

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA SINERGIA DE 2 CASIOPEÍNAS
(III-ia y IIgly) Y OTROS FÁRMACOS COMERCIALES EN LÍNEAS
TUMORALES HUMANAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA

PRESENTA:

NALLELY CHIAPA ZAVALA

MÉXICO D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente	Prof. Lena Ruiz Azuara
Vocal	Prof. Homero Hernández Montes
Secretario	Prof. Celedonio Gómez Ruiz
1er. Sup.	Prof. Margarita Chávez Martínez
2do. sup.	Prof. José Ignacio Páramo Ramírez

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Universidad Nacional Autónoma de México. Laboratorio de Cultivo Celular, Conjunto
“E”, Facultad de Química.

Asesor: QFB. Celedonio Gómez Ruiz

Firma: _____

Supervisor técnico: M. en C. Ma. Isabel Gracia Mora

Firma: _____

Sustentante: Nallely Chiapa Zavala

Firma: _____

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por haberme brindado la oportunidad de ser parte de ésta maravillosa casa de estudios y por dejarme llevar la mejor experiencia de vida, tanto académica, profesional como personal.

A la M. en C. Isabel Gracia, por todo el apoyo, las enseñanzas, el tiempo, la confianza y la oportunidad brindada de ser parte de este proyecto.

A la Dra. Lena Ruiz, por compartir sus conocimientos, tiempo, sencillez y la confianza brindada, muchas gracias.

Al Q.F.B. Celedonio Gómez gracias por las enseñanzas, la paciencia y el tiempo invertido en mi formación.

Maestro Homero, por haberme brindado su apoyo, tiempo, dedicación y por las experiencias compartidas conmigo, muchas gracias!.

A mis compañeros dentro de la UNEXA, gracias por haber compartido sus conocimientos, el tiempo y por regalarme sus sonrisas.

A todos mis maestros que contribuyeron en mi formación tanto académica como personal, gracias por haber sido parte en mi vida.

Al proyecto CONACYT-Salud 2002-C01-7677 por el apoyo económico brindado.

*A Irma y Daniel, mis padres,
gracias por apoyarme a cumplir este sueño,
con todo el amor, paciencia, dedicación
y confianza brindada en todo momento de mi vida.*

DEDICATORIAS

Adrian, mi gran ejemplo de perseverancia, dedicación y entrega, por estar a mi lado siempre, gracias hermanito, te quiero!.

Dany, gracias por tu apoyo, tu cariño y tu compañía en los mejores y más difíciles momentos, por tu confianza y tu sonrisa incondicional, muchas gracias, te quiero hermano.

Mamá, fuiste el más importante cimiento en la construcción de este sueño, soy tu reflejo, esto es tuyo.

Papá, siempre me has enseñado que la grandeza de la vida está en lo más pequeño, gracias por enseñarme a luchar por lograr lo que quiero y no dejarme vencer.

Magdalena y Cesar gracias por el apoyo, la confianza y sobretodo por regalarme un motivo más para continuar mi camino, te quiero pirinola.

A toda mi familia, por el cariño, el apoyo, la confianza y por creer en mi, gracias.

Mi gran amigo, confidente y cómplice, por ayudarme a realizar mis sueños, por enseñarme a confiar en mí, por apoyarme y no dejarme vencer y sobretodo por seguir en mi vida, gracias Mario, te quiero.

Sadot, por todos los gratos momentos compartidos desde que nos conocimos y por demostrarme tu gran amistad siempre, muchas gracias.

Alberto, porque a pesar del tiempo y la distancia podemos seguir con nuestra amistad, gracias por tu cariño.

Francisco, mi querido colega, gracias por alentarme y apoyarme en todo momento, por tu gran amistad y porque sigamos caminando juntos.

Bere y Jimena, por iluminar mi vida con su cariño y amistad, las quiero mucho.

Mis amigos de la *jardinera*, con quienes compartí lo mejor y lo peor de mí, gracias a todos y cada uno de ustedes por estar en el momento necesario en mi vida, los quiero y les deseo lo mejor.

Ana, por tu ayuda, apoyo, confianza y por hacer pasar los peores momentos de la mejor manera con tu amistad, muchas gracias niña.

Peke, muchas gracias por tu apoyo, cariño y amistad, espero sigamos juntas.

Monica Jaramillo, Laura Sandoval e Ingeniero Rodolfo Jimenez, gracias por haber colaborado con su dedicación, entrega, confianza y apoyo para cumplir este sueño, por siempre los recordaré.

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Antecedentes.....	2
2.1 Tumores.....	2
2.2 El cáncer en el mundo.....	3
2.3 Situación del cáncer en México.....	4
2.4 Tipos de cáncer.....	5
2.4.1 Cáncer cérvico-uterino.....	5
2.4.2 Cáncer de mama.....	6
2.4.3 Cáncer de pulmón.....	7
2.4.4 Cáncer de colon.....	8
2.4.5 Glioma (neoplasia del Sistema Nervioso Central).....	9
2.5 Tratamientos contra el cáncer.....	10
2.5.1 Cirugía.....	10
2.5.2 Radioterapia.....	10
2.5.2.1 Modalidades fundamentales de la radioterapia.....	11
2.5.2.2 Tipos de radioterapia.....	11
2.5.2.3 Efectos secundarios.....	11
2.5.3 Hormonoterapia.....	12
2.5.3.1 Modalidades de la hormonoterapia.....	12
2.5.4 Inmunoterapia.....	12
2.5.5 Quimioterapia.....	13
2.5.5.1 Tipos de quimioterapia.....	13
2.5.5.2 Objetivos del tratamiento.....	14
2.5.5.3 Principios farmacológicos de la quimioterapia.....	14
2.5.5.4 Bases de la poliquimioterapia.....	14

2.6 Niveles de los tumores.....	15
2.6.1 Metástasis.....	16
2.7 Esquemas de tratamiento.....	17
2.7.1 Cáncer de cérvix.....	17
2.7.2 Cáncer de colon.....	19
2.7.3 Cáncer de pulmón.....	20
2.7.4 Cáncer de mama.....	22
2.8 Fármacos utilizados.....	23
2.8.1 Cisplatino.....	23
2.8.2 Carboplatino.....	24
2.8.3 Oxaliplatino.....	26
2.8.4 Busulfan.....	27
2.8.5 Casiopeínas.....	28
3. Planteamiento del Problema.....	29
3.1 Objetivo.....	29
4. Material y Métodos.....	30
4.1 Metodología.....	30
4.2 Líneas tumorales humanas utilizadas.....	30
4.3 Condiciones experimentales.....	31
5. Resultados.....	32
5.1 Resultados en HeLa (carcinoma cérvico-uterino).....	32
5.2 Resultados en CaLo (carcinoma cérvico-uterino).....	33
5.3 Resultados en HCT-15 (carcinoma de colon).....	35
5.4 Resultados en MCF-7 (carcinoma de mama).....	36
5.5 Resultados en U-373 (glioma).....	38

5.6 Resultados en SiHa (carcinoma cérvico-uterino).....	39
5.7 Resultados en InBl (carcinoma cérvico-uterino).....	41
5.8 Resultados en SK-LU-1 (carcinoma de pulmón).....	42
5.9 Resultados de actividad de las casiopeínas.....	44
6. Análisis de resultados.....	45
7. Conclusiones.....	46
8. Bibliografía.....	47

La OMS, prevé que una de cada 4 personas en los países desarrollados padecerá algún tipo de cáncer a lo largo de su vida. El cáncer es un problema de salud pública y es la segunda causa de muerte en adultos en el mundo occidental después de las enfermedades cardiovasculares. Dentro de diez años será la primera causa de fallecimiento en el país y dejará en segundo y tercer sitio en ese rubro a los problemas cardiovasculares y a la *diabetes mellitus*.

El cáncer es un enemigo silencioso porque, al inicio, en casi todas sus formas es asintomático. Cuando se sabe de su existencia, es ya muy tarde. Y lo peor de todo: casi siempre se puede prevenir, con un diagnóstico temprano.

En la actualidad se realizan esfuerzos para encontrar tratamientos útiles contra el cáncer, y aunque la quimioterapia ocupa un lugar importante, existen aún muchos tipos de tumores totalmente refractarios a los fármacos actualmente utilizados, además de que en la mayoría de los casos producen efectos colaterales muy severos.

Así, en la búsqueda de sustancias de uso farmacológico, la Dra. Lena Ruiz Azuara, desarrolló un grupo de compuestos de coordinación de cobre (II), denominados Casiopeínas[®], de los cuales actualmente se han sintetizado más de 100 formas, muchas de las cuales han demostrado actividad antineoplásica tanto *in vivo* como *in vitro*. (1)

Las células que se encuentran dentro de un organismo pueden crecer debido a que reciben todos los nutrientes necesarios para su desarrollo. Las células tumorales pueden crecer *in vitro* empleando un medio de cultivo que contenga todos los elementos necesarios para su crecimiento, como son: fuente de carbono, fuente de nitrógeno y cofactores, aminoácidos esenciales y vitaminas; así como oligoelementos y factores de crecimiento que aporta el suero fetal bovino.

El cultivo de tejidos se refiere al establecimiento y mantenimiento de cultivos derivados a partir de células disociadas enzimáticamente del tejido original, como cultivo primario o como una línea celular.

Con el presente trabajo se propone la evaluación de actividad antineoplásica de las Casiopeínas que han mostrado ser activas. Por lo que se busca probar el efecto de la combinación entre ellas, además con otros agentes quimioterapéuticos de uso comercial, mediante el empleo de los ensayos *in vitro* exigidos dentro del panel de evaluación surtido por el *National Cancer Institute*.

Para determinar la inhibición de la proliferación celular de las líneas tumorales humanas se realizaron experimentos independientes por triplicado, probando la posible sinergia (mayor actividad en combinación) de dos casiopeínas con cuatro fármacos comerciales en diferentes concentraciones, determinando la concentración inhibitoria media (CI₅₀), así como la viabilidad en combinación y solas. (2, 3)

2.1 Tumores

Actualmente se acepta que el cáncer es una enfermedad genética, resultado del cúmulo de alteraciones en un conjunto de genes que pertenecen a dos grandes grupos, los oncogenes y los genes supresores de tumores, cuyos productos ejercen funciones básicas para el buen funcionamiento, crecimiento y muerte de todas nuestras células.

Las células de los tumores malignos presentan dos características que las distinguen de las normales:

- 1) se reproducen de manera descontrolada y
- 2) son capaces de invadir y colonizar tejidos y órganos distantes, en lugares donde normalmente no pueden crecer.

La combinación desafortunada de estas características es la que hace tan peligrosa y mortal a la mayoría de las formas del cáncer.

Los tumores se clasifican generalmente según el origen de las células de donde surgen y se agrupan en:

carcinomas, aquellos cuyo origen son las células epiteliales;

sarcomas, cuyo origen son las células del tejido conectivo o conjuntivo y las fibras musculares (tejidos blandos), y

aquellos que no se ajustan a ninguna de las dos categorías anteriores y que incluyen la leucemia derivadas de células hematopoyéticas y los tumores del sistema nervioso.

Se han establecido distintas etapas en el desarrollo de los tumores:

I *Iniciación:* daños en el material genético.

II *Promoción:* algunas células con material genético dañado crecen y por ende expanden materialmente el número de clonas con capacidad para adquirir más daños y finalmente, generar células tumorales.

III *Progresión:* generación de células que han acumulado suficientes daños para formar un tumor. (4, 5)

2.2 El cáncer en el mundo.

Supervivencia.

Los estudios de supervivencia a nivel mundial ofrecen sólo estimaciones, y se trata siempre de una supervivencia global, sin tener en cuenta edad, tipo tumoral o fase de la enfermedad, por lo que sólo deben considerarse orientativos.

Hay grandes diferencias en la supervivencia entre países más o menos desarrollados. Se debe a que en países en vías de desarrollo son más frecuentes los tumores más letales (pulmón, estómago, esófago e hígado), y además los tratamientos son más precarios.

Los diferentes tipos de cáncer con peor pronóstico (en todos los países) con menos del 20% de supervivencia a los 5 años, son los de pulmón, esófago, estómago e hígado.

Aquellos con mejor pronóstico (en países desarrollados), con más del 70 % de supervivencia a los 5 años, son los de próstata, mama y cuerpo de útero.

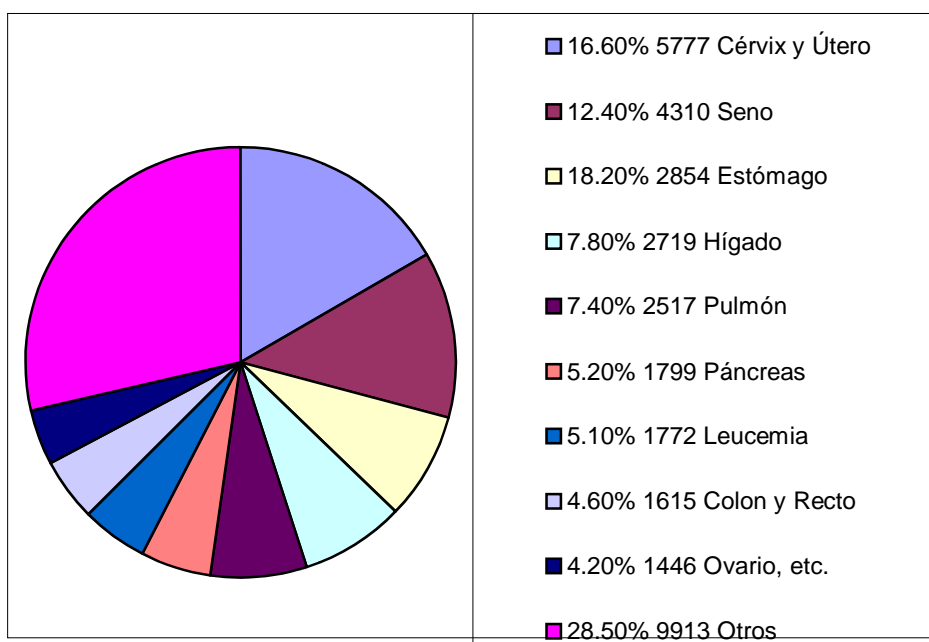
Los tumores colorrectales tienen una supervivencia de alrededor del 55% en países desarrollados

En general, las cifras de supervivencia son mejores en Norteamérica, Japón y Europa Occidental. (6)

2.3 Situación del cáncer en México

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer cérvico-uterino es la segunda causa de mortalidad femenina en todo el mundo. Mientras que en México es la primera causa de muerte en mujeres en edad reproductiva y constituye un problema importante de salud pública. La mayoría de las enfermas con este tipo de cáncer son diagnosticadas en estadios avanzados.

