

Susana Miranda Ibarra

Caracterización del perfil fenólico, capacidad antioxidante y efecto citotóxico
De un extracto acuoso de hojas de *Porophyllum ruderale* en células
de cáncer de colon

2024



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Caracterización del perfil fenólico, capacidad antioxidante y
efecto citotóxico de un extracto acuoso de hojas de
Porophyllum ruderale en células de cáncer de colon

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Licenciatura en Nutrición

Presenta

Susana Miranda Ibarra

Dirigido por

Director: Dr. Aarón Kuri García

Co-directora: Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda

Querétaro, Qro. 21 de mayo 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Nutrición

Caracterización del perfil fenólico, capacidad antioxidante y efecto citotóxico de un extracto acuoso de hojas de *Porophyllum ruderale* en células de cáncer de colon.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Licenciatura en Nutrición

Presenta:

Susana Miranda Ibarra

Dirigido por:

Director: Dr. Aarón Kuri García

Co-directora: Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda

SINODALES

Dr. Aarón Kuri García

Presidente

Firma

Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda

Secretario

Firma

MCNH. Ángel Félix Vargas Madriz

Vocal

Firma

MNH. Francisco Josué López Martínez

Suplente

Firma

Dr. Jorge Luis Chávez Servín

Suplente

Firma

Dr. José Guadalupe Gómez Soto

Director de la Facultad

Dr. Manuel Toledano Ayala

Secretario de Investigación
Innovación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Junio 2024 México

RESUMEN

El cáncer de colon en México es el tercer cáncer más común, con una prevalencia de 37 mil casos en el mismo periodo, siendo más común en los hombres representan el 52.2% de casos. Y una manera para poder contrarrestar o prevenir el cáncer es consumiendo antioxidantes que se pueden encontrar en frutas, verduras y hortalizas. En México desde la época prehispánica, los quelites han sido una importante fuente de nutrición humana, los nutrientes y compuestos bioactivos de estas plantas han sido utilizados para tratar enfermedades. En este trabajo se analizó la composición nutricional, caracterización fenólica, capacidad antioxidante y el efecto citotóxico de *Porophyllum ruderale* en células de cáncer. A partir de la obtención de la muestra vegetal se realizaron extracciones acuosas. Se determinaron los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos condensados y capacidad antioxidante. Para ver el efecto citotóxico, se eligieron células humanas de cáncer de colon SW480 se obtuvieron de la ATCC, y mediante el MTT se determinó la concentración letal media. Para la evaluación de apoptosis se utilizó el kit de Anexina V y se leyó con el equipo de Muse®. Los resultados en compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados muestran mayor contenido de fenoles que de flavonoides (contenido total de fenoles $2,645.50 \pm 10.70$ mg EAG/ 100 g EL : contenido total de flavonoides 475.40 ± 26.10 mg EC/100 g EL). Se obtuvo la CL₅₀ en la línea celular SW480 con valores de 15.34 mg/ml. Se mostró que el *P.ruderale* es efectivo para inducir apoptosis (44.62%), donde nos arrojó que las células tratadas por este extracto exhibieron principalmente apoptótica temprana (G0). Con estos resultados, podemos concluir que el *Porophyllum ruderale* es un agente natural biológicamente activo que muestra tener un gran potencial terapéutico para el tratamiento de cáncer de colon en humanos. Sin embargo, es necesario hacer más investigaciones *in vivo* para evaluar dichos efectos.

Palabras clave: **Quelites, polifenoles, actividad antioxidante, composición nutricional, pápalo.**

SUMMARY

Colon cancer in Mexico is the third most common cancer, with a prevalence of 37 thousand cases in the same period, being more common in men representing 52.2% of cases. And one way to counteract or prevent cancer is by consuming antioxidants that can be found in fruits, vegetables and greens. In Mexico since pre-Hispanic times, quelites have been an important source of human nutrition; the nutrients and bioactive compounds of these plants have been used to treat diseases. In this work, the nutritional composition, phenolic characterization, antioxidant capacity and cytotoxic effect of *Porophyllum ruderale* on cancer cells were analyzed. Aqueous extractions were performed from the plant sample. Phenolic compounds, flavonoids, condensed tannins and antioxidant capacity were determined. In order to see the cytotoxic effect, human colon cancer cells SW480 were obtained from ATCC, and by means of MTT the mean lethal concentration was determined. For apoptosis evaluation, the Annexin V kit was used and read with Muse® equipment. The results in phenolic compounds, flavonoids and condensed tannins show higher content of phenols than flavonoids (total phenol content $2,645.50 \pm 10.70$ mg EAG/ 100 g EL : total flavonoid content 475.40 ± 26.10 mg EC/100 g EL). The LC50 was obtained in the SW480 cell line with values of 15.34 mg/ml. It was shown that *P.ruderale* is effective in inducing apoptosis (44.62%), where we found that the cells treated by this extract exhibited mainly early apoptotic (G0). With these results, we can conclude that *Porophyllum ruderale* is a biologically active natural agent that shows great therapeutic potential for the treatment of colon cancer in humans. However, further *in vivo* investigations are needed to evaluate these effects.

Key words: **chelites, polyphenols, antioxidant activity, nutritional composition, papalo.**

DEDICATORIAS

Este trabajo se lo dedico a mi familia por el apoyo incondicional que fueron durante todo mi trayecto académico. A mi mamá por ser mi más grande inspiración en la vida, gracias por tu amor y por ser mi apoyo moral para seguir adelante y perseguir mis sueños. A mi papá por el esfuerzo, la perseverancia y el amor que me ha dado para no rendirme. A mi hermana por cuidarme y aconsejarme a pesar de estar lejos. Gracias familia por creer y confiar en mi.

También le dedico este trabajo a mi perrito Yuki Q.E.P.D. por acompañarme y desvelarse conmigo cuando hacía mis tareas o estudiaba, él hacía que mis noches fueran más tranquilas. Gracias por haber sido mi soporte emocional y mi más bonita compañía en la vida.

Gracias a mis amigas y amigos por haber sido mi motivación, mi soporte y mi inspiración. Gracias por haber hecho mi etapa de la universidad más divertida y amena.

Gracias a mis maestros por haberme formado en esta bonita carrera que es nutrición, gracias por haberme hecho más crítica, analítica pero sobre todo humana y empática.

