



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**Evaluación *in vitro* de la citotoxicidad de dos complejos de coordinación
de Cu (II) derivados del fenol, en diversas líneas celulares neoplásicas**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Q U Í M I C A

P R E S E N T A:

REBECA VILCHIS MARTÍNEZ

ASESOR DE TESIS:

DR. ENRIQUE RAMÓN ANGELES ANGUIANO

COASESORA DE TESIS:

DRA. CYNTHIA ORDAZ PICHARDO

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO, JULIO

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

C. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 VOTACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Evaluación in vitro de la citotoxicidad de dos complejos de coordinación de Cu (II) derivados del fenol, en diversas líneas celulares neoplásicas

Que presenta la pasante: **Rebeca Vilchis Martínez**

Con número de cuenta: 407000034 para obtener el Título de: Química

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcallí, Méx. a 09 de agosto de 2011.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Ana María Velázquez Sánchez	
VOCAL	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	
SECRETARIO	M.C. Ofelia Vega Vázquez	
1er SUPLENTE	M.C. Brigida del Carmen Camacho Enríquez	
2do SUPLENTE	M.C. Alberto Ramírez Murcia	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm

D e d i c a t o r i a s

A Dios, por regalarme la vida, una familia hermosa, amigos como los que tengo, por enseñarme que el camino es difícil pero que Él te da todo para hacerlo llevadero y muy agradable. Por darme la fuerza, las ganas y el compromiso para llegar hasta aquí, pues no es fácil.

A mis padres, María del Rocío Martínez Foglia y Manuel Vilchis Ortega, gracias por todo, no tengo palabras ni hechos suficientes para demostrarles toda la admiración que tengo hacia ustedes, ya que me han enseñado que el trabajo duro es la única herramienta para obtener lo que se quiere, además por estar conmigo siempre, en los momentos más difíciles, en los felices, en los tristes, en los momentos en los que necesitaba un consejo, un regaño o simplemente un abrazo. Mami por cuidarme siempre, por siempre salir corriendo conmigo al hospital (debido a mi excelente salud, ja), papi por la paciencia y por darme todo. Gracias a los dos por criarme ya que ustedes dejaron muchos de sus sueños por aferrarse a los míos, por enseñarme que sin el amor de una familia nada de esto sería posible, esto es para ustedes y de ustedes, espero que se sientan orgullosos pues yo me siento inmensamente orgullosa de decir que ustedes son mis padres. Los amo.

A Gaby y Crystian, por permitirme estar con ustedes en los momentos más importantes de sus vidas, por darme el mayor honor al elegirme como madrina de su hijo, mi sobrino y mi enano, Santiago, por dejarme ser parte de su nueva familia; por estar conmigo, los quiero mucho.

A Alejandra, gracias hermana, por estar conmigo y hacerme reír mucho con tus ocurrencias. Esperando que esto te aliente a hacer lo mismo en el área que más te guste. Te quiero y siempre estaré aquí para lo que necesites.

A todo mi familia, gracias a mis tíos y primos. Especialmente a mi tía Hilda y a mí tío Pablo por su cariño, y también a mi prima Bolis y mi primo Luis los quiero mucho a ambos pues con ustedes he pasado momentos muy especiales e importantes y los considero mis hermanos.

A Daniel, por ser mi amigo y compañero, por estar conmigo siempre durante estos años, en la biblioteca cuando estabas ahí contra tu voluntad jajaja; por toda la paciencia, por siempre cuidarme, por tu amistad, por secar mis lágrimas cuando ya no podía, por alentarme, por creer en mí y sobre todo por tu amor, por enseñarme que el trabajo no lo es todo, por convertirte en el amor de mi vida. Por regalarme momentos increíbles, por ser parte de este proyecto pues siempre hemos hecho un excelente equipo. Gracias mi amor, te amo;¡

A Carlangas, Pancho, Juanito, Beto, Edmar, Anita, Dariss, Eleni, Erica, Gaby, por regalarme su amistad, por los horas alegres y divertidas que pasamos dentro y fuera de las aulas

de la Facultad, por las cervezas jaja, gracias chicos(as) por estar conmigo; no dejarme sola en los momentos difíciles, gracias por ser mis amigos(as). Cuentan conmigo siempre, los quieroooo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme estudiar en la máxima casa de estudios, por ser parte de las mejores universidades del mundo; porque llevo tatuados en la piel el orgullo de ser PUMA, goyaaa goyaaa ...

A todos mis profesores por regalarnos sus conocimientos, por enseñarnos la humildad (Dr. Penieres), por enseñarnos la dedicación y el gusto por lo que se hace (Dra. Guille y Maestro Espino), por ser nuestros amigos (M. en C. Ofelia, Maestra Lidia y M. en C. Brigida). Gracias a todos a todos, por formarnos con ética, con el fin de llegar a formar un país mejor.

A Dr. Enrique Angeles, por ser mi maestro, por regalarme su conocimiento en el aula y en el laboratorio, por asignarme este proyecto que me encanta, por brindarme la confianza, por enseñarnos a mirar más allá y sobre todo por creer en mí. Gracias “Doc”.

A la Dra. Cynthia Ordaz, por la confianza que me brindo en el desarrollo de este proyecto, por regalarme sus conocimientos y sus asesorías, pues ya sabe que soy nueva, por abrirme las puertas de su laboratorio y dejarme ser parte de él.

A la M. en C. Susana Frias, por enseñarme y tenerme toda la paciencia durante esos meses cuando llegué a aprender a realizar cultivos celulares, por la confianza que me dio. Gracias.

A Emmanuel, Iván y Mary, mis amigos del IPN ya que nuestra amistad nació junto con este proyecto, por las horas divertidas que pasamos dentro y fuera del laboratorio, por todo el apoyo que me han brindado y su ayuda; espero seguir contando con su amistad.

Al Dr. Andrés Romero, por la confianza al permitirme usar su laboratorio (Laboratorio 8. Biología Molecular) para el desarrollo experimental de mi proyecto, por el tiempo que me brindaba en cubrir mis dudas. Gracias.

A la Sr. Carmen, laboratorista del Laboratorio 8 de Biología Molecular; por su amistad y todo el apoyo que me brindo cuando ya no podía con el material (cuando tenía que lavar y esterilizar unas tinas enormes jaja), por siempre ayudarme a buscar reactivos y soluciones, por enseñarme a lavar el material de uso biológico (pues de todos se aprende), por las risas y hacerme mucho más ligero las horas de trabajo.

A mis compañeros del LQM, Gustavo, Mónica, Vic I, Vic II, Priscila, Edgar y todos los que me faltan, por la compañía, amistad, las comidas, pasteles y la ayuda cuando necesitaba los equipos. Gracias.

INDICE GENERAL

	Páginas
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ABREVIATURAS	12
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	13
2. JUSTIFICACIÓN	14
3. OBJETIVOS	
3.1 OBJETIVO GENERAL	15
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES	15
4. GENERALIDADES	
4.1 CÁNCER	16
4.1.1 EPIDEMIOLOGÍA	
4.1.2 EPIDEMIOLOGÍA MUNDIAL	18
4.1.3 EPIDEMIOLOGÍA NACIONAL	19
4.2 CÁNCER DE MAMA	
4.2.1 LA MAMA	21
4.2.2 CÁNCER DE MAMA	22
4.2.2.1 DIAGNÓSTICO	23
4.2.2.2 TRATAMIENTO	24
4.3 CÁNCER CÉRVICO-UTERINO	
4.3.1 CUELLO UTERINO	25
4.3.2 CÁNCER CÉRVICO-UTERINO	25
4.3.2.1 DIAGNÓSTICO	27
4.3.2.2 TRATAMIENTO	27
4.4 CÁNCER DE PRÓSTATA	
4.4.1 LA PRÓSTATA	28
4.4.2 CÁNCER DE PRÓSTATA	28

4.4.2.1	DIAGNÓSTICO	30
4.4.2.2	TRATAMIENTO	30
5.	QUIMIOTERAPIA	30
5.1	TAXOL	35
5.2	DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS. COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE COBRE (II)	36
6.	ANTECEDENTES	37
7.	HIPÓTESIS	44
8.	MÉTODOS Y MATERIALES	
8.1	CULTIVO DE LAS LINEAS CELULARES NEOPLASICAS	44
8.2	CULTIVO PRIMARIO DE LINFOCITOS HUMANOS	44
8.3	TÉCNICA DE MTT	45
8.4	TÉCNICA DE CV	46
8.5	VIABILIDAD CELULAR	47
8.6	CÁLCULO DE LA IC ₅₀	47
9.	RESULTADOS	
9.1	TÉCNICA DE MTT EN LA LÍNEA CELULAR MDA-MB-231	48
9.2	TÉCNICA DE MTT EN LA LÍNEA CELULAR HeLa	49
9.3	TÉCNICA DE MTT EN LA LÍNEA CELULAR PC-3	50
9.4	TÉCNICA DE CV EN LA LÍNEA CELULAR MDA-MB-231	51
9.5	TÉCNICA DE CV EN LA LÍNEA CELULAR HeLa	52
9.6	TÉCNICA DE CV EN LA LÍNEA CELULAR PC-3	53
9.7	TÉCNICA DE MTT EN UN CULTIVO PRIMARIO NO CANCEROSO (LINFOCITOS)	54
9.8	TÉCNICA DE CV EN UN CULTIVO PRIMARIO NO CANCEROSO (LINFOCITOS)	55
9.9	CÁLCULO DE LA IC ₅₀	56
9.10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	57
10.	DISCUSIÓN	58
11.	CONCLUSIONES	61
12.	PERSPECTIVAS	62

REFERENCIAS

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Fármacos antineoplásicos, frecuentemente utilizados en quimioterapia	31
Tabla 2 Propiedades físicas de los complejos de coordinación de Cu(II), LQM 403 y LQM 406	37
Tabla 3 IC ₅₀ obtenida para los complejos de Cu(II)	56
Tabla 4 Análisis de varianza para la técnica de MTT utilizando un ajuste de mínimos cuadrados	57
Tabla 5 Análisis de varianza para la técnica de CV utilizando un ajuste de mínimos cuadrados	57

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Comparación entre la división celular de las células normales y las células cancerosas	16
Figura 2	Distribución porcentual de defunciones por tumores malignos para cada sexo, 2006-2007	20
Figura 3	Constitución anatómica de la mama de una mujer	21
Figura 4	Partes de la mama en donde se desarrollan carcinomas	22
Figura 5	Útero, cérvix o cuello uterino y otras partes del sistema reproductor femenino	25
Figura 6	Ubicación de la próstata	28
Figura 7	Esquematización del cáncer de próstata	29
Figura 8	Mecloretamina	30
Figura 9	Taxol	36
Figura 10	Reacción realizada por las mitocondrias de las células vivas, después de la aplicación de los tratamientos (MTT)	45
Figura 11	Colorante Cristal Violeta (CV)	46
Figura 12	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 403	48
Figura 13	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 406	48
Figura 14	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral HeLa después del tratamiento con el LQM 403	49
Figura 15	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral HeLa después del tratamiento con el LQM 406	49
Figura 16	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral PC-3 después del tratamiento con el LQM 403	50
Figura 17	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral PC-3 después del tratamiento con el LQM 406	50
Figura 18	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 403	51
Figura 19	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 406	51
Figura 20	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral HeLa después del tratamiento con el LQM 403	52
Figura 21	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral HeLa después del tratamiento con el LQM 406	52
Figura 22	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral PC-3 después del tratamiento con el LQM 403	53
Figura 23	Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral PC-3 después del tratamiento con el LQM 406	53
Figura 24	Porcentaje de viabilidad de linfocitos después del tratamiento con el LQM 403	54
Figura 25	Porcentaje de viabilidad de linfocitos después del tratamiento con el	54

	LQM 406	
Figura 26	Porcentaje de viabilidad de linfocitos después del tratamiento con el LQM 403	55
Figura 27	Porcentaje de viabilidad de linfocitos después del tratamiento con el LQM 406	55
Figura 28	Ligantes de Cu(II)	58
Figura 29	Ligantes de complejos, donde el superíndice indica a que complejo pertenece	59

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CO₂	Dióxido de carbono
CV	Cristal Violeta
DMEM	Medio Dulbecco modificado (Dulbecco's Modified Eagle Medium)
HeLa	Línea celular humana derivada del cáncer de cérvix
IC₅₀	Concentración Inhibitoria al 50%
INC	Instituto Nacional de Cáncer
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
LQM	Laboratorio de Química Medicinal
MDA-MD-231	Línea celular humana derivada del cáncer de mama
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol
mL	Mililitro
μM	Micromolar
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PBS	Solución salina amortiguadora de fosfatos
PC-3	Línea celular humana derivada del cáncer de próstata
RPMI	Medio para crecimiento de linfoblastos y líneas celulares leucémicas (Roswell Park Memorial Institute Medium)
SFB	Suero Fetal Bovino
VPH	Virus del Papiloma Humano
% V	Porcentaje de viabilidad de las células después de la aplicación de los tratamientos
DF	Grados de libertad
Seq SS	Suma de cuadrados
Adj SS	Suma de cuadrados ajustados
Adj MS	Cuadrados medios ajustados
F	Prueba de Fisher

R E S U M E N

El cáncer se caracteriza por la existencia de células que han sufrido un cambio en los mecanismos de control que regulan su capacidad de diferenciación y proliferación, siendo este padecimiento una de las principales causas de muerte a nivel mundial. En el presente trabajo se analizó la potencial actividad antineoplásica de dos complejos de coordinación de Cu(II), el LQM 403 y el LQM 406. Para esto se utilizaron tres líneas celulares neoplásicas diferentes, MDA-MB-231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer cérvico-uterino) y PC-3 (cáncer de próstata), además se empleó un cultivo primario no canceroso (linfocitos) y seis dosis (12.5, 18.75, 25, 37.5, 50 y 100 μM) de los compuestos que fueron aplicadas a los cultivos celulares, analizados con la técnica de MTT y CV. Se contrastó la actividad de los complejos con la que presenta el taxol (droga muy común usada en la práctica clínica en quimioterapia). (CARON AND HERWOOD, 2007)

Los resultados obtenidos muestran que el complejo de Cu(II), LQM 406 afecta significativamente la viabilidad celular de células tumorales analizadas con la técnica de MTT, obteniéndose una IC_{50} = 14.45 μM en MDA-MB-231, IC_{50} = 26.12 μM en HeLa, IC_{50} = 26.76 μM en PC-3 y IC_{50} = 17.35 μM en linfocitos. En conclusión, el compuesto LQM 406, presenta un efecto significativo sobre la viabilidad celular de células neoplásicas, resultando ser el menos citotóxico en células sanas, sugiriendo que este compuesto podría ser potencialmente un compuesto antitumoral.

1 . I N T R O D U C C I Ó N

En el presente trabajo se muestra un tema de salud pública muy apremiante como es el cáncer, el cual es una de las principales causas de muertes a nivel mundial.

El cáncer es una enfermedad en la que las células cancerosas contradicen las reglas más básicas del comportamiento por las cuales se forman y mantienen los organismos pluricelulares, aprovechando todo tipo de oportunidades para hacerlo. Éste padecimiento ha tenido una importancia única y el esfuerzo dedicado a su investigación no sólo ha beneficiado a su tratamiento sino también a un área más amplia del conocimiento médico. (Alberts, 2003)

El esfuerzo para combatirlo ha conducido a hallazgos fundamentales en el ámbito de la biología celular, éste tiene importancia única, ya que la familia de enfermedades agrupadas bajo este título refleja alteraciones de las pautas del comportamiento más fundamental de las células en un organismo pluricelular, así se descubrieron la mayoría de las proteínas que intervienen en la reparación del ADN, en la señalización celular, en el ciclo celular, en la muerte celular programada (apoptosis) y en la estructuración de los tejidos, ya que una alteración de la función puede comportar una proliferación incontrolada, anomalías genéticas y otros comportamientos antisociales característicos de las células neoplásicas.

2 . J U S T I F I C A C I Ó N

En la actualidad el cáncer es una enfermedad que mata a miles de personas a nivel mundial, hoy en día muchos científicos alrededor del mundo están interesados en el desarrollo de nuevos fármacos que actúen contra el cáncer, realizando investigación, buscando nuevas alternativas, proponiendo síntesis de diferentes fármacos, ya sea de origen sintético o natural, con el fin de encontrar medicamentos que tengan un mayor efecto en la inhibición de esta enfermedad y sin ser tan agresivos para el paciente.

En el caso particular de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán en el Laboratorio de Química Medicinal se sintetizaron compuestos de coordinación de Cu(II) derivados del fenol a los que se les atribuye una posible actividad antineoplásica, recopilando información acerca de ellos no se encontraron referencias enfocadas a su papel biológico, al ser complejos nuevos se les realizarán pruebas de citotoxicidad *in vitro* pretendiendo encontrar nuevos fármacos que sean efectivos en el tratamiento del cáncer y sin ser tóxicos para los pacientes. Por tal motivo los objetivos son lo que se establecen a continuación:

3 . O B J E T I V O S

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antitumoral de dos complejos de coordinación de cobre (II) derivados del fenol, en diversas líneas celulares neoplásicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar la citotoxicidad de dos complejos de coordinación cobre (II), ellos son el LQM 403 y el LQM 406 en tres líneas neoplásicas, como son MDA-MB-231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer cérvico-uterino) y PC-3 (cáncer de próstata).
- 2) Evaluar la citotoxicidad de dos compuestos de coordinación de cobre (II), éstos son el LQM 403 y LQM 406y en un cultivo primario de linfocitos (células no cancerosas).
- 3) Obtener la IC_{50} del LQM 403 y del LQM 406 cada una de las líneas celulares neoplásicas así como del cultivo primario no canceroso, para así evaluar cuál de ellos fue el más efectivo.

4 . G E N E R A L I D A D E S

4.1 CÁNCER

El cáncer se caracteriza por la existencia de células que han sufrido un cambio en los mecanismos de control que regulan su capacidad de diferenciación y proliferación. La proliferación excesiva ocasiona la penetración en tejidos adyacentes, la compresión de estructuras vecinas (nervios, vasos, etc.) y la migración a otros lugares donde mantienen su capacidad de crecer y proliferar. (J. Florez, 1997)

Las células cancerosas se caracterizan por dos propiedades hereditarias: Ellas y su progenie se reproducen a pesar de las restricciones normales e invaden y colonizan lugares normalmente reservados a otras células. La combinación de estas dos características es lo que hace que el cáncer sea especialmente peligroso.

