, son diversos los factores que pueden contribuir al desarrollo de este fenotipo, como la actividad de la glicoproteína P, sin embargo, en la MDR también están implicadas otras vías de señalización, como la vía Wnt/ β -catenina.

En los últimos años la investigación de moléculas con efecto quimiosensibilizante que modulan mecanismos de resistencia para sensibilizar las células cancerosas a la quimioterapia ha cobrado gran auge. Los productos naturales como flavonoides y compuestos fenólicos han mostrado efectos prometedores en la reversión de la MDR. Compuestos fenólicos como el GE han mostrado efecto quimiosensibilizante en células PC-3/PTX resistentes a PTX, convirtiéndolo en una molécula interesante de estudio en la búsqueda de compuestos moduladores de vías de señalización (particularmente vía Wnt) implicadas en mecanismos de resistencia.

4. Hipótesis

El GE modula la expresión y localización de β -catenina, E-cadherina y Survivina en células PC3/PTX resistentes de cáncer de próstata

5.1. Objetivo general

Analizar el efecto de GE sobre la expresión y localización de β -catenina, E-cadherina y Survivina en células PC3/PTX resistentes de cáncer de próstata

5.2 Objetivos específicos

1. Analizar el efecto de GE sobre la expresión y localización de β -catenina por inmunofluorescencia en células PC3/PTX.
2. Analizar el efecto de GE sobre la expresión y localización de E-cadherina por inmunofluorescencia en células PC3/PTX
3. Analizar el efecto de GE sobre la expresión y localización de Survivina por inmunofluorescencia en células PC3/PTX

6. Metodología

6.1 Cultivo celular

La línea celular PC-3/PTX fue generada 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 incubaron con PTX justo debajo de su CI_{50} respectiva y la concentración se incrementó y mantuvo gradualmente de 10 hasta 100 μ M. 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_2 al 5% y 37°C.

6.2 Conteo celular

Previamente a realizar los experimentos se realizó el conteo celular para determinar el número de células por mililitro.

$$No. de células = \left(\frac{No. de células}{No. de cuadrantes} * 1 \times 10^4 \right) \times Factor de dilución$$

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

6.3 Inmunofluorescencia β -catenina

Para evaluar su efecto sobre la expresión y localización de β -catenina se sembraron 2×10^4 células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio y se realizó el tratamiento de GE a 50 μ M y 100 μ M, las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO₂. Posteriormente las células se fijaron con Paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM. Después de 15 minutos, se añadió PFA/NaHCO₃ 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 β -catenina (1:2000, sc-55510 Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, 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. Las células fueron teñidas con Dapi (1:5000, S7020, Molecular Probes) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizaron por triplicado de manera independiente.

6.4 Inmunofluorescencia E-cadherina

Para evaluar su efecto sobre la expresión y localización de E-cadherina se sembraron 2×10^4 células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio y se realizó el tratamiento de GE a 50 y 100 μ M, las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO₂. Posteriormente las células se fijaron con Paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM. Después de 15 minutos, se añadió PFA/NaHCO₃ 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-E-cadherina (1:500, T9026, Sigma Aldrich), 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 Dapi (1:5000, S7020, Molecular Probes) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizaron por triplicado de manera independiente.

6.5 Inmunofluorescencia Survivina

Para evaluar su efecto sobre la expresión y localización de survivina se sembraron 2×10^4 células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio y se realizó el tratamiento de GE a 50 y 100 μM , las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO_2 . Posteriormente las células se fijaron con Paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM. Después de 15 minutos, se añadió PFA/ NaHCO_3 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), 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 Dapi (1:5000, S7020, Molecular Probes) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizaron por triplicado de manera independiente cada uno.

7. Resultados y discusión

7.1 El GE reduce la expresión de β -catenina en células PC-3/PTX

Para analizar el efecto de GE sobre la expresión y localización de β -catenina se llevó a cabo una inmunofluorescencia. Esta técnica permite la localización celular de proteínas, (Tran *et al.*, 2021). En este trabajo nos centramos particularmente en β -catenina, E- Cadherina y Survivina.

Para llevar a cabo la evaluación del efecto de GE en la localización y expresión de las proteínas de interés, se utilizaron respectivas concentraciones de 50 μ M, 100 μ M de GE, con la finalidad de observar el efecto del compuesto a diferentes concentraciones.

Los resultados de la inmunofluorescencia, mostrados en la figura 5, fila 1, se puede observar que, en el control sin tratamiento con GE, hay una expresión de la proteína β -catenina ubicada en mayor medida en citoplasma y también se observan algunas células que muestran su localización en el núcleo.

En el tratamiento con GE mostrado en la figura 6 fila 2, muestra que a una concentración de 50 μ M se puede observar en la fila 3 de β -catenina que la expresión de la proteína disminuyó de manera significativa, y su ubicación se observa en la membrana, se hizo a 50 μ M para observar que tanto era el efecto que GE ejercía sobre sobre la expresión de β -catenina.

Para corroborar que el efecto con GE era dependiente de la concentración, se realizó un tratamiento a una concentración de 100 μ M en donde se observa que hay una menor expresión de β -catenina (fila 3), comparada con del tratamiento de 50 μ M, y se observa claramente su localización en la membrana.

En el empalme podemos verificar que efectivamente la expresión β -catenina fue menor cuando se aumentó la concentración de GE en el tratamiento, de tal manera que si hay un efecto sobre la inhibición de la vía Wnt/ β -catenina y que además el efecto es dependiente de la concentración y del tiempo.

