



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**LA INSULINA COMO AGENTE PROLIFERATIVO QUE ALTERA LA TERAPIA  
ANTINEOPLÁSICA DEL CÁNCER CÉRVICOUTERINO EN PRESENCIA DE  
DIABETES.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA**

**PRESENTA**

**Miriam Gutiérrez Gutiérrez**



**México, D.F.**

**AÑO 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez

**VOCAL:** Dr. J. Eleazar Martínez Barajas

**SECRETARIO:** Dra. Jazmín Marlen Pérez Rojas

**1er. SUPLENTE:** Dr. Andrés Navarrete Castro

**2° SUPLENTE:** Dra. María Elena Ibarra Rubio

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** INSTITUTO NACIONAL DE  
CANCEROLOGÍA  
**DIRECCIÓN:** AV. SAN FERNANDO NO. 22, COL. SECCIÓN XVI DELEGACIÓN TLALPAN, C.P.  
**14080**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**DRA. JAZMIN MARLEN PÉREZ ROJAS**

**SUSTENTANTE:**

---

**MIRIAM GUTIÉRREZ GUTIÉRREZ**

## Abreviaturas

ADN	ácido desoxirribonucleico
ANOVA	análisis de varianza
ARN	ácido ribonucleico
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	adenosin trifosfato
BCL-2	protooncogen célula B linfoma 2
°C	grados Celsius
CaCu	cáncer de cuello uterino
CE <sub>50</sub>	concentración efectiva 50
CIN	neoplasia intraepitelial cervical
cm	centímetros
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
EDTA	ácido etilendiamintetraacético
EGF	factor de crecimiento epidermal
ERK	quinasas reguladas por señales extracelulares
FIGO	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
g/L	gramos por litro
GDP	guanosin difosfato
GLUT	transportador de glucosa
GRB2	proteína adaptadora de unión al factor de crecimiento
GSK-3 $\beta$	glucógeno sintasa 3 beta
GTP	guanosin trifosfato
hrs	horas
IGF-1	factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1
IGF-2	factor de crecimiento similar a la insulina tipo 2
IGF-1R	receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1
IGF-2R	receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 2
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IR	receptor de insulina
IRS	sustrato receptor de insulina
KCl	cloruro de potasio
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	fosfato monobásico de potasio
$\lambda$	longitud de onda
MAPK	proteínas cinasas activadas por mitógenos

MEK	cinasa regulada por mitógenos extracelulares
mg/dL	miligramos por decilitro
mg/m <sup>2</sup>	miligramos por metro cuadrado
µg/mL	microgramos por mililitro
min.	minutos
µL	microlitros
mM	milimolar
µM	micromolar
mm	milímetros
mTORC1	blanco mamífero de rapamicina 1
mTORC2	blanco mamífero de rapamicina 2
N <sup>7</sup>	nitrógeno 7
NaCl	cloruro de sodio
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
Na <sub>2</sub> HPO <sub>2</sub>	fosfato de sodio dibásico
nm	nanómetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
PBS	buffer salino de fosfato
PDK1	fosfoinositido dependiente de cinasa 1
PI3K	fosfatidil inositol 3 cinasa
PIP2	fosfolípido fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
PIP3	fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Cis-Platino
Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl(OH <sub>2</sub> ) <sup>+</sup>	Hidróxido de cis diamino cloro platino
Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	Dihidróxido de cis diamino platino
rpm	revoluciones por minuto
SEM	error estándar de la media
SFB	suero fetal bovino
Shc	dominio de homología Src2
SOS	factor intercambiador de nucleótidos de guanina
SSA	secretaría de salud
VPH	virus del papiloma humano

# ÍNDICE

Introducción.....	1
<b>Antecedentes</b>	
<b>1. Cáncer.....</b>	<b>3</b>
<u>1.1 cáncer cérvico-uterino.....</u>	<u>4</u>
<u>1.2 Diagnóstico y Tratamiento.....</u>	<u>5</u>
<b>2. Diabetes.....</b>	<b>7</b>
<u>2.1 Tratamiento.....</u>	<u>8</u>
<b>3. Diabetes y cáncer.....</b>	<b>8</b>
<b>4. Generalidades IGF-1, IGF-1R, Insulina e IR.....</b>	<b>10</b>
<b>5. Planteamiento del problema.....</b>	<b>15</b>
<b>6. Hipótesis.....</b>	<b>16</b>
<b>7. Objetivo general.....</b>	<b>16</b>
<b>8. Objetivos particulares.....</b>	<b>16</b>
<b>9. Materiales y métodos.....</b>	<b>17</b>
<b>10. Resultados.....</b>	<b>21</b>
<b>11. Discusión.....</b>	<b>27</b>
<b>12. Conclusiones.....</b>	<b>30</b>
<b>13. Bibliografía.....</b>	<b>31</b>

## INTRODUCCIÓN

Datos del INEGI reportan que las principales causas de decesos en México son enfermedades degenerativas como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus y los tumores malignos (*INEGI, 2009*).

A nivel nacional, la diabetes mellitus es la primera causa de muerte en comparación con las demás enfermedades crónico-degenerativas; 10.7% de la población padece diabetes y 7 de cada 10 personas que padecen diabetes muere antes de cumplir la edad promedio de la población mexicana (*INEGI, 2010*).

Sumado a lo anterior, es importante recalcar que el costo de atención para esta enfermedad no recae exclusivamente en los servicios de salud, se calcula que, si un niño de 7 años desarrolla diabetes, deberá afrontar un costo acumulado de 52 mil dólares a valor presente hasta los 40 años para manejar y paliar las consecuencias de esta enfermedad (*Secretaría de Salud, 2008*).

Por otro lado los tumores malignos en México son la cuarta causa de muerte; en las mujeres, el cáncer de mama y el de cuello uterino son los que mayor decesos presentan mientras que en los hombres es el cáncer de próstata (*Secretaría de Salud, 2011*).

El cáncer de cuello uterino (CaCu) es un problema de salud pública, ya que es el tercer cáncer más común diagnosticado y la cuarta causa de muerte por cáncer en las mujeres en el mundo. En México es la segunda causa de muerte con una tasa del 11.5%, lo cual representa una alta tasa de mortalidad (*Sánchez, 2012*).

Pacientes con cáncer y diabetes han sido asociados a un alto riesgo de mortalidad comparado con pacientes que solo padecen cáncer. Por lo que la diabetes ha sido encontrada como un factor de riesgo para desarrollar cáncer, específicamente CaCu (*Martínez Huedo M. A. et. al., 2012*). Entre los factores que se asocian con el CaCu están las concentraciones alteradas de glucosa en sangre y la obesidad, aunque son

escasos los estudios acerca de esta relación. Jee y cols., (2005) han reportado un incremento de la mortalidad por CaCu cuando existen concentraciones altas de glucosa de un rango entre 126 a 140 mg/dL. Mientras que en México Meza y cols., (2011) realizaron un estudio donde encontraron que la glucosa se incrementa en pacientes con lesiones preneoplásicas de CaCu de bajo grado al compararlos con mujeres sin lesiones en el cuello uterino lo cual podría relacionarse con el riesgo de una lesión más severa.

## ANTECEDENTES

### 1. CÁNCER

El cáncer es una enfermedad producida por cambios en la conducta de las células provocada por modificaciones en la información genética de las mismas. Debido a estas alteraciones, las células cancerosas proliferan sin control formando tumores malignos que tienden a crecer de manera invasiva, destruyendo tejidos y órganos (figura 1) (Instituto Nacional del cáncer de los institutos nacionales de EEUU, 2012).

En tanto el crecimiento del tumor permanezca localizado, la enfermedad se puede tratar y curar por extirpación quirúrgica del tumor y el tejido que lo rodea. Sin embargo, una de las características prominentes de los tumores malignos es su tendencia a formar metástasis, es decir, células que se desprenden de la masa original entran a la circulación linfática o sanguínea y se propagan a sitios distantes del cuerpo (Karp, 1998).

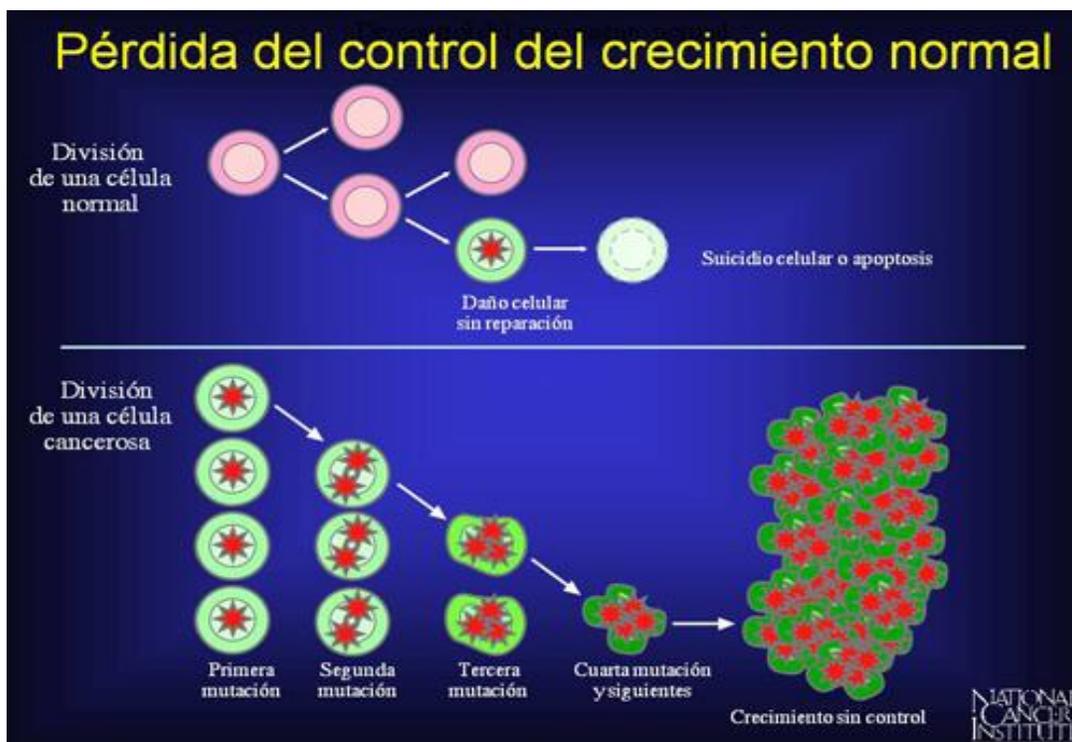


Figura 1. Formación del cáncer (Instituto Nacional del cáncer de los institutos nacionales de EEUU, 2012).