La diferencia fundamental entre las células normales y las tumorales se ha explicado de diversas formas: Cambios en los niveles celulares de nucleótidos cíclicos, en la fluidez de la membrana plasmática, en las proteínas segregadas, en el citoesqueleto y en los flujos iónicos, por nombrar solo algunas de ellas. Los mecanismos moleculares reales que intervienen en este proceso continúan siendo desconocidos, pero está claro que las células cancerosas están menos sujetas a la mayoría de los mecanismos de retroalimentación que controlan la división celular normal tanto en los tejidos como en los cultivos celulares. Así por ejemplo, las células cancerosas generalmente continuarán dividiéndose en cultivo más allá del punto en el que las células normales se detienen por la inhibición por contacto, proliferando y ampliándose incluso unas encima de las otras cuando ya no puedan extenderse sobre la placa de cultivo. Además las células tumorales requieren, para sobrevivir y dividirse en cultivo, menos factores protéicos de crecimiento que las células normales. En algunos casos esto puede ser debido a que producen sus propios factores de crecimiento. (Alberts, 2003)

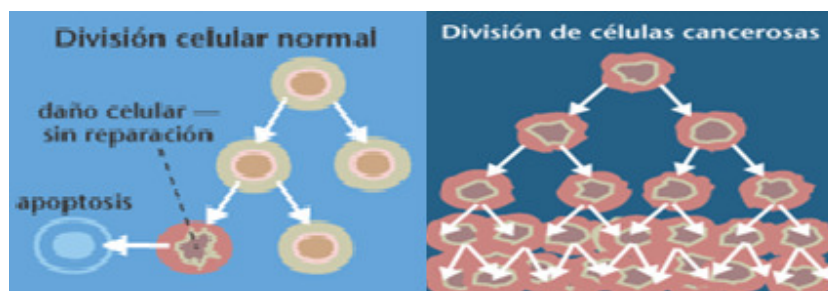


Figura 1. Comparación entre la división celular de células normales y células cancerosas

Una célula anormal que no prolifere más que sus vecinas normales no produce ningún daño significativo, sean cuales sean las propiedades desagradables que pueda tener; pero si su proliferación está fuera de control, producirá un tumor o *neoplasma* –una masa de células anormales que crece de forma inexorable-. Mientras las células neoplásicas permanezcan agrupadas en una masa única, se dice que el tumor es **benigno**. En este estudio generalmente se puede conseguir la curación completa extrayendo la masa quirúrgicamente. Un tumor se considera canceroso sólo si es **maligno**, es decir, si sus células tiene la capacidad de invadir el tejido circundante. La capacidad invasora implica, generalmente, la habilidad de liberarse, entrar en el torrente sanguíneo o en los vasos linfáticos y formar tumores secundarios o **metástasis** en otros lugares del cuerpo. Ver Figura 1.

El cáncer se clasifica de acuerdo con el tejido y con el tipo celular a partir del cual se origina. Están los que se derivan de las células epiteliales se denominan **carcinomas** y los que se derivan de tejido conjuntivo o de fibras musculares **sarcomas**. Otros tipos de cáncer son las diversas formas de **leucemia**, derivadas de células hematopoyéticas, el cáncer derivado del sistema nervioso. (Alberts, 2004)

Paralelamente a la serie de nombres aplicados a los tumores malignos, existe una serie de nombres relacionados con tumores benignos: Un **adenoma**, por ejemplo, es un tumor epitelial benigno con una organización glandular, siendo el tipo de tumor maligno correspondiente un **adenocarcinoma**; de modo parecido, un **condroma** y un **condrosarcoma** son, respectivamente, tumores de cartílago benigno y maligno. Aproximadamente el 90% de los cánceres humanos son carcinomas, quizá porque la mayor parte de la proliferación celular se produce en epitelios, o quizá porque los tejidos epiteliales están expuestos más frecuentemente a las diferentes agresiones de tipo físico o químico que favorecen el desarrollo del cáncer. (Alberts, 2004)

Por otro lado se dice que el cáncer es multifactorial porque los factores que pueden causar daños al ADN y transformar una célula normal en cancerosa o tumoral son muy diversos, y pueden pertenecer a cualquiera de los siguientes: agentes biológicos (virus, parásitos y bacterias), químicos (arsénico, asbesto, entre otros) y físicos (exposición a radiación ionizante, etc.). Se habla también de que los cambios pueden ser genéticos si ocurrieron modificaciones en los genes (inserción, delección, translocación) o epigenéticos si éstos ocurrieron en células germinales o si el cambio no se da en el ADN si no en la expresión de los genes. (Lewin, 2000)

Las células presentes en un tumor no son homogéneas aunque se hayan originado de un mismo grupo clonal; por el contrario en el transcurso de la proliferación y del crecimiento, las células desarrollan características distintas de cáncer bioquímico, morfológico e inmunológico, probablemente como consecuencia de cambios mutágenos. Esta heterogeneidad celular se traducirá, entre otras consecuencias, en diferencias de sensibilidad a la acción de los fármacos citotóxicos, desde una sensibilidad elevada hasta una resistencia total.

La población de células de un tumor presenta diferencias relativas a la fase del ciclo celular en que se encuentran. Así, mientras unas están en fases de elevado crecimiento o proliferación, otras pueden encontrarse en fase de reposo. Gran parte de las neoplasias se diagnostican cuando han llegado a una etapa de crecimiento desacelerado; esta desaceleración se debe a que presentan problemas de vascularización, competencia entre células para conseguir los elementos nutritivos, problemas de espacio, etc. Estos tumores contienen una fracción muy elevada de células que ya no se dividen o que lo hacen muy lentamente. Puesto que muchos de los fármacos antineoplásicos son más eficaces contra las células de división rápida, esto quiere decir que, en principio, gran parte de la población celular de un tumor puede ser resistente al agente antineoplásico. Bajo estas circunstancias, la reducción inicial del número de células (sea por cirugía, radioterapia, etc.) puede modificar el equilibrio intratumoral y estimular a las células que se dividían lentamente para que lo hagan con más rapidez, convirtiéndose en células más sensibles a los fármacos que actúan en las fases de crecimiento rápido. (Alberts, 2004)

4.1.1 EPIDEMIOLOGÍA

4.1.1.1 EPIDEMIOLOGÍA MUNDIAL

A nivel mundial, el cáncer es la principal causa de mortalidad, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007. La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que alrededor de 84 millones de personas morirán a causa de esta enfermedad entre 2005 y 2015. (INEGI, 2009).

Asimismo, la mortalidad más alta es debida al cáncer de pulmón, seguido por el de estómago, hígado, colon y mama; por sexo las incidencias más frecuentes en los hombres son por cáncer de pulmón, estómago, hígado, colon-recto, esófago y **próstata**; y para las mujeres al de **mama**, pulmón, estómago, colon-recto y **cuello uterino**. (OMS, 2009)

Los principales tipos de cáncer que contribuyen a la mortalidad general anual por cáncer son los siguientes:

- Pulmón (1.4 millones de defunciones)
- Estómago (866,000 defunciones)
- Hígado (653,000 defunciones)
- Colon (677,000 defunciones)
- Mama (548,999 defunciones)

Aproximadamente el 72% de las defunciones por cáncer ocurridas en 2007 se registraron en países de ingresos bajos y medianos. Se prevé que el número de defunciones anuales mundiales por cáncer seguirá aumentando y llegará a unos 12 millones en 2030.

De acuerdo con la OMS, en 2005 hubo más de 500,000 casos nuevos de cáncer cervical, de los cuales más de 90% se reportaron en países en vías de desarrollo. Ese año, al menos 260,000 mujeres murieron por esta causa; 95% de estas muertes ocurrieron en la misma región. (OMS, 2010)

4.1.1.2 EPIDEMIOLOGÍA NACIONAL

En México, durante 2007 se registraron 514,420 defunciones, 55.4% fueron hombres y 44.6% de mujeres; de las cuales, los tumores malignos ocuparon el tercer lugar entre las principales causas de muerte del país con 68,815 casos (13.4%), por debajo de los decesos por las enfermedades del sistema circulatorio y las enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas.

En el ámbito nacional, para 2007 el cáncer representó la tercera causa de muerte entre las mujeres con 35,303 defunciones (15.4%), mientras en los hombres fue la cuarta causa con 33,509 muertes, lo que representa 11.8% del total de defunciones entre los varones.

Algunos tipos de cáncer se localizan de forma diferenciada en mujeres y hombres, ya sea por factores biológicos o de riesgo, lo que influye en su prevalencia. **En las mujeres los tres principales tipos de cáncer que causaron fallecimientos durante 2007 fueron: El de mama (13.8%), cuello del útero (12.1%) e hígado (7.6%);** es importante señalar que si bien disminuyó el porcentaje de muertes por estos tipos de cáncer en comparación con 2006, se continúan manteniendo en los primeros lugares.

En los hombres, el cáncer de próstata (15.7%), de tráquea, bronquios y pulmón (14%) y de estómago (9%) fueron las principales causas de muerte por neoplasias malignas durante 2007; al igual que en las mujeres, estas causas son similares a las de 2006, aunque el porcentaje de muertes que se les atribuyen ha disminuído. (INEGI, 2009)

En México, las frecuencias de neoplasias malignas en el 2003 en hombres y mujeres fueron, representadas en la Figura 2.

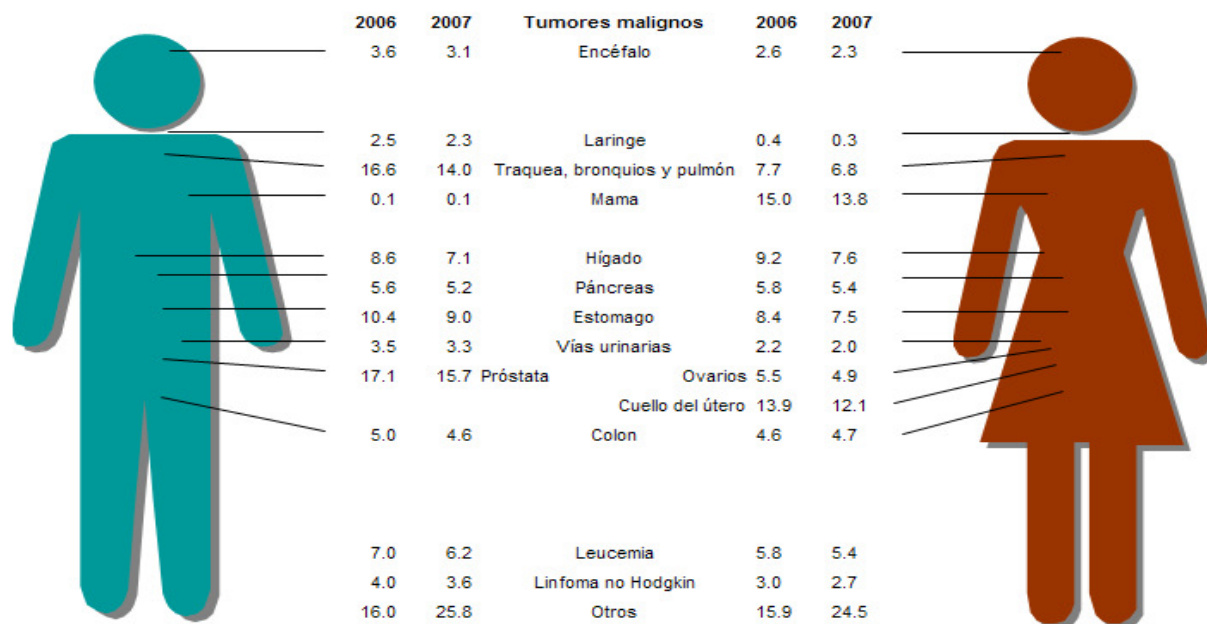


Figura 2. Distribución porcentual de defunciones por tumores malignos para cada sexo, 2006-2007.

Por otro lado, la edad de la población está relacionada con el tipo de cáncer que padece. Los hombres mayores de 60 años presentan mayor incidencia de casos de cáncer de órganos digestivos, seguido del aparato respiratorio y órganos genitales; en la población menor de 20 años, resalta el cáncer del tejido linfático, de órganos hematopoyéticos y tejidos afines, así como las lesiones en ojo, encéfalo y otras partes del sistema nervioso central y órganos genitales masculinos (siendo común el cáncer testicular).

En general, se presenta una tendencia a incrementarse el total de casos, excepto en los tumores malignos de hueso y cartílago articulares en adolescentes de 15 a 19 años; órganos genitales de 20 a 29 años, de ojo, encéfalo y otras partes del sistema nervioso central en niños de 1 a 9 años.

En las mujeres, la incidencia de cáncer en menores de 20 años son por tumores del tejido linfático, de órganos hematopoyéticos y tejidos afines, seguido de ojo, encéfalo y otras partes del sistema nervioso central y los órganos digestivos; y para las mujeres mayores de 60 años destacan los tumores malignos en los órganos digestivos, genitales y mama. Sin embargo, en la población de 50 a 59 años es donde se encuentra la mayor prevalencia de defunciones por estos tipos de cáncer. (INEGI, 2009)

4.2 CÁNCER DE MAMA

4.2.1 LA MAMA

Las mamas, llamadas también senos son órganos glandulares destinados a secretar leche. Existen en el hombre y en la mujer, pero con dimensiones y una significación morfológica muy diferentes. (TESTUT, LATARJET, 1979)

Las mamas están situadas en la mujer, en la parte anterior y superior del tórax, entre la tercera y la séptima costilla. La mama tiene una forma hemisférica y descansa sobre el tórax por su cara plana, presentando en el punto medio de su cara convexa, una eminencia en forma de papila, llamada pezón (Figura 3).



Figura 3. Constitución anatómica de la mama en una mujer

4.2.2 CÁNCER DE MAMA

En medicina, el cáncer de mama se conoce con el nombre de carcinoma de mama. Es una

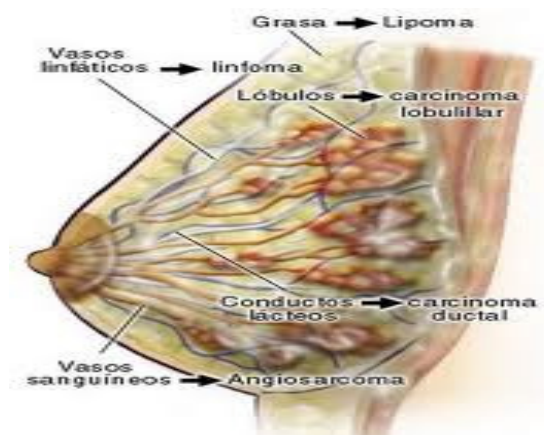


Figura 4. Partes de la mama en donde se desarrollan carcinomas

neoplasia maligna que tiene su origen en la proliferación acelerada e incontrolada de células que tapizan, en 90% de los casos, el interior de los conductos que durante la lactancia, llevan la leche desde los acinos glandulares, donde se produce, hasta los conductos galatóforos, situados detrás de la areola y el pezón, donde se acumula en espera de salir al exterior. Este cáncer de mama se conoce como carcinoma ductal. En el 10% de los casos restantes, el cáncer tiene su origen en los propios acinos

glandulares y se le llama carcinoma lobulillar. El carcinoma ductal puede extenderse por el interior de la luz ductal e invadir el interior de los acinos en lo que se conoce como fenómeno de cancerización lobular (Figura 4). (MedLinePlus, 2010)

Cuando el tumor está confinado a un pequeño grupo de células, se les llama *in situ*. La mayor parte de éstos se detectan por la mamografía, donde aparecen como pequeñas calcificaciones.

Pero si el cáncer es **invasivo**, se distingue del carcinoma *in situ* porque va más allá del tejido y se ha dispersado a los tejidos vecinos, y a través de los vasos sanguíneos a otras partes del cuerpo. La mujer tiende a detectarlo como una “bolita”, mientras que el cáncer *in situ* no se detecta al tacto.

El cáncer de mama es el más frecuente en las mujeres. La mayoría de los tumores que se producen en la mama son benignos, no cancerosos, y son debido a formaciones fibroquísticas.

El quiste es como una bolsa llena de líquido y la fibrosis es un desarrollo anormal del tejido conjuntivo. La fibrosis no aumenta el riesgo de desarrollar un tumor y no requiere de un tratamiento especial. Los quistes, si son grandes pueden resultar dolorosos. La eliminación del líquido con una punción suele hacer desaparecer el dolor. La presencia de uno o más quistes no favorece la aparición de tumores malignos.

Los *tumores benignos* están relacionados en su mayoría con factores genéticos. Los síntomas que producen son dolor e inflamación, pero ni se diseminan al resto del organismo ni son peligrosos. Dentro de los *tumores malignos*, existen varios tipos en función del lugar de la mama donde se produzca el crecimiento anormal de las células y según su estadio. Los tumores pueden ser localizados o haberse extendido, a través de los vasos sanguíneos o mediante los vasos linfáticos, y haber dado lugar a metástasis, es decir, a un cáncer en un órgano distante al originario. De todos los casos de cáncer de mama, sólo el 7-10% de ellos presenta metástasis de inicio.

Los factores de riesgo para desarrollar cáncer de mama son:

- ☞ **Edad:** Las posibilidades aumentan en la medida en que se envejece. Es una enfermedad poco común antes de la menopausia.
- ☞ **Antecedentes familiares:** El riesgo es mayor si la madre, la hermana o la hija tuvieron cáncer de mama, sobre todo a una edad temprana, antes de los 40 años.
- ☞ **Genética:** Los cambios en ciertos genes (BRCA y BRCA2) pueden aumentar el cáncer de mama.
- ☞ **Presencia de obesidad en la menopausia**
- ☞ **Inactividad física**
- ☞ **Tiempo de exposición a los estrógenos:**
 - **Procreación:** Cuanta más edad tiene la mujer cuando da a luz su primer hijo, más son sus probabilidades de padecer cáncer.
 - **Las mujeres que nunca tuvieron hijos:** Aquellas que empezaron a menstruar a una edad muy temprana antes de los 12 años, y que pasaron por la menopausia ya tarde después de los 55 años, aumentan sus posibilidades de tener cáncer. Igualmente las que recibieron hormonas después de la menopausia por más de cinco años.
 - **Aquellas mujeres que han tomado dietilestilbestrol** (De la Garza, 2006)

4.2.2.1 DIAGNÓSTICO

La mayoría de los cánceres de mama son diagnosticados primeramente por las mujeres durante un autoexamen.

La autoexploración mamaria es una técnica de detección del cáncer mamario basada en la observación y palpación que hace la mujer en sus propias mamas. En un alto porcentaje son las mujeres quienes detectan los nódulos que indican una alteración mamaria. La autoexploración es referida por algunos críticos como una herramienta de poca utilidad ya que no detecta lesiones tempranas, lo que sigue es una biopsia a través de una punción tomando una parte del tumor. El estadio del cáncer se determina por el tamaño del tumor, solo los ganglios linfáticos están involucrados y si hay metástasis en otras partes del cuerpo. (De la Garza, 2006)

4.2.2.2 TRATAMIENTO

El crecimiento de estos cánceres puede acelerarse por el uso de hormonas, por lo que debe buscarse la presencia de receptores hormonales; en estos casos, los medicamentos antihormonales, como el leuprolide (Lupron[®]) y el tamoxifen, pueden servir. La presencia del HER-2neu indica que el cáncer puede ser sensible a cierto tipo de quimioterapia.

El tratamiento puede ser una mastectomía radical o una lumpectomía (extirpación parcial del seno) o bien puede incluir la mastectomía radical modificada o la lumpectomía junto con radioterapia. Por lo general también se extirpan los ganglios linfáticos.

El tratamiento dependerá si los ganglios están invadidos o no, por lo que debe buscarse el ganglio centinela. Si éste no presenta células cancerosas, hay mucho menos posibilidades de que el tumor se haya dispersado a otras partes del cuerpo.