Actualmente, el uso de quimio-radioterapia concomitante con cisplatino se considera el tratamiento estándar para este tipo de cáncer. (7)



Mortalidad en mujeres con cáncer en México para el año 2002. (8)

Causas de Muerte

Mexicanas

- Cérvico-uterino **13.5%**
- Mama **13.3%**
- Hígado y vías biliares **8.1**
- Tráquea, bronquios y pulmón **7.1%**
- Estómago **7.1%**

Mexicanos

- Tráquea, bronquios y pulmón **15.5%**
- Próstata **15.2%**
- Estómago **9.4%**
- Hígado y vías biliares **7.6%**
- Leucemia **6.3%**. (9)

2.4 Tipos de cáncer

2.4.1 El cáncer cérvico-uterino

Es un problema de salud a nivel mundial. En México es la primera causa de muerte por cáncer en edad reproductiva y constituye un problema importante de salud pública. En México mueren al año más de 4 mil mujeres por este mal, según datos de 2004 del INCAN, es decir 12 al día.

La mayoría de las enfermas con este tipo de cáncer son diagnosticadas en estadios avanzados, por lo tanto la radioterapia es la modalidad terapéutica mas utilizada. Actualmente, el uso de quimio-radioterapia concomitante basada en cisplatino se considera el tratamiento estándar respaldado consistentemente en los resultados de varios estudios aleatorizados y analizados.

A pesar del avance en nuevas terapias, los resultados clínicos siguen estando lejos de ser óptimos, por lo que necesariamente nuevas modalidades de tratamiento deben ser investigadas. Entre otros, una estrategia lógica es combinar la radiación con nuevos radiosensibilizantes.

Tratamiento de etapas tempranas del cáncer cérvico-uterino

El tratamiento recomendado para estadio 1A1 es local, ya sea conización o histerectomía total, dependiendo del deseo de la paciente de permanecer fértil, mientras que para las etapas 1A2 se recomiendan procedimientos radicales incluyendo linfadenectomía pélvica, debido a que aproximadamente el 8% presentan ganglios pélvicos positivos. Dado que muchas mujeres en esta etapa de la enfermedad desean preservar la función reproductiva, la traquelectomía radical se ha convertido en una opción para estas pacientes.

En el tratamiento quirúrgico de estadios tempranos, el uso de la radioterapia adyuvante o de la quimiorradiación está determinado por la presencia en la pieza quirúrgica o la combinación de factores de riesgo intermedios (invasión vascular o linfática, tumor de más de 2 cm e invasión profunda al estroma cervical) o de factores de riesgo altos (ganglios pélvicos positivos, infiltración a parametrios y márgenes quirúrgicos positivos). (10-15)

2.4.2 El cáncer de mama

Es una de las principales causas de muerte en casi todas las sociedades, a excepción del cáncer de cérvix cuyo índice de mortalidad es preponderante en sociedades poco desarrolladas.

Actualmente en el mundo hay un millón 135 mil mujeres con cáncer de mama. El mayor número de decesos por cada 100 mil mujeres se observa en América del Norte.

En México ocupa el segundo lugar respecto al tipo de tumor más mortal, sin embargo, las proyecciones apuntan a que dentro de una década ocupará el primer lugar.

Algunos de los factores de riesgo son la herencia, no haber tenido hijos o tenerlos después de los 35 años, ser mayor de 40 años o encontrarse en etapa postmenopausia, tener un nivel socioeconómico alto, obesidad, alto consumo de carnes rojas y el uso de anticonceptivos orales por más de una década. El nivel económico alto se asocia con el elevado consumo de carnes rojas, grasas saturadas y el acceso al alcohol y el cigarro, que recientes investigaciones han revelado son determinantes para la aparición del cáncer mamario.

La mortalidad por cáncer de mama no parece ir en descenso, como pudiera esperarse, a pesar de contar con métodos cada vez más adecuados de diagnóstico, entre los que se encuentra la mastografía, que puede hacer un diagnóstico presuntivo de lesiones tempranas y por medio de estudios de transmisión genética en pacientes con antecedentes familiares de cáncer de mama. La etiología de esta neoplasia se desconoce; sin embargo, se ha visto que la aplicación de dosis bajas de radioterapia y la participación de algunos retrovirus oncogénicos son capaces de inducir transformación maligna en la glándula mamaria. Entre las causas de predisposición se consideran factores genéticos, ambientales, hormonales, socio-biológicos, fisiológicos y nutricionales.

Dentro de las causas de predisposición, están los factores genéticos que demuestran investigaciones realizadas que las mujeres con familiares de primer grado que han padecido cáncer de mama tienen un riesgo 2 a 5 veces mayor que la población general de padecer este mal.

Las diferencias geográficas en la incidencia del cáncer de mama, que parecen modificar su riesgo en poblaciones migratorias, establece la importancia de los factores ambientales para desarrollar el cáncer de mama; entre éstos sobresalen los dietéticos. Se sugiere que las dietas con alto contenido de grasas saturadas y calorías, así como la obesidad pueden ser adyuvantes en la génesis del cáncer de mama.

Por último, una dieta con bajo contenido en calorías es recomendable, pero no es una garantía de que la paciente esté protegida del riesgo de desarrollar cáncer de mama.

Existen pruebas bien definidas con respecto a la regulación hormonal del cáncer de mama. Se ha observado que las mujeres que se embarazan muy jóvenes o las que se someten tempranamente a ooforectomía, disminuyen el riesgo de desarrollar este mal; mientras que las mujeres con menopausia tardía y menarca temprana presentan un riesgo mayor para desarrollarlo.

En la historia del tratamiento quirúrgico del cáncer de mama Halsted ocupa un lugar preponderante, con la introducción de su procedimiento de mastectomía. A la fecha, las pacientes con tumores < 1cm teóricamente son candidatas a procedimientos quirúrgicos conservadores con una evaluación cuidadosa. En el caso de que se efectúen procedimientos quirúrgicos limitados, deben acompañarse de radioterapia, sobre todo a causa del índice elevado de recurrencias. De manera semejante, los pacientes con grandes lesiones pueden beneficiarse del manejo combinado de cirugía con quimioterapia y radioterapia. La radioterapia se utiliza en enfermedad localizada, avanzada o metastásica. (14, 15, 16)

2.4.3 El cáncer pulmonar

Es uno de los principales problemas de salud mundial, en especial en países desarrollados.

Es el tumor más mortal, y está entre los más dolorosos, invasivos y difíciles de erradicar. Es asintomático y sus primeros signos aparecen cuando el cáncer ya está presente.

Su principal causa, en un 9 por ciento, es el hábito de fumar, aunque también algunas condiciones laborales (pero en un 10 al 15 por ciento) como a las que se enfrentan los mineros.

Hay una estrecha evidencia en el efecto dosis-respuesta por exposición al tabaco. Así, evitar la exposición y consumo de tabaco es uno de los objetivos mayores que previenen la causa de la mortalidad principal por el cáncer de pulmón, así como de cabeza, cuello y otras enfermedades relacionadas.

El riesgo de cáncer de pulmón aumenta con el número de cigarros fumados, el tiempo fumando, edad al empezar a fumar, grado de inhalación, contenido de alquitrán, de nicotina y uso de cigarros sin filtro.

De igual manera el fumador pasivo, entre más tiempo se exponga al humo de tabaco, tiene mayor riesgo de padecer cáncer de pulmón y otras enfermedades relacionadas.

El aumento del riesgo de padecer cáncer de pulmón aumenta con la exposición a carcinógenos como asbestos, radón, hidrocarburos policíclicos aromáticos, cromo, níquel y compuestos arsénicos inorgánicos.

La mortalidad por cáncer de pulmón es muy alta, a pesar de los muchos regímenes de tratamiento, con sólo alrededor de 13% de supervivencia después de cinco años. Con estas desalentadoras cifras, aun en las etapas tempranas, las medidas más eficaces deben dirigirse a la prevención de la enfermedad. (14-16)

2.4.4 El carcinoma colorrectal

Ocupa el cuarto lugar en frecuencia en Estados Unidos de Norteamérica y es la segunda causa de muerte debido a cáncer. En ese país, durante el año 2000 se registraron alrededor de 130 000 casos nuevos. En México ocupa el segundo lugar en frecuencia de los cánceres del tubo digestivo. Se presenta principalmente en la sexta y séptima décadas de la vida. Es más común en países industrializados donde la dieta es rica en colesterol y pobre en fibra. En el proceso de carcinogénesis del colon y del recto están implicadas todas las grasas saturadas (monoinsaturadas y poliinsaturadas).

Por sus características clínicas y genéticas el cáncer colorrectal se divide en:

1) Esporádico, 2) familiar, 3) hereditario y 4) relacionado con enfermedades inflamatorias como la colitis ulcerativa crónica inespecífica (CUCI) y la enfermedad de Crohn.

La prevención primaria es la identificación y erradicación de los factores etiológicos para el desarrollo de un cáncer colorrectal. Estos factores pueden ser del ambiente, genéticos, o ambos. Una estrategia para poder efectuar esta prevención es la modificación de los factores dietéticos y la manipulación genética.

La prevención secundaria es el tratamiento de la enfermedad en las fases premalignas antes de la conversión a la malignidad, colectomía total o proctocolectomía.

Las metas del tratamiento quirúrgico son obtener un control local adecuado del tumor y restablecer la función. Los parámetros de evaluación de estas metas son: 1) tasa de recurrencia local, 2) evaluación de la función urinaria sexual, intestinal y anal y 3) incremento de la supervivencia. (14)

2.4.5 Los gliomas (neoplasias del Sistema Nervioso Central)

Los gliomas se derivan de la neuroglia, o tejido de sostén, constituidos por astrositos, oligodendrocitos y células endimarias, de los que se derivan los astrocitomas, los oligodendrogliomas y los endimomas, respectivamente.

Los astrocitos son células finas que rodean y envuelven tanto las neuronas como los capilares sanguíneos con estructuras especializadas llamadas pies astrocíticos. Estas estructuras conforman el sustrato anatómico de la unidad funcional que se conoce como barrera hematoencefálica (BHE).

Los oligodendrocitos contribuyen al sostén de las neuronas y sus prolongaciones axónicas o cilindroejes dentro del SNC, las protegen y aíslan con capas múltiples de mielina, cuya función principal es mantener la capacidad conductiva del impulso nervioso.

Las células endimarias constituyen el epitelio que recubre el sistema ventricular; los ventrículos laterales, el tercer ventrículo y el cuarto ventrículo, a través de los cuales circula el líquido cefalorraquídeo (LCR). Asimismo conforman el conducto endimario en el cordón medular. De ahí que puedan encontrarse tanto neoplasias intraventriculares en el encéfalo como endimomas medulares.

La aplicación de nuevos métodos de imagen del SNC produjo grandes cambios en el diagnóstico de los gliomas. Desde mediados del decenio de 1970 con la tomografía computarizada (TC) a partir de mediados del decenio de 1980 con las imágenes por resonancia magnética (RM), se observa en forma más temprana y con mayor exactitud la localización y la extensión de los gliomas. Otras modalidades de imagen con radionucleótidos, como la tomografía por emisión de positrones (TEP) y la tomografía por emisión de fotón único (TCFU), son útiles para distinguir el tejido neoplásico de la necrosis postratamiento. En breve la espectroscopia por RM aportará información de la actividad metabólica en el tejido tumoral.

Los principales tratamientos para los gliomas son: Cirugía, radioterapia y quimioterapia.
(14)

2.5 Tratamientos contra el cáncer

En la actualidad los fármacos anticancerosos tienden a utilizarse en una fase más temprana del tratamiento, a menudo junto con radiación o cirugía; es entonces cuando los tumores son más curables y el paciente tiene mayor capacidad de tolerar el tratamiento.

Las terapéuticas oncológicas actuales son multidisciplinarias, con múltiples métodos, solos o combinados, siendo la cirugía temprana el método con mayor tasa de curaciones.

Las estrategias más comúnmente disponibles para realizar terapéutica oncológica son:

Cirugía, Radioterapia, Hormonoterapia, Inmunoterapia, Quimioterapia

2.5.1 Cirugía

Los diferentes tipos de cirugías oncológicas son:

1. Diagnóstica: Trata de establecer el diagnóstico histológico mediante la toma de una biopsia con diferentes técnicas, muchas veces guiadas por estudios por imágenes como la ecografía o la tomografía axial computada (TAC).
2. Radical o curativa: Es la extirpación total y definitiva de un tumor localizado y de su drenaje linfático regional.
3. Paliativa: Está dirigida a solucionar complicaciones provocadas por tumores irresecables como son cuadros dolorosos o compresivos.
4. De las recidivas: Se indica en pacientes que desean saber la naturaleza de una nueva lesión, para realizar estudios específicos como por ejemplo receptores hormonales, extirpar masas recidivantes de crecimiento lento, ante sospecha de recidivas.
5. De las metástasis: Indicada solo en ciertos tipos de tumores que presentan una sola metástasis accesible quirúrgicamente.

2.5.2 Radioterapia

La acción biológica de la radioterapia se basa en que las radiaciones ionizantes presentan la capacidad de producir radicales libres al interactuar con la materia y ceder la energía que vehiculizan, produciendo roturas de enlaces en moléculas biológicas, siendo la más sensible el DNA. Si producen inactivación celular se denomina “daño letal”, y si producen lesiones más o menos reparables se denomina “daño subletal”.

Inicialmente la unidad de medida empleada era el *rad* (radiation absorbed dose) que equivale a 100 ergs por gramo de tejido. Actualmente se emplea el Gray, que equivale a 100 rads.