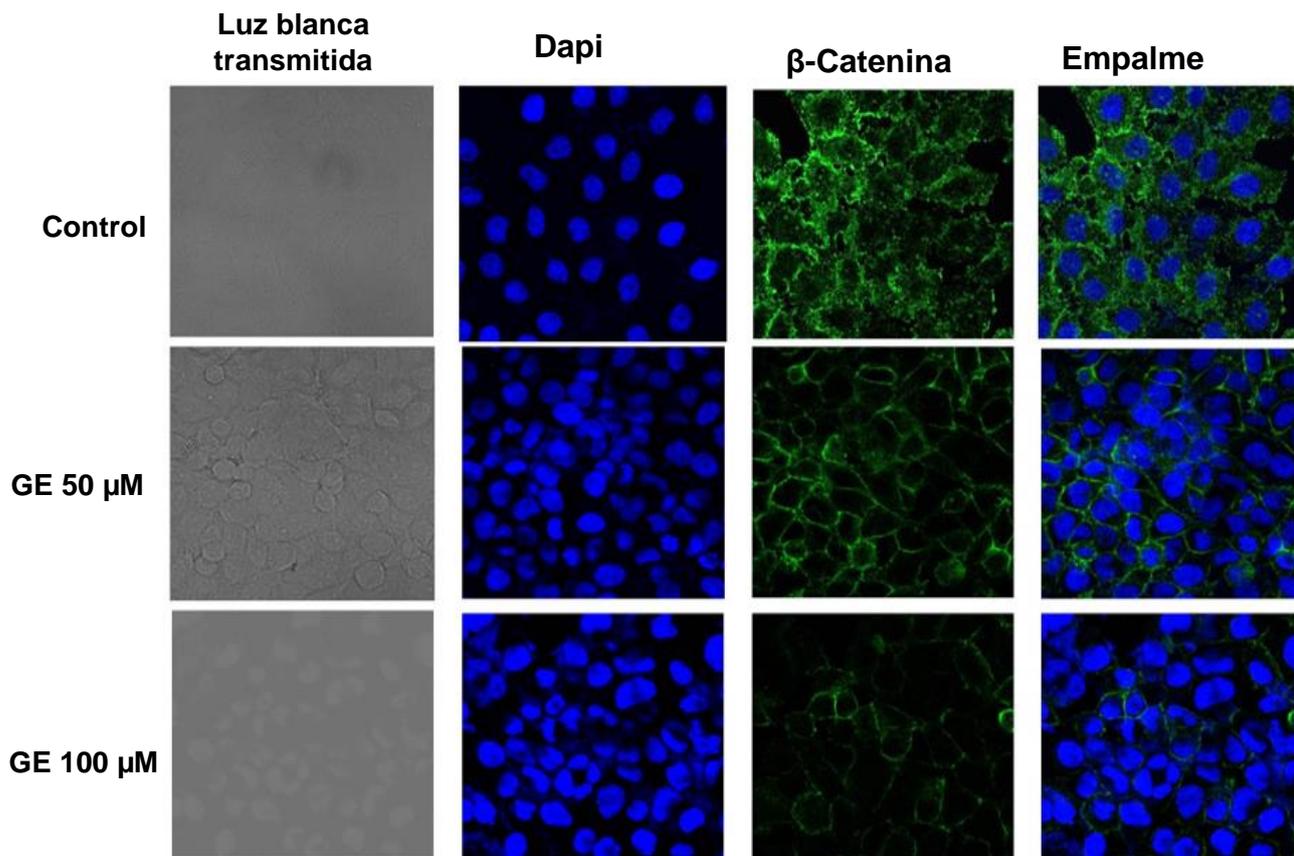


Figura 6: Micrografías de inmunofluorescencia de β -catenina en la línea celular PC-3/PTX tratadas con GE 50 μ M y 100 μ M. Primer columna células expuestas a luz blanca; Segunda columna células teñidas con Dapi (núcleos azules); tercera columna expresión de β -catenina (fluorescencia verde); Cuarta columna empalme de las imágenes del núcleo de la célula y la expresión de la proteína β -catenina.

Estos resultados indican que GE regula la expresión y localización de β -catenina que puede estar asociado a la regulación de la Wnt/ β -catenina.

varios estudios han demostrado que la pérdida de β -catenina en membrana se asocia con un mal pronóstico de los pacientes con varios tipos tumorales, incluidos colorrectal, hígado y próstata (Yuan *et al.*, 2020; Schneider *et al.*, 2018)

Existen estudios que indican que varios agentes dietéticos naturales tienen efectos anticancerígenos y modulan la vía de señalización de Wnt/ β -catenina, en diferentes tipos de cáncer (Tarapore *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2020).

Por ejemplo, el ácido ursólico es considerado como un triterpenoide Pentacíclico natural de varias plantas, se ha considerado un antagonista de la vía Wnt/ β -catenina en células de cáncer, el cual tiene un mecanismo terapéutico, regulando de manera negativa la expresión génica dependiente de β -catenina, este compuesto se asoció positivamente con la degradación y la resistencia a la interacción de β -catenina/TCF en células de tejido de cáncer de colon.

Por su parte, la triptonida es considerada como un inductor de la apoptosis en células de cáncer de colon humano por ejemplo en las SW480 Y RKO además en líneas celulares de cáncer de próstata PC3, su efecto terapéutico es ejercido mediante la vía Wnt/ β -catenina de tal manera que la suprime al dirigirse al dominio de transcripción C-terminal de β -catenina o su cofactor nuclear en lugar de translocación de β -catenina e interacción β -catenina/TCF4.

La curcumina, un compuesto fenólico extraído del rizoma de la cúrcuma que se suele utilizar como aditivo especia y pigmento, el tratamiento con este compuesto ayuda a suprimir el crecimiento de las células de cáncer, además de que ayuda a retardar la proliferación celular mediante la inhibición de la vía Wnt/ β -catenina (Liu *et al.*, 2019).

Otros reportes indican que el tratamiento con curcumina a 40 μ M resultó en una mayor degradación de la β -catenina citoplasmática y una disminución de los niveles de β -catenina nuclear. Los estudios de Ryu *et al.*, en 2008 también demostraron una disminución dependiente de la dosis en la expresión del coactivador nuclear p300 tras el tratamiento con curcumina. Esto es muy significativo ya que la β -catenina nuclear forma un complejo con TCF4 y el coactivador p300 para generar un complejo transcripcional activo (Karim *et al.*, 2004).

Se ha descubierto que el ácido elágico, un polifenol de origen natural suprime el desarrollo de carcinomas orales en el modelo de carcinogénesis de bolsa bucal de hámster inducida por 7,12-dimetilbenzo[a]antracena. Su eficacia anticancerígena se ha atribuido a la inhibición de la translocación nuclear de β -catenina, mientras que la inactivación de NF- κ B por el ácido elágico puede contribuir a la inhibición de la señalización de β -catenina. Además, se ha demostrado que la isoeleutherina y la toxoflavina (PKF118-310) disminuyen la acumulación nuclear de β -catenina sin afectar su nivel de expresión citoplasmática. También se ha descubierto que PKF118-310 inhibe la viabilidad, la migración y la invasión e induce la detención del ciclo celular en la fase G2/M y la apoptosis en células U2OS de osteosarcoma (Yu, *et al.*, 2020).

Por su parte Park *et al.*, en 2005 indicaron que los flavonoides tienen efectos quimiosensibilizantes que ayudan a reducir el riesgo de padecer cáncer. Además, nos mencionan que los flavonoides ayudan a regular negativamente la señalización de la vía Wnt/ β -catenina. Park *et al.*, en 2005 corroboraron el efecto inhibitorio de flavonoides contra la señalización Wnt.

Observaron que a concentración 100 μM después de 24h del tratamiento con la flavona reducía la actividad de β -catenina, lo que indica que la flavonona suprime la actividad de esta proteína modulando de manera negativa la vía de señalización Wnt/ β -catenina.

Pandey *et al.*, en 2023 reportaron que los flavonoides ejercen efecto inhibitorio sobre la vía de señalización Wnt/ β -catenina, además establecieron que efectivamente los flavonoides ejercen efectos inhibitorios del crecimiento, efectos apoptóticos, anticancerígenos y antimigratorios contra diversos tipos de cáncer.

Otro compuesto que se ha estudiado es la quercetina, este compuesto natural tiene efectos antioxidantes y quimiosensibilizantes que ayudan a modular la vía Wnt/ β -catenina. Shan *et al.*, en 2009 llevaron a cabo un estudio en células SW480 de cáncer de colon y células clon 26 de cáncer colorrectal, y observaron que la proliferación de las células SW480 se inhibió significativamente en función de la concentración de quercetina (40, 80 y 160 $\mu\text{mol/L}$) y el tiempo (24, 48 y 72 h), y la proliferación de las células clon 26 se inhibió a concentraciones de 20, 40, 80 y 160 $\mu\text{mol/L}$ de quercetina durante 48 y 72 h de incubación, y a 80 y 160 $\mu\text{mol/L}$ de quercetina durante 24 horas de incubación. Con respecto a la modulación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina determinó que quercetina reguló negativamente esta vía de señalización. Además se observó que la quercetina induce a apoptosis.

7.2 El GE reduce la expresión de E-Cadherina en células PC3/PTX

E-cadherina es una glicoproteína transmembrana, la cual tiene como función unir las células epiteliales en uniones adherentes, en células normales, E-cadherina ejerce su función supresora de tumores. Además, esta proteína se ha asociado frecuentemente con un buen pronóstico y supervivencia en pacientes de varios tipos de cáncer (Wong *et al.*, 2018).

