



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”

Título:

Determinación del efecto citotóxico de albendazol en combinación con temozolomida en células de glioma *in vitro*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA:

CAMACHO GALINDO PAOLA VIRIDIANA

ASESOR: M. en C. Miguel Hernández Cerón

COASESOR: Dr. Diego Lezama Martínez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2024.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

Dedico esta tesis a mis padres, Cecilia Galindo y Raúl Camacho, y a mis hermanos Karla y Emanuel, por su amor inquebrantable, apoyo constante y sacrificio inalcanzable a lo largo de toda mi carrera académica. Su fe en mi me ha impulsado a alcanzar este logro, y les estoy eternamente agradecida.

Agradezco también a mi amiga Maribel por acompañarme todos estos años y brindarme su amistad al igual que su apoyo constante durante los momentos de dificultad. Su amistad ha hecho que esta travesía sea más significativa.

También quiero expresar mi gratitud a mi asesor de tesis el Dr. Miguel Hdz. Cerón y a la Dra. Francisca Palomares por darme la oportunidad de realizar este trabajo, así como su orientación, apoyo y sobre todo paciencia. Sus consejos y conocimiento fueron fundamentales para el éxito de esta investigación.

Así como a mi compañera de laboratorio Viridiana que estuvo a mi lado durante este viaje, brindándome apoyo emocional y motivación constante.

Por último, agradezco al laboratorio de Neuroinmunología por el apoyo recibido y las células C6 proporcionadas. El presente trabajo se realizó con apoyo de financiamiento del Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) con el No. proyecto A1-S-40569.

Esta tesis, es el resultado del esfuerzo colectivo y el apoyo de muchas personas, y les dedico este logro a todos ellos.

Contenido

RESUMEN.....	1
LISTA DE ABREVIATURAS	3
1.MARCO TEÓRICO	4
1.1Cáncer.....	4
1.2 Tumores del Sistema Nervioso Central	8
1.3 Glioblastoma.....	13
1.3.1 Clasificación y características de GB	13
1.3.2 Origen y desarrollo del GB	15
1.4 Tratamiento para los GB	16
1.4.1 Resección quirúrgica	17
1.4.2 Radioterapia	18
1.4.3 Quimioterapia.....	19
1.5 Terapias de rescate.....	22
1.6 Nuevas alternativas de tratamiento: combinación de fármacos.....	22
1.8 Albendazol	23
2. JUSTIFICACIÓN	25
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo General:	25
4. HIPÓTESIS.....	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS	26
5.1 Reactivos	26
5.2 Línea celular y condiciones de mantenimiento y crecimiento.....	26
5.3 Preparación de soluciones para la curva concentración respuesta	27
5.4 Evaluación de los fármacos	28
5.4.1 Pruebas de viabilidad celular	28
5.5 Evaluación de la combinación de TMZ con ALB.....	29
5.6 Determinación de los cambios morfológicos después de la aplicación de los fármacos solos y en combinación.	32
6. RESULTADOS.....	33
6.1 Efecto citotóxicos de TMZ.	33
6.1.1 Alteraciones morfológicas con TMZ.....	34

6.2 Efecto citotóxicos de ALB.....	35
6.2.1 Alteraciones morfológicas con ALB	35
6.3 Efecto de la combinación	36
6.3.2 Alteraciones morfológicas con la combinación.....	39
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS	40
8. CONCLUSIONES.....	45
REFERENCIAS.....	46

RESUMEN

El glioblastoma (GB) es un tumor que, por sus características infiltrativas, de alta proliferación y sus mecanismos de resistencia, presenta para los pacientes con esta enfermedad, una corta esperanza de vida de aproximadamente 15 meses a pesar de la aplicación del esquema de tratamiento estándar; [\[Louis y cols., 2016\]](#) por lo que se requieren nuevas alternativas que mejoren el pronóstico. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la combinación de temozolomida (TMZ: fármaco de primera elección para el tratamiento de este cáncer) con albendazol (ALB: a lo largo de aproximadamente dos décadas ha sido reportado como un agente anticancerígeno), con la finalidad de dilucidar si se presenta una interacción farmacológica de aditividad o sinergismo. Para cumplir con este objetivo se utilizaron células de glioma de la línea C6 y se evaluó *in vitro* la citotoxicidad de cada uno de los fármacos por separado a diferentes concentraciones, se determinó la viabilidad celular después de cada tratamiento por el método de MTT y se obtuvieron las curvas dosis respuesta. Para los estudios de combinación se eligieron tres concentraciones de las curvas dosis respuesta que exhibieron una citotoxicidad menor al 50 %, por lo que se evaluaron en total nueve combinaciones. Las combinaciones se analizaron para detectar aditividad o sinergismo comparando el valor de citotoxicidad teórico con el valor de citotoxicidad experimental; además se tomaron imágenes de las células con un microscopio de luz invertida para analizar los cambios morfológicos después de cada tratamiento. Los resultados mostraron que dos de las combinaciones evaluadas exhibieron un efecto sinérgico y una un efecto aditivo. El análisis morfológico reveló una mayor disminución de la confluencia y pérdida

de la morfología en las células tratadas con la combinación en comparación con el efecto ocasionado con cada fármaco por separado. Se requiere evaluar otras proporciones de combinación, además de determinar los mecanismos de acción involucrados en los efectos aditivos y sinérgico encontrados.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

AIC: 5-aminoimidazol-carboxamida

ALB: Albendazol

ALBSO: sulfóxido de albendazol

ALT: alanina aminotransferasa

ANOVA: análisis de varianza

AST: aspartato aminotransferasa

ATP: adenosín trifosfato

BER: Base Excision Repair o mecanismo de reparación por escisión de bases

CBTRUS: Registro Central de Tumores Cerebrales de los Estados Unidos

CMN: células madre neurales

CMNC: células madre neurales cancerígenas

CTL: Control

DMEM: Dulbecco's modificado

DMSO: dimetil sulfoxido

EAC: carcinoma ascítico de Ehrlich

GB: glioblastoma

GB-IDH: glioblastoma- isocitrato deshidrogenasa

GLOBOCAN: Observatorio Mundial del Cáncer de la OMS

MGMT: O6 -metilguanina-DNA metiltransferasa

MMR: mismatch repair o mecanismo de reparación de errores de apareamiento

MTIC: 5-(3-metiltriazol-1-il) imidazol-carboxamida

MTT: bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

N3MA: N3-Metiladenina

N7MG: N7-Metilguanina

NOS: not otherwise specified o no especificado

O[•]: Radical de oxígeno

O6MG: o6-metilguanina

OH[•]: Radical hidroxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

SCN: Sistema Nervioso Central

TMZ: Temozolomida

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

WNT: sitio de integración relacionado con Wingless

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Cáncer

Los tumores o neoplasias son descritos como un proceso de proliferación descontrolada de cualquier tipo de célula del organismo, en el cual dadas las características histológicas y genéticas se puede categorizar en neoplasias benignas (delimitado con células bien diferenciadas) o malignas (infiltrativo con poca o nula diferenciación celular) [Valencia y cols.,2014]. Los tumores malignos además de la proliferación celular descontrolada tienen la capacidad de invadir y desarrollarse en otros tejidos, proceso conocido como metástasis [Organización Mundial de la Salud, 2022].

En el año 2016 se describió que, dentro de las 20 causas de morbilidad mundial, el cáncer ocupó el primer puesto con 244.5 millones de afectados (cerca del 3% de la población mundial) seguido de la cardiopatía isquémica con 203.7 millones de personas (tabla 1) [Mattiuzzi & Lippi, 2019].

Tabla 1. Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del año 2016 sobre las 20 principales causas de morbilidad a nivel mundial estimadas como años de vida ajustados a la discapacidad (AVAD). Tomado y ajustado de Mattiuzzi & Lippi, 2019.

enfermedad	ambos			hombres			mujeres		
	AVAD	porcentaje (%)	posición	AVAD	porcentaje (%)	posición	AVAD	porcentaje (%)	posición
Total	2668.475	100	–	1429.691	100	–	1238.785	100	–
cánceres	244.574	9.2	1	137.439	9.6	1	107.135	8.6	1
cardiopatía isquémica	203.7	7.6	2	119.756	8.4	2	83.945	6.8	2
ataque cerebrovascular	137.941	5.2	3	72.91	5.1	3	65.031	5.2	3
infecciones de las vías respiratorias inferiores	129.69	4.9	4	67.542	4.7	4	62.148	5	4
complicaciones de parto prematuro	101.397	3.8	5	55.618	3.9	6	45.779	3.7	5
accidentes automovilísticos	82.538	3.1	6	60.616	4.2	5	21.922	1.8	13
diarrea	81.743	3.1	7	41.412	2.9	7	40.331	3.3	6

Tabla 1 | continuación

EPOC	72.512	2.7	8	41.411	2.9	8	31.101	2.5	7
asfixia y trauma de nacimiento	63.928	2.4	9	35.844	2.5	9	28.084	2.3	8
VIH/sida	59.951	2.2	10	33.995	2.4	10	25.956	2.1	11
enfermedades por parásitos y vectores	51.838	1.9	11	26.244	1.8	13	25.594	2.1	12
tuberculosis	51.643	1.9	12	33.02	2.3	11	18.622	1.5	15
dolores de espalda y cuello	47.515	1.8	13	21.089	1.5	18	26.427	2.1	10
cirrosis	45.287	1.7	14	31.107	2.2	12	14.179	1.1	18
depresión	44.175	1.7	15	17.453	1.2	20	26.722	2.2	9
enfermedades del riñón	39.079	1.5	16	21.353	1.5	17	17.726	1.4	16
infecciones y sepsis neonatal	39.009	1.5	17	20.095	1.4	19	18.913	1.5	14
caídas	38.162	1.4	18	22.21	1.6	16	15.953	1.3	17
autolesiones	37.564	1.4	19	23.801	1.7	15	13.763	1.1	19
violencia interpersonal	31.237	1.2	20	24.322	1.7	14	6.914	0.9	20
<i>AVAD(años de vida ajustados a la discapacidad), EPOC(enfermedad pulmonar obstructiva crónica), VIH/SIDA(virus de inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida)</i>									

De acuerdo con las estimaciones del 2019 de la OMS, el cáncer es la primera o segunda causa de muerte antes de los 70 años en 112 de 183 países y ocupa el tercer o cuarto lugar en otros 23 países. En países como Estados Unidos el cáncer es la primera causa de muerte, mientras que en México es la segunda causa (Figura 1). Estimaciones de GLOBOCAN de 2020 de la incidencia y mortalidad de cáncer en el mundo, reportan más de 19 millones nuevos casos de cáncer (se estiman más de 28 millones para el año 2040) y casi 10 millones de muertes. El cáncer de mama ha superado al cáncer de pulmón como el cáncer más común, sin embargo, el cáncer de pulmón sigue siendo la principal causa de muerte, con una estimación de 1,8 millones de muertes (18%), seguido del colorrectal con más de 900 mil (9,4%), hígado con más de 830 mil (8,3%), estómago con más de 768 mil (7,7%), y mama con más de 684 mil (6,9%); en el caso de tumores en cerebro se estiman más de 251 mil muertes (2.5%) (Tabla 2). [[Sung y cols.,2021](#)].

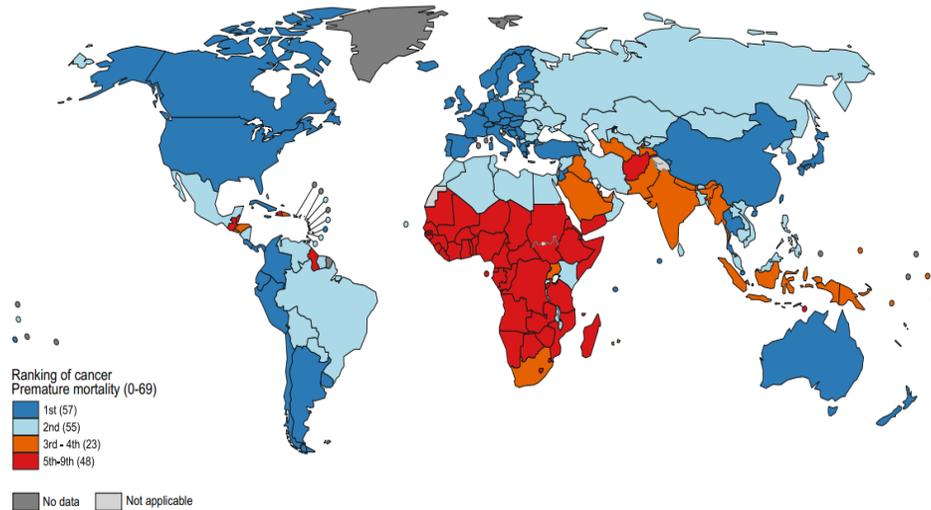


Figura 1. Ranking nacional de cáncer como una causa de muerte en edades menores a los 70 años en 2019. El número de países representados en cada uno de los grupos del ranking están incluidos en la leyenda. Fuente: Organización Mundial de la Salud. Tomado y modificado de Sung y cols., 2021.

