



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

DIOSCINA Y SU ACTIVIDAD ANTITUMORAL

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA:

DANIELA IRÁN ROJAS MALDONADO

TUTOR-DIRECTOR DE TESIS: DR. LUIS SÁNCHEZ SÁNCHEZ

ASESOR: DR. OCTAVIO DANIEL REYES HERNÁNDEZ

ASESOR: DR. HUGO LÓPEZ MUÑOZ

SINODAL: DRA. MARÍA LUISA ESCOBAR SÁNCHEZ

SINODAL: M. EN C. GERARDO DÍAZ VÁZQUEZ



CIUDAD DE MÉXICO

ABRIL DE 2023



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

Me gustaría agradecer a mis padres porque gracias a ellos, aprendí a tener amor y pasión por la naturaleza y la ciencia, además de ayudarme a crear la oportunidad de estudiar en la Universidad Nacional Autónoma de México.

A mis hermanas, Coimbra y Paulina, mujeres admirables cuya inteligencia y determinación me pusieron a prueba desde el comienzo de mis días para desarrollar el pensamiento crítico en todos los aspectos de la vida.

A mi pareja, Agustín, que con cada día que pasa me refuerza la idea de que una persona inteligente y experimentada en su área no necesariamente es arrogante e inaccesible. Su cariño incondicional fue una luz que me ayudó a nunca perder de vista la esperanza y el camino.

A mi amigo Iosif, cuyo dominio de diversas disciplinas del conocimiento humano me inspiran todos los días a cultivar mi mente e ideas.

A los amigos que conocí en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, cuyas historias de vida y dificultades personales nos hicieron conectar y hacer de la universidad algo muy bonito e inolvidable.

A todos ustedes de verdad, gracias, porque nunca dudaron de mis capacidades y aptitudes para incursionarme en el mundo de la ciencia o para lograr lo que me propusiera.

También quisiera agradecer a mis profesores y asesores del Laboratorio de Biología Molecular del Cáncer, el Dr. Octavio Daniel Reyes Hernández, el Dr. Hugo López Muñoz, la Dra. María Luisa Escobar Sánchez y el Dr. Luis Sánchez Sánchez, cuya guía y clases especializadas ayudaron a que este trabajo de investigación se llevara a cabo. Finalmente, a la UNAM y a la FES-Zaragoza cuyas instalaciones, profesorado y alumnado me hicieron crecer como persona y como científica.

Muchas gracias.

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción.....	1
3. Hipótesis	6
4. Objetivos.....	7
4.1 Objetivo General	7
4.2 Objetivos Particulares	7
5. Metodología	7
5.1 Recopilación bibliográfica	7
5.2 Elaboración de tablas de Viabilidad Celular	8
5.3 Elaboración de tabla de Ensayos <i>In Vivo</i>	10
5.4 Elaboración de tabla de Ciclo Celular	11
5.5 Elaboración de tablas de Expresión de Proteínas	11
5.6 Elaboración del esquema de Inducción de la Apoptosis por la Dioscina.....	13
6. Resultados.....	13
6.1 Acción de la dioscina sobre la viabilidad celular	13
6.2 Acción de la dioscina en combinación con otros compuestos.....	19
6.3 Acción de la dioscina en modelos <i>In Vivo</i>	23
6.4 Acción de la dioscina sobre el ciclo celular.....	32
6.5 Acción de la dioscina sobre la regulación de proteínas en el cáncer.....	39
7. Discusión	53
7.1 La dioscina inhibe la viabilidad celular del cáncer de manera dosis y tiempo dependiente <i>In Vitro</i>	53
7.2 La dioscina mejora la actividad antitumoral de otros compuestos <i>In Vitro</i>	54
7.3 La dioscina reduce el tamaño y volumen de los tumores malignos <i>In Vivo</i>	54
7.4 La dioscina puede tener efectos adversos en los tratamientos <i>In Vivo</i>	55
7.5 La dioscina induce la detención del ciclo celular tumoral <i>In Vitro</i>	57
7.6 La dioscina afecta la regulación de proteínas clave del metabolismo celular tumoral <i>In Vitro</i>	58
8. Conclusiones	64
9. Bibliografía.....	65

1. Resumen

Se realizó una revisión histórica de artículos científicos acerca de los efectos antitumorales de la dioscina, un compuesto natural de la familia de las saponinas. Las investigaciones concluyeron que la dioscina ejerce sus efectos antitumorales dependiendo de la dosis y del tiempo: a mayor dosis y a mayor tiempo de tratamiento, mayor efecto antitumoral. Estos hallazgos fueron consistentes en los ensayos *In Vitro* e *In Vivo* y se reportaron pocos casos de toxicidad de la dioscina en los individuos. Además, se incluyeron los estudios donde a la dioscina se le incorporó con otros fármacos quimioterapéuticos, las formulaciones indicaron una sinergización y potenciación de los efectos antitumorales de ambos compuestos. Entre los efectos antitumorales descritos sobre la dioscina, se encuentran la inhibición de la viabilidad celular, proliferación, invasión, migración, Transición Epitelio Mesenquimal (EMT), Mimetismo Vasculogénico (VM), inducción de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), liberación de Ca^{2+} , inducción de procesos de autofagia, detención del ciclo celular y activación de vías de señalización PI3K/AKT/mTOR y MAPK. Todos estos procesos activaron de manera parcial y simultánea las Vías Intrínseca y Extrínseca de la apoptosis, con muy poca población celular necrótica reportada. Se observó que el tipo de cáncer más sensible a la dioscina fue el osteosarcoma, seguido del melanoma, el cáncer de próstata y el cáncer de pulmón. Lo contrario sucedió en el cáncer de estómago, que fue el menos sensible, seguido del cáncer de ovario, leucemia y el cáncer de hígado. La dioscina ha demostrado ser un excelente fármaco con potencial antitumoral debido al tipo de regulación que ejerce en vías de señalización relacionadas con la apoptosis, activando o inactivando diversas proteínas consideradas como objetivos clave en el diseño de nuevos tratamientos quimioterapéuticos. Considerar el tipo de cáncer y el fármaco terapéutico a utilizar es un factor imprescindible en el tratamiento adecuado del cáncer, de modo que se mejoren las probabilidades de supervivencia del individuo.

2. Introducción

El cáncer y sus características distintivas

El cáncer es una enfermedad cuya incidencia y mortalidad crecen con rapidez a nivel mundial año con año; estos fenómenos reflejan tanto el envejecimiento como el crecimiento de la población, así como cambios en la prevalencia y distribución de los principales factores de riesgo para desarrollar cáncer, varios de los cuales también están asociados con el desarrollo socioeconómico (Sung *et al.*, 2021; Omran, 1971; Gersten & Wilmoth, 2002). Las células cancerígenas tienen características funcionales que las distinguen de las células normales, proporcionándoles la capacidad de formar tumores. Hanahan y Weinberg

describieron en el año 2000 una serie de parámetros que comparten todos los tipos de cáncer a nivel fenotípico, denominándolos como “Características distintivas del cáncer” o “*Hallmarks of cancer*” (ver Figura 1).

Actualmente, se reconocen las siguientes características: 1) Las capacidades adquiridas para sostener la señalización proliferativa, 2) la evasión de supresores de crecimiento, 3) la reprogramación epigenética no mutacional, 4) la evasión de la destrucción por el sistema inmune, 5) la habilitación de la inmortalidad replicativa, 6) la inflamación promotora de tumores, 7) los microbiomas polimórficos, 8) la activación de la invasión y la metástasis, 9) la inducción o el acceso a la vasculatura, 10) las células senescentes, 11) la inestabilidad genómica y existencia de mutaciones, 12) la resistencia a la muerte celular, 13) la desregulación o reprogramación del metabolismo celular y 14) desbloqueo de la plasticidad fenotípica (Hanahan & Weinberg, 2011; Hanahan, 2022).

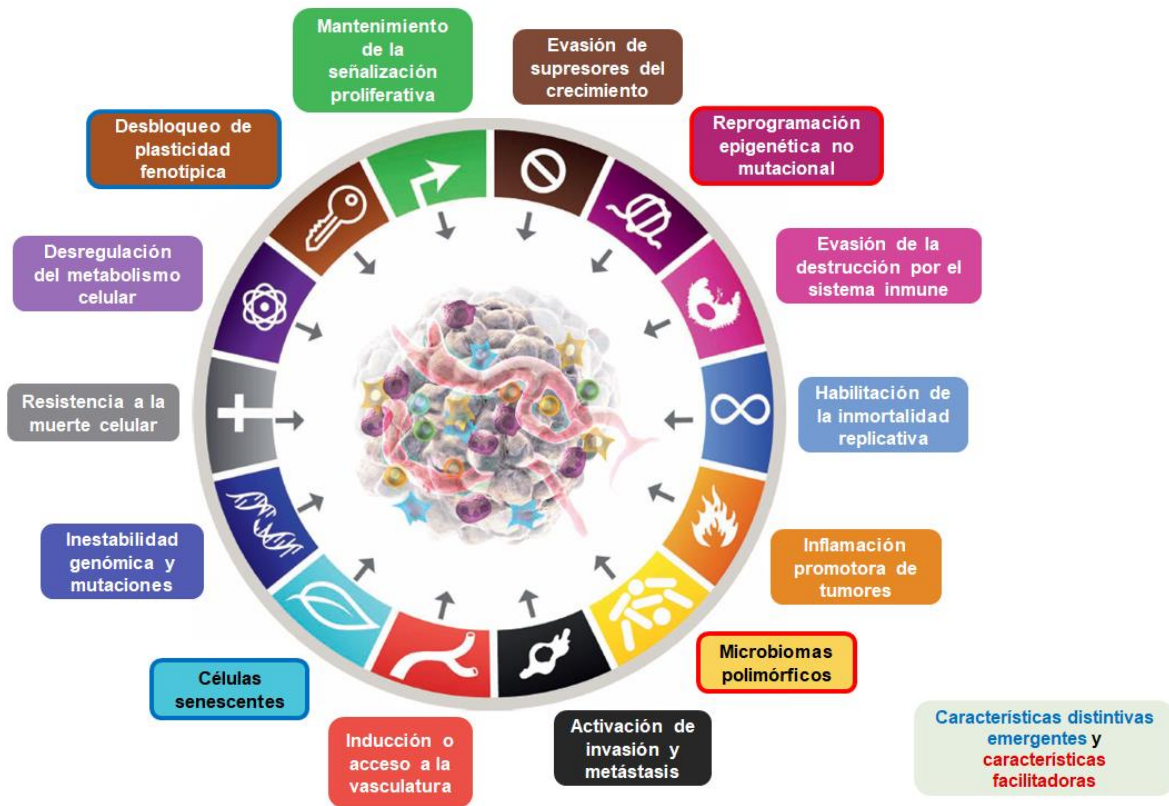


Figura 1. Características distintivas del cáncer, indicando aquellas cuya evidencia científica ha ameritado su inclusión dentro de la lista de propiedades (viñetas con contorno azul y contorno rojo). Modificado de Hanahan, 2022.

Al atacar las propiedades distintivas del cáncer, se generan efectos citotóxicos en las células tumorales, siendo este el principio básico de cualquier terapia contra el cáncer. La toxicidad celular o citotoxicidad se define como los efectos adversos que

resultan de la interferencia con la estructura, los procesos celulares o ambos, que suceden en todas las células y son esenciales para el correcto funcionamiento, supervivencia y proliferación celular (Casado Hernández *et al.*, 2016). Existen métodos comúnmente empleados para evaluar la citotoxicidad de un compuesto en las células tumorales: ensayos de viabilidad celular, ensayos de invasión y migración celular, citometría de flujo, ensayo de *Western Blot* y ensayos *In Vivo* en modelos animales de xenoinjerto.

De acuerdo con lo expuesto por Vasan y colaboradores en 2019, años después de que se introdujera la poliquimioterapia (que es la administración combinada de agentes con mecanismos de acción que no se superponen) el rotundo éxito que alguna vez tuvo comenzó a mermar considerablemente, pues la combinación de la radioterapia con la quimioterapia ya no era suficiente para curar varios tipos de cáncer. Por ende, se buscó desarrollar nuevas terapias que se enfocasen en atacar las características distintivas del cáncer y las capacidades adquiridas que logran transformar a las células normales en malignas (Vasan *et al.*, 2019).

Las saponinas

Las saponinas son un tipo de glucósidos cuyo nombre deriva de la palabra en latín *sapos* (jabón), que se refiere a su capacidad para formar espuma persistente cuando se le agita con agua, inclusive en una solución diluida (Savage, 2003). Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas (sobre todo en las legumbres) y en algunos organismos marinos (Ivanchina *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2018). El contenido de saponinas en cada planta depende de diversos factores como la especie, el tipo de cultivo, la edad de la planta, su estado fisiológico, la localización geográfica o el órgano vegetal del que provengan estas sustancias. Por ejemplo, en el *Panax ginseng* su producción se da en la parte subterránea, mientras que en *Centella asiatica* se producen y/o acumulan en las partes aéreas, principalmente en las hojas (Kim *et al.*, 2004). En la naturaleza, las saponinas de están ampliamente distribuidas, especialmente en las familias de las Dióscoreas (ver Figura 2), Amarilidáceas, e Iliáceas (Tomás *et al.*, 2010). Se clasifican según el resto aglicona, que es la porción de una molécula glicídica que carece de azúcar; como sapogenina, puede ser un esteroide o más comúnmente un triterpeno (ver Figura 3), denominándose como saponinas esteroidales o triterpénicas, respectivamente (Scognamiglio *et al.*, 2015). El papel de las saponinas en los organismos productores no ha sido completamente esclarecido, pero sus roles en la defensa de las plantas, en su desarrollo, entre otros, ha sido reportada en la literatura (Faizal & Geelen, 2013). En tanto que se han descrito diversos efectos farmacológicos de estos compuestos, de los cuales destacan los reguladores del colesterol, hemolíticos y antitumorales, siendo estos pertinentes para motivos de la presente investigación.

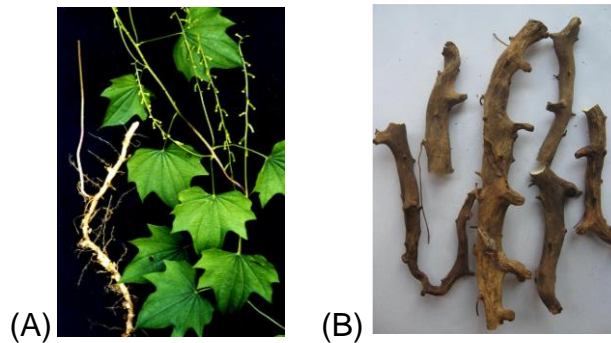


Figura 2. (A) Planta y (B) rizomas de *Dioscorea nipponica* (Tomadas de Ou-Yang *et al.*, 2018).

Propiedades hemolíticas de las saponinas

La liberación de la hemoglobina de los eritrocitos es el resultado directo de la interacción de las saponinas con los esteroides unidos a la membrana, lo que provoca un incremento en la permeabilidad de la membrana plasmática, desencadenando la destrucción de la célula. Los efectos potencialmente tóxicos en el suministro intravenoso de los extractos de saponinas han resultado en el descarte de esta clase de compuestos como factores nutritivos dentro de la dieta. Su toxicidad por vía oral y el valor nutrimental potencialmente útil sólo se han apreciado recientemente. Además, el grado del efecto hemolítico en los eritrocitos varía entre las especies de mamíferos cuando se administran vía intravenosa (Savage, 2003).

Propiedades de unión al colesterol de las saponinas

Muchas saponinas provenientes de leguminosas forman complejos de adición con el colesterol que resultan insolubles, previniéndose así la absorción del colesterol dentro del tracto gastrointestinal. Una dieta rica en saponinas ha demostrado reducir el colesterol en el plasma de pollos y primates, por lo que, las saponinas pueden ayudar a prevenir enfermedades coronarias en los humanos. Debido a la formación de estos complejos de adición con el colesterol, algunas saponinas incrementan la permeabilidad en las células de la mucosa del intestino delgado, inhibiendo así el transporte activo de algunos nutrientes. Al mismo tiempo, facilitan la asimilación de los materiales a los que el intestino normalmente sería impermeable. Se ha reportado que las saponinas provenientes de distintas plantas reducen la eficiencia de la alimentación y las tasas de crecimiento en modelos animales. Sin embargo, las respuestas a la saponina alimenticia difieren considerablemente según la especie (Savage, 2003).

Propiedades antitumorales de las saponinas

Anteriormente, se han descrito los efectos antitumorales de diversas saponinas esteroidales y triterpénicas, además de compuestos derivados de ellas; sin embargo, existe una mayor cantidad de investigaciones realizadas sobre estos efectos en saponinas como la diosgenina y la dioscina. La dioscina (ver Figura 3), una saponina esterooidal natural, es extraída de las raíces de plantas dioscóreas como *Dioscorea zingiberensis* y *Dioscorea nipponica*. El registro más antiguo sobre

la actividad antitumoral de la dioscina es del año 1991 por los investigadores Chiang y colaboradores, cuyas investigaciones consistieron en aislar diversos compuestos de la planta de *Solanum indicum* L. Entre sus hallazgos, obtuvieron que la dioscina mostró citotoxicidad en siete líneas celulares tumorales: Colo-205, KB, HeLa, HA22T, Hep-2, GBM8401/TSGH, H1477 y C6 de acuerdo con los ensayos DEA y MTT. Además, la dioscina tuvo un efecto inhibitorio sobre la síntesis de ADN en las células C6. A partir de ahí, diversos autores reportaron que los efectos inhibitorios sobre la viabilidad, los efectos anti-proliferativos y los efectos antimetastásicos de las saponinas se deben a su capacidad para inducir apoptosis.

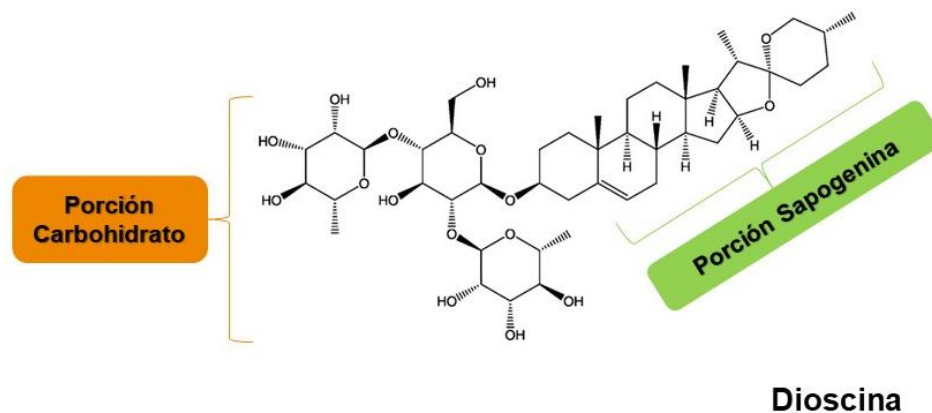


Figura 3. Estructura química de la dioscina, indicando las partes que le otorgan sus características anfipáticas y sus propiedades tensoactivas. Modificado de Manda *et al.*, 2013.

Durante los últimos años, se ha estudiado progresivamente la actividad antitumoral de la dioscina en diferentes líneas celulares de cáncer cerebral, oral, laringe, esófago, pulmón, estómago, páncreas, hígado, riñón, vejiga, vesícula biliar, colorrectal, leucemia, linfoma, macrófagos asociados a tumores, melanoma, osteosarcoma, próstata, mama, ovario, cérvix y endometrio. Por lo que, se han escrito varios artículos científicos que intentaron sintetizar los resultados obtenidos en las investigaciones con la dioscina. Tao y colaboradores plantearon en 2019 un esquema breve que resume los efectos que puede ejercer la dioscina en el tratamiento de diversas afecciones en la salud humana (ver Figura 4).

Sin embargo, debido a lo descrito anteriormente, es importante profundizar en todos los hallazgos con respecto a la actividad antitumoral de la dioscina. Así, se podrá dilucidar si es de alto valor terapéutico para complementar los tratamientos actuales, o en dado caso, llegar a reemplazarlos, pues es de conocimiento general que las terapias con los fármacos actuales suelen provocar varios efectos secundarios adversos que disminuyen la calidad de vida de los pacientes y que no garantizan una remisión del cáncer del que padecen.

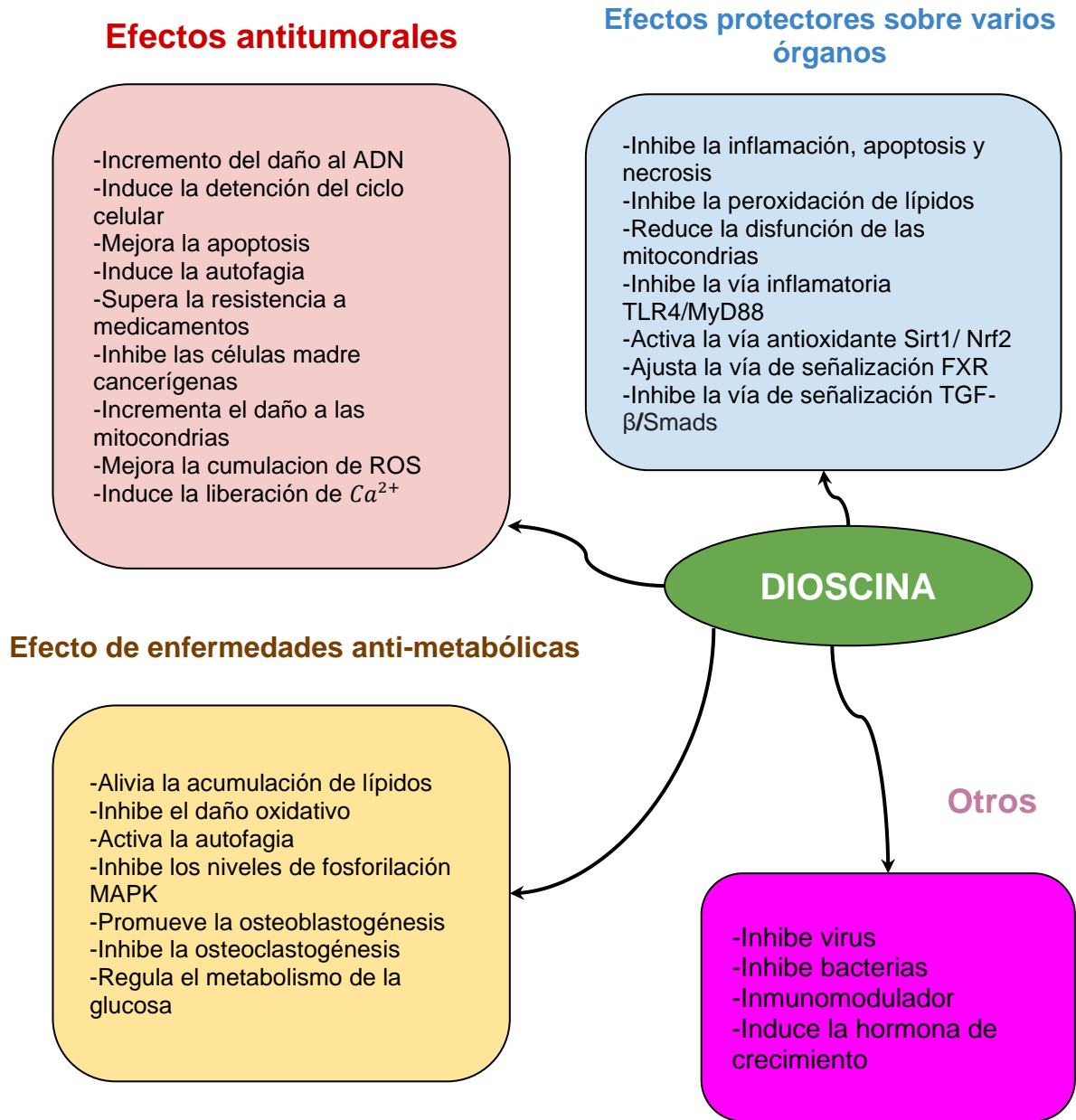


Figura 4. Esquema de algunos de los efectos descritos para la dioscina. Modificado de Tao *et al.*, 2020.

3. Hipótesis

Con base en lo descrito en la literatura sobre las actividades biológicas de las saponinas esteroidales donde se destaca la actividad antitumoral de éstas, se abre la posibilidad de emplear a la saponina esteroideal dioscina como un compuesto secundario en el tratamiento terapéutico de diversos tipos de cáncer.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Realizar una revisión bibliográfica histórica de la dioscina y su actividad antitumoral *In Vitro* e *In Vivo*.