Se analizó el efecto de GE en la modulación de la expresión y localización de E-Cadherina en células PC3/PTX.

Para llevar a cabo la evaluación del efecto de GE se utilizaron respectivas concentraciones de 50 μM , 100 μM , con la finalidad de observar qué tanto es el efecto que este compuesto tiene sobre la regulación de la expresión de E-Cadherina en las células a diferentes concentraciones.

De acuerdo con lo analizado en los resultados de la inmunofluorescencia, se puede observar en la figura 7 fila 3 que, en el control sin tratamiento de GE, hay una expresión de la proteína E-Cadherina dispersa no se observa en membrana.

En el tratamiento con GE a una concentración de 50 μM , la expresión de E-Cadherina ya no se observa dispersa en membrana y citoplasma, sino que se observa uniforme en membrana verificando en la fila 3.

Fenómeno similar al observado en el tratamiento de 100 μM donde se observa claramente su localización en la membrana, fila 3.

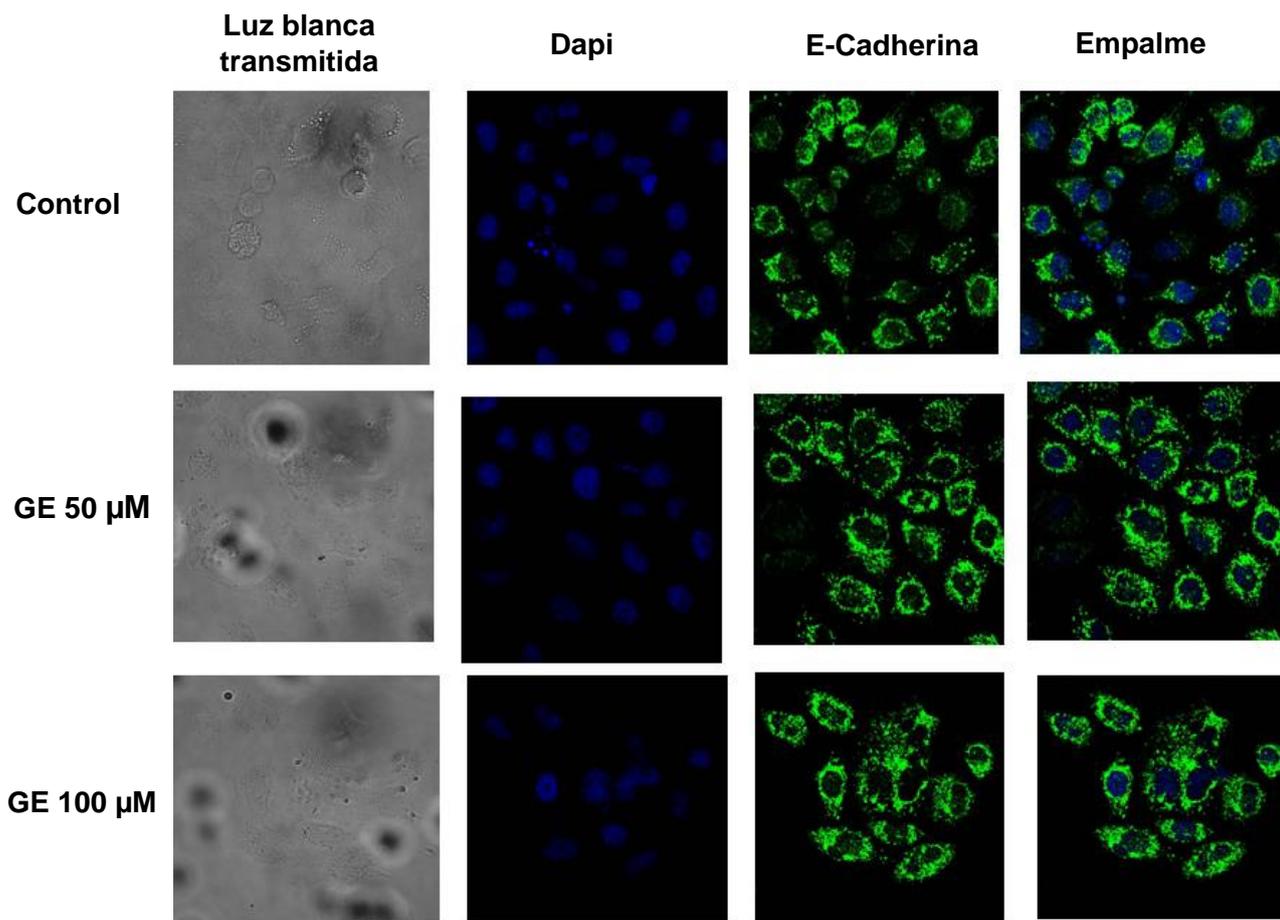


Figura 7: Micrografías de inmunofluorescencia de E-Cadherina en la línea celular PC-3/PTX tratadas con GE 50 μM y 100 μM . Primer columna células expuestas a luz blanca; Segunda columna células teñidas con Dapi (núcleos azules); tercera columna expresión de E-Cadherina (fluorescencia verde); Cuarta columna empalme de las imágenes del núcleo de la célula y la expresión de la proteína E- Cadherina.

E-cadherina es considerada un campo abierto a la investigación activa para poder descubrir nuevas estrategias para mejorar el pronóstico del cáncer, ya que la pérdida membranal está asociada con metástasis (Wong *et al.*, 2018).

En un estudio realizado por Mendonsa *et al.*, en 2018 determinaron que hay una gran relación entre E-cadherina y la vía Wnt/ β -catenina, ya que esta se encarga de la interacción funcional entre E-cadherina y el citoesqueleto, lo que sugiere una relación entre E-Cadherina y la señalización Wnt. Estudios han demostrado que cuando hay niveles elevados de E-cadherina en la superficie

celular pueden unirse a β -catenina y raptarla en la membrana, lo cual indica que la señalización Wnt ha sido antagonizada y de esta manera prevenir una translocación nuclear de β -catenina. La ausencia o disminución de la expresión de E-cadherina influye en la progresión tumoral, indicando de esta manera que E-cadherina es un supresor tumoral, ya que mantiene unidas a las células, facilitando la interacción célula-célula bloqueando de esta manera la migración (Stepniak *et al.*, 2009).

Por ejemplo, el resveratrol es un agente polifenólico natural de la uva y el vino tinto restaura la expresión de E-cadherina, promueve la interferencia de la activación de la vía Wnt/ β -catenina (Kim *et al.*, 2016)

Por su parte, el Carnosol, un análogo del resveratrol es un compuesto con propiedades restauradoras de E-Cadherina, y suprime la EMT inducida por EGF (Factor de Crecimiento Epitelial) (Song *et al.*, 2019).

Otro estudio con el alcaloide *ophra flavescens* (SFA) de la medicina tradicional china, promueve las expresiones de Bax y E-cadherina; suprime los niveles de Bcl-2, ciclina A y MMP-2; inhibe la vía de señalización Akt/mTOR, frena la proliferación celular y la metástasis, induce detención y apoptosis de G2/M (Zhou *et al.*, 2018); Por su parte, la N-butilideneftalida derivada de *Radix Angelica Sinensis* (Danggui) BCa activa la caspasa-9 y la caspasa-3, regula positivamente la E-cadherina, aumenta la sensibilidad al cisplatino, inhibe la migración celular, induce la muerte celular por apoptosis (Chiu *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2019).

Otro compuesto natural MSKE (Extracto de piel de uva moscadina), este compuesto disminuye los niveles de superóxido, STAT-3 y vimentina, por otro

lado, aumenta la expresión de E- Cadherina, además reduce la migración celular y deroga el proceso de EMT. (Song *et al.*, 2019).