Tabla 2. Casos nuevos de cáncer y muertes asociadas a los diferentes tipos de cáncer reportados en 2020. Tomada y modificada de Sung y cols., 2021

Sitio del Cáncer	No. De nuevos casos (% de todos los sitios)		No. De nuevos decesos (% de todos los sitios)	
cáncer de mama	2.261.419	(11,7)	684.996	(6,9)
Pulmón	2.206.771	(11,4)	1.796.144	(18,0)
Próstata	1.414.259	(7,3)	375,304	(3,8)
Cáncer de piel (no melanoma)	1.198.073	(6,2)	63.731	(0,6)
Colón	1.148.515	(6,0)	576.858	(5,8)
Estómago	1.089.103	(5,6)	768,793	(7,7)
Hígado	905.677	(4,7)	830.18	(8,3)
Recto	732,210	(3,8)	339.022	(3,4)
cuello uterino	604.127	(3,1)	341.831	(3,4)
Esófago	604.1	(3,1)	544.076	(5,5)
Tiroides	586,202	(3,0)	43.646	(0,4)
Vejiga	573,278	(3,0)	212,536	(2,1)
No linfoma de Hodgkin	544,352	(2,8)	259,793	(2,6)
Páncreas	495.773	(2,6)	466.003	(4,7)
Leucemia	474,519	(2,5)	311,594	(3,1)
Riñón	431,288	(2,2)	179.368	(1,8)
Endometrio	417,367	(2,2)	97.37	(1,0)
Labio, cavidad bucal	377,713	(2,0)	177,757	(1,8)
Melanoma de piel	324.635	(1,7)	57.043	(0,6)

Tabla 2 | continuación

Ovario	313,959	(1,6)	207,252	(2,1)
Cerebro, sistema nervioso	308,102	(1,6)	251,329	(2,5)
Laringe	184.615	(1,0)	99.84	(1,0)
Mieloma múltiple	176.404	(0,9)	117.077	(1,2)
nasofaringe	133.354	(0,7)	80.008	(0,8)
Vesícula biliar	115.949	(0,6)	84.695	(0,9)
orofaringe	98.412	(0,5)	48.143	(0,5)
hipofaringe	84.254	(0,4)	38.599	(0,4)
linfoma de Hodgkin	83.087	(0,4)	23.376	(0,2)
Testículo	74.458	(0,4)	9334	(0,1)
Glándulas salivales	53.583	(0,3)	22,778	(0,2)
Ano	50.865	(0,3)	19,293	(0,2)
Vulva	45.24	(0,2)	17.427	(0,2)
Pene	36.068	(0,2)	13,211	(0,1)
sarcoma de Kaposi	34.27	(0,2)	15.086	(0,2)
mesotelioma	30.87	(0,2)	26.278	(0,3)
Vagina	17,908	(0,1)	7995	(0,1)
Todos los sitios excluyendo cancer de piel (no melanoma)	18.094.716		9.894.402	
Todos los sitios	19.292.789		9.958.133	

*Los nuevos casos excluyen al carcinoma de células basales, mientras que los decesos incluyen todos los tipos de nomenclatura para los cánceres de piel.

En México, según el INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) la tasa de defunciones por tumores malignos aumentó de 6.09 defunciones por cada 10 mil personas en 2010, a 7.06 en 2021, siendo en los del sistema nervioso mayor la tasa en hombres, dado que en el rango de edad de 0-19 años se presentó una tasa del 0.06 para ambos sexos, mientras en el rango de edad de 21-29 años hubo un aumento al 0.07 en el caso de los varones (Tabla 3) [[INEGI, 2023](#)].

Tabla 3. Tasa de defunciones por tipo de tumor maligno, por grupos de edad y sexo, 2021 (defunciones por cada 10 mil habitantes en cada grupo de edad y sexo) tomada y modificada de INEGI, 2023.

causa de muerte por tumores malignos en hombres		causa de muerte por tumores malignos en mujeres	
0 a 19 años	tasa	0 a 19 años	tasa
leucemia	0.29	leucemia	0.2
tumor maligno de la meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.06	tumor maligno de la meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.06
tumor maligno del hígado de las vías biliares intrahepáticas	0.02	linfoma no Hodgkin	0.01
linfoma no Hodgkin	0.02	tumor maligno de ovario	0.01
21 a 29 años		21 a 29 años	
Leucemias	0.31	Leucemias	0.2
tumor maligno de la meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.07	tumor maligno del cuello del útero	0.1
tumor maligno del estomago	0.06	tumor maligno de la mama	0.07
linfoma no Hodgkin	0.06	tumor maligno del ovario	0.05
30 a 59 años		30 a 59 años	
tumor maligno del colon, recto y ano	0.6	tumor maligno de mama	1.52
tumor maligno de estomago	0.47	tumor maligno del cuello del útero	0.88
tumor maligno del páncreas	0.29	tumor maligno del ovario	0.54
Leucemias	0.28	tumor maligno del colon, recto y ano	0.45
60 años o más		60 años o más	
tumor maligno de la próstata	10.59	tumor maligno de mama	4.81
tumor maligno de la tráquea, bronquios y del pulmón	4.44	tumor maligno del hígado de las vías biliares intrahepáticas	3.29
tumor maligno del colon, recto y ano	3.8	tumor maligno del colon, recto y ano	2.91
tumor maligno del hígado de las vías biliares intrahepáticas	3.7	tumor maligno de la tráquea, bronquios y del pulmón	2.61

1.2 Tumores del Sistema Nervioso Central

Los tumores del sistema nervioso central (SNC) representan a un grupo heterogéneo de neoplasias ya que se desarrollan a partir de distintos tipos celulares [Contreras, 2017]. En la clasificación de la OMS para los tumores del SNC del 2021, los tumores se clasifican con la denominación de los “grados de la OMS del SNC” los cuales abarcan del 1 al 4 y se asignan de acuerdo con la historia natural de la enfermedad (tabla 4). Los tumores designados como “indeterminados” no son asignados con grados debido a la probable confusión para la atención clínica para ese tipo de tumor [Louis y col., 2021].

Tabla 4 Clasificación de los tumores del SNC según la quinta edición de la Organización Mundial de la Salud. Tomado y adaptado de Louis y cols., 2021.

Clasificación de la Organización Mundial de la Salud de Tumores del Sistema Nervioso Central, quinta edición	Grado de la OMS del SCN	Referencia
Gliomas, tumores glioneuronales y tumores neuronales		
Gliomas difusos de tipo adulto		
Astrocitoma, IDH-mutante	4	Tilak y cols.(2021)
Oligodendroglioma, IDH-mutante y 1p/19q-codelecionado	2	Tilak y cols.(2021)
Glioblastoma, tipo salvaje IDH	4	Tilak y cols.(2021)
Gliomas difusos de bajo grado de tipo pediátrico		
Astrocitoma difuso, MYB - o MYBL1 - alterado	1	Fabbri, Caporalini & Asiola. (2022)
Glioma angiocéntrico	1	Kurokawa y cols.(2022)
Tumor neuroepitelial polimorfo de bajo grado del joven	2	Huse y cols.(2017)
Glioma difuso de bajo grado, alterado en la vía MAPK	indeterminado	Fabbri, Caporalini & Asiola. (2022)
Gliomas difusos de alto grado de tipo pediátrico		
Glioma difuso de línea media, H3 K27-alterado	4	Gianno y cols. (2022)
Glioma hemisférico difuso, H3 G34-mutante	4	Gianno y cols. (2022)
Glioma difuso de alto grado de tipo pediátrico, H3-wildtype e IDH-wildtype	4	Gianno y cols. (2022)
Glioma hemisférico de tipo infantil	indeterminado	Gianno y cols. (2022)
Gliomas astrocíticos circunscritos		
Astrocitoma pilocítico	1	Rudá y cols. (2022)
Astrocitoma de alto grado con características piloides	indeterminado	Rudá y cols. (2022)
Xantastrocitoma pleomórfico	2,3	Rudá y cols. (2022)
Astrocitoma subependimario de células gigantes	1	Rudá y cols. (2022)
Glioma cordoideo	2	Rudá y cols. (2022)
Astroblastoma, MN1 -alterado	indeterminado	Rudá y cols. (2022)
Tumores glioneuronales y neuronales		
Ganglioglioma	1	Rudá y cols. (2022)
Ganglioglioma infantil desmoplásico / astrocitoma infantil desmoplásico	1	Rudá y cols. (2022)
Tumor neuroepitelial disembrionario	1	Rudá y cols. (2022)
Tumor glioneuronal difuso con características similares a oligodendroglioma	2,3	Rudá y cols. (2022)
Tumor glioneuronal papilar	1	Rudá y cols. (2022)
Tumor glioneuronal formador de rosetas	1	Rudá y cols. (2022)
Tumor glioneuronal mixoide	1	Rudá y cols. (2022)
Tumor glioneuronal leptomeníngeo difuso	indeterminado	Rudá y cols. (2022)
Gangliocitoma	1	Rudá y cols. (2022)
Tumor neuronal multinodular y vacuolizante	1	Rudá y cols. (2022)
Gangliocitoma cerebeloso displásico (enfermedad de Lhermitte-Duclos)	1	Rudá y cols. (2022)
neurocitoma central	2	Rudá y cols. (2022)
neurocitoma extraventricular	2	Rudá y cols. (2022)
Liponeurocitoma cerebeloso	2	Rudá y cols. (2022)
Tumores ependimarios		
Ependimoma supratentorial	2,3	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma supratentorial, fusión ZFTA positiva	2,3	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma supratentorial, fusión YAP1 positiva	2,3	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma de fosa posterior	2	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma de fosa posterior, grupo PFA	2	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma de fosa posterior, grupo PFB	2	Ellison y cols.(2020)
ependimoma espinal	2	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma espinal, MYCN -amplificado	2	Ellison y cols.(2020)
Ependimoma mixopapilar	1	Ellison y cols.(2020)
subependimoma	1	Ellison y cols.(2020)
Tumores del plexo coroideo		
Papiloma del plexo coroideo	1	Thomas y cols.(2020)
Papiloma de plexo coroideo atípico	2	Thomas y cols.(2020)
Carcinoma de plexo coroideo	3	Thomas y cols.(2020)
Tumores embrionarios		
meduloblastoma		
Meduloblastomas, definidos molecularmente		
Meduloblastoma, activado por WNT	4	Komboiorgas,(2017)
Meduloblastoma, activado por SHH y TP53 de tipo salvaje	4	Komboiorgas,(2017)
Meduloblastoma, activado por SHH y mutante en TP53	4	Komboiorgas,(2017)
Meduloblastoma, no WNT/no SHH	4	Komboiorgas,(2017)
Meduloblastomas, definidos histológicamente	4	Komboiorgas,(2017)
Otros tumores embrionarios del SNC		
Tumor teratoideo/rabdóideo atípico	indeterminado	Cotter j. & Judkis A. (2022)
Tumor neuroepitelial cribiforme	indeterminado	Cotter j. & Judkis A. (2022)
Tumor embrionario con rosetas multicapa	indeterminado	Cotter j. & Judkis A. (2022)
Neuroblastoma del SNC, activado por FOXR2	indeterminado	Cotter j. & Judkis A. (2022)
Tumor del SNC con duplicación interna en tándem de BCOR	indeterminado	Cotter j. & Judkis A. (2022)
Tumor embrionario del SNC	indeterminado	Cotter j. & Judkis A. (2022)
Tumores pineales		
Pineocitoma	2	Hirato j. & Nakazato Y. (2001)
Tumor del parénquima pineal de diferenciación intermedia	2	Hirato j. & Nakazato Y.(2001)
pineoblastoma	4	Hirato j. & Nakazato Y.(2001)
Tumor papilar de la región pineal	2,3	Javadi (2021)
Tumor mixoide desmoplásico de la región pineal, SMARCB1 - mutante	3,4	Thomas y cols. (2020)

Tabla 4 | continuación

Tumor mixoide desmoplásico de la región pineal, SMARCB1 - mutante	3,4	Thomas y cols. (2020)
Tumores de los nervios craneales y paraespinales		
Schwannoma	1	David & Clemens (2014)
neurofibroma	1,2	Chougule, M. (2020)
perineurioma	1	Chougule, M. (2020)
Tumor híbrido de la vaina nerviosa	1,2	Chougule, M. (2020)
Tumor maligno de la vaina del nervio melanótico	3,4	Chougule, M. (2020)
Tumor maligno de la vaina del nervio periférico	3,4	Chougule, M. (2020)
paraganglioma	2,3	Chougule, M. (2020)
meningiomas		
meningioma	1,2,3	Maggio y cols. (2021)
Tumores mesenquimales, no meningoteliales		
Tumores de tejidos blandos		
Tumor fibroso solitario	1,2,3	Tariq y cols.(2021)
Tumores vasculares		
Hemangiomas y malformaciones vasculares	1	DeHart, A., & Richter, G. (2019)
hemangioblastoma	1	Yoda R. & Cimino J. (2022)
Tumores del músculo esquelético		
Rabdomiosarcoma	1,2,3,4,	Agaram N.(2022)
Diferenciación incierta		
Tumor mesenquimatoso intracraneal, fusión FET-CREB positiva	indeterminado	Ozkizilkaya y cols. (2023)
CIC-sarcoma reordenado	indeterminado	Naohiro M. & Akihiko Y. (2023)
Sarcoma intracraneal primario, mutante DICER1	indeterminado	Kosteniuk, Michael & Dunham (2023)
sarcoma de Ewing	indeterminado	Sbaraglia y cols. (2020)
Tumores condroóseos		
Tumores condrogénicos		
condrosarcoma mesenquimatoso	4	Arora K. & Riddle N.(2018)
condrosarcoma	1	Engel y cols. (2021)
Tumores notocordales		
Cordoma (incluyendo cordoma pobremente diferenciado)	indeterminado	Walcott y cols. (2012)
Tumores melanocíticos		
Neoplasias melanocíticas meníngeas difusas		
Melanocitosis meníngea y melanomatosis meníngea	1,2	Padilla y cols. (2017)
Neoplasias melanocíticas meníngeas circunscritas		
Melanocitoma meníngeo y melanoma meníngeo	2,3	Padilla y cols. (2017)
Tumores hematolinfoides		
Linfomas		
Linfomas del SNC		
Linfoma primario difuso de células B grandes del SNC	2,3,4	Dunleavy y cols.(2018)
Linfoma del SNC asociado a inmunodeficiencia	1,2,3	Lurain y cols.(2020)
Granulomatosis linfomatoides	1,2,3	Xiang y cols.(2020)
Linfoma intravascular de células B grandes	1,2,3	Breakell y cols.(2022)
Varios linfomas raros en el SNC		
Linfoma MALT de la duramadre	indeterminado	Falini, Martino, & Lazzi (2023)
Otros linfomas de células B de bajo grado del SNC	indeterminado	Falini, Martino, & Lazzi (2023)
Linfoma anaplásico de células grandes (ALK +/ ALK -)	indeterminado	Falini, Martino, & Lazzi (2023)
Linfomas de células T y NK/células T	indeterminado	Falini, Martino, & Lazzi (2023)
Tumores histiocíticos		
Enfermedad de Erdheim-Chester	1	Solomon y cols. (2020)
Enfermedad de Rosai-Dorfman	1	Bruce, Schneider, & Schubert (2020)
Xantogranuloma juvenil	1	Haroche J., & Abia O. (2015)
Histiocitosis de células de Langerhans	indeterminado	Yeh y cols. (2018)
Sarcoma histiocítico	3,4	Machado y cols. (2011)
Tumores de células germinales		
Teratoma maduro	1	Agrawai y cols.(2010)
Teratoma inmaduro	1	Agrawai y cols.(2010)
Teratoma con malignidad de tipo somático	indeterminado	Diyora y cols.(2023)
germinoma	indeterminado	Osorio D., & Allen J. (2015)
Carcinoma embrionario	1,2	Terence y cols.(2014)
Tumor del saco vitelino	indeterminado	Sámal y cols.(2022)
coriocarcinoma	4	Wang y cols.(2022)
Tumor mixto de células germinales	indeterminado	Ueda K., Ueda A., & Ozaki K. (2021)
Tumores de la región selar		
Craneofaringioma adamantinomatoso	1,2	Gonzalez M., & Martinez P. (2021)
Craneofaringioma papilar	1	Müller H.(2020)
Pituiticoma, tumor de células granulares de la región selar	1,2	Asa y cols.(2022)
Adenoma hipofisario/PitNET	1,2	Asa y cols.(2022)
Blastoma hipofisario	4	Asa y cols.(2022)
Metástasis al SNC		
Metástasis en el cerebro y el parénquima de la médula espinal	1,2,3,4	Boire A. (2020)
Metástasis a las meninges	1,2,3,4	Boire A. (2020)

Cabe destacar que esta clasificación numérica por parte de la OMS hacia los tumores cerebrales describe el nivel de diferenciación por parte de las células que conforman la

masa tumoral sin importar su origen (tumores primarios o secundarios), dicho así que los cánceres de grado 1 presentan células bien diferenciadas que dan lugar a tumores circunscritos, de lento crecimiento y bajo potencial de conversión a un tumor de mayor malignidad. Los de grado 2 se encuentran moderadamente diferenciados, de borde difuso y de crecimiento lento. Los de grado 3 se encuentran poco diferenciados con células infiltrantes y con gran capacidad de progresar a tumores de mayor malignidad, mientras que los cánceres de grado 4 presentan células indiferenciadas de rápido crecimiento que pueden invadir otros tejidos, así como presentar angiogénesis (Figura 2) [[Mariana y cols., 2017](#)].