También puede emplearse, terapia hormonal, que dependerá de tres factores:

- 1) Si se es menopáusica
- 2) Si el tumor tiene receptores hormonales
- 3) Si se corre el riesgo de que el tumor regrese, por ejemplo, cuando se ha invadido los ganglios

Si se detectan receptores hormonales, debe tomarse un tratamiento antihormonal por cinco años con tamoxifen o inhibidores de la aromatasas.

Cuando están invadidos los ganglios, además de la cirugía, es conveniente recibir quimioterapia y radiación. En un subgrupo de mujeres, la quimioterapia no es el tratamiento adecuado. La terapia con anticuerpos (Herceptin[®]) es útil en algunas mujeres.

4.3 CÁNCER CÉRVICO-UTERINO

4.3.1 CUELLO UTERINO

El cuello uterino o cérvix uterino es la porción fibromuscular inferior del útero que se proyecta dentro de la vagina, y es un componente anatómico exclusivo de la mujer. Está ubicado en la pelvis. El cérvix es la parte inferior, estrecha, del útero (matriz).

El cérvix es parte del sistema reproductor de la mujer que:

- Conecta el útero con la vagina. Durante la menstruación, la sangre corre desde el útero por el cérvix hacia la vagina. La vagina conduce al exterior del cuerpo.
- Produce mucosidad. Durante la relación sexual, la mucosidad ayuda a los espermatozoides a moverse desde la vagina por el cérvix hacia el interior del útero.
- Durante el embarazo, el cérvix se encuentra fuertemente cerrado para ayudar a mantener al bebé dentro del útero. Durante el parto, el cérvix se abre para permitir el paso del bebé por la vagina (Figura 5). (TESTUT, LATARJET, 1979)

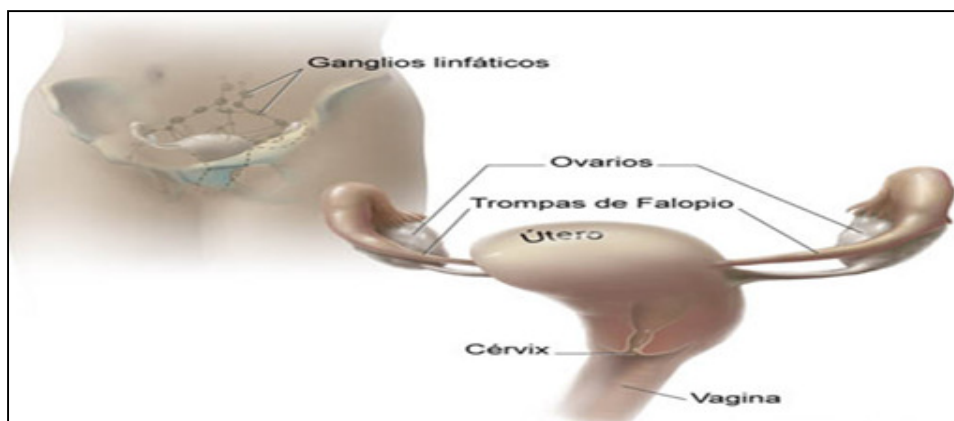


Figura 5. Cérvix o cuello uterino y otras partes del sistema reproductor femenino

4.3.2 CÁNCER CÉRVICO-UTERINO

El cáncer cérvico-uterino obedece a un cambio en las células que cubren las paredes del cuello uterino. Estas células son inicialmente normales y gradualmente se convierten en precancerosas, manifestándose como lesiones en la pared del útero. Eventualmente pueden cambiar a células cancerígenas, sin embargo en más del 50% de las mujeres con lesiones precancerosas, las células permanecen benignas (pre-cancerosas). Con frecuencia, en sus etapas

iniciales el cáncer cérvico-uterino no muestra síntomas por lo que a menudo no se detecta hasta que se hace severo. (OPS, 2010)

La clasificación de las etapas clínicas de la evolución del carcinoma de cuello, partiendo de la etapa cero, que correspondería al carcinoma *in situ* son los siguientes:

- **Estadio I:** Confinado al cuello del útero.
- **Estadio II:** Se extiende más allá del cuello pero no se extiende a la pared de la pelvis; afecta a la vagina en su parte superior sin afectar el tercio inferior.
- **Estadio III:** El carcinoma se extiende a la pared pelviana; en la exploración al tacto rectal no existe espacio entre el tumor y la pared pelviana; el tumor se extiende además al tercio inferior de la vagina.
- **Estadio IV:** Puede infiltrar la pared de la vejiga urinaria o el recto; esta forma incluye diseminación con metástasis.

El pronóstico y la supervivencia para los carcinomas invasivos dependerá sobre todo del estadio al que se detecta el cáncer en primer lugar, y en menor medida del tipo celular predominante en el tumor.

Los factores de riesgo más comunes del cáncer cérvico-uterino son:

- ☞ La exposición a ciertas variedades del Virus del Papilloma Humano (VPH). El VPH es una infección de transmisión sexual que en muchos casos es asintomática, ya que puede transcurrir mucho tiempo antes de que se detecte.
- ☞ No hacerse la prueba de detección de cáncer cérvico-uterino (Papanicolau) periódicamente.
- ☞ Comenzar las relaciones sexuales a una edad temprana.
- ☞ Tener parejas sexuales múltiples, o tener contacto sexual con alguien que ha tenido parejas sexuales múltiples.
- ☞ Contraer el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), que debilita el sistema inmunológico de la mujer haciéndola más vulnerable a la infección por el VPH.
- ☞ Tener una historia familiar de cáncer cérvico-uterino.
- ☞ Grupo de edad (las mujeres de 30-60 años de edad corren un riesgo mayor y éste también aumenta con la edad).
- ☞ Fumar.

- ☞ Estado socio-económico (las tasas de mortalidad e incidencia son más elevadas entre mujeres pobres, ya que ellas no tienen acceso a los servicios de diagnóstico y tratamiento). (OPS, 2010)

4.3.2.1 DIAGNÓSTICO

El cáncer cérvico-uterino es uno de los tipos de cáncer más fáciles de detectar y prevenir debido a que su desarrollo es gradual. Por lo tanto, el examen periódico lo puede detectar antes de que se propague. Este tipo de cáncer es más visible que, por ejemplo, el cáncer de mama. En lugar de tener que observar las células mediante rayos X o biopsia, el ginecólogo puede raspar el interior del cuello uterino y analizar las células utilizando un microscopio (Papanicolau).

Cuando el cáncer ya se ha propagado, se usa la información de los exámenes y pruebas diagnóstico (examen médico, examen físico, citoscopía, radiografía, tomografía computarizada, imágenes por resonancia magnética, tomografía por emisión de positrones, etc.) para determinar el tamaño del tumor, qué tanto ha penetrado los tejidos dentro o alrededor del cuello uterino y la propagación a los ganglios linfáticos u otros órganos distantes (metástasis). (ASC, 2009)

4.3.2.2 TRATAMIENTO

Existen diversos tipos de tratamientos, principalmente se emplean tres clases: Cirugía, que se refiere a la extracción del cáncer en una operación; Radioterapia, que es el uso de Rayos X de alta energía u otros rayos de alta energía para eliminar las células cancerosas y la Quimioterapia que se refiere al uso de medicamentos para eliminar las células cancerosas.

Los medicamentos utilizados con más frecuencia para tratar el CaCu incluyen al Cisplatino, paclitaxel (Taxol[®]), topotecán, ifosfamida y el 5-fluorouracilo (5-FU). Si se elige tratar con quimioterapia, se puede recibir una combinación de medicamentos. Los medicamentos utilizados en la quimioterapia destruyen las células cancerosas y también dañan las células normales, lo que puede resultar en efectos secundarios. (ASC, 2009)

4.4 CÁNCER DE PRÓSTATA

4.4.1 LA PRÓSTATA

La próstata es un órgano de naturaleza glandular que se desarrolla alrededor de la porción inicial de la uretra. Está situada en la excavación pélvica, inmediatamente por debajo de la vejiga. Tiene la forma de un cono de base superior. (Figura 6).

La principal función de la próstata es producir líquido para el semen, el cual transporta los espermatozoides. Durante el orgasmo se presentan contracciones musculares que exprimen el líquido de la próstata dentro de la uretra y luego al exterior.

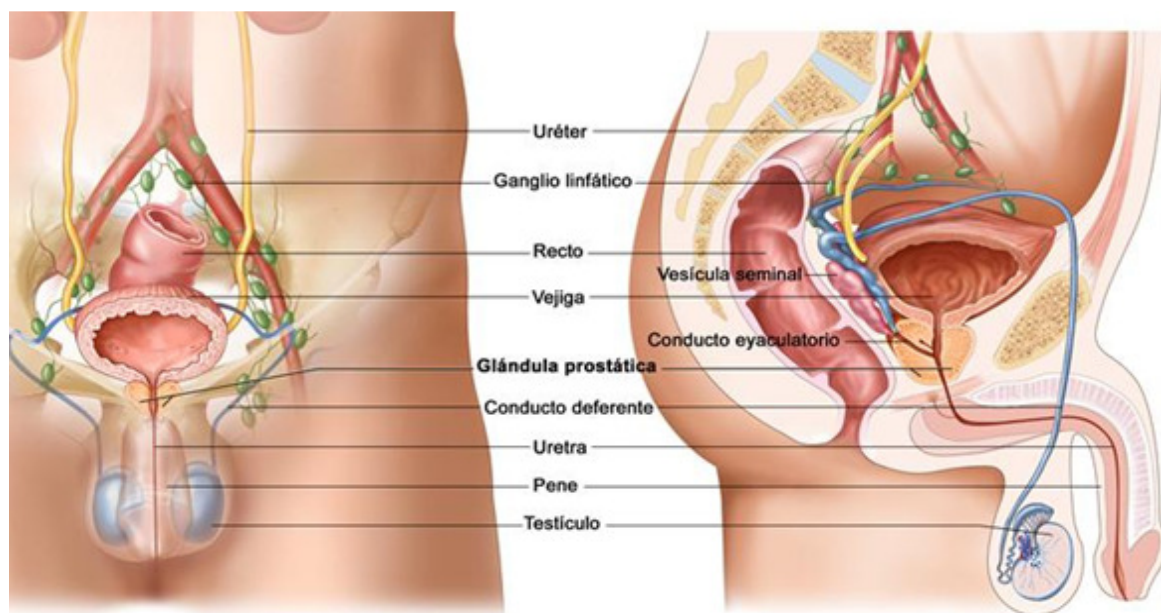


Figura 6. Ubicación de la Próstata (INC, 2006).

4.4.2 CÁNCER DE PRÓSTATA

El cáncer de próstata es un tumor maligno que se localiza en el 70% de la zona periférica (zona palpable de la glándula a través del tacto rectal), el 20% se localiza en la zona transicional (zona, que rodea a la uretra prostática). (Figura 7)

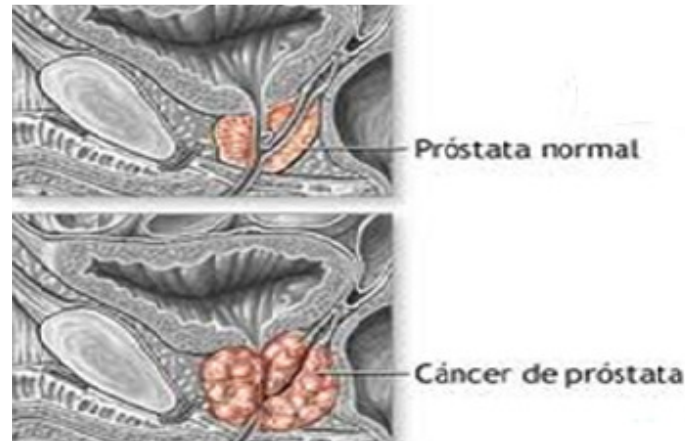


Figura 7. Esquemmatización del cáncer de próstata

El cáncer de próstata se agrupa en las siguientes etapas o estadíos:

- **Estadío I:** El cáncer no es palpable ni visible por medios diagnósticos. Su diagnóstico es accidental (cuando el paciente acude por otros motivos al urólogo).
- **Estadío II:** Tumor palpable o visible que no sobrepasa la próstata. El tumor no se ha diseminado fuera de la próstata.
- **Estadío III:** El cáncer sobrepasa la cápsula y afecta a tejidos que rodean la próstata como vesículas seminales.
- **Estadío IV:** El tumor se ha diseminado a los ganglios linfáticos o a otras partes del organismo.

Las causas probables por las cuales se puede desarrollar cáncer de la próstata son:

- Edad. Tener 50 años de edad o más incrementa la probabilidad de contraer cáncer de próstata.
- Raza. El cáncer de próstata es más común entre los hombres afro-americanos.
- Historia familiar. Si su papá o un hermano ha tenido cáncer de la próstata, es muy probable que se pueda desarrollar.
- Dieta. Ingerir comidas altas en grasa con poco consumo de frutas y vegetales puede incrementar la probabilidad de contraer cáncer de próstata.

4.4.2.1 DIAGNÓSTICO

Hay una prueba sanguínea llamada antígeno prostático (PSA, por sus siglas en inglés). Este antígeno está presente en la sangre en pequeñas cantidades, y la presencia de cáncer aumenta su dosificación. Cuando el antígeno está alto, se complementa con otros exámenes, como el tacto rectal y la biopsia, para concluir el diagnóstico. La dosificación de antígeno sirve también para saber cuál es el nivel de desarrollo del cáncer y si los tratamientos están funcionando. Si la terapia no es efectiva, los niveles del antígeno continuarán elevados o se incrementarán. También la realización de un tacto rectal puede facilitar el diagnóstico precoz.

4.4.2.2 TRATAMIENTO

Las opciones de tratamientos son muy amplias: Radiación externa, radiación a través de implantes radioactivos dentro de la próstata, cirugía o terapia hormonal. Los efectos secundarios como disfunción sexual o incontinencia son frecuentes.

Si hay metástasis, el tratamiento hormonal y la quimioterapia son buenas opciones. Una opción puede ser la terapia hormonal con antagonistas de la testosterona que provocan una castración química.

5. QUIMIOTERAPIA

Al tratamiento con medicamentos para destruir células del cáncer se le llama **quimioterapia**. Desde 1940 se descubrió por accidente que la Mostaza nitrogenada (Mecloretamina, Mustina y Mustargen®) podía ayudar a algunos pacientes con cáncer, figura 8. (De la Garza, 2006)

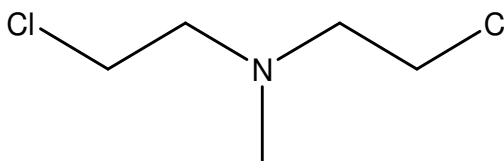


Figura 8. Mecloretamina

En los últimos 30 años, la quimioterapia se ha vuelto un tratamiento frecuentemente empleado, solo o en combinación con otros tratamientos. El desarrollo de nuevas sustancias ha

llevado a que existan cerca de 50 medicamentos anticancerígenos disponibles en el mercado y otros que se están investigando.

La quimioterapia puede ser recomendada para:

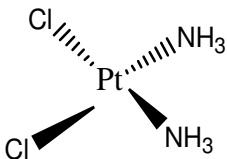
- Curar cánceres específicos
- Controlar el crecimiento de los tumores cuando la cura no es posible
- Disminuir los síntomas dolorosos
- Hacer los tumores más pequeños antes de la cirugía o de la terapia de radiación
- Destruir las metástasis microscópicas después de que el tumor fue extirpado

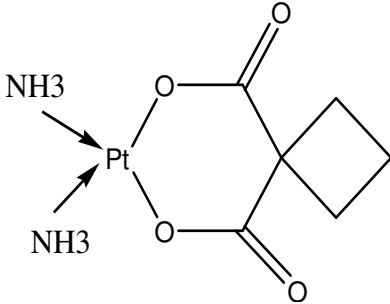
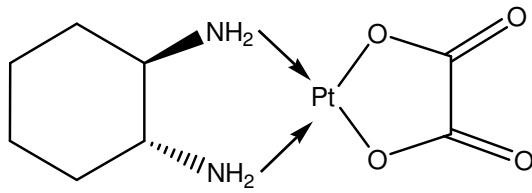
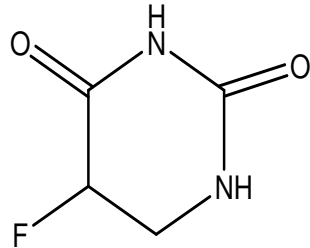
La cirugía y la radiación son más eficientes en tumores localizados, mientras que la quimioterapia ataca aquellas células que se han dispersado a través de la sangre o del sistema linfático a otras partes del cuerpo. (De la Garza, 2006)

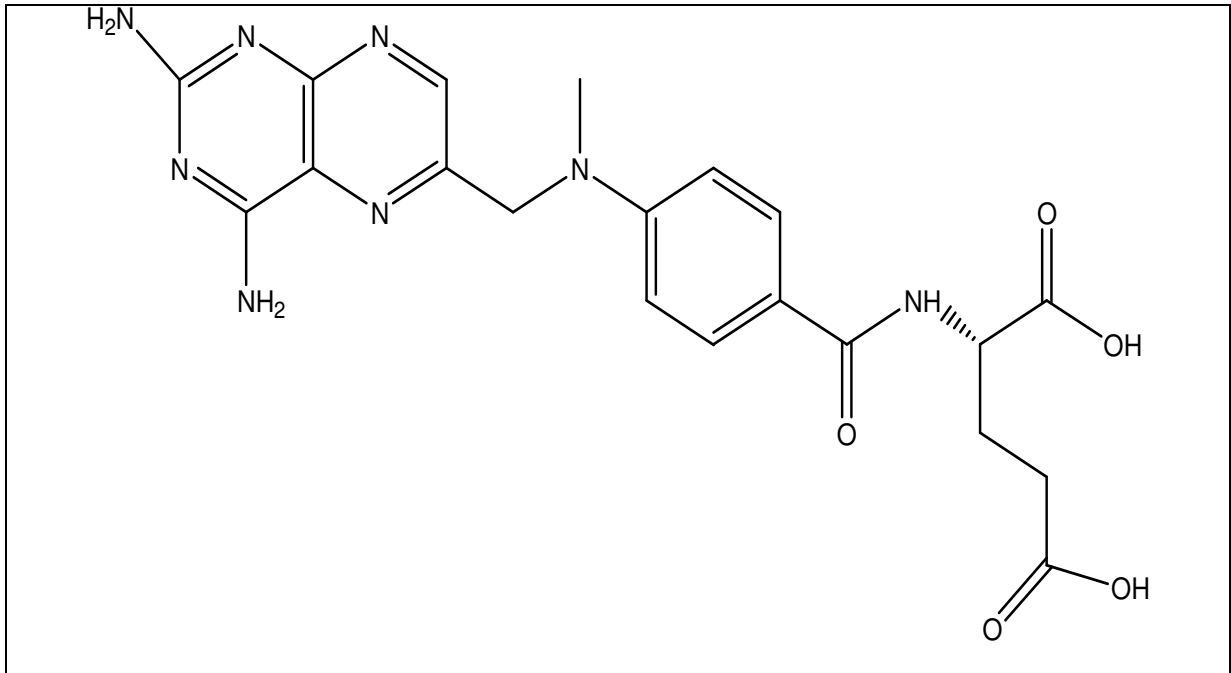
Los medicamentos anticancerígenos son muy poderosos, así que deben ser manejados por especialistas y pueden ser prescritos en forma oral (tabletas o cápsulas) o inyectados a través de venas, arterias o músculos. El método que se va a usar depende del tipo de tumor y del medicamento. La decisión se basa eligiendo aquella vía que sea más efectiva y que permita dar la dosis más alta en el lugar adecuado. Algunas medicinas no se absorben por el estómago, por lo que se necesita medir la tolerabilidad de cada paciente por otras vías, por ejemplo intravenosa, catéter, puertos, etc.