A lo largo de la investigación de muchos compuestos naturales, se determina que la regulación positiva de E-Cadherina es de suma importancia en los cánceres, de otra manera la desregulación de esta proteína desencadena factores que favorecen la progresión tumoral, por lo tanto, la búsqueda de nuevos fármacos y compuestos naturales que regulen E- Cadherina han cobrado gran auge, para tratar diversos tipos de cáncer y restaurar la expresión de E-Cadherina (Song *et al.*, 2019).

Por ejemplo, el cáncer de próstata es uno de los carcinomas más comunes con incidencia más desarrollada en el mundo, para el cual hasta ahora se han diseñado compuestos anticancerígenos dirigidos a EMT (Estimulación Magnética Transcraneal). Por su parte Nanta *et al.*, en 2013 examinaron los efectos de NVP-LDE-225 sobre viabilidad celular de CSC, donde determinó que NVP-LDE-225 inhibió la viabilidad celular e indujo a apoptosis mediante la activación de caspasa-3. Además, indujo la expresión de Bax y Bak e inhibió la expresión de Bcl-2, Bcl-X₁, XIAP, cIAP1 y cIAP2, y de survivina. Por otro lado, suprimió a EMT al regular la expresión de E-Cadherina mediante la regulación de la familia miR-200, y finalmente NVP-LDE-225 inhibió el crecimiento tumoral de CSC que se asoció a la supresión de genes GLI1 y GLI2. Como se ha investigado a lo largo de este trabajo los compuestos fenólicos tienen propiedades antioxidantes y anticancerígenas, por ejemplo, entre estos compuestos también se encuentra el Honokiol, este compuesto fenólico tiene la capacidad de inducir la expresión de E-Cadherina, y reprime la expresión de N-

Cadherina, SRC-3, MMP-2, suprime EMT y, además, otra de sus propiedades es la inhibición de la migración e invasión celular (Song *et al.*, 2019).

Existen una gran variedad de compuestos naturales que ayudan a la regulación positiva de E-Cadherina, entre estos se encuentran el extracto de semilla de litchi, este es un compuesto natural que es conocido como cerezo chino, es un árbol subtropical, sus propiedades regulan positivamente p21, p27 y E- Cadherina, por otro lado, suprime la vía de señalización Akt/GSK-3 β (Song *et al.*, 2019).

En algunas investigaciones, se ha observado que la pérdida de E-cadherina puede estar relacionada con la resistencia a la quimioterapia y la MDR en ciertos tipos de cáncer. La disminución de la expresión de E-cadherina se ha asociado con la activación de vías de señalización que pueden promover la resistencia a múltiples fármacos, por lo que la restauración de la expresión de esta proteína es una estrategia prometedora en los mecanismos de reversión de la MDR (Lu *et al.*, 2012).

7.3 Inmunofluorescencia para la expresión de survivina

Survivina es una proteína, también conocida como BIRC5, es esencial para la división celular, además tiene la capacidad de inhibir la muerte celular, normalmente esta proteína se expresa en células que proliferan activamente, regulándose de manera positiva en la mayoría de los cánceres. Survivina es una de las proteínas que más se requiere tanto para la proliferación celular como para interferir en la muerte celular (Wheatley & Altieri, 2019).

Por su parte Martínez-García *et al.*, en 2019, mencionaron que la proteína survivina juega un papel importante en la resistencia a la terapia al momento de

promover la división celular, e inhibir la apoptosis, esta proteína está altamente expresada en células cancerosas mientras que en las células normales es indetectable.

Estudios indican que la Survivina está presente en varias células cancerosas, además de que es un gen blanco de la activación de la vía Wnt/ β -Catenina.

En ese sentido nuestros resultados anteriores han mostrado que GE modula la expresión y localización de β -Catenina y E-cadherina sugiriendo un interesante efecto sobre la regulación negativa de la vía Wnt/ β -Catenina, por lo que para corroborar este posible se llevó a cabo un análisis de la expresión de survivina un gen blanco de la vía de señalización.

Observamos los resultados en la fila 1, figura 8, correspondiente al control negativo, células sin tratamiento y podemos observar altos niveles de fluorescencia color verde asociado a una alta expresión de survivina.

En la segunda fila se muestran las micrografías de inmunofluorescencia después de que las células PC3/PTX fueron tratadas a una concentración 100 μ M de GE, se observa que, de manera considerable, la expresión de survivina disminuyó, es decir, GE reguló negativamente la expresión de esta proteína.

GE mostró un efecto inhibitorio sobre la expresión de survivina, la expresión aberrante de survivina estimula la progresión tumoral, además de que participa en la resistencia de las opciones terapéuticas, siendo una problemática en el tratamiento (Martínez-García *et al.*, 2019).

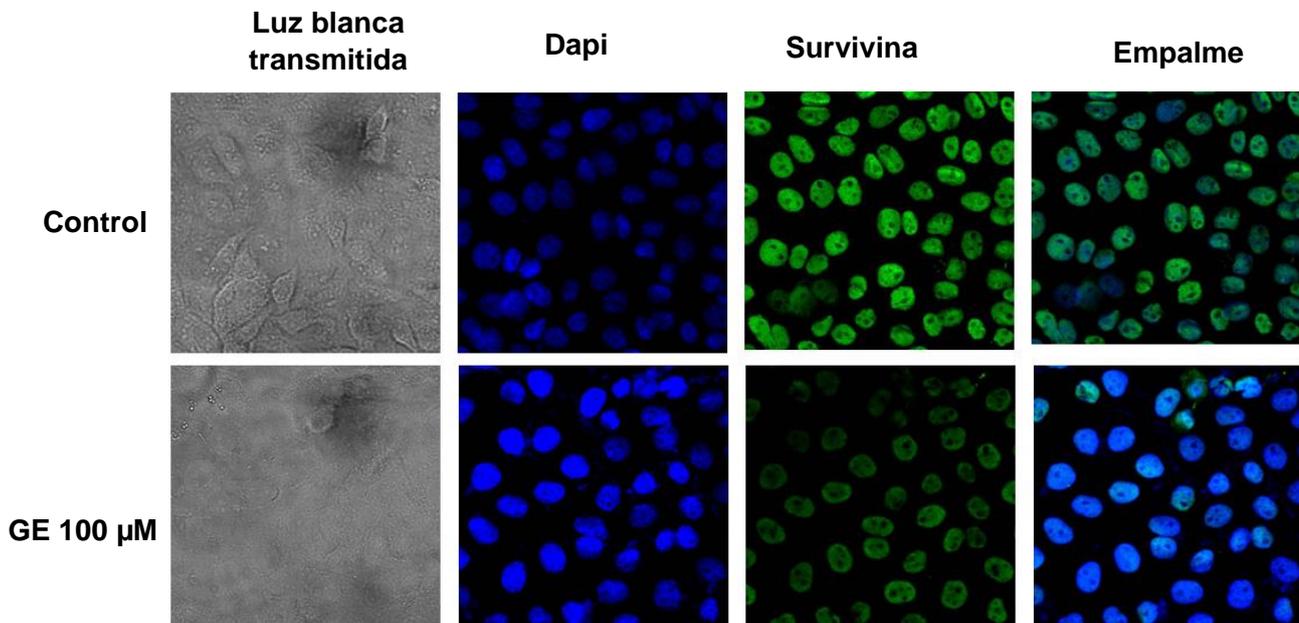


Figura 8: Micrografías de inmunofluorescencia de Survivina en la línea celular PC-3/PTX tratadas con GE 100 μM. Primer columna células expuestas a luz blanca; Segunda columna células teñidas con Dapi (núcleos azules); tercera columna expresión de Survivina (fluorescencia verde); Cuarta columna empalme de las imágenes del núcleo de la célula y la expresión de la proteína Survivina.