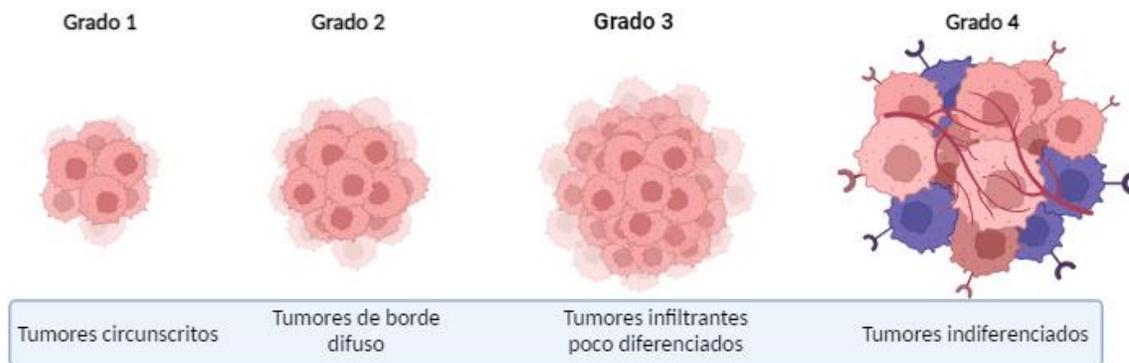


Figura 2. Asignación de grado de la OMS de acuerdo con el desarrollo tumoral. Tomado de Mariana y cols., 2017.

En México, en un estudio observacional realizado por el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN) en el 2019, se encontró que durante un periodo de 50 años (1965-2014) en una población de 2287 pacientes, los tumores astrocíticos de grado 4 fueron los más frecuentes en todas las edades, aumentando la frecuencia y mortalidad conforme avanzaba la edad de los pacientes, lo cual se asoció con una supervivencia corta de la cual fue de 6 a 15 meses después de la resección quirúrgica [[Aguirre y cols., 2020](#)].

De acuerdo con el Registro Central de Tumores Cerebrales de los Estados Unidos por sus siglas “CBTRUS” durante el periodo 2013-2017, se presentaron 415,411 casos de neoplasias que se identificaron como “tumores cerebrales y otros tumores del SNC” de los cuales 123,484 se designaron como malignos (el 29.7%) y 291,927 como no malignos (70.3%). Del 100 % de tumores malignos, el 14.5% se clasifico como Glioblastoma (GB) (Figura 3) [Ostrom y cols., 2020].

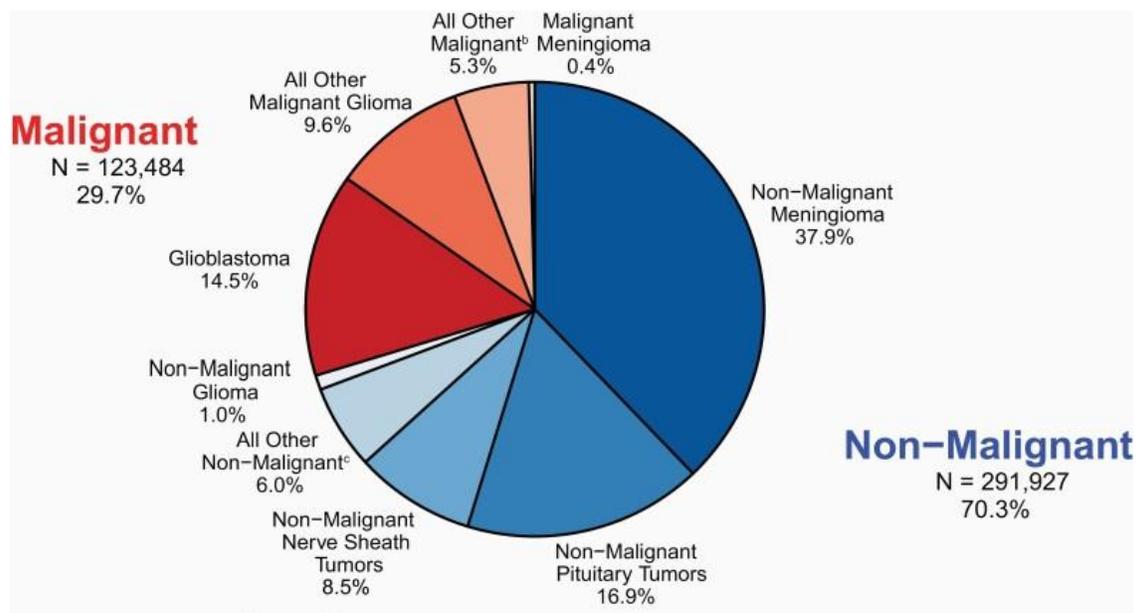


Figura 3. Distribución de tumores cerebrales y otros tumores del SNC (total de cinco años = 415 411; promedio anual de casos = 83 082), Informe estadístico CBTRUS: Estadísticas de cáncer de EE. UU. - NPCR y SEER, 2013-2017. Tomado de Ostrom y cols., 2020.

1.3 Glioblastoma

1.3.1 Clasificación y características de GB

Los gliomas son un conjunto de tumores que se caracterizan según los tipos de células gliales presentes. Los tumores que surgen de los astrocitos se denominan astrocitomas y los que se originan a partir de oligodendrocitos se denominan oligodendrogliomas. Los tumores que consisten tanto en astrocitos como en oligodendrocitos se denominan Oligoastrocitomas. Los tumores de origen glial dan lugar al cáncer cerebral más agresivo, conocido como GB. [\[Tilak y cols., 2021\]](#).

El GB es clasificado en dos principales categorías. La primera es el GB primario o *de novó*, el cual dentro de la clasificación de la OMS del 2021 se encuentra dentro del grupo de los tumores Glioma difuso del adulto, y se caracteriza por su rápido crecimiento y por tener una alta tasa de mortalidad. Es conocido como GB Isocitrato deshidrogenasa de tipo silvestre (IDH-wildtype), representa el 90% de los casos y hasta la fecha no se conoce la existencia de alguna lesión precursora. La edad media de diagnóstico es de 62 años, tiene una proporción entre hombres y mujeres de 1.42:1, una media de supervivencia de 15 meses con el esquema general de tratamiento y se localiza en la región supratentorial del cerebro donde presenta una extensa necrosis. En la segunda categoría está el GB secundario, el cual representa el 10% restante de los casos y es conocido como GB IDH-mutante o también llamado astrocitoma de grado 4, con antecedentes que provienen de algún glioma difuso o anaplásico de menor grado, la edad media de diagnóstico es de 44 años, la proporción entre hombres y mujeres es de 1.05:1, la media de supervivencia con el esquema general de tratamiento es de 31 meses, su localización suele ser en la parte

frontal del cerebro y presenta una necrosis limitada (Figura 4 y Tabla 5) [Louis y cols.,2016;Melhem y cols.,2022].

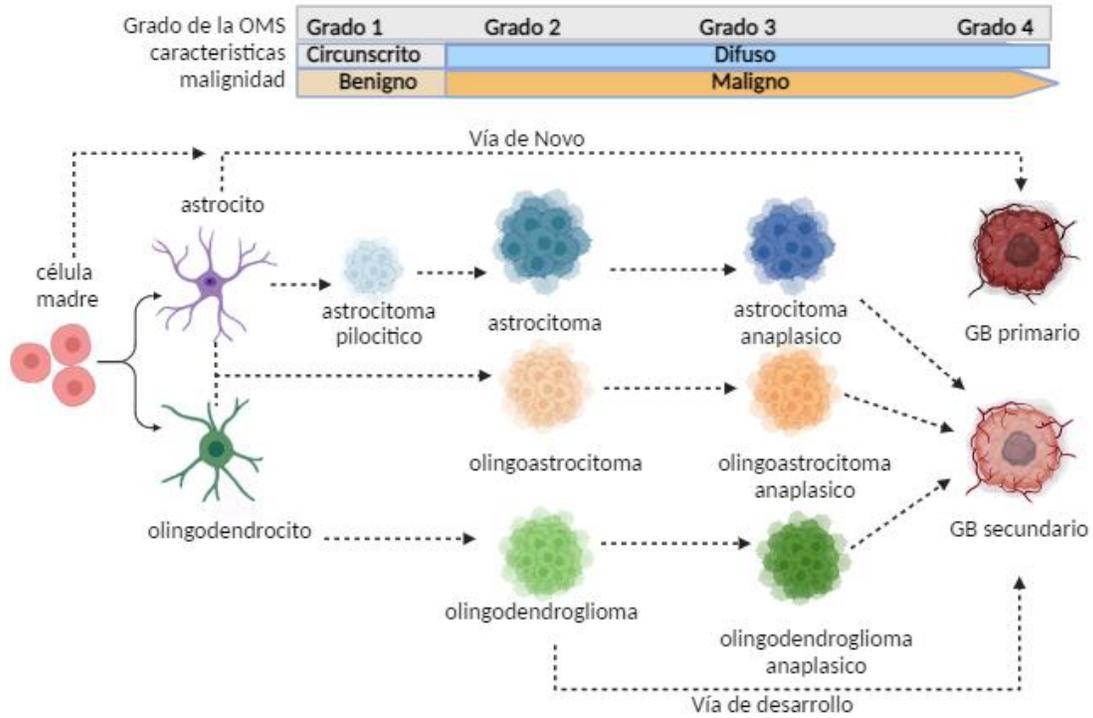


Figura 4. Características de los 4 tipos de gliomas según la OMS. Tomado y adaptado de Tilak y cols., 2021.

Tabla 5. Características de los GB. adaptado de Louis y cols., 2016

	Glioblastoma IDH- tipo salvaje	Glioblastoma IDH-mutante
Sinonimo	Glioblastoma primario, IDH-salvaje	Glioblastoma secundario, IDH-mutante
Lesión precursora	no identificable	Astrocitoma difuso, Astrocitoma anaplasico
Proporción de glioblastomas	~90%	~10%
Edad media de diagnostico	~62 years	~44 years
proporción de hombres y mujeres	1.42: 1	1.05: 1

Tabla 5| continuación

Duración media de la historia clínica	4 meses	15 meses
Media de supervivencia		
Cirugía+ Radioterapia	9.9 meses	24 meses
Cirugía+ Radioterapia+ Quimioterapia	15 meses	31 meses
Localización	supratentorial	preferentemente frontal
Necrosis	Extensa	limitada

1.3.2 Origen y desarrollo del GB

El origen de los GB es aún desconocido, no obstante, existen teorías que proponen su desarrollo. Una de esas teorías propone que el GB proviene de células madre neurales (CMN) sanas, las cuales al sufrir cambios genéticos y epigenéticos se transforman en células madre neurales cancerígenas (CMNC). Otra teoría indica que las CMNC pueden generarse a partir células neuronales (neuronas, astrocitos y oligodendrocitos) diferenciadas, las cuales al desdiferenciarse dan lugar a las células cancerígenas (Figura 5) [\[Rojas y cols., 2017\]](#).

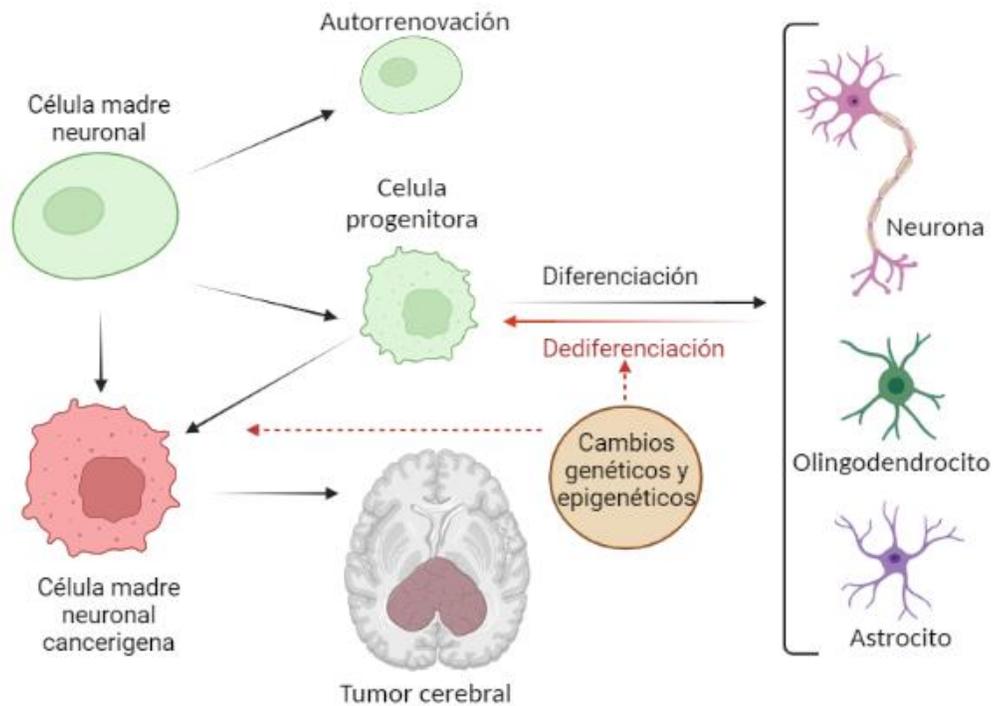


Figura 5. Origen de los tumores cerebrales. Adaptado de Rojas y cols., 2012

1.4 Tratamiento para los GB

El esquema general de tratamiento para el GB consta de la resección quirúrgica del tumor, la aplicación de radioterapia y quimioterapia con temozolomida (TMZ) (Figura 6) [Tejada y cols., 2020; Bruna y Alemany, 2020]. A pesar del uso de este esquema, las estimaciones de supervivencia son bajas, ya que solo el 7.2% de pacientes diagnosticados con GB viven más de 5 años después del diagnóstico, según la CBTRUS [Ostrom y cols., 2020].