4.2 Objetivos Particulares

- 1) Con base en la literatura consultada, determinar la actividad antitumoral de la dioscina, expresada como la concentración necesaria de este compuesto para reducir la viabilidad en un 50% de la densidad celular (IC₅₀).
- 2) Determinar la sensibilidad al tratamiento con dioscina observado en los distintos tipos de cáncer.
- 3) Describir la actividad antitumoral de la dioscina en modelos de xenoinjerto *In Vivo*.
- 4) Con base en la literatura consultada, exponer si la dioscina ejerce una detención o paro del ciclo celular en ensayos *In Vitro*.
- 5) Identificar las proteínas e ilustrar las rutas de señalización involucradas en la actividad apoptótica de la dioscina reportadas en la literatura consultada.

5. Metodología

5.1 Recopilación bibliográfica

Se llevó a cabo una compilación bibliográfica acerca de la actividad antitumoral de la dioscina *In Vitro* e *In Vivo*. Con el fin de delimitar la búsqueda, se emplearon las bases de datos ProQuest, PubMed, Elsevier, Science Direct, SciELO, Springer, Nature y Science y se tomaron en cuenta los términos “*dioscin and cancer*”, “*dioscin and tumor*” y “*dioscin antitumoral activity*” en un período que comprende desde el año 1960 hasta el mes de mayo de 2022.

A continuación, se describen los criterios de inclusión y exclusión considerados para recabar los artículos pertinentes para los fines de esta investigación:

Criterios de inclusión

- Artículos científicos que evaluaron la actividad antitumoral de la dioscina en líneas celulares de cáncer.
- Artículos científicos que expresaron sus resultados como la Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀) obtenida por medio de ensayos de viabilidad.

- Artículos científicos cuyos ensayos *In Vivo* consistieron en emplear un modelo de xenoinjerto, especificando las dosis terapéuticas empleadas.
- Artículos científicos que evaluaron la sobreexpresión o subexpresión de proteínas en líneas celulares tumorales tratadas con dioscina mediante ensayos de *Western Blot*.
- Artículos científicos que evaluaron los efectos de la dioscina sobre el ciclo celular en líneas celulares tumorales.

Criterios de exclusión

- Cualquier artículo científico que no cumpliera las condiciones anteriores.

5.2 Elaboración de tablas de Viabilidad Celular

En la actualidad, se emplean diferentes técnicas y ensayos de laboratorio para evaluar la actividad antitumoral de un compuesto. Después de obtener todos los artículos científicos que cumplieran con los criterios de selección anteriormente mencionados, se extrajo y se sintetizó la información en cinco tablas que expusieran los resultados de las experimentaciones con dioscina en los distintos tipos de cáncer.

Ensayos de Viabilidad

Para evaluar la actividad antitumoral de cualquier compuesto, se han utilizado diferentes técnicas basadas fundamentalmente en la viabilidad celular o en la proliferación celular. La mayoría de estas técnicas evalúan la viabilidad celular (MTT, XTT, MTS, etc.), sin embargo, existen técnicas como la tinción con cristal violeta, la cual puede evaluar el número celular contenido en un cultivo (Kueng *et al.*, 1989) entre otras. De igual manera, la bibliografía destaca que las actividades o eventos celulares que son considerados primordiales para evaluar la actividad antitumoral de un compuesto *In Vitro*, son el efecto sobre la viabilidad celular y/o proliferación celular y el efecto citotóxico del compuesto en líneas celulares tumorales.

Para la tabla sobre la acción de la dioscina en líneas celulares tumorales *In Vitro*, se organizó la información según: el tipo de cáncer, las líneas celulares tratadas con dioscina, la concentración de dioscina que induce un decremento del 50% (IC₅₀) sobre la viabilidad celular en la línea tumoral, las horas de tratamiento y la técnica de evaluación del ensayo de viabilidad con el que se obtuvieron estos resultados y finalmente, el autor de manera cronológica (ver Tabla 1).

Después, se realizó una segunda tabla donde se incluyeran los valores mínimos y máximos de las IC₅₀ obtenidas, esto con el fin de identificar la magnitud de los valores obtenidos durante los ensayos de viabilidad en cada tipo de cáncer. Además, se consideró pertinente calcular medidas de tendencia central para cada tipo de cáncer, de modo que pudieran identificarse los valores de IC₅₀ que predominaron en las líneas celulares tumorales después de los tratamientos con

dioscina y finalmente, el número de datos disponibles para la realización de los cálculos (ver Tabla 2). La bibliografía indica que el promedio o media tiende a inclinarse demasiado por valores extremos u “outliers” como se les denomina en inglés, por lo que fue imperativo considerar otra medida de tendencia central como la mediana, la cual es más precisa cuando se trabaja con un conjunto de datos de distribución sesgada (Dawson & Trapp, 2004; Manikandan, 2011; Swinscow & Campbell, 2002). No se consideró incluir el cálculo de la moda en este análisis debido a la poca cantidad de repeticiones de un mismo valor en el conjunto de datos de las IC₅₀. En esta tabla se excluyeron el cáncer de esófago, vesícula biliar, endometrio y linfoma, pues los datos no eran suficientes como para calcular los parámetros anteriormente mencionados (Ver Tabla 1).

Posteriormente, se calcularon la media y la mediana para todos los tipos de cáncer según las horas de tratamiento con dioscina reportadas por los autores y se indicó el número de datos (ver Tabla 3). Finalmente, se sintetizó en una tabla toda la información con respecto a los valores mínimo y máximo, la media y la mediana que se obtuvieron a partir de todos los valores de la IC₅₀ de viabilidad de todos los tipos de cáncer y el número de datos disponibles para los cálculos (ver Tabla 4).

Es importante mencionar que en casos como los datos reportados por Xi y colaboradores en 2022, que se encuentran en términos de µg/ml, se determinó realizar la siguiente conversión para obtener valores con las mismas unidades (µM), de modo que pudieran considerarse dentro de los cálculos del promedio y la mediana:

Peso Molecular de la Dioscina = 869.05 g/mol

$$\frac{5.05 \mu\text{g}}{1 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1 \text{ mol}}{869.05 \text{ g}} \times \frac{1 \times 10^6 \mu\text{mol}}{1 \text{ mol}} = 5.81 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} = 5.81 \mu\text{M}$$

Ensayos con Liposomas

En la búsqueda de nuevos modelos terapéuticos para el tratamiento del cáncer, se ha considerado la utilización de varias nanopartículas o conjugados macromoleculares. Los liposomas son nanopartículas estables con un interior acuoso, rodeado de una o más bicapas concéntricas de estructura fosfolipídica. El tamaño es variable, puede ir desde 1 nm a varios micrones de diámetro. Dependiendo de la solubilidad que tenga el fármaco en el agua, este puede ser encapsulado en el núcleo o en la bicapa lipídica que lo rodea (Alavi & Hamidi, 2019; Barenholz, 2003; Byrne *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2008).

De este modo, cientos de investigadores han trabajado con estas estructuras para administrar compuestos antitumorales. Se encontraron algunos datos referentes a la utilización de liposomas y dioscina, por lo que, se separó en otro apartado la información que respecta a los ensayos *In Vitro* realizados con mezclas donde la dioscina se encontró presente, especificándose el o los compuestos dentro de la mezcla (ver Tabla 5).

5.3 Elaboración de tabla de Ensayos *In Vivo*

Ensayos con modelos animales de Xenoinjerto

Los ensayos de xenoinjerto en las investigaciones con cáncer consisten en la utilización de animales vivos inmunosuprimidos a los que se les implantan células tumorales, con el fin de evaluar la capacidad de un fármaco para combatir dichas células malignas. El propósito principal de desarrollar modelos animales de xenoinjerto tumoral es unir la investigación básica con la investigación clínica, además de complementar el uso de sistemas con modelos *In Vitro*. Estos modelos animales proporcionan una plataforma más sofisticada para estudiar el proceso de la tumorigénesis en un escenario *In Vivo*. Así, es posible entender mejor el involucramiento de ciertos oncogenes o supresores de tumores en el desarrollo, descubriéndose así sus rutas de señalización y mecanismos de acción. Además, estos modelos son una poderosa herramienta para evaluar una posible respuesta preclínica al fármaco, pudiéndose evaluar aspectos como la eficacia antitumoral, farmacodinamia, farmacocinética y la practicidad en la detección o tratamiento de tumores (Cekanova & Rathore, 2014; Kelland, 2004; Khaled & Liu, 2014; Lee *et al.*, 2018).

De este modo, se elaboró una tabla que expusiera los resultados de los experimentos *In Vivo* reportados por los autores que contemplara la siguiente información: tipo de cáncer, línea celular tumoral con la que se inoculó a los animales, características del modelo (cepa, tipo de animal, sexo y edad en semanas), tipo de administración del compuesto (intraperitoneal, oral, intravenosa y peritumoral) y duración total del tratamiento en días, dosis terapéutica empleada expresada como mg por cada kg al día (mg/kg/día), porcentaje de inhibición tumoral (volumen o peso), signos de toxicidad y autor de manera cronológica (ver Tabla 6). Posteriormente, se realizaron los cálculos correspondientes para obtener medidas de tendencia central como la media y la mediana.

En casos como los datos reportados por Cui y colaboradores en 2020, se realizó la siguiente conversión para obtener valores con las mismas unidades (mg/kg), de modo que pudieran considerarse dentro de los cálculos del promedio y la mediana:

$$\frac{100 \mu L}{10 g} \times \frac{1000 g}{1 kg} \times \frac{1 L}{1 \times 10^6 \mu L} \times \frac{1000 ml}{1 L} \times \frac{1000 mg}{1000 ml} = 10 mg/kg$$

Con respecto a los resultados reportados por Zhang y colaboradores en 2016, se obtuvieron las tasas de inhibición tumoral en términos de volumen y peso mediante una fórmula, la cual también fue por otros autores:

$$\text{Tasa de Inhibición (IR)} = [(W - L)/W] \times 100\%$$

Donde W es el valor promedio del peso o volumen de los tumores en el grupo control y L es el valor promedio del peso o volumen de los tumores en el grupo tratado con dioscina.

Por lo que, se hizo la siguiente conversión para los datos proporcionados por Liu y colaboradores en 2018:

$$IR = [(1981.10 - 533.55)/1981.10] \times 100\% = 73.06\% \text{ de Inhibición en Volumen}$$

$$IR = [(1.89 - 0.41)/1.89] \times 100\% = 78.30\% \text{ de Inhibición en Peso}$$

Así, se contó con dos datos más para analizar las tasas de inhibición.

5.4 Elaboración de tabla de Ciclo Celular

Citometría de flujo

La citometría de flujo es una tecnología que analiza rápidamente células o partículas individuales a medida que pasan por uno o varios láseres mientras están suspendidas en una solución amortiguadora salina. Cada partícula se analiza para determinar la dispersión de la luz visible y uno o varios parámetros de fluorescencia. La dispersión de la luz visible se analiza en dos direcciones diferentes, la dirección hacia el frente (*Forward Scatter* en inglés o FSC) que puede indicar el tamaño relativo de la célula y la dirección “de lado” (*Side Scatter* SSC), que es medida a 90° e indica la complejidad interna o granularidad de la célula. La dispersión de la luz es independiente de la fluorescencia. Las muestras se preparan para medir la fluorescencia a través de la transfección y de la expresión de proteínas fluorescentes (ej. proteína verde fluorescente o GFP, por sus siglas en inglés, *Green Fluorescent Protein*), tinciones con tintes fluorescentes (ej. Yoduro de propidio o PI, por sus siglas en inglés, *Propidium Iodide*, DNA) o tinciones con anticuerpos fluorescentes conjugados (ej. CD3 FITC). La citometría de flujo es una poderosa herramienta que permite la caracterización simultánea de poblaciones mezcladas en tejidos líquidos (como la sangre y médula ósea) y en tejidos sólidos como diversos tipos de tumores. De este modo, es posible distinguir la cantidad de células que se encuentran en una fase celular o en otra (McKinnon, 2018).

Diversos autores describen cambios en el ciclo celular de las líneas tumorales expuestas a tratamientos con dioscina, por lo que resultó pertinente sintetizar estos hallazgos en una tabla con la siguiente información: tipo de cáncer, línea celular, concentraciones de dioscina empleadas en los ensayos, los tipos de tinción utilizados, los resultados descritos por los autores y el autor de manera cronológica.

5.5 Elaboración de tablas de Expresión de Proteínas

Ensayos *Western Blot*

El ensayo *Western Blot* es una importante técnica ampliamente utilizada en biología celular y molecular, pues permite identificar proteínas específicas a partir de una compleja mezcla de proteínas que han sido extraídas de una célula. La técnica usa tres elementos para cumplir con este propósito: (1) separación por tamaño, (2) transferencia a una base sólida y (3) marcaje de proteínas específicas mediante un anticuerpo primario o secundario apropiado para visualizarlas. Al separarse por peso, se separa por tipo, esto mediante una electroforesis en gel. Estos resultados se transfieren a una membrana produciendo una banda para cada proteína, entonces la membrana es incubada con anticuerpos de marcaje específico para la proteína de interés. El grosor de la banda corresponde a la cantidad de proteína

presente, por lo que establecer un estándar puede indicar la cantidad de proteína presente (Mahmood & Yang, 2012). Al ser posible cuantificar la expresión de proteínas, la utilización de esta técnica se ha vuelto imprescindible para identificar las vías de señalización y mecanismos involucrados por los cuales un fármaco ejerce sus efectos *In Vitro*.

Se elaboró una tabla donde se registraron los resultados de estos ensayos una vez que se trataron líneas celulares tumorales con dioscina. La información se organizó de la siguiente manera: tipo de cáncer, línea celular tumoral, concentración de dioscina empleada y el tiempo de exposición, técnicas empleadas para la detección y cuantificación de proteínas, las proteínas evaluadas y su estado de regulación y el autor de manera cronológica.

Se determinó la siguiente clasificación de los resultados para términos prácticos de esta investigación:

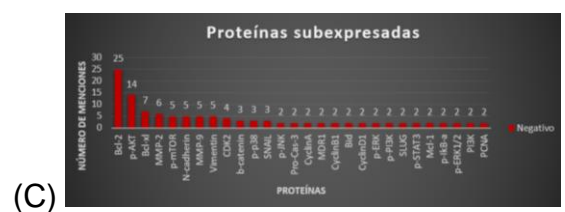
Regulación positiva	Sobreexpresión de la proteína en comparación con el grupo control
Regulación negativa	Subexpresión de la proteína en comparación con el grupo control

Posteriormente, se realizaron tablas y gráficas dinámicas por medio del software Excel para poder identificar el número de veces que una proteína fue mencionada en la bibliografía consultada, así como el estado de regulación reportado por los autores (ver Figura 5). Debido a la cantidad de información y por fines de practicidad, sólo se consideraron aquellas proteínas que fueron mencionadas dos o más veces en los artículos científicos al momento de realizar las gráficas dinámicas de regulación positiva y negativa.

Autor	Línea Celular	Proteína	Estado de regulación	Cuenta de Proteína	Etiquetas de columna
Lv 2013	C6	Bak	Positivo	19	Positivo
		Bax	Positivo		
		Bid	Positivo		
		c-PARP	Positivo		
		p53	Positivo		
		Cas-3	Positivo		
		Cas-9	Positivo		
		CDK2	Negativo		
		CyclinA	Negativo		
		DNA Topo I	Negativo		
		Bcl-2	Negativo		
		Bcl-xl	Negativo		
		TIMP-2	Positivo		
		Chien 2012	HSC-3		
MMP-9	Negativo				
p-LATS (Ser909)	Positivo				
		p-MST	Positivo	4	Positivo
		p-YAP (Ser397)	Positivo		

(A)

(B)



(C)

Figura 5. (A) Tabla que comprende todos los resultados de la regulación de proteínas. (B-C) Tabla y gráficas dinámicas donde se resumen los resultados obtenidos sobre el estado de regulación de proteínas y su número de menciones.

5.6 Elaboración del esquema de Inducción de la Apoptosis por la Dioscina

Apoptosis

La apoptosis, también denominada muerte celular programada, es un fenómeno natural dentro del metabolismo celular. Este proceso se activa en incontables situaciones dentro de la fisiología de un ser vivo, sin embargo, es imprescindible para la eliminación genéticamente determinada de células no deseadas en un cuerpo. Es decir, funciona como mecanismo de defensa contra las respuestas inmunitarias y la eliminación de células dañadas después del curso de la enfermedad. Existen varias condiciones o estímulos que, según el tipo y el grado de intensidad pueden desencadenar muerte por apoptosis o necrosis (Kashyap *et al.*, 2021; Favaloro *et al.*, 2012; Kashyap *et al.*, 2018; Kashyap *et al.*, 2019; Yadav *et al.*, 2018; Vermeulen *et al.*, 2003; Fink & Cookson, 2005).

A lo largo de los años, se han realizado estudios cuyos resultados indican que existe una serie de regulaciones anormales de diversas rutas de señalización en el metabolismo de las células cancerígenas. De este modo, se ha buscado enfocar las terapias del cáncer en atacar proteínas y, por ende, vías de señalización imprescindibles para detener el avance de esta enfermedad en un tejido.

Finalmente, se realizó un esquema donde se sintetizó toda la información referente a las rutas de señalización por las que la dioscina induce apoptosis en las líneas celulares de cánceres humanos y en modelos animales según los ensayos *in vitro* e *in vivo* que se han realizado con este compuesto (ver Figura 10).

6. Resultados

6.1 Acción de la dioscina sobre la viabilidad celular

Los resultados obtenidos en la Tabla 1 hacen referencia al efecto que tiene la dioscina sobre la viabilidad en las líneas celulares provenientes de diferentes tipos de tumores (cáncer de mama, pulmón, cervix, etc.). Después, se calcularon la media y la mediana para agrupar los datos por tipo de cáncer (ver Tabla 2) y por horas de tratamiento (ver Tabla 3) para finalmente, obtener los valores generales de todos los tipos de cáncer (ver Tabla 4). Sin embargo, se encontró que los valores de la media y la mediana se alejan significativamente uno del otro, por lo que, basado en la literatura anteriormente mencionada fue pertinente considerar a la mediana como el valor de tendencia central más adecuado para analizar estos resultados.

El cáncer de pulmón cuenta con varios registros que datan del año 2001 hasta el 2022, se describen datos sobre el decremento del 50 % (IC₅₀) que oscilan entre 0.8 μ M y 18.2 μ M, con una mediana de 2.72 μ M para todas las líneas celulares de este

tipo de cáncer (ver Tabla 2). El cáncer de estómago tiene pocos registros, se mencionan valores para la IC₅₀ que van desde 1.38 a 56 µM, con una mediana de IC₅₀ de 10.04 µM. Para el cáncer de hígado se cuenta con registros que datan del año 2006 al 2019, con valores que oscilan entre 0.79 y 9.5 µM, obteniéndose una media de IC₅₀ de 5.03 µM. El cáncer colorrectal cuenta con registros que datan del año 2002 al 2018, cuyos valores de IC₅₀ van desde 0.58 hasta 14.13 µM, obteniéndose una mediana de 4.55 µM. Se tienen registros de leucemia desde el año 2001 al 2020, con valores que oscilan entre 3.3 a 10 µM, con una mediana de 6.1 µM. Los datos obtenidos a lo largo de 3 años diferentes sobre osteosarcomas van de 0.66 a 6.9 µM, con una mediana de 1.90 µM. Para melanoma, hay registros que van desde 0.57 a 3.22 µM con una mediana de 2.06 µM. El cáncer de mama es de los cánceres más estudiados y cuenta con registros desde el año 2001 al 2022, cuyo valor mínimo es de 0.64 y el valor máximo es de 50.6, obteniéndose una mediana de 5.18 µM. Para el cáncer de cérvix, se tiene registros que oscilan entre 2 y 40.2 µM, con una mediana de 4.4 µM. El cáncer de ovario tiene valores desde 3.1 hasta 16.8 µM, obteniéndose una mediana de 6.11 µM. El cáncer de próstata tiene pocos datos, con un valor mínimo de 1.7 y un valor máximo de 2.86 µM, con una mediana de 2.11 µM.

Existen casos particulares donde se cuenta con escasos registros sobre la viabilidad celular como en el cáncer de esófago, vesícula biliar, linfoma y endometrio. En estas líneas celulares se obtienen datos de 5.4 µM, 4.47 y 5.05 µM, 21.9 µM y 2.37 µM, respectivamente. Por lo que, se requiere de un mayor número de datos para poder calcular valores de tendencia central sobre estos tipos de cáncer (ver Tabla 1).

A las 24 h se obtuvo una mediana para la IC₅₀ de 4.72 µM para todas las líneas de cáncer tratadas con dioscina, a las 48 h fue de 3.45 µM y a las 72 h fue de 2.69 µM (ver Tabla 3).

En general, se obtuvo un valor mínimo de 0.57 µM y un valor máximo de 56 µM, así como una mediana de 3.58 µM sobre el decremento del 50 % (IC₅₀) para todos los tipos de cáncer tratados con dioscina (ver Tabla 4).

Tabla 1. Actividad antitumoral de la dioscina (*In Vitro*)

Actividad antitumoral de la dioscina (<i>In Vitro</i>)				
Tipo de Cáncer	Línea Celular	Rango de IC ₅₀ (µM)	Técnicas de Viabilidad	Autor
Esófago	Ky510	5.4 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2012
Pulmón	H14	0.8 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2001

	Lu1	1.2 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	H460	18.2 ± 1.3 (72 h)	MTT	He <i>et al.</i> , 2006
	A549	1.06 (72 h) 4.01 (72 h)	MTT	Yum <i>et al.</i> , 2010
	A549 H460 H446	5.75 (48 h)	MTT	Wei <i>et al.</i> , 2013
	H1650	1.7 (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2018
	PC9GR	2.1 (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2018
	CL97	4.1 (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2018
	H1975	4.3 (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2018
	A549	1.13 (48 h)	MTS	Wang <i>et al.</i> , 2018
	H460	4.67 ± 0.10 (24 h) 2.45 ± 0.06 (48 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2018
	H446	2.72 ± 0.05 (24 h) 2.09 ± 0.90 (48 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2018
	H520	3.78 ± 0.21 (24 h) 2.44 ± 0.14 (48 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2018
	H1299	4.27 ± 0.41 (24 h) 4.11 ± 0.49 (48 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2018
	H520	4.59 (48 h)	CCK-8	Yao <i>et al.</i> , 2020
	SK-MES-1	2.05 (48 h)	CCK-8	Yao <i>et al.</i> , 2020
	A549	5.81 (24 h) 3.62 (48 h) 2.49 (72 h)	MTT	Xi <i>et al.</i> , 2022
	PC-9	3.49 (24 h) 2.43 (48 h) 2.42 (72 h)	MTT	Xi <i>et al.</i> , 2022
	Estómago	SCG-7901	15.84 (24 h) 10.04 (48 h) 4.17 (72 h)	MTT
SCG-7901		1.38 (48 h)	MTT	Hu <i>et al.</i> , 2013
MGC803		56 (48 h)	MTT	Ma <i>et al.</i> , 2016
Hígado	HepG2	7.82 (48 h)	Ensayo neutral rojo	Zhang <i>et al.</i> , 2006
	HepG2	8.3 ± 0.2 (72 h)	MTT	He <i>et al.</i> , 2006
	HepG2	0.79 (72 h) 6.97 (72 h)	MTT	Yum <i>et al.</i> , 2010
	Bel-7402	9.50 ± 0.03 (24 h) 3.54 ± 0.03 (48 h) 1.56 ± 0.02 (72 h)	MTT	Zhang <i>et al.</i> , 2016

	HepG2	5.3 (48 h)	MTT	Zhang <i>et al.</i> , 2016
	HepG2	8.34 (24 h)	MTT	Zhang <i>et al.</i> , 2018
	SMMC-7721	0.79 (48 h)	MTS	Wang <i>et al.</i> , 2018
	HepG2	6.65 (2 h)	CCK-8	Chen <i>et al.</i> , 2019
	HepG2	3.24 (24 h)	MTT	Mao <i>et al.</i> , 2019
	SMMC7721	2.55 (24 h)	MTT	Mao <i>et al.</i> , 2019
Vesícula Biliar	NOZ	4.465 (24-72 h)	CCK-8	Song <i>et al.</i> , 2017
	SGC996	5.049 (24-72 h)	CCK-8	Song <i>et al.</i> , 2017
Colorrectal	Col-2	2.8 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	HT-29	5.21 (72 h)	MTT	Yum <i>et al.</i> , 2010
		0.72 (72 h)		
	Caco-2	0.85 (72 h)	MTT	Yum <i>et al.</i> , 2010
		4.55 (72 h)		
		8.53 (72 h)		
	HCT-116	1.40 (72 h)	MTT	Yum <i>et al.</i> , 2010
		1.74 (72 h)		
		2.88 (72 h)		
3.54 (72 h)				
C26	7.36 (24 h)	CCK-8	Tong <i>et al.</i> , 2014	
LoVo	6.4 (48 h)	MTT	Zhang <i>et al.</i> , 2016	
RKO	8.95 (24 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2018	
	5.93 (48 h)			
	4.43 (72 h)			
HT-29	14.13 (24 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2018	
	9.53 (48 h)			
	6.04 (72 h)			
SW480	0.58 (48 h)	MTS	Wang <i>et al.</i> , 2018	
Leucemia	HL-60	7.5 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2001
	K562	10 (48 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2004
	HL-60	7.6 (24 h-48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2006
	K562	4.7 ± 1.3 (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2013
	K562/ADR	3.3 ± 0.8 (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2013