2.5.2.1 Las modalidades fundamentales de radioterapia son:

1. Externa: Radiación producida por un generador (bomba de cobalto, aceleradores lineales) y dirigido a una región específica del cuerpo.
2. Braquiterapia: Radioterapia a corta distancia mediante la inserción de fuentes radiantes en el seno del tumor (braquiterapia intersticial) o en cavidades (braquiterapia endocavitaria).
3. Radioterapia metabólica: Administración de isótopo vía oral o endovenosa. Se aprovecha el tropismo por ciertos órganos como por ejemplo el yodo 131 en tiroides.

2.5.2.2 Según sus indicaciones la radioterapia es de varios tipos, que puede ser:

1. Radical: Se utiliza en neoplasias de radiosensibilidad moderada o alta. Puede asociarse a quimioterapia previa (neoadyuvante) o simultánea (radioquimioterapia).
2. Complementaria: Pre o postoperatoria para disminuir el riesgo de recidiva local o regional.
3. Paliativa: Disminuye los síntomas de cánceres localmente avanzados e irresecables o de sus metástasis. Se consiguen efectos antiálgicos, descompresivos o hemostáticos.

2.5.2.3 Los efectos secundarios se clasifican en:

1. Precoces: Se caracterizan por reacciones inflamatorias agudas de los órganos irradiados (epitelitis, mucositis, neumonitis) y cursan con la sintomatología característica (disfagia, disnea, diarrea).
2. Tardíos: Son más graves por ser irreversibles como la xerostomía, fibrosis pulmonar, estenosis intestinal, rectitis, cistitis, etc.

2.5.3 Hormonoterapia

Es un tratamiento paliativo eficaz en cánceres hormonodependientes como los tumores de mama o próstata.

2.5.3.1 Las modalidades de hormonoterapia son:

A- Terapéutica ablativa (cirugía endócrina): Se basa en la extirpación de órganos endócrinos como la ovariectomía quirúrgica o radiante y la orquiectomía quirúrgica.

B- Terapéutica aditiva: Se basa en la administración de sustancias exógenas que modifican el ambiente tumoral como los estrógenos (dietilestilbestrol) en cáncer de próstata, derivados de la progesterona (medroxiprogesterona o megestrel) en cánceres de mama, endometrio, próstata y riñón, y glucocorticoides en hemopatías malignas.

C- Terapéutica competitiva: Impiden la acción de determinadas sustancias bloqueando la acción de determinados receptores por diferentes mecanismos. En este tenemos los antiestrógenos (tamoxifeno), los antiandrógenos (ciproterona, flutamida, etc.), inhibidores de la aromatasas (aminoglutetimida).

2.5.4 Inmunoterapia

Tienen el objetivo de estimular las respuestas inmunológicas del huésped contra el tumor.

Se utilizan:

1. Anticuerpos monoclonales: contra el antígeno CD20, contra el receptor HER2, etc.
2. Citocinas (interferón, interleucinas, factor de necrosis tumoral).
3. Terapia celular adoptiva: células efectoras autólogas, se activan, se expanden *ex vivo*, y se reinfunden al paciente como células activadas asesinas contra determinadas células (LAK -lymphokine-activated cells).
4. Vacunas tumorales: Inmunoterapia específica que se encuentra en investigación.

2.5.5 Quimioterapia

Consiste en la administración de drogas citostáticas que impiden la reproducción de células cancerosas. Se clasifican en varios grupos:

- Agentes alquilantes: derivados de la mostaza nitrogenada (melfalán, ciclofosfamida, busulfán, clorambucilo), procarbazona, temozolamida, mitomicina C.
- Platino y sus análogos: cisplatino, carboplatino, oxaliplatino.
- Antimetabolitos: Antifólicos (metotrexate, raltitrexed), antagonistas de las purinas (6-mercaptopurina, 6-tioguanina), antipirimidínicos (5-fluoruracilo, 5-fluorodesoxiuridina, 5-fluoruridina, ftorafur-uracilo).

- Inhibidores de la topoisomerasa:
 - 4.1 inhibidores de la topoisomerasa I (irinotecan),
 - 4.2 inhibidores de la topoisomerasa II (epidofilotoxinas como el VM-26 y el VP-16
 - 4.3 derivados antraciclínicos como la adriamicina, daunorrubicina y mitoxantrona).
- Agentes antimicrotúbulos: Alcaloides de la Vinca (vincristina, vinblastina, vindesina, vinorelbina), derivados del tejo (taxol, taxotere).
 - Sustancias diversas: bleomicina, L-asparaginasa, actinomicina-D.

2.5.5.1 Los diferentes tipos de quimioterapia son:

A- Complementaria: Su objetivo es eliminar las metástasis subclínicas en el momento del primer tratamiento. Se debe realizar inmediatamente después del tratamiento local de erradicación.

B- Neoadyuvante: Se realiza antes de la cirugía de extirpación tumoral.

C- Alternante: Se realiza cuando un cáncer presenta dos o más subpoblaciones celulares con distinta sensibilidad a los citostáticos.

D- Local o dirigida: Tiene el fin de aumentar la eficacia y disminuir la toxicidad (intraarterial, intrapericárdica, intratecal, intrapleurales, intraperitoneal, etc.)

Los efectos secundarios de la quimioterapia son producidos por las características fisicoquímicas y por el efecto citolítico de las drogas utilizadas. Los más importantes y frecuentes son:

- Nauseas y vómitos
- Mielodepresión
- Neutropenia febril
- Alopecia
- Mucositis
- Diarrea, entre otros.

2.5.5.2 Objetivos del tratamiento del cáncer con quimioterapia:

-Evitar que las células cancerosas se multipliquen, invadan, metastatizen y finalmente maten al hospedero (paciente)-Una proporción de células muere debido al efecto directo del fármaco.

-La quimioterapia puede desencadenar la diferenciación o bien la apoptosis.

-Ya que solo muere una proporción de células deben utilizarse dosis repetidas de quimioterapia (ciclos de QT).

2.5.5.3 Principios farmacológicos de la quimioterapia.

Los principios farmacológicos generales de la quimioterapia se deben considerar por el médico, en seleccionar el manejo de agentes anticancerosos, incluyendo sus mecanismos de acción, de absorción, de distribución, del metabolismo y de excreción. Cada uno de estos factores puede influir en la eficacia y/o toxicidad de la quimioterapia, y puede ser de importancia particular en el desarrollo de los regímenes de la combinación.

2.5.5.4 Bases de la poliquimioterapia

Skipper demostró que los citostáticos siguen una cinética de primer orden (destruyen una fracción constante de células), por lo que en el mejor de los casos pueden destruir el 99% de las células tumorales. Por esta razón, un solo citostático jamás puede curar un proceso neoplásico, sino que debe asociarse como mínimo a otro.

Bruce demostró que los citostáticos son más activos en células con un índice de proliferación elevado, por lo que deben utilizarse tandas breves, discontinuas, y a dosis elevadas (10, 11, 12, 13).

Las dosis utilizadas siempre deben ser la máxima tolerada (DMT), que es la que produce el máximo efecto tumoral posible con una morbilidad reversible.

La poliquimioterapia se rige según los criterios de Carter, en los que los citostáticos combinables deben presentar las siguientes características:

- Poseer un mecanismo de acción y una toxicidad distintos;
- Todos se deben utilizar en la DMT;
- Se elegirán aquellos que desde el punto de vista experimental hayan demostrado sinergia (potenciación de efectividad).

Por lo expresado anteriormente, la poliquimioterapia ha superado ampliamente la monoterapia. (17, 18, 19)

2.6 Niveles de los tumores

Existen cinco niveles considerados internacionalmente, que tienen una relación directa con el comportamiento del tumor, éstos son los siguientes:

Nivel I. Las células neoplásicas se encuentran confinadas a la epidermis (melanoma *in situ*).

Nivel II. Invasión en dermis superficial.

Nivel III. Invasión de unión de la dermis papilar y dermis reticular.

Nivel IV. Invasión de dermis profunda.

Nivel V. Invasión de tejido celular subcutáneo.

En relación con la extensión de la lesión, tamaño y presencia o no de metástasis, se conocen tres estadios clínicos:

Estadio I. Tumor localizado.

Estadio II. Tumor primario con metástasis ganglionar regional clínica o histológica.

Estadio III. Metástasis ganglionar o cutáneas distantes o viscerales.

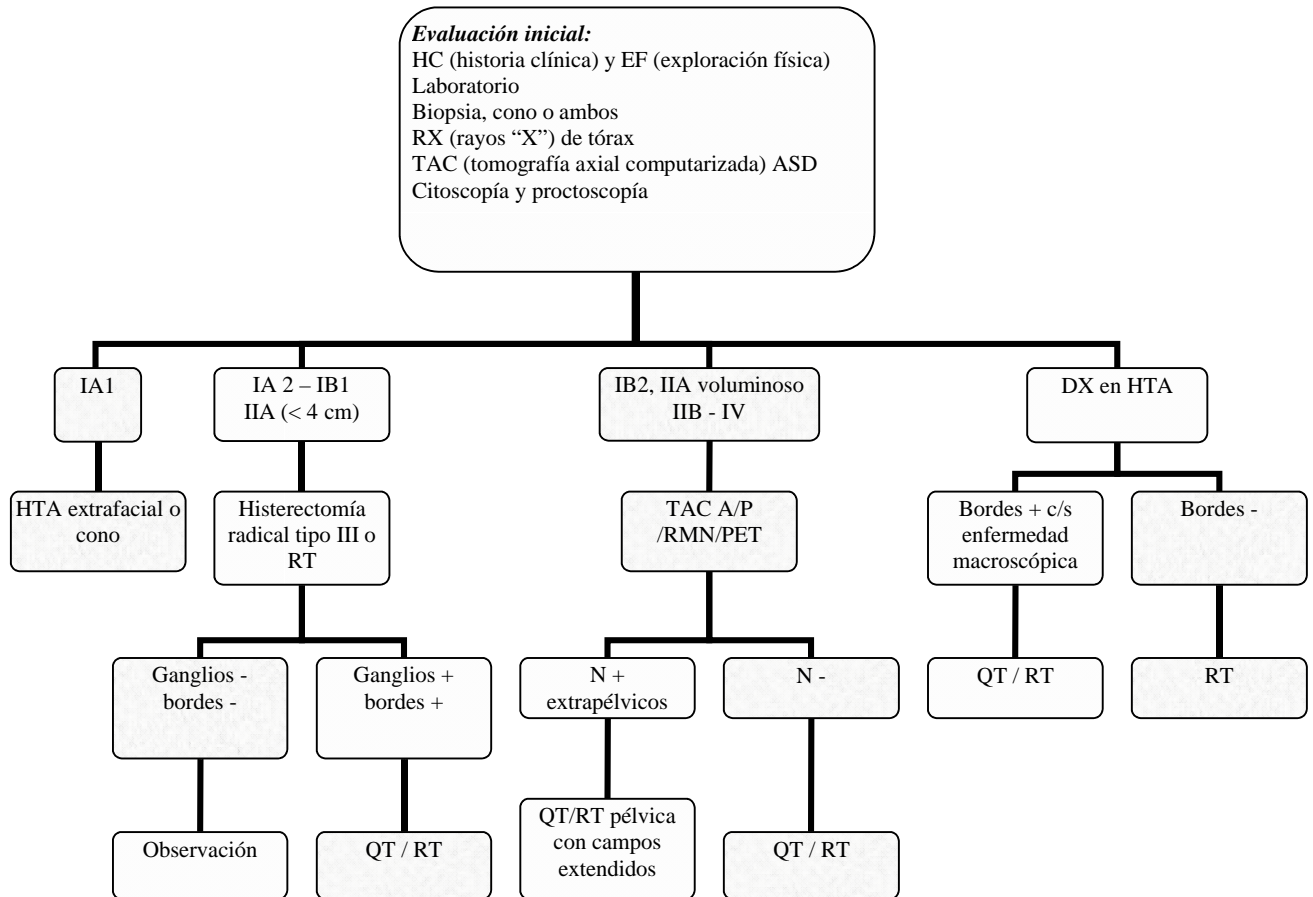
2.6.1 Metástasis

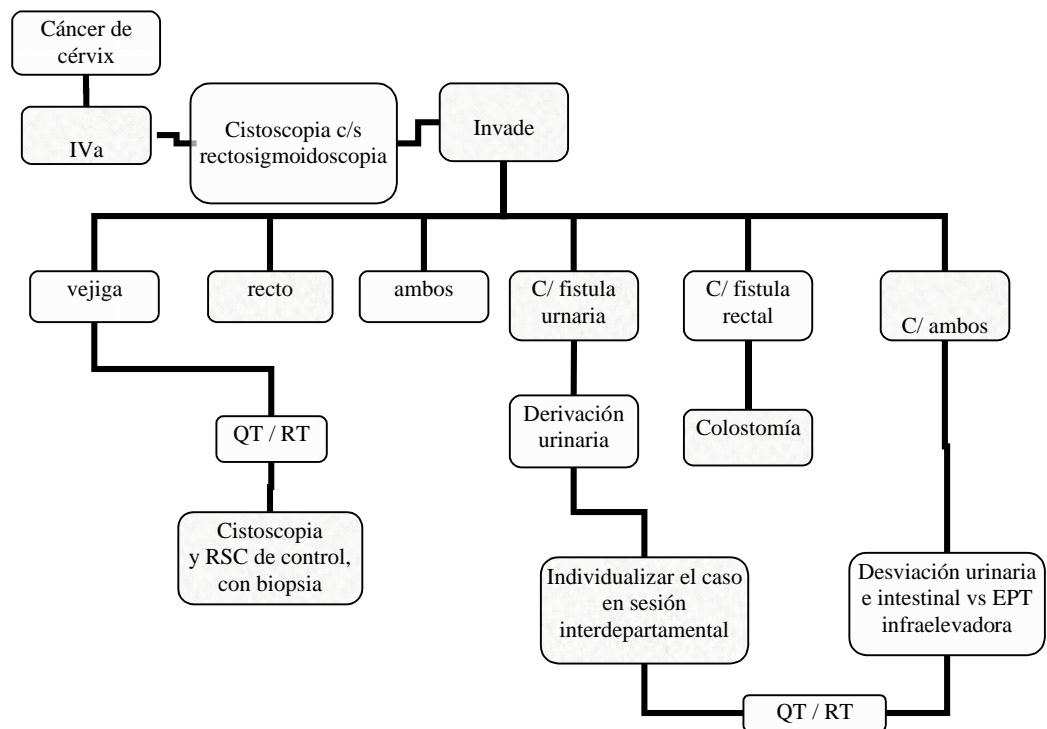
El riesgo de metástasis tiene relación con el tamaño del tumor. Se sabe que los que miden más de 2 cm tienen mayor riesgo; también depende del grado de invasión, tipo clínico del tumor, localización y, por supuesto, las características histológicas; dentro de estas se encuentran el grado de diferenciación, que se mide en porcentaje y se conoce como clasificación de Broders; clínicamente se puede suponer que si el tumor es muy queratósico, está bien diferenciado y es mejor el pronóstico que cuando la lesión no presenta nada o muy poca cantidad de queratina.