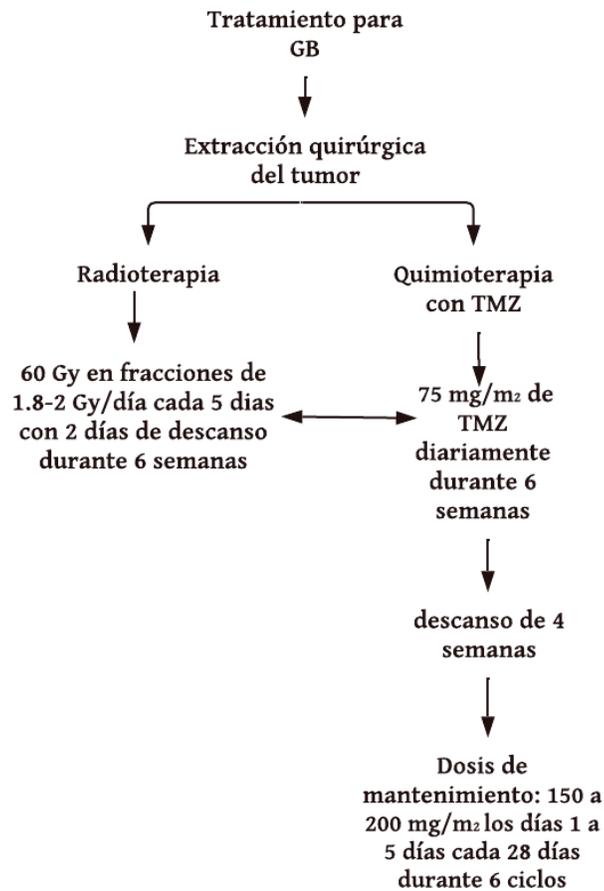


Figura 6. Tratamiento general para GB. Tomado y adaptado de Bruna y Alemany, 2020.

1.4.1 Resección quirúrgica

La resección quirúrgica tiene como propósito la reducción de la masa tumoral, la obtención de biopsias para dirigir de la mejor manera los siguientes tratamientos como lo son la radioterapia y la quimioterapia, así como la identificación histológica del tumor y una disminución en la recurrencia y el tiempo hasta la progresión del tumor [Tejada y cols., 2020]. Sin embargo, no se puede asegurar la extracción completa del tumor ya que está limitada por el daño neurológico, la localización del tumor, los procesos de infiltración y la anaplasia que dificultan la identificación entre el tejido neoplásico y el sano [Ray y cols., 2010].

1.4.2 Radioterapia

El objetivo de la radioterapia es administrar radiación ionizante sobre la zona tumoral para disminuir o eliminar las células cancerosas, con el mínimo daño al tejido sano circundante. Este método pretende aprovechar las características de las células tumorales de crecer de manera rápida y desmedida a diferencia de las células sanas, lo que las convierte en más radio sensibles, por lo que podría ser más complicado que estas células pudieran reparar el daño producido por la radiación y, por tanto, tener un porcentaje de muerte mayor en comparación de las células normales [[Prezado y cols.,2010](#); [Verdu y cols.,2002](#)]. Las dosis recomendadas para pacientes adultos son de 60 Gy en fracciones de 1.8-2 Gy/día por 5 días y dos de descanso durante 6 semanas para tumores de grados 3 y 4 (Figura 6) [[Bruna y Alemany,2020](#)]. El mecanismo de acción de la radioterapia tiene que ver con la acción física de la radiación para ionizar átomos de las células cancerosas provocando daño al ADN y su posterior muerte, la cual en muchas ocasiones no se produce de manera inmediata, ya que se ha reportado que la lesión va acumulando provocar la muerte de la célula. La radiación puede afectar tanto a la cadena simple como a la doble cadena del ADN, generando efectos directos en la célula al dañar el ADN; así mismo, la radiación también puede actuar indirectamente por medio de los radicales libres (OH^- y O^-) formados de la ionización o excitación de componentes celulares como por ejemplo el agua, que posteriormente dañan al ADN. [[Esco y cols., 2004](#);[Baskar y cols., 2012](#)].

1.4.3 Quimioterapia

La TMZ es un compuesto derivado de la imidazotetrazina, el cual es un fármaco de primera línea contra el GB. El aporte de TMZ en la sobrevida global es considerado bajo, debido a que en promedio la sobrevida con radioterapia y cirugía es de 10 meses, mientras que al administrar también TMZ, la media en promedio solo llega a 15 meses [[Stepanenko y cols., 2016](#)]. Después de la resección quirúrgica y administrada de manera concomitante con la radioterapia, la TMZ se administra diariamente a una dosis de 75 mg/m² durante un periodo de 6 semanas, después de 4 semanas de descanso, los pacientes reciben una dosis de mantenimiento que va de 150 a 200 mg/m² los días 1 a 5 días cada 28 días durante 6 ciclos (Figura 7). Después de la administración oral de TMZ (estable al pH ácido del estómago, rango de 3.5 a 4), esta se absorbe e hidroliza a pH fisiológico (7.35-7.45) para formar 5-(3-metiltriazol-1-il) imidazol-carboxamida (MTIC). El MTIC se hidroliza nuevamente, dando a lugar al 5-aminoimidazol-carboxamida (AIC) y al catión metildiazonio el cual causa el efecto citotóxico (Figura 7). El catión Metildiazonio interacciona covalentemente con los centros nucleofílicos del ADN, este proceso resultó en la formación de aductos de ADN, los cuales se conforman de N7-Metilguanina (N7MG), N3-Metiladenina (N3MA) y O6-metilguanina (O6MG), este último es el principal responsable de la citotoxicidad de la TMZ. [[Hotchkiss y cols., 2021](#)].

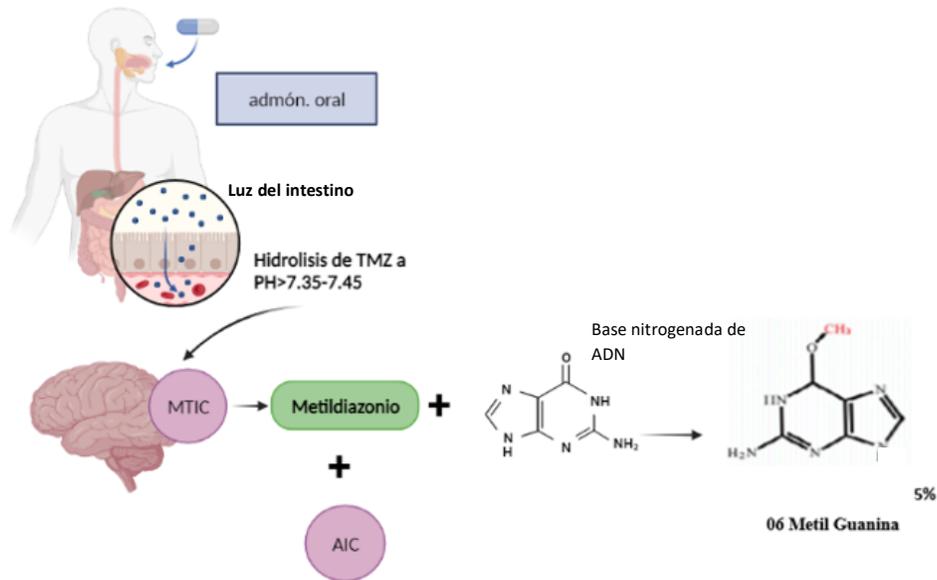


Figura 7. Mecanismo de acción de TMZ. Tomado y adaptado de Hotchis y cols. 2021.

A pesar de su utilidad en el tratamiento contra GB, dado la naturaleza del fármaco como agente citotóxico, la TMZ presenta una serie de efectos adversos que se pueden clasificar en dos categorías. 1.- Efectos hematológicos, los cuales no se presentan en la mayoría de los pacientes e incluyen, leucopenia, trombocitopenia, anemia y aumento de las enzimas AST/ALT. 2.- Efectos no hematológicos, los cuales son más comunes, están relacionados con afectaciones del sistema gastrointestinal como lo son vómitos, diarreas, náuseas, anorexia y constipación, también podemos encontrar efectos como dolores de cabeza, fiebre, alopecia, erupciones cutáneas, poliuria, fatiga y con muy poca frecuencia se puede presentar infecciones pulmonares [Bae y cols., 2014].

Cabe mencionar, que en el GB se presenta resistencia a el tratamiento con TMZ debido a la reparación del ADN por medio de la O6 -metilguanina-DNA metil- transferasa (MGMT), una enzima reparadora del ADN, la cual elimina al grupo metilo del aducto O6MG, lo que imposibilita el daño letal del ADN inducido por TMZ [Anjali y Kumaravel,2018]. Además de

la farmacorresistencia mediada por la MGMT también participan la vía de reparación de desajustes MMR (mismatch repair) la cual es un sistema que corrige desajustes de bases de nucleótidos generados en el proceso de la síntesis de ADN, así como el sistema de reparación por escisión de la base BER (Base Excision Repair) que interviene en la reparación del ADN inducido por agentes oxidantes, radiación ionizante o agentes alquilantes. La autofagia también contribuye a la resistencia hacia la TMZ ya que esta es el mecanismo para mantener la homeostasis y la supervivencia a través de la degradación y el reciclaje de proteínas celulares, orgánulos y otros componentes celulares, la cual está regulada por diversos estímulos, incluidas condiciones como inanición, hipoxia, patógenos, agentes tóxicos por radiación y daños en el ADN (Figura 8) [Jiaper y cols., 2018].

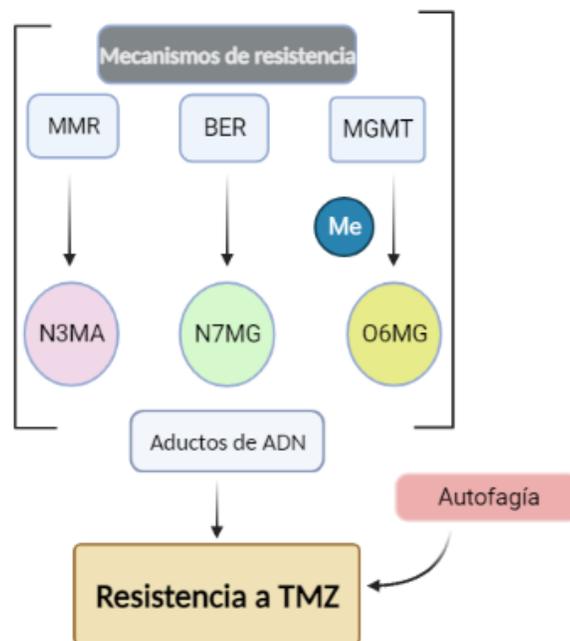


Figura 8. Mecanismos de resistencia a la TMZ Tomado y Adaptado de. Jiaper y cols.,2018

1.5 Terapias de rescate

Existe otra estrategia que se usa posterior a la terapia convencional, conocida como terapia de rescate, en la cual se emplean agentes alquilantes diferentes a la TMZ, como es el caso de los medicamentos del grupo de las nitrosourea, entre los que se encuentra la carmustina, fotemustina; así como de la ciclofosfamida que pertenece al grupo de las mostazas nitrogenadas. También se emplea el anticuerpo monoclonal bevacizumab, el cual se une a una proteína llamada factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) para ayudar a prevenir la formación de vasos sanguíneos nuevos [[García y cols., 2020](#)] y el irinotecan que pertenece a una clase de medicamentos antineoplásicos llamados inhibidores de la topoisomerasa I [[de Man y cols., 2018](#); [GPC, 2013](#)].

1.6 Nuevas alternativas de tratamiento: combinación de fármacos

A pesar de las importantes investigaciones destinadas a descubrir y desarrollar fármacos anticancerígenos novedosos y eficaces, el desarrollo de fármacos es un proceso largo y costoso, con altas tasas de deserción, siendo que de cada 10 propuestas que entran en ensayos clínicos de fase I, solo 1 es finalmente aprobada por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de los EE. UU., y la proporción se reduce a 1 de cada 15 para los medicamentos con indicación oncológica [[Masuda y cols., 2020](#)]. Por lo anterior, se ha prestado más atención en la búsqueda de efectos de sinérgica con combinación de fármacos en donde se busca regular vías de señalización de apoptosis, contrarrestar la resistencia a múltiples fármacos, inhibir la migración e invasión tumoral, entre otras [[Zhang y cols., 2018](#)].