AGRADECIMIENTOS

Extiendo mi más sincera gratitud a mi director el Dr. Aarón Kuri García y mi co-directora la Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda por su confianza, su dedicación y su paciencia infinita hacia mí y al trabajo realizado. Gracias por aconsejarme, guiarme y compartirme de su sabiduría y sus conocimientos.

De igual manera agradezco al Dr. Jorge Luis Chávez Servin, al MCNH. Ángel Félix Vargas Madriz y al MNH. Francisco Josué López Martínez por las observaciones, comentarios y consejos que han sido cruciales para la tesis.

Finalmente agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro por la trayectoria y el apoyo que se me brindó para mi preparación académica y profesional.

A cada uno de ustedes, mi más profundo agradecimiento por su contribución a este viaje académico.

ÍNDICE GENERAL

Contenido

I. INTRODUCCIÓN	8
II. REVISIÓN DE LITERATURA	9
2.1. Cáncer	9
2.2. Cáncer de colon	9
2.2.1 Factores de riesgo.....	10
2.3. Carcinogénesis del colon	11
2.3.1 Principales genes implicados en carcinogénesis.....	12
<i>apc</i> y <i>β-catenina</i>	14
<i>K-ras</i>	14
<i>DCC</i>	14
p53.....	15
2.4. Ciclo celular	15
2.4.1 Etapas de la interfase.....	16
2.4.2 Mitosis.....	17
2.4.3 La regulación del ciclo celular	18
2.5. Apoptosis	19
2.5.1 Vías de la apoptosis.....	19
2.5.2 Apoptosis y cáncer.....	21
2.6. Tratamientos del Cáncer de Colon.	21
2.6.1 Tratamientos convencionales.....	23
2.6.2 Radioterapia contra el cáncer de colon	24
2.6.3 Quimioterapia contra el cáncer colorrectal	25
2.6.4 Tratamientos del CC según la etapa	26
2.6.5 Tratamientos alternativos y coadyuvantes	27
2.7. Estrés oxidativo en el cáncer	28
2.7.1 Radicales libres.....	28
2.7.2 Los antioxidantes y su papel protector en el cáncer.....	29
2.8. Quelites	29
2.9. <i>Porophyllum ruderale</i>	30
2.9.1 Distribución	30

2.9.2	Importancia económica	30
2.9.3	Contenido nutricional.....	31
III.	JUSTIFICACIÓN	32
IV.	OBJETIVOS	33
4.1.	Objetivo general.....	33
4.2.	Objetivos específicos	33
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1.	<i>Materia Vegetal.....</i>	33
5.2.	<i>Extracto acuoso.....</i>	34
5.3.	<i>Cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y taninos condensados.</i>	34
5.4.	<i>Cuantificación de capacidad antioxidante</i>	34
5.5.	<i>Ensayos de cultivo celular.....</i>	35
5.6.	<i>Determinación de la actividad metabólica celular mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT).....</i>	35
5.7.	<i>Evaluación de la apoptosis mediante citometría de flujo.....</i>	35
5.8.	<i>Análisis del ciclo celular por citometría de flujo</i>	36
5.9.	<i>Análisis estadístico</i>	36
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
6.1.	<i>Perfil de polifenoles del P.ruderales</i>	36
6.2.	<i>Capacidad antioxidante del P.ruderales</i>	37
6.3.	<i>Dosis-respuesta en las células SW480.....</i>	38
6.4.	<i>El extracto de PR induce apoptosis en células SW480 y el ciclo celular detenido en la etapa G0/G1</i>	40
6.5.	<i>Análisis del ciclo celular por citometría de flujo</i>	43
VII.	CONCLUSIONES	45
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales genes implicados en carcinogénesis.....	12
Tabla 2.	22
<i>Estratificación del cáncer colorrectal con la clasificación basada en los sistemas TNM y de Dukes</i>	22
Tabla 3. Componentes nutricionales de pápalo quelite.	31
Tabla 4. Análisis de los compuestos fenólicos de <i>P. ruderale</i>	36
Tabla 5. Análisis de la capacidad antioxidante de <i>P. ruderale</i>	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	39
Figura 2.	39
Figura 3.	41
Figura 4.	44

I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas como parte de la medicina ha sido de gran ayuda durante toda nuestra trayectoria en la humanidad y actualmente, debido a su accesibilidad, muchas comunidades y pueblos de México sigue siendo importante y no sólo su uso es medicinal, si no, que además es parte de su dieta. Algunas plantas medicinales son consideradas como quelites, los quelites son verduras tiernas comestibles, sobre todo hojas o hierbas tiernas, así como tallos modificados, botones florales, guías, retoños y algunas flores. Los quelites han formado parte de la dieta mexicana desde épocas prehispánicas. Por lo mismo, se han hecho varios estudios sobre las plantas, de tal manera que resultó que abarcan una amplia gama de actividades metabólicas, por lo que intervienen en varias funciones en el organismo. La mayoría de las plantas medicinales es que es un agente antioxidante, por lo que un gran número de publicaciones ha tenido este enfoque, en investigar sus compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante, debido a que tienen múltiples efectos en enfermedades crónicas, como las cardiovasculares, la neurodegeneración y el cáncer.

El cáncer de colon en México, según los datos del Global Cancer Observatory realizados en el 2015 al 2020, es el tercer cáncer más común, con una prevalencia de 37 mil (37,473) casos en el mismo periodo siendo más común donde en hombres representa el 52.2% de los casos (GCO, 2016).

Debido a esto, se toma principalmente como estudio al *Porophyllum ruderale* conocido como pápalo, con el objetivo de determinar el perfil fenólico, capacidad antioxidante y efecto citotóxico por apoptosis y ciclo celular, a través de técnicas colorimétricas como DPPH, FRAP, ABTS y MTT en células de cáncer de colon SW480.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cáncer

Según las OMS, el cáncer es un término genérico utilizado para designar un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo (OMS, 2022). Actualmente, el cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente, lo que conduce a la formación de agregados que crecen dañando tejidos vecinos, se nutren del organismo y alteran su fisiología. Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos, donde encuentran un nicho apropiado para continuar su crecimiento originando una metástasis (Sánchez, 2013)

El cáncer es la principal causa de muerte en el mundo: en 2020 se atribuyeron a esta enfermedad casi 10 millones de defunciones, es decir, casi una de cada seis de las que se registran. Los tipos de cáncer más comunes son los de mama, pulmón, colon y recto y próstata. (OMS, 2022)

En México, se estiman 190,000 nuevos casos y más de 83,000 muertes por cáncer al año, lo que representa la tercera causa de mortalidad en el país. Se estima que dentro de los próximos 20 años exista un aumento del 70% en el número de casos nuevos en el mundo (Brau-Figueroa *et al.*, 2020).