	HL-60	7.6 ± 0.12 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2014
	HL-60	3.39 (48 h)	MTS	Wang <i>et al.</i> , 2018
	Raw264.7	3.809 (48 h)	CCK-8	Cui <i>et al.</i> , 2020
Linfoma	P-388	21.9 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
Osteosarcoma	U2OS	2.1710 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	U2OS/MTX300	2.4570 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	HOS	0.7005 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	MNNGHOS	0.8308 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	143B	0.7606 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	MG63	1.6370 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	ZOS	1.6300 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	ZOSM	2.5800 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	SJSA1	0.6551 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	G292	0.7478 (72 h)	MTT	Liu <i>et al.</i> , 2018
	U2OS	6.90 (48 h)	MTS	Hwang <i>et al.</i> , 2019
	U2OS	4.212 (24 h)	CCK-8	Ding <i>et al.</i> , 2020
	MNNG/HOS	4.949 (24 h)	CCK-8	Ding <i>et al.</i> , 2020
	MG63	3.500 (24 h)	CCK-8	Ding <i>et al.</i> , 2020
Melanoma	Mel-2	1.8 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	A375	2.31 ± 1.12 (72 h)	MTT	Dong <i>et al.</i> , 2004
	SK-MEL	3.22 (48 h)	Ensayo neutral rojo	Zhang <i>et al.</i> , 2006
	B16	3 (3 h)	MTT	Nishina <i>et al.</i> , 2015
	A375	1.54 ± 0.32 (24 h) 0.57 ± 0.18 (48 h)	CCK-8	Liu <i>et al.</i> , 2020
	B16F10	3.14 ± 0.14 (24 h) 1.16 ± 0.17 (48 h)	CCK-8	Liu <i>et al.</i> , 2020
Mama	MDA-MB-435	2.6 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2001
	BC1	3.8 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	MCF-7	22.4 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	BT-549	3.45 (48 h)	Ensayo neutral rojo	Zhang <i>et al.</i> , 2006
	MCF-7	50.6 ± 2.8 (72 h)	MTT	He <i>et al.</i> , 2006
	MCF-7	13.70 (24 h) 3.85 (72 h)	XTT	Aumsuwan <i>et al.</i> , 2016

	MDA-MB-231	6.77 (24 h) 2.05 (72 h)	XTT	Aumsuwan <i>et al.</i> , 2016
	MCF-7	6.5 ± 0.4 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2016
	MCF-7/ADR	7.3 ± 0.2 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2016
	MCF-7	15.40 ± 3.56 (24 h)	MTT	Zhao <i>et al.</i> , 2017
	MCF-7	0.64 (48 h)	MTS	Wang <i>et al.</i> , 2018
	MDA-MB-231	33.55 (24 h) 3.23 (72 h)	MTT	Chae <i>et al.</i> , 2021
	MCF-7	11.03 (24 h) 2.50 (72 h)	MTT	Chae <i>et al.</i> , 2021
	4T1	1.38 (48 h)	CCK-8	Wang <i>et al.</i> , 2022
Cérvix	HeLa	4.5 (24 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2001
	Ishikawa	4.4 (24 h)	MTT	Cai <i>et al.</i> , 2002
	KB	20.7 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	KB-V1	>23 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	HeLa	3.06 ± 1.95 (72 h)	MTT	Dong <i>et al.</i> , 2004
	KB	2.19 (48 h)	Ensayo neutral rojo	Zhang <i>et al.</i> , 2006
	HeLa	40.2 ± 3.1 (72 h)	MTT	He <i>et al.</i> , 2006
	HeLa	2.0 (24 h)	Cristal violeta	Hernández <i>et al.</i> , 2020
	CaSKi	2.0 (24 h)	Cristal violeta	Hernández <i>et al.</i> , 2020
Endometrio	Ishikawa	2.37 (24 h)	MTT	Li <i>et al.</i> , 2021
Ovario	SW626	3.1 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	SK-OV-3	5.52 (48 h)	Ensayo neutral rojo	Zhang <i>et al.</i> , 2006
	SK-OV-3	16.80 (24 h) 8.79 (48 h) 6.69 (72 h)	MTT	Gao <i>et al.</i> , 2011
	A2780s	4.72 ± 1.01 (24 h)	MTT	Zhao <i>et al.</i> , 2017
Próstata	LNCaP	1.7 (72 h)	MTT	Mi <i>et al.</i> , 2002
	LNCaP	2.86 (12 h) 2.19 (24 h) 2.03 (48 h)	MTT	Chen <i>et al.</i> , 2014

Tabla 2. IC₅₀ de la dioscina en cada tipo de cáncer (*In Vitro*)

IC ₅₀ (μM) de la dioscina en cada tipo de cáncer (<i>In Vitro</i>)					
Tipo de Cáncer	Valor mínimo	Valor máximo	Promedio	Mediana	Número de datos
Pulmón	0.8	18.2	3.62	2.72	27
Estómago	1.38	56	17.49	10.04	5
Hígado	0.79	9.5	5.03	5.3	13
Colorrectal	0.58	14.13	5.03	4.55	19
Leucemia	3.3	10	5.99	6.1	8
Osteosarcoma	0.66	6.9	2.41	1.90	14
Melanoma	0.57	3.22	2.09	2.06	8
Mama	0.64	50.6	10.60	5.18	18
Cérvix	2	40.2	11.34	4.4	8
Ovario	3.1	16.8	7.60	6.11	6
Próstata	1.7	2.86	2.20	2.11	4

Tabla 3. IC₅₀ de la dioscina en todos los tipos de cáncer por horas (*In Vitro*)

IC ₅₀ (μM) de la dioscina en todos los tipos de cáncer por horas (<i>In Vitro</i>)			
Horas	Promedio	Mediana	Número de datos
24 h	6.90	4.72	39
48 h	5.15	3.45	41
72 h	6.42	2.69	50

Tabla 4. IC₅₀ de la dioscina en todos los tipos de cáncer (*In Vitro*)

IC ₅₀ (μM) de la dioscina en todos los tipos de cáncer (<i>In Vitro</i>)				
Valor mínimo	Valor máximo	Promedio	Mediana	Número de datos
0.57	56	6.11	3.58	136

6.2 Acción de la dioscina en combinación con otros compuestos

En algunas investigaciones, se evaluaron los efectos de la dioscina sobre la viabilidad en conjunto con otros fármacos antitumorales como la epirubicina, vinorelbina y adriamicina, así como su actividad en combinación con liposomas de diferentes formulaciones, micelas mixtas y nanofibras de colesterol (ver Tabla 5).

En los estudios de cáncer de pulmón, Kong y colaboradores emplearon los compuestos epirubicina y dioscina en combinaciones diferentes (radios molares de 1:1, 1:2 y 2:1), así como liposomas para tratar a las líneas celulares tumorales, sin embargo, sólo se especifican las IC₅₀ de algunos datos. Se reportaron efectos de citotoxicidad sinérgica entre la epirubicina y dioscina; por su parte, la dioscina libre mostró un efecto insignificante sobre la tasa de supervivencia de las células A549.

Además, los liposomas de co-administración modificados con RPV con epirubicina y dioscina tuvieron un efecto inhibitorio significativo de la viabilidad celular en la línea A549 en comparación con la formulación de liposomas convencional (Kong *et al.*, 2020).

Kong y colegas realizaron estudios similares con la vinorelbina. Sus resultados indicaron que el efecto citotóxico de la vinorelbina libre fue mejorado al añadir diferentes concentraciones de dioscina de manera dosis-dependiente (con radios molares de 1:10, 1:20 y 1:50). Además, los liposomas de vinorelbina con dioscina modificados con CPP (mmp) pudieron mejorar la eficacia antitumoral tanto en los ensayos *In Vitro* como *In Vivo* (Kong, Zhang *et al.*, 2020).

En el caso de la leucemia, Wang y colaboradores realizaron ensayos con células K562 y K562/ADR, siendo estas últimas resistentes al compuesto adriamicina. Los autores indican que en estas dos líneas celulares la IC₅₀ disminuyó significativamente al realizar ensayos de co-incubación con adriamicina-dioscina y agregar nuevamente adriamicina durante 24 horas, esto en comparación con la adriamicina por sí sola; los autores no especifican la IC₅₀ obtenida con la adriamicina libre (Wang *et al.*, 2013).

Wang y colegas realizaron estudios similares con dioscina y adriamicina en líneas celulares de cáncer de mama. En este caso, emplearon células MCF-7 y células MCF-7 resistentes a la adriamicina (MCF-7/ADR). Indican que la co-incubación con ambos fármacos es capaz de disminuir significativamente los valores IC₅₀ de la adriamicina tanto en las células MCF-7 como en las células MCF-7/ADR en comparación con la dioscina y la adriamicina por sí solas; no se especifica la IC₅₀ obtenida de los ensayos sólo con adriamicina. Concluyen que la dioscina potencia el efecto citotóxico de la adriamicina en ambas líneas celulares de cáncer de mama (Wang *et al.*, 2016).

Investigadores como Zhao y coautores diseñaron micelas mixtas compuestas de Soluplus® y copolímeros TPGS para encerrar la dioscina, que es poco soluble en agua. Realizaron sus ensayos con las líneas celulares de cáncer de mama y de ovario MCF-7 y A2780s, respectivamente. Sus resultados indicaron que las micelas mixtas cargadas de dioscina demostraron tener mayor citotoxicidad que el compuesto por sí solo. Es posible observar cómo en las células MCF-7 la IC₅₀ obtenida en los ensayos con micelas fue hasta tres veces menor que la IC₅₀ obtenida con la dioscina libre en un tratamiento de 24 horas de duración. En el caso de las células tumorales de ovario, la IC₅₀ del tratamiento con micelas fue 1.7 veces menor que la del tratamiento con dioscina. Concluyeron que, en ambas líneas celulares las micelas mixtas cargadas con dioscina mostraron una eficacia antitumoral notablemente mayor que la dioscina libre *in vitro* (Zhao *et al.*, 2017).

En los estudios realizados por Wang y colaboradores se pusieron a prueba tratamientos de dioscina y nanofibras de colesterol con dioscina contra las células 4T1 de cáncer de mama. Se obtuvo una IC₅₀ de 1.38 µM para la dioscina libre a las

48 horas, mientras que el tratamiento con nanofibras de colesterol arrojó una IC_{50} de 6.43 μ M en el mismo período de tiempo. Los resultados indicaron que el uso de nanofibras de colesterol con dioscina no fue más efectivo para reducir la viabilidad de las células 4T1 en comparación con el tratamiento de dioscina libre en los ensayos *In Vitro*. Cabe destacar que se demostró lo contrario en los ensayos *In Vivo*, donde las nanofibras fueron sujetas a tratamientos de pegilación y se observó que tuvieron una tasa de inhibición tumoral mayor a la de la dioscina (Wang *et al.*, 2022).

Tabla 5. Actividad antitumoral de la dioscina combinada con otros compuestos (*In Vitro*)

Actividad antitumoral de la dioscina combinada con otros compuestos (<i>In Vitro</i>)				
Tipo de Cáncer	Línea Celular	Rango de IC_{50} (μ M)	Técnicas de Viabilidad	Autor
Pulmón	A549	2.02 ± 0.23 Epirubicina (24-48 h)	CellTiter-Blue	Kong <i>et al.</i> , 2020
		1.24 ± 0.23 Epirubicina y dioscina, radio molar 1:1 (24-48 h)		
		2.32 ± 0.07 Liposomas de epirubicina		
		1.96 ± 0.18 Liposomas de co-administración de epirubicina y dioscina (24-48 h)		
		1.06 ± 0.08 Liposomas de co-administración modificados con RPV con epirubicina y dioscina (24-48 h)		
	A549	0.038 ± 0.002 Vinorelbina (48 h)	CCK-8	Kong <i>et al.</i> , 2020
		0.0023 ± 0.002 Vinorelbina y dioscina, radio molar 1:50 (48 h)		
		0.050 ± 0.011 Liposomas de vinorelbina (48 h)		
0.031 ± 0.005 Liposomas de vinorelbina con dioscina (48 h)				

		0.014 ± 0.001 Liposomas de vinorelbina con dioscina modificados con CPP (48 h)		
		0.006 ± 0.002 Liposomas de vinorelbina con dioscina modificados con CPP y enzimas MMP2 (48 h)		
Leucemia	K562	3.8 ± 0.8 Co-incubación con adriamicina y dioscina (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2013
		3.4 ± 0.8 Co-incubación con adriamicina y dioscina + ADR (48 h)		
	K562/ADR	42.4 ± 2.6 Co-incubación con adriamicina y dioscina (48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2013
		2.4 ± 0.1 Co-incubación con adriamicina y dioscina + adriamicina (48 h)		
Mama	MCF-7	6.5 ± 0.4 Dioscina (24-48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2016
		1.5 ± 0.1 Co-incubación con adriamicina y dioscina (24 h)		
		0.4 ± 0.1 Co-incubación con adriamicina y dioscina + ADR (24 h)		
	MCF-7/ADR	7.3 ± 0.2 Dioscina (24-48 h)	MTT	Wang <i>et al.</i> , 2016
		34.7 ± 1.1 Co-incubación con adriamicina y dioscina (24 h)		
		0.7 ± 0.1 Co-incubación con adriamicina y dioscina + ADR (24 h)		
	MCF-7	15.40 ± 3.56 Dioscina (24 h)	MTT	Zhao <i>et al.</i> , 2017
		3.37 ± 1.33 Micelas con dioscina (24 h)		
	4T1	1.38 Dioscina (48 h)	CCK-8	Wang <i>et al.</i> , 2022
6.43 Dioscina con nanofibras de colesterol (48 h)				
Ovario	A2780s	4.72 ± 1.01 Dioscina (24 h)	MTT	Zhao <i>et al.</i> , 2017
		2.78 ± 0.52		

6.3 Acción de la dioscina en modelos *In Vivo*

Los investigadores emplearon ratas o ratones, a los cuales se les administraron dosis terapéuticas que van desde los 0.56 mg/kg/día hasta los 125.14 mg/kg/día. El tiempo total de administración de las dosis terapéuticas de la dioscina osciló entre los 4 y 50 días de tratamiento. Por lo que, al calcularse medidas de tendencia central sobre estos datos, se obtuvo que el valor de la **mediana** de las dosis terapéuticas es de 12.43 mg/kg. En el caso del tiempo total de tratamiento, se obtiene una **media** 14.32 días. En comparación con otros tipos de administración, la inyección en el peritoneo fue la vía de administración más utilizada en los estudios, seguida de la oral.

Valor mínimo de dosis terapéutica	Valor máximo de dosis terapéutica	Mediana de dosis terapéuticas	Número de datos	Media de tiempo de tratamiento	Número de datos
0.56 mg/kg/día	125.14 mg/kg/día	12.43 mg/kg	61	14.32 días	31

Desafortunadamente, la mayoría de las investigaciones no fueron consistentes con el reporte de métricas como las tasas de inhibición tumoral (porcentaje de disminución del volumen o del peso del tumor), por lo que la escasez de datos no permitió obtener medidas de tendencia central para evaluar la efectividad *In Vivo* de la dioscina. El mismo caso se presenta con respecto a la falta de registros acerca de los posibles daños que pueda ejercer la dioscina en los órganos de los modelos experimentales.

Lv y colaboradores administraron oralmente 30 mg/kg de dioscina diariamente durante 50 días a ratas macho *Sprague-Dawley* inoculadas con células C6 de glioblastoma. Reportaron sus hallazgos como porcentajes de inhibición del peso en los días 15, 20 y 25 con valores de 25.12%, 36% y 60.05% respectivamente. El tiempo promedio de supervivencia de las ratas en el grupo tratado con el compuesto fue de 49.97 días en comparación con los 31.5 días del grupo control. No reportaron ningún efecto adverso sobre los animales (Lv *et al.*, 2013).

Kou y colegas inocularon ratones hembra de la cepa C57BL/6 con células de melanoma B16. Establecieron ensayos de metástasis experimental donde inocularon células tumorales vía intravenosa y ensayos de metástasis espontánea donde inocularon células vía subcutánea en los animales. Administraron dosis terapéuticas de 30 y 60 mg/kg por vía oral durante 18 días seguidos y evaluaron el porcentaje de inhibición en el número de nódulos metastásicos. En los ensayos de metástasis experimental las dosis de 30 y 60 mg/kg redujeron dramáticamente el número de nódulos metastásicos con porcentajes de $36.36 \pm 2.02\%$ y $70.13 \pm 1.67\%$, respectivamente. En los ensayos de metástasis espontánea obtuvieron un porcentaje de inhibición de $34.62 \pm 3.02\%$ y $60.88 \pm 1.67\%$ para las dosis de 30 y

60 mg/kg, respectivamente. Cuando los tumores alcanzaron un tamaño de 1,000 mm^3 estos se removieron y continuaron administrando dioscina por otros 30 días. Al final del experimento, se colectaron tejidos pulmonares y muestras de sangre para sus análisis. No se reportó toxicidad para ninguna de las dosis terapéuticas empleadas (Kou *et al.*, 2017).

Xiao y coautores emplearon ratones macho y hembra C57BL/6J inoculados subcutáneamente con células B16. Administraron intraperitonealmente 100 mg/kg de GCV (Ganciclovir), 50 mg/kg de dioscina y 50 mg/kg de dioscina combinada con GCV durante 14 días consecutivos. Registraron tasas de inhibición tumoral en términos de volumen y peso de los tumores extraídos de los ratones. El GCV indujo una inhibición del 33.00% en el volumen del tumor y 37.46% para el peso. La dosis de dioscina indujo una inhibición en el volumen de 47.03% y de 39.24% en el peso; por otra parte, la dosis de dioscina combinada con GCV indujo tasas de inhibición de volumen y peso de 69.95% y 58.70%, respectivamente. No se reportaron efectos adversos para ninguna de las formulaciones (Xiao *et al.*, 2017).

Liu y colaboradores inocularon células B16F10 en ratones macho de la cepa C57/BL6. Administraron diariamente 5 y 10 mg/kg de fármaco por vía intraperitoneal en un período de 14 días. Reportaron que, durante el tratamiento, la dioscina disminuyó significativamente el volumen tumoral desde el día 6. Después de 14 días de tratamiento, el promedio del volumen y peso tumorales del grupo tratado con 5 mg/kg de dioscina fue de 26.3% y, respectivamente; por otro lado, el promedio del volumen y peso tumorales del grupo tratado con 10 mg/kg fue de 16.1% y 17.8% respectivamente, esto en comparación con el grupo control. Los autores reportaron algunos efectos adversos en los grupos administrados con altas dosis de dioscina: reducción en actividades motoras, pérdida significativa de peso y ligero daño en las mucosas del tracto gastrointestinal según las necropsias (Liu *et al.*, 2022).

Liu y colegas inocularon subcutáneamente células 143B en ratones hembra desnudos, no especificaron la cepa. Administraron diariamente 60 mg/kg de dioscina y 6 mg/kg de ADM (Adriamicina) vía oral durante 23 días. La adriamicina fue empleada como control positivo. Reportaron sus hallazgos como el promedio del volumen tumoral en milímetros cúbicos (mm^3) para los grupos control, dioscina y ADM. Al emplearse la fórmula anteriormente mencionada en la metodología, se obtuvieron las tasas de inhibición del volumen (60.26%) y peso (66.14%) del tumor para los grupos tratados con ADM. En contraste, la dioscina tuvo mayores efectos inhibitorios sobre estos dos aspectos, obteniéndose tasas de inhibición de 73.06% en el volumen tumoral y 78.30% en el peso. Los autores señalaron que la dioscina podría ser un tratamiento más efectivo que la adriamicina para tratar osteosarcomas; no reportaron ningún efecto adverso sobre la salud de los animales (Liu *et al.*, 2018).

Shuli y coautores realizaron ensayos de xenoinjerto con células LA795 en ratones macho y hembra de la cepa T739. Se les administró una mezcla de polifilina D, formosanina C, dioscina, pars H, PRRG y paris VII en una concentración de 44 mg/kg/10ml por vía oral y a otro grupo se le administró ciclofosfamida (CTX) (20 mg/kg/10 ml) por vía intraperitoneal durante 14 días consecutivos. Reportaron una

tasa de inhibición del peso del tumor del 54.97% para el grupo tratado con CTX, mientras que para el grupo tratado con la mezcla fue del 33.82%. Los investigadores señalaron que esta última no sólo redujo el volumen del tumor, si no que logró retrasar el crecimiento de las masas tumorales en comparación con el grupo control. La administración de la mezcla no tuvo efectos sobre el peso del bazo de los ratones T739, mientras que el tratamiento con CTX pareció ejercer cierto daño a este órgano (Shuli *et al.*, 2011).

Zhang y colaboradores inocularon ratones desnudos con células Bel-7402 no especificaron la cepa de los ratones. Administraron dioscina en dosis de 6, 12 y 24 mg/kg al día por vía intraperitoneal durante 10 días seguidos. La dosis de 6 mg/kg reportó una tasa de inhibición tumoral en términos tanto de volumen y peso del 49.51%, para la dosis de 12 mg/kg fue de 79.50% y para 24 mg/kg fue de 86.68%. Los autores no reportaron ningún daño sobre los animales de investigación (Zhang *et al.*, 2016).

Wang y colegas realizaron ensayos de xenoinjerto con células H22 en ratones hembra de la cepa Kunming. Mediante la vía intraperitoneal, administraron durante 7 días consecutivos una mezcla de polifilina D, formosanina C, dioscina, diosgenina-3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido, paris saponina H, penogenina-3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopiranosido, pariposido A y crustecdisona. Las dosis que emplearon de 0.56, 1.13 y 2.25 mg/kg al día indujeron tasas de inhibición del peso del 18.9%, 14.9% y 42.6%, respectivamente. Los autores evaluaron la toxicidad de las muestras y obtuvieron las siguientes tasas de inhibición para la dosis más alta de las saponinas totales: 26.0% en el peso total, 17.3% en el peso del hígado y 80.3% en el peso del timo. Para el riñón y el bazo no hubo efectos inhibitorios evidentes para las demás dosis, en contraste, la dosis alta incrementó el coeficiente del riñón en 12% y la dosis media incrementó el coeficiente del bazo en 36.6%. Mientras tanto, las tasas de inhibición del cisplatino para el peso total, el peso del hígado, el peso del bazo y timo fueron de 23.9%, 16.4%, 59.4% y 53.7%, respectivamente. Sugirieron que estos resultados indican que las saponinas totales tuvieron un efecto inhibitorio más débil en el bazo de los ratones, mientras que su efecto fue más potente en los timos en comparación con el cisplatino mediante administración intraperitoneal (Wang *et al.*, 2018).

Mao y coautores utilizaron ratones BALB/c macho como modelo de xenoinjerto con células HepG2 y SMMC7721, el compuesto 5-FU fue el control positivo. Administraron vía oral dosis terapéuticas de dioscina de 20, 40 y 80 mg/kg al día en un período de 27 días consecutivos. Los volúmenes en el grupo tratado con la dosis más alta de dioscina y el grupo tratado con 5-FU fueron disminuidos al 75.1% y 36.3% en los ratones trasplantados con células SMMC7721 y disminuyó 70.3% y 35.0% en los ratones trasplantados con células HepG2, respectivamente. El peso de los tumores también disminuyó significativamente. Aunque no reportaron efectos adversos de los tratamientos sobre los modelos de xenoinjerto, los pesos totales de las ratas a las que se les indujo cáncer de hígado mediante el compuesto DEN fueron más bajos que aquellas en el grupo control. Sin embargo, la dioscina previno

significativamente la disminución en los pesos totales desde la semana 12 a la 18, en comparación con el grupo control (Mao *et al.*, 2019).

Tong y colaboradores inocularon células C26 en ratones macho de la cepa BALB/c. Al alcanzar los 100 mm^3 de volumen se les administró dioscina una vez al día en un período de 3 semanas. La administración oral de las dosis de 30 y 60 mg/kg resultó en la reducción del crecimiento tumoral en un 47% y 57%, respectivamente, en comparación con el grupo control. No reportaron efectos adversos sobre el comportamiento, peso corporal total, pelaje, hígado ni en otros órganos de los animales (Tong *et al.*, 2014).