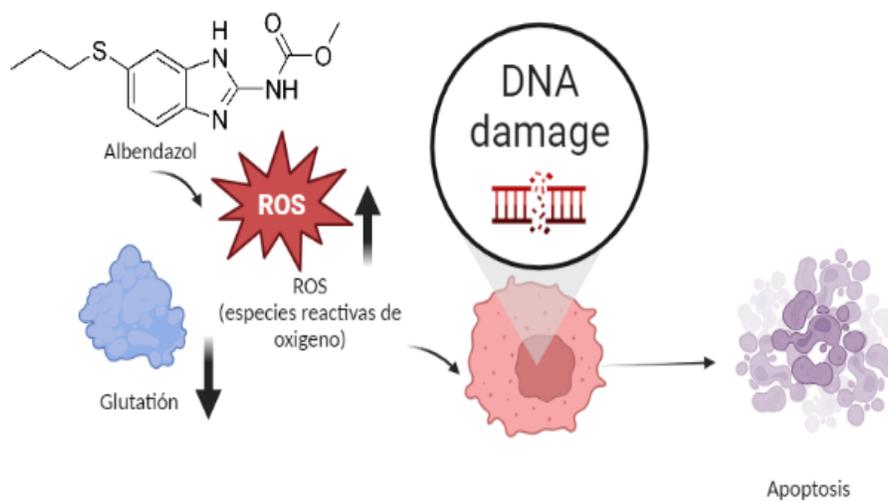
Por otro lado, se ha descrito que los benzimidazoles son moléculas con antecedentes favorables contra el cáncer, al inhibir el crecimiento de diversas líneas celulares cancerosas, causando inhibición de la polimerización de tubulina; induciendo apoptosis y autofagia; arretando el ciclo celular; reduciendo la angiogénesis, inhibiendo la resistencia a los fármacos entre otras [\[Son y cols., 2020\]](#).

Debido a estas características se plantea la posibilidad de que la combinación de TMZ con un benzimidazol como el ALB podría generar efectos de adición o sinérgicos, debido a que sus mecanismos de acción podrías ser complementarios contra las células de GB.

1.8 Albendazol

En 1975 se introdujo el albendazol (ALB), un benzimidazol cuyo nombre químico es (N-(5-propiltio-1H-bencimidazol-2-il) carbamato, como un agente parasitario, contra trematodos hepáticos, tenias, nematodos pulmonares y gastrointestinales en ovejas y ganado [\[Theodorides, 1976\]](#). Su administración es vía oral y su principio activo es el sulfóxido de albendazol (ALBSO). El mecanismo de acción del ALB en el tratamiento contra los helmintos implica la inhibición de los microtúbulos y el bloqueo de la captación de glucosa, lo que conduce al agotamiento de las reservas de glucógeno y reduce la formación de ATP durante las etapas larval y adulta de los parásitos susceptibles [\[Bertram, 1992\]](#). Existen pocos estudios sobre su mecanismo de acción sobre células cancerígenas, sin embargo, en un estudio sobre los efectos del ALB en células de carcinoma ascítico de Ehrlich (EAC), se involucra al estrés oxidativo, la disminución de niveles de glutatión, fragmentación del ADN, aumento de la expresión de proteínas proapoptóticas y activación de la vía de la apoptosis (Figura 9). Dada la capacidad de la mayoría de las

células cancerígenas de evadir el proceso de apoptosis, el encontrar fármacos que promuevan este mecanismo, estos pueden usarse como un enfoque para nuevos tratamientos contra el cáncer [Castro y cols., 2016].



9. Mecanismo de acción del ALB en células de carcinoma de Ehrlich. Adaptado de Castro y cols., 2016.

2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la TMZ es el fármaco de primera elección para el tratamiento quimioterapéutico contra GB, sin embargo, debido a la farmacorresistencia presentada por las células cancerígenas a TMZ, su eficacia es limitada, por lo que se requieren nuevas estrategias para mejorar el efecto citotóxico de este fármaco. En este trabajo se evaluó el efecto citotóxico de la combinación de TMZ con ABZ sobre células de glioma, esperando que, al exhibir mecanismo de citotoxicidad diferente para cada fármaco, se presente un efecto sinérgico, mejorando así la eficacia de TMZ.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General:

Evaluar el efecto citotóxico *in vitro* de la combinación de TMZ y ALB mediante la construcción de curvas concentración respuesta y su posterior análisis con la ayuda de métodos estadísticos con la finalidad de descubrir las interacciones farmacológicas que participan en dicha combinación.

3.2 Objetivos Particulares:

- Realizar curvas concentración respuesta *in vitro* de ALB en células de C6 de glioma.
- Realizar curvas concentración respuesta *in vitro* de TMZ en células C6 de glioma.
- Determinar el grado de la interacción farmacológica de la combinación TMZ+ALB en células C6 de glioma *in vitro*.
- Determinar alteraciones morfológicas de la combinación de TMZ+ALB en células C6 de glioma *in vitro*.

4. HIPÓTESIS

La combinación TMZ+ALB, presentará un efecto aditivo *in vitro* sobre células C6 de glioma.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Reactivos

El Medio de cultivo Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), la solución de antibiótico-antimicótico (10,000 unidades de penicilina, 10 mg de estreptomina, y 25 µg de anfotericina B por mL), la tripsina 10x, ALB, la TMZ, el cristal violeta, y el bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). El suero fetal bovino (Fetal bovine serum (FBS)) fue obtenido de Biowest (Nuillé, Pays de la Loire, France), el Dimetil sulfoxido (DMSO) de grado analítico, fue obtenido de Merck (Readington Township, NJ, Germany), el Buffer de fosfatos (PBS) que fue preparado con reactivos de grado analítico.

5.2 Línea celular y condiciones de mantenimiento y crecimiento

Este estudio se realizó con la línea celular de glioma de rata C6. Las células fueron proporcionadas en el Laboratorio de Neuroinmunología del INNN, las cuales se mantuvieron a una temperatura de 37°C y a una atmósfera del 5% de CO₂ durante todo el estudio. El medio de cultivo utilizado para mantener en cultivo las células fue DMEM el cual se le adiciono FBS al 11% junto con antibiótico y antimicótico al 1.1% para posteriormente filtrar con un sistema de filtración estéril con membrana de acetato de celulosa con un tamaño de poro de 0.22µm. Las células se mantuvieron en botellas de cultivo DE 25cm² hasta alcanzar una confluencia de 80-90%, posteriormente se lavaron 3

veces con PBS y se despegaron con solución de tripsina 1x para su recolección, conteo y siembra.

5.3 Preparación de soluciones para la curva concentración respuesta

Para la TMZ se pesaron 9.7mg para la preparar una solución madre de 200 mM en 0.250 ml de DMSO al 100%. A partir de esta solución madre se preparó una solución de trabajo (ST) en DMEM, la cual se utilizó para realizar diluciones seriadas para obtener las soluciones de la curva de TMZ.

- a) Se tomaron 15 μ l de la solución madre y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la ST con una concentración de 2000 μ M.
- b) De la ST, se tomaron 600 μ l y se aforaron a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 800 μ M. (solución 1)
- c) De la solución 1, se tomaron 600 μ l y se aforaron a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 320 μ M. (solución 2)
- d) De la solución 2, se tomaron 600 μ l y se aforaron a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 128 μ M. (solución 3)
- e) De la solución 3, se tomaron 600 μ l y se aforaron a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 50 μ M. (solución 4)
- f) De la solución 4, se tomaron 600 μ l y se aforaron a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 30 μ M. (solución 5)

Para el ALB se pesó 1 mg para preparar una solución madre de 1000 μ M en 2 ml de DMSO al 100%. A partir de esta solución se preparó una ST de 10 μ M aforada a 1.5 ml con DMEM y con un porcentaje de DMSO al 1%, de la cual se tomaron alícuotas para preparar soluciones en DMEN para obtener las concentraciones de la curva de ALB:

- a) Se tomaron 120 μl de la ST y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 0.8 μM .
- b) Se tomaron 75 μl de la ST y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 0.5 μM .
- c) Se tomaron 48 μl de la ST y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 0.32 μM .
- d) Se tomaron 30 μl de la ST y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 0.20 μM .
- e) Se tomaron 19.5 μl de la ST y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 0.13 μM .
- f) Se tomaron 12 μl de la ST y se aforo a 1.5 ml con DMEM para la concentración de 0.08 μM .

5.4 Evaluación de los fármacos

5.4.1 Pruebas de viabilidad celular

Para la evaluación de la citotoxicidad se usó el ensayo MTT, el cual se basa en la reducción de una sal de tetrazolio amarilla (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) a cristales de formazán de color morado por las células metabólicamente activas. Las células viables contienen enzimas oxidorreductasas dependientes de NADPH que reducen el MTT a formazán [[Sigma-aldrich, 2016](#)].

Se utilizaron placas de 96 pozos donde sembraron 2000 células por pozo, y se incubaron con 100 μl de DMEM durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se trataron con ALB o TMZ a las concentraciones antes descritas en el apartado 5.3 y se incubaron por 72 horas. Después de ese tiempo se realizó un cambio de medio y se agregó 10 μl de MTT (1mg/ml) por pozo, se incubó durante 3 horas y se retiró el medio junto con el MTT dejando solo los cristales formados, posteriormente se añadió 100 μl de DMSO al 100% y se agitó por

1 hora en un equipo de agitación. Se determinó la absorbancia a 570 nm utilizando el lector de microplacas (Biotek Synergy LX).

La viabilidad celular se obtuvo mediante la fórmula:

$$\% \text{ viabilidad} = \left(\frac{\text{Abs Mtra}}{\text{Abs Control}} \right) * 100$$

Formula 1

El porcentaje de mortalidad se obtuvo a partir de los datos obtenidos en la ecuación 1 con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ mortalidad: } 100 - \% \text{ viabilidad}$$

Formula 2

Con los datos de porcentaje de mortalidad se construyeron las curvas concentración-respuesta y se calculó la IC₅₀ con el análisis de regresión no lineal Probit. Usando para ello el programa SPSS V26.

5.5 Evaluación de la combinación de TMZ con ALB

A partir de las curvas de concentración respuesta se seleccionaron tres concentraciones que exhibieron una mortalidad menor al 50%, por lo que las concentraciones que se usaron para las combinaciones se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Combinaciones de TMZ+ALB evaluadas

	TMZ (μM)		
ALB (μM)	30	50	128
0.08	C1	C4	C7
0.13	C2	C5	C8
0.2	C3	C6	C9

Las combinaciones fueron preparadas a partir de cada solución madre de cada fármaco, es decir, las concentraciones de 30, 50 y 128 μM de TMZ fueron preparadas a partir de la solución madre de 200 Mm que posteriormente se usó para preparar una ST a 560 μM , así como las soluciones de 0.08, 0.13 y 0.2 μM de ALB fueron preparadas a partir de la solución madre de 1000 μM , la cual se utilizó para preparar una ST de 10 μM por lo que, cada combinación quedo elaborada de la siguiente manera:

Combinación de ALB con 30 μM de TMZ:

- C1: 107 μl de ST de TMZ + 16 μl de ST de ALB + 1877 μl de DMEM.
- C2: 107 μl de ST de TMZ+ 26 μl de ST de ALB+ 1867 μl de DMEM.
- C3: 107 μl de ST de TMZ+ 40 μl de ST de ALB+ 1853 μl de DMEM.

Combinación de ALB con 50 μM de TMZ:

- C4: 178 μl de ST de TMZ+ 16 μl de ST de ALB+ 1806 μl de DMEM.
- C5: 178 μl de ST de TMZ+ 26 μl de ST de ALB+ 1796 μl de DMEM.
- C6: 178 μl de ST de TMZ+ 40 μl de ST de ALB+ 1782 μl de DMEM.

Combinación de ALB con 128 μM de TMZ:

- C7: 457 μl de ST de TMZ+16 μl de ST de ALB+ 1527 μl de DMEM.
- C8: 457 μl de ST de TMZ+26 μl de ST de ALB+ 1517 μl de DMEM.

- C9: 457 μ l de ST de TMZ+40 μ l de ST de ALB+ 1503 μ l de DMEM.

Posteriormente se sembraron 2000 células por pozo, en placas de cultivo de 96 pozos y después de 24 horas de incubación a 37°C y 5% de CO₂, las células se trataron con 100 μ l de las soluciones que se presentan en la Tabla 6. Las células se incubaron durante 72 horas, y posteriormente las soluciones se reemplazaron con DMEM y se agregó 10 μ l de la solución MTT (1mg/mL). Después de 3 horas, la solución de MTT se sustituyó por DMSO al 100% para disolver los cristales de formazán. Las placas se agitaron durante 1 hora en un equipo de agitación y se leyó la absorbancia de la solución, utilizando un lector de microplacas (BiotekSynergy LX) a 570 nm. Se evaluaron 6 repeticiones en cada tratamiento y los experimentos se repitieron al menos tres veces. Una vez obtenidas las lecturas de absorbancia, el porcentaje de viabilidad celular se calculó mediante la fórmula 1 y el porcentaje de mortalidad se calculó con la fórmula 2.

Para identificar si el efecto citotóxico de las combinaciones TMZ+ALB fue sinérgico o aditivo, con los resultados de mortalidad obtenidos de cada fármaco individual se calculó la mortalidad promedio teórica o esperada (TMZ+ALB Teo) y se comparó con la mortalidad promedio obtenida experimentalmente (TMZ+ALB Exp) usando una prueba de T-student y considerando una diferencia significativa con un valor de $p < 0.05$. Considerando un efecto aditivo cuando la mortalidad Teórica era igual a la experimental ($p > 0.05$). Y un efecto sinérgico cuando la mortalidad Teórica era menor a la experimental ($p < 0.05$). Para una mejor visualización de los resultados se construyó una gráfica de barras donde se visualizaron los resultados de mortalidad de las diferentes combinaciones evaluadas y de los fármacos por separado, esta grafica se realizó usando el programa GraphPad Prism

software (versión 8.0 GraphPad Inc. La Jolla, CA. USA). Para el análisis estadístico se usó el programa SPSS v.26.

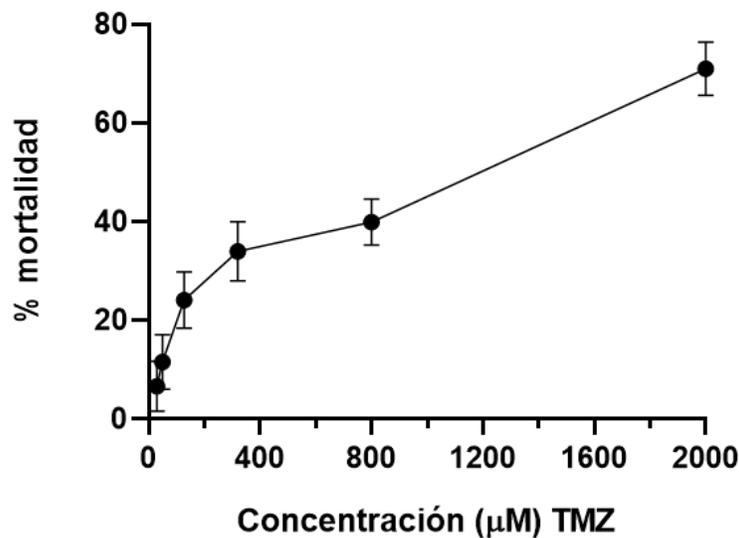
5.6 Determinación de los cambios morfológicos después de la aplicación de los fármacos solos y en combinación.