2.2. Cáncer de colon

El cáncer de colon (CC) es el segundo y tercer cáncer más común en mujeres y hombres, respectivamente en el mundo. En el 2022, según los datos de la página web de Global Cancer Observatoy, las personas que tienen cáncer, el 5.90% pertenece a los hombres con cáncer de colon y el 5.1% a las mujeres con cáncer de colon. (GCO, 2022.).

En México, según los datos del Global Cancer Observatory realizados en el 2015 al 2020, es el tercer cáncer más común, con una prevalencia de 37 mil (37,473) casos en el mismo periodo siendo más común en los hombres representan el 52.2% de los casos (GCO, 2016).

La supervivencia a 5 años en general es del 64.4%. La etapa del cáncer, que depende de la extensión del cáncer en la pared del colon, determina las opciones de tratamiento e influye en la duración de la supervivencia. Mientras más temprana se haga la detección del cáncer de colon mayor será la sobrevivencia a los siguientes 5 años después de haber sido diagnosticada (Leal-Omar *et al.*, 2019).

2.2.1 Factores de riesgo

El CC es multicausal, pero está relacionado con dos escenarios: el esporádico y el genético. El esporádico oscila entre el 80 y 90% de los casos. Al parecer sigue en la secuencia el adenocarcinoma asociado a factores ambientales y estilos de vida. El escenario genético está definido por presentar antecedentes familiares como la presencia de enfermedades polipósicas y no polipósicas del colon y la enfermedad inflamatoria intestinal. (Vanegas *et al.*, 2020).

- Genéticos

La mutación de ADN acelera la progresión morfológica de la mucosa normal a adenoma y a tumor maligno, estas mutaciones se observan en genes específicos: genes supresores tumorales, oncogenes y genes reparadores del ADN. El 80% de los adenomas ocurren por mutación en el gen *apc* (*Adenomatous polyposis coli*), responsable de la Poliposis Adenomatosa Familiar, después se generan mutaciones en otros genes incluyendo *K-ras*, *p53*, *dcc* y genes reparadores del ADN. (Vanegas *et al.*, 2020).

- Estilo de vida

El CC presenta una estrecha relación con los estilos de vida. Algunos de estos son la dieta, la falta de actividad física, consumo de alcohol y tabaco. El alto consumo de grasas en la dieta genera varias alteraciones, por ejemplo, el aumento de ácidos biliares derivados del colesterol, donde las metaloproteínas tienen una acción agresiva sobre la mucosa intestinal. (Vanegas *et al.*, 2020).

También, se ha descrito que el consumo frecuente de carnes a largo plazo ha demostrado un mayor riesgo de CC, especialmente de carnes rojas (res, cerdo, cordero), incluso más fuerte que las carnes procesadas (salchichas, hamburguesas, carne ahumada y enlatada) (Vanegas *et al.*, 2020).

El tabaco y el alcohol se han descrito relacionados a esta neoplasia. El tabaco contiene un número elevado de carcinógenos, incluyendo los hidrocarburos aromáticos policíclicos, nicotina y aminas aromáticas cuya exposición prolongada puede derivar en cáncer en el sistema digestivo, en el esófago y CC (Vanegas *et al.*, 2020).

Por su parte, el alcohol induce la proliferación celular, bloqueando la donación de grupos metilo e inhibiendo el reparto del ADN. Cuando hay exceso de consumo de alcohol el riesgo de CC aumenta entre 2-3 veces (Vanegas *et al.*, 2020).

Adicionalmente, el estrés (considerando como la expresión de alteraciones psicosomáticas debido a la influencia de situaciones adversas), puede generar el desarrollo de enfermedades asociadas especialmente a CC, debido a procesos directos e indirectos. Los procesos directos se producen por alteraciones en la fisiología del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, que generan cambios hormonales (cortisol, adrenalina, noradrenalina) tras la activación del factor liberador de corticotropina (*CRH*), generando la secreción excesiva de la hormona adrenocorticotropina (*ACTH*), las cuales actúan en la síntesis nuclear de los nucleótidos cíclicos *AMPc* y *GMPc*, también por la liberación de citoquinas proinflamatorias (*IFN-alfa*) (Vanegas *et al.*, 2020).

Por otro lado, los indirectos se refieren a modificaciones de comportamientos como el incremento del sedentarismo y consumo de alcohol que facilitan condiciones no saludables favorecedoras de la presentación y desarrollo de la oncogénesis.

- Comorbilidad

La obesidad se vincula de forma directa con la aparición de diabetes mellitus tipo 2 y aumento de riesgo cardiovascular, es una condición en la que las personas son menos activas de manera física, sintetizan concentraciones elevadas de insulina y pueden consumir exceso de calorías provenientes de grasas, hidratos de carbono, promoviendo el factor de riesgo para CC. Al disminuir la obesidad y la adiposidad central, disminuyen los niveles de insulina que estimulan el crecimiento tumoral, promueven el tránsito intestinal, limitando la cantidad de tiempo los carcinógenos potenciales en el intestino. Esto se debe a la capacidad que tiene la insulina de participar en mecanismos moleculares que codifican factores de crecimiento como el *IGF-1* (factor de crecimiento similar a la insulina) que induce apoptosis y crecimiento de las células del colon, también a los genes proinflamatorios y oncogenes, generando predisposición a presentar CC (Vanegas *et al.*, 2020).

2.3. Carcinogénesis del colon

El CC es el resultado de una progresión y acumulación de diversas alteraciones genéticas. Se considera que son varios genes, incluidos oncogenes (reguladores positivos del ciclo celular), genes supresores tumorales (reguladores negativos del ciclo

celular) y genes de reparación del ADN, los que juegan un papel fundamental en la carcinogénesis colorrectal (Catalán et al., 2003).