## 1.1 Cáncer cérvico-uterino

El cáncer cérvico-uterino, una clase común de cáncer en la mujer, es una enfermedad en la cual se encuentran células cancerosas (malignas) en los tejidos del cuello uterino.

El cuello uterino es el extremo inferior y estrecho del útero que conecta la parte superior del útero con la vagina (vía del parto). El cuello uterino normal tiene 2 zonas epiteliales: el ectocérvix cubierto por epitelio escamoso y el endocérvix recubierto por un epitelio glandular simple. Como resultado de una metaplasia escamosa durante la adolescencia y la edad adulta temprana, el epitelio endocervical es reemplazado por células escamosas inmaduras las cuales eventualmente van a madurar. Esta área metaplásica escamosa es llamada zona de transformación y es el sitio más común de desarrollo de cáncer cérvico-uterino (*Jenkins, 2007*).

La infección persistente por virus del papiloma humano (VPH) oncogénico es la causa principal de este tipo de neoplasia, que es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en el mundo. Se han reportado más de cien genotipos de VPH, especialmente de los tipos 16 y 18, que son los responsables de aproximadamente el 70% de los cánceres del cuello uterino; siendo el oncogen E6 del VPH el más importante ya que codifica para una proteína que se une y degrada el supresor de tumor p53 inhibiendo de esta manera la apoptosis (*Long, et al., 2007*).

Además de la infección cervical por VPH existen otros factores de riesgo asociados con el CaCu, como el tabaquismo, la mala alimentación, el estrés y el sedentarismo, que se relacionan con el deterioro de la respuesta inmunitaria, la multiparidad y el uso prolongado de anticonceptivos orales. Otro factor asociado con la aparición y progresión del cáncer son las concentraciones alteradas de glucosa en plasma (*Meza, et al., 2011*).

## 1.2 Diagnóstico y tratamiento

El diagnóstico de esta neoplasia se realiza con un estudio histopatológico mediante una biopsia dirigida, ya sea mediante colposcopia en caso de no observarse una lesión o mediante toma directa si existe tumor visible.

La estadificación continúa siendo clínica utilizando la última modificación de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) en el año 2009 como se muestra en la tabla 1:

Tabla 1. Estadios del cáncer cérvico-uterino (*Montalvo, et al., 2011*).

Etapa	Descripción
I	Tumor confinado al cuello uterino
IA	Tumor con invasión diagnosticado por Patología con una profundidad máxima de 5mm medida desde la capa
IA1	Invasión estromal menor o igual a 3mm y extensión horizontal menor o igual a 7mm
IA2	Invasión estromal mayor de 3mm pero menor de 5mm y extensión horizontal menor o igual a 7mm.
IB	Tumor clínicamente visible confinado al cérvix o etapas preclínicas mayores al estadio IA.
IB1	Lesión clínicamente visible menor o igual a 4cm en su dimensión mayor.
IB2	Lesión clínicamente visible mayor de 4cm en su dimensión mayor.
II	Tumor que se extiende más allá del cuello uterino sin llegar a la pared pélvica o el tercio inferior de la vagina.
IIA	Tumor que invade fondos de saco vaginal sin invasión parametrial.
IIA1	Tumor menor de 4cm.
IIA2	Tumor mayor de 4cm.
IIB	Tumor con invasión parametrial, sin llegar a la pared pélvica.

III	El tumor se extiende a la pared pélvica y/o involucra el tercio inferior de la vagina y/o causa hidronefrosis, riñón excluido o disfunción renal.
IIIA	El tumor involucra el tercio inferior de la vagina y no se extiende a la pared pélvica.
IIIB	El tumor se extiende a la pared pélvica y/o causa hidronefrosis, riñón excluido o disfunción renal.
IV	El tumor se extiende fuera de la pelvis.
IVA	El tumor invade a la mucosa de la vejiga o recto y/o se extiende más allá de la pelvis verdadera.
IVB	Metástasis a distancia.

El tratamiento para el cáncer cérvico-uterino puede incluir: cirugía (extirpación del tumor en una operación), radiación (uso de rayos de alta energía para eliminar células cancerosas), quimioterapia (uso de medicamentos para eliminar células cancerosas) o quimiorradiación dependiendo de la etapa clínica.

En las etapas tempranas (IA1-IB1) el tratamiento ideal es el quirúrgico debido a que el tumor está localizado y se puede extirpar fácilmente.

El tratamiento establecido para las etapas localmente avanzadas (IB2-IIA2-IVA) es la quimiorradioterapia concomitante, siendo el Cis-Platino el agente más utilizado. El régimen común es de Cis-Platino semanal a una dosis de 40 mg/m<sup>2</sup> en 6 ciclos a lo largo de la radioterapia.

En enfermedad metastásica (IVB) el tratamiento con quimioterapia es el indicado, teniendo diferentes esquemas de quimioterapia como: Cis-Platino: 50mg/m<sup>2</sup>, más paclitaxel 170-175mg/m<sup>2</sup> cada 21 días por 6 ciclos o Cis-Platino 50mg/m<sup>2</sup> día 1 más vinorelbine 25mg/m<sup>2</sup> días 1, 8 y 15 cada 21 días por 6 ciclos. (*Montalvo, et al., 2011 y Long, et al., 2007*)

El Cis-Platino [Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] es un compuesto antitumoral derivado del platino utilizado en el cáncer de ovario, el testicular, el cérvico-uterino y el de pulmón.

El Cis-Platino entra a la célula principalmente por difusión pasiva. Dentro de la célula pasa a su estado activado formando hidróxido de cis diamino cloro platino  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$  y dihidróxido de cis diamino platino  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ . Las bajas concentraciones de iones cloruros dentro de la célula facilitan este proceso. La forma acuosa es más reactiva para el blanco celular que es el ADN. El átomo de platino forma enlaces covalentes con las bases purinas en la posición  $\text{N}^7$  para permitir entrecruzamientos 1, 2- ó 1, 3-intracatenarios y pocos intercatenarios. (Wang y Stephen, 2005). El mecanismo se observa con mayor detalle en la figura 2.

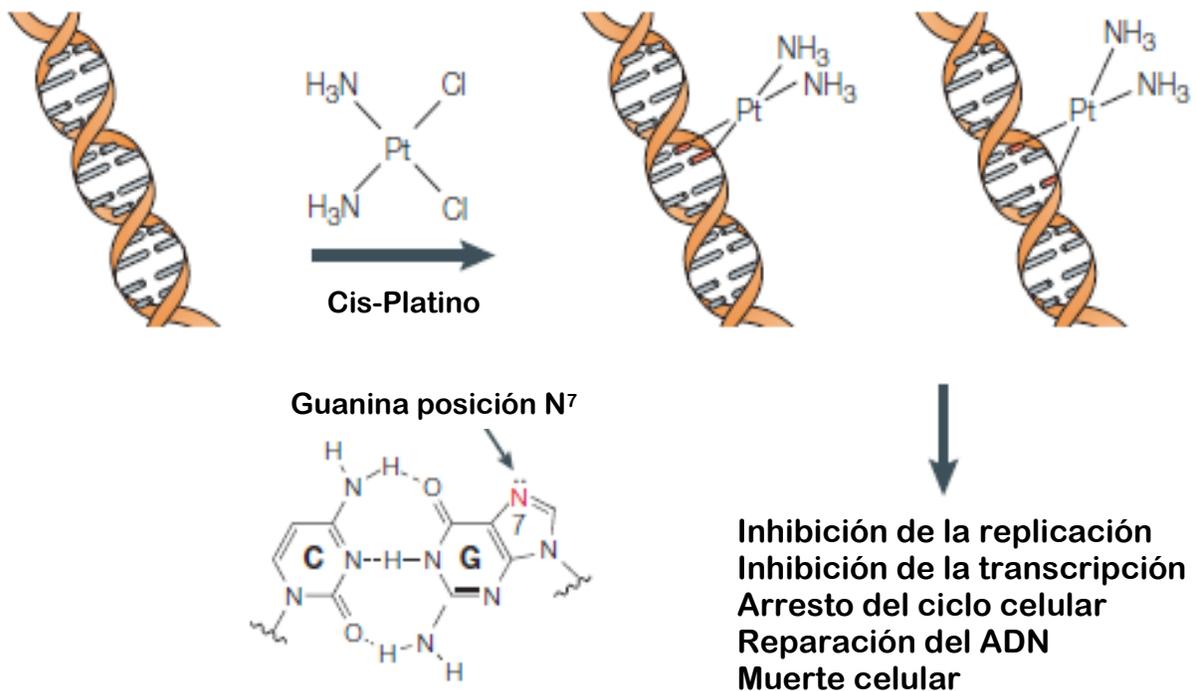


Figura 2. Formación y efectos de los aductos de Cis-Platino. El Cis-Platino es sometido a acuación para formar  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$  y  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  dentro de la célula. El átomo de platino se une covalentemente a la posición  $\text{N}^7$  de las purinas para formar entrecruzamientos 1,2- o 1,3- intracatenarios o entrecruzamientos intercatenarios. Los aductos ADN-Cis-Platino causan varias respuestas celulares como arresto en la replicación, inhibición de la transcripción, arresto del ciclo celular, reparación del ADN y apoptosis (Wang y Stephen, 2005).

## 2. DIABETES

La diabetes es una enfermedad crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores

ambientales, y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los carbohidratos, proteínas y grasas.