Los fármacos antitumorales actúan sobre las células con alta tasa de división mediante la inhibición del crecimiento y proliferación celular (Tabla 1). Cabe mencionar que estos medicamentos tienen efectos sobre el organismo de la persona que recibe el tratamiento por ejemplo la caída del cabello, pueden bajar la cuenta de glóbulos rojos y blancos, náuseas, daño en los riñones, entre otros. (Herrera, 2010)

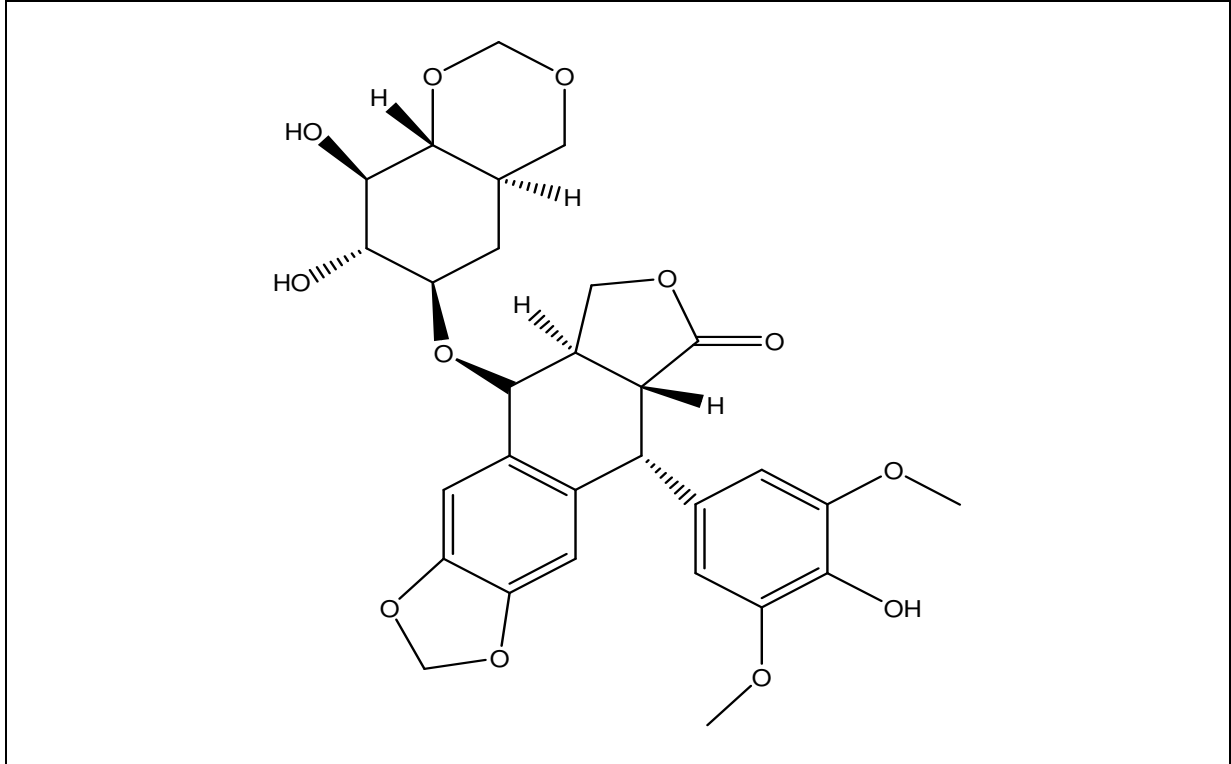
Tabla 1. Fármacos antineoplásicos, frecuentemente utilizados en la quimioterapia.

Compuesto	Tipo	Actividad	Mecanismo de acción
			
Cisplatino	Compuesto de	Alquilante	Daño al ADN, generación de

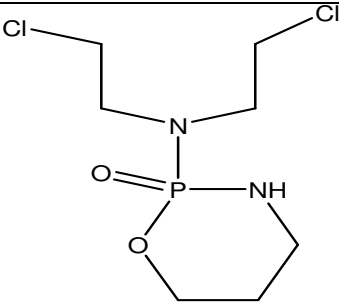
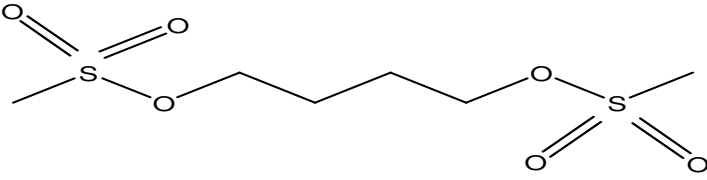
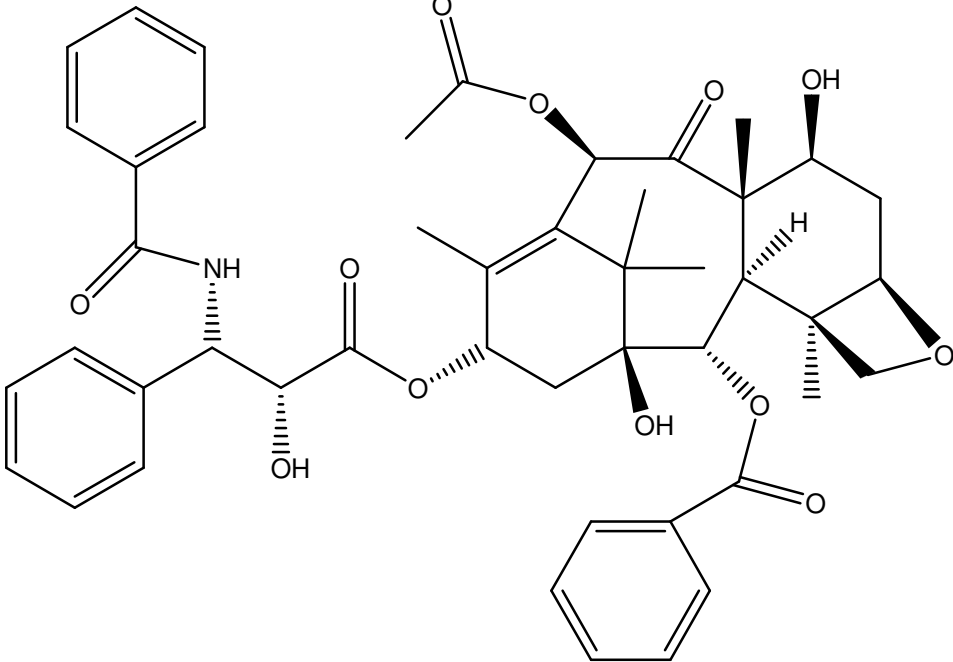
	coordinación		radicales libres, con activación de p53 y síntesis de Bax y activación del sistema receptor/ligando CD59
			
Carboplatino	Compuesto de coordinación	Alquilante	Daño al ADN y unión a proteínas plasmáticas, con mecanismo similar al cisplatino
			
Oxaliplatin	Compuesto de coordinación	Alquilante	Daño al ADN y unión a proteínas plasmáticas, con mecanismo similar al cisplatino
			
5-Fluorouracilo	Antimetabolito	Análogo a la pirimidina	Bloquea a la timidilatosintetasa, esencial para la formación de ADN



Metotrexato	Antimetabolito	Análogo al ácido fólico	Inhibe la hidrofolato-reductasa interfiriendo con síntesis de timidilatos y por ende del ADN
-------------	----------------	-------------------------	--



Etopósido	Inhibidor de la topoisomerasa	Inhibe la función de la cromatina	Daño al ADN, activación de p53 y caspasas
-----------	-------------------------------	-----------------------------------	---

			
Ciclofosfamida	Mostaza nitrogenada	Alquilante, por metabolitos hidroxilados	Citotóxico por daño al ADN
			
Busulfan	Aquilsulfonado	Alquilante, por metabolitos hidroxilados	Unión covalente al ADN
			
Paclitaxel ≡ Taxol	Taxano	Inhibidor mitótico, previene la despolimeración microtubular	Vía de p53 y activación de genes de respuesta a estrés e induce la liberación de catepsina B desde los lisosomas

Adriamicina	Antibiótico (antraciclinas)	Se intercala entre el ADN y radicales libres	Inhibe la síntesis de ADN y ARN

5.1 TAXOL

El Taxol se ha incorporado a la terapéutica de drogas antineoplásicas con grandes resultados Figura 9. Su extracción de la corteza de *Taxus baccata* es laboriosa y poco productiva, ya que la corteza de tres a seis árboles produce apenas dos gramos de taxol, cantidad necesaria para el tratamiento de un enfermo durante un año. Ello llevó a que durante 1991 se talaran más de 36,000 árboles de *Taxus* (nombre común Tejo), razón por la que las organizaciones ecologistas lanzaron su protesta ante la posibilidad de desequilibrios del medio ambiente. (Mandrile, 1993)

En 1958-1960 el INC implemento un programa de “screening o cernimiento” de extractos de vegetales con actividad antitumoral, comprobándose actividad citotóxica en extractos alcohólicos de la corteza de *Taxus brevifolia* Nutt. El aislamiento del taxol fue logrado en 1970 por Wall y colaboradores, quienes confirman su citotoxicidad.

En el periodo de 1970-1980 se ensayó su acción citostática sobre diferentes tipos de tumores, encontrándose dificultades por su poca solubilidad en agua, su escaso rendimiento y severa toxicidad en la fase preclínica I de experimentación.

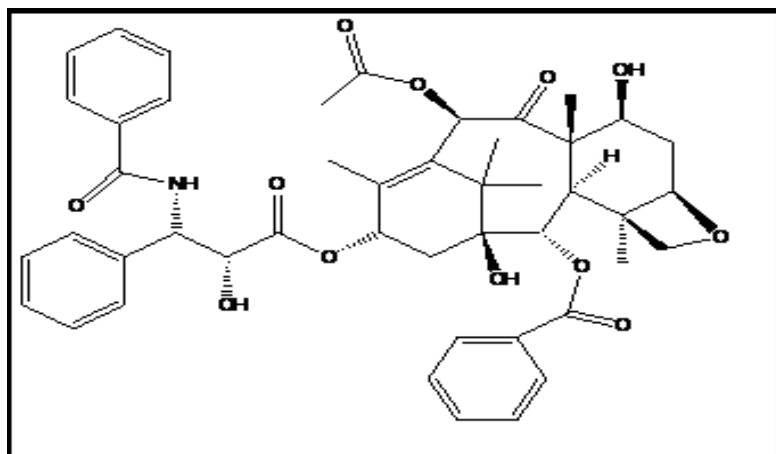


Figura 9. Taxol

En 1980 Schiff y Horowitz establecen el mecanismo de acción a nivel celular, encontrando que el taxol actuaba paralizando, es decir volvía a la célula tan estable que no podían moverse, ni reproducirse, ni hacer nada. En 1983 el INC difunde indicaciones preliminares para tratamientos

experimentales con taxol (Fases Clínica I y II). En el mismo año, Sakan y Craven realizan su síntesis parcial con dificultades y limitaciones.

En 1984 Manfredi y colaboradores, comunican que el taxol presenta un nuevo mecanismo de acción anti-cancerígena. En 1986, Kende y colaboradores, establecen la correcta estereoisomería del taxol. En 1988 el INC comunica las primeras evaluaciones clínicas (Fase II). El Taxol fue comercializado por Bristol-Myers Squibb en 1993 con el nombre de Paclitaxel®. (Mandrile, 1993)

Los efectos secundarios del Taxol podrían incluir, la pérdida del cabello, entumecimiento de los dedos de las manos y los pies, neutropenia (lo cual puede aumentar el riesgo para las infecciones), náuseas, vómito, dolor de cabeza, llagas o úlceras en la boca, dolor en las articulaciones y en los músculos, diarrea y erupciones en la piel.

5.2 DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS. COMPLEJOS DE COORDINACIÓN DE COBRE (II)

El desarrollo de nuevos fármacos sintetizados en el laboratorio de Química Medicinal en la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, se basa en el uso de compuestos derivados de los compuestos morfolínicos.

Los compuestos morfolínicos son usados ahora como ligantes, se complejan con Cu(II), atribuyéndoles una actividad antineoplásica. La síntesis y caracterización de estos compuestos fue realizada por el Químico Escutia Calzada Daniel, egresado de la Facultad de Estudios

Superiores Cuautitlán Campo 1, en su tesis de licenciatura. Las propiedades físicas de los compuestos de coordinación de Cu(II) se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades físicas de los complejos de coordinación de Cu(II)

Compuesto	LQM 403	LQM 406
Formula molecular	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₅ N ₄ Cu ₄	C ₄₂ H ₅₀ O ₁₅ N ₆ Cu ₄
Peso molecular	1201.3144gmol ⁻¹	1139.1196gmol ⁻¹
Color	Cristales verde-negros	Polvo fino verde
Punto de fusión	90.94°C	198°C

Nota aclaratoria: Por recomendación de las autoridades de PROFUPI-UNAM, responsable, de las invenciones de la UNAM no se presentan las estructuras ni ruta sintética, ya que los compuestos junto con otro grupo químico serán sometidos a protección intelectual.

6 . A N T E C E D E N T E S

En este apartado se muestra un poco de la investigación que se realiza en el mundo intentado buscar alternativas que ayuden a curar el cáncer.

China

Agentes químicos/complejos de Cu(II)-*in vitro*

Wen-jie G. y cols. (2009) en China, realizaron estudios *in vitro* de Cu(II) acomplejado con Etil – 2 – [bis(2 – piridilmetil)amino]propianato (LCu). El LCu demostró ser efectivo en la inhibición celular de cuatro líneas de cáncer (HeLa, ECAI09, HepG2 y A549). Sus IC₅₀ van de rangos de 0.5 a 19.3 μmol/L.

Zhen-Feng C. y cols. (2009) en China, llevaron a cabo la síntesis, caracterización y el estudio citotóxico *in vitro* de dos complejos de Cu(II) unidos a PLN= 5-Hidroxi-2-metilnaftoquinona y el PLN solo en siete líneas celulares de cáncer humano 786-O (carcinoma renal), MCF-7 (cáncer de mama), CNE-2 (cáncer nasofaríngeo), HepG2 (hepatoma), HCT116 (cáncer de colon), BEL7404 cáncer de hígado), NCI-H460 (cáncer pulmonar) y usaron como

control cis-Pt, obteniendo que los complejos con Cu(II) son más efectivos que el ligante por sí sólo; dichos complejos son el $[Cu(PNL)_2] \cdot 2H_2O$ y $[(Cu)(PNL)(H_2O)]NO_3 \cdot 2H_2O$.

F. D.Xu y cols. (2009) en Shangai, China reportaron la síntesis y la actividad biológica de complejos de Cu(II) con 2-tenoiltrifluoroacetona. Realizaron pruebas de actividad antibacteriana, donde expusieron *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, a los complejos. La MIC fue de 180 y 150 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Además, el Cu(II) presenta un efecto antitumoral en la línea celular de leucemia K562, con un valor de IC_{50} de 0.01 $\mu\text{g/mL}$.

Estados Unidos de América

Agentes químicos/complejos de Cu(II)-*in vitro*

Kenyon G. y cols. (2004) en Florida, E.U., sintetizaron y realizaron el estudio *in vitro* de 5 complejos de Cu(II) sobre dos líneas de cáncer HL-60 (leucemia humana) y PC-3 (cáncer próstata). El complejo $Cu(8\text{-Hidroxiquinolina})_2$ mostró una $IC_{50} \cong 3 \mu\text{M}$, por lo que tiene un gran potencial anti-cancerígeno.

Kenyon G. y cols. (2005) en Estados Unidos, estudiaron la actividad biológica de un ditiocarbamato con y sin unión a Cu(II), utilizando dos líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-231 y MCF-10 las cuales fueron expuestas a concentraciones de 10 y 20 μM de cada uno de los compuestos, demostrando que el complejo de cobre induce la apoptosis en células de cáncer de mama y por sí solo el ligante no tiene efecto alguno.

Agentes químicos/ derivados del fenol- *in vivo*

Wattenberg y cols. (2011) en Estados Unidos, llevaron a cabo el estudio *in vivo* de dieciocho compuestos fenolicos sintéticos. Estos productos fueron introducidos a la dieta de ratones hembra a los que se les indujo neoplasia en el estómago. Al final se demostró que 7 de éstos compuestos mostraron supresión de la neoplasia, ellos son: El p-Metoxifenol, 3,5-Diterbutilcatecol, 2-Terbutil-4-hidroxianisol, 3,5-Diterbutilfenol, 3-Terbutil-4-hidroxianisol, 2-Terbutilhidroxiquinona y el 2-Terbutilfenol.

Agentes biológicos- *in vitro/in vivo*

Takai M. y cols. (1979) en Maryland, E.U., evaluaron 18 compuestos derivados del ácido úsnico *in vivo e in vitro*; los derivados del producto natural se sintetizaron y evaluaron mediante ensayos de citotoxicidad. Los fármacos fueron disueltos en DMSO utilizando concentraciones de $1.39 \pm 0.17 \times 10^{-7}$ mol/mL y fueron aplicados a la línea celular de cáncer de pulmón L1210. Para el modelo *in vivo* utilizaron las concentraciones 200, 100, 50, 25, 12 y 6 (mg/Kg)/día. Obteniendo como resultado que el primer grupo que va del 1-3 y del 7-10 inhiben casi totalmente el crecimiento celular y el segundo grupo que corresponde del 4-6 y el 12 tienen un menor efecto en la citotoxicidad.

Egipto

Agentes biológicos-*in vitro e in vivo*

Nassr-Allah A y cols. (2009) en el Cairo, Egipto realizaron estudios *in vitro e in vivo* donde evaluaron la citotoxicidad de diferentes extractos de plantas a diferentes concentraciones (10, 20 µg/mL), dichas plantas fueron *Luffa aegyptiaca* (esponja de calabaza), *Solenostemma arghe* (argel), *Cassia italica* (Senegal senna), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Colocasia antiquorum* (taro), *Beta vulgaris* (remolacha) y el fruto de *Capsicum frutescens* (chile). Utilizaron líneas de leucemia mieloide y leucemia aguda de linfocitos. El estudio *in vivo* fue probado en células del carcinoma de ascitis en Ehrlich (EACC). Los resultados mostraron una importante actividad antioxidante de la mayoría de los extractos. El extracto *Solenostemma arghel* (argel) en agua redujo significativamente (EACC), dicho extracto mostró una alta citotoxicidad (66-90%) en la leucemia mieloide y la leucemia aguda de linfocitos, los patrones de desfragmentación del ADN mostraron que la citotoxicidad fue debida a inducción de la apoptosis.