Por su parte hay reportes que demuestran que la inhibición de la señalización de Wnt/ β -catenina por inhibidores incrementan la apoptosis, Por ejemplo, el uso del inhibidor XAV939 incrementó significativamente la apoptosis inducida por 5-FU en células de cáncer de colon (Wu *et al.*, 2016). Como molécula clave de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, la β -catenina podría promover la expresión de su gen diana survivina, que inhibe la apoptosis en el cáncer de colon (Zhang *et al.*, 2001). Otros componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, incluidas las proteínas Wnt, GSK3 β y APC, también participan en el proceso de apoptosis del cáncer colorrectal (CCR). Como miembro de las proteínas Wnt que inician la vía de señalización canónica de Wnt, Wnt1 inhibe la apoptosis de las células de CCR mediante el bloqueo de la activación de caspasa-9 inducida por fármacos quimioterapéuticos y esta sensibilidad a los estímulos apoptóticos podría bloquearse mediante la inhibición de la transcripción de β -catenina/TCF (Yuan *et al.*, 2020). Como serina treonina cinasa, GSK3 β podría fosforilar constitutivamente la β -catenina y servir como

regulador negativo de la vía de señalización Wnt/ β -catenina (Ristorcelli *et al.*, 2008). Dewi *et al.*, en 2018, mostraron que la inhibición de GSK3 β podría aumentar la apoptosis de las células CCR. La APC, otro componente crucial de la cascada de señalización canónica de Wnt, podría regular negativamente la β -catenina, como proteína supresora de tumores, la APC podría inducir la muerte celular del CCR mediante apoptosis (Morin *et al.*, 1996). Además, se ha informado que los genes diana posteriores en la cascada de señalización Wnt/ β -catenina modulan la resistencia a los medicamentos mediante la regulación de la apoptosis. Por ejemplo, MMP-7 podría aumentar la resistencia al oxaliplatino de las células de cáncer de colon al disminuir la expresión del receptor Fas que promueve la apoptosis celular (Almendro *et al.*, 2009).

Al obtener nuestros resultados determinamos que GE es un inhibidor de la sobreexpresión de survivina, pero además se están estudiando, evaluando y diseñando nuevas opciones de estos para ayudar a regular la expresión de esta proteína como lo menciona Martínez-García *et al.*, en 2019.

Por otra parte, en un trabajo realizado por Martínez-García *et al.*, en 2019 analizaron los compuestos de origen natural de las Tambjamins, las cuales contienen compuestos naturales que son aislados de invertebrados marinos y muestran efecto farmacológico. Uno de los análogos de estos aislamientos es la Tambjamina 21 (T21) que está compuesta por un indol que tiene propiedades antitumorales, además de también tener una de las propiedades más buscadas que es la regulación de la expresión de la proteína apoptótica survivina. Martínez-García *et al.*, en 2019 indicaron que se analizó el mecanismo molecular por el cual el compuesto natural con propiedades anticancerígenas T21 ejerce la inhibición de survivina en cáncer de pulmón.

Por otro lado, Shan *et al.*, en 2009, llevaron a cabo un análisis con la finalidad de investigar los efectos de quercetina sobre la vía Wnt/ β -catenina y sobre la expresión de Survivina, en donde se utilizaron células SW480 de cáncer de colon humano y células clon 26 de cáncer colorrectal, para poder lograr el objetivo. Shan *et al.*, en 2009, analizaron ensayos de proliferación celular donde se comprobó que quercetina inhibió de manera significativa la proliferación de las células SW480, además inhibió la proliferación celular también reguló negativamente la señalización de Wnt/ β -catenina.

Por otro lado, Chintharlapalli *et al.*, en 2007, determinaron que el ácido betulínico, es un compuesto natural que induce a apoptosis y respuestas anti angiogénicas en tumores. Además, disminuye la expresión de survivina, el mecanismo de las respuestas antiangiogénicas y proapoptóticas en células de cáncer de próstata LNCap como en otros tumores se debe a la activación de la degradación selectiva del proteasoma de los factores de transcripción de la proteína de especificidad Sp1, Sp3 y Sp4 que regulan VEGF y a Survivina.

Por su parte Signorelli & Ghidoni en el 2005, determinaron que el resveratrol es un polifenol que posee la capacidad de inhibir o revertir la transformación y proliferación de las células tumorales. Además, descubrieron que el resveratrol inhibe las actividades de COX, estas enzimas catalizan los primeros pasos de la biosíntesis de prostaglandinas (PG). Además, actúa como un modulador selectivo del receptor de estrógeno (SERM) y regula las proteínas que están implicadas en la síntesis del ADN como (p) 53, Rb/E2F, ciclinas, cinasas dependientes de ciclinas (CDK) y sus inhibidores. El resveratrol afecta la actividad de los factores transcripcionales implicados en la proliferación como NF- κ B, AP1 y Egr1.

En otro estudio realizado por Weng *et al.*, en 2015, determinaron que curcumina en combinación con Busulfano (BUS) mejoraban la inducción a apoptosis de células madre de leucemia KG1a en comparación con cualquiera de los dos agentes solos, además determinaron que estos agentes regulaban negativamente la expresión de survivina ya que esta proteína es un factor clave en la apoptosis inducida por curcumina y BUS.

Estudios indican que la sobreexpresión de survivina se ha relacionado con la resistencia a apoptosis en las células cancerosas, lo que puede promover la supervivencia de las células cancerosas incluso en presencia de tratamientos con quimioterapia, por lo que la inhibición de esta proteína es de vital importancia en la reversión de mecanismos de resistencia. Por ejemplo, en un estudio la transcripción de survivina se asocia con la sobreexpresión de glicoproteína P/MDR1 en la resistencia a múltiples fármacos de las células de cáncer de mama MCF-7 (Liu *et al.*, 2010).

Reportes asocian que la reducción de la expresión de survivina restaura la sensibilidad a los medicamentos antineoplásicos al reducir la expresión de MDR1 en células linfoma de Burkitt (Tabata *et al.*, 2020).

A largo de este estudio se determinó efecto antitumoral y quimiosensibilizante del GE asociado a la modulación negativa de vía de señalización Wnt/ β -catenina.

8. Conclusiones

Con base a nuestros resultados obtenidos al largo de nuestro trabajo, se concluye lo siguiente:

- El GE modula la expresión y localización de β -catenina en células PC3/PTX, evitando la expresión de genes que están implicados en la proliferación celular.
- El GE incrementa los niveles de expresión de E-Cadherina en la membrana, debido a que esto está asociado a la regulación negativa de la vía Wnt/ β -catenina.
- El GE inhibe la expresión de survivina en células PC3/PTX, gen blanco de la vía Wnt/ β -catenina e implicado en mecanismos de resistencia a la quimioterapia.