Se considera hiperglucemia en ayuno, a la elevación de la glucosa por arriba de lo normal (>100 mg/dL) o hiperglucemia posprandial, a la glucemia > 140 mg/dL, dos horas después de la comida (*NOM-015-SSA2-2010*).

En general 2 tipos de diabetes son las más comunes:

- Diabetes tipo I cuya principal característica es la destrucción de las células beta pancreáticas. Representa el 10% de los casos y se puede presentar a cualquier edad aunque es más común en niños y adultos jóvenes.
- Diabetes tipo 2 en la cual los tejidos dejan de responder de manera apropiada a la insulina provocando defectos en la secreción de esta hormona. Este tipo de diabetes representa el 90% de los casos, aparece en general en la edad adulta y está fuertemente asociada con la obesidad y la hipertensión arterial (*Lira, 2008*).

### 2.1 Tratamiento

El tratamiento de la diabetes está dirigido a aliviar los síntomas, evitar complicaciones y el agotamiento de células beta en el páncreas.

La dieta y el ejercicio son utilizados como tratamiento inicial para muchos de los pacientes con diabetes mellitus de reciente diagnóstico, pero si la hiperglucemia persiste después de 2-4 semanas, debe iniciarse el tratamiento a base de algún hipoglucemiante oral, y en caso de hiperglucemia severa (glucosa plasmática de ayuno 250 mg/dL o una glucosa aleatoria mayor a 400 mg/dL), puede requerir insulina al menos en forma temporal (*Chowdury, 2010*).

## **3. DIABETES Y CÁNCER**

La diabetes y el cáncer son 2 enfermedades multifactoriales, severas y crónicas que por su frecuencia tienen un gran impacto en la salud pública. Tanto el cáncer como la diabetes comparten factores de riesgo como son la edad, el tabaco, el alcohol, la

obesidad, etc. Por lo que la diabetes se asocia a un incremento en el riesgo de cáncer. Se ha reportado que pacientes diabéticos tienen un alto riesgo de desarrollar cáncer de páncreas, hígado, mama, colorrectal, tracto urinario y órganos reproductivos femeninos (*Vigneri, et al., 2009*).

Una de las razones por las que existe esta asociación es porque en células tumorales el aumento en los niveles de glucosa propicia un aumento en la captación y metabolismo de la misma lo cual promueve una excesiva proliferación, señales antiapoptóticas, progresión del ciclo celular y angiogénesis (*Klement y Kämmerer, 2011*). Esto debido a que las células cancerígenas para mantener su intensiva e incontrolada proliferación requieren una gran cantidad de energía y sustratos como la glucosa. El alto consumo de glucosa es una característica de las células neoplásicas pero el consumo de glucosa procede de manera diferente en comparación con células normales. En células sanas, la glucosa es convertida a piruvato y después se forma el ATP, lo cual ocurre en presencia de oxígeno por medio del ciclo de Krebs en la mitocondria. En cambio, las células cancerígenas convierten el piruvato en ácido láctico y usan la glucosa para la síntesis de ADN, ARN, proteínas y lípidos. Este diferente metabolismo permite un incremento en la producción de lactato a pesar de la completa disponibilidad de oxígeno. Este efecto es conocido como el efecto Warburg (*Piatkiewicz y Czech, 2011*).

Otra de las características que presentan las células tumorales es el aumento en la densidad de los transportadores de glucosa GLUT, lo cual facilita la captación de glucosa. Sobre todo GLUT1, el cual se encuentra sobreexpresado en varios tumores incluyendo hepáticos, pancreáticos, de mama, esofágicos, cerebrales, renales, pulmonares, cutáneos, colorectales, endometriales, de ovario y de cuello uterino (*Szablewski, 2012*).

Otro mecanismo que puede contribuir al desarrollo de cáncer es la presencia del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) el cual actúa en los mismos

receptores de la insulina lo que también puede inhibir la apoptosis y estimular la proliferación celular (*Kaaks, et al., 2002 y Lukanova y Kaaks, 2005*).

Muchas células cancerígenas sobreexpresan IGF-1R, y debido a que la insulina es similar en estructura a IGF-1 puede interactuar con este receptor, particularmente en condiciones de hiperinsulinemia (*Mannucci, 2012*).

La insulina además de sus típicos efectos metabólicos también puede estimular la proliferación celular solo en condiciones de hiperglucemia e hipercolesterolemia a través de su propio receptor. (*Siacca, 2012*).

#### **4. GENERALIDADES DE IGF-1, IGF-1R, INSULINA Y RECEPTOR DE INSULINA (IR)**

Los factores de crecimiento son polipéptidos que interactúan con receptores celulares específicos lo que provoca distintas respuestas biológicas incluyendo proliferación, diferenciación, cambios en la motilidad celular y estructura celular. Algunos factores de crecimiento mejoran las propiedades metastásicas e invasivas de células cancerígenas, lo que causa un problema para obtener un tratamiento exitoso contra el cáncer. Un ejemplo de ello es el factor de crecimiento epidermal el cual actúa mejorando la proliferación e invasividad celular en el hepatocarcinoma (*Shen, et al, 2006 y Lloyd, 1997*).

El factor de crecimiento similar a la insulina tipo (IGF-1) mejora la proliferación y migración en células de músculo liso pero solo en condiciones hiperglucémicas (25mM) mientras que la insulina también puede funcionar como factor de crecimiento en concentraciones suprafisiológicas y de hiperglucemia (*Maile, et al., 2007*).

- IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 consiste en una cadena de 70 aminoácidos y comparte cierta homología estructural con la insulina (*Ciaraldi, et al., 2011*). Este factor está involucrado en el crecimiento, procesos de diferenciación, desarrollo y metabólicos.

Es producido principalmente en el hígado, aunque muchos órganos poseen la maquinaria biosintética para producir esta hormona a varios niveles. La producción local

de IGF-1 está involucrada principalmente en actividades de tipo autocrina-paracrina, mientras que el IGF-1 que está en la circulación (producido por el hígado) es responsable de las actividades endocrinas (Werner, 2011). Los principales efectos biológicos de los IGF son la estimulación de la replicación celular mediante la vía de las proteínas cinasas activadas por mitogénos (MAPK) (Junco, et al., 2006).

- IGF-1R: está compuesto por dos cadenas de polipéptidos unidas de forma covalente, cada una de ellas con una subunidad  $\alpha$  extracelular y una subunidad  $\beta$  transmembrana, la cual tiene un dominio que posee la actividad tirosina cinasa. Cuando se une el ligando IGF-I, se induce un cambio de conformación en la subunidad  $\beta$  que activa su autofosforilación; el receptor activado atrae hacia él, proteínas adaptadoras que son de la familia de los sustratos del receptor de insulina. Estas proteínas adaptadoras sirven como sitios de unión para otras moléculas de señalización, lo cual conlleva a la activación de vías, como lo son las del fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K) y las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) de la vía MAPK (Mejía, et al., 2010).

La vía PI3K está implicada, principalmente, en procesos metabólicos, de crecimiento celular y antiapoptosis. Brevemente, el IGF-1R fosforila al sustrato receptor de insulina correspondiente (IRS1-4), el cual interactúa con la subunidad p85 (subunidad reguladora de la PI-3K de 85 kDa) que, a su vez, activa la subunidad p110 (subunidad catalítica de la PI-3K de 110 kDa), la cual fosforila el fosfolípido fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP<sub>2</sub>) para formar fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP<sub>3</sub>) que interactúa con Akt, activándola y modulando la función de otras proteínas. La supervivencia celular es mediada no solamente por PI3K/Akt, sino también por otras vías de señalización, incluyendo la vía MAPK. Un gran número de oncogenes exhiben la activación de MAPK como una vía común. La fosforilación de Shc recluta al complejo GRB2/SOS del citoplasma a la membrana. Este evento se produce en proximidad a Ras (proteína oncogénica p21), lo cual cataliza el intercambio de GTP a GDP. La activación de Raf mediante Ras activa la vía MAPK por fosforilación de las cinasas serina/treonina MEK1,

lo que conlleva la señalización con algunos sustratos en el citosol y otros en el núcleo. La activación de MAPK es importante para regular el ciclo celular, la proliferación y la diferenciación celular, como también procesos metabólicos (Arcidiacono, et al., 2012). El mecanismo de la activación de ambas vías se observa en la figura 3.