Japón

Agente químico/morfolina-*in vitro*

Kawashima y cols. (2002) en Japón, probaron un compuesto derivado de la morfolina, el 2-(2-Difluormetilbenzimidazol-1-il)-4-(cis-2,3-dimetilmorfolin)-6-morfolinpirimidina. La IC₅₀ fue de 0.11 µM en una línea celular de cáncer de mama (MCF-7).

Taiwán

Agente biológico-*in vivo*

Tsui-HwaTseng y Yean-Jang Lee (2006) en Taiwán, aislaron e investigaron el ácido protocatequico de la *Hibiscus sabdariffa L. Hibiscus*. Este mostró un daño oxidativo inducido por el Hidroperóxido de t-butilo en hepatocitos primarios de ratas y por lo tanto un efecto inhibidor del tumor.

India

Agentes químicos/complejos de Cu(I) y Cu(II)-*in vitro/in vivo*

Murugkar A. y cols. (1999) en Pune, India sintetizaron, caracterizaron y realizaron estudios *in vitro* de cuatro complejos derivados del taxol, donde uno de ellos fue acomplejado con Cu(II); utilizaron una línea celular de adenocarcinoma de mama (MCF-7); solubilizaron los compuestos en DMSO a concentraciones de 25 μM y 12.5 μM . Los que utilizaron con Cu(II) y el 10-Decacetil baccatintio semicarbazona, no muestran diferencia significativa en la citotoxicidad a 12.5 μM , sin embargo a 25 μM en complejo con Cu(II) es letal para las células neoplásicas.

Chauhan M. y cols. (2006) en Nueva Deli, India sintetizaron, caracterizaron y realizaron estudios *in vitro* de 4 nuevos complejos, en donde dos de ellos contienen cobre en interacción con otros metales (Sn o Zr). Evaluaron la citotoxicidad de los complejos a diferentes concentraciones 2, 4, 6 y 8 μM , obteniendo que el complejo $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_6\text{CuSn}_2\text{Cl}_5$ induce la muerte por apoptosis.

Balakrishna S.y cols. (2010) en Bombay, India sintetizaron, caracterizaron y evaluaron 10 complejos que tenían Cu(I) derivados de la ciclofosfazona. Los complejos dinucleares de Cu(I) mostraron propiedades citotóxicas en cáncer de cuello uterino. Los resultados indicaron que los complejos de Cu(I) tienen una actividad antitumoral *in vitro* ya sea similar o mejor que el cis-Pt. Entre los complejos destaca el número 9 $[(1,10 - \text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Cu}_2\text{I}_2\{\text{BuNP}(\text{NC}_4\text{H}_8\text{O})\}_2]$, quien mostró una actividad inhibitoria potente en células HeLa, además de inhibir las células MCF-7 y MDA-MB-231. Los valores de IC_{50} para las células MCF-7 fue de $2.8 \pm 0.6 \mu\text{M}$, para las células HeLa fue de $2.7 \pm 0.2 \mu\text{M}$ y para las células MDA-MB-231 fue de $1.25 \pm 0.25 \mu\text{M}$.

Dixit N. y cols. (2011) en Varanasi, India sintetizaron, caracterizaron y estudiaron, los complejos $[Cu(bpy)(L1)] \cdot 3H_2O$ y $[Cu(LH_3)_2 \cdot (H_2O)_2] \cdot 4H_2O$; donde: bpy=2,2'-bipiridina y L1=ácido 5-hidroxihidurílico, sobre linfomas mostrando actividad. La actividad citotóxica de los complejos mostro valores de IC_{50} de ~ 9.0 nM y 0.6 nM, respectivamente.

Agentes biológicos-*in vivo*

Kumar D. y cols. (2009) en Kolkata, India realizaron un estudio del extracto metanólico de *Oxystelma esculentum* en ratones albinos, administrándoles dosis de 200 y 400 mg/kg una vez al día durante 9 días después de la inoculación de células cancerosas. Los resultados mostraron que el extracto aumentó el tiempo de supervivencia media a 29.66 ± 0.71 y 34.33 ± 2.34 días; el extracto también redujo el peso corporal, lo que indica que el extracto metanólico tiene una actividad antitumoral significativa.

Italia

Agentes químicos/ Complejos de Cu(II)-*in vitro*

Giovagnini L. y cols. (2008) en Padova, Italia realizaron un estudio *in vitro* de diferentes derivados de Cu(II). Como control positivo utilizaron cis-Pt en líneas de cáncer de ovario y cérvix (A431 y A431Pt) y utilizaron concentraciones de 0.01-100 μ M. Sus resultados indicaron que el complejo $Cu(ESDT)_2$ proporcionó una alta citotoxicidad con una $IC_{50} < 0.5$ μ M.

Australia

Agentes biológicos-*in vitro/in vivo*

Brown M. y cols. (2005) en Australia realizaron estudios *in vitro e in vivo* de un compuesto derivado de la familia de los flavonoides denominado fenoxodiol. En el ensayo *in vitro* midieron la proliferación celular en diferentes líneas celulares de cáncer utilizando concentraciones del compuestos de 1- 10 μ M. En el estudio *in vivo* se formaron dos grupos de ratones, al primero le inocularon células PC-3 (cáncer de próstata) y al segundo grupo células A2780 (cáncer de ovario), y fueron tratados con dosis de 25 y 50 mg/Kg y 20 y 50 mg/Kg, respectivamente. Sus

datos mostraron una reducción del tumor en un 24 y 25%, respectivamente, mientras que en el estudio *in vitro* encontró una disminución en la proliferación celular del 50%.

Perú

Agentes biológicos-*in vitro*

Callancondo-Riva D. y cols. (2008) en Tacna, Perú evaluaron la actividad citotóxica de extractos etanólicos de raíces, tallos, hojas y flores de *Gnaphalium spicatum* sobre algunas líneas celulares tumorales HT-29, H-460, MCF-7, M-14, PC-3, DU-145, K-562, y 3T3 estas líneas fueron expuestas a cuatro concentraciones asimismo a diferentes concentraciones de cisplatino. Los resultados indican que el extracto etanólico de las raíces de *Gnaphalium spicatum* tiene mayor actividad citotóxica en la líneas celulares MCF-7 y K-562. Las CI_{50} en $\mu\text{g/mL}$ fueron de 98 y 46, respectivamente. Las CI_{50} en la línea celular 3T3 fue de 215 $\mu\text{g/mL}$. Los valores de CI_{50} del cisplatino fueron 2, 7.7 y 3 $\mu\text{g/mL}$, para las líneas celulares tumorales MCF-7, K-562 y 3T3, respectivamente. Los extractos de tallos, hojas y flores mostraron CI_{50} mayores a 0.250 mg/mL en todas la líneas celulares evaluadas.

México

Agentes químicos/complejos de Cu(II)-*in vitro*

Soto A. y cols. (2009) en Guanajuato, México estudiaron la actividad antineoplásica de nuevos complejos de Cu(II) con fenantrolina, unidos a aminoácidos como el ácido glutámico, isoleucina y α -metildopa. Utilizaron células de cáncer de pulmón (A549) y estas fueron sometidas a dos dosis (30 y 60 $\mu\text{g/mL}$), Los resultados indicaron que los complejos de Cu(II) unidos a ácido glutámico y α -metildopa afectan la adhesión celular en un 50% y 45% respectivamente, alterando la distribución de los microtúbulos y microfilamentos.

Agentes biológicos- *in vitro*

Ordaz P. y cols. (2010) en D.F., México evaluaron la citotoxicidad de algunos extractos de tres especies *Kalanchoe* estas son *K. pinnata*, *K. daigremontiana* y *K. flammula* en cáncer cérvico-uterino y cáncer de próstata, se manejaron extracto hexánico, alcohólico y acetílico a concentraciones de 1.562 – 200 $\mu\text{g/mL}$ con el fin de evaluar la proliferación celular. Sus

resultados mostraron que la mayoría de los extractos se comportaron de una manera dosis respuesta con las células cancerosa;, el mejor extracto fue el hexánico *K. flammea*, ya que desde la concentración 1.562 µg/mL mata a las células HeLa y el extracto alcohólico y acetílico de la *K. flammea* a la misma concentración mata a las células PC-3.

Agentes biológicos-búsqueda etnobotánica/farmacológica/química

Alonso-Castro J. y cols. (2011) en D.F., México realizaron una revisión bibliográfica que proporciona un resumen de la flora medicinal mexicana en términos de la etnobotánicas, farmacológicos y químicos de productos naturales relacionados con la actividad contra el cáncer, la investigación se llevó a cabo mediante el análisis de libros reconocidos, consulta de bases de datos científicos aceptados en todo el mundo en las últimas cinco décadas. Las plantas mexicanas con propiedades anti-cáncer se clasificaron en seis grupos:

- a. Extractos de plantas que se han evaluado sus efectos citotóxicos.
- b. Extractos de plantas que se han documentado con efectos antitumorales.
- c. Las plantas con principios activos probados en líneas celulares de cáncer.
- d. Las plantas con nuevos compuestos activos que sólo se encuentran en especies de plantas mexicanas.
- e. Plantas con principios activos que han sido analizadas en modelos animales.
- f. Plantas con referencias etnofarmacológicas contra el cáncer pero sin estudios científicos.

Los investigadores obtuvieron que trescientas especies de plantas pertenecientes a 90 familias botánicas utilizadas para el tratamiento del cáncer, sólo 181 han sido analizadas experimentalmente. Las 119 especies restantes de plantas están en uso en el tratamiento empírico de las enfermedades compatibles con la sintomatología del cáncer. Sólo 88 de los extractos de plantas han sido estudiados *in vitro* demostrando efectos citotóxicos por lo menos en una línea celular de cáncer y 14 de los 88 se han probado *in vivo* con resultados que demuestran que uno de ellos tiene efectos antineoplásicos. Un total de 187 compuestos pertenecientes a 19 tipos de metabolitos secundarios en plantas se han aislado a partir de 51 extractos de plantas con efectos citotóxicos, pero sólo 77 de estos compuestos (41%) han demostrado efectos en la citotoxicidad. Diecisiete de estos principios activos no han sido reportados en otras especies de plantas. Sin

embargo, sólo 5 de estos compuestos han sido evaluados *in vivo* y 3 de ellos podrían ser considerados biológicamente activos.

7 . H I P O T E S I S

Si las sustancias orgánicas coordinadas con Cu(II) como el LQM 403 y el LQM 406, presentan actividad antitumoral, entonces se espera comprobar su citotóxicidad *in vitro* en tres líneas celulares de cáncer humano diferentes.

8 . M É T O D O S Y M A T E R I A L E S

8.1 CULTIVO DE LAS LÍNEAS CELULARES NEOPLÁSICAS

Para esta investigación se utilizaron la líneas MDA-MB-231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer cérvico-uterino) y PC-3 (cáncer de próstata), muestras donadas por el Instituto Nacional de Cancerología, además de un cultivo primario de linfocitos que sirvió como muestra de células no cancerosas.

El manejo de las células se realizó en condiciones de esterilidad en campana de flujo laminar, usando material y soluciones estériles. Las líneas celulares MDA-MB-231, HeLa y PC-3 fueron cultivadas en medio DMEM (Invitrogen Cat. 31800-014) suplementado con 10% de suero fetal bovino. Las condiciones de incubación fueron 37°C, pH 7.25, en una atmosfera de CO₂ al 5% en condiciones de humedad constante.

8.2 CULTIVO PRIMARIO DE LINFOCITOS HUMANOS

Los linfocitos se aislaron a partir de sangre periférica, para ello 17 mL de sangre heparinizada fueron aforados con medio RPMI (Invitrogen Cat. 12800-058) en un tubo de polipropileno de 40 mL y se homogenizó suavemente. Posteriormente a tubos de polipropileno de 15 mL, se les agregó 3 mL de solución de linfopreparado y se aforó con 10 mL de sangre diluída. Esta mezcla se centrifugó cuidadosamente a 1390 rpm por 32 min a temperatura ambiente y se desecho cuidadosamente el sobrenadante para facilitar la extracción del anillo de mononucleótidos. El anillo de mononucleótidos se traspasó a un tubo nuevo y se aforó con 14 mL de PBS, se centrifugó 1500 rpm durante 5 min a temperatura ambiente, y nuevamente se

desecho el sobrenadante y la pastilla se resuspendió en 2 mL de medio RPMI con suero. Se calculó el número de células por mL en una cámara de Newbauer colocando 20 μ L de azul de tripano y 20 μ L de la suspensión celular y finalmente se estandarizó la cantidad de linfocitos a 10,000 cel / 100 μ L para ser depositados en cada pozo para ser tratados con los complejos de Cu(II).

8.3 TÉCNICA DE MTT

Esta técnica se basa en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT), este compuesto es amarillo, el MTT es captado por las células mediante endocitosis y posteriormente, reducido en las mitocondrias por la enzima succinato-deshidrogenasa de las células vivas a una sal de formazán, un compuesto de color púrpura que se acumula en los lisosomas, luego se transporta a la superficie de las células por exocitosis. La cantidad de formazán producido resulta proporcional al número de células viables, permitiendo determinar la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. (González, et.al., 2008)

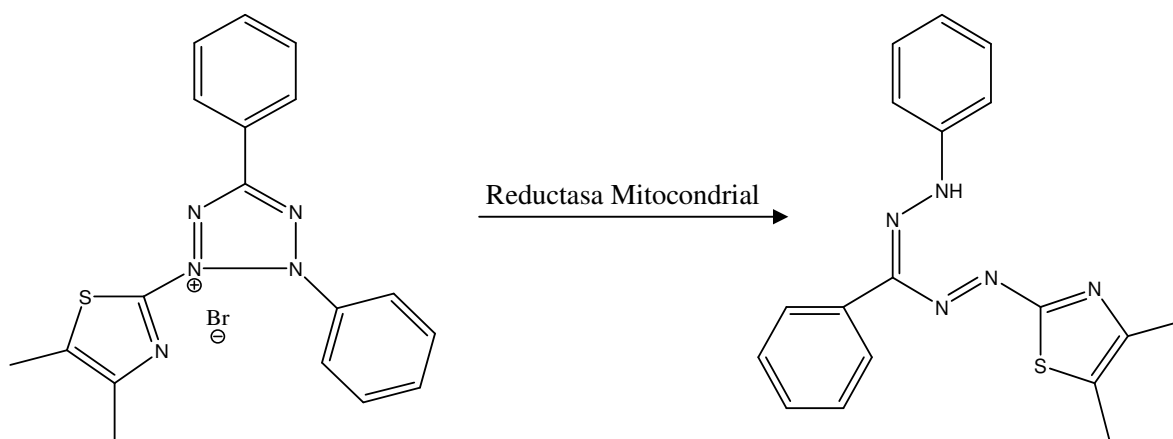


Figura 10. Reacción realizada por las mitocondrias de las células vivas, después de la aplicación de los tratamientos.

El procedimiento brevemente consistió en que los cultivos de células con una confluencia del 100%, fueron tratados con Tripsina al 0.1%, posteriormente fueron resuspendidos en medio fresco y se realizó la cuenta celular para sembrar 8,000 células por cada pozo, en una microplaca de 96 pozos. La placa posteriormente fue incubada a 37°C durante 24 h en una atmosfera de CO₂ al 5%. Posteriormente se prepararon las diferentes concentraciones de los complejos de

coordinación de Cu (II) que van de 12.5 μM a 100 μM (disueltos en agua desionizada estéril) y fueron agregados por separado a las células. El control negativo consistió en el medio de cultivo (DMEM o RPMI), y el control positivo fue el taxol 0.6 μM . La microplaca con los tratamientos y las células fue incubada bajo las condiciones antes mencionadas durante 24 h. Transcurrido el tiempo, se disolvió la sal de tetrazolio en PBS hasta obtener una concentración de 25 $\mu\text{g/mL}$. Se incubó la placa en oscuridad durante 4 h y transcurrido este tiempo se retiró el MTT cuidadosamente y se agregaron 100 μL de DMSO para detener la reacción y realizar la lectura espectrofotométrica a 595nm, en un espectrofotómetro (TECAN-Genios).

8.4 TÉCNICA DE CV

El cristal violeta es un colorante que se une electrostáticamente a las proteínas nucleares, por tanto tiñe el ADN. Este método permite valorar la viabilidad celular así como los fenómenos de adhesión y desadhesión celular bajo distintas condiciones experimentales.

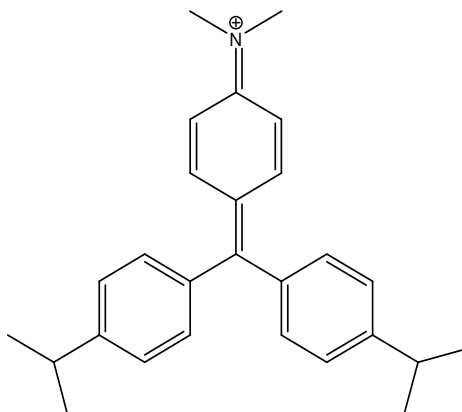


Figura 11. Colorante-Cristal Violeta

El procedimiento brevemente consistió en que los cultivos de células con una confluencia del 100%, fueron tratados con Tripsina al 0.1%, posteriormente fueron resuspendidos en medio fresco y se realizó la cuenta celular para sembrar 8,000 células por cada pozo, en una microplaca de 96 pozos. Posteriormente la placa fue incubada a 37°C durante 24 h en una atmósfera de CO₂ al 5%. Se prepararon las diferentes concentraciones de los complejos de coordinación de Cu (II) que van de 12.5 μM a 100 μM (disueltos en agua desionizada estéril); y fueron agregados por separado a las células. El control negativo consistió en el medio de cultivo (DMEM o RPMI,) y el control positivo fue el taxol 0.6 μM . La microplaca con los tratamientos fue incubada bajo las

condiciones antes mencionadas durante 24 h. Transcurrido el tiempo, las placas fueron lavadas con PBS y se les agregó formaldehído al 1.1% (100 µL por cada pozo) para fijarlas durante 10 minutos, luego se desechó y se agregó 50 µL/pozo de CV al 1%; transcurridos 10 minutos, la placa fue lavada con agua corriente y se dejó secar a temperatura ambiente. Una vez secas las cajas se agregó 100 µL de Ácido Acético al 10%, la placa fue leída en un espectrofotómetro (TECAN-Genios) a una longitud de onda de 595nm.

8.5 VIABILIDAD CELULAR

El criterio de evaluación fue el de % de viabilidad celular, donde:

$$\% Viabilidad celular = \left[\frac{D.O. Problema}{D.O. Testigo} \times 100 \right]$$

8.6 CÁLCULO DE LA IC₅₀

Se realizó una regresión no lineal entre el porcentaje de supervivencia y el logaritmo de base diez de la concentración, para calcular el valor de la concentración inhibitoria al 50 % (IC₅₀, es decir, la concentración que mata el 50% de la población celular) utilizando el programa GraphPadPrims 5.0. Con los resultados que se obtuvieron del apartado anterior además de la IC₅₀, se seleccionó el compuesto de coordinación de Cu(II) que tuvo el mayor efecto en inhibir el crecimiento de las células tumorales y que no dañaron a las células sanas.