9. Referencias

- Bhosale, P. B., Ha, S. E., Vetrivel, P., Kim, H. H., Kim, S. M., & Kim, G. S. (2020). Functions of polyphenols and its anticancer properties in biomedical research: A narrative review. *Translational Cancer Research*, 9(12), 7619-7631.
- Chintharlapalli, S., Papineni, S., Ramaiah, S. K., & Safe, S. (2007). Betulinic Acid Inhibits Prostate Cancer Growth through Inhibition of Specificity Protein Transcription Factors. *Cancer Research*, 67(6), 2816-2823.
- Chiu, S. C., Chiu, T. L., Huang, S. Y., Chang, S. F., Chen, S. P., Pang, C. Y., & Hsieh, T. F. (2017). Potential therapeutic effects of N-butylidenephthalide from Radix Angelica Sinensis (Danggui) in human bladder cancer cells. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 523.
- Cui, H., Yuan, J., Du, X., Wang, M., Yue, L., & Liu, J. (2015). Ethyl gallate suppresses proliferation and invasion in human breast cancer cells via Akt-NF- κ B signaling. *Oncology Reports*, 33(3), 1284-1290.
- Dantzig, D., Noel, P., Merien, F., Liu, D. X., Lu, J., Han, H., McKeage, M. J., & Li, Y. (2018). The Effects of Synthetically Modified Natural Compounds on ABC Transporters. *Pharmaceutics*, 10(3), 127.
- Enache, M., Toader, A., & Enache, M. (2016). Mitoxantrone-Surfactant Interactions: A Physicochemical Overview. *Molecules*, 21(10), 1356.
- Fabiani, R. (2020). Antitumoral Properties of Natural Products. *Molecules*, 25(3), 650.
- Ferrís-i-Tortajada, J., García-i-Castell, J., Berbel-Tornero, O., & Ortega-García, J. A. (2011). Factores de riesgo constitucionales en el cáncer de próstata. *Actas Urológicas Españolas*, 35(5), 282-288.
- Gianfaldoni, S., Gianfaldoni, R., Wollina, U., Lotti, J., Tchernev, G., & Lotti, T. (2017). An Overview on Radiotherapy: From Its History to Its Current Applications in Dermatology. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5(4), 521-525.
- Hausman, D. M. (2019). What Is Cancer? *Perspectives in Biology and Medicine*, 62(4), 778-784.
- Hausman, D. M. (2019). What Is Cancer? *Perspectives in Biology and Medicine*, 62(4), 778-784.
- Islam, N., Choi, J., & Baek, K.-H. (2018). Antibacterial Activities of Endophytic Bacteria Isolated from *Taxus brevifolia* Against Foodborne Pathogenic Bacteria. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(5), 269-276.
- Karim R, et al. The significance of the Wnt pathway in the pathology of human cancers. *Pathology*. 2004; 36:120-128.
- Kim S.H., Cho K.H., Kim Y.N., Jeong B.Y., Park C.G., Hur G.M., Lee H.Y. Resveratrol attenuates norepinephrine-induced ovarian cancer invasiveness through downregulating hTERT expression. *Arch. Pharm. Res.* 2016; 39:240-248.
- Kim, W.-H., Song, H.-O., Choi, H.-J., Bang, H.-I., Choi, D.-Y., & Park, H. (2012). Ethyl Gallate Induces Apoptosis of HL-60 Cells by Promoting the Expression of Caspases-8, -9, -3, Apoptosis-Inducing Factor and Endonuclease G. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 11912-11922.

- Lajous, H., Lelièvre, B., Vauléon, E., Lecomte, P., & Garcion, E. (2019). Rethinking Alkylating(-Like) Agents for Solid Tumor Management. *Trends in Pharmacological Sciences*, 40(5), 342-357.
- Lansiaux, A. (2011). Les antimétabolites. *Bulletin du Cancer*, 98(11), 1263-1274.
- Latos-Brozio, M., & Masek, A. (2020). Biodegradable Polyester Materials Containing Gallates. *Polymers*, 12(3), 677.
- Leslie SW, Soon-Sutton TL, RIA, et al. Cancer de prostata. [Actualizado el 30 de mayo de 2023]. *En: StatPearls [Internet]. Isla del Tesoro (FL): StatPearls Publishing; 2023 enero-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470550/>
- Liu F, Liu S, He S, Xie Z, Zu X, Jiang Y. Survivin transcription is associated with P-glycoprotein/MDR1 overexpression in the multidrug resistance of MCF-7 breast cancer cells. *Oncol Rep*, 23(5), 1469-1475.
- Liu, F., Zu, X., Xie, X., Liu, K., Chen, H., Wang, T., Liu, F., Bode, A. M., Zheng, Y., Dong, Z., & Kim, D. J. (2019). Ethyl gallate as a novel ERK1/2 inhibitor suppresses patient-derived esophageal tumor growth. *Molecular Carcinogenesis*, 58(4), 533-543.
- Liu, R., Chen, Y., Liu, G., Li, C., Song, Y., Cao, Z., Li, W., Hu, J., Lu, C., & Liu, Y. (2020). PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers. *Cell Death & Disease*, 11(9), 797.
- Lu L, Zhou D, Jiang X, Song K, Li K, Ding W. Loss of E-cadherin in multidrug resistant breast cancer cell line MCF-7/Adr: possible implication in the enhanced invasive ability. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 16(9), 1271-1279.
- Lu L, Zhou D, Jiang X, Song K, Li K, Ding W. Loss of E-cadherin in multidrug resistant breast cancer cell line MCF-7/Adr: possible implication in the enhanced invasive ability. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 16(9), 1271-1279.
- Madunić, J., Madunić, I. V., Gajski, G., Popić, J., & Garaj-Vrhovac, V. (2018). Apigenin: A dietary flavonoid with diverse anticancer properties. *Cancer Letters*, 413, 11-22.
- Martínez-García, D., Pérez-Hernández, M., Korrodi-Gregório, L., Quesada, R., Ramos, R., Baixeras, N., Pérez-Tomás, R., & Soto-Cerrato, V. (2019). The Natural-Based Antitumor Compound T21 Decreases Survivin Levels through Potent STAT3 Inhibition in Lung Cancer Models. *Biomolecules*, 9(8), 361.
- Meerson, A., Khatib, S., & Mahajna, J. (2021). Natural Products Targeting Cancer Stem Cells for Augmenting Cancer Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 13044.
- Mendonsa, A. M., Na, T.-Y., & Gumbiner, B. M. (2018). E-cadherin in contact inhibition and cancer. *Oncogene*, 37(35), 4769-4780.
- Merriel, S. W. D., Funston, G., & Hamilton, W. (2018). Prostate Cancer in Primary Care. *Advances in Therapy*, 35(9), 1285-1294.
- Mita, A. C. (2012). Cabazitaxel: ¿más que un nuevo taxano para el cáncer de próstata metastásico resistente a la castración? *Clin Cáncer Res*, 7
- Munawar Abbas, Farhan Saeed, Faqir Muhammad Anjum, Muhammad Afzaal, Tabussam Tufail, Muhammad Shakeel Bashir, Adnan Ishtiaq,