Para la evaluación de las alteraciones morfológicas causadas por los tratamientos durante 72 horas con los fármacos solos, así como por la combinación TMZ con ALB, antes de agregar la solución de MTT, se tomaron microfotografías de las células después de cada tratamiento (específicamente de las concentraciones de 500, 1000 y 2000 μM para la curva de TMZ y 0.08, 0.32 y 0.8 μM para la curva de ALB, así como la concentración de 30 μM de TMZ y 0.08 μM de ALB y su respectiva combinación) utilizando un microscopio de contraste de fases (Motic modelo AE31E) con un objetivo 20X.

6. RESULTADOS

6.1 Efecto citotóxicos de TMZ.

Los resultados de mortalidad de células de glioma C6 después de recibir tratamiento con diferentes concentraciones de TMZ se muestran en la Gráfica 1. Se puede observar un efecto citotóxico dependiente de la concentración de TMZ. Se observa una mortalidad máxima de 70% a la concentración más alta de TMZ correspondiente a 2000 μM . El valor obtenido de IC_{50} fue de 1213 μM (1125-1315 μM), este valor se encuentra en el rango de concentración de IC_{50} reportadas para TMZ por otros autores el cual va de 600 μM a 1700 μM durante un periodo de exposición de 72hrs en la línea celular C6 [[Ampudia, 2016](#); [Giakoumettis y cols.,2019](#)].



Gráfica 1. Curva concentración respuesta de TMZ sobre células de glioma C6. Cada punto representa la media de mortalidad de las células \pm desviación estándar (DE) $n= 3$ experimentos con 6 repeticiones cada uno.

6.1.1 Alteraciones morfológicas con TMZ

En la Figura 10 se muestran imágenes de las células después del tratamiento con TMZ a las concentraciones de 500, 1000 y 2000 μM , así como las células del grupo control (CTL). Dichas concentraciones fueron las que permitieron observar adecuadamente las diferencias en la disminución de la confluencia y la pérdida de morfología celular en comparación con el control, por lo que se evidencia cualitativamente que los resultados son dependientes de la concentración lo cual se correlaciona con los resultados de mortalidad.

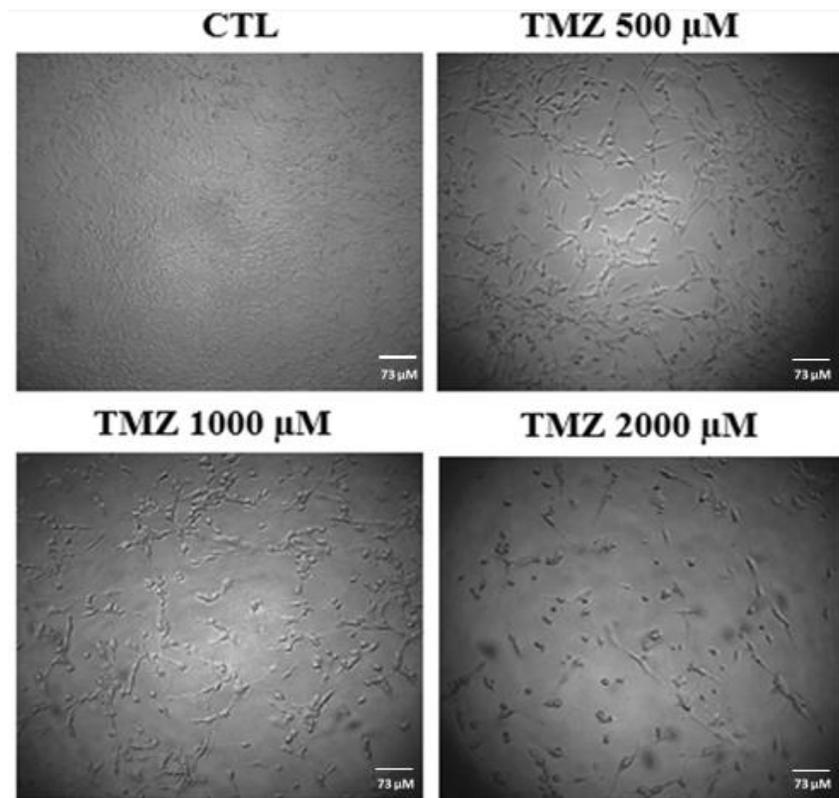


Figura 10. Imágenes de células de glioma C6 tratadas a distintas concentraciones de TMZ. Se observa el efecto del fármaco a distintas concentraciones, así como las células del grupo control. Se puede observar que a mayor concentración se pierde la confluencia y la morfología típica de las células. Imágenes tomadas con objetivo 10x. Aumento total de 100x.

6.2 Efecto citotóxicos de ALB.

El gráfico 2 muestra la curva concentración-respuesta de ALB en la línea celular C6 de glioma. Se observa una mortalidad máxima de 50% a la concentración más alta de ALB correspondiente a 0.8 μM . Se puede observar que la respuesta fue dependiente de la concentración y El valor de la IC50 obtenida fue de 0.6 μM (0.55-.68). Este valor coincide con un reporte previo sobre la misma línea celular [[Hernández y cols.,2023](#)].

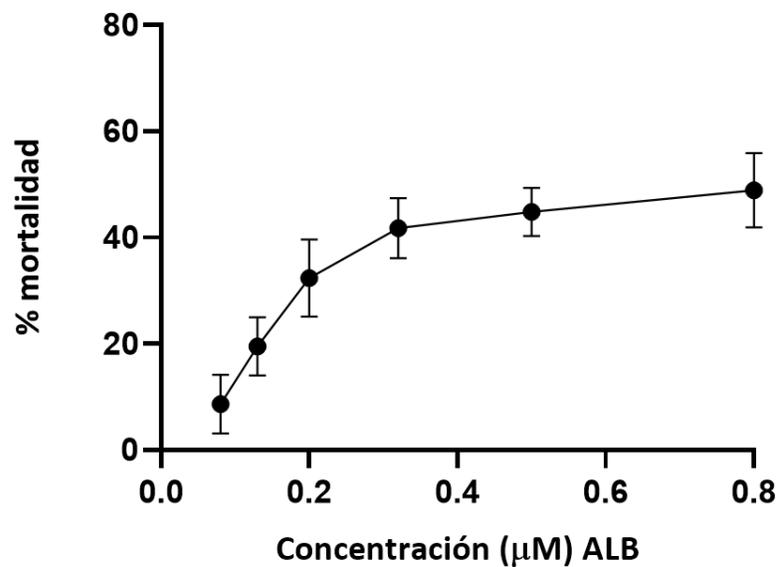


Gráfico 2. Curva concentración respuesta de ALB sobre células de glioma C6 obtenida mediante ensayo MTT. Cada punto representa la media \pm Desviación estándar (DE) $n= 3$ experimentos con 6 repeticiones cada uno.

6.2.1 Alteraciones morfológicas con ALB

En la Figura 11 se muestran imágenes de las células después del tratamiento con ALB a las concentraciones de 0.08, 0.32 y 0.8 μM , así como de células sin tratamiento. Se puede observar morfología alterada con las concentraciones de 0.32 y 0.8 μM en comparación con la concentración de 0.08 μM y el CTL.

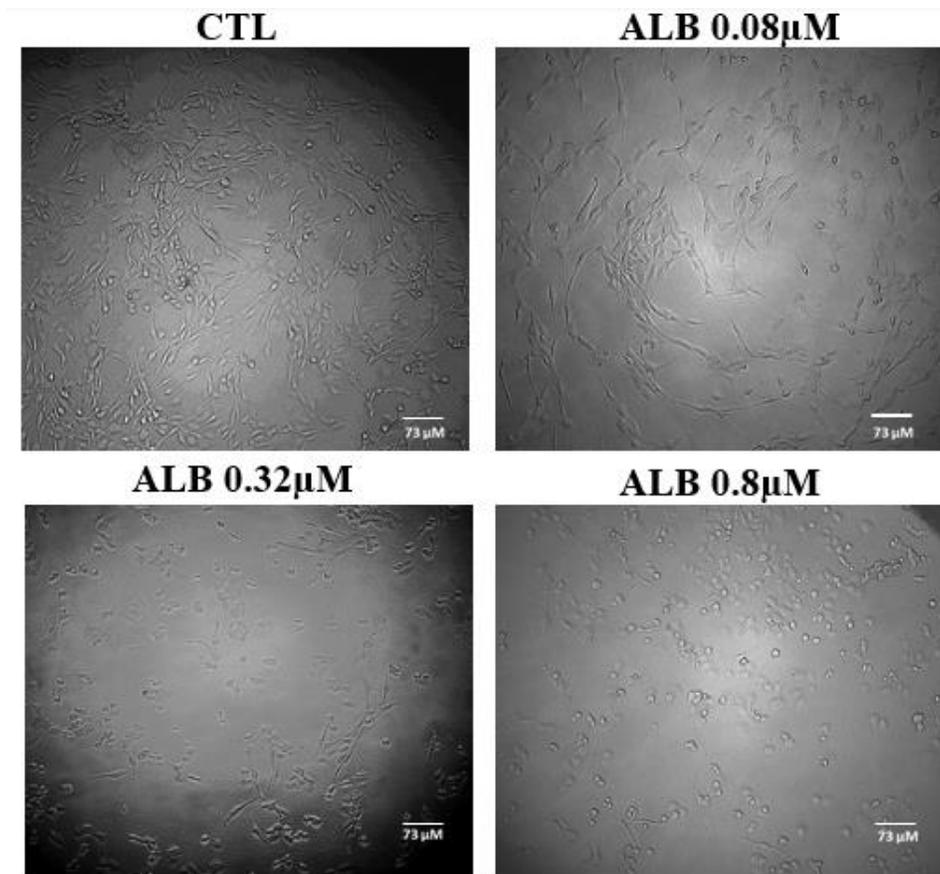


Figura 11. Imágenes de células de glioma C6 tratadas a distintas concentraciones de ALB. Se observa el efecto del fármaco a distintas concentraciones, así como las células del grupo control. Se puede observar que a mayor concentración se pierde la confluencia y la morfología típica de las células. Imágenes tomadas con objetivo 10x

Al comparar la eficacia de ALB y TMZ encontramos que TMZ fue más efectivo que ALB, alcanzando una mortalidad máxima de (70% \pm 3), mientras que la de ALB fue de (48% \pm 6), sin embargo, ALB fue más potente que TMZ.

6.3 Efecto de la combinación

De las nueve combinaciones que se evaluaron (TMZ 128 μ M + ALB 0.08 μ M; TMZ 128 μ M + ALB 0.13 μ M; TMZ 128 μ M + ALB 0.20 μ M; TMZ 50 μ M + ALB 0.08 μ M; TMZ 50 μ M + ALB 0.13 μ M; TMZ 50 μ M + ALB 0.20 μ M; TMZ 30 μ M + ALB 0.08 μ M; TMZ 30 μ M + ALB 0.13 μ M; TMZ 30 μ M + ALB 0.20 μ M) dos de ellas presentaron efecto sinérgico y en una un

efecto aditivo. La Figura 12 muestra los porcentajes de mortalidad de estas combinaciones.

La combinación TMZ 30 μM + ALB 0.08 μM resultó en un efecto aditivo debido a que no hay diferencias significativas entre la mortalidad teórica y la experimental ($*p>0.05$) (Figura 12A). Las combinaciones que presentaron efecto sinérgico fueron TMZ 30 μM +ALB 0.13 μM y TMZ 30 μM + ALB 0.20 μM . La mortalidad experimental ocasionada por la combinación TMZ 30 μM + ALB 0.13 μM (38.1%) fue 1.5 veces mayor en comparación con la mortalidad esperada al sumar el efecto citotóxico de cada fármaco por separado (26%) ($p<0.05$). En la combinación TMZ 30 μM + ALB 0.20 μM la mortalidad de las células fue de 44% y este porcentaje es mayor 1.2 veces que la suma de la mortalidad de cada fármaco ($p<0.05$) (Figura 12 B y 12C).

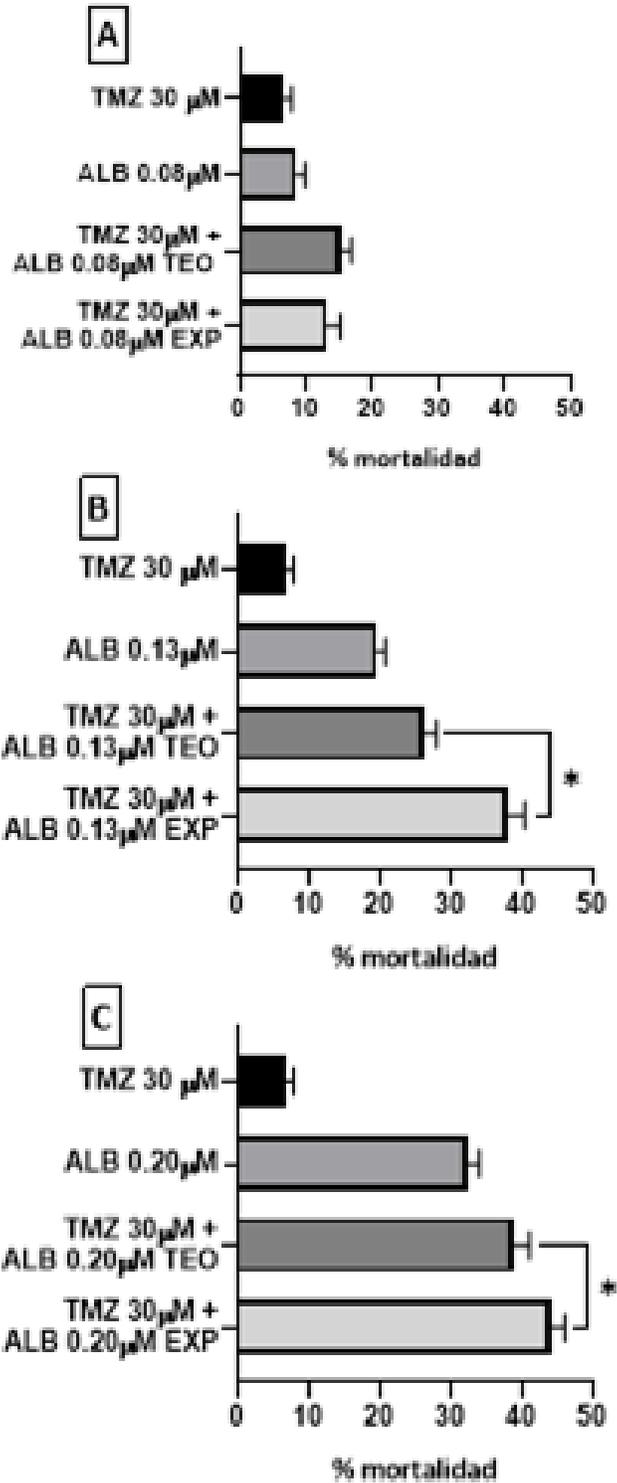


Figura 12. Actividad citotóxica de las combinaciones TMZ+ALB que mostraron efectos de aditividad y sinergismo en contraste con cada fármaco y la suma teórica. A) combinación TMZ 30 μ M+ALB0.08 μ M. (B) combinación TMZ 30 μ M + ALB 0.13 μ M. (C) combinación TMZ30 μ M + ALB 0.20 μ M. Cada barra representa la media de mortalidad celular de 3 experimentos diferentes \pm DE. (* p >0.05)

6.3.2 Alteraciones morfológicas con la combinación

En la Figura 13 se muestran las imágenes tomadas de las células después del tratamiento con la combinación TMZ 30 μ M + ALB 0.13 μ M, así como del grupo control. Se puede observar una alteración de la morfología y disminución de la confluencia celular con la combinación en comparación con el efecto ocasionado con cada fármaco por separado.