9. RESULTADOS

Se evaluó la citotoxicidad de dos complejos de coordinación de Cu(II) el LQM 403 y el LQM 406, en las líneas celulares tumorales MDA-MB-231, HeLa y PC-3. Los compuestos se probaron a concentraciones de 12.5, 18.75, 25, 37.5 50 y 100 μM y se dejaron incubar 24 h.

9.1 Técnica de MTT en la línea celular MDA-MB-231

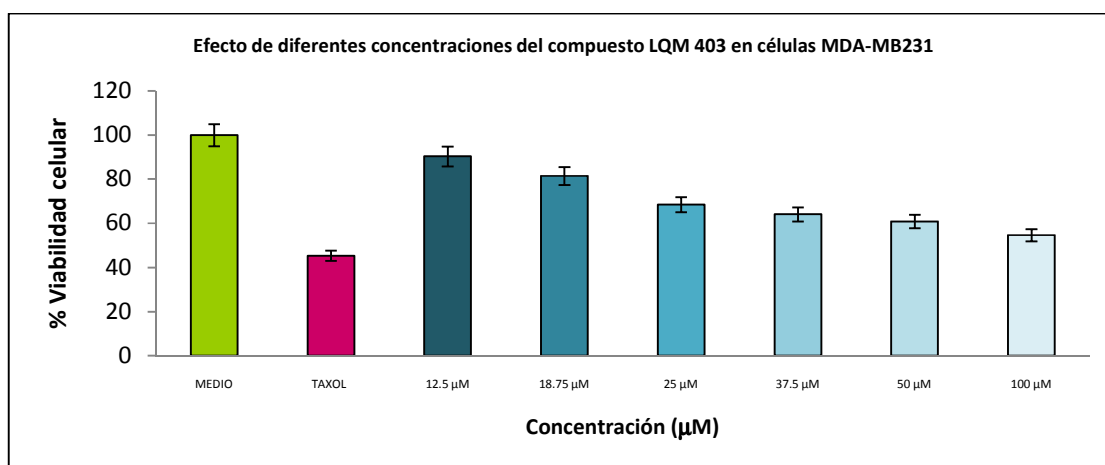


Figura 12. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 403

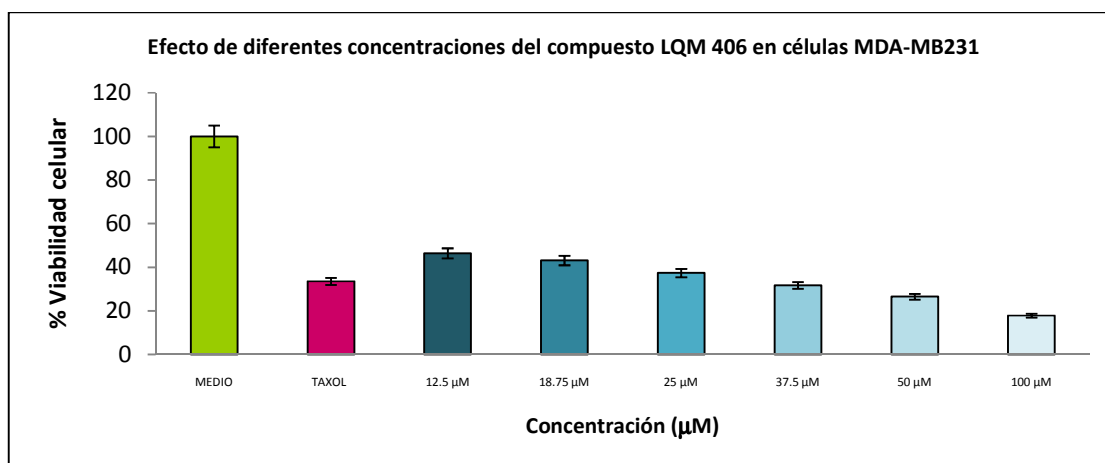


Figura 13. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 406

En las figuras 12 y 13 se observan los porcentajes de viabilidad celular obtenidos con los compuestos LQM 403 y LQM 406. Como se puede notar el mayor efecto citotóxico se muestra con el LQM 406

9.2 Técnica de MTT en la línea celular HeLa

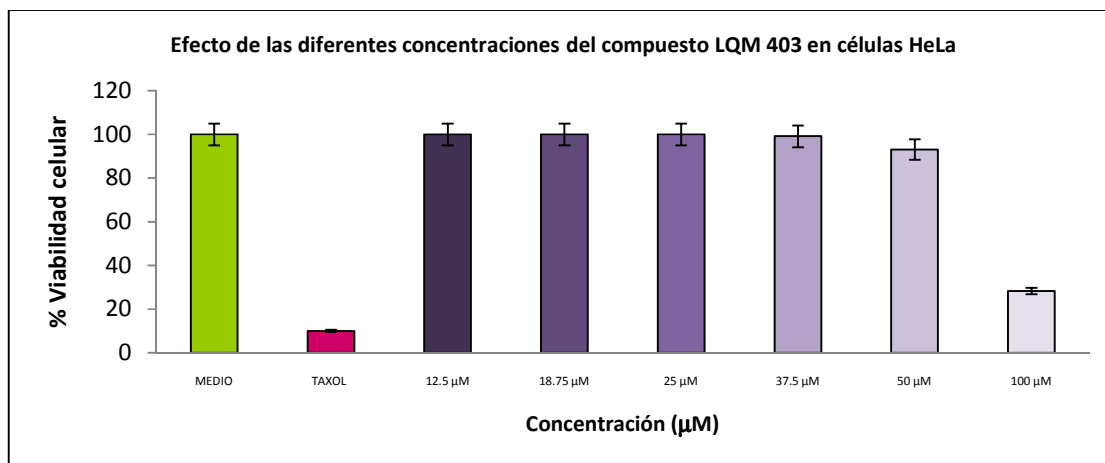


Figura 14. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral **HeLa** después del tratamiento con el LQM 403

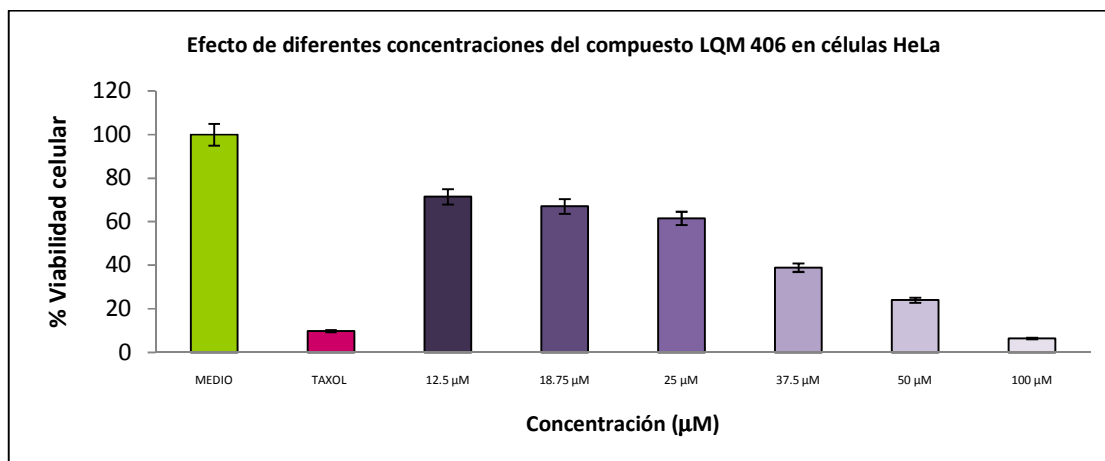


Figura 15. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral **HeLa** después del tratamiento con el LQM 406

En las figuras 14 y 15 se observan que los porcentajes de viabilidad celular, éstos son menores cuando las células HeLa fueron sometidas al LQM 406 en comparación con el LQM 403.

9.3 Técnica de MTT en la línea celular PC-3

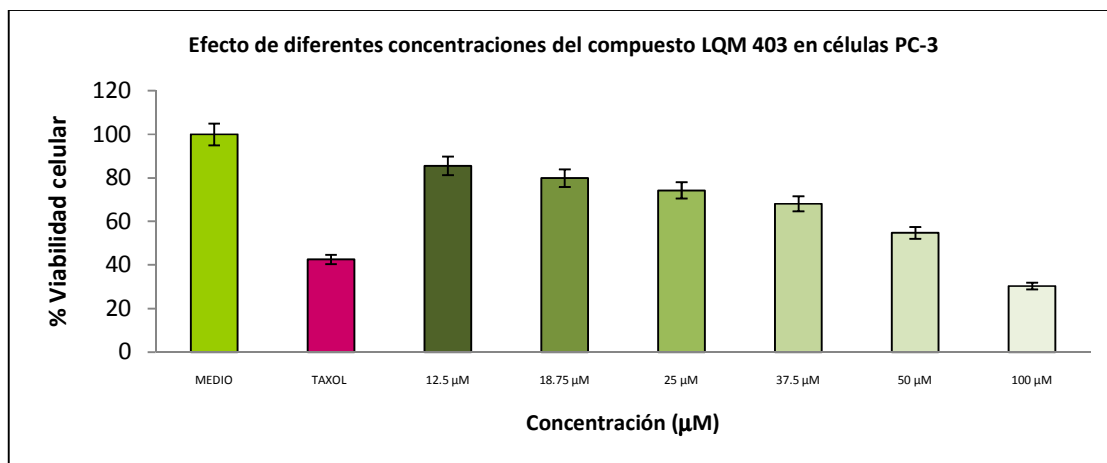


Figura 16. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral **PC-3** después del tratamiento con el LQM 403

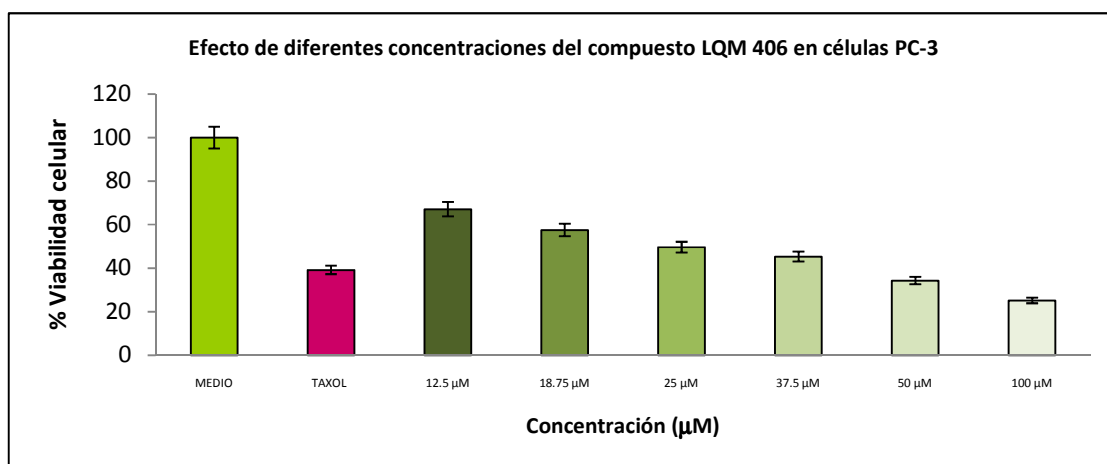


Figura 17. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral **PC-3** después del tratamiento con el LQM 406

En las figuras 16 y 17 se observan los porcentajes de viabilidad celular obtenidos con los compuestos LQM 403 y LQM 406. Como se puede apreciar el mayor efecto citotóxico se muestra con el compuesto de LQM 406.

9.4 Técnica de CV en la línea celular MDA-MB-231

La citotoxicidad también fue evaluada por la técnica de CV, evaluándose el LQM 403 y el LQM 406. Los complejos se probaron a diferentes concentraciones (12.5, 18.75, 25, 37.5, 50 y 100 μM) y se incubaron 24 h.

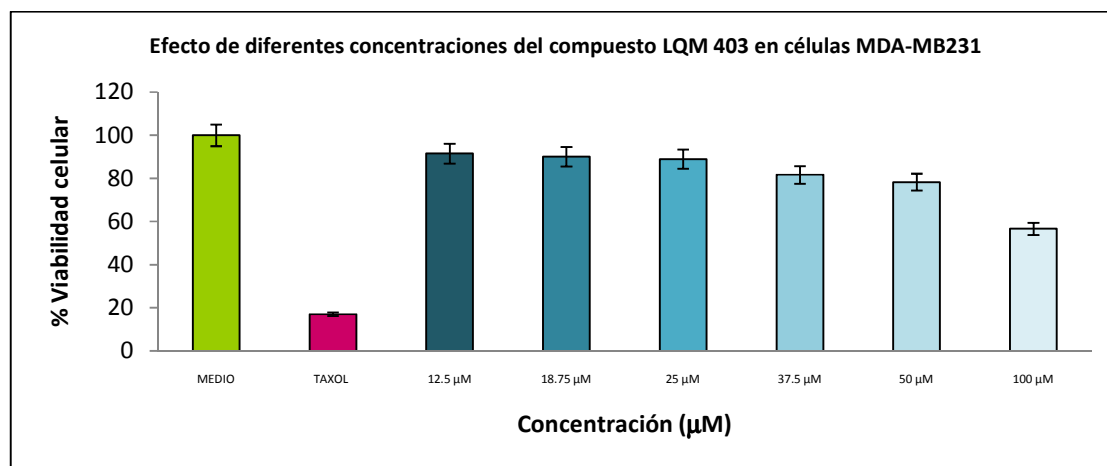


Figura 18. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 403

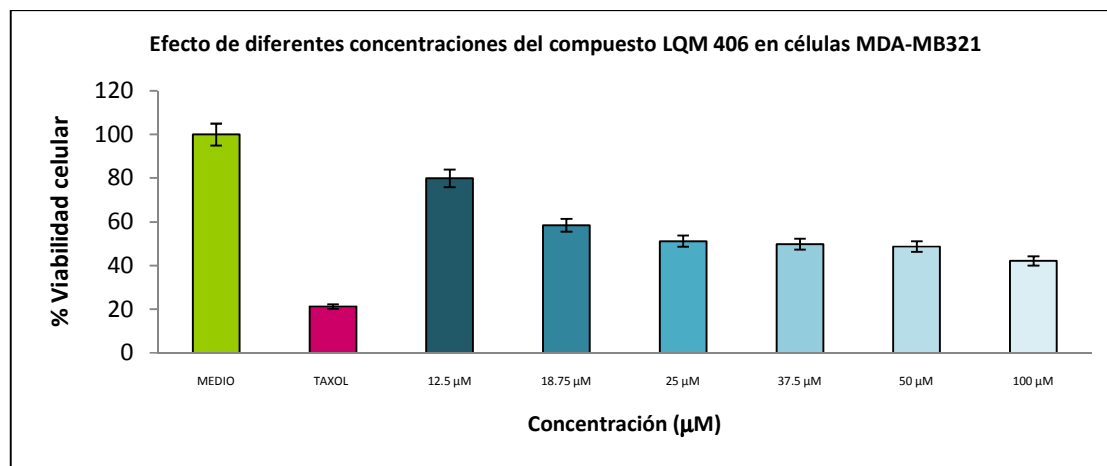


Figura 19. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral MDA-MB-231 después del tratamiento con el LQM 406

Como se puede observar para esta prueba el LQM 406 fue efectivo desde la concentración de 25 μM , mientras que el LQM 403 no tiene un efecto citotóxico significativo.

9.5 Técnica de CV en la línea celular HeLa

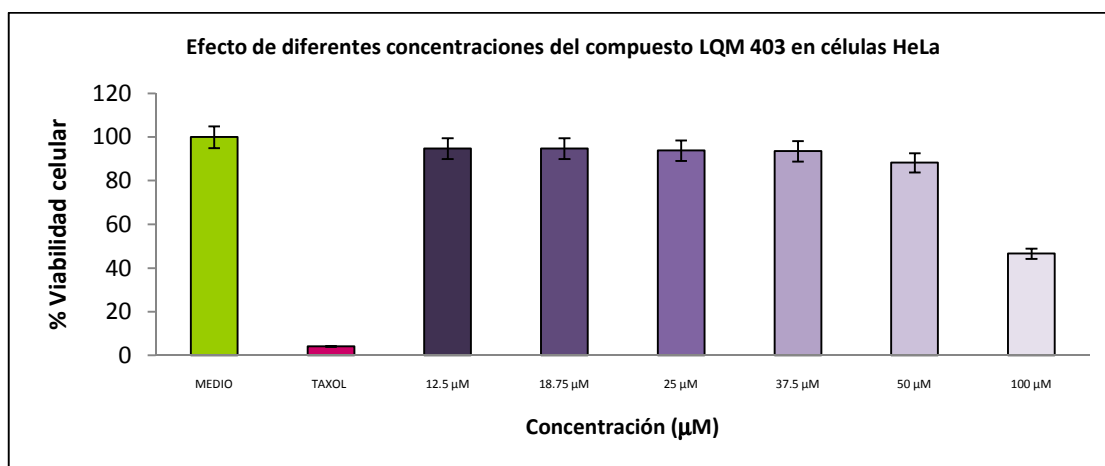


Figura 20. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral **HeLa** después del tratamiento con el LQM 403

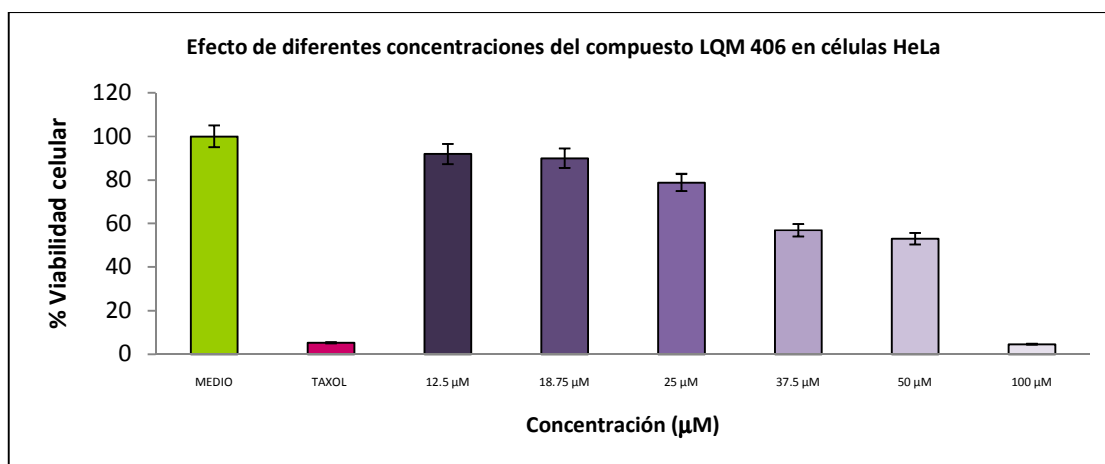


Figura 21. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral **HeLa** después del tratamiento con el LQM 406

En base a los resultados obtenidos observamos que el porcentaje de viabilidad celular disminuye con el LQM 406 siendo efectivo a la concentración de 37.5 µM, mientras que el LQM 403 no afecta la viabilidad de esta línea celular.