Wang y colegas realizaron ensayos con células 4T1 en ratones hembra de la cepa BALB/c. Los trataron con dosis de 5 y 10 mg/kg de nanofibras pegiladas de dioscina (Dio NFs/PEG) cada dos días vía intravenosa en un período de 11 días a través de la vena de la cola. Mencionaron que, en experimentos preliminares, encontraron la solución de 2 mg/kg de dioscina como causa de extrema irritación o ulceración de la cola y alta letalidad en los ratones después de sólo dos inyecciones. Para el día 11, el volumen promedio de la masa tumoral del grupo tratado con 10 mg/kg fue de 434.2 mm^3 , que es significativamente menor al promedio 1172.5 mm^3 del grupo control negativo. Al utilizarse la ecuación anteriormente mencionada para obtener tasas de inhibición, se obtuvo un valor de 63% de inhibición del volumen del tumor. Mencionan que, el peso final del tumor fue consistente con los resultados del volumen, de los cuales la dosis alta y baja indujeron tasas de inhibición de 39% y 61%, respectivamente. Concluyen que las nanofibras pegiladas de dioscina no provocaron irritación en comparación con la dioscina libre (Wang *et al.*, 2022).

Tabla 6. Acción de la dioscina en modelos In Vivo

Acción de la dioscina en modelos <i>In Vivo</i>							
Tipo de Cáncer	Línea Celular	Características del modelo	Tipo y tiempo de administración	Dosis terapéutica (mg/kg)	(%) de Inhibición tumoral	Signos de toxicidad	Autor
Glioblastoma	C6	Sprague-Dawley Ratas macho	Oral (50 días)	30 al día	Inhibición del peso 25.12% (día 15)	Ninguno	Lv <i>et al.</i> , 2013
					36% (día 20)		
					60.05% (día 25)		
Melanoma	Mel2	NCr nu/nu Ratones hembra atómicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002
	B16	C57BL/6 Ratones hembra (Edad 6–8 semanas)	Oral (18 días) *Ensayo de metástasis experimental	30 al día	*Inhibición en el número de nódulos metastásicos 36.36 ± 2.02%	Ninguno	Kou <i>et al.</i> , 2017
				60 al día	70.13 ± 1.67%		
	B16	C57BL/6 Ratones hembra (Edad 6–8 semanas)	Oral (18 días) *Ensayo de metástasis espontánea	30 al día	*Inhibición en el número de nódulos metastásicos 34.62 ± 3.02%	Ninguno	Kou <i>et al.</i> , 2017
				60 al día	60.88 ± 1.67%		
	B16	C57BL/6J Ratones macho y hembra	Intraperitoneal (14 días)	50 al día	Inhibición 47.03% (Volumen) 39.24% (Peso)	Ninguno	Xiao <i>et al.</i> , 2017
				50 al día	69.95% (Volumen)		

				*Mezcla de GCV y dioscina	58.70% (Peso)		
	B16F10	C57/BL6 Ratones macho (Edad 6 semanas)	Intraperitoneal (14 días)	5 al día	*Sólo especifican los promedios 26.3% (Volumen) 29.4% (Peso)	Ninguno	Liu <i>et al.</i> , 2022
				10 al día	16.1% (Volumen) 17.8% (Peso)	Reducción de actividades motoras Pérdida de peso significativa Ligero daño en las mucosas del tracto gastrointestinal	
Linfoma	P-388	NCr nu/nu Ratones hembra atómicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002
Osteosarcoma	143B	Ratones desnudos hembra (Edad 4 semanas)	Oral (23 días)	60 al día	Inhibición 73.06% (Volumen) 78.30 (Peso)	Ninguno	Liu <i>et al.</i> , 2018
	MNNG/ HOS	BALB/c Ratones hembra (Edad 4-5 semanas)	Peritumoral (15 días)	12 cada 3 días 24 cada 3 días	Sin especificar	Ninguno	Ding <i>et al.</i> , 2020
Pulmón	Lu1	NCr nu/nu Ratones hembra atómicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002
	LA795	T739 Ratones macho y hembra	Oral (14 días) *Mezcla de polifilina D, formosantina C, dioscina, pars H, PRRG y paris VII	44 mg/kg/10 mL al día	Inhibición del peso 33.82%	Ninguno	Shuli <i>et al.</i> , 2011

	A549	BALB/c Ratones macho	Intravenosa (12 días)	8 cada 2 días	Sin especificar	Ninguno	Wang <i>et al.</i> , 2019
	3LL	C57BL/6 Ratones macho (Edad 6-8 semanas)	Oral (17 días)	30 al día 60 al día	Sin especificar	Ninguno	Cui <i>et al.</i> , 2020
	3LL	C57BL/6 Ratones macho (Edad 6-8 semanas)	Intraperitoneal (22 días)	60 al día	Sin especificar	Ninguno	Cui <i>et al.</i> , 2020
	3LL	C57BL/6 Ratones macho (Edad 6-8 semanas)	Intraperitoneal (24 días) *Mezcla de dioscina con liposomas de clodronato	10 al día 5 cada 4 días	Sin especificar	Ninguno	Cui <i>et al.</i> , 2020
	A549	BALB/c Ratones	Intravenosa (4 días) *Mezcla de 7.5 mg/kg de dioscina y 0.4 mg/kg vinorelbina	7.9 al día	Sin especificar	Ninguno	Kong <i>et al.</i> , 2020
	NCI- H520	BALB/c Ratones hembra (Edad 3-4 semanas)	Oral (12 días)	80 al día	Sin especificar	Ninguno	Yao <i>et al.</i> , 2020
Páncreas	AsPC-1 PANC-1	BALB/c Ratones (Edad 4-6 semanas)	Oral (26 días)	40 al día 80 al día	Sin especificar	Ninguno	Si <i>et al.</i> , 2017
Vesícula Biliar	NOZ	Ratones Macho desnudos (Edad 4-6 semanas)	(25 días)	5 cada 2 días 10 cada 2 días	Sin especificar	Ninguno	Song <i>et al.</i> , 2017
Hígado	Bel- 7402	Ratones desnudos	Intraperitoneal (10 días)	6 al día	Tasas de inhibición general (Volumen y peso) 49.51%	Ninguno	Zhang <i>et al.</i> , 2016
				12 al día			

				24 al día	86.68%		
	H22	Kunming Ratones hembra	Intraperitoneal (7 días) *Mezcla de polifilina D, formosana C, dioscina , diosgenina-3-O- α -L- ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosido, paris saponina H, penogenina-3-O- α -L- ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- [α -L-ramnopiranosil- (1 \rightarrow 4)]- β -D-glu copiranosido, pariposido A y crustecdisona	0.56 al día	Inhibición del peso 18.9%	26% pérdida de peso total 17.3% pérdida de peso del hígado 80% pérdida de peso del timo 12% aumento de peso del riñón 36.6% aumento de peso del bazo	Wang <i>et al.</i> , 2018
				1.13 al día	14.9%		
				2.25 al día	42.6%		
	HepG2	BALB/c Ratones macho (Edad 4 semanas)	Oral (27 días)	20 al día	Inhibición del volumen --	Ninguno	Mao <i>et al.</i> , 2019
				40 al día	--		
				80 al día	70.3%		
	SMMC7 721	BALB/c Ratones macho (Edad 4 semanas)	Oral (27 días)	80 al día	Inhibición del volumen 75.1%	Ninguno	Mao <i>et al.</i> , 2019
	Colorrectal	C26	BALB/c Ratones macho (Edad 4-6 semanas)	Oral (21 días)	30 al día	Inhibición del crecimiento 47%	Ninguno
60 al día					57%		

Mama	MCF-7	NCr nu/nu Ratones hembra atímicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002
	4T1	BALB/c Ratones hembra (Edad 7-8 semanas)	Intravenosa (11 días)	2 cada 2 días	Sin especificar	Irritación Úlceras Alta letalidad	Wang <i>et al.</i> , 2022
	4T1	BALB/c Ratones hembra (Edad 7-8 semanas)	Intravenosa (11 días) *Nanofibras pegiladas de dioscina	5 cada 2 días	Inhibición del peso 39%	Ninguno	Wang <i>et al.</i> , 2022
				10 cada 2 días	Inhibición del Volumen 63%		
Cérvix	KB	NCr nu/nu Ratones hembra atímicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002
	KB	NCr nu/nu Ratones hembra atímicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	49.97 al día 125.14 al día	Sin especificar	Alta letalidad	Mi <i>et al.</i> , 2002
Ovario	SW626	NCr nu/nu Ratones hembra atímicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002
Próstata	LNCaP	NCr nu/nu Ratones hembra atímicos (Edad 5-6 semanas)	Intraperitoneal (4 días)	6.20 al día 12.43 al día 24.77 al día	Sin especificar	Ligero decremento e incremento de peso total	Mi <i>et al.</i> , 2002

6.4 Acción de la dioscina sobre el ciclo celular

En prácticamente todas las investigaciones, se describe una influencia de este compuesto sobre el ciclo celular de manera dosis y tiempo dependiente. Es decir, el efecto antitumoral de la dioscina fue mayor conforme aumentaron la concentración y el tiempo de estimulación. De este modo, la Tabla 7 se enfocó en ilustrar las dosis de dioscina empleadas, las técnicas y tinciones con las que se obtuvieron los resultados y finalmente, los cambios registrados en el ciclo celular según cada tipo de cáncer.

Se obtuvieron datos a partir de ensayos de citometría de flujo con células de glioblastoma, cáncer oral, cáncer de laringe, esófago, pulmón, leucemia, osteosarcoma, estómago, hígado, colorrectal y riñón desde el año 2002 hasta el año 2021. Los autores reportaron sus hallazgos como el porcentaje de incremento o decremento de poblaciones celulares según la fase celular. En la mayoría de las investigaciones, determinaron la fase en la que ocurrió la detención del ciclo celular, en otros artículos sólo mencionaron brevemente si hubo cambios o no en la población celular de la fase que denominaron sub-G1, sin especificar porcentajes.

Se describieron detenciones del ciclo celular en las fases G0/G1, G1/S, S y G2/M, de las cuales predominó la última como resultado de los tratamientos con dioscina. Los ensayos In Vitro se realizaron con concentraciones desde 0.5 μM a 287.67 μM en un período de 6 a 72 horas. Cabe destacar que, en todos los casos los efectos sobre el ciclo celular se hicieron más significativos conforme aumentaba la dosis de dioscina.

Tabla 7. Acción de la dioscina sobre el ciclo celular del cáncer

Acción de la dioscina sobre el ciclo celular del cáncer						
Tipo de cáncer	Línea celular	Dioscina (µM) y tiempo de exposición	Tinción empleada en la citometría de flujo	Datos sobre ciclo celular		Autor
Glioblastoma	C6	1.44 2.88 5.75 (24-72 h)	PI RNasa A	Decremento de células en fase G0/G1 Incremento de células en fase S Incremento de células en fase sub-G1 (% sin especificar)	Detención en fase S	Lv <i>et al.</i> , 2013
Oral	HSC-3	11.51 23.01 34.52 46.03 57.53 (24 h)	PI RNasa libre de DNasa	Sin cambios significativos en fase sub-G1 y fase S (% sin especificar)		Chien <i>et al.</i> , 2012
	SCC15	0.5 1 2 (24 h)	PI RNasa	Decremento de células en fase G2/M 5.663±0.350% con 0.5 µM 1.816±0.304% con 1 µM 0.5667±0.173% con 2 µM Incremento de células en fase G0/G1 69.740±1.3960% con 1 µM 74.200±0.305% con 2 µM		Tian <i>et al.</i> , 2021
Laringe	HEp-2 TU212	1.44 2.88 5.75 (24 h)	PI RNasa A	Decremento de células en fase G0/G1 61.38% a 35.43% Incremento de células en fase S 30.62% a 59.77%	Detención en fase S	Si <i>et al.</i> , 2016

Esófago	Kyse510	0.5 1 2.5 5 10 15 20 (12 h)	Sin especificar	<p>Decremento de células en fase S (46.53% Control) (31.23% Dioscina)</p> <p>Decremento de células en fase G2/M (11.20% Control) (8.79% Dioscina)</p> <p>Incremento de células en fase G0/G1 (42.27% Control) (54.38% Dioscina)</p>	Detención en fase G1/S	Wang <i>et al.</i> , 2012
	Kyse510	0.5 1 2.5 5 10 15 20 (24 h)	Sin especificar	<p>Decremento de células en fase S (46.53% Control) (19.32% Dioscina)</p> <p>Decremento de células en fase G2/M (11.20% Control) (4.64% Dioscina)</p> <p>Incremento de células en fase G0/G1 (42.27% Control) (70.05% Dioscina)</p>	Detención en fase G1/S	Wang <i>et al.</i> , 2012
	Kyse510	0.5 1 2.5 5 10 15 20 (48 h)	Sin especificar	<p>Decremento de células en fase S (46.53% Control) (12.11% Dioscina)</p> <p>Decremento de células en fase G2/M (11.20% Control) (3.96% Dioscina)</p> <p>Incremento de células en fase G0/G1 (42.27% Control) (75.83% Dioscina)</p>	Detención en fase G1/S	Wang <i>et al.</i> , 2012

Pulmón	A549 H1299	1.25 2.5 5 (24 h)	PI	Incremento de células en fase sub-G1 (% sin especificar)		Hsieh <i>et al.</i> , 2013
	A549	5.75 (48 h)	PI	Decremento de células en fase G1 (86.79% Control) (68.59% Dioscina)	Detención en fase S	Wei <i>et al.</i> , 2013
				Incremento de células en fase S (11.57 ± 1.09% Control) (25.60 ± 3.21% Dioscina)		
	NCI-H446	5.75 (48 h)	PI	Decremento de células en fase G1 (68.17% Control) (58.07% Dioscina)	Detención en fase S	Wei <i>et al.</i> , 2013
			Incremento de células en fase S (26.21 ± 3.32% Control) (33.93 ± 3.5% Dioscina)			
	NCI-H460	5.75 (48 h)	PI	Decremento de células en fase G1 (69.49% Control) (50.15% Dioscina)	Detención en fase S	Wei <i>et al.</i> , 2013
				Incremento de células en fase S (24.5 ± 2.45% Control) (45.84 ± 2.56% Dioscina)		
Leucemia	K562	10 (24-96 h)	RNasa A PI	Decremento de células en fase G2/M e incremento de células en fase sub-G1 (En el período de 36 a 96 h)	Detención en fase G2/M	Liu <i>et al.</i> , 2004
				Incremento de células en fase G2/M (En el período de 24 h)		

	HL-60	0.32 0.63 1.25 2.5 5 (24 h)	PI	Incremento de células en fase sub-G1 (% sin especificar)		Chan <i>et al.</i> , 2018	
Osteosarcoma	U2OS	2.5 (24 h)	PI	Decremento de células en fase S (50.43% Control) (36.18% Dioscina)	Detención en fase G2/M	Liu <i>et al.</i> , 2018	
	143B	2.5 (24 h)	PI	Incremento de células en fase G2 (13.36% Control) (25.43% Dioscina)			
	MNNG/HOS MG63 U2OS	2 2.5 4 5 (24 h)	Annexin V/PI	Decremento de células en fase S (35.79% Control) (23.11% Dioscina)	Incremento de células en fase G2 (11.01% Control) (21.53% Dioscina)	Detención en fase G2/M	Ding <i>et al.</i> , 2020
Estómago	SGC-7901	11.51 (24 h)	PI NP-40 RNasa A	Incremento de células en fase G2/M 24.48% ± 1.62%	Decremento de células en fase G1 43.58% ± 1.79%	Detención en la fase G2/M	Gao <i>et al.</i> , 2011

	SGC-7901	57.53 (24 h)	PI NP-40 RNasa A	Incremento de células en fase G2/M 33.00% ± 3.16% Decremento de células en fase G1 49.58% ± 1.79%	Detención en la fase G2/M	<i>Gao et al.</i> , 2011
	SGC-7901	287.67 (24 h)	PI NP-40 RNasa A	Incremento de células en fase G2/M 38.32% ± 3.90% Decremento de células en fase G1 45.58% ± 1.79%,	Detención en la fase G2/M	<i>Gao et al.</i> , 2011
Hígado	HepG2	3 6 9 (24 h)	PI	Incremento de células en fase G2/M (23.20% para 3 µM) (24.51% para 6 µM) (29.77% para 9 µM)	Detención en la fase G2/M	<i>Zhang et al.</i> , 2018
Colorrectal	HT-29	5 (24 h)	RNasa PI	Decremento de células en fase G1 (% sin especificar) Incremento de células en fase sub-G1 (2.0% 0 h) (94.0% 24 h)		<i>Yum et al.</i> , 2010
	HCT-116	5.75 (48 h)	PI RNasa	Fase G0/G1 Decremento de 64.32% a 12% Fase S Decremento de 28.45% a 15.01% Fase G2/M Incremento de 7.23% a 72.99%	Detención en la fase G2/M	<i>Chen et al.</i> , 2014

Riñón	Caki	1.15 3.45 5.75 8.05 9.78 11.51 23.01 (24 h)	PI RNasa	Incremento de células en fase sub-G1 (% sin especificar)	Kim <i>et al.</i> , 2012
Mama	MDA-MB-231 MDA-MB-453 T47D	1.15 2.30 4.60 9.21 (12 h)	PI RNasa	Incremento de células en fase sub-G1 (% sin especificar)	Kim <i>et al.</i> , 2014
	MDA-MB-231	2.5 5 10 (24 h)	PI RNasa A	Detención en fase G2/M (% sin especificar)	Chae <i>et al.</i> , 2021
	MCF-7	2.5 5 10 (24 h)	PI RNasa A	Detención en fase G0/G1 (% sin especificar)	Chae <i>et al.</i> , 2021
Cérvix	HeLa	5 (6-48 h)	PI RNasa A	Incremento de células en fase sub-G1 (% sin especificar)	Cai <i>et al.</i> , 2002
Endometrio	Ishikawa	1 2 3 (12-24 h)	PI	Incremento de células en fase G0/G1 (48.47% Control) (49.55% 1 µM) (51.25% 2 µM) (56.51% 3 µM) Decremento de células en fase S y G2/M (% sin especificar)	Detención en fase G0/G1 Li <i>et al.</i> , 2021

6.5 Acción de la dioscina sobre la regulación de proteínas en el cáncer

La tabla siguiente describe los resultados obtenidos con respecto al estado de sobreexpresión o subexpresión de determinadas proteínas evaluadas en células tumorales durante los tratamientos con dioscina. Las investigaciones consideraron medir la expresión de proteínas como las caspasas, proteínas de la familia Bcl-2, familia TNF, familia TGF- β , familia Snail, ciclinas, metaloproteinasas, MAP cinasas, cadherinas, citocromo C, citocinas, polimerasas, vimentinas, proteínas supresoras de tumores, proteínas reguladoras de la autofagia y proteínas de resistencia a multidroga.

En la mayoría de los casos se empleó la técnica de *Western Blot*, sin embargo, en algunos artículos científicos también se consideró evaluar la expresión de proteínas a nivel de mRNA mediante técnicas de qRT-PCR. Emplearon concentraciones de dioscina desde 0.5 μ M hasta 287.67 μ M, en un período de 1 a 72 h en los ensayos In Vitro. En total, se contó con 417 registros sobre las proteínas evaluadas en líneas celulares de cáncer tratadas con dioscina que datan del año 2004 hasta el 2022 (ver Tabla 8).

Tabla 8. La dioscina altera el estado de regulación de diversas proteínas en el cáncer.

Acción de la dioscina sobre la regulación de proteínas en el cáncer						
Tipo de Cáncer	Línea Celular	Dioscina (µM) y tiempo de exposición	Técnicas empleadas	Estado de regulación	Proteínas	Autor
Glioblastoma	C6	1.44 2.88 5.75 (24-72 h)	Western Blot SDS-PAGE Kits de actividad de Cas-3 y -9	Positivo	Bak Bax Bid c-PARP p53 Cas-3 Cas-9	Lv <i>et al.</i> , 2013
				Negativo	CDK2 CyclinA DNA Topo I Bcl-2 Bcl-xl	
Oral	HSC-3	11.51 23.01 34.52 46.03 57.53 (24 h)	Western Blot Zimografía	Positivo	TIMP-2	Chin <i>et al.</i> , 2012
				Negativo	MMP-2 MMP-9	
	SCC15	0.5 1 2 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p-LATS (Ser909) p-MST p-YAP (Ser397) Bax RASSF1A	Tian <i>et al.</i> , 2021
Negativo	YAP CyclinD1 Bcl-2					
Laringe	HEp-2 TU212	1.44 2.88 5.75	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p53 p-JNK p-p38	Si <i>et al.</i> , 2016

		(24 h)			Bax c-Cas-3 c-Cas-9 CytoC	
				Negativo	CDK2 CyclinA MMP-2 MMP-9 p-ERK1/2 Bcl-2	
Esófago	Kyse510	5.4 (12-24 h)	Western Blot	Positivo	c-Cas-3 c-Cas-9 CytoC Bax	Wang <i>et al.</i> , 2012
				Negativo	Bcl-2	
Pulmón	A549 H1299	1.25 2.5 5 (24 h)	Western Blot	Positivo	LC3-II Beclin-1 ERK1/2 JNK1/2	Hsieh <i>et al.</i> , 2013
				Negativo	Bcl-2 PI3K p-AKT p-mTOR	
	A549 NCI-H460 NCI-H446	2.88 5.75 11.51 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE Kit de ensayo de Caspasas	Positivo	Cas-3 Cas-9 Bax Bak Bid	Wei <i>et al.</i> , 2013
				Negativo	Bcl-2 Bcl-xl	
A549	2.5 3 (2 h)	Western Blot qRT-PCR	Positivo	E-cadherin	Lim <i>et al.</i> , 2017	
			Negativo	N-cadherin SNAI2		

					Vimentin Smad2 TGF- β TGF β R1 SNAIL MMP-2 MMP-9 p-Smad2 p-p38	
	CL97 H1975 H1650 PC9GR	1 5 (5 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	c-Cas-3 p53	Wang <i>et al.</i> , 2018
				Negativo	SHP2 p-AKT p-ERK	
	A549 H1299	1 2 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	E-cadherin claudin-1 ZO-1	Mao <i>et al.</i> , 2020
				Negativo	N-cadherin Vimentin MMP-9 b-catenin ZEB1 SLUG SNAIL p-AKT p-mTOR p-GSK3b	
	SK-MES-1 NCI-H520	1.25 2.5 5 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	E-cadherin c-Cas-3 c-PARP Bax p-p38 p-HSP27	Yao <i>et al.</i> , 2020
				Negativo	N-cadherin Vimentin Bcl-2	

	A549	1.44 2.88 11.51 (24-72 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cas-3	Xi <i>et al.</i> , 2022
				Negativo	MMP-2 p-AKT PCNA	
	PC-9	0.86 1.73 3.45 (24-72 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cas-3	Xi <i>et al.</i> , 2022
				Negativo	MMP-2 p-AKT PCNA	
Leucemia	HL-60	5 (48 h)	Ensayos colorimétricos y fluorescentes de caspasa ApoAlert®	Positivo	Cas-3 Cas-9	Liu <i>et al.</i> , 2004
	HL-60	7.6 (6-48 h)	Western Blot	Positivo Negativo	p53 Pro-Cas-3 Bcl-2	Wang <i>et al.</i> , 2006
	HL-60	7.6 (3-24 h)	Western Blot Electroforesis 2-DE	Positivo	FasL FADD Cas-8	Wang <i>et al.</i> , 2007
				Negativo	Bid	
	K562/ADR	0.1 0.2 0.3 (0-48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Negativo	MDR1 p-IkB-a	Wang <i>et al.</i> , 2013
	HL-60	7.6 (3-24 h)	Western Blot	Positivo	c-Cas-7 c-Cas-8 c-Cas-9 c-Cas-10 p-p38 p-JNK	Wang <i>et al.</i> , 2014
	HL-60	2 (24 h)	Kit de arreglo de anticuerpos para apoptosis humana Western Blot 2-DGE Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Fas FasL Cas-3 Cas-8 Cas-9 p21 p27	Chan <i>et al.</i> , 2018

					Bax Bad Bid CytoC TNF-a TNF-b cIAP-2 TRAIL NFkB HSP27	
				Negativo	Bcl-2	
	Raw264.7	0.1 1 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Negativo	p-STAT3 p-JNK	Cui <i>et al.</i> , 2020
Osteosarcoma	U2OS	0.625 1.25 2.5 5 (24-48 h)	Western Blot	Positivo	c-PARP	Liu <i>et al.</i> , 2018
				Negativo	Bcl-2 Bcl-xl B-catenin p-AKT (Ser473) p-GSK-3a (Ser21) p-GSK-3b (Ser9) GSK-a KSK-B	
	143B	0.3125 0.625 1.25 2.5 (24-48 h)	Western Blot	Positivo	c-PARP p21	Liu <i>et al.</i> , 2018
				Negativo	Bcl-2 Bcl-xl B-catenin	
	U2OS	5 (24 h)	Western Blot	Positivo	c-PARP Cas-3	Hwang <i>et al.</i> , 2019
MNNG/HOS MG63 U2OS	2 2.5 4 5 (24 h)	Western Blot Inmunofluorescencia	Positivo	p53 p21 p-cdc2 p-ATM Bax	Ding <i>et al.</i> , 2020	

					c-Cas-3 c-Cas-8 c-Cas-9 JNK p-p38 CytoC c-PARP	
				Negativo	Bcl-2	
Estómago	SGC-7901	11.51 57.53 287.67 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	CytoC Cas-3	Gao <i>et al.</i> , 2011
	SGC-7901	0.75 1.50 3 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE Kit de ensayo de caspasa 3 y 8	Positivo	Fas FasL FADD TNF- α TRAF-1 Bax Bak CytoC Cas-3 Cas-8	Hu <i>et al.</i> , 2013
			Negativo	Bcl-2 Bid Pro-Cas-3		
Hígado	HepG2/ADR	2.30 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Negativo	P-glycoprotein	Sun <i>et al.</i> , 2011
	Huh7	1.25 2.5 5 (24 h)	Western Blot	Positivo	CytoC Cas-3 Cas-9 LC3-II Beclin-1 p-ERK1/2	Hsieh <i>et al.</i> , 2012
			Negativo	Bcl-2		