Otro factor importante para desarrollar metástasis es la topografía; se ha comprobado que en sitios como mucosas o semimucosas es mayor la posibilidad de desarrollar metástasis. (15)

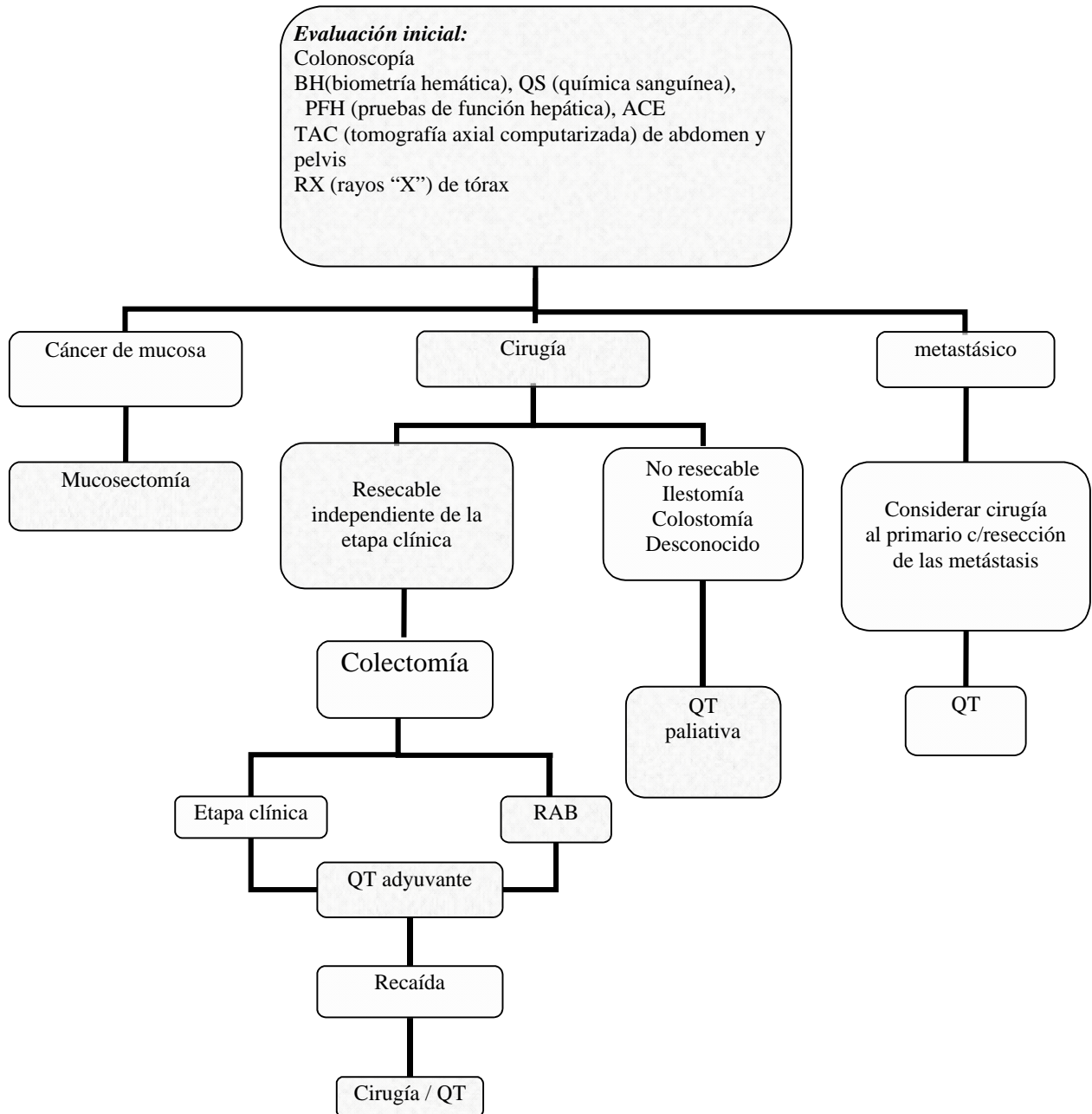
2.7 Esquemas de tratamiento

2.7.1 Cáncer de cérvix

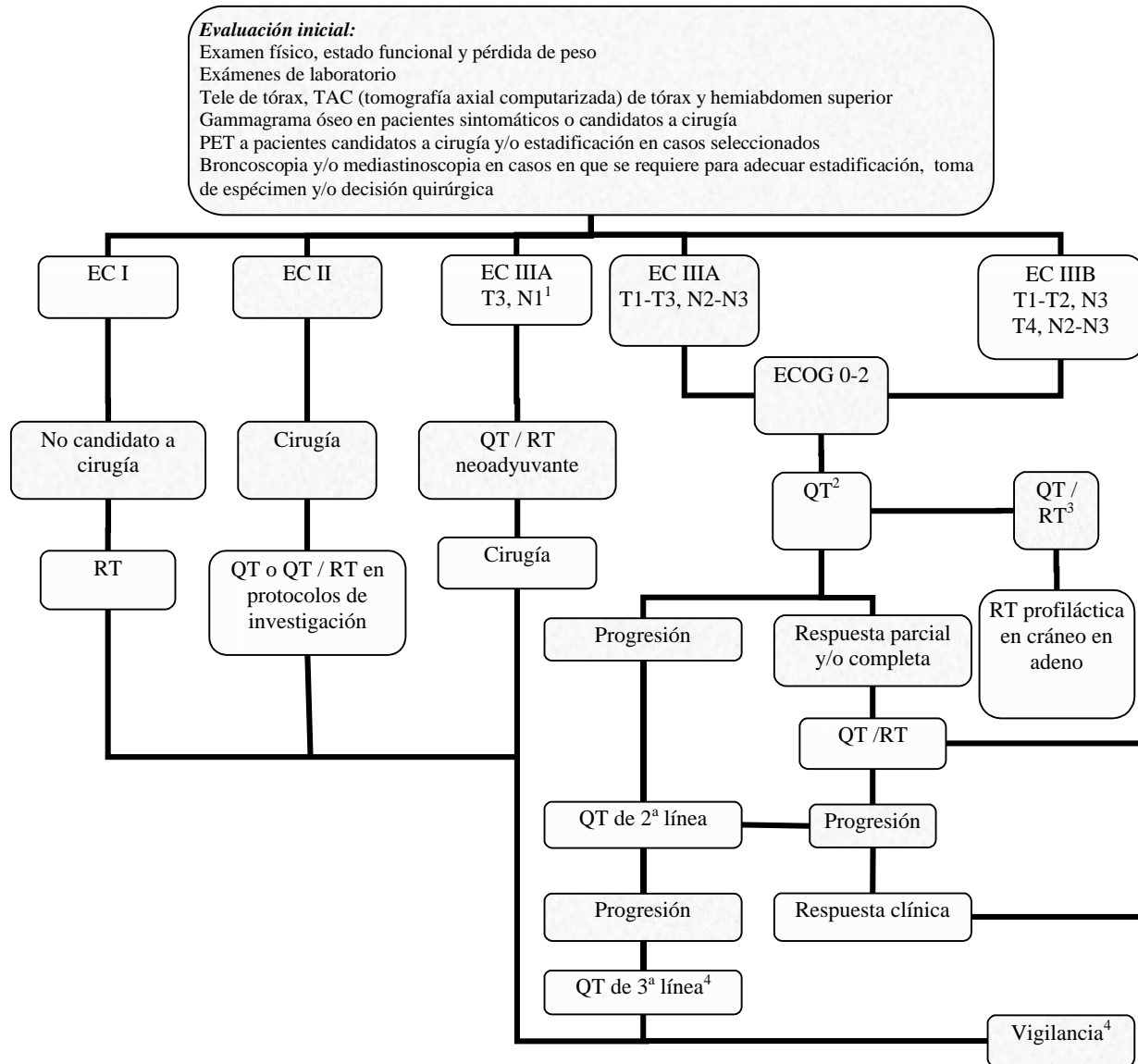




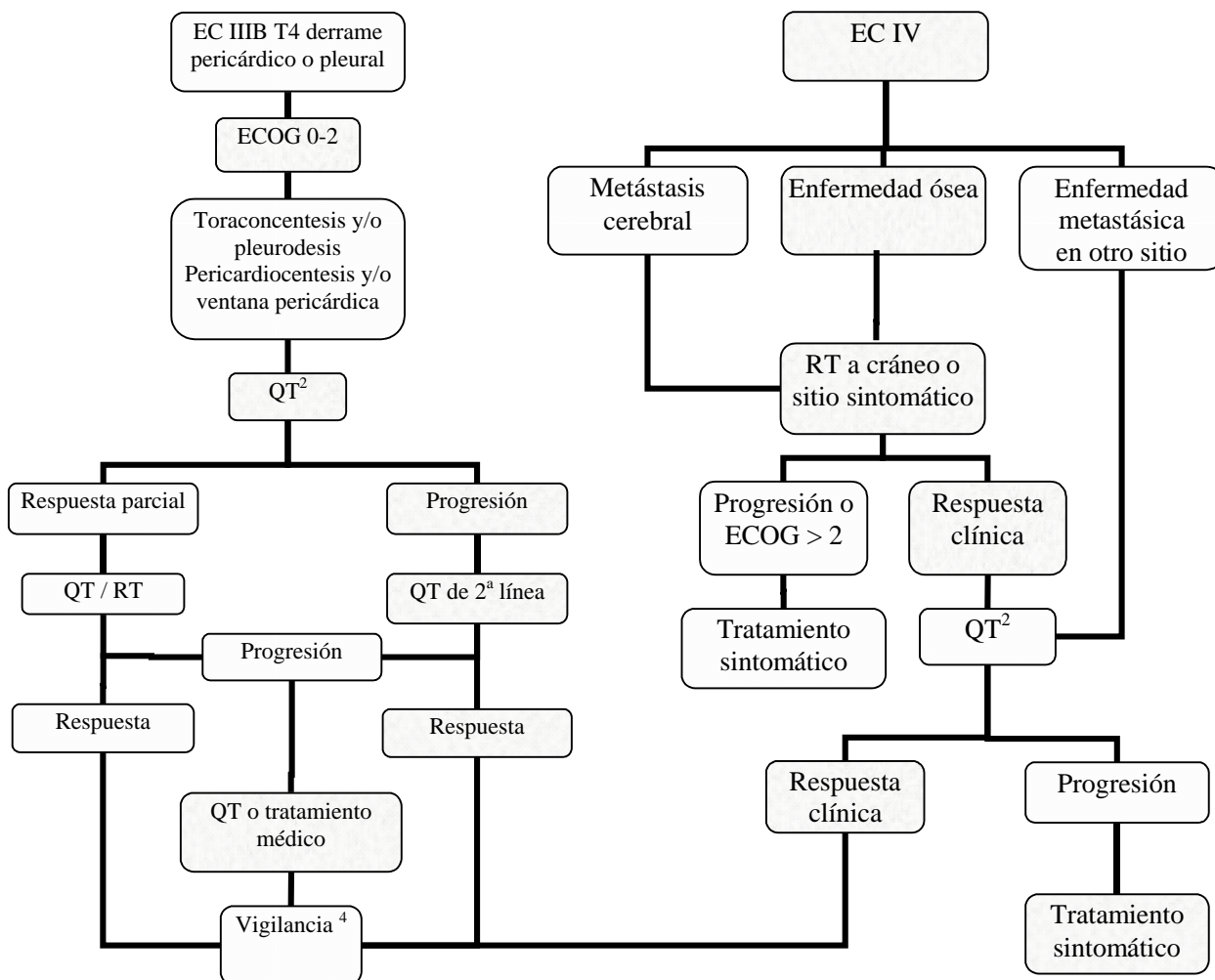
2.7.2 Cáncer de colon

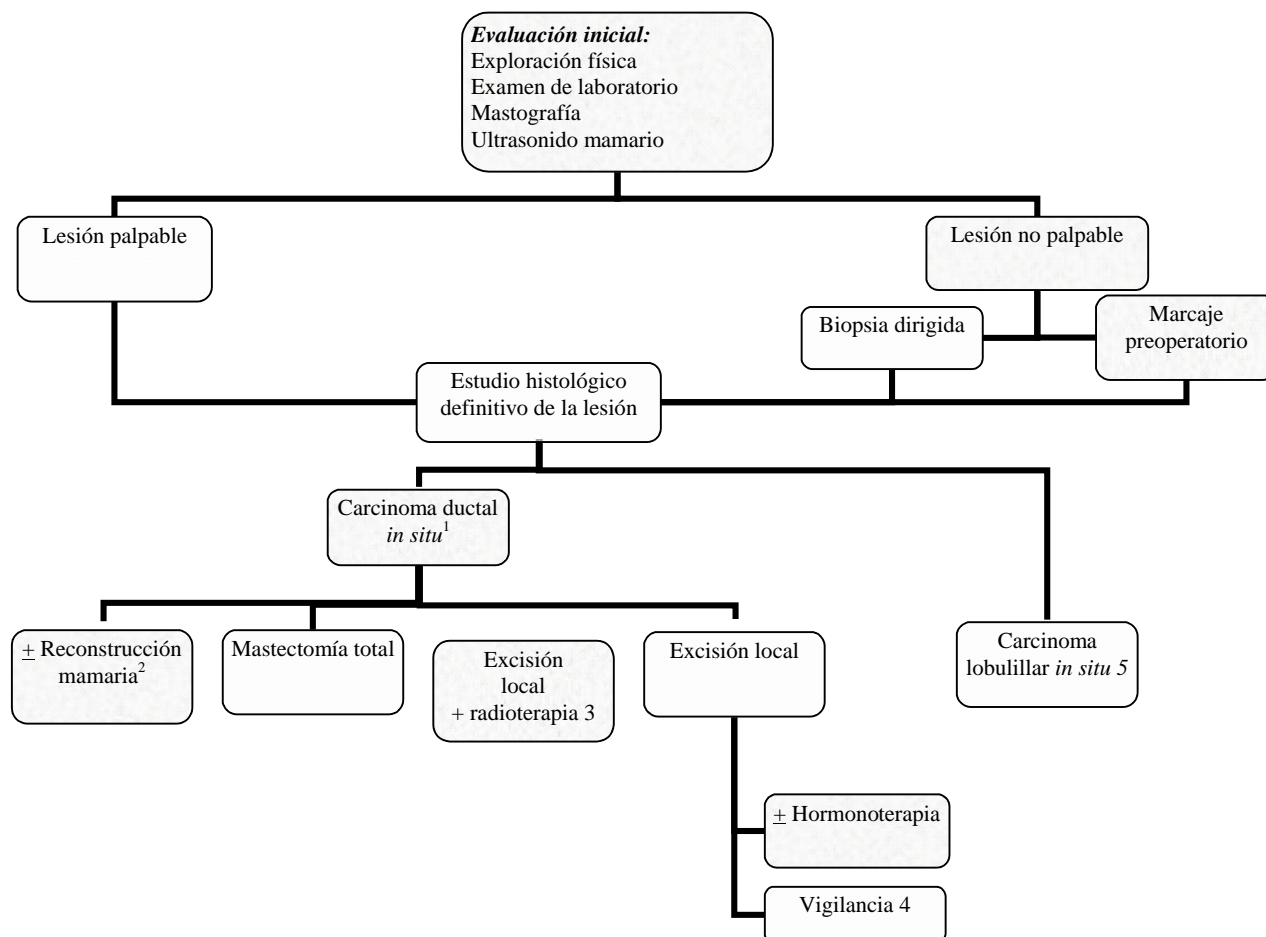


2.7.3 Cáncer de pulmón



- 1 T3 NX M0 Podrán llevarse inicialmente a cirugía y después considerarse QT o QT/RG.
- 2 A base de platino, dos a seis ciclos de acuerdo a respuesta y tolerancia
- 3 Sólo en protocolos de investigación
- 4 Genfitinib 200 mg por día



2.7.4 Cáncer de mama *in situ*

1 Criterios para tipo de cirugía: multicentricidad, alto grado, margen quirúrgico, edad, tamaño del tumor.

2 Incluir al cirujano plástico en la evaluación prequirúrgica.

3 Exclusivamente a la mama.

4 Mastografía de control a los seis meses y posteriormente anual.

5 Valorar otros factores de riesgo para considerar procedimientos quirúrgicos.

(20)

Relación de agentes quimioterapéuticos en el proceso del ciclo celular

Proceso	Clasificación	Etapas del ciclo celular	Mecanismos	Ejemplos
Daño directo al ADN	Agentes alquilantes y compuestos relacionados	G ₁ , G ₂ , S	Formación de aductos con el ADN, producción de radicales libres	Radiación, bleomicina, cisplatino*, carboplatino*, oxaliplatino*, busulfan*, doxorubicina, mitomicina C, mostaza nitrogenada, nitrosoureas.

*Fármacos utilizados en el experimento. (21)

2.8 Fármacos utilizados

2.8.1 *Cisplatino* [cis diamino, dicloro platino (II)]

Fórmula: [Pt(NH₃)₂Cl₂]

Tipo: Compuesto de coordinación de geometría cuadrada plana.

Mecanismo de acción: Daño de ADN nuclear, provocando producción de aductos y enlaces intra e intercadenas de ADN.

Es una de las drogas antineoplásicas más utilizadas. Este compuesto de coordinación sintetizado por primera vez en 1965 por Roesenberg y colaboradores en Alemania, quienes descubren su capacidad citostática. Su efecto tóxico está relacionado con su capacidad de dañar el ADN nuclear, provocando la formación de puentes entre bases de esta molécula denominados aductos, de no ser reparados, induce una serie de cascadas de reconocimiento del ADN y de respuesta celular al estrés que finalmente llevan a la muerte por apoptosis.

Este importante fármaco tiene particular importancia en el tratamiento de pacientes con carcinomas de esófago, cabeza y cuello, pulmón, estómago y ano. El mecanismo de esta droga aunque no completamente elucidado está basado en su interacción y consecuente producción de lesiones en el ADN genómico.

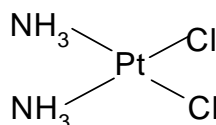
Es ampliamente aceptado que la quimioterapia con cisplatino es el tratamiento estándar para cáncer cérvico-uterino (CaCU) localmente avanzado, las dosis óptimas y el tiempo de tratamiento no se han establecido. Un estudio realizado indica que el cisplatino semanal a dosis de 40 mg/m^2 durante 6 semanas es igualmente efectivo y menos tóxico que el cisplatino y 5-FU durante 21 días. Sin embargo, la elección de 40 mg/m^2 como dosis semanal en estudios clínicos fase III, no fue basada en estudios clínicos fase I y la dosis máxima tolerada combinada con radioterapia no ha sido bien definida. A pesar de esto, datos no protocolizados, subsecuentes de terapia radioterapia / quimioterapia sugieren que posiblemente esta sea la máxima dosis tolerada.

La dosis terapéutica del cisplatino es de 100 mg/m^2 , basada en estudios clínicos de cáncer de ovario.

El cisplatino es un radiosensibilizador efectivo en sistemas tanto *in vivo* como *in vitro*, actuando en la población de células hipóxicas y potencializando la muerte celular durante la radioterapia.

El cisplatino semanal durante la radioterapia es bien tolerado, sin embargo, la nefrotoxicidad es un tema de particular preocupación en una población que frecuentemente presenta datos de disfunción renal como consecuencia de la obstrucción ureteral por la extensión de la enfermedad a la pared pélvica o a la vejiga.

La alta toxicidad del cisplatino llevo a los investigadores a encontrar compuestos menos tóxicos. (21, 22, 23)



Cisplatino

2.8.2 **Carboplatino** [*cisdiamino-ciclobutanodicarboxilato-platino (II)*]

Fórmula: $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{Pt}$

Tipo: Compuesto de coordinación de geometría cuadrada plana

Mecanismo de acción: Formación de aductos en ADN y unión a proteínas plasmáticas, con mecanismo similar a cisplatino.

El carboplatino tiene un alto grado de estabilidad química; consecuentemente, una alta dosis de carboplatino es necesaria para obtener un efecto antitumoral en sistemas experimentales. Por lo tanto la dosis terapéutica del carboplatino es de 400-500 mg/m², basada en estudios clínicos de cáncer de ovario.

El carboplatino es un radiosensibilizador efectivo en una variedad de sistemas *in vivo* e *in vitro*, actuando en la población de células hipóxicas y potencializando la muerte celular durante la radioterapia.

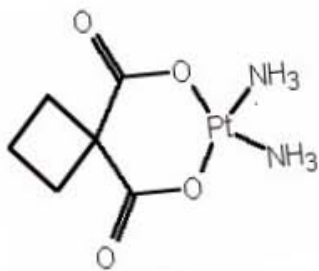
Estudios realizados sitúan o apoyan al carboplatino, desprovisto de toxicidad renal, como una alternativa interesante de radiosensibilización en CaCU. Existen algunos reportes del uso del carboplatino concurrente con radioterapia.