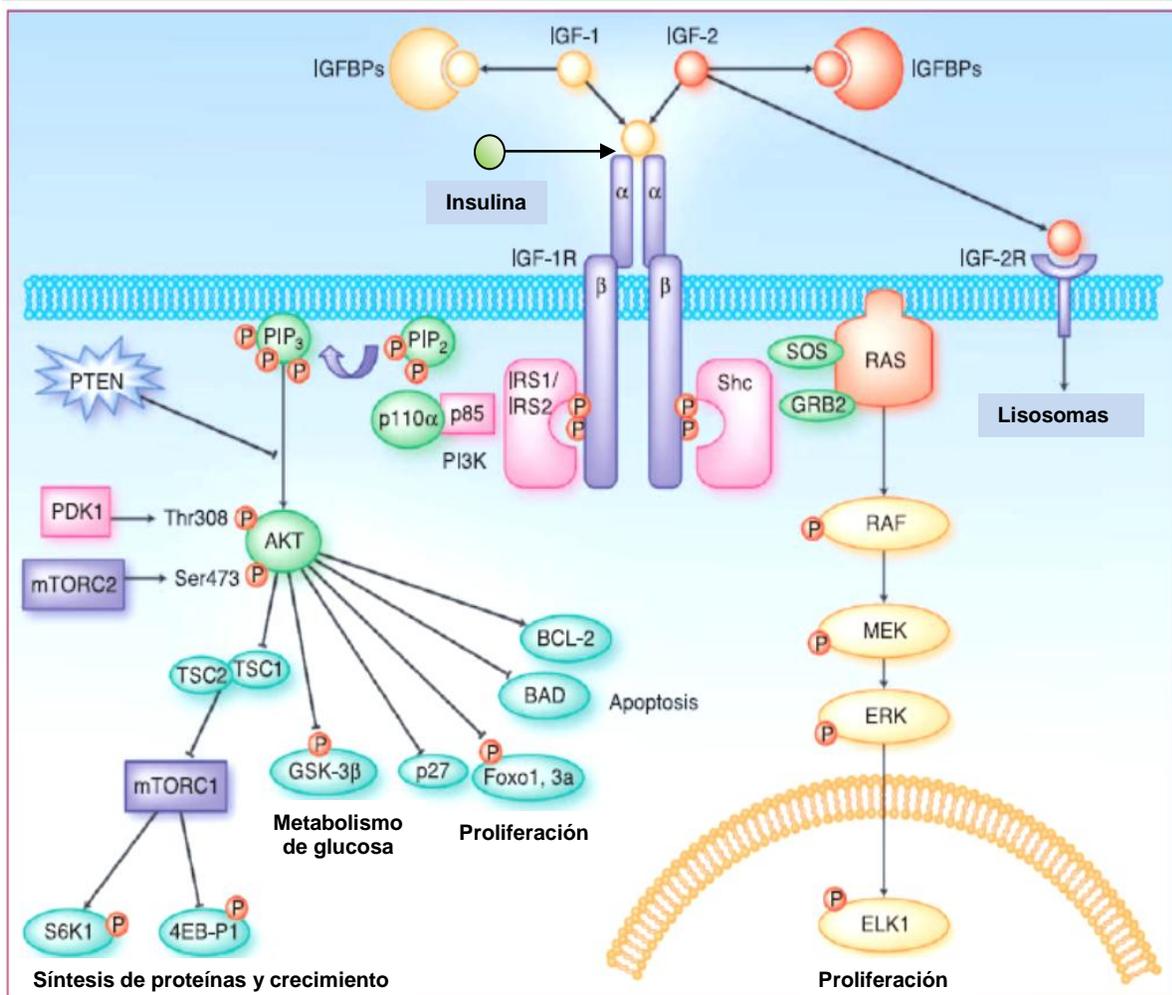


Figura 3. Mecanismo de las vías PI3K y MAPK. Al unirse IGF-2 a IGF-2R este se internaliza y se degrada en lisosomas. La unión de IGF-1, insulina u IGF-2 provoca la autofosforilación del receptor y la activación del sustrato receptor de insulina (IRS) el cual activa a PI3K que convierte PIP2 a PIP3 que induce el reclutamiento de Akt a la membrana plasmática donde es activada por PDK1 y mTORC2, su activación produce la desinhibición del complejo mTORC1 y una incrementada síntesis de proteínas y crecimiento celular, incremento de la conversión de glucosa a glucógeno por la inhibición de GSK-3β, y un incremento en la proliferación y supervivencia mediante la inhibición de factores proapoptóticos como BAD y factores de transcripción de la familia FOXO así como una incrementada expresión de proteínas antiapoptóticas como BCL-2. Por otra parte si IGF-1R activa Shc se activa la vía MAPK que induce la proliferación celular. La resistencia a la insulina bloquea las rutas del metabolismo del transporte de glucosa pero no se bloquea la ruta MAPK (Zha, 2010).

Estudios *in vitro* han demostrado que IGF-1R es necesario para la transformación celular por muchos virus y oncogenes y es importante para la expresión de genes que regulan el ciclo celular, la supervivencia celular, la motilidad, la adhesión y la metástasis (Gallagher y Le Roith, 2011).

- Insulina: La insulina es una proteína de 51 aminoácidos compuesta de 2 cadenas, la cadena A de 21 aminoácidos y la cadena B de 30 aminoácidos (Ciaraldi, et al., 2011).

La insulina se involucra en la regulación de las respuestas anabólicas, como la captura de glucosa, lipogénesis, transporte de iones y aminoácidos; también estimula la síntesis del ADN y el crecimiento celular. El exceso de la insulina en sangre favorece el estímulo de acciones celulares que no se encuentran bloqueadas en la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina bloquea las rutas del metabolismo del transporte de glucosa que conllevan en última instancia a la síntesis de glucógeno y de lípidos; pero no se bloquea la ruta de la MAPK que conlleva a la proliferación de musculatura vascular y producción de moléculas de adhesión celular. (Junco, et al., 2006 y Ranganath, 1997).

- IR: El receptor de insulina (IR) es un receptor de superficie celular que contiene 2 subunidades ( $\alpha$  y  $\beta$ ). La subunidad  $\alpha$  compuesta de 731 aminoácidos está situada en el dominio extracelular y contiene los sitios de unión a la insulina. La subunidad  $\beta$  se compone de 620 aminoácidos que es el dominio que abarca la membrana y la actividad intrínseca de tirosina cinasa, que está involucrada en la señal de transducción intracelular. Este receptor es expresado como 2 isoformas, IR-A que es la forma corta e IR-B que es la forma larga.

La unión de la insulina con su receptor de membrana activa a una cadena de proteínas: los sustratos receptores de insulina (IRS), que son fosforilados en sus residuos de tirosina iniciando un proceso autocatalítico que culmina con la activación del sistema de los fosfoinositoles que producen los segundos mensajeros para llevar GLUT4 a la membrana celular para transportar la glucosa al interior de la célula (Reyes y Plancarte,

2008). Debido a la homología estructural entre IGF-1R e IR se sugiere que el IGF-1 y la insulina tienen afinidad por ambos receptores, aunque la afinidad de la insulina por IR es 100-1000 veces mayor que por IGF-1R y viceversa, por lo que a concentraciones fisiológicas ocurre una mínima comunicación cruzada (*Ciaraldi, et. al., 2011 y Bradford, 2005*).

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años la incidencia de la diabetes mellitus ha incrementado en México siendo en la actualidad la primera causa de muerte. La diabetes es un padecimiento complejo que lleva implícito una serie de situaciones que comprometen el control en los pacientes, lo cual favorece al desarrollo de complicaciones, con los consecuentes trastornos en la calidad de vida.

Algunas de las complicaciones de la diabetes incluyen: enfermedad cardíaca, ceguera (retinopatía), lesiones nerviosas (neuropatía) y daño renal (nefropatía).

Estas complicaciones crónicas se desarrollan, en la mayoría de los casos, por un control deficiente (niveles elevados de glucosa en sangre por tiempo prolongado) y suelen aparecer varios años después del diagnóstico.

Por otra parte el CaCu es la segunda causa de muerte en mujeres en nuestro país comparado con los demás tumores malignos, donde el agente antineoplásico utilizado como tratamiento es el Cis-Platino, cuyo principal efecto secundario es el deterioro de la función renal debido a que el Cis-Platino es excretado por el riñón.

Tanto el cáncer como la diabetes comparten factores de riesgo como son la edad, el tabaco, la dieta, el alcohol, la obesidad, etc. Algunos factores que intervienen en esta asociación son la insulina y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 los cuales incrementan el crecimiento y proliferación celular. Este hecho es importante ya que el tratamiento principal para la diabetes es la insulina, la cual podría estar interfiriendo en la respuesta al tratamiento con Cis-Platino.

Por ello es importante entender lo que sucede en la diabetes y cáncer de cérvix ya que tanto el tratamiento contra el cáncer como la diabetes llevan finalmente a una nefropatía por lo que es necesario buscar nuevas estrategias de tratamiento ya que las condiciones de diabetes no solo incrementan la proliferación celular sino que también incrementan el riesgo de una nefropatía la cual puede aparecer más rápido al administrar Cis-Platino como tratamiento contra el cáncer.

## **6. HIPÓTESIS**

En células de cáncer de cérvix la hiperglucemia e hiperinsulinemia incrementarán la proliferación celular lo que provocará una reducción en la respuesta terapéutica al Cis-Platino.

## **7. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto que tienen la hiperglucemia y la hiperinsulinemia sobre el tratamiento con Cis-Platino en células de cáncer de cérvix (HeLa).

## **8. OBJETIVOS PARTICULARES**

- I. Evaluar el efecto de la hiperglucemia sobre la proliferación en la línea celular de cáncer de cérvix (HeLa).
- II. Determinar el efecto de la insulina y la hiperglucemia sobre la proliferación en una línea celular de cáncer de cérvix.
- III. Estudiar el efecto del Cis-Platino en condiciones de hiperglucemia en células de cáncer de cérvix.
- IV. Evaluar el efecto de la insulina, Cis-Platino y su combinación en condiciones hiperglucémicas en la línea celular de cáncer de cérvix (HeLa).

## 9. MATERIALES Y MÉTODOS

- **Diseño experimental**

Se utilizó la línea celular de cáncer cérvico-uterino HeLa obtenida de la American Type Culture Collection (ATCC). La cual es de tipo adenocarcinoma de VPH 18.

Las células fueron mantenidas de forma rutinaria en medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (contiene vitaminas, sales inorgánicas, aminoácidos siendo el más importante L-glutamina 4mM, glucosa 4.5 g/L, bicarbonato de sodio 1.5g/L y rojo de fenol) suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 5%, a 37°C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> 5%. Todos los procedimientos se llevaron a cabo en condiciones estériles en una campana de flujo laminar.

Para los lavados se utilizó PBS (NaCl 136.89mM, KCl 2.68mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>2</sub> 10.15mM y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.76mM) y para despegarlas 2mL de PBS/EDTA (EDTA 1mM) incubándose la caja durante 5min. a 37°C y CO<sub>2</sub> al 5%.

Una vez despegadas las células fueron centrifugadas a 1000 rpm durante 10 min. y luego el botón obtenido fue resuspendido en medio DMEM para realizar el conteo en un hemocitómetro.

- **Evaluación de la inhibición del crecimiento celular.**

La evaluación del crecimiento de células de cáncer de cérvix fue realizada utilizando los ensayos de XTT y cristal violeta.