	Bel-7402	1 2.5 5 7.5 10 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	TP53 Bax Cas-3	Zhang <i>et al.</i> , 2016
				Negativo	Bcl-2	
	HepG2	3 6 9 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Bak Cas-3 Cas-9 FasL TNF-R1 p53 p21	Zhang <i>et al.</i> , 2018
				Negativo	Bcl-xl CyclinB1 CDK1 CHK2	
HepG2	0.5 1 2 (24 h)	Western Blot Inmunofluorescencia	Positivo	Connexin-43 ZO-1 Claudin-1 E-cadherin	Chen <i>et al.</i> , 2019	
			Negativo	N-cadherin Vimentin SLUG SNAIL MKK3 p-ERK p-p38 p-JNK		
SMMC7721 HepG2	1.4 2.9 5.8 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p53 c-Cas-3 c-Cas-9 c-PARP Bax LC3 Beclin-1	Mao <i>et al.</i> , 2019	
			Negativo	p-AKT		

					p-mTOR TIGAR	
	HepG2	10 (1-24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	LC3-II p62	Okubo <i>et al.</i> , 2021
Riñón	Caki	3.45 5.75 7.48 9.21 11.51 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Negativo	Bcl-2 Mcl-1 c-FLIPL	Kim <i>et al.</i> , 2012
Páncreas	ASPC-1 PANC-1	1.4 2.9 5.8 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Bax Apaf-1 c-Cas-3 c-Cas-9 c-PARP	Si <i>et al.</i> , 2017
				Negativo	AKT1 Bcl-2	
Colorrectal	HCT-116	1.44 2.88 5.75 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cyc1 ND1 Camk2g	Chen <i>et al.</i> , 2014
				Negativo	Rhoa Ccnb1 Gnaq	
	RKO	1.44 2.88 5.75 (24-48 h)	Western Blot	Positivo	c-Cas-3 c-Cas-9 c-PARP p-JNK p-p38	Li <i>et al.</i> , 2018
	HCT-116 HT29 DLD1 SW620	1 2 5 (24-72 h)	Western Blot SDS-PAGE Kit de ensayo de caspasa 3	Positivo	c-PARP c-Cas-3	Wu <i>et al.</i> , 2020
	Negativo	Hexokinase-2 c-myc				
HCT-116 HT29 SW620	1 2 4 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p27	Zhou <i>et al.</i> , 2020	
Negativo	Skp2 p-AKT HK2					

Vejiga	5637 T24	0.23 1.15 5.75 28.77 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	DAPK-1 RASSF-1a	Zhou <i>et al.</i> , 2017
Vesícula Biliar	NOZ SGC996	2 4 6 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	c-Cas-3 c-Cas-9 c-PARP Bax Bad	Song <i>et al.</i> , 2017
				Negativo	Bcl-2 p-AKT	
Ovario	SKOV3	11.51 57.53 287.67 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cas-3 CytoC	Gao <i>et al.</i> , 2011
	SKOV3	1.25 2.5 5 (48 h)	Kits de actividad de Cas-3 y -9 Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cas-3 Cas-9 Bax c-PARP p-p38	Guo <i>et al.</i> , 2018
				Negativo	PI3K p-AKT VEGFR2	
Mama	MCF-7 MDA-MB- 231	1.15 2.30 5.76 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	GATA3	Aumsuwan <i>et al.</i> , 2014
	MDA-MB- 231	1.15 2.50 4.60 9.21 (9 h)	Western Blot SDS-PAGE	Negativo	Bcl-2 clAP-1 Mcl-1	Kim <i>et al.</i> , 2014

	MDA-MB-231	1.15 2.30 5.76 (72 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	GATA3	Aumsuwan <i>et al.</i> , 2016
	MCF-7/ADR	0.1 0.2 0.4 (24-48 h)	Western Blot	Positivo	LC3-II Beclin-1	Wang <i>et al.</i> , 2016
				Negativo	MDR1 p-IkB-a p-PI3K p-AKT	
	MCF-7	0.1 0.2 0.4 (24-48 h)	Western Blot	Positivo	LC3-II Beclin-1	Wang <i>et al.</i> , 2016
				Negativo	p-PI3K p-AKT	
	MDA-MB-435S	10 (12 h) *Liposoma con dioscina	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cas-3 Bax	Yao <i>et al.</i> , 2020
				Negativo	Bcl-2	
MDA-MB-231	2.5 5 10 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p53 p21 p-p38	Chae <i>et al.</i> , 2021	
			Negativo	cdc2 CyclinB1 p-AKT p-mTOR		
MCF-7	2.5 5 10 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p53 p21 p-p38	Chae <i>et al.</i> , 2021	
			Negativo	CDK4 CDK2 CyclinD CyclinE p-AKT p-mTOR		
Cérvix	HeLa	2 5	Kit de detección de caspasas	Positivo	Cas-3 Cas-9	Cai <i>et al.</i> , 2002

		8 (24 h)	Citometría de flujo con FITC	Negativo	Bcl-2	
	HeLa SiHa	1.44 2.88 5.75 (12-24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Bax Bak Bid p53 Cas-3 Cas-9	Zhao <i>et al.</i> , 2016
				Negativo	Bcl-2 Bcl-xl	
	HeLa CaSki	2 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cas-3 Cas-8 Cas-9	Hernández <i>et al.</i> , 2020
Endometrio	Ishikawa	1 2 3 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p16 p21 p27 Bad Bax Bak PUMA CytoC Fas TNF-R1 c-Cas-8	Li <i>et al.</i> , 2021
				Negativo	CDK2 CDK6 CHK1 CyclinA2 CyclinD1 CyclinE1 Bcl-2 Bcl-xl Apaf-1 PARP Cas-3 Cas-8 Cas-9	

Próstata	LNCaP	1 2 4 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	c-Cas-3 Bax	Chen <i>et al.</i> , 2014
				Negativo	Bcl-2 Procas-3	
	LNCaP-C81	11.51 (24 h)	Western Blot	Positivo	p-SHP1 Cas-3 Bad	He <i>et al.</i> , 2020
				Negativo	p-ERK1/2 p-p38 p-AKT	
Melanoma	B16	1.5 2.5 (96 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p-ERK1 p-ERK2	Nishina <i>et al.</i> , 2015
				Negativo	p-CREB MITF Tyrosinase TRP-1 TRP-2	
	B16	1 2 (48 h)	Western Blot	Positivo	E-cadherin Cx43	Kou <i>et al.</i> , 2017
				Negativo	N-cadherin B-cadherin SNAIL1 Vimentin	
	B16	0.1 0.5 1.2 4 (48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	Cx43 Cx26	Xiao <i>et al.</i> , 2017
				Negativo		
A375 B16F10	0.25 0.50 1 2 (12-48 h)	Western Blot SDS-PAGE	Negativo	p-Src p-STAT3	Liu <i>et al.</i> , 2020	
A431	2.9 5.8 11.6 (24 h)	Western Blot SDS-PAGE	Positivo	p-ATM p53 c-PARP c-Cas-3	Wang <i>et al.</i> , 2021	

					c-Cas-9 Bax	
				Negativo	MMP-2 MMP-9 RHO Cdc42 Bcl-2	

7. Discusión

7.1 La dioscina inhibe la viabilidad celular del cáncer de manera dosis y tiempo dependiente *In Vitro*

En todas las líneas celulares se reportó que la dioscina inhibe la viabilidad celular de manera dosis-dependiente, con una mediana de 3.58 μM , es decir, a partir de esa concentración la dioscina fue capaz de reducir al 50% la población celular tumoral (ver Tabla 4). Sin embargo, el tratamiento resultó ser más efectivo en ciertos tipos de cáncer. El osteosarcoma fue el tipo de cáncer más sensible al tratamiento con dioscina, seguido del melanoma y cáncer de pulmón, con medianas de 1.9 μM , 2.06 μM y 2.72 μM , respectivamente; en tanto que, el cáncer de cérvix, colorrectal, mama, hígado y leucemia arrojaron valores que oscilaron entre 4.4 μM y 6.1 μM de dioscina, indicando un nivel medio de respuesta. Finalmente, el cáncer de estómago requirió una mediana de 10.04 μM de dioscina, siendo este el tipo de cáncer menos sensible al tratamiento (ver Tabla 2 y Figura 6). Diversos autores han demostrado que los efectos antitumorales de la dioscina no sólo dependen de la concentración, si no del tiempo. De modo que, se encontró que la dioscina es más efectiva en dosis altas y períodos prolongados de tratamiento (ver Tabla 3 y Figura 7).

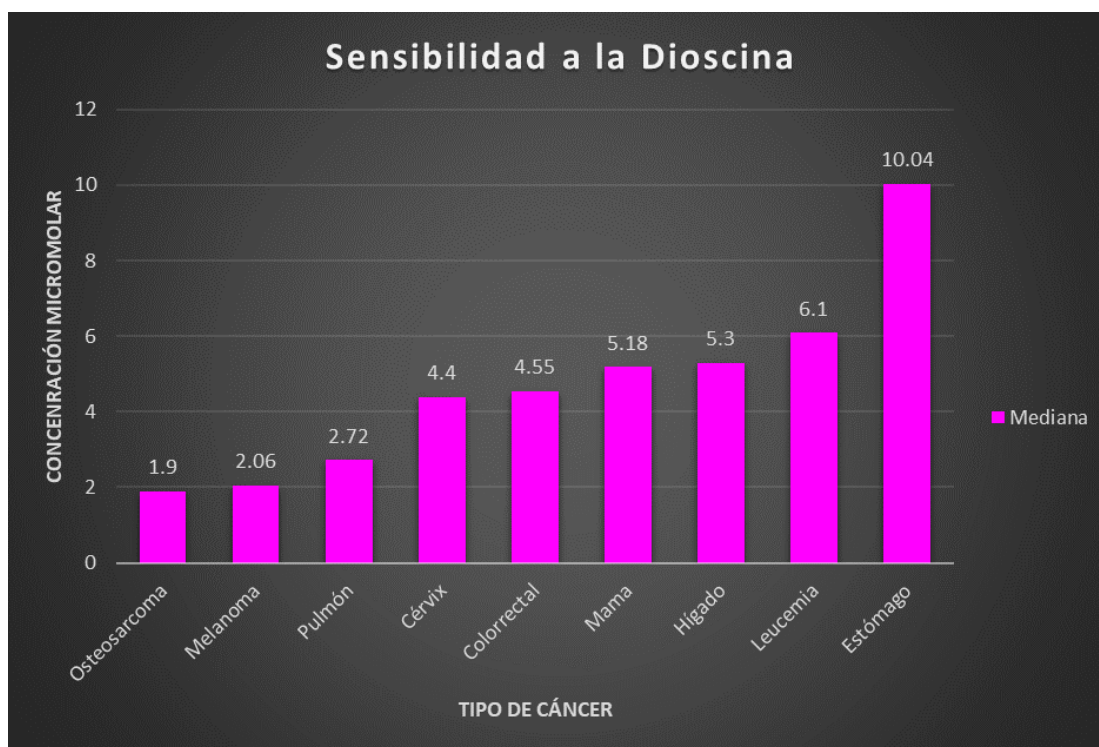


Figura 6. Gráfica que ilustra la sensibilidad que tienen diferentes tipos de cáncer frente a los tratamientos con dioscina *In Vitro*.

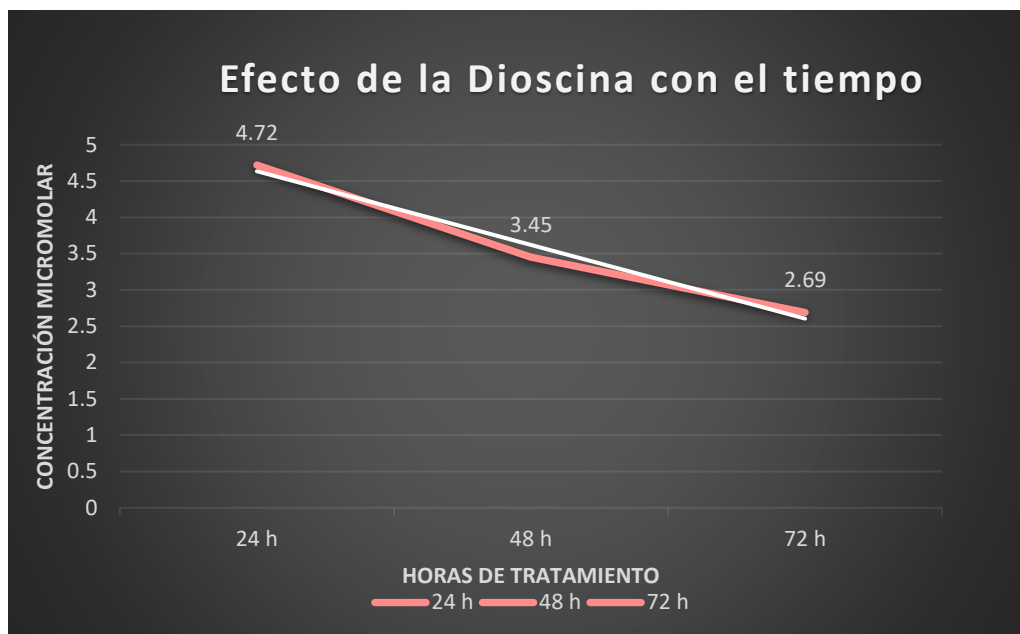


Figura 7. Gráfica que ilustra el efecto de la dioscina sobre la viabilidad celular según el tiempo de tratamiento *In Vitro*.

7.2 La dioscina mejora la actividad antitumoral de otros compuestos *In Vitro*

La dioscina es capaz de potenciar el efecto citotóxico de compuestos como la epirubicina, vinorelbina y adriamicina; esto mediante la reducción de la concentración necesaria para inhibir al 50% la viabilidad celular. Más aún, al agregarse factores como el uso de liposomas (convencionales o modificados), micelas o nanofibras de colesterol, se consigue una mayor acumulación de fármaco en el tumor por el efecto denominado EPR (efecto de permeación y retención aumentada) (ver Tabla 5). Así, se sinergiza significativamente la farmacodinamia y biodistribución de los compuestos en cuestión, mejorando el tratamiento contra las células cancerígenas. Cabe destacar que, los liposomas modificados demostraron tener un mejor efecto terapéutico que las formulaciones con micelas o nanofibras de colesterol. Algunos autores mencionan que podría ser debido a: (i) la adición de materiales hidrofílicos a la formulación con dioscina prolongó la circulación en sangre, ya que se disminuiría la velocidad de absorción por el sistema reticuloendotelial, (ii) la interacción de los péptidos modificados de la superficie liposomal facilitó el transporte de las drogas al interior de las células, (iii) la afinidad de la dioscina por el colesterol, (iv) al emplear dosis terapéuticas menores, se reducen los efectos secundarios adversos a largo plazo de los compuestos mencionados.

7.3 La dioscina reduce el tamaño y volumen de los tumores malignos *In Vivo*

En aproximadamente la mitad de los artículos citados en la Tabla 6 se registraron datos referentes a la inhibición del peso y del volumen. Los autores reportaron las

tasas de inhibición del peso y del volumen según el día que midieron estos parámetros, otros reportaron el porcentaje de inhibición de un solo parámetro, otros sólo mencionaron el promedio del peso y del volumen de los tumores después de los tratamientos con dioscina y otros autores reportaron “tasas de inhibición general” donde no especificaron si era de volumen o peso. Además, varios de estos estudios fueron realizados con dosis terapéuticas provenientes de un extracto de saponinas totales en vez de una preparación exclusivamente de dioscina. Debido a la variabilidad en la manera de exponer los resultados, no fue posible obtener medidas de tendencia central referentes a las tasas de inhibición tumoral referentes al peso y al volumen. Sin embargo, en todas las investigaciones citadas los autores concluyeron que existió una reducción en el volumen y peso de los tumores tanto en ratones como en ratas durante los tratamientos con dioscina. Los hallazgos previos acerca del comportamiento dosis y tiempo dependiente de este compuesto para ejercer sus efectos antitumorales durante los ensayos *In Vitro* fueron consistentes en los ensayos *In Vivo*; los investigadores demostraron que las dosis altas de dioscina y los períodos prolongados de tratamiento fueron más efectivos que las dosis bajas y períodos cortos para reducir significativamente el tamaño de los tumores. Además, mencionaron que los individuos tratados con dioscina vivieron más días que los del grupo control.

7.4 La dioscina puede tener efectos adversos en los tratamientos *In Vivo*

En la mayoría de los estudios, no se reportaron efectos adversos sobre la salud de los modelos experimentales. Sin embargo, algunos autores registraron cambios significativos sobre el peso total de los animales con respecto al grupo control, siendo más frecuente la pérdida de peso. Se ha reportado que las saponinas provenientes de distintas plantas reducen la eficiencia de la alimentación y las tasas de crecimiento en modelos animales (Savage, 2003). Sólo se encontró un registro de afectaciones en las mucosas gastrointestinales de los sujetos experimentales. Sin embargo, estos efectos se han observado anteriormente en otro tipo de estudios y se le atribuye a que algunas saponinas incrementan la permeabilidad en las células de la mucosa del intestino delgado, inhibiendo así el transporte activo de algunos nutrientes (Savage, 2003). Esto también podría explicar la pérdida de peso total de los ejemplares durante los tratamientos orales. Cabe destacar que, algunos autores reportaron cambios en el peso de órganos específicos. Mientras que ciertas dosis del concentrado de saponinas totales provocaron pérdidas significativas en el peso del hígado y del timo, otras dosis aumentaron el peso del riñón y del bazo.

Estos resultados son consistentes con los hallazgos reportados por Xu y colaboradores en 2012, en un estudio enfocado específicamente en la toxicidad de la dioscina. Encontraron que, en comparación con el grupo control, el peso total corporal de las ratas macho de la cepa Sprague-Dawley fue significativamente más bajo en todos los grupos tratados con dioscina, especialmente con las dosis altas. Los pesos absolutos del timo, hígado, bazo, riñón, glándulas suprarrenales y

corazón fueron significativamente menores dependiendo de las dosis terapéuticas empleadas. Ellos consideraron que estos cambios fueron gracias a la capacidad de las saponinas para provocar distensión gastrointestinal (Shen et al. 2008), disminución en la digestión de proteínas (Potter et al., 1993) y disminución de la motilidad del tracto gastrointestinal (Klita et al., 1996) provocando una disminución en la ingesta de alimento y, por ende, la pérdida de peso. Cabe resaltar que, aunque se registraron cambios significativos en los pesos absolutos y relativos de varios órganos, no reportaron ninguna alteración histopatológica importante en los animales tratados con dioscina (Xu et al., 2012).

Otros daños reportados incluyen irritación y ulceraciones en la cola de los organismos experimentales, los que, dependiendo de la dosis, pueden resultar en la muerte del individuo. Sin embargo, algunos autores detallaron que estos efectos se debían a la administración de dioscina pura, ya que no se registraron daños al emplear dosis terapéuticas con nanofibras pegiladas de dioscina (ver Tabla 6). Las ulceraciones podrían deberse a las propiedades hemolíticas de las saponinas anteriormente mencionadas; la liberación de la hemoglobina de los eritrocitos es el resultado directo de la interacción de las saponinas con los esteroides unidos a la membrana, lo que provoca un incremento en la permeabilidad de la membrana plasmática, desencadenando la destrucción de la célula (Savage, 2003).

En 18 de todos los artículos empleados para esta investigación se mencionó el hallazgo de necrosis, la mayoría no detallaron el porcentaje de células necróticas, sino que indicaron que la dioscina o sus diferentes combinaciones con otros compuestos aumentaron tanto la incidencia de apoptosis como de necrosis. Algunos autores reportaron que los porcentajes de población en apoptosis avanzada o necrosis osciló entre el 6% y el 19% de la población total celular después de los tratamientos con dioscina (Hu et al., 2013; Liu et al., 2004; Wang et al. 2007). En todos los estudios describen que la población de células necróticas fue considerablemente menor en comparación con la población de células apoptóticas. Lo que quiere decir que la muerte inducida por la dioscina no fue mediada por necrosis, si no por apoptosis. Con base en lo que mencionan Hernández-Vázquez y colaboradores, la muerte celular por necrosis está asociada con la permeabilización temprana de la membrana plasmática, por lo que se permite el transporte de componentes citoplásmicos al medio extracelular, generando daño importante en las células vecinas (Hernández-Vázquez et al., 2020). Además, Karsch-Bluman y coautores concluyeron que la secreción de factores necróticos puede promover la progresión, resistencia a los tratamientos y evasión tumoral del cáncer, pues se promueven la angiogénesis, proliferación de células endoteliales, inducción de la vasculatura, incrementa la migración, invasión y la interacción célula-célula (Karsch-Bluman et al., 2019). Ya que, el mecanismo de muerte que predomina en los tratamientos con dioscina no es la necrosis, esta sigue siendo un componente prometedor para combatir el cáncer.

7.5 La dioscina induce la detención del ciclo celular tumoral In Vitro

Las líneas celulares respondieron de manera distinta a los tratamientos, una de las manifestaciones de estas diferencias se observó en la fase en que la dioscina detuvo el ciclo celular. Existen dos tipos de mecanismos de control del ciclo celular: la cascada de fosforilación de proteínas que permiten la transición de una fase celular a otra y un grupo de puntos de control que monitorean el completamiento de eventos críticos y, de ser necesario, la detención de la progresión a la fase siguiente. El primer tipo de control involucra a una familia de proteínas cinasas altamente reguladas (ciclinas, cinasas dependientes de ciclinas (CDKs) y algunas proteínas inhibidoras de ciclinas); el segundo tipo trata más sobre la supervisión de defectos. Los puntos de control del ciclo celular establecen la sincronización y fuerza de las respuestas de detención, reparación y apoptosis a los agentes dañinos; se ha descrito la relación que tienen la pérdida de puntos de control y la pérdida de estabilidad genómica, resultando en la evolución de células normales a células cancerígena (Collins *et al.*, 1997; Elledge, 1996; Lin *et al.*, 2008). Los autores citados en la Tabla 7 indicaron que este compuesto inhibió la proliferación celular mediante diferentes rutas de señalización relacionadas con el ciclo celular.

De acuerdo con algunos autores, el evidente incremento de células en la región sub-G1 sugirió que la acumulación de células en esta región fue principalmente debido a la apoptosis, pero no se consideró a estas descripciones como concluyentes. Algunos autores concluyeron que los niveles elevados de Ciclina D1 (reguladora en la fase G1) demostraron que los tratamientos con dioscina no indujeron la detención en la fase G0/G1. Así, se mencionó en varias ocasiones la importancia de las proteínas p21 y p53, ciclinas (Ciclina A, Ciclina B1 y Ciclina D1) y cinasas dependientes de ciclinas (CDK2) pues su sobreexpresión o subexpresión estuvo directamente ligada con la interrupción del ciclo celular durante los tratamientos con dioscina. Se mencionó que la dioscina activó la vía ATM/P53 e indujo la detención en la fase G2/M; también que la detención en la fase G2/M y la apoptosis inducida por la dioscina estuvieron asociadas con la inhibición de la actividad de la quinasa activadora de CDK y la activación de la ruta mitocondrial relacionada con Ca^{2+} .

De acuerdo con todos los registros sobre el efecto antitumoral de la dioscina, es más probable que el ciclo celular se detenga en la fase G2/M (ver Figura 8). Se ha observado la muerte inducida por fármacos o radiación después de la detención en la fase G2/M en una variedad de tipos de células, incluidas específicamente las células con p53 defectuoso (Sorenson *et al.*, 1990; Cai *et al.*, 2003).