Datos reportados en un estudio fase I-II de radioterapia seguida de infusión continua de carboplatino en pacientes con CaCU en estadios clínicos IIB y IIIB, usando 12 mg/m² por día con una dosis total de 504 mg/m² en 42 días, equivalente a 250 mg/m² cada 21 días por dos ciclos. Esta dosis fue bien tolerada y efectiva, reportándose leucopenia grado 2 como la toxicidad más frecuente y observándose respuestas completas en 75% de los pacientes.

En otro reporte de carboplatino como radiosensibilizador en pacientes con cáncer cervical en estadios clínicos IIA-IIIB fueron tratadas con carboplatino a una dosis de 30 mg/m² dos veces por semana con dosis en escalas a 40 mg/m² y 50 mg/m², sin embargo, después de que varios pacientes fueron tratados, la dosis fue recalculada de acuerdo al área bajo la curva (AUC). De acuerdo con esto, los autores sugieren que el AUC de 6 podría ser adecuado sobre las bases de que sólo 2 de 9 pacientes presentaron leucopenia grado 3.

En un estudio fase I de carboplatino semanalmente durante la radioterapia, 24 pacientes con cáncer cervical estadios clínicos IIIB fueron tratadas con radioterapia estándar y con seis aplicaciones de carboplatino semanal con los siguientes niveles de dosis: I (100 mg/m²); II (116 mg/m²); III (133 mg/m²), y IV (150 mg/m²). Se incluyeron y trataron 6 pacientes por cada nivel, todas completaron la radioterapia externa con excepción de 2 pacientes, la braquiterapia.

El tratamiento resultó bien tolerado, la media de aplicaciones de carboplatino semanal fue de seis, y con la dosis limitante de toxicidad la leucopenia y/o neutropenia se presentaron en el 50% de las pacientes con el nivel más alto de dosis (150 mg/m^2), mientras que esto ocurrió en el 33% de los pacientes con la dosis de 133 mg/m^2 , por lo tanto, esta dosis fue recomendada para el uso en otros estudios.



Carboplatino

El carboplatino tiene un alto grado de estabilidad química; consecuentemente, una alta dosis de carboplatino es necesaria para obtener un efecto antitumoral comparable al cisplatino en sistemas experimentales. Por lo tanto, la dosis terapéutica del carboplatino se ha descrito con una relación de 4:1 ($400-500 \text{ mg/m}^2$ Vs. 100 mg/m^2), basada en estudios clínicos de cáncer de ovario. (24, 25, 26)

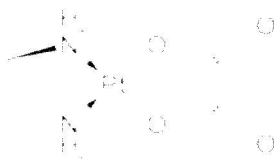
2.8.3 Oxaliplatino [ciclohexano-1,2-diaminoxalato-platino (II)]

Fórmula: $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{Pt}$

Tipo: Compuesto de coordinación de geometría cuadrada plana.

Mecanismo de acción: Forma aductos en ADN y unión a proteínas plasmáticas, con mecanismo similar a cisplatino. Aunque se ha demostrado que el oxaliplatino tiene propiedades radiosensibilizantes en modelos experimentales de ratones y parece ser mejor radiosensibilizador que el 5-FU en líneas celulares de cáncer de colon, su uso en combinación con radioterapia hasta la fecha únicamente ha sido explorada en cáncer rectal localmente avanzado en combinación con 5-FU, donde ha probado su actividad y buena tolerabilidad.

En cáncer cervical, la actividad clínica antitumoral solo ó en combinación con otros agentes también se ha demostrado, pero no hay estudios reportados como radiosensibilizante.



Oxaliplatino

Aunque se ha demostrado que el oxaliplatino tiene propiedades radiosensibilizantes en modelos experimentales de ratones y parece ser mejor radiosensibilizador que el 5-FU en líneas celulares de colon, su uso en combinación con radioterapia hasta la fecha únicamente ha sido explorado en cáncer rectal localmente avanzado en combinación con 5-FU, donde ha probado su actividad y buena tolerabilidad.

En cáncer cervical, la actividad clínica antitumoral solo ó en combinación con otros agentes también se ha demostrado, pero no hay estudios reportados. (27, 28, 29, 30)

2.8.4 Busulfan [1,4-bis(metilsulfonyloxi)butano]

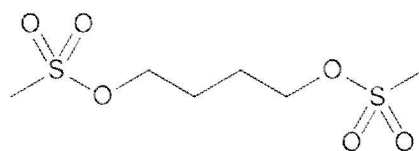
Fórmula: C₆H₁₄O₆S₂

Tipo: Alquilsulfonato

Mecanismo de acción: Unión covalente al ADN.

El busulfan actúa en cualquiera de las fases del ciclo celular, tanto sobre los ácidos nucleicos como las proteínas citoplasmáticas. Su mayor efecto es sobre los precursores de la serie mieloide, linfocitos y células del epitelio del tracto intestinal.

Los efectos secundarios que causa son daños oftalmológicos, pulmonares, dermatológicos y endocrinos entre otros.



Busulfan (31)

2.8.5 Casiopeínas

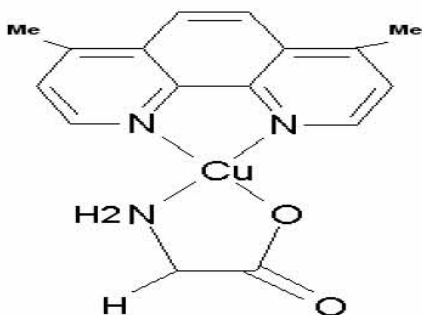
Definidas como una familia de compuestos de coordinación, quelatos mixtos de Cu (II), patentados y registrados bajo el nombre de **Casiopeínas[®]**, en cuya esfera de coordinación hay dos ligantes bidentados; un ligante de tipo diimina (N-N) y un segundo ligante de tipo α -aminoacidato (N-O) o donador (O-O), han mostrado tener actividad citostática, citotóxica y antineoplásica tanto *in vivo* como *in vitro*, en varias líneas tumorales humanas y murinas, con resultados prometedores para su posible empleo como antitumorales en la clínica.

Las casiopeínas contienen como metal esencial al cobre que favorece en la disminución de la toxicidad, contienen quelatos que favorecen la configuración *cis* alrededor del ión metálico y los quelatos mixtos contienen diferentes niveles de hidrofobicidad.