El método cristal violeta se basa en la capacidad que tiene el colorante cristal violeta de fijarse a los núcleos celulares, de manera que puede establecerse una relación directa entre el número de células viables y la cantidad de cristal violeta fijado.

El método cristal violeta consiste en quitar el medio de cada pozo y realizar 2 lavados con PBS no estéril para luego agregar 500 µL/pozo de formaldehído al 37% y mantener la placa a 4°C durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se lavó cada pozo con PBS no estéril 2 veces y se añadió 500 µL/pozo de cristal violeta al 1% dejándose actuar durante 30 min. a temperatura ambiente posteriormente se lavó 2 veces cada

pozo y se dejaron secar a temperatura ambiente, para posteriormente añadir 500  $\mu\text{L}$  de ácido acético para leer en el lector de placas (Multiskan) a una  $\lambda$  de 570nm.

El método de XTT se basa en la transformación de las sales de tetrazolio XTT (Roche Molecular Biochemical) {2,3- bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5- [(fenilamino)carbonil]-2H- hidróxido de tetrazolio}; de color amarillo, el cual es reducido a formazán de color naranja por la acción de metabolitos donadores de electrones producidos por la enzima succinato deshidrogenasa, presente únicamente en las células metabólicamente activas.

Para ello se retiró el medio y se agregó 250  $\mu\text{L}$ /pozo de la mezcla de 0.2% del reactivo 1 (reactivo acoplador de electrones), 8% del reactivo 2 (reactivo marcador) y 91.8% de medio DMEM estéril sin rojo de fenol y se dejó incubar durante 2hrs a 37°C en una atmósfera de  $\text{CO}_2$  al 5% y posteriormente se lee en el lector de placas a una  $\lambda$  de 690 y 450 nm.

- **Efecto de la hiperglucemia sobre la proliferación celular.**

Los ensayos fueron realizados en cajas de 24 pozos, se utilizó una densidad de  $1 \times 10^3/600\mu\text{L}$  de medio/24 horas.

Después las células fueron expuestas a medio normoglucémico (5mM) e hiperglucémico (25mM) durante 7 días.

Se cuantificó la viabilidad celular por el método XTT y por el método cristal violeta. El experimento fue realizado por triplicado.

El tiempo de incubación utilizado en este trabajo fue elegido en base a experimentos realizados previamente en el laboratorio y reportes en la literatura utilizando otras líneas celulares de cáncer.

- **Efecto de la hiperglucemia e insulina sobre la proliferación celular.**

Se utilizó una densidad de  $1 \times 10^3/600\mu\text{L}$  de medio/7 días en medio normoglucémico e hiperglucémico y con diferentes concentraciones de insulina (0, 0.01, 0.1 y  $1\mu\text{g/mL}$ ). Se cuantificó la viabilidad celular por el método XTT y cristal violeta. El experimento fue realizado por triplicado.

Las concentraciones de insulina utilizadas se eligieron porque las concentraciones suprafisiológicas están por arriba de 10 nM y reportes en la literatura indican que los efectos de proliferación se han reportado a altas concentraciones (*Goulian, 2005 y Sciacca, et al., 2012*). Por lo que en este trabajo se decidió incluir una concentración de insulina fisiológica y 2 suprafisiológicas porque es la primera vez que se reporta en una línea celular de cáncer de cérvix, en específico HeLa: 0.01 µg/mL  $\approx$  1.67nM, 0.1 µg/mL  $\approx$  16.7nM y 1 µg/mL  $\approx$  167nM.

- **CE<sub>50</sub> de Cis-Platino**

Para la realización de las curvas dosis-respuesta del Cis-Platino las células fueron sembradas en una caja de 24 pozos con una densidad de  $1 \times 10^3$  células por pozo en 600 µL de medio durante 7 días; 24 horas antes de la cuantificación se añadió el Cis-Platino utilizando concentraciones de 0, 33, 50, 75, 82, 100, 130, 150 y 175 µM.

El experimento fue realizado por cuadruplicado.

- **Efecto de la hiperglucemia sobre el tratamiento con Cis-Platino.**

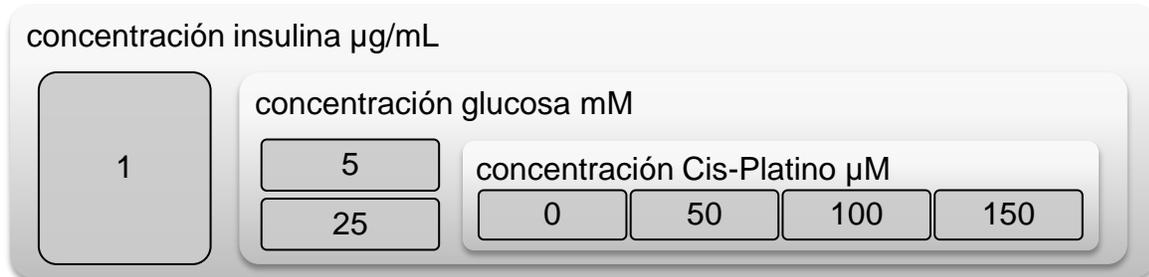
Se utilizaron células HeLa a una densidad de  $1 \times 10^3$  células por pozo en 600 µL de medio durante 7 días en medio normoglucémico e hiperglucémico. 24 horas antes de la cuantificación se agregaron distintas concentraciones de Cis-Platino (0, 50, 100 y 150µM). La detección de la viabilidad celular se realizó por el método XTT y por el método cristal violeta. El experimento fue realizado por sextuplicado.

- **Efecto de la hiperglucemia y la insulina sobre el tratamiento con Cis-Platino.**

Para evaluar el efecto de insulina, Cis-Platino y su combinación en condiciones de normoglucemia e hiperglucemia, se utilizaron las células HeLa a una densidad de  $1 \times 10^3$  células por pozo en 600µL de medio con 1µg/mL de insulina. 24 horas antes de la cuantificación se añadió el Cis-Platino a una concentración de 0, 50, 100 y 150 µM. El esquema de tratamientos se muestra en la tabla 2. La detección de la viabilidad celular

se realizó por el método XTT y por el método cristal violeta. El experimento fue realizado por sextuplicado.

Tabla 2. Esquema de tratamiento.



- **Análisis estadístico**

Los datos son mostrados como la media de los experimentos  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Las comparaciones estadísticas fueron realizadas utilizando un ANOVA utilizando la prueba de Dunnet para múltiples comparaciones o la prueba de t de student, los valores de  $P < 0.05$ , fueron considerados como diferencia significativa. Todos los datos fueron analizados utilizando el software Sigma Plot 12.0.

## 10. RESULTADOS

- **Efecto de la hiperglucemia sobre la proliferación celular.**

La figura 4 muestra los resultados del efecto de la hiperglucemia sobre la proliferación celular en células de cáncer de cérvix (HeLa). La incubación con una concentración de glucosa 25mM mostró un aumento significativo de la proliferación celular el cual fue del 12% comparada con la incubación de glucosa 5mM (normoglucemia).

Esta tendencia se observó tanto con la tinción de XTT como la de cristal violeta. Además se observó que en medio hiperglucémico después de los 7 días de incubación hubo un cambio de coloración del medio de rojo a naranja, lo cual puede ser debido a que las células tumorales producen ácido láctico después de metabolizar la glucosa (efecto Warburg), lo cual provoca que el indicador rojo de fenol del medio vire de rojo (pH neutro) a naranja (pH ácido).

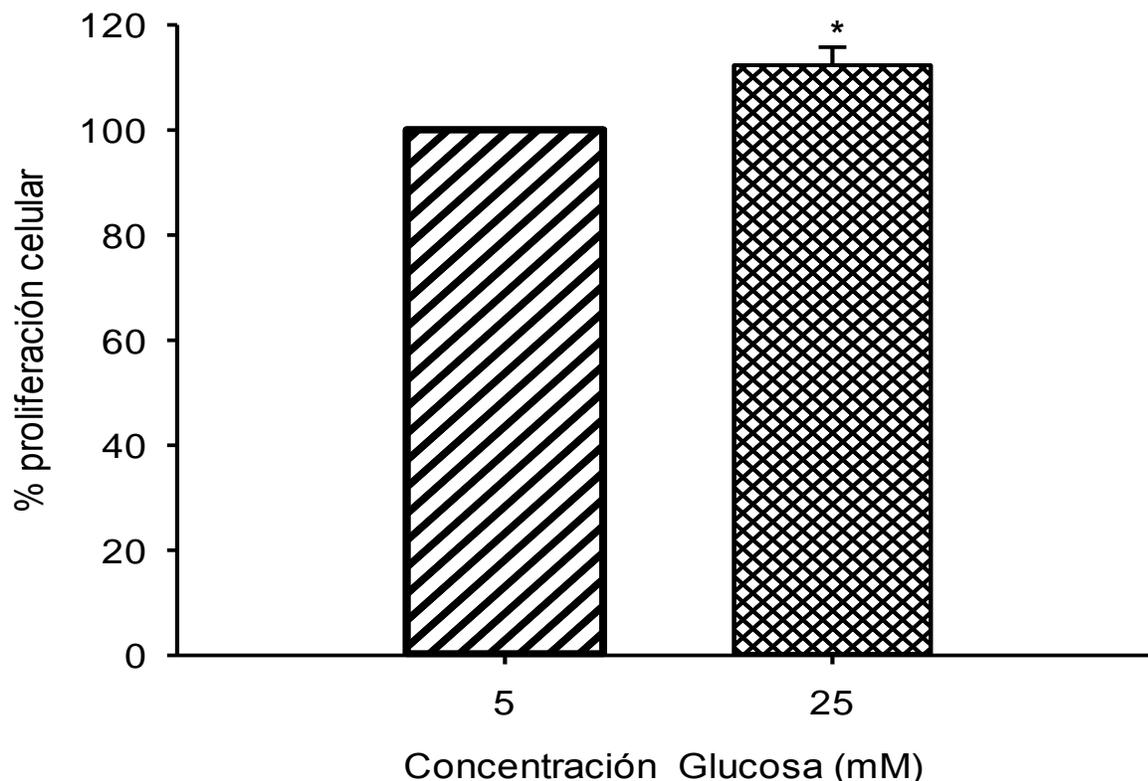


Figura 4. Concentración de glucosa (mM) vs % de proliferación celular. La hiperglucemia (25mM) aumentó la proliferación celular. Los resultados están expresados como la media  $\pm$  SEM de 3 experimentos independientes, con tinción XTT. \*P<0.05 vs glucosa 5mM.