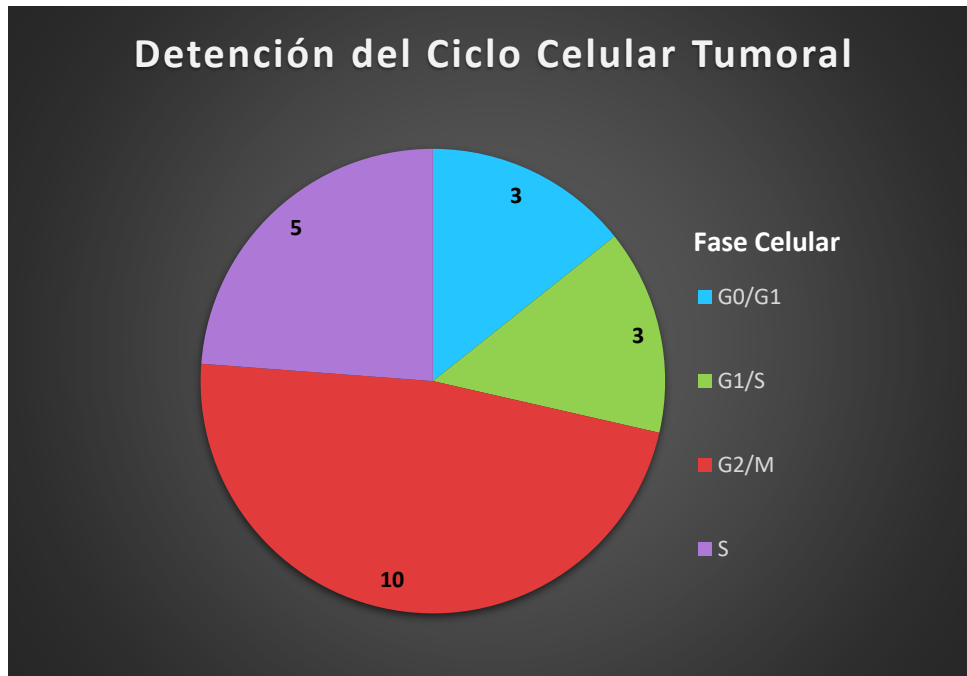


Figura 8. Gráfica que ilustra el número de veces que se registró la detención del ciclo celular en todos los artículos científicos citados.

7.6 La dioscina afecta la regulación de proteínas clave del metabolismo celular tumoral *In Vitro*

La evidencia científica a lo largo de los años ha demostrado que el metabolismo celular del cáncer se encuentra alterado, por lo que, para entender la capacidad de la dioscina para ejercer sus efectos antitumorales, es imprescindible dilucidar las rutas de señalización involucradas en su mecanismo de acción. Esto es posible mediante el análisis del estado de la regulación de diversas proteínas, ya sea que se encuentren sobreexpresadas o subexpresadas. Como se ha mencionado en la literatura consultada, uno de los mecanismos por los cuales la dioscina ejerce sus efectos antitumorales es a través de la inducción de cambios metabólicos en las células mediante la regulación positiva o negativa de diversas proteínas (ver Figura 9). Para ello, se han empleado diversas técnicas como el *Western Blot* SDS-PAGE, zimografías y kits de medición de actividad enzimática.

Se reportó que la dioscina es capaz de inducir la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) las cuales son señales críticas que son capaces de actuar sobre vías de señalización como las PI3K/AKT, MAPK y NF-κB. La mitocondria es una importante fuente de ROS, cuando la mitocondria fabrica ATP activamente, la tasa de producción de ROS es bastante menor, y los sitios de producción son inciertos. Esto sugiere que la baja síntesis mitocondrial de ATP puede también incrementar la tendencia de la mitocondria para liberar ROS; un nivel alto de ROS intracelular afecta el potencial de membrana mitocondrial y la

permeabilidad de la membrana, desencadenando una serie de eventos asociados a la mitocondria, influye en la inestabilidad genómica e induce daño al ADN (Wang & Yi, 2008; Tabrizi *et al.*, 2016; Renschler, 2004; Chatterjee *et al.*, 2008; Pathak & Khandelwal, 2007).

Con respecto a las vías de señalización que dan origen a la activación de la apoptosis, es conocido que la vía intrínseca es activada por daños internos al ADN y estrés oxidativo (Fulda *et al.*, 2010). En esta vía participan proteínas de la familia Bcl-2, las cual se divide en (1) anti-apoptóticas (Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1, y BFL-1/A1), (2) pro-apoptóticas (Bax, Bak y Bok) y (3) pro-apoptóticas de sólo BH3 (Bad, Bid, Bik, Bim, BMF, HRK, Noxa y PUMA). Estas proteínas están presentes en la membrana mitocondrial y son mediadoras de la vía apoptótica mitocondrial (Shamas-Din *et al.*, 2013). Su actividad induce la traslocación del citocromo c desde la mitocondria hacia el citoplasma, formándose el apoptosoma con las proteínas APAF1 y procaspasa 9. Este complejo da lugar a la caspasa, que a su vez activa la vía ejecutora de caspasas (caspasas -3, -6 y -7) para inducir la apoptosis (Wang & Youle, 2009). Los registros sobre la activación de estas proteínas, el decremento de citocromo c mitocondrial y el incremento de citocromo c citosólico después de los tratamientos con dioscina, indica que uno de sus mecanismos para inducir apoptosis es por medio de la vía apoptótica mitocondrial (ver Figura 9 [A] y [B]).

Las proteínas pertenecientes a la vía de las MAPK fueron frecuentemente mencionadas durante los tratamientos con dioscina. Esta vía es asociada con la oncogénesis, progresión de tumores y resistencia a fármacos. En general, p38 MAPK y JNK están asociados con la muerte celular, mientras que ERK1/2 está involucrado en la proliferación celular (Park *et al.*, 2011). En la nucleasa, ERK ½ puede activar factores de transcripción como CREB y NF-kB. La mayoría de los tumores sólidos suelen caracterizarse por sus mutaciones en los genes RAS/RAF/MEK/ERK de la ruta de señalización (Stern, 2018), también se incluyen a las proteínas RHO y RHO-A (Haga & Ridley, 2016). Se ha reportado que ERK, cJNK y STAT3 están triangulados y fuertemente relacionados, o sólo STAT3 puede estar conectado a la vía ERK/p38/JNK (Speth *et al.*, 2017). Se ha observado la activación de TP53 a través de la vía p38/TGF (Elston & Inman, 2012). La dioscina no sólo inhibió la progresión tumoral al desregular las vías AKT/MAPK y MEK/ERK, si no que ayudó a superar la resistencia a los inhibidores de la tirosina cinasa (TKI) (Wang *et al.*, 2018). Esta familia consiste en un gran número de cinasas que se encuentran alteradas en los cánceres, por lo que, se han desarrollado diversas terapias enfocadas en estas proteínas (Braicu *et al.*, 2019).

La familia de PI3K constituye un gran grupo de proteínas kinasas de serina/treonina, que incluyen fosfatidilinositol kinasas, proteínas kinasas dependientes de ADN (DNA-PK), ataxia telangiectasia-mutada (ATM) y ataxia telangiectasia y Rad3, relacionadas (ATR) (Hiles *et al.*, 1992; Fruman *et al.*, 1998; Oudit *et al.*, 2004). AKT es el homólogo humano del oncogén viral v-AKT (retrovirus AKT 8) y está relacionado con proteínas kinasas A (PKA) y C (PKC) en humanos. Otros factores de transcripción que incrementan la expresión de genes anti-apoptóticos son

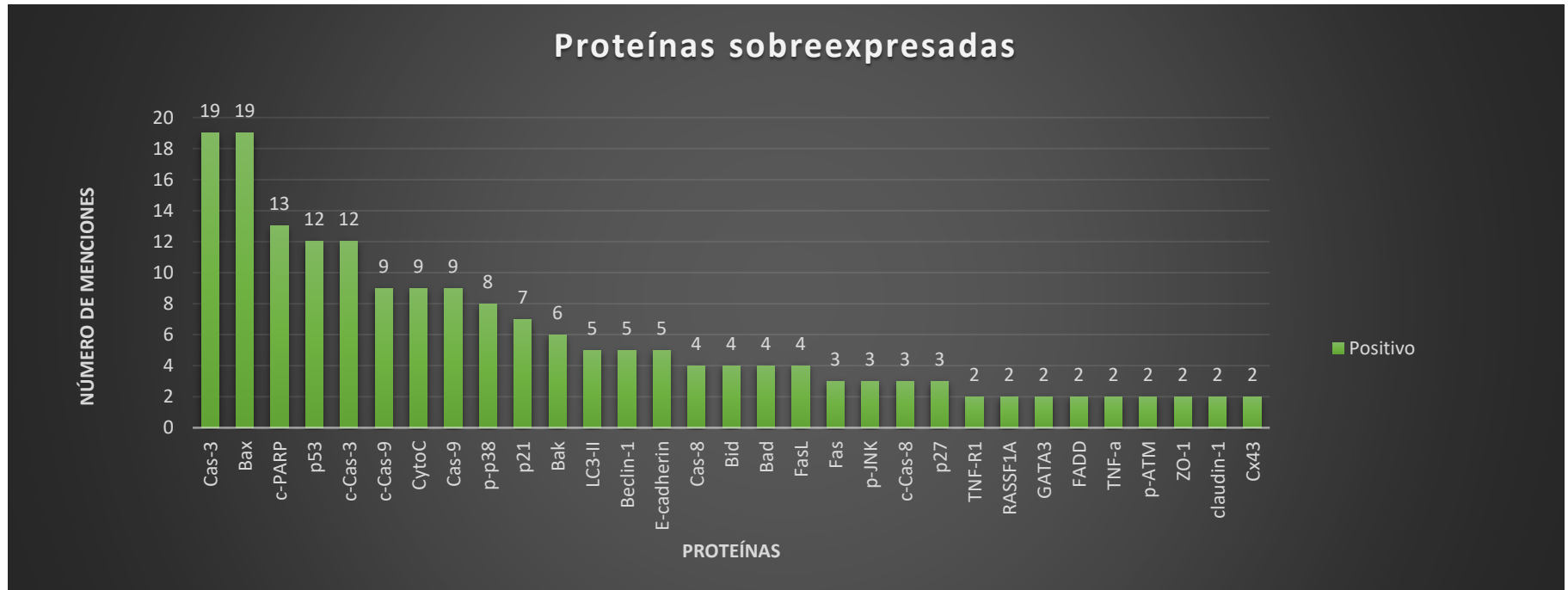
activados por Akt, incluyendo CREB (proteína de unión a elementos de respuesta a AMP-cíclico), mediante fosforilación directa, NF-KB e HIF-1 α (Pinzón *et al.*, 2009). La proteína serina/treonina kinasa, mTOR (blanco mamífero de rapamicina) activada por Akt, se puede considerar como el regulador central del crecimiento celular; mTOR regula la traducción proteica, en respuesta a nutrientes y factores de crecimiento (Wendel *et al.*, 2004). La activación anormal de la vía PI3K resulta en la alteración de los mecanismos de control del crecimiento y la supervivencia celular, lo que favorece el crecimiento competitivo, la capacidad metastásica y, frecuentemente, una mayor resistencia a los tratamientos (Pinzón *et al.*, 2009).

Se reportó que la dioscina es capaz de inhibir la migración e invasión de las líneas celulares tumorales mediante la regulación de diversas proteínas de adhesión, proteínas relacionadas con la Transición Epitelio-Mesenquimal (EMT, por sus siglas en inglés) y Mimetismo Vasculogénico (VM, por sus siglas en inglés). La metástasis celular involucra la adhesión tumoral a la Matriz Extracelular (ECM por sus siglas en inglés), la escisión proteolítica o destrucción de la ECM, dando como resultado la migración celular (Chien *et al.*, 2012). Un paso crucial para la invasión y la metástasis es el quebrantamiento de la base membranal, lo que requiere la activación de enzimas proteolíticas (Coussens & Werb, 1996; Liotta & Stetler-Stevenson, 1991). Las proteínas MMP juegan un papel importante en la angiogénesis tumoral, metástasis y estimulación de la liberación del factor de crecimiento desde el ECM (Coussens & Werb, 1996). Las cadherinas E son partícipes en la mediación de la carcinogénesis, ya que actúan como proteínas supresoras de tumores, por su capacidad para bloquear la proliferación incontrolada y la diferenciación celular hacia un fenotipo maligno (Koo *et al.*, 2009; Ionescu *et al.*, 2013; Fernández *et al.*, 2015). En muchos tipos de tumores, la expresión aberrante de la molécula de adhesión N-cadherina es un marcador de la EMT, lo que resulta en la adquisición de un fenotipo tumoral agresivo. Esta transición dota a las células con la capacidad de escapar de los confines del tumor primario y hacer metástasis en sitios secundarios (Mrozik *et al.*, 2018). El fenómeno de angiogénesis tumoral denominado mimetismo vasculogénico se ha desarrollado como mecanismo aberrante de angiogénesis de supervivencia y adaptación a las condiciones que sufren las células tumorales revertidas a un fenotipo y genotipo desdiferenciado. Es inducido por una gran variedad de genes con funciones relacionadas con la hipoxia, angiogénesis y autofagia. Tres de los principales impulsores de este proceso son EphA2, HIF-1 α y Nodal, sin embargo, directa o indirectamente varias de estas moléculas afectan a la VE-Cadherina (VE-Cad), la cual forma uniones gap para unir vasos sanguíneos angiogénicos. La proteína Cx43 es uno de los isotipos de conexinas más estudiados, y se ha reportado que funciona como un supresor de la tumorigénesis (Wu *et al.*, 2019). El VM compensa la falta de acceso a la sangre y nutrientes en tumores no vasculares, por lo que promueve la invasión y metástasis del cáncer (Wechman *et al.*, 2020).

La vía extrínseca está mediada por estímulos externos a través de los receptores de muerte, que incluyen a los receptores Fas, DR4/DR5, receptores de Factor de Necrosis Tumoral (TNF-R) y Receptores de ligandos inductores de apoptosis relacionados con TNF (TRAIL-R) presentes en la superficie de diferentes células (Zhou *et al.*, 2017). La familia de proteínas CD40 es importante para el desarrollo de una respuesta antitumoral de las células cancerígenas (Ünver *et al.*, 2020). En la superficie celular, el receptor de muerte interactúa con sus ligandos específicos, reclutan a las proteínas adaptadoras asociadas con el dominio de muerte Fas, proteína del dominio de muerte asociada al receptor del factor de necrosis tumoral tipo 1 (TRADD) y luego factores río abajo de caspasa-8; este reclutamiento eventualmente conlleva a la apoptosis celular (Kashyap *et al.*, 2021; Guicciardi & Gores, 2009). La dioscina demostró influir de manera simultánea entre las vías intrínseca y extrínseca de la apoptosis.

La vía de señalización mediada por Ca^{2+} tiene un papel importante en el crecimiento tumoral, la invasión, angiogénesis y metástasis (Parkash & Asotra, 2010; Florea & Büsselberg, 2009). Ha sido bien establecido que el incremento de niveles de Ca^{2+} mitocondrial puede promover la apertura de los poros de transición de permeabilidad en las membranas internas de la mitocondria, lo cual resulta en el decremento del potencial de membrana ($\Delta\Psi_m$) y en la liberación del citocromo C (Scorrano *et al.*, 2001). Más específicamente, se ha sugerido que tanto la liberación del Ca^{2+} del Retículo Endoplásmico (ER) y el influjo capacitivo de Ca^{2+} a través de los canales de calcio activados por el propio calcio son apoptogénicos (Wertz *et al.*, 2000). También hay datos que sugieren que concentraciones intracelulares altas de Ca^{2+} pueden promover la muerte por necrosis, mientras que los bajos niveles de Ca^{2+} promovidos por estímulos menos agresivos pueden promover la apoptosis (Choi, 1995; Skulachev, 1996; Leo *et al.*, 2005). El aumento de Ca^{2+} intracelular parece mediar los efectos letales de la sobre-activación de receptores, por lo que, inclusive se ha sugerido que la sobrecarga de Ca^{2+} es la vía de señalización final común para todos los tipos de muerte celular (Lynch *et al.*, 2000; Pinton *et al.*, 2001; Gao *et al.*, 2011). La dioscina aumentó significativamente los niveles intracelulares de Ca^{2+} , provocando apoptosis.

(A)



(B)

Proteínas subexpresadas

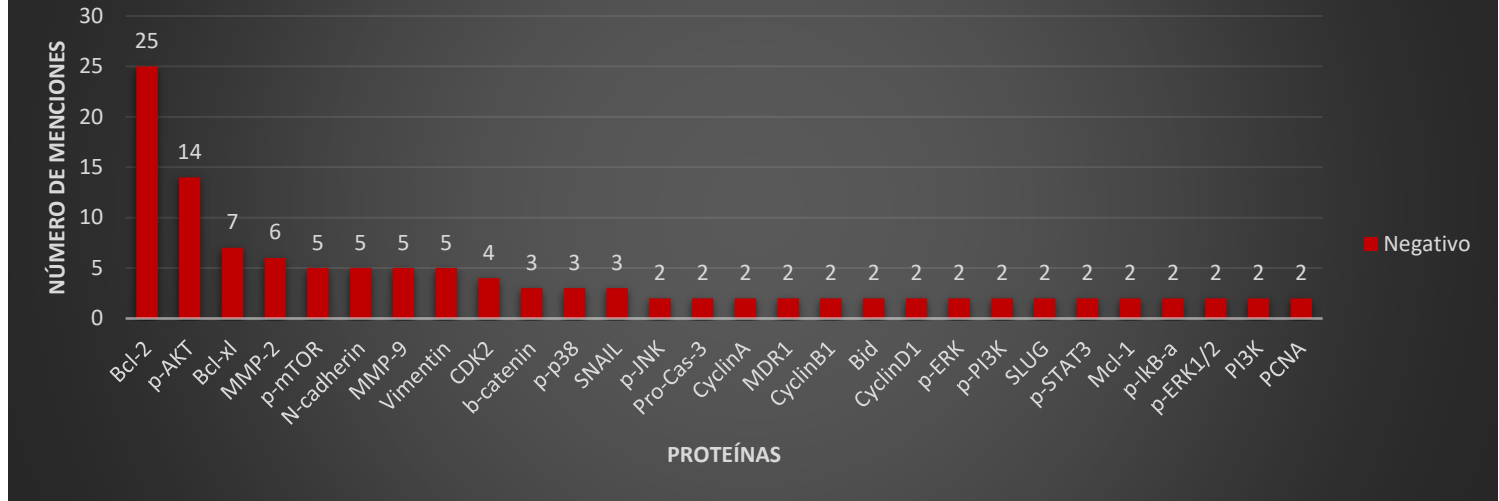


Figura 9. Gráficas de barras que ilustran la cantidad de veces que se reportó la (A) sobreexpresión o regulación positiva y (B) subexpresión o regulación negativa de una proteína después de exponer a las células tumorales a tratamientos con diferentes concentraciones o formulaciones con dioscina. Se tomó en cuenta a las proteínas mencionadas en más de dos ocasiones.

8. Conclusiones

En conjunto, las investigaciones concluyeron que la dioscina ejerce sus efectos antitumorales dependiendo de la dosis y del tiempo: a mayor dosis y a mayor tiempo de tratamiento, mayor efecto antitumoral. Estos hallazgos fueron consistentes en los ensayos *In Vitro* e *In Vivo* y se reportaron pocos casos de toxicidad de la dioscina en los individuos. En diversos estudios se describió la sinergización y potenciación de los efectos antitumorales de la dioscina cuando se le incorporó con otros compuestos como la epirubicina, vinorelbina, adriamicina, micelas, nanofibras de colesterol y liposomas. La dioscina fue capaz de inducir la detención del ciclo celular en la fase G2/M. El tipo de cáncer más sensible a la dioscina fue el osteosarcoma, seguido del melanoma, el cáncer de próstata y el cáncer de pulmón. Lo contrario sucedió en el cáncer de estómago, que fue el menos sensible, seguido del cáncer de ovario, leucemia y el cáncer de hígado. Señalar esto es importante, pues considerar el tipo de cáncer y el fármaco terapéutico a utilizar es un factor imprescindible en el tratamiento adecuado del cáncer, de modo que se mejoren las probabilidades de supervivencia del individuo. Diversos estudios propusieron mecanismos de acción por los que la dioscina induce la apoptosis en las líneas celulares tumorales. Se describieron procesos como el estrés oxidativo, mediante el cual la dioscina indujo la generación de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) y la liberación de Ca^{2+} . De este modo, se activaron de manera simultánea las Vías Intrínseca y Extrínseca de la apoptosis. Las rutas de señalización de las MAPK y PI3K/AKT/mTOR se vieron afectadas de la misma manera, regulándose varias proteínas que se consideran clave para el diseño de terapias contra el cáncer. Además de inducir la autofagia, la dioscina fue capaz de reducir la invasión y migración de las células tumorales al inhibir la Transición Epitelio-Mesenquimal (EMT) y la formación de vasos sanguíneos al inhibir el Mimetismo Vasculogénico (VM) al regular negativamente diversas proteínas relacionadas con estos procesos (ver Figura 10).

Desafortunadamente, el resultado de los tratamientos contra el cáncer suele conllevar un pronóstico desfavorable, alta probabilidad de reincidencia del cáncer y una severa toxicidad sistémica debido a los fármacos pobremente dirigidos y selectivos. La dioscina ha demostrado ser un excelente fármaco con potencial antitumoral debido al tipo de regulación que ejerce en vías de señalización relacionadas con la apoptosis, activando o inactivando diversas proteínas consideradas como objetivos clave en el diseño de nuevos tratamientos quimioterapéuticos. En cualquier caso, siempre es conveniente que se realicen mayores estudios para complementar los registros y tener un panorama más preciso sobre los efectos antitumorales de la dioscina.

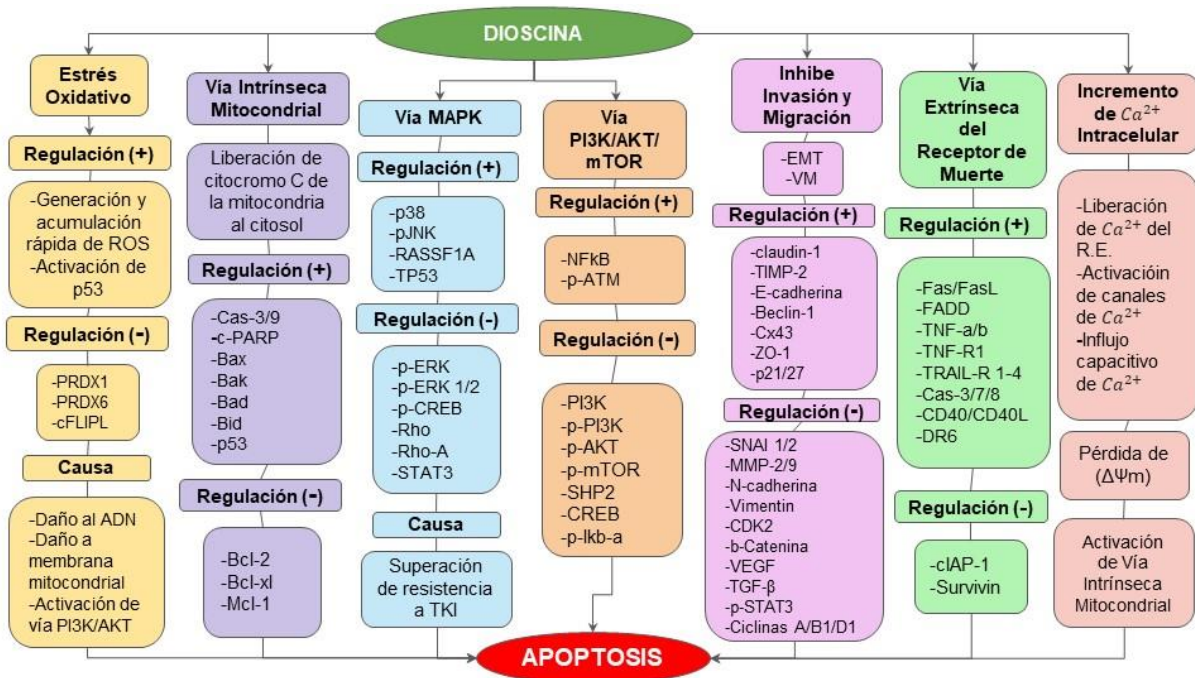


Figura 10. Esquema que ilustra los diferentes mecanismos por los que la dioscina induce apoptosis en las líneas celulares de cánceres humanos y de ratones realizados en ensayos *In Vitro* e *In Vivo*.