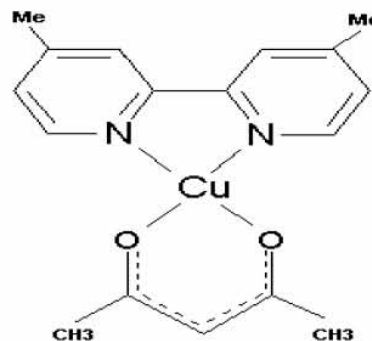
Las casiopeínas IIgly y III-ia, han mostrado capacidad para inducir muerte celular (citotoxicidad) y distinto grado de fragmentación de DNA (genotoxicidad) en líneas celulares tumorales y normales.

Estos fármacos, pueden intervenir en reacciones de óxido-reducción de tipo Fenton y Haber-Weiss en las que el cobre puede participar por lo que muy probablemente provocan daño por radicales libres.

Casiopeína IIgly



Casiopeína III-ia, (32, 33, 34).



En México, el cáncer cérvico-uterino es la primera causa de muerte de mujeres en edad reproductiva por lo que representa un problema de salud pública muy importante.

De entre los diferentes tipos de tratamiento empleados, el uso de la radioterapia junto con la aplicación simultánea de cisplatino, es considerado el mejor tratamiento para este tipo de cáncer. Sin embargo, debido a los efectos colaterales y negativos que presente la quimioterapia con el cisplatino se han buscado otros tipos de compuestos menos tóxicos. Con ese propósito se sintetizaron las casiopeínas, compuestos que contienen al cobre como metal, característica que puede reducir su toxicidad. Dos de estas casiopeínas (IIgly y III-ia) han mostrado efecto tóxico *in vitro* sobre diferentes líneas celulares, pero se desconoce su efecto cuando se combinan con fármacos neoplásicos de uso comercial.

El propósito del presente trabajo es evaluar el posible efecto sinérgico o aditivo “*in vitro*” de las casiopeínas con fármacos comerciales, en la viabilidad de líneas celulares de carcinoma cérvico uterino (HeLa, CaLo, InBl y SiHa) y de otros tipos de cáncer (mama, pulmón y colon) que también afecta de manera importante a la población de nuestro país.

Objetivo

Evaluar el posible efecto sinérgico “in vitro” de las casiopeínas IIgly y III-ia, cuando se combinan entre sí o con fármacos antineoplásicos de uso comercial, sobre la viabilidad de líneas celulares de diferentes orígenes.

4.1 Metodología

Se utilizaron 8 placas de 96 pozos para cada línea celular; en cada placa se colocaron 100 μ L de medio y 20 μ L de la suspensión de células, se dejaron en la incubadora de CO₂ al 5% y a una temperatura de 37° C por 24 horas.

Una vez transcurrido el tiempo, se agregaron los fármacos en las 4 diferentes concentraciones mas el control [0, 0.01, 0.1, 1 y 10 μ g/mL] en las 9 combinaciones (casiopeína III-ia/casiopeína IIgly, cisPt/casiopeína III-ia, cisPt/casiopeína IIgly, carboPt/casiopeína III-ia, carboPt/casiopeína IIgly, busulfan/casiopeína III-ia, busulfan/casiopeína IIgly, oxaliplatino/casiopeína III-ia, oxaliplatino/casiopeína IIgly) en 3 diferentes proporciones (50:50, 75:25 y 25:75), además de las fármacos por separado en experimentos por triplicado, dejándose incubar por 24 horas. Posteriormente se aspiró el medio y se fijaron las células por 1 hora con ácido tricloroacético (TCA) al 10% a 4° C; después se lavaron con agua destilada por 4 veces cada placa y se dejaron secar por 24 horas para posteriormente teñir las células con sulforrodamina B (SRB) al 0.4% en ácido acético al 1% durante 30 minutos, después se lavaron las células con ácido acético al 1% 4 veces y se dejaron secar por 24 horas, y posteriormente se solubilizó el colorante celular con 100 μ L de tris-base [10mM] (pH 10.5), durante 5 minutos con agitación mecánica suave. Finalmente el colorante celular fue leído en un espectrofotómetro a 564nm.

Para la concentración inhibitoria media (CI₅₀) inducida por los fármacos antineoplásicos, se determinó en cada dosis, la capacidad para inducir el 50% de inhibición de la capacidad proliferativa por medio del programa estadístico **PROBIT** (Log Probit Analysis by Maximum Likelihood); considerando la proliferación celular máxima, el 100% en los cultivos control.

4.2 Líneas tumorales humanas utilizadas

1) CaLo: carcinoma epidermoide de células grandes no queratizante invasor de cérvix. Estadio clínico II B; 2) InBl: carcinoma epidermoide de células grandes no queratizante invasor de cérvix. Estadio clínico IVA; 3) HeLa: adenocarcinoma de cérvix. Estadio clínico IV A; 4) SiHa: carcinoma escamoso de cérvix. Estadio clínico III B; 5) HCT-15: carcinoma de colon; 6) MCF-7: adenocarcinoma de la glándula mamaria; 7) U-373: glioma maligno; 8) SKLU-1: adenocarcinoma de pulmón.

4.3 Condiciones experimentales:

A partir de un cultivo stock, se sembraron 20 mil células en placas de 96 pozos

Se dejaron recuperar por 24 horas

Se adicionaron las drogas a concentraciones [0.01, 0.1, 1.0, 10.0 µg/mL]

Se dejaron incubar por 24 horas

Se fijaron con ácido tricloroacético (TCA) al 10 % 1 hora a 4° C

Se lavaron 4 veces en ácido acético al 1 %

Se tiñeron con Sulforrodamina B (SRB) al 0.4 % durante 30 minutos

*Se lavaron 4 veces en ácido acético al 1 % y
se dejaron secar por 24 horas*

Se agregaron 100 µL de Tris base 10 mM (pH 10.5)

con agitación mecánica suave durante 5 minutos y se dejó secar

El colorante celular se cuantificó en un espectrofotómetro a 564 nm

Determinación de la concentración inhibitoria media (CI₅₀) con el programa PROBIT

5.1 Resultados en HeLa, línea celular de carcinoma cérvico-uterino

En la línea celular HeLa la mayor actividad antiproliferativa se observó con la mezcla de carboplatino/casiopeína IIgly en la proporción (3:1), para la concentración [10µg/mL] aunque no se observó diferencia significativa estadística en las 3 proporciones; seguida por el carboplatino, el cisplatino y la casiopeína IIgly. La menor concentración inhibitoria media (CI₅₀) se observó en la proporción (1:1) con la concentración [10µg/mL] en la mezcla de carboplatino/casiopeína IIgly, con un valor de 0.93µg/mL.

Tabla 1. Porcentaje de viabilidad de la línea HeLa para la mezcla (carboplatino/casiopeína IIgly)

[µg/mL]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cisPt	carboPt	bus	oxaliPt	IIgly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	89	100	100	88	89	80	100	91	100
0.1	87	100	100	68	73	80	100	83	100
1	38	57	47	61	72	80	100	39	96
10	26	25	29	29	27	69	100	31	49

Gráfica 1. Ensayo de proliferación celular en HeLa (carboplatino/casiopeína IIgly)

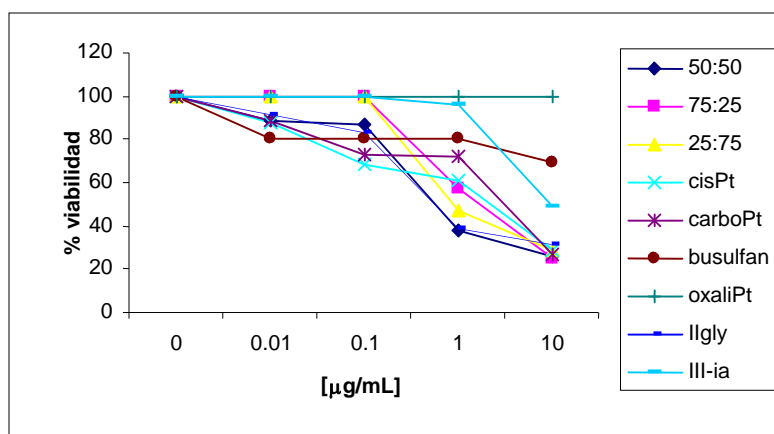


Tabla 2. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza] $_{\alpha=0.05}$ en HeLa

Compuestos	proporciones	[$\mu\text{g/mL}$]
	50:50	2.97 [2.07-4.43]
III-ia/Igly	75:25	3.34 [1.79-7.28]
	25:75	3.08 [2.21-4.42]
cisPt/III-ia	75 25	4.45 [1.61-20.36]
	50:50	7.74 [5.15-12.9]
cisPt/Igly	75:25	6.86 [4.33-12.17]
	25:75	2.20 [1.54-3.24]
bus/Igly	50:50	2.01 [1.44-2.86]
	25:75	1.13 [0.77-1.70]
oxaliPt/III-ia	50:50	7.56 [3.37-23.11]
oxaliPt/III-ia	75:25	16.14 [9.02-36.53]
	50:50	0.93 [0.59-1.51]
carboPt/Igly	75:25	2.26 [1.66-3.12]
	25:75	2.04 [1.47-2.88]
Cisplatino		1.39 [0.76-2.83]
Carboplatino		2.11 [1.16-4.34]
Igly		3.22 [1.59-8.16]
III-ia		13.17 [8.22-16.74]

5.2 Resultados en CaLo, línea celular de carcinoma cérvico-uterino

En la línea celular CaLo se observó muy buena actividad antiproliferativa para la mezcla busulfan/casiopéina Igly, mostrando una viabilidad del 31% para la concentración [$10\mu\text{g/mL}$] en la proporción (1:3) con una CI_{50} de $1.74\mu\text{g/mL}$, mientras que la casiopéina Igly sin combinar presentó una viabilidad del 23% con una CI_{50} de $2.48\mu\text{g/mL}$; a diferencia de los controles (busulfan, carboplatino y oxaliplatino), que prácticamente presentaron el mismo comportamiento, es decir, una viabilidad del 80%.

Tabla 3. Porcentaje de viabilidad de la línea CaLo para la mezcla (busulfan/casiopéina Igly)

[$\mu\text{g/mL}$]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cisPt	carboPt	bus	oxaliPt	Igly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	100	87	85	76	99	86	98	100	100
0.1	97	83	82	71	95	82	98	100	100
1	85	78	56	68	93	81	97	64	100
10	40	31	31	56	79	74	80	23	64

Gráfica 2. Ensayo de proliferación celular en CaLo
(busulfan/casiopeína IIgly)

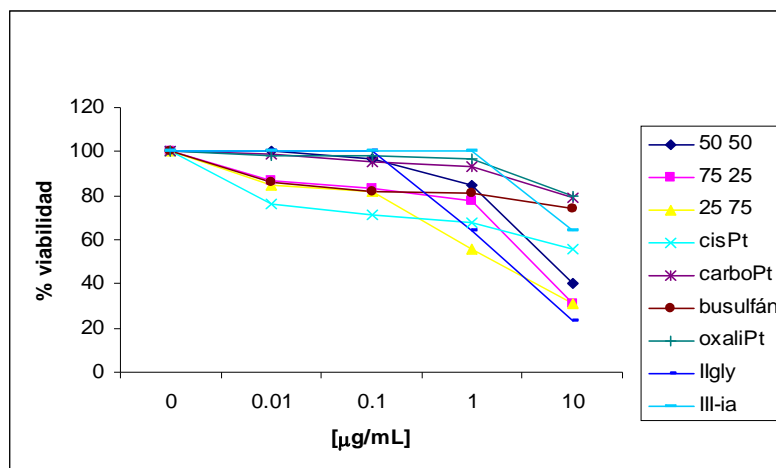


Tabla 4. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza]_{α=0.05} en CaLo

Compuestos	proporciones	[µg/mL]
III-ia/IIgly	50:50	3.75 [2.36-6.49]
	75:25	7.77 [4.39-16.22]
	25:75	2.92 [2.11-4.17]
cisPt/III-ia	50:50	4.16 [2.30-8.74]
	75:25	13.65 [7.65-30.08]
	25:75	3.58 [2.49-5.40]
bus/III-ia	25:75	12.45 [3.65-91.74]
bus/IIgly	50:50	6.46 [4.39-10.31]
	75:25	4.14 [2.09-10]
	25:75	1.74 [0.96-3.54]
oxaliPt/III-ia	75:25	7.73 [3.67-21.16]
oxaliPt/IIgly	50:50	4.80 [3.44-7.03]
	75:25	7.69 [4.77-14.05]
	25:75	8.84 [4.56-21.26]
carboPt/IIgly	50:50	7.79 [5.61-11.63]
	75:25	6.08 [3.89-10.49]
	25:75	5.52 [3.77-8.70]
IIgly		2.48 [1.82-3.37]

5.3 Resultados en HCT-15, línea celular de carcinoma de colon

En la línea celular HCT-15 se observó una viabilidad del 30% para la mezcla busulfan/casiopeína IIgly con la concentración [10µg/mL] en la proporción (3:1), con una CI₅₀ de 4.92µg/mL, sin embargo, la mezcla que mostró la CI₅₀ menor fue cisplatino/casiopeína IIgly en la proporción (1:3) con un valor de 1.62µg/mL, mientras que la casiopeínas IIgly, el cisplatino y la casiopeína III-ia abatieron la proliferación celular en 42, 45 y 49% respectivamente.