- **Efecto de la hiperglucemia e insulina sobre la proliferación celular.**

Como se observó en la figura 4 la hiperglucemia provoca un incremento estadísticamente significativo de la proliferación celular, por ello decidimos evaluar el efecto de la insulina en normoglucemia e hiperglucemia, utilizamos concentraciones fisiológicas y suprafisiológicas de insulina (0.01, 0.1 y 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Como podemos ver en la figura 5 en condiciones normoglucémicas ninguna concentración de insulina modificó la proliferación celular. En cambio en condiciones de hiperglucemia, solo concentraciones suprafisiológicas de insulina (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) mostró un aumento de más del 20% en la proliferación celular.

También se observó que en medio hiperglucémico y con insulina después de los 7 días de incubación hubo un cambio de coloración del medio de rojo a naranja, llegando al color amarillo en la concentración de 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , lo cual puede deberse a la producción de ácido láctico por parte de las células.

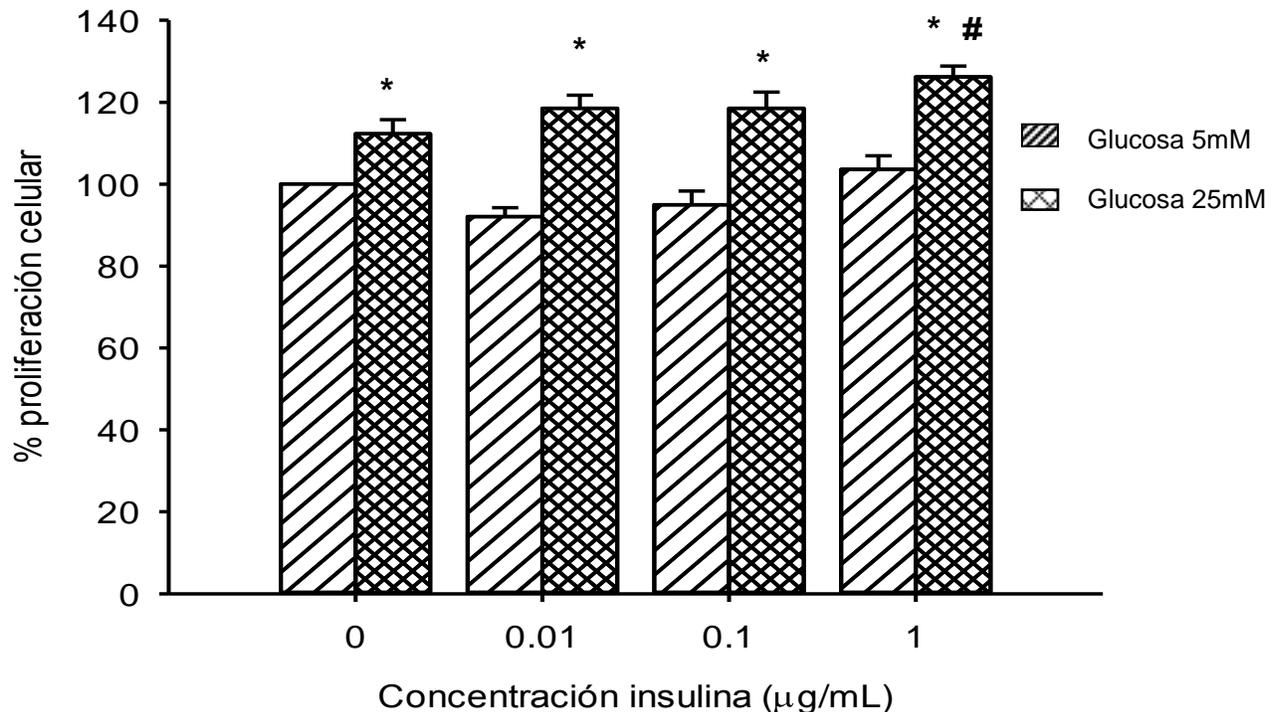


Figura 5. Efecto de la insulina y la hiperglucemia sobre la proliferación celular. Concentración de insulina ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) vs % de proliferación celular. Se muestran los resultados obtenidos con la tinción de XTT y representados como la media  $\pm$  SEM de 3 experimentos independientes.

\* $P < 0.05$  vs glucosa 5mM y # $P < 0.05$  vs glucosa 25mM.

- **Concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) de Cis-Platino.**

Para evaluar el efecto del Cis-Platino en condiciones de hiperglucemia en cultivo celular de células de CaCu, primero se realizó una curva dosis-respuesta. Para encontrar las concentraciones que se van a evaluar.

En la figura 6 se muestra, como ya está reportado en la literatura que la viabilidad celular es inversamente proporcional a la concentración de Cis-Platino en condiciones normoglucémicas. Tanto con la tinción de cristal violeta y de XTT se observó la misma tendencia.

Para calcular la concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) se realizó una regresión lineal obteniendo una CE<sub>50</sub> de 131.7μM, por ello las concentraciones utilizadas en los siguientes experimentos fueron 0, 50, 100 y 150μM.

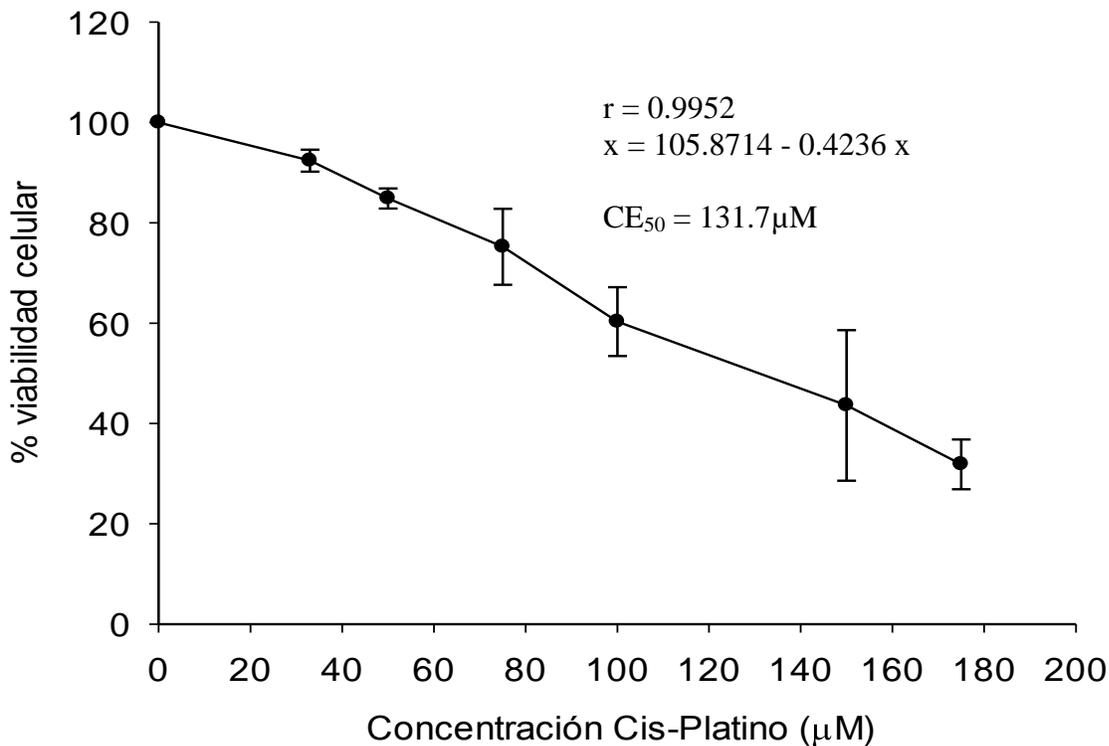


Figura 6. Curva dosis-respuesta de Cis-Platino. Concentración de Cis-Platino (μM) vs % de viabilidad celular. Las células se incubaron durante 7 días y 24 hrs antes de la evaluación, las células se expusieron a distintas concentraciones de Cis-Platino (0, 33, 50, 75, 82, 100, 130, 150 y 175μM). Los resultados se expresan como la media ± SEM de 4 experimentos independientes. Resultados con tinción XTT.

- **Efecto del Cis-Platino sobre la viabilidad celular en condiciones de hiperglucemia.**

El Cis-Platino disminuye el porcentaje de sobrevivencia en condiciones de normoglucemia, en la figura 7 mostramos que también en condiciones de hiperglucemia se observa la misma tendencia, no obstante la  $CE_{50}$  se ve aumentada ( $182.2\mu\text{M}$ ), esto probablemente se deba a un aumento en la proliferación celular originada por la hiperglucemia.