- Shahzad Hussain & Hafiz Ansar Rasul Suleria (2017) Natural polyphenols: *An overview, International Journal of Food Properties*, 20:8, 1689-1699.
- Murray, V., Chen, J., & Chung, L. (2018). The Interaction of the Metallo-Glycopeptide Anti-Tumour Drug Bleomycin with DNA. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1372.
 - Nagle, A., Hur, W., & Gray, N. (2006). Antimitotic Agents of Natural Origin. *Current Drug Targets*, 7(3), 305-326.
 - Nagle, A., Hur, W., & Gray, N. (2006). Antimitotic Agents of Natural Origin. *Current Drug Targets*, 7(3), 305-326.
 - Nanta, R., Kumar, D., Meeker, D., Rodova, M., Van Veldhuizen, P. J., Shankar, S., & Srivastava, R. K. (2013). NVP-LDE-225 (Erismodegib) inhibits epithelial–mesenchymal transition and human prostate cancer stem cell growth in NOD/SCID IL2R γ null mice by regulating Bmi-1 and microRNA-128. *Oncogenesis*, 2(4), e42-e42.
 - Niedzwiecki, A., Roomi, M. W., Kalinovsky, T., & Rath, M. (2016). Anticancer Efficacy of Polyphenols and Their Combinations. *Nutrients*, 8(9), 552.
 - Nygren, P. (2001). What is cancer chemotherapy? *Acta Oncologica*, 40(2-3), 166-174.
 - P. J. Morin, B. Vogelstein, and K. W. Kinzler, "Apoptosis and APC in colorectal tumorigenesis," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(15), 7950–7954, 1996.
 - Pandey, P., Khan, F., Seifeldin, S. A., Alshaghдали, K., Siddiqui, S., Abdelwadoud, M. E., Vyas, M., Saeed, M., Mazumder, A., & Saeed, A. (2023). Targeting Wnt/? -Catenin Pathway by Flavonoids: *Implication for Cancer Therapeutics. Nutrients*, 15(9), 2088.
 - Park, C. H., Hahm, E. R., Lee, J. H., Jung, K. C., & Yang, C. H. (2005). Inhibition of ? -catenin-mediated transactivation by flavanone in AGS gastric cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 331(4), 1222-1228.
 - Ponte, L. G. S., Pavan, I. C. B., Mancini, M. C. S., da Silva, L. G. S., Morelli, A. P., Severino, M. B., Bezerra, R. M. N., & Simabuco, F. M. (2021). *The Hallmarks of Flavonoids in Cancer. Molecules*, 26(7), 2029.
 - Puente Vázquez, Javier. "Papel de La Quimioterapia En La Secuenciación Del Cáncer de Próstata." *Farmacosalud*, 3 July 2017, farmacosalud.com/el-papel-de-la-quimioterapia-en-la-secuenciacion-del-cancer-de-prostata/. Accessed 25 Oct. 2021.
 - Rawla, P. (2019). Epidemiology of Prostate Cancer. *World Journal of Oncology*, 10(2), 63-89.
 - Ryu MJ, et al. Natural derivatives of curcumin attenuate the Wnt/beta-catenin pathway through down-regulation of the transcriptional coactivator p300. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008;377:1304-1308.
 - S. Chen, D. C. Guttridge, Z. You et al., "Wnt-1 signaling inhibits apoptosis by activating beta-catenin/T cell factor-mediated transcription," *The Journal of Cell Biology*, 152(1), 87–96, 2001.
 - Sanchez-Carranza, González-Maya, Razo-Hernández, Salas-Vidal, Nolasco-Quintana, Clemente-Soto, García-Arizmendi, Sánchez-Ramos, Marquina, & Alvarez. (2019). Achillin Increases Chemosensitivity to Paclitaxel, Overcoming Resistance and Enhancing Apoptosis in Human

- Hepatocellular Carcinoma Cell Line Resistant to Paclitaxel (Hep3B/PTX). *Pharmaceutics*, 11(10), 512.
- Schneider, Jeffrey A, and Susan K Logan. "Revisiting the role of Wnt/?-catenin signaling in prostate cancer." *Molecular and cellular endocrinology* vol. 462, Pt A (2018).
 - Sferrazza, G., Corti, M., Brusotti, G., Pierimarchi, P., Temporini, C., Serafino, A., & Calleri, E. (2020). Nature-derived compounds modulating Wnt/ -catenin pathway: A preventive and therapeutic opportunity in neoplastic diseases. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 10(10), 1814-1834.
 - Shan, B.-E., Wang, M.-X., & Li, R. (2009). Quercetin Inhibit Human SW480 Colon Cancer Growth in Association with Inhibition of Cyclin D 1 and Survivin Expression through Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Cancer Investigation*, 27(6), 604-612.
 - Signorelli, P., & Ghidoni, R. (2005). Resveratrol as an anticancer nutrient: Molecular basis, open questions and promises. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(8).
 - Song, Y., Ye, M., Zhou, J., Wang, Z. W., & Zhu, X. (2019). Restoring E-cadherin Expression by Natural Compounds for Anticancer Therapies in Genital and Urinary Cancers. *Molecular therapy oncolytics*, 14, 130-138.
 - Song, Y., Ye, M., Zhou, J., Wang, Z., & Zhu, X. (2019). Restoring E-cadherin Expression by Natural Compounds for Anticancer Therapies in Genital and Urinary Cancers. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 14, 130-138.
 - 53. Stepniak, E., Radice, G. L., & Vasioukhin, V. (2009). Adhesive and Signaling Functions of Cadherins and Catenins in Vertebrate Development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(5), a002949-a002949.
 - T. Zhang, T. Otevrel, Z. Gao et al., "Evidence that APC regulates survivin expression: a possible mechanism contributing to the stem cell origin of colon cancer," *Cancer Research*, 61(24), 8664–8667, 2001.
 - Tabata, M., Tsubaki, M., Takeda, T., Tateishi, K., Tsurushima, K., Imano, M., Satou, T., Ishizaka, T., & Nishida, S. (2020). Dasatinib reverses drug resistance by downregulating MDR1 and Survivin in Burkitt lymphoma cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 84.
 - Tarapore, R. S., Siddiqui, I. A., & Mukhtar, H. (2012). Modulation of Wnt/ -catenin signaling pathway by bioactive food components. *Carcinogenesis*, 33(3), 483-491.
 - Thomas, David. Por Tu Salud. 10 June 2020, www.excelsior.com.mx/trending/asi-desarrolla-el-cancer-resistencia-al-tratamiento/1387228. Accessed 25 Oct. 2021.
 - Tran, T. M., Demesa-Arevalo, E., Kitagawa, M., Garcia-Aguilar, M., Grimanelli, D., & Jackson, D. (2021). An Optimized Whole-Mount Immunofluorescence Method for Shoot Apices. *Current Protocols*, 1(4), e101.
 - V. Almendro, E. Ametller, S. García-Recio et al., "The role of MMP7 and its cross-talk with the FAS/FASL system during the acquisition of chemoresistance to oxaliplatin," *PLoS One*, 4(3), e4728, 2009.

- Vázquez, L., Castro, D., De León, J., & Beltrán, B. (2020). Inmunoterapia en cáncer: De los inicios al premio Nobel. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 37(1), 115-121.
- Weng, G., Zeng, Y., Huang, J., Fan, J., & Guo, K. (2015). Curcumin Enhanced Busulfan-Induced Apoptosis through Downregulating the Expression of Survivin in Leukemia Stem-Like KG1a Cells. *BioMed Research International*, 2015, 1-16.
- Wheatley, S. P., & Altieri, D. C. (2019). Survivin de un vistazo. *Revista de ciencia celular* 132(7), jcs223826.
- Wong, S. H. M., Fang, C. M., Chuah, L.-H., Leong, C. O., & Ngai, S. C. (2018). E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 121, 11-22.
- X. Wu, F. Luo, J. Li, X. Zhong, and K. Liu, "Tankyrase 1 inhibitor XAV939 increases chemosensitivity in colon cancer cell lines via inhibition of the Wnt signaling pathway," *International Journal of Oncology*, 48(4), 1333–1340, 2016.
- Yu, W. K., Xu, Z. Y., Yuan, L., Mo, S., Xu, B., Cheng, X. D., & Qin, J. J. (2020). Targeting β -Catenin Signaling by Natural Products for Cancer Prevention and Therapy. *Frontiers in pharmacology*, 11, 984.
- Yuan, L., Cai, Y., Zhang, L., Liu, S., Li, P., & Li, X. (2022). Promoting Apoptosis, a Promising Way to Treat Breast Cancer With Natural Products: A Comprehensive Review. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 801662.
- Yuan, Shengli et al. "Role of Wnt/ β -Catenin Signaling in the Chemoresistance Modulation of Colorectal Cancer." *BioMed research international vol. 2020 9390878*. 18 Mar. 2020.
- Zhao, H., Ming, T., Tang, S., Ren, S., Yang, H., Liu, M., Tao, Q., & Xu, H. (2022). Wnt signaling in colorectal cancer: Pathogenic role and therapeutic target. *Molecular Cancer*, 21(1), 144.
- Zhou Y.J., Guo Y.J., Yang X.L., Ou Z.L. Anti-Cervical Cancer Role of Matrine, Oxymatrine and Sophora Flavescens Alkaloid Gels and its Mechanism. *J. Cancer*. 2018;9: 1357–1364.
- Zhu, L., & Chen, L. (2019). Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 24(1), 40.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Secretaría de Docencia