Tabla 5. Porcentaje de viabilidad de la línea HCT-15 para la mezcla (busulfan/casiopeína IIgly)

[µg/mL]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cisPt	carboPt	bus	oxaliPt	IIgly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	100	100	100	100	92	100	100	86	74
0.1	95	100	100	100	83	100	99	86	72
1	84	88	62	96	91	100	92	53	72
10	31	30	36	45	73	100	91	42	49

Gráfica 3. Ensayo de proliferación celular en HCT-15
(busulfan/casiopeína IIgly)

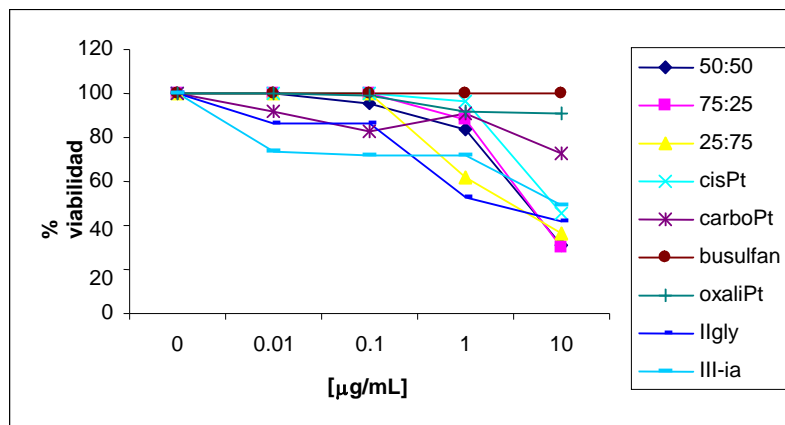


Tabla 6. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza]_{α=0.05} en HCT-15

Compuestos	proporciones	[µg/mL]
III-ia/Igly	50:50	4.59 [2.76-8.54]
	75:25	2.23 [0.95-7.03]
	25:75	2.66 [1.77-4.22]
cisPt/III-ia	50:50	9.56 [2.88-66.92]
	75:25	9.99 [7.72-13.72]
	25:75	6.59 [2.28-332]
cisPt/Igly	75:25	9.93 [7.18-15.03]
	25:75	1.62 [0.94-3.09]
bus/Igly	50:50	4.49 [3.15-6.75]
	75:25	4.92 [3.77-6.57]
	25:75	3.49 [2.46-5.18]
oxaliPt/Igly	50:50	5.66 [3.13-11.98]
	75:25	14.50 [7.84-33.76]
	25:75	4 [2.63-6.56]
carboPt/III-ia	25:75	11.79 [5.94-29.79]
carboPt/Igly	50:50	6.21 [4.79-8.23]
	75:25	6.04 [4.68-7.98]
	25:75	6.31 [4.44-9.62]
Cisplatino		8.56 [6.54-11.76]
Igly		3.24 [1.59-8.16]

5.4 Resultados en MCF-7, línea celular de carcinoma de mama

En la línea celular MCF-7 la mezcla más activa fue busulfan/casiopéina Igly con el 30% de viabilidad con la concentración [10µg/mL] en la proporción (3:1) y una CI₅₀ de 4.92µg/mL, en tanto que la CI₅₀ menor se observó en la mezcla de cisplatino/casiopéina Igly en la proporción de (1:3) con un valor de 1.6µg/mL. Mientras que el cisplatino y las casiopéina Igly y III-ia redujeron la viabilidad a 45, 46 y 50% respectivamente.

Tabla 7. Porcentaje de viabilidad de la línea MCF-7 para la mezcla (busulfan/casiopéina Igly)

[µg/mL]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cisPt	carboPt	bus	OxaliPt	Igly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	100	100	100	100	92	100	91	100	58
0.1	95	100	100	100	83	100	91	100	58
1	84	88	62	96	91	100	91	84	58
10	31	30	36	45	73	100	65	46	50

Gráfica 4. Ensayo de proliferación celular en MCF-7
(busulfan/casiopeína IIgly)

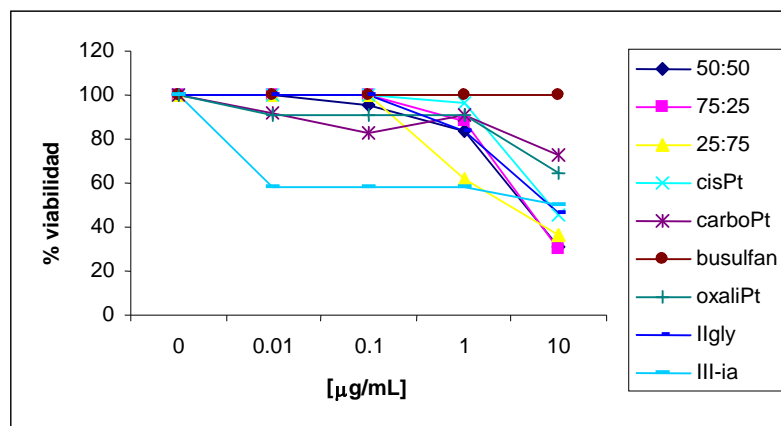


Tabla 8. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza]_{α=0.05} en MCF-7

Compuestos	proporciones	[µg/mL]
III-ia/IIgly	50:50	4.59 [2.7-8.5]
	75:25	2.2 [0.95-7.03]
	25:75	2.6 [1.7-4.2]
cisPt/III-ia	50:50	9.56 [2.88-66.92]
	75:25	9.99 [7.72-13.72]
	25:75	6.5 [2.2-33.2]
cisPt/IIgly	75:25	9.93 [7.18-15.03]
	25:75	1.6 [0.94-3.09]
bus/IIgly	50:50	4.49 [3.15-6.79]
	75:25	4.92 [3.77-6.57]
	25:75	3.49 [2.46-5.18]
oxaliPt/IIgly	50:50	4.39 [2.9-7.14]
	75:25	13.65 [7.65-30.08]
	25:75	2.28 [1.4-4.04]
carboPt/III-ia	25:75	11.79 [5.94-29.79]
carboPt/IIgly	50:50	6.21 [4.79-8.23]
	25:75	6.31 [4.44-9.62]
Cisplatino		8.56 [6.54-11.76]
IIgly		7.72 [5.32-12.21]

5.5 Resultados en U-373, línea celular de glioma

En la línea celular U-373 la mezcla carboplatino/casiopéina IIgly en la proporción (1:3) fue la más activa con una viabilidad del 32% y una CI_{50} de $3.06\mu\text{g/mL}$, sin embargo la CI_{50} menor se observó en la mezcla cisplatino/casiopéina IIgly en las proporciones (3:1 y 1:3) con un valor de $2.2\mu\text{g/mL}$, el carboplatino y la casiopéina III-ia presentaron inhibición de la proliferación del 50%.

Tabla 9. Porcentaje de viabilidad de U-373 para la mezcla (carboplatino/casiopéina IIgly)

[$\mu\text{g/mL}$]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cis Pt	carboPt	Bus	oxaliPt	IIgly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	100	99	100	100	100	100	99	100	94
0.1	93	93	90	97	96	100	99	100	90
1	93	93	68	81	92	100	98	90	88
10	34	38	32	69	50	86	67	63	50

Gráfica 5. Ensayo de proliferación celular en U-373
(carboplatino/casiopéina IIgly)

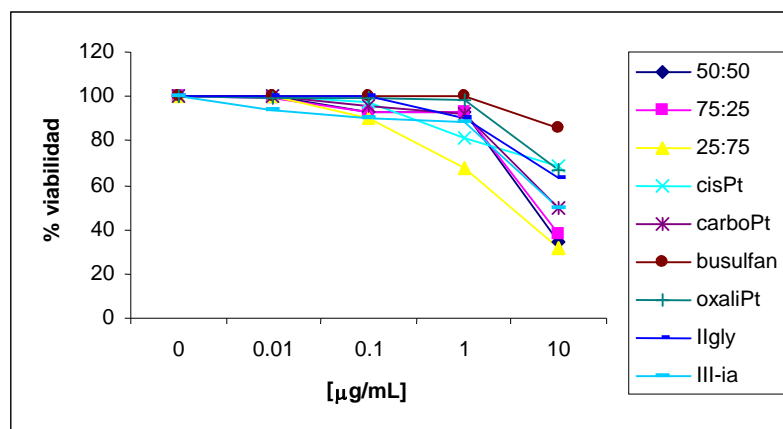


Tabla 10. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza]_{α=0.05} en U-373

Compuestos	proporciones	[μg/mL]
III-ia/IIgly	50:50	2.78 [1.42-6.53]
	75:25	8.74 [3.75-28.72]
	25:75	2.92 [1.64-5.94]
cisPt/III-ia	50:50	6.28 [1.98-39.66]
	75:25	20.05 [9.97-54.36]
cisPt/IIgly	50:50	8.91 [3.55-33.52]
	75:25	2.20 [1.47-3.47]
	25:75	2.20 [1.47-3.4]
bus/IIgly	25:75	5.33 [3.25-9.78]
carboPt/IIgly	25:75	3.06 [2.05-4.85]
carboPt/III-ia	25:75	12.69 [7.50-25.87]
III-ia		22.81[8.88-91.29]

5.6 Resultados en SiHa, línea celular de carcinoma cérvico-uterino

En la línea celular SiHa la mezcla más activa fue oxaliplatino/casiopéina III-ia en la proporción (1:1) con una CI₅₀ de 4.71μg/mL siendo esta la menor, en tanto que la casiopéina IIgly mostró una actividad en la viabilidad del 45% y una CI₅₀ de 6.89μg/mL, la casiopéina III-ia redujo la viabilidad a 42% y una CI₅₀ de 8.76μg/mL y por último el oxaliplatino mostró reducir la viabilidad al 50% y una CI₅₀ de 11.82μg/mL.

Tabla 11. Porcentaje de viabilidad de SiHa para la mezcla (oxaliplatino/casiopéina III-ia)

[μg/mL]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cisPt	carboPt	bus	oxaliPt	IIgly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	91	100	85	99	98	100	99	95	100
0.1	82	95	83	97	98	97	99	91	95
1	75	95	78	90	97	97	90	70	95
10	36	47	41	77	97	97	50	45	42

**Gráfica 6. Ensayo de proliferación celular en SiHa
(oxaliplatino/casiopéina III-ia)**

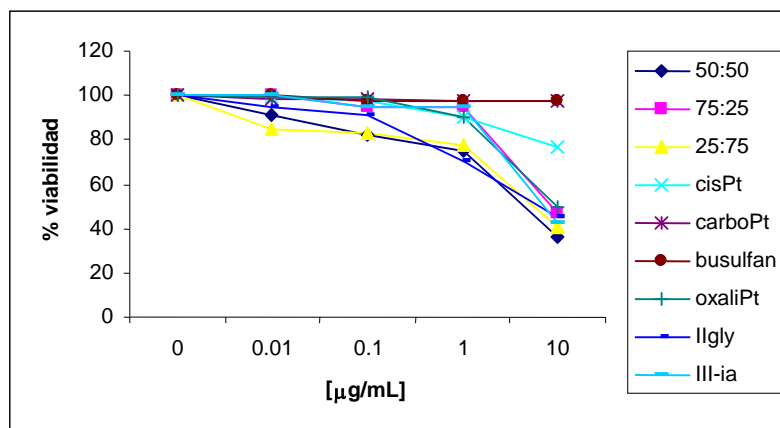


Tabla 12. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza]_{α=0.05} en SiHa

Compuestos	proporciones	[µg/mL]
cisPt/IIgly	50:50	7.24 [2.26-46.52]
	75:25	12.23 [5.88-33.4]
bus/IIgly	75:25	7.60 [5.98-9.89]
oxaliPt/III-ia	50:50	4.71 [2.40-11.29]
	75:25	11.17 [6.92-21.11]
oxaliPt/IIgly	50:50	16.14 [7.75-44.82]
	75:25	13.23 [7.75-27.43]
	25:75	30.12 [8.70-279.77]
carboPt/IIgly	50:50	17.72 [8.20-52.50]
Oxaliplatino		11.82 [7.23-22.83]
IIgly		6.89 [3.62-15.96]
III-ia		8.76 [5.74-15]

5.7 Resultados en InBl, línea celular de carcinoma cérvico-uterino

En la línea celular InBl la mezcla más activa fue busulfan/casiopeína IIgly en la proporción (3:1) con un 38% de viabilidad y una CI_{50} de $1.13\mu\text{g/mL}$, siendo esta la menor. En tanto que las casiopeínas IIgly y III-ia tuvieron una actividad antiproliferativa del 50% y una CI_{50} de 12.27 y $12.98\mu\text{g/mL}$.

Tabla 13. Porcentaje de viabilidad de InBl para la mezcla (busulfan/casiopeína IIgly)

[$\mu\text{g/mL}$]	50 : 50	75 : 25	25 : 75	cisPt	carboPt	bus	oxaliPt	IIgly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	90	100	100	100	100	100	98	99	99
0.1	89	98	100	100	100	100	96	98	90
1	84	89	89	100	100	94	93	90	85
10	63	38	50	89	100	92	74	50	50

Gráfica 7. Ensayo de prolifección celular en InBl
(busulfan/casiopeína IIgly)

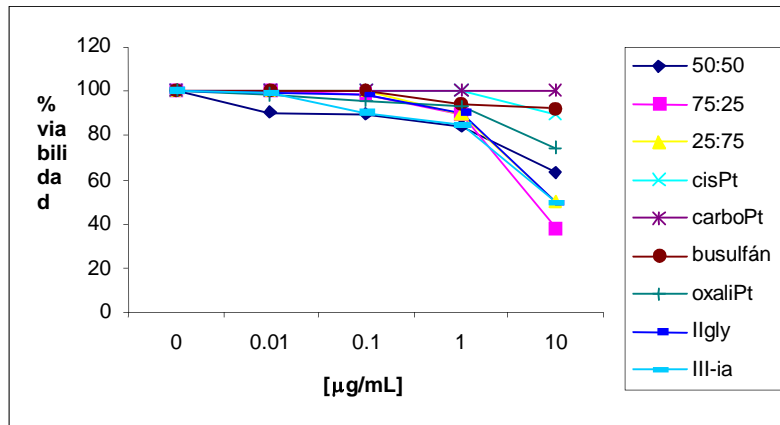


Tabla 14. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza]_{α=0.05} en InBI

Compuestos	proporciones	[μg/mL]
III-ia/Igly	50:50	19.76 [8.37-67.89]
	75:25	19.76 [8.37-67.89]
cisPt/Igly	25:75	14.86 [8.27-33.36]
	50:50	6.40 [4.55-9.60]
bus/Igly	75:25	1.13 [0.77-1.70]
	25:75	9.64 [6.62-15.64]
carboPt/Igly	50:50	12.26 [5.95-32.89]
	25:75	19.05 [9.42-51.64]
Igly		12.27 [7.30-24.69]
III-ia		12.98 [6.60-32.58]

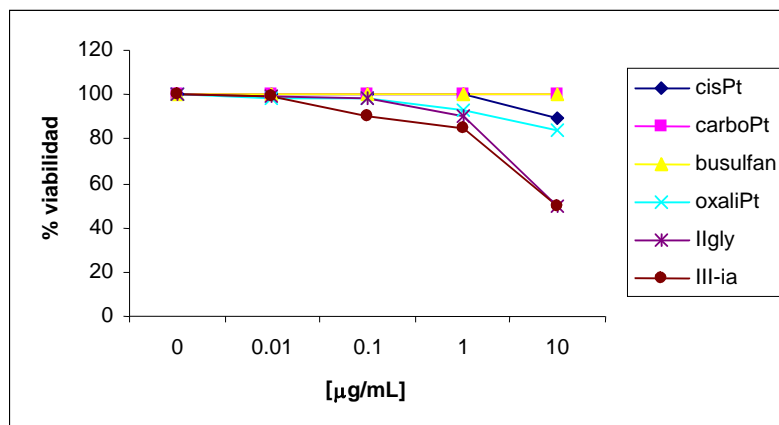
5.8 Resultados en SK-LU-1, línea celular de carcinoma de pulmón

En la línea celular SK-LU-1 se observó una actividad antiproliferativa del 50% con las casiopeínas Igly y III-ia, las cuales mostraron una CI₅₀ de 14.62 y 15.03 μg/mL respectivamente. Ninguno de los fármacos control mostró actividad.