El CC ocurre en las criptas intestinales, que son invaginaciones del epitelio superficial y se dividen en dos zonas: la zona proliferativa o “nicho de células madre”, que se ubica en la base, y la zona de diferenciación, que se ubica hacia la luz intestinal. El recambio ocurre cada tres a seis días y consiste en la regeneración de nuevos clones de células a partir de las células madre de la zona proliferativa, que se especializan en células epiteliales intestinales en la zona de diferenciación, manteniendo así la mucosa colónica (Vanegas et al., 2020).

Un desequilibrio en el patrón normal celular de recambio favorece la proliferación celular disminuyendo la muerte por apoptosis y conllevando a que ocurra un agrandamiento y fisión de las criptas, formando focos de criptas aberrantes, que a escala macroscópica se ven como pólipos o protrusiones de tejido hacia la luz intestinal (Sanabria, 2012).

En 1990 se desarrolló un modelo de carcinogénesis colorrectal en el cual se propuso que (i) en una etapa temprana, durante el desarrollo de los pólipos, aparecen mutaciones en el gen *apc*, (ii) a continuación, durante la etapa adenomatosa se originan mutaciones en *K-ras* y (iii) mutaciones en p53 y deleciones en el cromosoma 18 coinciden con la transición al carcinoma. (Catalán et al., 2003)

2.3.1 Principales genes implicados en carcinogénesis

Tabla 1. Principales genes implicados en carcinogénesis. (Modificado de Vanegas et al., 2020)

Gen	Descripción	Función
<i>apc</i>	Es un supresor tumoral que se encuentra en el cromosoma 5q21, se identifica en pacientes que presentan poliposis adenomatosa familiar, las mutaciones en esta región conducen a la inactivación del gen, provocando la acumulación de la beta catenina, alterando la proliferación y funcionamiento celular llevando al desarrollo de adenomas.	<ul style="list-style-type: none"> ● Migración y adherencia celular. ● Segregación cromosómica ● Ensamblaje del huso mitótico ● Control del ciclo celular ● Reparación del ADN, mantenimiento del homeostasis del epitelio intestinal. ● Adherencia intercelular ● Estabilización del citoesqueleto

		<ul style="list-style-type: none"> • Regulación del ciclo celular
<i>CTNNB1</i>	Es un oncogen que codifica la beta-catenina. Es parte de una serie de proteínas que forman uniones adherentes, importantes en las capas celulares.	<ul style="list-style-type: none"> • Adhesión celular • Transducción de señales
<i>K-ras</i>	El oncogén K-ras pertenece a la familia de genes RAS y codifica una proteína involucrada en la regulación de señales relacionadas con el crecimiento y la diferenciación celular. Esta proteína funciona como un interruptor molecular que participa en procesos de transducción de señales intracelulares. Se ha reportado la presencia de alteraciones en este gen en aproximadamente el 30 al 50% de los casos de CC. Además, K-ras desempeña un papel relevante en la progresión de adenoma a carcinoma.	<ul style="list-style-type: none"> • Proliferación celular, angiogénesis y supresión de la apoptosis
<i>myc</i>	Familia de protooncogenes compuesta por varios miembros. Se encuentran en las células normales y codifican proteínas del núcleo de la célula que se unen al ADN y facilitan su transcripción, regulan por lo tanto la actividad de otros genes.	<ul style="list-style-type: none"> • Regulación del ciclo celular
<i>p53</i>	Es un supresor tumoral producto del gen TP53	<ul style="list-style-type: none"> • Proteína p53 producto del gen TP53. Induce al ciclo celular a que se detenga cuando se presenta mutación del ADN, dando tiempo para que se repare la mutación, se encuentra en el 50% de los cánceres humanos.
<i>dcc</i>	El gen DCC actúa como un gen supresor tumoral y codifica un receptor localizado en la superficie celular. Este receptor interactúa con la proteína netrina-1 y participa en procesos relacionados con la adhesión celular y la apoptosis.	<ul style="list-style-type: none"> • Apoptosis y adherencia, diferenciación y crecimiento celular mediados por interacciones celulares. • Suprime la metástasis de células tumorales cuando aumentan los niveles de DCC

apc y β -catenina

El gen supresor tumoral *apc* participa de manera importante en el desarrollo del cáncer colorrectal esporádico, ya que presenta mutaciones en una gran proporción de los casos diagnosticados, mayormente hasta en un 70%. Una de sus principales funciones está relacionada con la regulación *β -catenina* y con un glicógeno sintetasa quinasa (*GSK-3 β*) mediante la vía de señalización Wnt. En condiciones normales, en el citoplasma, el *apc* junto con *GSK-3 β* se unen a *β -catenina*, dándose así su fosforilación y posterior degradación. Sin embargo, cuando ocurren mutaciones en el gen *apc*, este mecanismo de regulación se altera y la *β -catenina* se acumula y queda libre en el citoplasma. Posteriormente, dicha proteína puede desplazarse hacia el núcleo celular, donde activa genes relacionados con procesos oncogénicos como el complejo factor de células T (*TCF*) (Catalán et al., 2003).

K-ras

El oncogén *K-ras* codifica una proteína involucrada en la transmisión intracelular de señales relacionadas con el crecimiento celular. Las mutaciones con este gen se han asociados con adenomas de mayor tamaño e incremento en el grado de displasia. El papel que desempeña la presencia de mutaciones en esta vía de desarrollo tumoral no está claro, pero diversos estudios sugieren que estas mutaciones podrían favorecer la progresión hacia un carcinoma debido a cambios de la actividad de la proteína *GTPasa*. Asimismo, se ha observado que adenomas pequeños con mutaciones en *K-ras* son aquellos que representan una evolución más rápida hacia formas malignas. Algunas variaciones específicas del gen también se relacionan con distintos comportamientos clínicos y riesgo de metástasis. (Catalán et al., 2003).