9.6 Técnica de CV en la línea celular PC-3

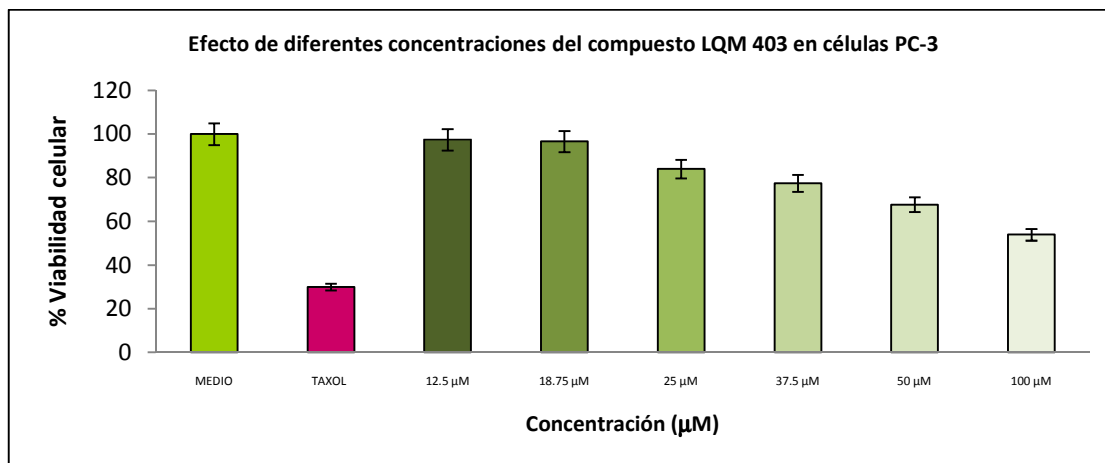


Figura 22. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral PC-3 después del tratamiento con el LQM 403

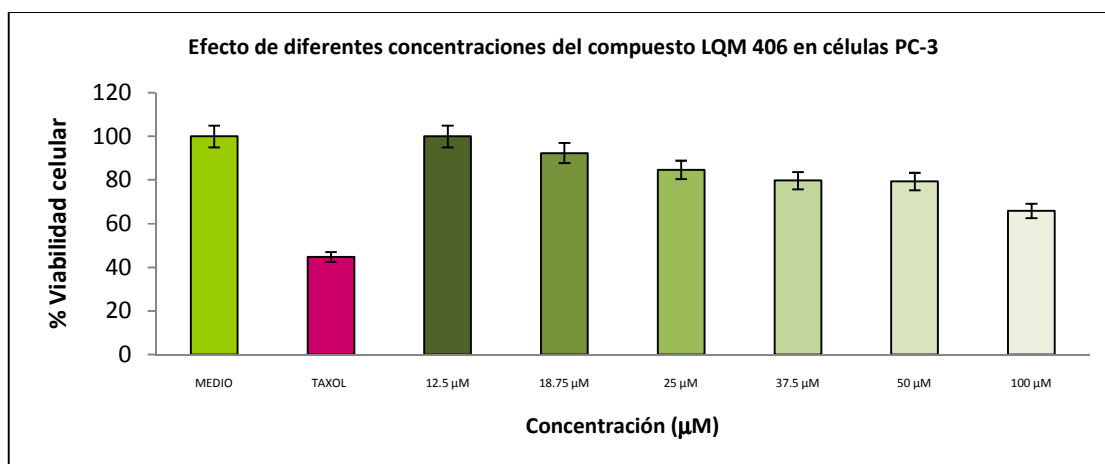


Figura 23. Porcentaje de viabilidad de la línea tumoral PC-3 después del tratamiento con el LQM 406

En las figuras 22 y 23 se observan que el LQM 403 y el LQM 406 no afectan significativamente la viabilidad de esta línea celular, ya que en ambos casos la viabilidad celular está por arriba del 50% en la dosis más elevada (100 µM).

9.7 Técnica de MTT en un cultivo primario no canceroso (linfocitos)

Se realizó el estudio citotóxico del LQM 403 y el LQM 406 en un cultivo primario no canceroso como son los linfocitos. Los compuestos se probaron a diferentes concentraciones (12.5, 18.75, 25, 37.5 50 y 100 μM) y se dejaron incubar 24 h.

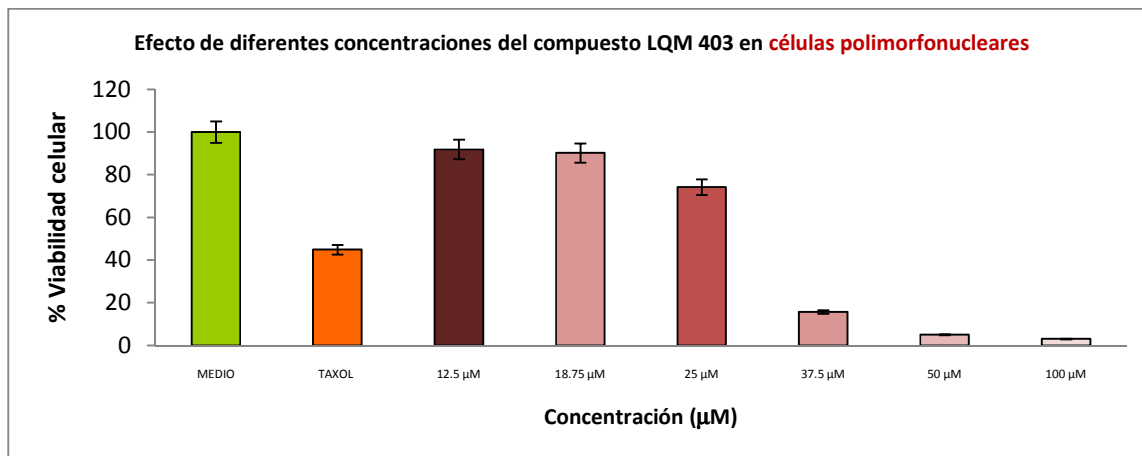


Figura 24. Porcentaje de viabilidad de **linfocitos** después del tratamiento con el LQM 403

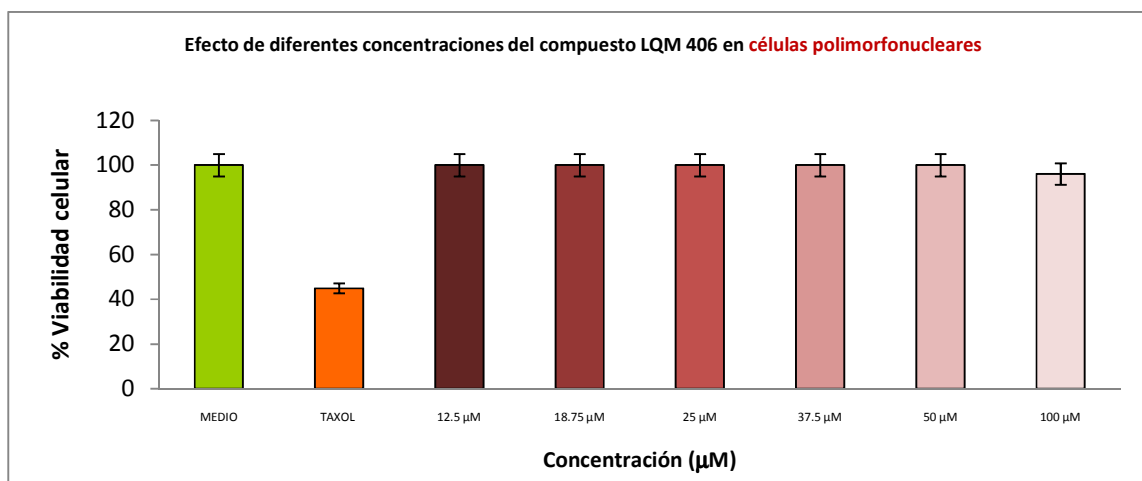


Figura 25. Porcentaje de viabilidad de **linfocitos** después del tratamiento con el LQM 406

Se evaluó el efecto que tenían los complejos de Cu(II) sobre células no cancerosas (linfocitos humanos) obtenidos de sangre periférica. Obteniendo que el LQM 406 presentó un menor citotoxicidad que su similar el LQM 403.

9.8 Técnica de CV en un cultivo primario no canceroso (linfocitos)

Se evaluó la citotoxicidad del LQM 403 y el LQM 406 en un cultivo primario no canceroso como son los linfocitos. Los compuestos se probaron a diferentes a seis dosis (12.5, 18.75, 25, 37.5 50 y 100 μM) y se incubaron 24 h.

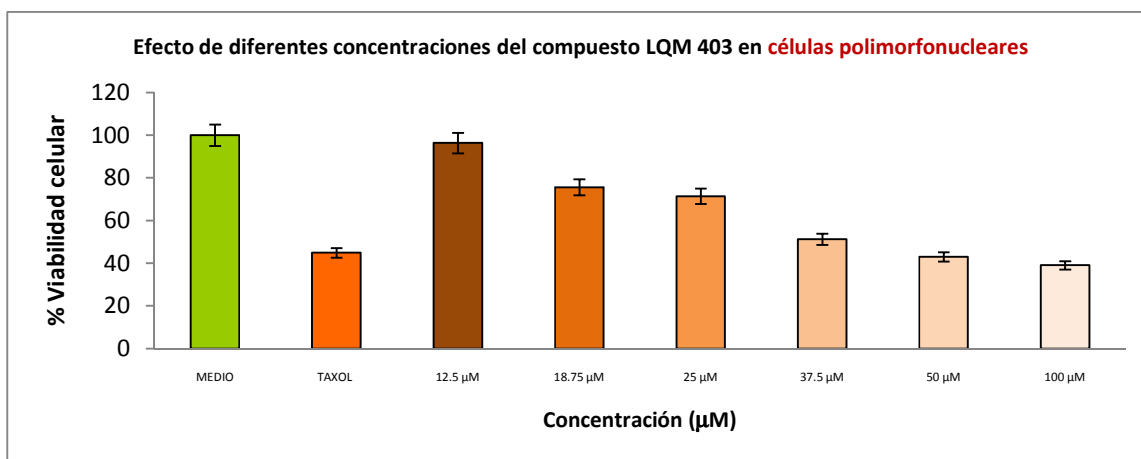


Figura 26. Porcentaje de viabilidad de **linfocitos** después del tratamiento con el LQM 403

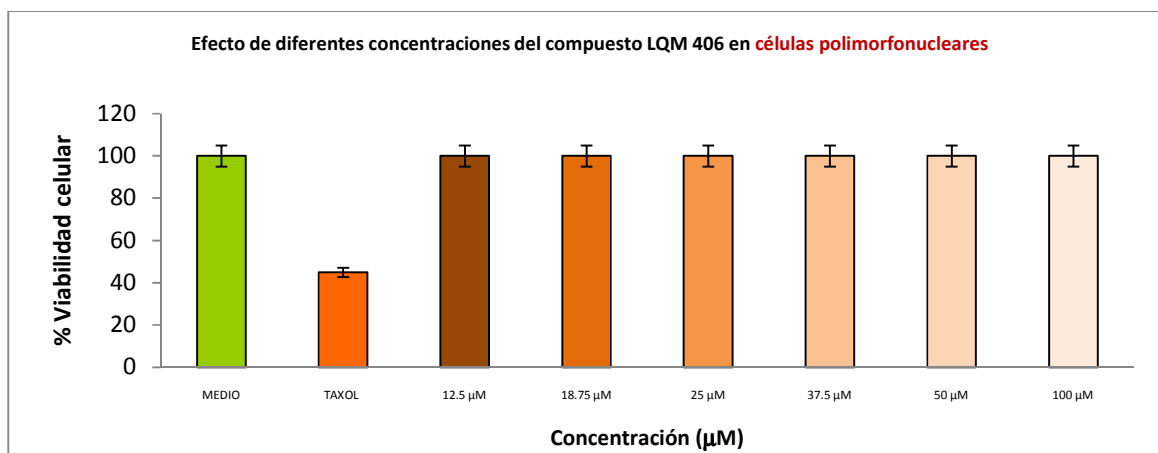


Figura 27. Porcentaje de viabilidad de **linfocitos** después del tratamiento con el LQM 406

Con base en las figuras 26 y 27 podemos observar que el LQM 406 presente un menor efecto citotóxico, teniendo porcentajes de viabilidad entre 59 y 35 % en dosis que van desde 25 μM . Mientras que el LQM 403 presenta un mayor efecto citotóxico en este cultivo.

9.9 Cálculo de IC₅₀

Una vez evaluado el efecto citotóxico del LQM 403 y el LQM 406, se calculó la IC₅₀ de cada una de ellos en las líneas celulares neoplásicas así como en las células sanas; con ambas técnicas, con el fin de obtener la concentración óptima que mata al 50% de la población celular y elegir cual compuesto es más efectivo sobre las células cancerosas y menos citotóxico en las células sanas. Los datos son mostrados en la Tabla 3.

Tabla 3. IC₅₀ obtenida para los complejos de Cu(II)

Compuestos de coordinación de Cu(II)	Línea celular	Técnica	
		MTT	CV
		IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
LQM 403	MDA-MB-231	81.37	154.1
	HeLa	168.1	181.9
	PC-3	63.14	128.6
	Linfocitos	28.35	54.07
LQM 406	MDA-MB-231	14.45	38.75
	HeLa	26.12	52.98
	PC-3	26.76	183.3
	Linfocitos	2493	3.898e015

Con los resultados mostrados en la Tabla 3 se puede observar que el complejo que obtuvo IC₅₀ de menor valor en células tumorales fue el LQM 406, mientras que en células sanas los valores fueron mayores en comparación con los del LQM 403.

9.10 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) con el programa MINITAB versión 15.0, en la Tabla 4 y 5 se pueden apreciar los resultados obtenidos.

Tabla 4. Análisis de varianza para la técnica de MTT utilizando un ajuste de mínimos cuadrados

Fuente	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Compuesto	3	1.50301	1.50301	0.50100	6.45	0.005
Línea de cáncer	3	2.81044	2.81044	0.93681	12.06	0.000
Compuesto*línea de cáncer	9	1.07029	1.07029	0.11892	1.53	0.219
Error	16	1.24238	1.24238	0.07765		
Total	31	6.62612				

Para que exista una diferencia significativa $\alpha \leq 0.05$, donde alfa es el nivel de significancia, además si $P \leq \alpha$ sigue la misma regla, donde P es la probabilidad.

En la Tabla 4 se observa que en la técnica de MTT hay diferencias significativas entre los compuestos y líneas celulares esto quiere decir que los compuestos afectan de manera diferente a la IC_{50} y que las líneas celulares responden diferente ante los tratamientos a los que son sometidas.

Tabla 5. Análisis de varianza para la técnica de CV utilizando un ajuste de mínimos cuadrados

Fuente	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Compuesto	3	1.4689	1.4689	0.4896	1.99	0.155
Línea de cáncer	3	0.9981	0.9981	0.3327	1.36	0.292
Compuesto*línea de cáncer	9	3.1694	3.1694	0.3522	1.43	0.253
Error	16	3.9283	3.9283	0.2455		
Total	31	9.5647				

En la Tabla 5 se muestra que en la técnica de CV no existe diferencias significativas entre los compuestos, líneas celulares y la interacción entre el compuesto y la línea tumoral, lo que nos dice que los complejos no afectan de manera diferente a la IC_{50} y que las líneas celulares responden de manera similar ante los tratamientos a los que son sometidas.

10. DISCUSIÓN

La evaluación del efecto de los complejos de los complejos de Cu(II) sobre la viabilidad celular de las líneas celulares neoplásicas MDA-MB-231, HeLa y PC-3 se llevó a cabo por la técnicas de MTT y CV, ambas técnicas utilizadas con el fin de tratar de entender a que nivel podrían actuar los compuestos de Cu(II), ya sea a nivel mitocondrial y/o a nivel nuclear (González, et.al., 2008). Las dos técnicas utilizadas para evaluar el porcentaje de viabilidad celular mostraron las mismas tendencias, sin embargo cada técnica y su estudio proporcionó información de la muerte celular a diferente nivel estructural.

En las tres líneas tumorales MDA-MB-231, HeLa y PC-3 se observó un efecto dosis respuesta, en los dos complejos (LQM 403 y LQM 406), a medida que se aumenta la concentración del compuesto menor es el porcentaje de viabilidad celular. En los dos compuestos estudiados probablemente existió un mayor daño a nivel mitocondrial ya que los porcentajes de viabilidad celular obtenidos por la técnica de MTT en las tres líneas tumorales fueron inferiores en contraste con los obtenidos mediante la técnica de CV.

Para las células de adenocarcinoma MDA-MB-231 el compuesto LQM 406 fue el más citotóxico. La muerte celular se presentó desde la concentración de 12.5 μM con porcentajes de viabilidad celular del 17 al 45%. Comparando estos datos con los reportados por otros autores tenemos que dos compuestos de Cu(II) el CQ-Cu(II) y el PDTC-Cu(II); inhiben la viabilidad celular de esta línea celular cancerosa al 40% a 10 μM y al 80% a 30 μM respectivamente (Kenyon, et.al., 2005), en la Figura 28 se muestran los ligantes de estos compuestos. Esta referencia nos indica que los resultados obtenidos con el LQM 406 son comparables con los que se encuentran ya reportados.

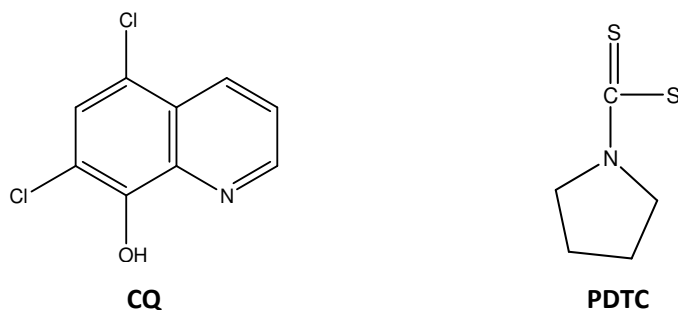


Figura 28. Ligantes de complejos de Cu(II)

En el caso de las células de cáncer cérvico-uterino (HeLa), el compuesto que presentó una mayor inhibición de la viabilidad celular fue el LQM 406. La muerte celular comenzó a hacerse presente desde la concentración 25 μM , con porcentajes de viabilidad celular de 6.4 a 50%. En contraste con otras referencias se reporta que el complejo de Cu(II) [(ETDPA)Cu(phen)](ClO₄)₂ presentó aumento en la muerte celular desde una concentración de 20 $\mu\text{mol/L}$ con porcentajes de viabilidad que van del 10 al 58% (Wen-jie, et.al., 2010) . Lo que nos muestra que el LQM 406 presenta una inhibición de la viabilidad celular relevante en esta línea celular tumoral.