Tabla 15. Porcentaje de viabilidad de SK-LU-1

[μg/mL]	cis Pt	carboPt	Bus	oxaliPt	Igly	III-ia
0	100	100	100	100	100	100
0.01	100	100	100	98	99	99
0.1	100	100	100	98	98	90
1	100	100	100	93	90	85
10	89	100	100	84	50	50

Gráfica 8. Ensayo de proliferación celular para la línea SK-LU-1

Tabla 16. Concentraciones Inhibitorias 50 [intervalo de confianza] $_{\alpha=0.05}$ en SK-LU-1

Compuestos	proporciones	[µg/mL]
Ilgly		14.62 [8.29-31.96]
III-ia		15.03 [7.33-40.61]

5.9 Resultados de actividad de las casiopeínas en todas las líneas

Para la casiopeína IIgly la mayor actividad se observó en la línea celular CaLo y HeLa con 23 y 31% de viabilidad y una CI_{50} de 2.48 y $3.24\mu\text{g/mL}$ respectivamente.

Para la casiopeína III-ia la línea celular más sensible fue SiHa con 42% de viabilidad y una CI_{50} de $8.76\mu\text{g/mL}$.

La mayor actividad en la mezcla de las casiopeínas III-ia/IIgly fue la línea celular CaLo con 31, 32 y 34% de viabilidad en las proporciones (1:3; 1:1 y 3:1); y CI_{50} de 2.92, 3.75 y $7.77\mu\text{g/mL}$. En tanto que las líneas celulares MCF-7 y HCT-15 mostraron un 33% de viabilidad en la proporción (3:1), con una CI_{50} de 2.2 y $2.23\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Por último en la línea HeLa la viabilidad fue de 32% en la proporción (1:3) con una CI_{50} de $3.08\mu\text{g/mL}$.

Tabla 17. Porcentaje de viabilidad obtenido de las casiopeínas (IIgly y III-ia)

[10 $\mu\text{g/mL}$]		HCT-15	HeLa	MCF-7	SiHa	SK-LU-1	CaLo	InBl	U-373
IIgly		42	31	46	45	50	23	50	63
III-ia		49	49	50	42	50	64	50	50
	50:50	41	37	41	64	100	32	59	44
III-ia/IIgly	75:25	33	39	33	58	60	34	50	38
	25:75	36	32	36	60	100	31	57	48

En la tabla se muestra la sensibilidad de las líneas tumorales a los fármacos en orden decreciente de actividad.

	HeLa	MCF-7	HCT-15	CaLo	U-373	SiHa	InBl	SK-LU-1
% viabilidad	25	30	30	31	32	36	38	-----
combinaciones	carbo/Igly	bus/Igly	bus/Igly	bus/Igly	carbo/Igly	oxali/III-ia	bus/Igly	-----
compuestos	Igly 31 <i>III-ia 49</i> carboPt 27 cisPt 29	Igly 46 III-ia 52 CisPt 45	Igly 42 III-ia 49 cisPt 45	<i>Igly 23</i>	<i>III-ia 50</i> carboPt 50	Igly 45 III-ia 42 OxaliPt 50	Igly 50 III-ia 50	Igly 50 III-ia 50

HeLa: La mayor inhibición de crecimiento se obtuvo con la mezcla carboplatino/casiopeína Igly, aunque también mostraron buena actividad los fármacos, carboplatino, cisplatino, casiopeína Igly y casiopeína III-ia.

U-373: La mayoría de las mezclas mostró buena actividad, provocando mayor inhibición de la proliferación que en el tratamiento de monofármaco.

SK-LU-1: No se observó actividad con ninguna mezcla, pero sí con las casiopeínas solas.

InBl, MCF-7, CaLo y HCT-15: La combinación busulfan/casiopeína Igly presentó la mejor actividad.

SiHa: Resultó ser la única línea en la que la casiopeína III-ia en combinación muestra buena actividad. Vale la pena señalar que la proliferación se inhibe casi de igual forma que usándola sola, siendo esta línea la más sensible a esta casiopeína

Las casiopeínas Igly y III-ia, resultaron ser los compuestos con mayor actividad en todas las líneas, actuando con eficacia aun sin combinar. El uso de fármacos catiónicos lipofílicos, como las casiopeínas, esta recomendado; el hecho de ser catiónico y lipofílico permite que este tipo de fármacos se acumulen y permanezcan por períodos largos preferentemente en células tumorales, promoviendo así la inhibición de la función mitocondrial. No obstante, debe aun ser demostrado el o los sitios exactos de acción de las casiopeínas y sus derivados, ya que está descrito que algunas drogas con base en Cu(II) tienen su actividad a través del rompimiento del ADN. (35, 36)

- Podemos concluir que existe sinergia en todas las combinaciones de las casiopeínas, entre sí y con los fármacos comerciales utilizados, no obstante la sinergia mostrada fue de poca magnitud, ya que las casiopeínas solas son casi igualmente activas. Los cuatro fármacos comerciales utilizados tienen mecanismo de acción ligados a daño al material genético y todos éstos, son ciclo específico (actúan en la fase G_1) y presentan resultados distintos en sus diferentes combinaciones.
- Actualmente se realizan en nuestro laboratorio, experimentos con fármacos que presentan su acción en otras etapas del ciclo celular.
- El conjunto de estudios permitirá proponer la acción de un fármaco o la combinación de algunos, para sugerir tratamientos clínicos.

- (1) Compendio de Cáncer 2000. **Mortalidad/Morbilidad. Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas**. Primera edición 2002.
- (2) Ruiz Azuara, L. Dirección General de Invenciones, Marcas y Desarrollo Tecnológico. SECOFI. REGISTROS NUM: 18801-120579, 18802-105800
US Patent Re 35,458 Feb 18 (1997)
US Patent Number Ap 21 (1982)
No. De Registro 55763260, Nov. 19 1996
No. De Registro 35458, Feb 18 1996 EEUU.
- (3) Ruiz Ramírez L, de la Rosa ME, Gracia Mora I, Mendoza A, Pérez G, Ferrer-Sueta G, Breña M, Gutierrez P, Pimentel E, Cruces M, Natarajan AT. **Casiopeínas, Metal Based-Drugs a New Class of Antineoplastic and Genotoxic Compounds**. J Inorg Biochem, 1995, 59: 206.
- (4) Jiménez, LF., Merchant, H. **Biología celular y molecular**. Prentice Hall, 1ª edición, México 2003, pp. 663-666.
- (5) Bruce A., Johnson A, Lewis J, Raff M., Keith R, Walter P. **Biología Molecular de la Célula**, Ediciones Omega, 4ª edición, Barcelona. 2004. pp. 1313-1362.
- (6) Goodman LS Gilman A. **Las bases farmacológicas de la terapéutica** Vol. II. McGraw- Hill Interamericana, 1996, pp. 1302-1308.
- (7) Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J: **Cancer incidence in five continents**, vol VII. International Agency for Research on Cancer, Scientific Publications 143. Lyon; IARC, 1997.
- (8) <http://www-dep.iarc.fr/>. **GLOBOCAN 2002**.
- (9) INEGI. **Estadísticas vitales**. Base de datos 2004
- (10) Parkin DM; Bray F, Ferlay J, Pisani P: **Estimating the world cancer burden**. Globocan 2000, Int J Cancer 2001, 94:153-156.
- (11) Richart RM, Barron BA: **A follow-up study of patients with cervical displasia**. Am J Obstet Gynecol 1969, 105:371-386.
- (12) Sedlis A, Bundy BN, Rotman MZ, Lentz SS, Muderspach LI, Zaino RJ: **A randomized trial of pelvic radiation therapy versus no further therapy in selected patients with stage IB carcinoma of the cervix after radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy; A Gynecologic Oncology Group Study**. Gynecol Oncol 1999, 73:177-183.

- (13) Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett R, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, Souhami L, Grigsby P, Gordon W Jr, Alberts DS: **Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early early-stage cancer of the cervix.** J. Clin. Oncol. 2000, 18:1606-1613.
- (14) Herrera GA, Granados GM, **Manual de Oncología. Procedimientos medicoquirúrgicos.** Instituto Nacional de Cancerología. Mc Graw Hill 2^a ed. México 2003. pp 335-353, 398-411, 472-492, 506-521, 675-682.
- (15) Meneses GA, Mohar AB. **Principales neoplasias en México.** Manual Moderno. México, D.F., 1999. pp. 27-33, 35-43, 71-88, 109-117.
- (16) National Cancer Institute. <http://www.cancer.gov/>
- (17) Carter SK, Glatstein E, Livingston RB. **Principles of Cancer Treatment.** McGraw-Hill, New York 1982, pp. 103-105
- (18) Perry MC, **The Chemotherapy Source Book.** Williams & Wilkins. Baltimore 1982. pp. 91-125.
- (19) 3^{er}. Curso-Taller “*Quimioterapia Antineoplásica*”. Instituto Nacional de Cancerología. Dirección de Docencia, Departamento de Educación para Enfermería y Paramédicos, Departamento de Enfermería. Diciembre 2006.
- (20) Barrera FJL, Mohar BA. **Manual de procedimientos médicos** del Instituto Nacional de Cancerología de México. Primera edición. Masson Doyma. México 2005. pp. 18, 19, 35, 100, 101, 117.
- (21) Hoskins W, Young RC, Markman M, Pérez CA, Barakat R, Randall M. **Principles and Practice of Gynecologic Oncology.** Lippincott Williams & Wilkins 4th ed. 2005. pp 466-468.
- (22) Rose PG, Bundy BN, Watkins EB, Thigpen JT, Deppe G, Maiman MA, Clarke-Pearson DL, Insalacos S: **Concurrent cisplatin-based chemoradiation improves progression-free survival in advanced cervical cancer: results of a randomized Gynecologic Oncology Group study.** New Engl J Med 1999, 340:1144-1153.
- (23) Abu-Rustum NR, Lee S, Correa A, Massad LS: **Compliance with and acute hematologic toxic effects of chemoradiation in indigent women with cervical cancer.** Gynecol Oncol 2001, 81:88-91

- (24) Yang LX, Douple EB, O'Hara JA, Wang HJ: **Production of DNA double-strand breaks by interactions between carboplatin and radiation: a potential mechanism for radiopotential.** Radiat Res 1995, 143:309-315.
- (25) Lokich J, Anderson N: **Carboplatin versus cisplatin in solid tumors: an analysis of the literature.** Ann Oncol 1998, 9:13-21
- (26) Douple EB, Richmond RC, O'Hara JA, Coughlin CT: **Carboplatin as a potentiator of radiation therapy.** Cancer Treat Rev 1985, 12:111-124.
- (27) Cividalli A, Ceciarelli F, Livdi E, Altavista P, Cruciani G, Marchetti P, Danesi DT: **Radiosensit by oxaliplatin in a mouse adenocarcinoma; influence of treatment schedule.** Int J Radiat Oncol Biol Phys 2002, 52:1092-1098.
- (28) Kjellen E, Jhonsson A: ***In vitro* radiosensitization by oxaliplatin and 5-fluorouracil a human colon cancer cell line.** Acta Oncol 2005, 44:687-693.
- (29) Turitto G, Panelli G, Frattolillo A, Auiemma A, de Luna FS, Cione G, De Angelis CP, Muto P, Iaffaioli RV: **Phase II study of neoadjuvant concurrent chemioradiotherapy with oxaliplatin-containing regimen en locally advanced rectal cancer.** Front Biosci 2006, 11:1275-1279.
- (30) Fracasso PM, Blessing JA, Wolf J, Rocereto TF, Berek JS, Waggoner S: **Phase II evaluation of oxaliplatin in previously treated squamous cell carcinoma of the cervix; a gynecologic oncology group study.** Gynecol Oncol 2003, 90:177-180.
- (31) Acquatella G. **Manual de Quimioterapia.** 3ª edición, INCAN. Venezuela 1995.
- (32) Memorias del Curso de Cáncer y Quimioterapia, Facultad de Química e Instituto Nacional de Cancerología, México, 1992, pp. 13-19
- (33) 3ª Jornada de Trabajo en Casiopeínas (memorias) Taxco Guerrero, 2002.
- (34) Tovar TA, Ruiz AL. **Estudio estructural y electrónico de una serie de complejos metálicos de Cu(II) (Casiopeínas®) con actividad antineoplásica.** Departamento Química Inorgánica y Nuclear. Facultad de Química, UNAM. 2º Congreso Nacional de Química Médica. Querétaro 2006.
- (35) Davis S, Weiss MJ, Wong JR, Lampidis TJ, Chen LB. **Mitdrial and plasma membrane potential cause unusual accumulation and retention of rhodamine 123 by human breast adenocarcinoma-derived MCF-7 cells.** J Biol Chem 1985: 260; 13844-13850

(36) Fantin VR, Berardi MJ, Scorrano L, Komeryer SJ, Leder P. **A novel mitochondrio toxic small molecule that selectively inhibits tumor cell growth.** *Cancer Cell* 2002; 2: 29-42