9. Bibliografía

- Alavi, M., & Hamidi, M. (2019). Passive and active targeting in cancer therapy by liposomes and lipid nanoparticles. *Drug metabolism and personalized therapy*, 34(1), 10.1515/dmpt-2018-0032. <https://doi.org/10.1515/dmpt-2018-0032>
- Alizai, P. H., Bertram, L., Fragoulis, A., Wruck, C. J., Kroy, D. C., Klinge, U., Neumann, U. P., & Schmeding, M. (2016). In vivo imaging of antioxidant response element activity during liver regeneration after partial hepatectomy. *The Journal of surgical research*, 206(2), 525–535. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2016.08.008>
- Asghar, M.Y., Kempainen, K., Lassila, T., Tornquist, K. (2018) Sphingosine 1-phosphate attenuates MMP2 and MMP9 in human anaplastic thyroid cancer C643 cells: Importance of S1P2. *PLoS ONE* 13:e0196992
- Aumsuwan, P., Khan, S. I., Khan, I. A., Ali, Z., Avula, B., Walker, L. A., Shariat-Madar, Z., Helferich, W. G., Katzenellenbogen, B. S., & Dasmahapatra, A. K. (2016). The anticancer potential of steroidal saponin, dioscin, isolated from wild yam (*Dioscorea villosa*) root extract in invasive human breast cancer cell line MDA-MB-231 in vitro. *Archives of biochemistry and biophysics*, 591, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.12.001>

5. Barenholz Y. (2003). Relevancy of drug loading to liposomal formulation therapeutic efficacy. *Journal of liposome research*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1081/lpr-120017482>
6. Braicu, C., Buse, M., Busuioc, C., Drula, R., Gulei, D., Raduly, L., Rusu, A., Irimie, A., Atanasov, A. G., Slaby, O., Ionescu, C., & Berindan-Neagoe, I. (2019). A Comprehensive Review on MAPK: A Promising Therapeutic Target in Cancer. *Cancers*, 11(10), 1618. <https://doi.org/10.3390/cancers11101618>
7. Byrne, J. D., Betancourt, T., & Brannon-Peppas, L. (2008). Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1615–1626. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.08.005>
8. Cai, J., Liu, M., Wang, Z., & Ju, Y. (2002). Apoptosis induced by dioscin in Hela cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 25(2), 193–196. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.193>
9. Cai, X., Yu, Y., Zhang, L., Jia, P.M., Zhao, Q., Chen, Z., Tong, J.H., Dai, W., Chen, G.Q., (2003). *Leukemia*, 17, 1333–1337.
10. Casado-Hernandez, I., Mora-González, N., Ferrer-Carmenates, G., Fernández-Torres, S., & Pino-Blanco, D. (2015). Citotoxicidad in vitro y potencialidades de los compuestos quinoides como agentes antitumorales. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(1). Recuperado de <https://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/346>
11. Cekanova, M., & Rathore, K. (2014). Animal models and therapeutic molecular targets of cancer: utility and limitations. *Drug design, development and therapy*, 8, 1911–1921. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S49584>
12. Chae, W. O. & Kim, G. D. (2021). Dioscin Decreases Breast Cancer Stem-like Cell Proliferation via Cell Cycle Arrest by Modulating p38 Mitogen-activated Protein Kinase and AKT/mTOR Signaling Pathways. *Journal of cancer prevention*, 26(3), 183–194. <https://doi.org/10.15430/JCP.2021.26.3.183>
13. Chan, S. H., Liang, P. H., & Guh, J. H. (2018). An integrated approach to elucidate signaling pathways of dioscin-induced apoptosis, energy metabolism and differentiation in acute myeloid leukemia. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 391(6), 587–602. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1484-6>
14. Chatterjee, S., Kundu, S., & Bhattacharyya, A. (2008). Mechanism of cadmium induced apoptosis in the immunocyte. *Toxicology letters*, 177(2), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.12.010>
15. Chen, B., Zhou, S., Zhan, Y., Ke, J., Wang, K., Liang, Q., Hou, Y., Zhu, P., Ao, W., Wei, X., & Xiao, J. (2019). Dioscin Inhibits the Invasion and Migration of Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells by Reversing TGF- β 1-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(12), 2222. <https://doi.org/10.3390/molecules24122222>

16. Chen, G., Zhang, Y., Liang, J., Li, W., Zhu, Y., Zhang, M., Wang, C., & Hou, J. (2018). Deregulation of Hexokinase II Is Associated with Glycolysis, Autophagy, and the Epithelial-Mesenchymal Transition in Tongue Squamous Cell Carcinoma under Hypoxia. *BioMed research international*, 2018, 8480762. <https://doi.org/10.1155/2018/8480762>
17. Chen, H., Xu, L., Yin, L., Xu, Y., Han, X., Qi, Y., Zhao, Y., Liu, K., & Peng, J. (2014). iTRAQ-based proteomic analysis of dioscin on human HCT-116 colon cancer cells. *Proteomics*, 14(1), 51–73. <https://doi.org/10.1002/pmic.201300101>
18. Chen, J., Li, H. M., Zhang, X. N., Xiong, C. M., & Ruan, J. L. (2014). Dioscin-induced apoptosis of human LNCaP prostate carcinoma cells through activation of caspase-3 and modulation of Bcl-2 protein family. *Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical sciences = Hua zhong ke ji da xue xue bao. Yi xue Ying De wen ban = Huazhong keji daxue xuebao. Yixue Yingdewen ban*, 34(1), 125–130. <https://doi.org/10.1007/s11596-014-1243-y>
19. Chiang, H. C., Tseng, T. H., Wang, C. J., Chen, C. F., & Kan, W. S. (1991). Experimental antitumor agents from *Solanum indicum* L. *Anticancer research*, 11(5), 1911–1917.
20. Chien, M. H., Ying, T. H., Hsieh, Y. S., Chang, Y. C., Yeh, C. M., Ko, J. L., Lee, W. S., Chang, J. H., & Yang, S. F. (2012). *Dioscorea nipponica* Makino inhibits migration and invasion of human oral cancer HSC-3 cells by transcriptional inhibition of matrix metalloproteinase-2 through modulation of CREB and AP-1 activity. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 50(3-4), 558–566. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.12.016>
21. Choi, D. W. (1995). Calcium: still center-stage in hypoxic-ischemic neuronal death. *Trends in neurosciences*, 18(2), 58–60.
22. Collins, K., Jacks, T., & Pavletich, N. P. (1997). The cell cycle and cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(7), 2776–2778. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.7.2776>
23. Coussens, L.M. & Werb, Z., (1996). Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem. Biol.* 3, 895–904.
24. Cui, L., Yang, G., Ye, J., Yao, Y., Lu, G., Chen, J., Fang, L., Lu, S., & Zhou, J. (2020). Dioscin elicits anti-tumour immunity by inhibiting macrophage M2 polarization via JNK and STAT3 pathways in lung cancer. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(16), 9217–9230. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15563>
25. Dawson, B., & Trapp, R. G. (2004). Basic & clinical biostatistics. In *Basic & clinical biostatistics* (pp. 438-438).
26. Ding, Q., Zhang, W., Cheng, C., Mo, F., Chen, L., Peng, G., Cai, X., Wang, J., Yang, S., & Liu, X. (2020). Dioscin inhibits the growth of human osteosarcoma by inducing G2/M-phase arrest, apoptosis, and GSDME-

- dependent cell death in vitro and in vivo. *Journal of cellular physiology*, 235(3), 2911–2924. <https://doi.org/10.1002/jcp.29197>
27. Dong, M., Feng, X., Wang, B. X., Ikejima, T., & Wu, L. J. (2004). Microbial metabolism of pseudoprotodioscin. *Planta medica*, 70(7), 637–641. <https://doi.org/10.1055/s-2004-827187>
28. Elledge S. J. (1996). Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* (New York, N.Y.), 274(5293), 1664–1672. <https://doi.org/10.1126/science.274.5293.1664>
29. Elston, R., & Inman, G. J. (2012). Crosstalk between p53 and TGF- β Signalling. *Journal of signal transduction*, 2012, 294097. <https://doi.org/10.1155/2012/294097>
30. Faizal, A., Geelen, D. (2013). Saponins and their role in biological processes in plants. *Phytochem Rev* 12, 877–893 <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9322-4>
31. Favaloro, B., Allocati, N., Graziano, V., Di Ilio, C., & De Laurenzi, V. (2012). Role of apoptosis in disease. *Aging*, 4(5), 330–349. <https://doi.org/10.18632/aging.100459>
32. Fernández, Ángel, Reigosa, Aldo, Caleiras, Eduardo, Saldivia, Felipe, Hardisson, David, & Sanz, Francisco. (2015). Expresión de cadherinas E y P en los tipos moleculares de cáncer de mama. *Investigación Clínica*, 56(2), 155-168.
33. Fink, S. L., & Cookson, B. T. (2005). Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: Mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infection and Immunity*, 73, 1907–1916. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005>
34. Florea, A. M. & Büsselberg, D., (2009) Anti-cancer drugs interfere with intracellular calcium signaling. *NeuroToxicology* 30, 803–810.
35. Fruman, D.A., Meyers, R.E., Cantley, L.C. (1998), Phosphoinositide kinases. *Annu Rev Biochem.* 67:481-507.
36. Fulda, S., Gorman, A. M., Hori, O., & Samali, A. (2010). Cellular stress responses: Cell survival and cell death. *International Journal of Cell Biology*, 2010, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2010/214074>
37. Gao, L. L., Li, F. R., Jiao, P., Yang, M. F., Zhou, X. J., Si, Y. H., Jiang, W. J., & Zheng, T. T. (2011). Paris chinensis dioscin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells. *World journal of gastroenterology*, 17(39), 4389–4395. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i39.4389>
38. Gao, L. L., Li, F. R., Jiao, P., Yao, S. T., Sang, H., & Si, Y. H. (2011). Apoptosis of human ovarian cancer cells induced by Paris chinensis dioscin via a Ca (2+)-mediated mitochondrion pathway. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 12(5), 1361–1366
39. Gersten, O., & Wilmoth, J. R. (2002). The cancer transition in Japan since 1951. *Demographic Research*, 7, 271-306.

40. Guicciardi, M. E., & Gores, G. J. (2009). Life and death by death receptors. *The FASEB Journal*, 23, 1625–1637. <https://doi.org/10.1096/fj.08-111005>
41. Guo, X., & Ding, X. (2018). Dioscin suppresses the viability of ovarian cancer cells by regulating the VEGFR2 and PI3K/AKT/MAPK signaling pathways. *Oncology letters*, 15(6), 9537–9542. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8454>
42. Haga, R. B., & Ridley, A. J. (2016). Rho GTPases: Regulation and roles in cancer cell biology. *Small GTPases*, 7(4), 207–221. <https://doi.org/10.1080/21541248.2016.1232583>
43. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
44. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
45. He, S., Yang, J., Hong, S., Huang, H., Zhu, Q., Ye, L., Li, T., Zhang, X., Wei, Y., & Gao, Y. (2020). Dioscin Promotes Prostate Cancer Cell Apoptosis and Inhibits Cell Invasion by Increasing SHP1 Phosphorylation and Suppressing the Subsequent MAPK Signaling Pathway. *Frontiers in pharmacology*, 11, 1099. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01099>
46. He, X., Qiao, A., Wang, X., Liu, B., Jiang, M., Su, L., & Yao, X. (2006). Structural identification of methyl protodioscin metabolites in rats' urine and their antiproliferative activities against human tumor cell lines. *Steroids*, 71(9), 828–833. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.05.013>
47. Hernández-Vázquez, J., López-Muñoz, H., Escobar-Sánchez, M. L., Flores-Guzmán, F., Weiss-Steider, B., Hilario-Martínez, J. C., Sandoval-Ramírez, J., Fernández-Herrera, M. A., & Sánchez Sánchez, L. (2020). Apoptotic, necrotic, and antiproliferative activity of diosgenin and diosgenin glycosides on cervical cancer cells. *European journal of pharmacology*, 871, 172942. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.172942>
48. Hiles, I. D., Otsu, M., Volinia, S., Fry, M. J., Gout, I., Dhand, R., Panayotou, G., Ruiz-Larrea, F., Thompson, A., & Totty, N. F. (1992). Phosphatidylinositol 3-kinase: structure and expression of the 110 kd catalytic subunit. *Cell*, 70(3), 419–429. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90166-a](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90166-a)
49. Hsieh, M. J., Tsai, T. L., Hsieh, Y. S., Wang, C. J., & Chiou, H. L. (2013). Dioscin-induced autophagy mitigates cell apoptosis through modulation of PI3K/Akt and ERK and JNK signaling pathways in human lung cancer cell lines. *Archives of toxicology*, 87(11), 1927–1937. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1047-z>
50. Hsieh, M. J., Yang, S. F., Hsieh, Y. S., Chen, T. Y., & Chiou, H. L. (2012). Autophagy inhibition enhances apoptosis induced by dioscin in huh7 cells. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 134512. <https://doi.org/10.1155/2012/134512>
51. Hu, M., Xu, L., Yin, L., Qi, Y., Li, H., Xu, Y., Han, X., Peng, J., & Wan, X. (2013). Cytotoxicity of dioscin in human gastric carcinoma cells through death

- receptor and mitochondrial pathways. *Journal of applied toxicology: JAT*, 33(8), 712–722. <https://doi.org/10.1002/jat.2715>
52. Hwang, J. T., Park, K. S., Ryuk, J. A., Kim, H. J., & Ko, B. S. (2019). Development of an Oriental Medicine Discrimination Method through Analysis of Steroidal Saponins in *Dioscorea nipponica* Makino and Their Anti-Osteosarcoma Effects. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 4022. <https://doi.org/10.3390/molecules24224022>
 53. Ionescu, C., GiuŃc| SE, Liliac L, Avadanei R, CeauŃu R, Cîmpean AM, Balan R, Am|linei C, Ciobanu Apostol D, C|runtu ID. (2013) E-cadherin expression in molecular types of breast carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*. 54:267-273.
 54. Ivanchina, N. V., Kicha, A. A., & Stonik, V. A. (2011). Steroid glycosides from marine organisms. *Steroids*, 76(5), 425–454. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2010.12.011>
 55. Karsch-Bluman, A., Feiglin, A., Arbib, E., Stern, T., Shoval, H., Schwob, O., Berger, M., & Benny, O. (2019). Tissue necrosis and its role in cancer progression. *Oncogene*, 38(11), 1920–1935. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0555-y>
 56. Kashyap, D., Garg, V. K., & Goel, N. (2021). Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 125, 73–120. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.01.003>
 57. Kashyap, D., Sharma, A., Tuli, H. S., Sak, K., Mukherjee, T., & Bishayee, A. (2018). Molecular targets of celastrol in cancer: Recent trends and advancements. *Critical reviews in oncology/hematology*, 128, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.05.019>
 58. Kashyap, D., Tuli, H. S., Sak, K., Garg, V.K., Goel, N., Punia, S., Chaudhary, A. (2019). Role of reactive oxygen species in cancer progression. *Current Pharmacology Reports*, 5, 79–86.
 59. Kelland L. R. (2004). Of mice and men: values and liabilities of the athymic nude mouse model in anticancer drug development. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*, 40(6), 827–836. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2003.11.028>
 60. Khaled, W. T., & Liu, P. (2014). Cancer mouse models: past, present and future. *Seminars in cell & developmental biology*, 27, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.04.003>
 61. Khan, D. R., Rezler, E. M., Lauer-Fields, J., & Fields, G. B. (2008). Effects of drug hydrophobicity on liposomal stability. *Chemical biology & drug design*, 71(1), 3–7. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2007.00610.x>
 62. Kim, E. A., Jang, J. H., Lee, Y. H., Sung, E. G., Song, I. H., Kim, J. Y., Kim, S., Sohn, H. Y., & Lee, T. J. (2014). Dioscin induces caspase-independent apoptosis through activation of apoptosis-inducing factor in breast cancer cells. *Apoptosis: an international journal on programmed cell death*, 19(7), 1165–1175. <https://doi.org/10.1007/s10495-014-0994-z>

63. Kim, O. T., Kim, M. Y., Hong, M. H., Ahn, J. C., & Hwang, B. (2004). Stimulation of asiaticoside accumulation in the whole plant cultures of *Centella asiatica* (L.) urban by elicitors. *Plant cell reports*, 23(5), 339–344. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0826-7>
64. Kim, Y. C., Kim, E. A., Park, K. G., Lee, S. J., Kim, M. S., Sohn, H. Y., & Lee, T. J. (2012). Dioscin sensitizes cells to TRAIL-induced apoptosis through downregulation of c-FLIP and Bcl-2. *Oncology reports*, 28(5), 1910–1916. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1962>
65. Kim, Y.J., Jeon, Y., Kim, T., Lim, W.C., Ham, J., Park, Y.N., Kim, T.J., Ko, H. (2017). Combined treatment with zingerone and its novel derivative synergistically inhibits TGF- β 1 induced epithelialmesenchymal transition, migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *Bioorg Med Chem Lett* 27:1081–1088.
66. Klita, P.T., Mathison, G.W., Fenton, T.W., Hardin, R.T. (1996). Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *J. Anim. Sci.* 74, 1144–1156.
67. Kong, L., Cai, F. Y., Yao, X. M., Jing, M., Fu, M., Liu, J. J., He, S. Y., Zhang, L., Liu, X. Z., Ju, R. J., & Li, X. T. (2020). RPV-modified epirubicin and dioscin co-delivery liposomes suppress non-small cell lung cancer growth by limiting nutrition supply. *Cancer science*, 111(2), 621–636. <https://doi.org/10.1111/cas.14256>
68. Kong, L., Zhang, S. M., Chu, J. H., Liu, X. Z., Zhang, L., He, S. Y., Yang, S. M., Ju, R. J., & Li, X. T. (2020). Tumor Microenvironmental Responsive Liposomes Simultaneously Encapsulating Biological and Chemotherapeutic Drugs for Enhancing Antitumor Efficacy of NSCLC. *International journal of nanomedicine*, 15, 6451–6468. <https://doi.org/10.2147/IJN.S258906>
69. Koo, J.S., Jung, W., Jeong, J. (2009). The predictive role of E-cadherin and androgen receptor on in vitro chemosensitivity in triple-negative breast Cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 39:560-568.
70. Kou, Y., Ji, L., Wang, H., Wang, W., Zheng, H., Zou, J., Liu, L., Qi, X., Liu, Z., Du, B., & Lu, L. (2017). Connexin 43 upregulation by dioscin inhibits melanoma progression via suppressing malignancy and inducing M1 polarization. *International journal of cancer*, 141(8), 1690–1703. <https://doi.org/10.1002/ijc.30872>
71. Kueng, W., Silber, E., & Eppenberger, U. (1989). Quantification of cells cultured on 96-well plates. *Analytical biochemistry*, 182(1), 16–19. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90710-0](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90710-0)
72. Lee, N. P., Chan, C. M., Tung, L. N., Wang, H. K., & Law, S. (2018). Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of biomedical science*, 25(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0468-7>
73. Leo, S., Bianchi, K., Brini, M., & Rizzuto, R. (2005). Mitochondrial calcium signalling in cell death. *The FEBS journal*, 272(16), 4013–4022. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04855.x>

74. Li, S., Cheng, B., Hou, L., Huang, L., Cui, Y., Xu, D., Shen, X., & Li, S. (2018). Dioscin inhibits colon cancer cells' growth by reactive oxygen species-mediated mitochondrial dysfunction and p38 and JNK pathways. *Anti-cancer drugs*, 29(3), 234–242. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000590>
75. Li, W., Ma, X., Li, N., Liu, H., Dong, Q., Zhang, J., Yang, C., Liu, Y., Liang, Q., Zhang, S., Xu, C., Song, W., Tan, S., Rong, P., & Wang, W. (2016). Resveratrol inhibits Hexokinases II mediated glycolysis in non-small cell lung cancer via targeting Akt signaling pathway. *Experimental cell research*, 349(2), 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.11.002>
76. Li, X. L., Ma, R. H., Ni, Z. J., Thakur, K., Cespedes-Acuña, C. L., Wang, S., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2021). Dioscin inhibits human endometrial carcinoma proliferation via G0/G1 cell cycle arrest and mitochondrial-dependent signaling pathway. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 148, 111941. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111941>
77. Li, X., Qu, Z., Jing, S., Li, X., Zhao, C., Man, S., Wang, Y., & Gao, W. (2019). Dioscin-6'-O-acetate inhibits lung cancer cell proliferation via inducing cell cycle arrest and caspase-dependent apoptosis. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 53, 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.033>
78. Lim, W. C., Kim, H., Kim, Y. J., Choi, K. C., Lee, I. H., Lee, K. H., Kim, M. K., & Ko, H. (2017). Dioscin suppresses TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and suppresses A549 lung cancer migration and invasion. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 27(15), 3342–3348. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.06.014>
79. Lin, S.S., Huang, H.P., Yang, J.S., Wu, J.Y., Hsia, T.C., Lin, C.C., Lin, C.W., Kuo, C.L., Gibson Wood, W., Chung, J.G. (2008) DNA damage and endoplasmic reticulum stress mediated curcumin-induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A-549 cells through the activation caspases cascade and mitochondrial- dependent pathway. *Cancer Lett.* 272, 77–90.
80. Liotta, L.A., Stetler-Stevenson, W.G., (1991). Tumor invasion and metastasis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Res.* 51, 5054s–5059s.
81. Liu, M. J., Wang, Z., Ju, Y., Zhou, J. B., Wang, Y., & Wong, R. N. (2004). The mitotic-arresting and apoptosis-inducing effects of diosgenyl saponins on human leukemia cell lines. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 27(7), 1059–1065. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1059>
82. Liu, W., Zhao, Z., Wang, Y., Li, W., Su, Q., Jia, Q., Zhang, J., Zhang, X., Shen, J., & Yin, J. (2018). Dioscin inhibits stem-cell-like properties and tumor growth of osteosarcoma through Akt/GSK3/ β -catenin signaling pathway. *Cell death & disease*, 9(3), 343. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0363-x>

83. Liu, Y. X., Xu, B. W., Chen, Y. J., Fu, X. Q., Zhu, P. L., Bai, J. X., Chou, J. Y., Yin, C. L., Li, J. K., Wang, Y. P., Wu, J. Y., Wu, Y., Chan, K. K., Liang, C., & Yu, Z. L. (2020). Inhibiting the Src/STAT3 signaling pathway contributes to the anti-melanoma mechanisms of dioscin. *Oncology letters*, 19(3), 2508–2514. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11315>
84. Liu, Y. X., Xu, B. W., Niu, X. D., Chen, Y. J., Fu, X. Q., Wang, X. Q., Yin, C. L., Chou, J. Y., Li, J. K., Wu, J. Y., Bai, J. X., Wu, Y., Li, S. M., & Yu, Z. L. (2022). Inhibition of Src/STAT3 signaling-mediated angiogenesis is involved in the anti-melanoma effects of dioscin. *Pharmacological research*, 175, 105983. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105983>
85. Lv, L., Zheng, L., Dong, D., Xu, L., Yin, L., Xu, Y., Qi, Y., Han, X., & Peng, J. (2013). Dioscin, a natural steroid saponin, induces apoptosis and DNA damage through reactive oxygen species: a potential new drug for treatment of glioblastoma multiforme. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 59, 657–669. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.012>
86. Ma, T., Wang, R. P., & Zou, X. (2016). Dioscin inhibits gastric tumor growth through regulating the expression level of lncRNA HOTAIR. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 383. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1360-1>
87. Mahmood, T., & Yang, P. C. (2012). Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *North American journal of medical sciences*, 4(9), 429–434. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.100998>
88. Manda, V. K., Avula, B., Ali, Z., Wong, Y. H., Smillie, T. J., Khan, I. A., & Khan, S. I. (2013). Characterization of in vitro ADME properties of diosgenin and dioscin from *Dioscorea villosa*. *Planta medica*, 79(15), 1421–1428. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1350699>
89. Manikandan S. (2011). Measures of central tendency: The mean. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, 2(2), 140–142. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.81920>
90. Mao, W., Yin, H., Chen, W., Zhao, T., Wu, S., Jin, H., Du, B., Tan, Y., Zhang, R., & He, Y. (2020). Network Pharmacology and Experimental Evidence Reveal Dioscin Suppresses Proliferation, Invasion, and EMT via AKT/GSK3b/mTOR Signaling in Lung Adenocarcinoma. *Drug design, development and therapy*, 14, 2135–2147. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S249651>
91. Mao, Z., Han, X., Chen, D., Xu, Y., Xu, L., Yin, L., Sun, H., Qi, Y., Fang, L., Liu, K., & Peng, J. (2019). Potent effects of dioscin against hepatocellular carcinoma through regulating TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR)-mediated apoptosis, autophagy, and DNA damage. *British journal of pharmacology*, 176(7), 919–937. <https://doi.org/10.1111/bph.14594>
92. McKinnon K. M. (2018). Flow Cytometry: An Overview. *Current protocols in immunology*, 120, 5.1.1–5.1.11. <https://doi.org/10.1002/cpim.40>