Para las células de adenocarcinoma PC-3 el complejo que presentó mayor efecto en la disminución de la viabilidad celular fue el LQM 406. La muerte celular se mostró desde la concentración 18.75 μM con porcentajes de viabilidad celular que van del 50 al 25%. Comparando los resultados obtenidos con los que se reportan tenemos que se evaluó la actividad de tres complejos de Cu(II) estos son el Cloro[N – (2 – hidroxibenzil – 2 – pirazoetil)iminato]cobre(II) **1**, el Cloro[N – (2 – hidroxí – 3,5 – dicloro – benzil – 2 – pirazoetil)iminato]cobre(II) **2** y el Cloro[N – (2 – hidroxí – 3,5 – diiodo – benzil – 2 – pirazoetil)iminato]cobre(II) **3** obteniendo IC₅₀ a 24 h de exposición de 365 \pm 51 μM , 196 \pm 18 μM y 95 \pm 40 μM respectivamente (Gama, et.al., 2001), en la Figura 29 se muestran los ligantes de cada uno de los complejos, analizando podemos observar que los valores reportados son muy altos comparados con las concentraciones que nosotros manejamos de los complejos y al mismo tiempo de exposición de los complejos.

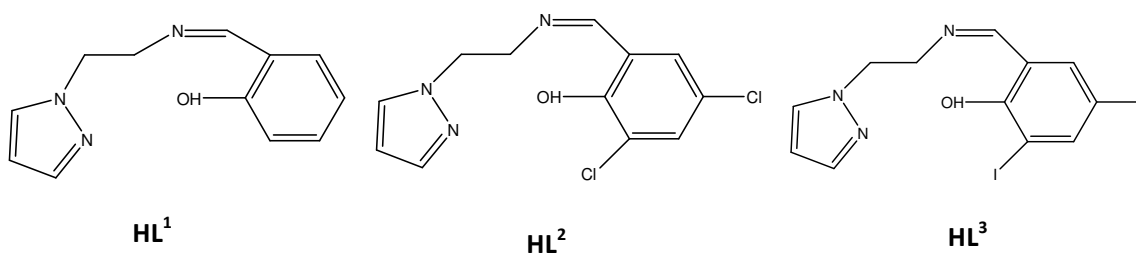


Figura 29. Ligantes de complejos, donde el superíndice indica a que complejo pertenece

La citotoxicidad en el cultivo primario de linfocitos fue significativa en los dos complejos de Cu(II), pero el compuesto que presenta mayor inhibición en la viabilidad celular fue el LQM 403 que inclusive reporta porcentajes de viabilidad menores a los del control positivo (taxol) ya que llega a inhibir la viabilidad de este cultivo hasta en un 6%, la IC₅₀ del compuesto fue 13.13

μM . El LQM 406 que resultó ser el que tuvo actividad en células tumorales fue el menos citotóxico en estas células en comparación con su homólogo con una IC_{50} $17.35 \mu\text{M}$ y los resultados obtenidos en los porcentajes de viabilidad celular son comparables con los porcentajes obtenidos del taxol debido a que los porcentajes de viabilidad del complejo están en un rango de 26 a 60% y los del control positivo oscilan entre el 45 y 50%.

Los valores de IC_{50} del complejo LQM 406 sobre las líneas tumorales MDA-MB-321, HeLa y PC-3 fueron de 14.45, 26.12 y 26.76 μM respectivamente. Comparando estos valores con las referencias para compuestos de Cu(II) , se reportan IC_{50} de $5.1 \pm 0.8 \mu\text{mol/L}$ para células HeLa con el compuesto $[(\text{ETDPA})\text{Cu}(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (Wen-jie, et.al., 2010), para la línea PC-3 se reportan que los complejos, Cloro[N – (2 – hidroxibenzil – 2 – pirazoetil)iminato]cobre(II) **1**, el Cloro[N – (2 – hidroxil – 3,5 – dicloro – benzil – 2 – pirazoetil)iminato]cobre(II) **2** y el Cloro[N – (2 – hidroxil – 3,5 – diiodo – benzil – 2 – pirazoetil)iminato]cobre(II) **3** obteniendo IC_{50} a 24 h de exposición de $365 \pm 51 \mu\text{M}$, $196 \pm 18 \mu\text{M}$ y $95 \pm 40 \mu\text{M}$, respectivamente (Gama, et.al., 2001); comparando los valores con los obtenidos podemos observar que en células HeLa se reportan valores por debajo de los obtenidos con el LQM 406 más sin embargo, no se reportan experimentos y resultados en células sanas mientras que nos puedan decir que tan citotóxico son los compuestos que se reportan. En PC-3 los valores obtenidos están por debajo de los que se reportan en la referencia, por lo que el LQM 406 resulta ser más efectivo en el combate de células de cáncer de próstata que los que fueron reportados, por todo lo anterior el LQM 406 potencialmente podría ser un nuevo fármaco con actividad antineoplásica.

11. CONCLUSIONES

- El mejor complejo de Cu(II) con base en la disminución de los porcentajes de viabilidad celular fue el LQM 406, ya que desde la concentración de 18.75 μM tuvo un efecto citotóxico significativo en las células MDA-MB-231, HeLa y PC-3.
- El complejo que presentó menos daño a células sanas (linfocitos) fue el LQM 406, presentando porcentajes de viabilidad comparables a los del taxol, mientras que el LQM 403 resultó ser el compuesto que más daño a estas células.
- Las IC_{50} calculadas del LQM 406 quien presentó el mayor efecto citotóxico en células tumorales fueron de 14.45 μM para células MDA-MB-231, de 26.12 μM para células HeLa y en 26.76 μM para células PC-3.

1 2 . P E R S P E C T I V A S

- Continuar con los estudios *in vitro* para corroborar el efecto citotóxico en más líneas celulares cancerosas (CasKi, HT-29, C-33, A-549, etc).

- Realizar estudios *in vivo* para corroborar el efecto anticancerígeno.

- Tratar de elucidar los posibles mecanismos de acción del compuesto LQM 406 en la línea celular de cáncer más susceptible a dicho compuesto a través de la evidencia de la apoptosis con Anexina V-FITC, determinación de la fragmentación de ADN, análisis de la expresión de algunas caspasas X por Western blot.

REFERENCIAS

1. Capizzi, L. Robert. (1987). "Quimioterapia del cáncer bases farmacológicas" Ed. Panamericana, Argentina. 7-9
2. Florez, Jesús. (1997). "Farmacología Humana" Ed. Masson S. A., España. 1019-1021
3. Pérez, Contreras Letzy. (2010). "Estudio comparativo del área bajo la curva del efecto temporal antihipertensivo de los compuestos morfolinicos, tiomorfolinicos y piperidínicos con Captopril y Losartán" Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, México. 48-49
4. INEGI. (2005). "Estadísticas a propósito del día de la mujer" Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/default.asp?c=269&e>
5. OMS. (2010). "¿Aumenta o disminuye el número de casos de cáncer en el mundo?" Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/15/es/index.html>
6. ICCE. (2007). "Intervenciones de enfermería para la prevención del cáncer cérvicouterinoCaCu." Disponible en: <http://www.paho.org/spanish/ad/ge/cervicalcancersp.PDF>
7. OMS (2010). "Cáncer." Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
8. Gutiérrez de la Garza, Fidel. (2006). "Cáncer. Guía para médicos, pacientes y familiares" Ed. Trillas, México. 32-67
9. Frias, González Susana Enriqueta. (2001). "Actividad Citotóxica y antiinflamatoria de derivados de pirazolina" Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, México. 6-12
10. De Castro, de Pardo Clemenci. (2006). "Pruebas de tamizaje para determinar efectos citotóxicos en extractos, fracciones o sustancias, utilizando la prueba de MTT" Disponible en: http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-IV-2.pdf
11. Arias, González Iván. (2010). "Evaluación de la actividad antitumoral de diferentes extractos de varias especies de Kalanchoe en una línea celular de cáncer de próstata" Tesis de Maestría, IPN, México, D.F.1,4-6,15-16
12. Alberts, Bruce, et.al. (2003). "Biología Molecular de la célula" 3ra. Ed. Omega, España. 1313-1315,1328-1332

13. Brown, M. David, Graham E. Kelly y Husband J. Alan. (2005). "Flavonoid Compounds in Maintenance of Prostate Health and Treatment of Cancer" *Molecular Biotechnology*. 30:253
14. Wen-jie Guo, Si-si Ye y cols. (2010). "ROS-mediate autophagy was involved in cancer cell death induced by novel copper(II) complex" *Experimental and Toxicologic Pathology*. 62:577-582
15. D. F. Xu, Z. H. Shen y Q. C. Xia. (2010). "Synthesis, Characterization, Crystal Structure, and Biological Activity of the Copper Complex" *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 36:458-462
16. Alonso-Castro, JosabadAngel, Maria Luisa Villarreal y cols. (2011). "Mexican medicinal Plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies" *Journal of Ethnopharmacology*. 133:945-972
17. Giovagnini, Lorena, SegioSitran y cols. (2008). "Chemical and Biological Profiles of Novel Copper(II) Complexes S-Donor Ligands of the Treatment of Cancer" *Inorganic Chemistry*. 47:6336-6343
18. Kumar, Durairaj Ashok, TamilSelvanVaiyapuri y cols. (2009). "Antineoplastic and antioxidant activities of *Oxystelmaesculentum* on Swiss albino mice bearing Ehrlich's ascites carcinoma" *Pharmaceutical Biology*. 47:195-202
19. Soto, Arredondo Karla Jazmín y cols. (2009). "Complejos de Cu(II): Alternativas en la terapia antineoplásica" 19:28-32 Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=41613097004>
20. Chauhan, Mala, KakoliBanerjee y FarukhArjmand. (2007). "DNA Binding Studies of Novel Copper(II) Complexes Containing L-Tryptophan as Chiral Auxiliary: In vitro Antitumor Activity of Cu-Sn₂Complex in Human Neuroblastoma cells" *Inorganic Chemistry*. 46:3072-3082
21. Murugkar, Anupa y Cols. (1999). "Metal complexes of Taxol precursor 1. Synthesis, characterization and antitumor activity of the copper complex of 10-deacetylbaccatin thiosemicarbazone" *Inorganic Chemistry Communications*. 2:545-548
22. Dixit, Namrata y Cols. (2011). "One pot synthesis of Cu(II) 2,2'-bipyridyl complexes of 5-hydroxy-hydurilic acid and alloxanic acid: Synthesis, crystal, chemical nuclease activity and cytotoxicity" *Journal of Inorganic Biochemistry*. 105:256-267

23. Balakrishna, Maravanji S. y Cols.(2010). “DinuclearCopper(I) Complexes Containing Cyclodiphosphazane Derivatives and Pyridyl Ligands: Synthesis, Structural Studies, and Antiproliferative Activity toward Human Cervical and Breast Cancer Cells” Inorganic Chemistry. 49:8790-8801
24. Tsui-Hwa Tseng y Yean-Jang Lee. (2006). “Evaluation of Natural and Synthetic Compounds from East Asiatic Folk Medicinal Plants on the Mediation of Cancer” Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. 6:347-365
25. Nassr-Allah, Amr A. y Cols.(2009). “Anti-Cancer and anti-oxidant activity of some Egyptian medicinal plants” Journal of Medicinal Plants Research. 3:799-808
26. Kenyon, G. Daniel y Cols. (2004) “Organic copper complexes as a new class of proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells” Biochemical Pharmacology. 67:1139-1151
27. Kenyon, G. Daniel y Cols. (2005). “Clioquinol and pyrrolidinedithiocarbamate complex with copper to form proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human breast cancer cells” BioMed Central. 7:R897-R907. Disponible en : <http://breast-cancer-research.com/content/7/6/R897>
28. Zhen-Feng Chen y Cols. (2009). “Cytotoxicity of the traditional chinisemedice (TCM) plumbagin in its copper chemistry” Dalton Transactions. 48:10824-10833
29. Wattenberg, Lee w: y Cols. (2011).“Inhibitory effects of phenolic compounds on benzo[a]pyrene-induced neoplasia” Cancer Research. 40:2820-2823
30. Kawashima, Seiichiro y Cols. (2002). “Preparation of heterocyclic compounds as antitumor agents” American Chemical Society. 28:15-20
31. Callacondo-Riva, David y Cols. (2008). “Actividad citotóxica del extracto etanólico de *Gnaphaliumspicatum* -KetoKeto- en cultivos de líneas celulares tumorales humanas” Rev. PeruMed. Exp. Salud Pública. 25:380-385
32. Ordaz, Pichardo Cynthia, Alejandra Cecilia Herrera Ramírez e Iván Arias González (2010) “Evaluación *in vitro* de la citotóxicidad de algunos extractos obtenidos de *Kalanchoe SP.* en líneas celulares de cáncer cérvico-uterino y próstata” Hoja Informativa
33. Gama, Sofia, FilipaMendes y Cols. (2011) “Copper (II) complexes with tridentate pyrazole-based ligands: synthesis, characterization, DNA cleavage activitu and cytotoxicity”Journal of Inorganic Biochemistry 105:637-644

34. Herrera, Ramírez Alejandra Cecilia (2010). “Evaluación *in vitro* de algunos extractos obtenidos de la *Kalanchoe SP.* en varias líneas celulares de cáncer cérvico-uterino” Informe técnico de Estancia de Titulación, IPN, México, D.F. 1, 4-6, 14-16
35. Lewin, B. (2000). “Cáncer cérvico-uterino. Prevención, diagnóstico y control” Ed. Panamericana. 254
36. Wayne, W. Daniel (2002). “Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud” 4ta. Ed. LimusaWiley, México. 295
37. Alberts, Bruce, et.al. (2004). “Biología Molecular de la célula” 4ta. Ed. Omega, España. 1314-1315
38. Mandrile, L. Eloy y Graciela Bongiorno de Pfirter. (1993). “Taxol: Un Nuevo Antineoplásico de Origen Vegetal” Acta Farm. Bonaerense. 12:89-100
39. Posibles efectos secundarios del taxol (2010). Disponible en:<http://quimicataxol.blogspot.com/2008/06/posibles-efectos-secundarios-del-taxol.html>
40. Oble, Gabriela, et.al. (2010) “Obtención de líneas celulares derivadas de *Taxus globosa* SCH Productoras de Taxol (Paclitaxel) y taxanos relacionados” Disponible en: http://www.smbb.com.mx/congresos/smbb/acapulco09/TRABAJOs/AREA_II/CII-84.pdf
41. MedlinePlus. (2009). “Cáncer de mama” Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000913.html>
42. Organización Panamericana de la Salud. (2009). “Hoja Informativa. Cáncer cérvico-uterino” Disponible en:http://www.insp.mx/Portal/Centros/ciss/nls/boletines/ICCE_08.pdf
43. Instituto Nacional de Cáncer. (2010). “Cáncer” Disponible en: <http://www.cancer.gov>
44. ATCC. (2010). “Características de la línea celular cancerosa, HeLa” Disponible en: <http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/Default.aspx?ATCCNum=CCL-2&Template=cellBiologyHeLa>
45. ATCC. (2010). “Características de la línea celular cancerosa,PC-3” Disponible en: <http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/Default.aspx?ATCCNum=CRL-1435&Template=cellBiology>
46. ATCC. (2010). “Características de la línea celular cancerosa,MDA-MB-231” Disponible en:<http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/Default.aspx?ATCCNum=HTB-26&Template=cellBiology>

A N E X O S

A n e x o 1 . Característica de la línea celular de cáncer mama “MDA-MB-231”

Propiedades de crecimiento: Adherentes

Organismo: Homosapiens (humanos)

Morfología: Epiteliales

Fuente: glándula mamaria mama: Órgano

Enfermedades: Adenocarcinoma

Derivado del sitio de metástasis: Derrame pleural

Tipo de células: Epiteliales

Análisis citogenético: La línea de células aneuploideses femenino (número modal 64, rango 52 a 68), con un recuento de cromosomas en el rango cercano triploides. Normal de cromosomas N8 y N15 estaban ausentes.

Edad: 51 años

Género: Femenino

Origen étnico: Caucásico

Comentarios: Las células expresan el oncogén WNT7B.

A n e x o 2 . Característica de la línea celular de cáncer cérvico-uterino “HeLa”

Nivel de bioseguridad: Las células contienen virus del papiloma humano

Propiedades de crecimiento: Adherentes

Organismo: Homosapiens (humanos)

Morfología: Epiteliales

Fuente: Órgano: Cuello uterino

Enfermedades: Adenocarcinoma

Tipo de células: Epiteliales

Análisis citogenético: Modal número 82, rango 70 a 164. Hay un pequeño cromosoma matelo céntricos en el 98% de las células. Aneuploidía 100% en 1385 células examinadas.

Edad: 31 años

Género: Femenino

Etnicidad: Raza Negra

A n e x o 3 . Característica de la línea celular de cáncer próstata “PC-3”

Propiedades de crecimiento: Adherentes, (las células forman grupos en alargando y puede adaptarse al crecimiento de suspensión)

Organismo: Homosapiens (humanos)

Morfología: Epiteliales

Fuente: Órgano: Próstata

Etapa del tumor: Grado IV

Enfermedades: Adenocarcinoma

Óseo: Derivados del sitio metastásico

Análisis citogenético: La línea es casi triploide con un número modal de 62 cromosomas. Hay casi 20 cromosomas marcadores se encuentran comúnmente en cada celda, y N2 normal, N3, N4, N5, N12, N15 y nose encuentran. Normal de cromosomas y pueden ser detectados por el análisis Q-banda.

Edad: 62 años

Género: Masculino

Origen étnico: Caucásico

A n e x o 4 . Preparación del medio de cultivo para las células

1. 800 mL de agua desionizada estéril. Mantener en agitación. El pH es aprox. 7
2. Agregar sobre de Dulbecco's Modified Eagle Medium, pH aprox. 6
3. Pesar 3.2 g de Bicarbonato de sodio. Agregar y esperar a que disuelva.
4. Agregar 5.95 g de Hepes (equivalente a 25 mM). pH aprox 6.7
5. Agregar piruvato de sodio a concentración final de 1 mM. Son de 10 mL el stock de 100 mM de sigma, pH aprox 7
6. Ajustar pH a 7.15 con NaOH 0.01N
7. Aforar a 1000 mL

8. Filtrar con poro de 0.22 μm en campana de flujo laminar.

NOTA: en caso de usar RPMI (medio de cultivo utilizado solamente para células sanas (linfocitos) se tienen que agregar 2.2 g de Bicarbonato de sodio.

Suplementación

Por cada 500 mL de medio (ya filtrado) agregar (también filtrándolo con poro de 0.22 μm) 50 mL de Suero Fetal Bovino. Agregar 5 mL de solución antibiótico-antimicótico

A n e x o 5 . Preparación de la enzima Tripsina

TRIPSINA (SIGMA)

- 1g/L de solución de verseno
- Esterilizar por filtrado
- Alícuotar y mantener en congelación
- Descongelar una alícuota para su uso y mantener en refrigeración

A n e x o 6 . Preparación de los amortiguadores

AMORTIGUADORES

PBS 1X (1L)	Cantidad (g)	VERSENO (1L)	Cantidad (g)
NaCl	8	NaCl	8
KCl	0.2	Tris	0.4
KH ₂ PO ₄	0.2	KCl	0.4
Na ₂ HPO ₄ anhidrido	2.16	EDTA	0.2

Ajustar pH 7.2 - 7.4