DCC

El gen *carcinoma colorectal deleted* (*DCC*) se encuentra localizado en la región 18q21.1, del cromosoma y está conformado por 29 exones. Este gen codifica un receptor transmembranal involucrado en procesos como apoptosis, adhesión celular, diferenciación y crecimiento celular. Aunado a esto, participa en la activación de la vía de caspasa-3, favoreciendo la muerte celular programada y limitando la capacidad metastásica de las células tumorales como *dpc4* y *madr2*. Además, se han identificado alteraciones genéticas como pérdida de heterocigosidad, mutaciones puntuales e inserciones asociadas con el desarrollo de CC (Juárez-Vázquez et al., 2014).

p53

La proteína *p53* se localiza en el cromosoma *17p13* y es producto del gen *Tp53*, la cual está conformado por 11 exones. Este gen funciona como factor de transcripción encargado de regular procesos celulares importantes, entre ellos el control del ciclo celular, apoptosis, diferenciación celular y mecanismos de reparación del ADN. Su función principal es mantener la estabilidad genética de la célula mediante la regulación de distintos genes involucrados en la reparación del daño celular (Juárez-Vázquez et al., 2014).

Entre los genes regulados por *p53* se encuentra *p21*, cuya función consiste en detener temporalmente el ciclo celular para permitir la reparación del ADN antes de que la célula continúe replicándose. Cuando el gen *p53* presenta mutaciones, este mecanismo de control se altera, impidiendo la activación adecuada de *p21* y favoreciendo la acumulación de alteraciones genéticas que pueden contribuir al desarrollo de células malignas.

Diversos estudios han reportado que las mutaciones en *p53* son frecuentes en el CC y se consideran relevantes en la transición de adenoma a carcinoma. (Lucía et al., 2013).

2.4. Ciclo celular

El ciclo celular corresponde al proceso mediante el cual las células crecen, duplican su material genético y se dividen para originar nuevas células. El desarrollo del cáncer se relaciona con alteraciones en los mecanismos que regulan este ciclo, especialmente en proteínas encargadas de controlar la división celular. Cuando dichos reguladores presentan modificaciones o mutaciones, puede favorecerse la proliferación celular descontrolada y, en consecuencia, la carcinogénesis. Por ello, comprender el funcionamiento normal del ciclo celular resulta fundamental para entender el desarrollo del cáncer. (Khan Academy , s.f.).

El ciclo celular comprende una serie de eventos coordinados que permiten el crecimiento y la división de la célula. Este proceso se divide en dos etapas principales: interfase y fase mitótica. La interfase incluye las fases G1, S, y G2, mientras que la fase mitótica abarca profase, prometafase, metafase, anafase, telofase y citocinesis.

Durante G1 la célula incrementa su tamaño sintetiza la energía necesaria para continuar el ciclo celular. Posteriormente, en la fase S ocurre la duplicación del ADN nuclear. En G2 se llevan a cabo mecanismos de preparación previos a la mitosis, etapa en la que el material genético previamente replicado es distribuido de manera equitativa entre las células hijas.

Una vez finalizada la división celular, las células pueden reiniciar el ciclo en G1 o entrar en fase G0, estado de reposo celular en el que algunas células permanecen durante periodos variables que pueden abarcar desde días hasta años. (David Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

2.4.1 Etapas de la interfase

Fase G1. La fase G1 que sigue a la citocinesis y precede a la fase S es un período de actividad bioquímica intensa. La célula incrementa el material enzimático, sus organelos se replican, así como otras moléculas y estructuras citoplasmáticas también aumentan en número; en consecuencia, la célula aumenta en tamaño (Lomanto Díaz *et al.*, 2003)

Senescencia celular: fase G0. El estado de G0 es de reposo y ausencia de crecimiento, que difiere de todos los estados que experimenta el ciclo celular. La ausencia de factores de crecimiento apropiados lleva a las células a una especie de latencia en el ciclo celular, en el cual el sistema de control no avanza a través de G1, ya sea porque es incapaz o porque no lo necesita (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Fase S: síntesis

La fase S se caracteriza por la síntesis y duplicación del ADN. Este proceso inicia cuando la célula ha alcanzado el tamaño adecuado y cuenta con suficiente energía y proteínas necesarias para la replicación. Durante esta etapa se generan dos copias idénticas del material genético, lo cual permitirá que, posteriormente, cada célula hija reciba una dotación completa de ADN. En este periodo, el ADN permanece asociado e histonas formando la cromatina, la cual se encuentra distribuida en estructuras delgadas y extendidas dentro del núcleo celular (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Fase G2.

Durante la fase G2 ocurre la preparación para la mitosis en la cual se producirá una repartición equitativa del material genético. Durante este periodo la célula empieza a

ensamblar las estructuras especiales requeridas para asignar un conjunto completo y equitativo de cromosomas a cada célula hija lo cual se desarrollará durante la mitosis (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

2.4.2 Mitosis

La mitosis es un proceso de división celular mediante el cual el material genético duplicado se distribuye de manera equitativa entre dos células hijas. Durante esta etapa la cromatina se condensa para formar cromosomas visibles, la membrana nuclear desaparece y el citoesqueleto se reorganiza para originar el huso mitótico. Posteriormente, los cromosomas son separados y dirigidos hacia polos opuestos de las células. Este proceso se divide convencionalmente en profase, prometafase, metafase, anafase y telofase (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Profase.

En la profase la cromatina comienza un proceso progresivo de condensación hasta formar cromosomas claramente definidos. Cada cromosoma está constituido por dos cromátidas hermanas unidas mediante el centrómero, estructura necesaria para garantizar una correcta segregación cromosómica. Asimismo, durante esta etapa los microtúbulos del citoesqueleto interfásico empiezan a reorganizarse y se inicia la formación del huso mitótico. (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Prometafase.

Se inicia con la desintegración de la envoltura nuclear, generando vesículas membranosas similares a las del retículo endoplásmico. Posteriormente, los microtúbulos del huso mitótico ingresan al espacio nuclear y se unen a estructuras proteicas denominadas cinetocoros, localizadas en el centrómero de cada cromosoma, favoreciendo su movilización dentro de la célula. (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Metafase.

Los microtúbulos del cinetocoro alinean los cromosomas en un plano ecuatorial de la célula. Cada cromosoma se mantiene en tensión en esta placa metafásica por los cinetocoros apareados y por sus microtúbulos asociados, los cuales están unidos a los polos opuestos del huso (centríolos) (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Anafase.

Inicia cuando los cinetocoros apareados se separan, permitiendo que cada cromátida sea arrastrada lentamente hacia un polo del huso (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Telofase.