93. Mi, Q., Lantvit, D., Reyes-Lim, E., Chai, H., Zhao, W., Lee, I. S., Peraza-Sánchez, S., Ngassapa, O., Kardono, L. B., Riswan, S., Hollingshead, M. G., Mayo, J. G., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Kinghorn, A. D., & Pezzuto, J. M. (2002). Evaluation of the potential cancer chemotherapeutic efficacy of natural product isolates employing in vivo hollow fiber tests. *Journal of natural products*, 65(6), 842–850. <https://doi.org/10.1021/np010322w>
94. Mrozik, K. M., Blaschuk, O. W., Cheong, C. M., Zannettino, A. C. W., & Vandyke, K. (2018). N-cadherin in cancer metastasis, its emerging role in haematological malignancies and potential as a therapeutic target in cancer. *BMC cancer*, 18(1), 939. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4845-0>
95. Nishina, A., Ebina, K., Ukiya, M., Fukatsu, M., Koketsu, M., Ninomiya, M., Sato, D., & Kimura, H. (2015). Dioscin Derived from *Solanum melongena* L. "Usukawamarunasu" Attenuates α -MSH-Induced Melanogenesis in B16 Murine Melanoma Cells via Downregulation of Phospho-CREB and MITF. *Journal of Food Science*, 80(10), H2354–H2359. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13068>
96. Okubo, S., Ohta, T., Shoyama, Y., & Uto, T. (2021). Steroidal Saponins Isolated from the Rhizome of *Dioscorea tokoro* Inhibit Cell Growth and Autophagy in Hepatocellular Carcinoma Cells. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(8), 749. <https://doi.org/10.3390/life11080749>
97. Omran, A. R., (1971). The epidemiologic transition. A theory of the epidemiology of population change. *The Milbank Memorial Fund quarterly*, 49(4), 509–538.
98. Oudit GY, Sun H, Kerfant BG, Crackower MA, Penninger JM, Backx PH. (2004). The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. *J Mol Cell Cardiol.*; 37(2):449-71.
99. Ou-Yang, S. H., Jiang, T., Zhu, L., & Yi, T. (2018). *Dioscorea nipponica* Makino: a systematic review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profiles. *Chemistry Central journal*, 12(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0423-4>
100. Park, G. B., Kim, Y. S., Lee, H. K., Song, H., Kim, S., Cho, D. H., & Hur, D. Y. (2011). Reactive oxygen species and p38 MAPK regulate Bax translocation and calcium redistribution in salubrinal-induced apoptosis of EBV-transformed B cells. *Cancer letters*, 313(2), 235–248. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.09.011>
101. Parkash, J. & Asotra, K., (2010). Calcium wave signaling in cancer cells. *Life Sci.* 87, 587–595.
102. Pathak, N., & Khandelwal, S. (2007). Role of oxidative stress and apoptosis in cadmium induced thymic atrophy and splenomegaly in mice. *Toxicology letters*, 169(2), 95–108. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.12.009>
103. Pinton, P., Ferrari, D., Rapizzi, E., Di Virgilio, F., Pozzan, T., & Rizzuto, R. (2001). The Ca²⁺ concentration of the endoplasmic reticulum is a key

- determinant of ceramide-induced apoptosis: significance for the molecular mechanism of Bcl-2 action. *The EMBO journal*, 20(11), 2690–2701. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.11.2690>
104. Pinzón, C. E., Serrano, M. L., & Sanabria, M. C. (2009). Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. *Revista Ciencias de la Salud*, 7(2), 47-66.
 105. Potter, S.M., Jimenez-Flores, R., Pollack, J., Lone, T.A., Berber-Jimenez, M.D., (1993). Protein–saponin interaction and its influence on blood lipids. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1287–1291.
 106. Renschler M. F. (2004). The emerging role of reactive oxygen species in cancer therapy. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 40(13), 1934–1940. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.02.031>
 107. Savage, G.P. (2003). Saponins. Elsevier, vol. 8, pp. 5095–5097. 24/10/2020, De Elsevier Base de datos. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/01050-6>
 108. Scognamiglio, M., Severino, V., D'Abrosca, B., Chambery, A., Fiorentino, A. (2015). Chapter 4 - Structural Elucidation of Saponins: A Combined Approach Based on High-Resolution Spectroscopic Techniques. En Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry (Vol. 45, pp. 85-120)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63473-3.00004-6>
 109. Scorrano, L., Penzo, D., Petronilli, V., Pagano, F., & Bernardi, P. (2001). Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition. Implications for tumor necrosis factor-alpha apoptotic signaling. *The Journal of biological chemistry*, 276(15), 12035–12040. <https://doi.org/10.1074/jbc.M010603200>
 110. Shamas-Din, A., Kale, J., Leber, B., & Andrews, D. W. (2013). Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5, 1–21. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008714>
 111. Shen, J., Cao, C.N., Su, H., Yang, X.W., Wei, Z.H., Du, L.J., (2008). Evidence of gastrointestinal system as an active and toxic target of sasanqua saponins extract. *Exp. Toxicol. Pathol.* 60, 43–49.
 112. Shuli, M., Wenyuan, G., Yanjun, Z., Chaoyi, M., Liu, Y., & Yiwen, L. (2011). Paridis saponins inhibiting carcinoma growth and metastasis in vitro and in vivo. *Archives of pharmacal research*, 34(1), 43–50. <https://doi.org/10.1007/s12272-011-0105-4>
 113. Si, L., Xu, L., Yin, L., Qi, Y., Han, X., Xu, Y., Zhao, Y., Liu, K., & Peng, J. (2017). Potent effects of dioscin against pancreatic cancer via miR-149-3P-mediated inhibition of the Akt1 signalling pathway. *British journal of pharmacology*, 174(7), 553–568. <https://doi.org/10.1111/bph.13718>
 114. Si, L., Zheng, L., Xu, L., Yin, L., Han, X., Qi, Y., Xu, Y., Wang, C., & Peng, J. (2016). Dioscin suppresses human laryngeal cancer cells growth via induction of cell-cycle arrest and MAPK-mediated mitochondrial-derived

- apoptosis and inhibition of tumor invasion. *European journal of pharmacology*, 774, 105–117. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.02.009>
115. Skulachev V. P. (1996). Why are mitochondria involved in apoptosis? Permeability transition pores and apoptosis as selective mechanisms to eliminate superoxide-producing mitochondria and cell. *FEBS letters*, 397(1), 7–10. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00989-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00989-1)
116. Song, X., Wang, Z., Liang, H., Zhang, W., Ye, Y., Li, H., Hu, Y., Zhang, Y., Weng, H., Lu, J., Wang, X., Li, M., Liu, Y., & Gu, J. (2017). Dioscin Induces Gallbladder Cancer Apoptosis by Inhibiting ROS-Mediated PI3K/AKT Signalling. *International journal of biological sciences*, 13(6), 782–793. <https://doi.org/10.7150/ijbs.18732>
117. Sorenson, C. M., Barry, M. A., & Eastman, A. (1990). Analysis of events associated with cell cycle arrest at G2 phase and cell death induced by cisplatin. *Journal of the National Cancer Institute*, 82(9), 749–755. <https://doi.org/10.1093/jnci/82.9.749>
118. Speth, Z., Islam, T., Banerjee, K., & Resat, H. (2017). EGFR signaling pathways are wired differently in normal 184A1L5 human mammary epithelial and MDA-MB-231 breast cancer cells. *Journal of cell communication and signaling*, 11(4), 341–356. <https://doi.org/10.1007/s12079-017-0389-3>
119. Stern D. F. (2018). Keeping Tumors Out of the MAPK Fitness Zone. *Cancer discovery*, 8(1), 20–23. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1243>
120. Sun, B. T., Zheng, L. H., Bao, Y. L., Yu, C. L., Wu, Y., Meng, X. Y., & Li, Y. X. (2011). Reversal effect of Dioscin on multidrug resistance in human hepatoma HepG2/adriamycin cells. *European journal of pharmacology*, 654(2), 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.12.018>
121. 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>
122. Swinscow, T. D. V. & Campbell, M. J. (2002). *Statistics at square one* (pp. 111-25). London: Bmj.
123. Tabrizi, F. H., Irian, S., Amanzadeh, A., Heidarnejad, F., Gudarzi, H., & Salimi, M. (2016). Anti-proliferative activity of *Fumaria vaillantii* extracts on different cancer cell lines. *Research in pharmaceutical sciences*, 11(2), 152–159.
124. Tao, X., Yin, L., Xu, L., & Peng, J. (2018). Dioscin: A diverse acting natural compound with therapeutic potential in metabolic diseases, cancer, inflammation and infections. *Pharmacological research*, 137, 259–269. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.09.022>
125. Tian, H., Chen, X., Zhang, Y., Wang, Y., Fu, X., Gu, W., & Wen, Y. (2021). Dioscin inhibits SCC15 cell proliferation via the RASSF1A/MST2/YAP

- axis. *Molecular medicine reports*, 23(6), 414.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12053>
126. Tomás Ch., G., Huamán M., J., Aguirre M., R., & Barrera T., M. (2010). EXTRACCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA SAPONINA DEL SAPINDUS SAPONARIA L., "BOLICHE". *Revista Peruana De Química E Ingeniería Química*, 13(2), 36–39. Recuperado a partir de <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4605>
127. Tong, Q., Qing, Y., Wu, Y., Hu, X., Jiang, L., & Wu, X. (2014). Dioscin inhibits colon tumor growth and tumor angiogenesis through regulating VEGFR2 and AKT/MAPK signaling pathways. *Toxicology and applied pharmacology*, 281(2), 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.07.026>
128. Ünver, N., Yöyen Ermiş, D., Weber, B. Z., & Esendağlı, G. (2020). Transcriptional splice variants of CD40 and its prognostic value in breast cancer. *Turkish journal of biology = Turk biyoloji dergisi*, 44(2), 73–81. <https://doi.org/10.3906/biy-1912-21>
129. Vasan, N., Baselga, J., & Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782), 299–309. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1>
130. Vermeulen, K., Berneman, Z. N., & Van Bockstaele, D. R. (2003). Cell cycle and apoptosis. *Cell Proliferation*, 36, 165–175. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.2003.00267.x>
131. Wang, C., & Youle, R. J. (2009). The role of mitochondria in apoptosis. *Annual Review of Genetics*, 43, 95–118.
132. Wang, C., Huo, X., Wang, L., Meng, Q., Liu, Z., Liu, Q., Sun, H., Sun, P., Peng, J., & Liu, K. (2016). Dioscin strengthens the efficiency of adriamycin in MCF-7 and MCF-7/ADR cells through autophagy induction: More than just down-regulation of MDR1. *Scientific reports*, 6, 28403. <https://doi.org/10.1038/srep28403>
133. Wang, D., Sha, L., Xu, C., Huang, Y., Tang, C., Xu, T., Li, X., Di, D., Liu, J., & Yang, L. (2022). Natural saponin and cholesterol assembled nanostructures as the promising delivery method for saponin. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 214, 112448. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112448>
134. Wang, J., & Yi, J. (2008). Cancer cell killing via ROS: to increase or decrease, that is the question. *Cancer biology & therapy*, 7(12), 1875–1884. <https://doi.org/10.4161/cbt.7.12.7067>
135. Wang, L., Meng, Q., Wang, C., Liu, Q., Peng, J., Huo, X., Sun, H., Ma, X., & Liu, K. (2013). Dioscin restores the activity of the anticancer agent adriamycin in multidrug-resistant human leukemia K562/adriamycin cells by down-regulating MDR1 via a mechanism involving NF-κB signaling inhibition. *Journal of natural products*, 76(5), 909–914. <https://doi.org/10.1021/np400071c>

136. Wang, L., Wang, C., Jia, Y., Liu, Z., Shu, X., & Liu, K. (2016). Resveratrol Increases Anti-Proliferative Activity of Bestatin Through Downregulating P-Glycoprotein Expression Via Inhibiting PI3K/Akt/mTOR Pathway in K562/ADR Cells. *Journal of cellular biochemistry*, 117(5), 1233–1239. <https://doi.org/10.1002/jcb.25407>
137. Wang, L., Wang, C., Peng, J., Liu, Q., Meng, Q., Sun, H., Huo, X., Sun, P., Yang, X., Zhen, Y., & Liu, K. (2014). Dioscin enhances methotrexate absorption by down-regulating MDR1 in vitro and in vivo. *Toxicology and applied pharmacology*, 277(2), 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.03.013>
138. Wang, P., Wang, C., & Liu, C. (2021). Antitumor effects of dioscin in A431 cells via adjusting ATM/p53-mediated cell apoptosis, DNA damage and migration. *Oncology letters*, 21(1), 59. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.12321>
139. Wang, S. L., Cai, B., Cui, C. B., Liu, H. W., Wu, C. F., & Yao, X. S. (2003). [Apoptosis of human chronic myeloid leukemia k562 cell induced by prosapogenin B of dioscin (P.B) in vitro] *Ai zheng = Aizheng = Chinese journal of cancer*, 22(8), 795–800.
140. Wang, S., Yan, Y., Cheng, Z., Hu, Y., Liu, T. (2018) Sotetsuflavone suppresses invasion and metastasis in non-small-cell lung cancer A549 cells by reversing EMT via the TNF- α /NF- κ B and PI3K/AKT signaling pathway. *Cell Death Discov* 4:26.
141. Wang, X. X., Yu, P. C., & Li, J. (2020). High-Throughput Metabolomics for Identification of Metabolic Pathways and Deciphering the Effect Mechanism of Dioscin on Rectal Cancer From Cell Metabolic Profiles Coupled With Chemometrics Analysis. *Frontiers in pharmacology*, 11, 68. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00068>
142. Wang, Y. C., Wu, D. W., Wu, T. C., Wang, L., Chen, C. Y., & Lee, H. (2018). Dioscin overcome TKI resistance in EGFR-mutated lung adenocarcinoma cells via down-regulation of tyrosine phosphatase SHP2 expression. *International journal of biological sciences*, 14(1), 47–56. <https://doi.org/10.7150/ijbs.22209>
143. Wang, Y. H., Shi, M., Niu, H. M., Yang, J., Xia, M. Y., Luo, J. F., Chen, Y. J., Zhou, Y. P., & Li, H. (2018). Substituting one Paris for another? In vitro cytotoxic and in vivo antitumor activities of Paris forrestii, a substitute of Paris polyphylla var. yunnanensis. *Journal of ethnopharmacology*, 218, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.022>
144. Wang, Y., Che, C. M., Chiu, J. F., & He, Q. Y. (2007). Dioscin (saponin)-induced generation of reactive oxygen species through mitochondria dysfunction: a proteomic-based study. *Journal of proteome research*, 6(12), 4703–4710. <https://doi.org/10.1021/pr070399r>
145. Wang, Y., Cheung, Y. H., Yang, Z., Chiu, J. F., Che, C. M., & He, Q. Y. (2006). Proteomic approach to study the cytotoxicity of dioscin (saponin). *Proteomics*, 6(8), 2422–2432. <https://doi.org/10.1002/pmic.200500595>

146. Wang, Y., Fu, M., Liu, J., Yang, Y., Yu, Y., Li, J., Pan, W., Fan, L., Li, G., Li, X., & Wang, X. (2019). Inhibition of tumor metastasis by targeted daunorubicin and dioscin codelivery liposomes modified with PFV for the treatment of non-small-cell lung cancer. *International journal of nanomedicine*, 14, 4071–4090. <https://doi.org/10.2147/IJN.S194304>
147. Wang, Y., He, Q. Y., & Chiu, J. F. (2014). Dioscin induced activation of p38 MAPK and JNK via mitochondrial pathway in HL-60 cell line. *European journal of pharmacology*, 735, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.04.018>
148. Wang, Y., Yang, Y., Yu, Y., Li, J., Pan, W., Yang, X., Zhang, Z., Jiang, S., Yang, X., & Wang, X. (2020). Transferrin Modified Dioscin Loaded PEGylated Liposomes: Characterization and *In Vitro* Antitumor Effect. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 20(3), 1321–1331. <https://doi.org/10.1166/jnn.2020.16955>
149. Wang, Z., Cheng, Y., Wang, N., Wang, D. M., Li, Y. W., Han, F., Shen, J. G., Yang, D. P., Guan, X. Y., & Chen, J. P. (2012). Dioscin induces cancer cell apoptosis through elevated oxidative stress mediated by downregulation of peroxiredoxins. *Cancer biology & therapy*, 13(3), 138–147. <https://doi.org/10.4161/cbt.13.3.18693>
150. Wang, Z., Zhou, J., Ju, Y., Zhang, H., Liu, M., & Li, X. (2001). Effects of two saponins extracted from the polygonatum Zanolanscianense pamp on the human leukemia (HL-60) cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 24(2), 159–162. <https://doi.org/10.1248/bpb.24.159>
151. Wechman, S. L., Emdad, L., Sarkar, D., Das, S. K., & Fisher, P. B. (2020). Vascular mimicry: Triggers, molecular interactions and in vivo models. *Advances in cancer research*, 148, 27–67. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2020.06.001>
152. Wei, Y., Xu, Y., Han, X., Qi, Y., Xu, L., Xu, Y., Yin, L., Sun, H., Liu, K., & Peng, J. (2013). Anti-cancer effects of dioscin on three kinds of human lung cancer cell lines through inducing DNA damage and activating mitochondrial signal pathway. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 59, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.054>
153. Wendel HG, De Stanchina E, Fridman JS, 44. Malina A, Ray S, Kogan S. (2004). Survival signalling by Akt and eIF4E in oncogenesis and cancer therapy. *Nature*. Mar 18;428(6980):332-7.
154. Wertz, I. E., & Dixit, V. M. (2000). Characterization of calcium release-activated apoptosis of LNCaP prostate cancer cells. *The Journal of biological chemistry*, 275(15), 11470–11477. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.15.11470>
155. Wu, JI., Wang, LH. (2019) Emerging roles of gap junction proteins connexins in cancer metastasis, chemoresistance and clinical application. *J Biomed. Sci.* 26, 8. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0497-x>

156. Wu, Z., Han, X., Tan, G., Zhu, Q., Chen, H., Xia, Y., Gong, J., Wang, Z., Wang, Y., & Yan, J. (2020). Dioscin Inhibited Glycolysis and Induced Cell Apoptosis in Colorectal Cancer via Promoting c-myc Ubiquitination and Subsequent Hexokinase-2 Suppression. *OncoTargets and therapy*, 13, 31–44. <https://doi.org/10.2147/OTT.S224062>
157. Xi, P., Niu, Y., Zhang, Y., Li, W., Gao, F., Gu, W., Kui, F., Liu, Z., Lu, L., & Du, G. (2022). The mechanism of dioscin preventing lung cancer based on network pharmacology and experimental validation. *Journal of ethnopharmacology*, 292, 115138. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115138>
158. Xiao, J., Zhang, G., Li, B., Wu, Y., Liu, X., Tan, Y., & Du, B. (2017). Dioscin augments HSV-tk-mediated suicide gene therapy for melanoma by promoting connexin-based intercellular communication. *Oncotarget*, 8(1), 798–807. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13655>
159. Xu, T., Zhang, S., Zheng, L., Yin, L., Xu, L., & Peng, J. (2012). A 90-day subchronic toxicological assessment of dioscin, a natural steroid saponin, in Sprague-Dawley rats. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 50(5), 1279–1287. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.027>
160. Yadav, P., Jaswal, V., Sharma, A., Kashyap, D., Tuli, H. S., Garg, V. K., Das, S. K., & Srinivas, R. (2018). Celastrol as a pentacyclic triterpenoid with chemopreventive properties. *Pharmaceutical patent analyst*, 7(4), 155–167. <https://doi.org/10.4155/ppa-2017-0035>
161. Yao, J., Liu, J., & Zhao, W. (2018). By blocking hexokinase-2 phosphorylation, limonin suppresses tumor glycolysis and induces cell apoptosis in hepatocellular carcinoma. *OncoTargets and therapy*, 11, 3793–3803. <https://doi.org/10.2147/OTT.S165220>
162. Yao, X. M., Niu, F. J., Kong, L., Cai, F. Y., Jing, M., Fu, M., Liu, J. J., He, S. Y., Zhang, L., Liu, X. Z., Ju, R. J., & Li, X. T. (2020). GGP modified daunorubicin plus dioscin liposomes inhibit breast cancer by suppressing epithelial-mesenchymal transition. *Drug development and industrial pharmacy*, 46(6), 916–930. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1763397>
163. Yao, Y., Cui, L., Ye, J., Yang, G., Lu, G., Fang, X., Zeng, Z., & Zhou, J. (2020). Dioscin facilitates ROS-induced apoptosis via the p38-MAPK/HSP27-mediated pathways in lung squamous cell carcinoma. *International journal of biological sciences*, 16(15), 2883–2894. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45710>
164. Yum, C.H., You, H.J. & Ji, G.E. (2010). Cytotoxicity of Dioscin and Biotransformed Fenugreek. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53, 470–477. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.072>
165. Zhang, G., Xiao, J., Shao, H., Lai, X., Qiu, P., Wu, Y., Tan, Y., Du, B. (2012). Effects of dioscin on the gap junction function in 786-0 cell of human renal carcinoma. *Chinese Pharmacological Bulletin* 28 pp. 778–782. <http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1001-1978.2012.06.011>

166. Zhang, G., Zeng, X., Zhang, R., Liu, J., Zhang, W., Zhao, Y., Zhang, X., Wu, Z., Tan, Y., Wu, Y., & Du, B. (2016). Dioscin suppresses hepatocellular carcinoma tumor growth by inducing apoptosis and regulation of TP53, BAX, BCL2 and cleaved CASP3. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 23(12), 1329–1336. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.07.003>
167. Zhang, G., Zeng, X., Zhang, R., Liu, J., Zhang, W., Zhao, Y., Zhang, X., Wu, Z., Tan, Y., Wu, Y., & Du, B. (2016). Dioscin suppresses hepatocellular carcinoma tumor growth by inducing apoptosis and regulation of TP53, BAX, BCL2 and cleaved CASP3. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 23(12), 1329–1336. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.07.003>
168. Zhang, Y. S., Ma, Y. L., Thakur, K., Hussain, S. S., Wang, J., Zhang, Q., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2018). Molecular mechanism and inhibitory targets of dioscin in HepG2 cells. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 120, 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.016>
169. Zhang, Y., Li, H. Z., Zhang, Y. J., Jacob, M. R., Khan, S. I., Li, X. C., & Yang, C. R. (2006). Atropurosides A-G, new steroidal saponins from *Smilacina atropurpurea*. *Steroids*, 71(8), 712–719. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.04.005>
170. Zhao, J., Xu, Y., Wang, C., Ding, Y., Chen, M., Wang, Y., Peng, J., Li, L., & Lv, L. (2017). Soluplus/TPGS mixed micelles for dioscin delivery in cancer therapy. *Drug development and industrial pharmacy*, 43(7), 1197–1204. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1304956>
171. Zhao, X., Ren, H., Gao, S., Hao, J. (2014) [Effects of dioscin on apoptosis in pancreatic cancer MiaPaCa-2 cells and its mechanism]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. Jan;36(1): pp. 5-10. Chinese. PMID: 24685079.
172. Zhao, X., Tao, X., Xu, L., Yin, L., Qi, Y., Xu, Y., Han, X., & Peng, J. (2016). Dioscin Induces Apoptosis in Human Cervical Carcinoma HeLa and SiHa Cells through ROS-Mediated DNA Damage and the Mitochondrial Signaling Pathway. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(6), 730. <https://doi.org/10.3390/molecules21060730>
173. Zhao, X., Xu, L., Zheng, L., Yin, L., Qi, Y., Han, X., Xu, Y., & Peng, J. (2016). Potent effects of dioscin against gastric cancer in vitro and in vivo. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 23(3), 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.01.012>
174. Zhao, Y.C., Xue, C.H., Zhang, T.T., Wang, Y.M. (2018). Saponins from Sea Cucumber and Their Biological Activities. *Journal of Agricultural and Food*
175. Zhou, J., Ren, T., Li, Y., Cheng, A., Xie, W., Xu, L., Peng, L., Lin, J., Lian, L., Diao, Y., Jin, X., & Yang, L. (2017). Oleoylethanolamide inhibits α-

- melanocyte stimulating hormone-stimulated melanogenesis via ERK, Akt and CREB signaling pathways in B16 melanoma cells. *Oncotarget*, 8(34), 56868–56879. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18097>
176. Zhou, L., Yu, X., Li, M., Gong, G., Liu, W., Li, T., Zuo, H., Li, W., Gao, F., & Liu, H. (2020). Cdh1-mediated Skp2 degradation by dioscin reprogrammes aerobic glycolysis and inhibits colorectal cancer cells growth. *EBioMedicine*, 51, 102570. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.031>
177. Zhou, Q., Song, W., & Xiao, W. (2017). Dioscin induces demethylation of DAPK-1 and RASSF-1alpha genes via the antioxidant capacity, resulting in apoptosis of bladder cancer T24 cells. *EXCLI journal*, 16, 101–112. <https://doi.org/10.17179/excli2016-571>
178. Zhou, X., Jiang, W., Liu, Z., Liu, S., & Liang, X. (2017). Virus Infection and Death Receptor-Mediated Apoptosis. *Viruses*, 9(11), 316. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/v9110316>