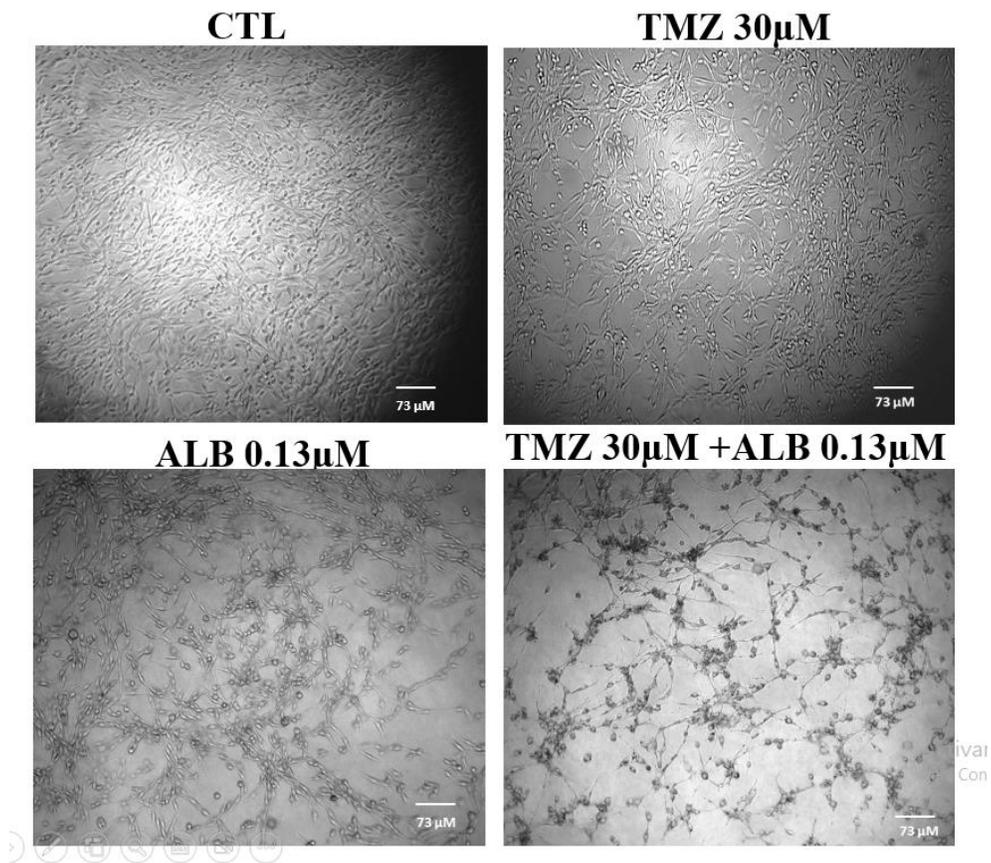


Figura 13. Imágenes de células de glioma C6 tratadas con la combinación de TMZ 30 μ M + ALB 0.13 μ M. Se observa también el efecto de los fármacos por separado a las mismas concentraciones usadas en la combinación. Se puede observar que con la combinación se perdió la confluencia y la morfología típica de las células. Imágenes tomadas con objetivo 10x

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El inicio del análisis cuantitativo de la combinación entre fármacos inicia con la creación y posterior interpretación de las curvas concentración respuesta la cual, está sujeta al entendimiento de dos conceptos básicos de la farmacología como lo son la eficacia y la potencia de un fármaco; la eficacia cuyo concepto hace referencia a que tan buena es la respuesta farmacológica de un fármaco y cuya representación gráfica está dada por la altura de la gráfica, así como la potencia que se refiere a la cantidad de fármaco necesaria para lograr un efecto significativo y cuya representación está dada por el acercamiento de la gráfica al eje de las ordenadas. [\[Gleason, 2010\]](#)

La información proporcionada por las curvas concentración respuesta sobre la potencia y eficacia de un fármaco permite conocer si la combinación de un fármaco A con un fármaco B producirá un efecto específico, este efecto esperado también conocido como efecto aditivo se comparará estadísticamente con los datos obtenidos durante la experimentación indicando así, si se ha producido una desviación de la aditividad, como sinergismo o antagonismo. [\[Tallarida, 2011\]](#)

El modelo elegido para esta investigación es el de aditividad de respuesta, que supone una interacción positiva al combinar dos fármacos (E_{AB}) cuya respuesta será mayor a la suma de sus respuestas individuales ($E_{AB} > E_A + E_B$). Este modelo a pesar de tener las ventajas de comparar los efectos de la combinación con los efectos de los fármacos individuales asumiendo que su efecto es aditivo, que su proceso no se considera laborioso y de bajo costo, es cierto que para determinar el sinergismo por este método hay que partir de curvas concentración respuesta lineales, pero para el resto de los fármacos que

no cumplen con dicha condición no es la mejor opción a la hora de determinar la existencia de sinergismo. [[Duarte & Vale, 2022](#)]

Por lo tanto, se han creado otras metodologías que no tienen esta limitante, por lo que la necesidad de tener resultados cada vez más eficaces a la hora de determinar sinergismo entre medicamentos, ha promovido la variación de distintos modelos como lo es la construcción de isobogramas, el cual es el método más utilizado para evaluar la sinergia o la subaditividad. Consiste en la construcción de un gráfico en coordenadas cartesianas en el que los ejes son las dosis de los respectivos fármacos, los cuales producen efectos similares; este gráfico que consta de una línea o curva que representa pares de dosis, las cuales al ser utilizadas juntas producen un nivel de efecto específico si los fármacos actúan de manera independiente [[Tallarida, 2012](#)]. Sin embargo, este modelo presenta ciertas limitaciones ya que sólo considera el efecto de la combinación a un nivel de efecto específico (CE_{30} , CE_{50} etc.) y considerando concentraciones equi-efectivas de cada fármaco por separado y en combinación [[Tallarida, 2001](#)].

También existen métodos informáticos muy útiles como lo es el modelo de Chou y Talalay el cual utiliza métodos matemáticos basados en las ecuaciones de Michaelis-Menten, Hill, Henderson-Hasselbalch y Scatchard, las cuales proporcionan algoritmos para la simulación informática automatizada de sinergismo y/o antagonismo en cualquier efecto y nivel de dosis. [[Chou, 2010](#)]. Su gran ventaja es el reciente desarrollo de un método para la estimación de intervalos de confianza para el índice de combinación que permite la aplicación de estadísticas [[Kifer y cols., 2020](#)]. Para el acceso a este recurso, es necesario el uso de potentes ordenadores, ya que este software tiene la posibilidad de hacer análisis

tanto en regresión lineal como en no lineal, permitiendo así, la determinación del sinergismo en varios grupos farmacológicos [[Asthon, 2015](#)].

A pesar de la existencia de los múltiples modelos matemáticos para demostrar la sinergia entre fármacos, se ha concluido que para llegar a datos exactos y seguros es necesario conocer a detalle el comportamiento de los fármacos y las características del estudio para poder elegir cual método es el mas adecuado para dicho análisis o si es necesario realizar el análisis con más de un modelo [[Zhao y cols., 2010](#)].

Dados los antecedentes, los siguientes resultados del presente estudio de la combinación TMZ con ALB muestran una gama de interacciones farmacológicas que van desde el antagonismo hasta el sinergismo, esto dependiendo de la proporción de cada fármaco usado en las combinaciones. Se pudo observar que el efecto sinérgico se presentó en aquellas combinaciones con una concentración de TMZ baja ($30\ \mu\text{M}$). Este efecto sinérgico se correlaciona con una disminución de dosis de cada uno de los fármacos, debido a que para alcanzar un 40% de mortalidad como fue el caso de la combinación TMZ $30\ \mu\text{M}$ + ALB $0.13\ \mu\text{M}$, se requeriría una concentración aproximada de TMZ de $800\ \mu\text{M}$ por lo que al dividir los $800\ \mu\text{M}$ entre $30\ \mu\text{M}$, nos indica que se redujo en 26 veces el uso de TMZ. En el caso de ALB se logró disminuir la concentración de ALB 2.4 veces debido a que para alcanzar un 40% de efecto se requiere una concentración de $0.32\ \mu\text{M}$ de ALB, ya que este es el resultado al dividir $0.32\ \mu\text{M}$ entre los $0.13\ \mu\text{M}$ (Figura 12).

Los resultados de aditividad y sinergismo encontrados podrían deberse a los diferentes mecanismos de acción de cada uno de los fármacos, debido a que se ha reportado que en ALB se involucra la vía del estrés oxidativo asociada con el daño del ADN al inducir la

fragmentación del ADN y la posterior apoptosis [[Castro y cols., 2016](#); [Chai y cols., 2021](#)]; y por otro lado TMZ actúa sobre los centros nucleofílicos del ADN lo cual causa citotoxicidad, sin embargo otros estudios son requeridos para elucidar los mecanismos de acción de la combinación de ambos fármacos.

La existencia de diversos estudios de combinación de diversos fármacos con TMZ revelan la urgencia de los médicos por hallar nuevas alternativas terapéuticas para tratar al GB. En dichos estudios como el realizado por Vengoji y cols. (2019) donde se reporta la combinación de TMZ con el fármaco afatinib sobre líneas celulares de glioma GBM U87MG y U25, se encontró que el afatinib, (un inhibidor de la enzima tirosin kinasa) incrementó el efecto citotóxico de TMZ de forma sinérgica. [[Vengoji y cols., 2019](#)]. Así como en otro estudio realizado por McConnel y colaboradores en el 2018, en el cual evaluaron la combinación de antioxidantes (vitamina D3 y el ácido alfa-lipoico, melatonina) con TMZ en células de glioma U87-MG y MU1454, concluyen que los antioxidantes pueden tener efectos sinérgicos con TMZ [[McConnell y cols., 2018](#)].

Las recientes investigaciones para determinar si ALB es un buen agente anticancerígeno ha traído estudios como el elaborado por Ghasemi y colaboradores en 2017, donde se probó el tratamiento con ALB en 20 líneas celulares del cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, a partir de dosis que van de 1nM-10 µM. Sus resultados mostraron que 13 líneas celulares respondieron al ALB con una IC₅₀ promedio de 152nM, dicha respuesta fue dada como resultado de la apoptosis, la inhibición de la migración celular, la detención del ciclo celular en la fase G2/M y la alteración de la distribución de tubulina [[Ghasemi y cols., 2017](#)]. En estudios *in vivo*, en el 2001, Pourgholami y cols. Demostraron que el uso

de ALB suprime la proliferación *in vitro* e *in vivo* de células de carcinoma hepatocelular mediante la inhibición de la polimerización de tubulina [[Pourgholami y cols., 2001](#)].

Para finalizar, la aplicación clínica del ALB en pacientes con cáncer ha sido limitada ya que se requieren de mas estudios que confirmen su seguridad como tratamiento farmacológico y que cuyas reacciones adversas no interfieran con la salud de los pacientes. Uno de los primeros estudios que se realizaron con ALB en pacientes fue el dado por Morris y cols., en el 2001, el cual llevo un estudio piloto con 9 pacientes con carcinoma colorrectal avanzado con metástasis hepática (n = 7), carcinoma hepatocelular (n = 1) o mesotelioma/tumor carcinoide en el hígado y la pleura (n = 1). Sus resultados arrojaron que 7 pacientes redujeron los niveles del antígeno carcinoembrionario (CEA) o de la proteína α -feto (AFP) en un tratamiento de 10 mg/kg al día durante 28 días, pero en los 2 pacientes restantes, los niveles de CEA o AFP, después de la estabilización inicial durante 5 a 10 días, comenzaron a aumentar nuevamente [[Morris y cols., 2001](#)].

La elaboración de diversos estudios destaca la urgencia de encontrar alternativas terapéuticas no solo para el GB si no para los distintos tipos de cáncer que acongojan a muchas personas en todo el mundo, el aporte de este estudio espera ser un parteaguas para la investigación de las combinaciones farmacológicas con ALB el cual, en este estudio demostró reducir las concentraciones de TMZ y que en conjunto con los demás estudios citados en este trabajo, sean la base para el encuentro de un nuevo tipo de tratamiento. Se esperan mas estudios que avalen la utilidad y el alcance de dicha combinación.

8. CONCLUSIONES

En este trabajo se exploró el efecto de la combinación de TMZ con ALB en un rango de distintas concentraciones de cada fármaco (de 2000 a 30 μM de TMZ y de 0.8 a 0.08 μM de ALB). Los resultados mostraron diferentes tipos de interacción farmacológicas entre los que destacan los efectos aditivos y sinérgicos en las concentraciones de 0.13 a 0.20 μM de ALB con 30 μM de TMZ. Estos resultados son una muestra de que ALB tiene la capacidad de reducir la viabilidad celular y la concentración de TMZ sin afectar su eficacia y que es una posible alternativa eficaz, segura y accesible para el tratamiento del GB. Se requieren mas estudios que avalen la seguridad y la eficacia de la combinación en modelos *in vivo*.