Durante esta etapa los cromosomas llegan a los polos opuestos de la célula y comienzan a descondensarse progresivamente. Sucediendo al mismo tiempo, los microtúbulos asociados al cinetocoro desaparecen y se reorganizan nuevamente la envoltura nuclear alrededor de cada conjunto cromosómico. Conforme avanza esta etapa, reaparecen los nucléolos y la cromatina recupera su estado menos condensado, marcando el final de la mitosis (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

Citocinesis.

La citocinesis habitualmente es la división del citoplasma, pero no siempre acompaña a la mitosis. Generalmente, este evento tiene lugar al finalizar la mitosis y es dirigido por el huso mitótico. Durante este proceso participan filamentos contráctiles de actina y miosina, los cuales permiten la segmentación progresiva de la célula hasta completar la separación celular. (Lomanto Díaz *et al.*, 2003).

2.4.3 La regulación del ciclo celular

La progresión del ciclo celular es activada directamente por una serie de heterodímeros formados por las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclina (CDKs) (Lagunas *et al.*, 2014). Los complejos CDK-ciclina corresponden a la asociación entre una cinasa dependiente de la ciclina y una proteína ciclina. Las cinasas son enzimas encargadas de fosforilar proteínas específicas, procesos fundamentales para la regulación celular. La activación de estos complejos permite controlar el avance de la célula a través de las distintas fases del ciclo celular. Por lo tanto, la dinámica del ciclo dependerá de las formas activas o inactivas de los complejos CDK-ciclina, entre otros muchos sucesos (Peralta Zaragoza *et al.*, 1997). Este sistema de señalización celular determina las opciones que están disponibles cuando la célula sale del ciclo celular. Pueden seguir cuatro vías posibles, dando lugar a destinos diferentes: senescencia, apoptosis, diferenciación y proliferación celular (Lagunas *et al.*, 2014).

Las moléculas que integran las familias *Cip*, *Kip* y *p16* así como las proteínas de la familia *Rb*, *p17*, *p130*; la familia de factores de transcripción E2F, fosfatasas reguladoras, y componentes del centrosomas se unen para controlar la secuencia ordenada de eventos que constituyen el ciclo celular (Lagunas *et al.*, 2014). Algunos de estos elementos de control del ciclo celular funcionan en la primera etapa de G1 y representan los blancos para las vías de señalización involucradas en la proliferación (Lagunas *et al.*, 2014).

Generalmente, CDKs, ciclinas y los inhibidores de CDK, funcionan dentro de varias vías, incluyendo: ciclina D, el complejo p16-CDK4/6, el complejo pRb/E2F, el complejo p21/WAF1, el complejo p27-Cdk2, p14 y el complejo MDM2/p53 (Lagunas *et al.*, 2014). Se sabe que CDK4, CDK2 y CDK5 se expresan conjuntamente con las ciclinas D1, D2,

D3, E, A y B, durante la progresión de las fases G1, G2 y M. El complejo Ciclina D/CDK4 funciona tempranamente en respuesta a factores de crecimiento, los complejos CDK2/E y CDK2/A son esenciales para la replicación de DNA, y los complejos CDK2/A y CDK2/B son importantes para la mitosis (Lagunas *et al.*, 2014).

2.5. Apoptosis

La apoptosis es un proceso fisiológico de muerte celular estrechamente regulado y caracterizado por una secuencia de cambios morfológicos estereotipados: contracción celular, condensación de la cromatina y fragmentación nuclear y celular, con formación de cuerpos apoptóticos que son engullidos por las células próximas antes de que se pierda la integridad, y no provoca inflamación en tejidos (Pazo *et al.*, 2012). La relación de la apoptosis con el ciclo celular es determinante como proceso opuesto a la división celular. La apoptosis puede iniciarse en el tercio final de G1 para impedir que una célula dañada ingrese a la fase de síntesis de manera que las mutaciones no se reproduzcan durante la replicación del ADN y en la fase G2 para evitar que las células que no hayan llegado a la madurez ingresen a la fase de mitosis (Spinelli *et al.*, 2002).

2.5.1 Vías de la apoptosis

La apoptosis puede activarse mediante dos mecanismos principales de señalización: la vía intrínseca y la vía extrínseca. La vía intrínseca se desencadena por la liberación de moléculas proapoptóticas provenientes de la mitocondria, entre ellas el citocromo c y la proteína *Smac/Diablo*. Por otra parte, la vía extrínseca inicia mediante la activación de receptores de muerte localizados en la membrana celular. Ambas vías convergen, llevando a efecto su orden letal a través de la activación de las caspasas, proteasas intracelulares (Pazo *et al.*, 2012).

2.5.1.1 Vía intrínseca de la apoptosis

La vía intrínseca de la apoptosis depende principalmente de la participación de la mitocondria, la cual actúa como reguladora central de este mecanismo. Diversos estímulos celulares, como daño en el ADN, estrés oxidativo o radiación pueden alterar la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa. Como consecuencia, se liberan al citosol proteínas proapoptóticas, entre ellas el *citocromo c*, *Apaf-1*, *AIF* y *Smac/Diablo*. Posteriormente, el *citocromo c* se une a *Apaf-1* en presencia de *ATP*, favoreciendo la formación del apoptosoma y la activación de la *procaspasa-9*. Una vez activada, la *caspasa-9* induce la activación de caspasas efectoras, principalmente la *caspasa-3*, encargada de ejecutar los cambios celulares característicos de la apoptosis. (Pazo *et al.*, 2012).

Este proceso se encuentra regulado por proteínas inhibidoras de apoptosis (*IAPs*), las cuales pueden bloquear la activación de caspasas. Sin embargo, moléculas liberadas desde la mitocondria, como *SMAC/DIABLO*, actúan antagonizando dicho efecto inhibitorio y favoreciendo nuevamente la muerte celular programada. (Palacios *et al.*, 2011).

2.5.1.2. Vía extrínseca de la apoptosis

La vía extrínseca de la apoptosis se activa mediante la unión de ligandos de muerte a receptores específicos localizados en la superficie celular. Entre los principales ligandos involucrados se encuentran TNF, TRAIL y FasL, los cuales interactúan con sus respectivos receptores celulares (Palacios *et al.*, 2011).