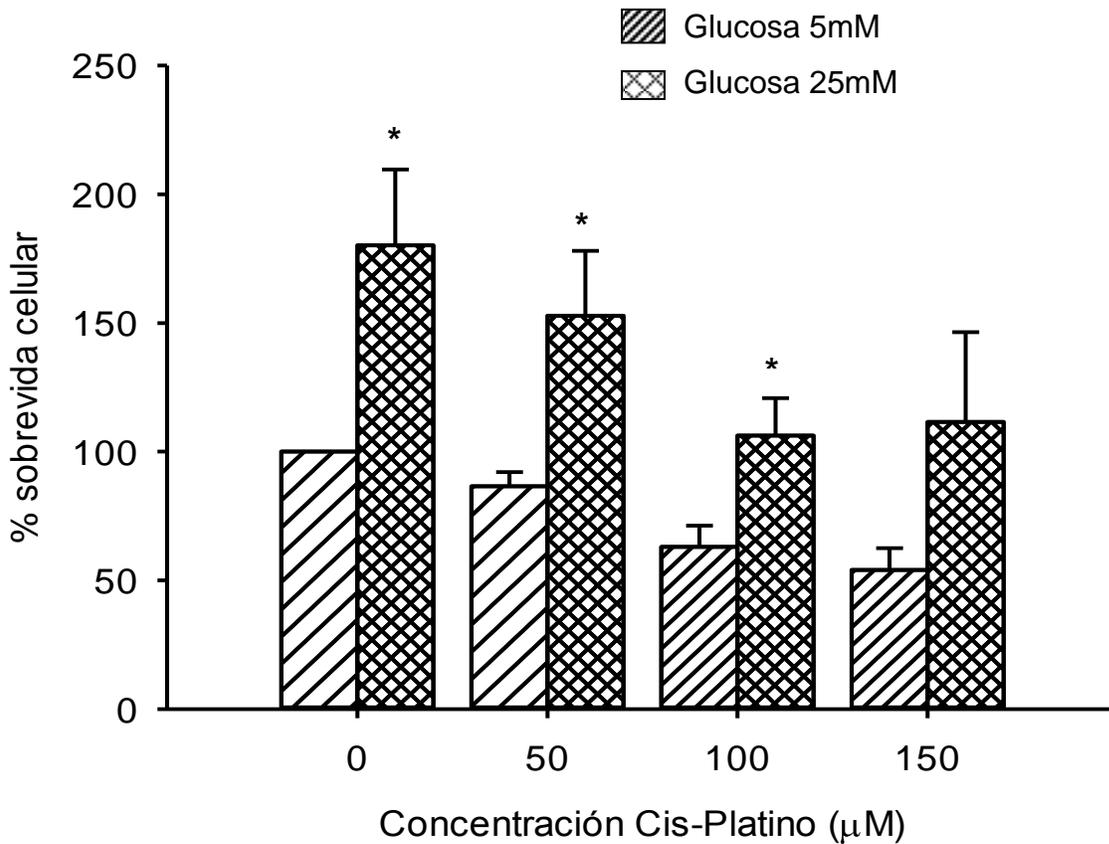


Figura 7. Efecto de la hiperglucemia y Cis-Platino en el porcentaje de sobrevivencia celular. Concentración de Cis-Platino ( $\mu\text{M}$ ) vs % de sobrevivencia celular. Los resultados fueron obtenidos con la tinción XTT. Los resultados se muestran como la media  $\pm$  SEM  $n=3 - 6$  experimentos independientes. \* $P<0.05$  vs la respectiva concentración en glucosa 5mM.

- **Efecto de la hiperglucemia e insulina sobre el tratamiento con Cis-Platino.**

En la figura 8 se muestra como el Cis-Platino disminuye el porcentaje de viabilidad celular y que este efecto es inversamente proporcional a su concentración. Sin embargo, la adición de insulina no mostró un cambio en la sobrevida.

En la tabla 3 se presentan todas las condiciones experimentales con su respectiva  $CE_{50}$  observándose que en medio hiperglucémico este valor aumenta de forma significativa, y al añadir la insulina, se observó una tendencia de aumento, aunque no fue significativo estadísticamente.

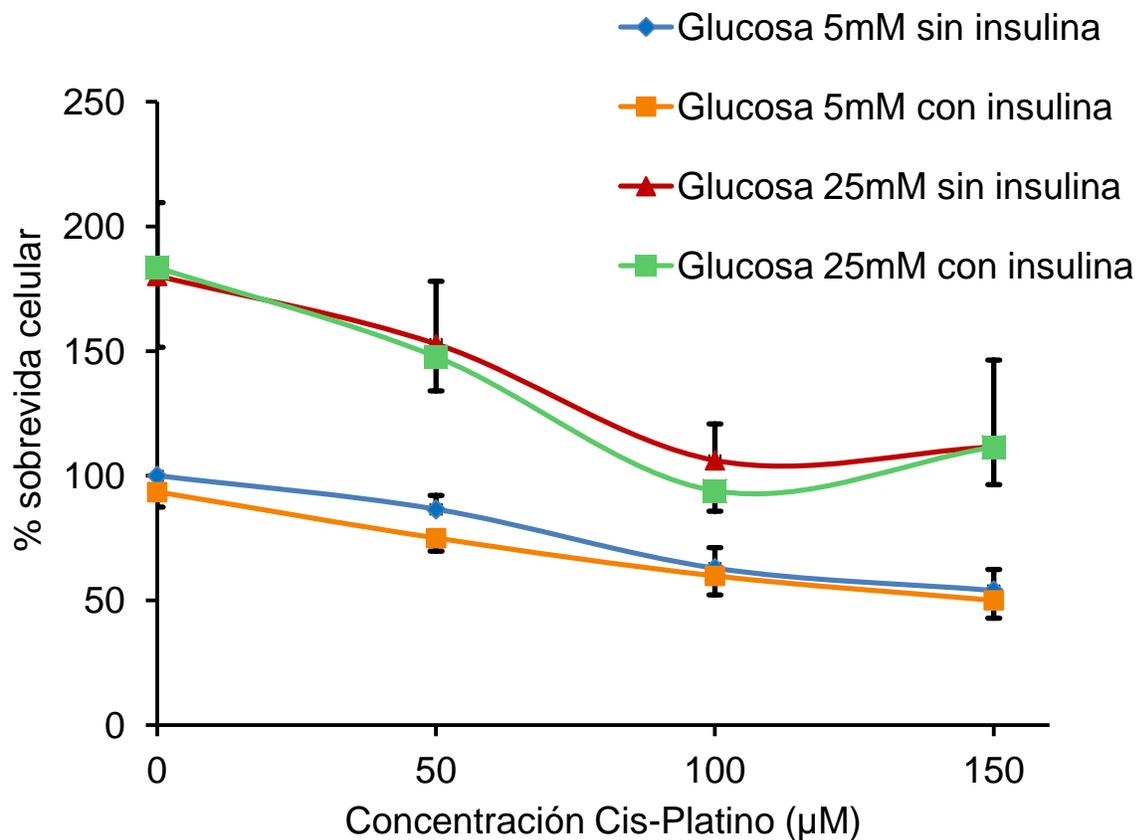


Figura 8. Efecto de la hiperglucemia, hiperinsulinemia y Cis-Platino sobre el porcentaje de viabilidad celular. Concentración de Cis-Platino ( $\mu\text{M}$ ) vs % de sobrevida celular. La tinción utilizada fue XTT. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  SEM,  $n=3 - 6$  experimentos independientes.

Tabla 3. CE<sub>50</sub> de Cis-Platino en diferentes condiciones de experimentación. \*P<0.05 vs Glucosa 5mM.

<b>Medio</b>	<b>CE<sub>50</sub> ± SEM</b>
<b>Glucosa 5mM</b>	158.3 ± 3.1 μM
<b>Glucosa 25mM</b>	182.2 ± 1.5 μM *
<b>Glucosa 5mM + insulina 1μg/mL</b>	147.2 ± 4.8 μM
<b>Glucosa 25mM + insulina 1μg/mL</b>	161.2 ± 7.3 μM

## 11. DISCUSIÓN

Estudios epidemiológicos han revelado una correlación entre las alteraciones metabólicas encontradas en personas con diabetes y la progresión del cáncer. Estas alteraciones son mejor conocidas como síndrome metabólico, caracterizado principalmente por altos niveles séricos de glucosa, insulina y triglicéridos (*Stattin, et. al., 2007*).

Nomelini y cols., (2011) evaluaron los niveles de glucosa en pacientes con cáncer de cérvix encontrando que las pacientes en estadios I-II y III-IV mostraron niveles plasmáticos de glucosa significativamente más altos que aquellas pacientes con neoplasia intraepitelial cervical (CIN) o leiomiomas (tumores benignos). Concluyendo que existe una asociación entre el CaCu y los altos niveles plasmáticos de glucosa.

Por ello en el presente estudio se decidió evaluar si la hiperglucemia, condición frecuente en la diabetes, tiene influencia sobre la proliferación en una línea celular de cáncer de cérvix (HeLa). Encontrándose como se observa en la figura 4 que la hiperglucemia incrementa de manera significativa la proliferación de las células, lo cual correlaciona con estudios realizados por Masur y cols., (2011) en otras líneas celulares establecidas (mama, colón y vejiga) donde a altas concentraciones de glucosa se incrementa la proliferación celular de manera significativa. Esto es porque las células tumorales requieren un mayor aporte de glucosa para poder subsistir debido a que la mayor parte de macromoléculas requeridas para la proliferación se generan a partir de la glucólisis. Ejemplo de ello son la glucosa 6-P precursor de la ribosa 5-P metabolito necesario para la síntesis de ácidos nucleicos ó NADPH, útil en la destoxicación de radicales libres, síntesis de lípidos y de la desoxirribosa (*Bauer, 2005*).

Para ello las células de cáncer presentan un aumento en los receptores de glucosa como es el caso de la línea celular HeLa que presenta sobreexpresión de los transportadores de glucosa GLUT1 lo que promueve una alta captación de glucosa. (*Szablewski, 2012*).

En el caso de la insulina cuando los niveles se incrementan (como sucede en sujetos con insulinoresistencia o después de la administración de insulina), la insulina se puede unir y activar al IGF-1R, favoreciendo la progresión del cáncer y facilitando el crecimiento de los tumores debido a la activación de las vías de señalización PI3K y MAPK. Otro mecanismo para la activación de estas vías es por medio del IR que muchas células cancerígenas tienen incrementado, sin embargo, la isoforma A es la que predomina en células malignas y cuya activación resulta en más efectos mitogénicos que metabólicos (*Vigneri, et al., 2009 y Goulian, et al., 2005*).

Novosyadlyy y cols., (2010) en un estudio *in vivo* mostraron una alta fosforilación de IR en tejido tumoral mamario extraído de ratas diabéticas, también encontraron un incremento en la fosforilación de IGF-1R, sugiriendo que la actividad promotora de tumor de la hiperinsulinemia también es mediada en parte por IGF-1R, ya que a concentraciones suprafisiológicas, la insulina puede activar a este receptor.