REFERENCIAS

1. Valencia Mayoral, P. F., & Ancer Rodríguez, J. (2014). Patología. McGraw-Hill Interamericana.
2. Organización mundial de la salud (2022) *Cáncer*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Consultada el 08 de Agosto de 2023.
3. Valencia Mayoral, P. F., & Ancer Rodríguez, J. (2014). Patología. McGraw-Hill Interamericana
4. Mattiuzzi, C., & Lippi, G. (2019). Current Cancer Epidemiology. *Journal of epidemiology and global health*, 9(4), 217–222. <https://doi.org/10.2991/jegh.k.191008.001>
5. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
6. INEGI (2023) *Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer (4 febrero)*. Comunicado de prensa núm. 77/23. México. Recuperado el 12/08/23.
7. Contreras, L. E. (2017). *Epidemiología de Tumores Cerebrales*. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28(3), 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2017.05.001>
8. Tilak, M., Holborn, J., New, L. A., Lalonde, J., & Jones, N. (2021). Receptor Tyrosine Kinase Signaling and Targeting in Glioblastoma Multiforme. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1831. <https://doi.org/10.3390/ijms22041831>
9. Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., Hawkins, C., Ng, H. K., Pfister, S. M., Reifenberger, G., Soffiatti, R., von Deimling, A., & Ellison, D. W. (2021). The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-oncology*, 23(8), 1231–1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
10. Mariana Sinning (2017) *Clasificación de los tumores cerebrales*. *Revista Médica Clínica Las Condes*, Volume 28, Issue 3, Pages 339-342, ISSN 0716-8640, <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2017.05.002>.
11. Ostrom, Q. T., Patil, N., Cioffi, G., Waite, K., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2020). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013-2017. *Neuro-oncology*, 22(12 Suppl 2), iv1–iv96. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa200>
12. Aguirre-Cruz L, Rodríguez-Pérez CE, de la Cruz-Aguilera DL, Acosta-Castillo GI, Ruano-Calderón L, Martínez-Moreno M, Sotelo J. (2020). Epidemiología descriptiva y cambios en la frecuencia de tumores astrocíticos en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de México. *Salud Publica Mex*. 62(3), 255-261. <https://doi.org/10.21149/10680>
13. Melhem, J. M., Detsky, J., Lim-Fat, M. J., & Perry, J. R. (2022). Updates in IDH-Wildtype Glioblastoma. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 19(6), 1705–1723. <https://doi.org/10.1007/s13311-022-01251-6>
14. Le Rhun, E., Preusser, M., Roth, P., Reardon, D. A., van den Bent, M., Wen, P., Reifenberger, G., & Weller, M. (2019). Molecular targeted therapy of glioblastoma. *Cancer treatment reviews*, 80, 101896. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2019.101896>
15. Louis, DN, Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, WK, Ohgaki, H., Wiestler, OD, Kleihues, P. y Ellison, DW (2016). Clasificación de tumores del sistema nervioso central de la Organización Mundial de la Salud de 2016: un resumen. *Acta neuropathologica* , 131 (6), 803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
16. Matos Rojas, I. A., Bertholdo, D., & Castillo, M. (2012). Células madre: implicaciones en el desarrollo de tumores cerebrales. *Radiología*, 54(3), 221–230. doi:10.1016/j.rx.2011.05.014
17. Tejada Solís, S., Plans Ahicart, G., Iglesias Lozano, I., de Quintana Schmidt, C., Fernández Coello, A., Hostalot Panisello, C., Ley Urzaiz, L., García Romero, J. C., Díez Valle, R., González Sánchez, J., & Duque, S. (2020). Consenso sobre guías de tratamiento de los glioblastomas elaborado por el Grupo de Trabajo de Neurooncología (GTNO) de la SENE. *Neurocirugía*, 31(6), 289–298.
18. Ray, S. K. (2010). *Glioblastoma: molecular mechanisms of pathogenesis and current therapeutic strategies*. Springer.
19. Ortega-Aznar A, Jiménez-León P, Martínez E, Romero-Vidal FJ(2013). Aspectos clinicopatológicos y moleculares de valor diagnóstico y pronóstico en gliomas. *Rev Neurol*; 56: 161-70.

20. Prezado, Y., & Biomédica ID17, L. (2010). Fundamentos físicos y efectos biológicos de la radioterapia con radiación sincrotrón. *Revista De Física Médica*, 11(1).
21. Bruna J, Alemany M.(2020) Perspectiva histórica de los estudios con mayor impacto en el tratamiento de los gliomas. *Rev Neurol* ;70 (06):220-230 [doi:10.33588/rn.7006.2019144](https://doi.org/10.33588/rn.7006.2019144)
22. Verdú Rotellar, J. M., Algara López, M., Foro Arnalot, P., Domínguez Tarragona, M., & Blanch Mon, A.. (2002). Atención a los efectos secundarios de la radioterapia. *Medifam*, 12(7), 16-33. Recuperado en 26 de enero de 2023, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1131-57682002000700002&lng=es&tng=es.
23. Esco, R., Valencia, J., & Polo, S.. (2004). Radioterapia y citoprotección: Estado actual. *Oncología (Barcelona)*, 27(7), 40-46. Recuperado en 09 de marzo de 2023, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352004000700009&lng=es&tng=es
24. Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International journal of medical sciences*, 9(3), 193–199. <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>
25. Stepanenko, A. A., Andreieva, S. V., Korets, K. V., Mykytenko, D. O., Baklaushev, V. P., Huleyuk, N. L., Kovalova, O. A., Kotsarenko, K. V., Chekhonin, V. P., Vassetzky, Y. S., Avdieiev, S. S., & Dmitrenko, V. V. (2016). Temozolomide promotes genomic and phenotypic changes in glioblastoma cells. *Cancer cell international*, 16, 36. <https://doi.org/10.1186/s12935-016-0311-8>
26. Hotchkiss, K. M., & Sampson, J. H. (2021). Temozolomide treatment outcomes and immunotherapy efficacy in brain tumor. *Journal of neuro-oncology*, 151(1), 55–62. <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03598-2>
27. Bae, S. H., Park, M. J., Lee, M. M., Kim, T. M., Lee, S. H., Cho, S. Y., Kim, Y. H., Kim, Y. J., Park, C. K., & Kim, C. Y. (2014). Toxicity profile of temozolomide in the treatment of 300 malignant glioma patients in Korea. *Journal of Korean medical science*, 29(7), 980–984. <https://doi.org/10.3346/jkms.2014.29.7.980>
28. Anjali Arora & Kumaravel Somasundaram (2019) Glioblastoma vs temozolomide: can the red queen race be won?, *Cancer Biology & Therapy*, 20:8, 1083-1090, DOI:10.1080/15384047.2019.1599662
29. Jiapaer, S., Furuta, T., Tanaka, S., Kitabayashi, T., & Nakada, M. (2018). Potential Strategies Overcoming the Temozolomide Resistance for Glioblastoma. *Neurologia medico-chirurgica*, 58(10), 405–421. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2018-0141>
30. Garcia, J., Hurwitz, H. I., Sandler, A. B., Miles, D., Coleman, R. L., Deurloo, R., & Chinot, O. L. (2020). Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer treatment reviews*, 86, 102017. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102017>
31. de Man, F. M., Goey, A. K. L., van Schaik, R. H. N., Mathijssen, R. H. J., & Bins, S. (2018). Individualization of Irinotecan Treatment: A Review of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Pharmacogenetics. *Clinical pharmacokinetics*, 57(10), 1229–1254. <https://doi.org/10.1007/s40262-018-0644-7>
32. GPC Guía práctica clínica (2013) Tratamiento del glioma cerebral de alto grado (Astrocitoma-Oligodendroglioma III-IV) en el adulto. CENETEC, México.
33. Zhang, X., Ni, Q., Wang, Y., Fan, H., & Li, Y. (2018). Synergistic Anticancer Effects of Formononetin and Temozolomide on Glioma C6 Cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 41(8), 1194–1202. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00002>
34. Masuda, T., Tsuruda, Y., Matsumoto, Y., Uchida, H., Nakayama, K. I., & Mimori, K. (2020). Drug repositioning in cancer: The current situation in Japan. *Cancer science*, 111(4), 1039–1046. <https://doi.org/10.1111/cas.14318>
35. Son, D. S., Lee, E. S., & Adunyah, S. E. (2020). The Antitumor Potentials of Benzimidazole Anthelmintics as Repurposing Drugs. *Immune network*, 20(4), e29. <https://doi.org/10.4110/in.2020.20.e29>
36. Theodorides, V. J., Gyurik, R. J., Kingsbury, W. D., & Parish, R. C. (1976). Anthelmintic activity of albendazole against liver flukes, tapeworms., lung and gastrointestinal roundworms. *Experientia*, 32(6), 702–703. <https://doi.org/10.1007/BF01919842>
37. Bertram GK (1992) . Farmacología clínica de los fármacos antihelmínticos. Londres; Appleton y Lange. En: Una División de Publicaciones de Prentice Hall. Farmacología Básica y Clínica; 5ª edición. Capítulo 55. pag. 748. [[Google académico](#)]

38. Castro, L. S., Kwiecinski, M. R., Ourique, F., Parisotto, E. B., Grinevicius, V. M., Correia, J. F., Wilhelm Filho, D., & Pedrosa, R. C. (2016). Albendazole as a promising molecule for tumor control. *Redox biology*, *10*, 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.09.013>
39. Sigma Aldrich (2016) Protocolo del analisis de la viabilidad y proliferación celulares con MTT. recuperado de <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/technical-documents/protocol/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-counting-and-health-analysis/cell-proliferation-kit-i-mtt>
40. Ampudia, Sergio (2016) “Participación de Mifepriestona en la respuesta a Temozolomida en una línea celular de glioma” [Tesis de licenciatura (de Químico Farmacéutico Biólogo) Facultad de Química, UNAM] TESIUNAM
41. Giakoumettis, D., Pourzitaki, C., Vavilis, T., Tsingotjidou, A., Kyriakoudi, A., Tsimidou, M., Boziki, M., Sioga, A., Foroglou, N., & Kritis, A. (2019). Crocus sativus L. Causes a Non Apoptotic Calpain Dependent Death in C6 Rat Glioma Cells, Exhibiting a Synergistic Effect with Temozolomide. *Nutrition and cancer*, *71*(3), 491–507. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1506493>
42. Hernández-Cerón M, Chavarria V, Ríos C, Pineda B, Palomares-Alonso F, Rojas-Tomé IS, Jung-Cook H. (2023) *La melatonina en combinación con albendazol o sulfóxido de albendazol produce una citotoxicidad sinérgica contra las células de glioma maligno a través de la autofagia y la apoptosis*. *Brain Sciences*, *13*(6):869. doi: 10.3390/brainsci13060869
43. Gleason J. (2010) *Déjàreview: Farmacología. 2da ed. El manual moderno, Ciudad de México*.
44. Tallarida R. J. (2011). *Quantitative methods for assessing drug synergism*. *Genes & cancer*, *2*(11), 1003–1008. <https://doi.org/10.1177/1947601912440575>
45. Duarte, & Vale. (2022). *Evaluation of synergism in drug combinations and reference models for future orientations in oncology*. *Current research in pharmacology and drug discovery*, *3*, 100110. <https://doi.org/10.1016/j.crphar.2022.100110>
46. Tallarida R. J. (2012). *Revisiting the isobole and related quantitative methods for assessing drug synergism*. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, *342*(1), 2–8. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.193474>
47. Tallarida, R. (2001) *Drug synergism: Its detection and applications*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *289*:865-72.
48. Chou, T. (2010). Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method. *Cancer Research*, *70*(2), 440–446. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-09-1947>
49. Kifer, D., Jakšić, D., & Šegvić Klarić, M. (2020). Assessing the Effect of Mycotoxin Combinations: Which Mathematical Model Is (the Most) Appropriate?. *Toxins*, *12*(3), 153. <https://doi.org/10.3390/toxins12030153>
50. Ashton C. (2015) *Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method--letter*. *Cancer. Reserch.* <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-14-3763>
51. Chai, JY, Jung, BK y Hong, SJ (2021). *Albendazol y mebendazol como agentes antiparasitarios y anticancerígenos: una actualización*. *La revista coreana de parasitología*, *59* (3), 189–225. <https://doi.org/10.3347/kjp.2021.59.3.189>
52. Zhao, L., Au, J. L., & Wientjes, M. G. (2010). *Comparison of methods for evaluating drug-drug interaction*. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, *2*(1), 241–249. <https://doi.org/10.2741/e86>
53. Vengoji, R., Macha, M. A., Nimmakayala, R. K., Rachagani, S., Siddiqui, J. A., Mallya, K., Gorantla, S., Jain, M., Ponnusamy, M. P., Batra, S. K., & Shonka, N. (2019). *Afatinib and Temozolomide combination inhibits tumorigenesis by targeting EGFRvIII-cMet signaling in glioblastoma cells*. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, *38*(1), 266. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1264-2>
54. McConnell, D. D., McGreevy, J. W., Williams, M. N., & Litofsky, N. S. (2018). *Do Anti-Oxidants Vitamin D3, Melatonin, and Alpha-Lipoic Acid Have Synergistic Effects with Temozolomide on Cultured Glioblastoma Cells?*. *Medicines (Basel, Switzerland)*, *5*(2), 58. <https://doi.org/10.3390/medicines5020058>
55. Ghasemi, F., Black, M., Vizeacoumar, F., Pinto, N., Ruicci, K. M., Le, C. C. S. H., Lowerison, M. R., Leong, H. S., Yoo, J., Fung, K., MacNeil, D., Palma, D. A., Winquist, E., Mymryk, J. S., Boutros, P. C., Datti, A., Barrett, J. W., & Nichols, A. C. (2017). *Repurposing Albendazole: new potential as a chemotherapeutic agent with preferential activity against HPV-negative head and neck squamous cell cancer*. *Oncotarget*, *8*(42), 71512–71519. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17292>

56. Pourgholami, M. H., Woon, L., Almajd, R., Akhter, J., Bowery, P., & Morris, D. L. (2001). In vitro and in vivo suppression of growth of hepatocellular carcinoma cells by albendazole. *Cancer letters*, 165(1), 43–49. [https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(01\)00382-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(01)00382-2)
57. Morris, D. L., Jourdan, J. L., & Pourgholami, M. H. (2001). *Pilot study of albendazole in patients with advanced malignancy. Effect on serum tumor markers/high incidence of neutropenia*. *Oncology*, 61(1), 42–46. <https://doi.org/10.1159/000055351>