La unión entre el ligando el receptor induce la formación de un complejo de señalización conocido como DIS, integrado por proteínas adaptadoras y procaspasas iniciadoras, principalmente procaspasa-8 y procaspasa-10. Estas procaspasas son activadas mediante procesos de hidrólisis parcial y posteriormente estimulan la activación de caspasas efectoras, como caspasa-3 y caspasa-7.

La activación de estas enzimas desencadena los cambios morfológicos y bioquímicos característicos de la apoptosis, incluyendo condensación nuclear, fragmentación del ADN y formación de cuerpos apoptóticos, los cuales finalmente son eliminados por fagocitosis. Además, la activación de la caspasa-8 puede ser regulada negativamente por proteínas inhibidoras como c-FLIP (Palacios *et al.*, 2011).

2.5.2 Apoptosis y cáncer

En el desarrollo del cáncer y su tratamiento juega un papel importante la apoptosis. La alteración genética de las células tumorales induce a la muerte por apoptosis, pero este proceso puede sufrir cambios genéticos relacionados con las proteínas. En las células cancerosas la apoptosis puede ser un fenómeno reversible, las células tumorales apoptóticas podrían tener efectos inmunomoduladores, induciendo alergia o fenómenos inmunosupresores y en insuficiencias cardíacas congestivas, aterosclerosis y aneurismas (Spinelli *et al.*, 2002). Por otra parte, el desarrollo de resistencia a la muerte celular ha sido reconocido como uno de los mecanismos básicos durante el desarrollo del cáncer y sus vías se presentan como dianas terapéuticas (Spinelli *et al.*, 2002). Un gen asociado a la pérdida de la función normal de la célula es el gen *p53* que puede conducir al desarrollo de cánceres humanos (más del 50% de los tumores humanos están asociados a mutaciones en *p53*) (Spinelli *et al.*, 2002).

Otra proteína involucrada en la regulación fisiológica del ciclo celular y en los mecanismos de apoptosis es *myc*, sintetizada a partir del protooncogén *c-myc*. La sobreexposición de este gen puede favorecer tanto la proliferación celular como la apoptosis, dependiendo de la presencia de otros factores relacionados con el crecimiento y la supervivencia celular. Así, la expresión incrementada de *Bcl-2* en presencia de *c-myc* produce una inhibición de la apoptosis mediada por *c-myc*, lo que explica la cooperación que se produce entre ambos genes en el origen de las neoplasias (Spinelli *et al.*, 2002).

2.6. Tratamientos del Cáncer de Colon.

Desde el punto de vista clínico, el CC suele presentar una evolución lenta, por lo que muchos pacientes permanecen asintomáticos durante las etapas iniciales de la enfermedad. Las manifestaciones clínicas varían dependiendo de la localización del tumor y de las características funcionales del colon.

Entre los síntomas más frecuentes se encuentran alteraciones en el hábito intestinal, cimi periodos alternados de estreñimiento y diarrea, dolor abdominal crónico, anemia y presencia de sangre en las heces. Asimismo, algunos pacientes pueden rpresentar deterioro del estado general, manifestado por palidez, debilidad, anorexia y pérdida de peso. En ocasiones, el CC puede confundirse con otras enfermedades intraabdominales, como apendicitis o diverticulitis, e incluso llegara detectarse una masa palpable durante la exploración clínica. (Motta *et al.*, 2011).

Hasta el momento la única posibilidad de curar el carcinoma de colon ha consistido en la resección quirúrgica. Para establecer los resultados del tratamiento quirúrgico es

conveniente clasificar los carcinomas del colon de acuerdo con la extensión de la diseminación. Existen dos herramientas para clasificar el estadio del cáncer: clasificación de Dukes y la clasificación de TNM, en la que se registra mucha más información sobre el tumor primario (T), los ganglios linfáticos (N) y las metástasis a distancia (M) (Charúa-Guindic *et al.*, 2008).

Diversas sociedades médicas de Norteamérica han establecido recomendaciones para la detección oportuna del cáncer colorrectal en personas con riesgo promedio, sugiriendo iniciar los estudios de tamizaje a partir de los 50 años de edad. Se considera dentro de este grupo a individuos que no presentan síntomas gastrointestinales, ni antecedentes personales o familiares de neoplasia colorrectales, así como ausencia de enfermedades inflamatorias o intestinales, como colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

La *US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer* recomienda que las personas con riesgo promedio sean evaluadas mediante diferentes métodos de detección, entre los cuales incluye diversas pruebas de tamizaje y estudios diagnósticos:

1. Colonoscopia cada 10 años
2. Sigmoidoscopia flexible cada cinco años.
3. Prueba de sangre oculta en heces cada año.
4. Enema de bario con contraste o colonografía por TCMD cada cinco años.
5. Prueba fecal de ADN, en un intervalo aún no precisado.

En quienes tienen antecedentes familiares de pólipos o CC se recomienda iniciar la detección a la edad de 40 años o 10 años antes de la edad que tenía el familiar cuando fue diagnosticado.

La estadificación proporciona información esencial para decidir la terapia adecuada y permite identificar pacientes con metástasis aisladas o confinada en hígado o pulmón. El American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la Unión Internacional contra el Cáncer (UICC) han establecido el sistema de estadificación TNM (Tabla 1). El pronóstico depende del estado de la enfermedad. El estadiaje es importante para determinar el mejor tratamiento en cada caso y se ha añadido la estadificación mediante los hallazgos por tomografía computarizada. (Tabla 2) (Motta *et al.*, 2011)

Tabla 2.

Estratificación del cáncer colorrectal con la clasificación basada en los sistemas TNM y de Dukes

Clasificación basada en el sistema TNM		Clasificación basada en el sistema Dukes	
Estadio	Definición	Estadio	Definición
0	TisN0M0	...	
I	T1N0M0 T2N0M0	A	Limitado a la pared colónica
II	T3N0M0 T4N0M0	B	Extensión a la serosa o a la grasa mesentérica
III	Cualquier T N1 M0 Cualquier T N2 M0	C	Metástasis a ganglios linfáticos
IV	Cualquier T, cualquier N M1	D	Metástasis a distancia

2.6.1 Tratamientos convencionales

El tratamiento de los tumores malignos se basa en el empleo aislado o en combinación de cirugía, radioterapia y quimioterapia, en algunos tumores concretos, de tratamientos hormonales e inmunológicos.