Debido a esto, se decidió probar si la insulina tenía un efecto sobre la proliferación en la línea celular HeLa donde se obtuvo que en medio normoglucémico no hay ningún cambio en el porcentaje de proliferación al agregar insulina (figura 5), sin embargo, la insulina en medio hiperglucémico incrementa la proliferación de las células de manera significativa, el incremento fue mayor al 20% el cual es similar al cambio encontrado en otras líneas celulares ya reportadas (*Masur, et al., 2011*) donde la insulina induce una mayor proliferación de las líneas celulares de mama, colon y vejiga en condiciones de hiperglucemia. Aunque este incremento relativamente no parece ser muy grande, si es significativo y es suficiente para que en una paciente con ambas enfermedades se favorezca el crecimiento del tumor.

Los mecanismos probables por los cuales la insulina puede estar incrementando la proliferación celular es: 1) activando al receptor de insulina y/o 2) a través de la activación de IGF-1R debido a que las concentraciones de insulina utilizadas en este

trabajo fueron suprafisiológicas ( $1\mu\text{g/mL}$ ) e IGF-1R está sobreexpresado en células HeLa (Werner, 2012).

Por lo que en este trabajo comprobamos que en cáncer de cérvix no basta con que haya concentraciones suprafisiológicas de insulina para promover la proliferación celular, sino que también se deben tener condiciones de hiperglucemia.

En pacientes que padecen diabetes y cáncer, la tasa de mortalidad es mayor en comparación con los que solo padecen una diabetes, lo cual puede deberse a una baja respuesta al tratamiento (Vigneri, et al. 2009) por lo cual en este trabajo se decidió cultivar la línea celular de cáncer de cérvix (HeLa) exponiéndose con insulina, Cis-Platino y su combinación en condiciones hiperglucémicas para analizar su efecto sobre la proliferación celular. Donde encontramos que la hiperglucemia induce una menor respuesta al tratamiento debido a la inducción significativa de la proliferación celular. Al calcular la  $CE_{50}$  se encontró un incremento del 15% de Cis-Platino bajo estas condiciones. Sin embargo, en medio hiperglucémico con insulina no ocurrió lo mismo porque aunque se observó un ligero aumento de la  $CE_{50}$  este no fue significativo como se hubiera esperado debido a los resultados mostrados en la figura 5.

Con lo cual se demuestra que solo en condiciones hiperglucémicas es cuando se obtiene una mayor proliferación celular y por tanto solo bajo estas condiciones se encuentra disminuida la respuesta al Cis-Platino por lo que es probable que las pacientes diabéticas no respondan de manera adecuada a este tratamiento debido a las condiciones de hiperglucemia que existen durante la diabetes.

## **12. CONCLUSIONES**

La hiperglucemia induce mayor proliferación de células de cáncer de cérvix y este incremento es mayor en presencia de insulina, sin embargo solo la hiperglucemia es la que puede estar interfiriendo en el tratamiento de quimioterapia con Cis-Platino provocando un aumento en la  $CE_{50}$  del Cis-Platino. Esta puede ser la probable causa de la baja respuesta al tratamiento en pacientes diabéticas con cáncer de cérvix.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

Arcidiacono Biagio, et al. Insulin resistance and cancer risk: an overview of the pathogenic mechanisms. Experimental diabetes research 2012; 2012: 1 - 12.

Bauer Daniel, et. al. ATP citrate lyase is an important component of cell growth and transformation. Oncogene 2005; 24(41): 6314–6322.

Bradford BL y Shulman GI. Mitochondrial Dysfunction and Type 2 Diabetes. Science 2005; 307 (5708): 384 - 387.

Chowdhury T. A. Diabetes and cancer. Monthly journal of the association of physicians 2010; 103(12): 905 - 915.

Ciaraldi T. P. et. al. Review on the in vitro interaction of insuline glargine with the insuline/insuline like growth factor system: potential implications for metabolic and mitogenic activities. Hormone and metabolic research 2011; 43(1): 1 - 10.

Gallagher Emily J. and LeRoith Derek. Minireview: IGF, insulin and cancer. Endocrinology 2011; 152(7): 2546 - 2551.

Goulian Li, et al. Insulin at physiological concentrations selectively activates insulin but not insulin like growth factor (I) or insulin/IGF-1 hybrid receptors in endothelial cells. Endocrinology 2005; 146 (11): 4690 - 4696.

INEGI (2009). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Disponible en: <https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:fAI17FICrrYJ:www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2012/cancer0>. Consultado el 28 de octubre de 2012.

INEGI 2010. Día mundial de la diabetes. Disponible en: <https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:bWbuQmxjl2EJ:www.inegi.gob.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2010/diabetes0>. consultado el 26 de octubre de 2012.

Instituto Nacional del Cáncer de los institutos nacionales de la salud de EE.UU. disponible en: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es> consultado el 27 de marzo de 2012.

Jee Sun Ha, et. al. Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. JAMA 2005; 293(2): 194 - 202.

Jenkins David. Histopathology and cytopathology of cervical cancer. Disease markers 2007; 23(4): 199 - 212.

Junco Meza Judith, et al. Bases moleculares del cáncer. Revista de investigación clínica 2006; 58(1): 56 - 70.

Kaaks Rudolf, et. al. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention 2002; 11(12): 1531 - 1543.

Karp Gerald. Biología celular y molecular. 1ª edición, Mc Graw Hill Interamericana, México, 1998.

Klement Rainer J. y Kämmerer Ulrike. Is there a role for carbohydrate restriction in the treatment and prevention of cancer? Nutrition & metabolism 2011; 8(75): 1 -16.

Lira Romero Esmeralda. Regulación de la función testicular del ratón en la fase embrionaria por estreptozotocina. México D.F., 2008. Tesis presentada en el Instituto de

Investigaciones Biomédicas, UNAM para obtener el grado de maestría en ciencias biológicas.

Lloyd Ricardo. Growth factors. Endocrine pathology 1997; 8(2): 121 - 127.

Long Harry J. et al. Prevention, diagnosis and treatment of cervical cancer. Mayo clinic proceedings 2007; 82 (12): 1566 - 1574.

Lukanova Annekatrin y Kaaks Rudolf. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention 2005; 14(1): 98-107.

Mannucci Edoardo. Insulin therapy and cancer in type 2 diabetes. ISRN endocrinology 2012; 2012: 1 - 12.

Martínez Huedo M. A. et. al. Adherence to breast and cervical cancer screening in Spanish women with diabetes: associated factors and trend between 2006 and 2010. Diabetes & metabolism 2012; 38(2): 142 - 148.

Masur K., et. al. Diabetogenic glucose and insulin concentrations modulate transcriptom and protein levels involved in tumour cell migration, adhesion and proliferation. British journal of cancer 2011; 104(2): 345 - 352.

Mejía Wilson, et al. Señalización asociada al receptor del factor de crecimiento similar a la insulina de tipo I en una línea celular colombiana de carcinoma mamario. Biomédica 2010; 30(4): 551 - 558.

Meza Navarro Mónica, et. al. Glucosa, índice de masa corporal y lesiones preneoplásicas en el cuello uterino. Ginecología y obstetricia de México 2011; 79 (12): 771 - 778.

Montalvo Esquivel Gonzalo, et. al. Cáncer cervicouterino. Cancerología 2011; 6(1): 61 - 69.

Nomelini Simões Rosekeila, et. al. Relationship between plasma glucose levels and malignant uterine cervical neoplasias. Clinical Medicine Insights: Oncology 2011; 5: 77 - 82.

NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus.

Novosyadlyy Ruslan, et. al. Insulin-mediated acceleration of breast cancer development and progression in a nonobese model of type 2 diabetes. Cancer research 2010; 70(2): 741 - 751.

Pia tkiewicz Paweł y Czech Anna. Glucose metabolism disorders and the risk of cancer. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis 2011; 59(3): 215 - 230.

Ranganath M. Cardiovascular actions of insulin. Endocrine reviews 1997; 28(5):463 - 491.

Reyes Olivares Jesús y Plancarte Arellano Araceli. Bases moleculares de las acciones de la insulina. REB 2008; 27(1): 9 - 18.

Sánchez Barriga Juan. Tendencias de mortalidad por cáncer cervicouterino en las siete regiones socioeconómicas y en las 32 entidades federativas de México en los años 2000-2008. Gaceta Médica de México 2012; 148(1): 42 - 51.

Sciacca Laura. Insulin analogs and cancer. Cancer endocrinology 2012; 3(21): 1 - 9.

Secretaría de Salud (2008). Boletín de información estadística 2008. México: SSA.

Secretaría de Salud (2011). Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México.

Shen Meng-Ru, et al. Insulin-like growth factor 1 is a potent stimulator of cervical cancer cell invasiveness and proliferation that is modulated by  $\alpha_5\beta_3$  integrin signaling. Carcinogenesis 2006; 27(5): 962 - 971.

Stattin Pär, et. al. Prospective study of hyperglycemia and cancer risk. Diabetes Care 2007; 30(3): 561 - 567.

Szablewski Leszek. Expression of glucose transporters in cáncer. Biochimica et biophysica acta 2012; 1835(2): 164 - 169.

Vigneri Paolo, et. al. Diabetes and cancer. Endocrine-Related Cancer 2009; 16(4): 1103 - 1123.

Wang Dong and Stephen J. Lippard. Cellular processing of platinum anticancer drugs. Nature reviews drug discovery 2005; 4(4): 307 - 320.

Werner H. Tumor suppressors govern insulin-like growth factor signaling pathways: implications in metabolism and cancer. Oncogene 2012; 31(22): 2703 - 2714.

Zha Jiping y Lackner Mark. Targeting the insulin-growth factor receptor 1-R pathway for cancer therapy. Clinical Cancer Research 2010; 16(9): 2512 - 2517.