Jefatura de Licenciatura en Farmacia

Cuernavaca, Morelos, 30 de octubre de 2023

FF/D/SD/JLF/14/2023

Asunto: VOTOS APROBATORIOS

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

P R E S E N T E

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 galato de etilo sobre la expresión y localización de β -catenina y E-cadherina en células PC3/PTX resistentes de cáncer de próstata**” presentado por la pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia **C. Sandra Hernández Sánchez (10010922)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado

Dra. Verónica Rodríguez López

Dr. Aldo Francisco Clemente Soto

M. en C. Martha Hernández Labra

Dra. Angélica Flores Flores

Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza

Firma electrónica



Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

M.P.D. REYNA AMERICA SERRANO LÓPEZ
Secretaría de Docencia de la Facultad de Farmacia
(Firma electrónica)

C.i.p. – Archivo digital
FSLs/bedm

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, Edificio 61.
Tel. (777) 329 70, 00, Ext. 3698 / licenciatura_ff@uaem.mx



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:2023-11-03 08:23:53 | Firmante

T4y/uvyBIZM9gWWF0DYbEFcLQJOf0LYNLAG5UzT9DDanPCsvAbjL2lrj47qdHmjBoNyCoRPdt2Ver1usS1uV9HAhaEOAFn7yKzfLeXOcBaXdiW0n+di2vrs4lVObcknGAPCq+J3
UGHJso/keZOoxwRmilm1/9EqwIHctBeBZe0BDnWB7wMlkHBknRCIZPU/3V6kJNimNWxwUIW8prlN786mN7IKSDhZSNHwA5OijvTLRTRHiuEIP1vhjW37fcS5GdwNBMdZu7Xa
8LeNxbjCvsjL2XrM4X3b30yEqHB+z6v2lpgd4F56d4KpNcJMHyKDIIE+rVYyyuz1o1LNSElyIA==

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



[UiYmjpMvf](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/A2nKZi5gLiQpUMNDvJEulcl90r7FPhSI>



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:2023-11-07 11:05:31 | Firmante

TbljY57qGGYJG04FPmBJged7JPOLrGcAQXgEL4FCLMKQfRKV7G1HzfF5zlxOa+1PMFfPVJksk0rIH7bqY9tCHfOS8PTciH3SURvz5eLP1cLdZkLvNEsPmm0CQFQndOONqnyP/8Z5nRMjLnT6hbALGgeK7DOehW5vYBelK1HXsaV75FKf8kse5AnT40yVff7JTHN46rp14SX01UVdlwVnBaLtiMxWFpe6cmeKrLE1/zFopTPvh5M/ggCjVLALyUreX2N4xrpyR3PNYICnzElixJM+SDPWYzX7LtiM7BSQitxv9ZZtQcbQ/3WC0h/Ev7uHLK+tjR2E1XCgFWD11tRQjg==

ALDO FRANCISCO CLEMENTE SOTO | Fecha:2023-11-07 11:16:51 | Firmante

nl4SmU0vosmHv6UaJsoVVTM8Nq+FBemG0HY8eufW0gB1OU7ZoL8tUOS3/5hR53aa+FEExrsQ2hi1n0+eudP8m5KuTrqJjUKEctMfFiKaBGQ/IApJsSMLV+5+RbvDiSsQZCtGdbbAG+lm/AKKQHWF8ackEVQeQDBbM/00mgGoqyX7G5ZHj4bKnfq1us+y5irFgp7Y+EnUhhcfoKwybJkwwz3wKGwariejMzgxorujD60Eoz+JAyp9e37Z+PoxmObB8xD5q2VWd60Gq7rZ3JE7B19NkepQ5C003IGiku+3KCZawoKkVODIE+eXJndGQPUMiiPiaFxf4jysXiTWdzWTQ==

MARTHA HERNANDEZ LABRA | Fecha:2023-11-07 14:40:13 | Firmante

rjo2rijtrqLd6TRAzFDp4PrhzOIOygdov2Rv+50S45v7PJN7DxO2YPngOhRvHdqAV81bazF48X407nK2EJtJNnzfanZitNoAJY7xh8+PxJVBLwyHCgIC36w9x3YnLuJYfqBHaXqNMs1Ua1hX1NrkI9+ZVb97e9db1gS8mGOkllkDr/rIqBcdaGmTMS1PWv/3yR0g9pnz8ci7WGOXrnckGWuZZfL7G0OgKJv46JutBVc6gkvbFMcl1iYBs93Lz4SwKC+yjNFcmfj0zJqSmEFJmwbHK1qwMY0Rc+mdF+WvKpmytoYYkRRdir/Mjfc10qeNBkFioKRHXh9xi52qPRg==

ANGELICA FLORES FLORES | Fecha:2023-11-07 18:25:35 | Firmante

iP6f4c0ihx71AW6Egjp/8GXhqs6qCa9VzV3P0qUpsieVcc9Otfco8LKav8+Auf2ygzK2i837Mv1Dc+xx+Ui9dPA3PJZti/AniCrIHBCbLr8bOIn/JwQ/YkkcsztN/G3kcENwYILrTe0pMcO1wOhKTG71fIou/AnAFIX5zX48vTQW9GhBQ05BSDWCnI+aQUyOURKLSqZ96Lz5gwA7PUOY+0mCbz488Lefu/BMCBCj7tegH0aWUYBBOetB8s+zUw1EYb8Qhwec+6h25JOF8Epc8dzl/Xd5TQfSicB+4HpTWWjN3P4CQuTMd8EzLQP2OwpgAPWRmNf5NDildkQpyxw==

VERONICA RODRIGUEZ LOPEZ | Fecha:2023-11-14 17:54:13 | Firmante

FD+zMmR9v0pM4yIRwnhlp6LN9VRd7kgum31GAuiUxjV8BLeoRA7PzyezulwShik94Bgi971933CBL0+8nHKvC+v5ESLOWJcamOLJQQH4UYi+Wlzf3w3au6kCps1S8dR9HrT53hJMLmtrDU81URhi9Zzwm1f4K4t35/+qfLCM5pwSEb3Qn2KlJcVvIAO4FNUmsskMPuGqjezwew2nc85ltwu1aHK8zPNK3Q3eQoamcRQqoeLnDDUylo6CixuYcqQ5LjxFvJM+NAhLSCIL6dgpLmD8fwgk/V9wS8N7lqghoMjXIVPKxA8LNHRApr7M6zh7pjfl7dhiHwzCaZdZkQ==

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



7HcfDvzML

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/F3aZiherZ8ID3YWYqf52Dr66787ly17G>