En el momento del diagnóstico, la decisión acerca de qué tratamientos y en qué orden debe recibir un paciente con cáncer asiente en tres pilares básicos: el tipo histológico del tumor, la extensión de la enfermedad y la situación del paciente. (Muñoz et al., 2003)

En algunos pacientes con cáncer de colon en etapas tempranas, particularmente en estadio 0 y ciertos casos de estadio I, así como en la mayoría de los pólipos, la resección puede realizarse mediante colonoscopia. Este procedimiento utiliza un tubo flexible equipado con una cámara en uno de sus extremos, el cual se introduce a través del recto para permitir la visualización interna del colon. Los siguientes procedimientos quirúrgicos pueden llevarse a cabo durante una colonoscopia:

- En una polipectomía, el pólipo y el tejido tumoral son retirados desde su base utilizando un asa de alambre y corriente eléctrica.
- Una escisión local implica un procedimiento ligeramente más complejo. Se emplean instrumentos especializados para extirpar lesiones pequeñas junto con una porción de tejido sano circundante de la pared del colon. (American Cancer Society, 2023).

Cuando los pólipos o tumores son removidos por este método, generalmente no es necesario realizar incisiones abdominales. Sin embargo, si persisten células tumorales o existe riesgo de diseminación, puede requerirse posteriormente una colectomía. Este procedimiento quirúrgico consiste en la resección parcial o total del colon, además de la extracción de ganglios linfáticos cercanos (American Cancer Society, 2023).

2.6.1.1 Efectos secundarios de la cirugía del colon

Entre las complicaciones que pueden presentarse durante o después de la cirugía se encuentran hemorragias, infecciones y formación de trombos en las extremidades inferiores. En algunos casos, aunque ocurre con baja frecuencia, las uniones realizadas entre los segmentos del colon no cicatrizan adecuadamente, produciendo filtraciones intestinales.

Esta complicación puede ocasionar dolor intenso, fiebre y rigidez abdominal, además de favorecer el desarrollo de procesos infecciosos. Cuando se presenta una fuga en la anastomosis, puede ser necesaria una nueva intervención quirúrgica para corregir el problema (American Cancer Society, 2023).

2.6.2 Radioterapia contra el cáncer de colon

La radioterapia no se emplea a menudo para tratar el cáncer de colon, aunque puede que se use en ciertos casos (American Cancer Society, 2023):

- La radioterapia puede administrarse previo a la cirugía, generalmente en combinación con quimioterapia, con la finalidad de disminuir el tamaño del tumor y favorecer una extracción quirúrgica más sencilla
- La radioterapia también puede administrarse después de la cirugía cuando existe la posibilidad de que el tumor haya permanecido adherido a órganos cercanos o al revestimiento interno del abdomen. En estas situaciones, no siempre es posible confirmar que todas las células cancerosas hayan sido eliminadas durante el procedimiento quirúrgico. Por ello, este tratamiento se utiliza con la finalidad de destruir posibles células tumorales residuales.
- Dependiendo de algunos casos, la radiación puede administrarse directamente durante el procedimiento quirúrgico sobre la zona donde se localizaba el tumor, con el propósito de eliminar posibles células cancerosas residuales. Este procedimiento se le conoce como radioterapia intraoperativa.
- La radioterapia también puede combinarse con quimioterapia para el control de la enfermedad en pacientes cuyo estado general de salud no permite la realización de un procedimiento quirúrgico.
- En pacientes con cáncer colorrectal avanzado, la radioterapia puede emplearse con fines paliativos para disminuir síntomas asociados a la enfermedad, como dolor, sangrado u obstrucción intestinal.

- La radioterapia también puede utilizarse para el manejo de metástasis cuando el cáncer se ha diseminado hacia órganos, entre ellos huesos, pulmones o cerebro.

2.6.2.1 Posibles efectos secundarios de la radioterapia

Según American Cancer Society (2023), los posibles efectos secundarios de la radioterapia para el cáncer de colon y de recto pueden incluir:

- Irritación de la piel en el sitio donde se dirigieron los haces de radiación que puede ir desde enrojecimiento hasta ampollas y descamación
- Dificultad para que las heridas cicatricen si la radiación se administró antes de la cirugía
- Náuseas
- Irritación rectal que puede causar diarrea, evacuaciones dolorosas, o sangre en las heces fecales.
- Incontinencia intestinal (fuga de heces fecales)
- Irritación de la vejiga que puede causar problemas como sensación de tener que orinar frecuentemente, ardor o dolor al orinar o sangre en la orina
- Cansancio (agotamiento)
- Problemas sexuales (dificultades para lograr erecciones en los hombres e irritación vaginal en las mujeres)
- Cicatrización, fibrosis (endurecimiento) y adherencias que ocasionan que los tejidos del área tratada se peguen entre sí.

2.6.3 Quimioterapia contra el cáncer colorrectal

La quimioterapia consiste en un tratamiento con medicamentos contra el cáncer que se pueden inyectar en una vena o administrar por vía oral. Estos medicamentos pasan a través del torrente sanguíneo y llegan hasta casi todas las partes del cuerpo. A menudo, la quimioterapia se usa para tratar el cáncer colorrectal. La quimioterapia se puede usar en distintas ocasiones durante el tratamiento contra el cáncer colorrectal (American Cancer Society, 2023).

- La quimioterapia adyuvante se administra después del tratamiento quirúrgico con el propósito de eliminar células cancerosas residuales que no pudieron ser detectadas o retiradas durante la cirugía. Asimismo, busca destruir células tumorales que hayan migrado hacia otros tejidos del organismo, aunque todavía no sean visibles mediante estudios de imagen. Este tratamiento contribuye a disminuir el riesgo de recurrencia del cáncer.
- Por otra parte, la quimioterapia neoadyuvante se aplica antes de la cirugía y, en algunos casos, se combina con radioterapia. Su finalidad es reducir el tamaño

tumoral para facilitar el procedimiento quirúrgico posterior. Esta estrategia terapéutica es utilizada con frecuencia en pacientes con cáncer de recto.

- En etapas avanzadas de la enfermedad, cuando el cáncer se ha diseminado hacia órganos como el hígado, la quimioterapia puede emplearse para disminuir el tamaño de los tumores y controlar los síntomas asociados. Aunque no siempre logra erradicar completamente la enfermedad, puede mejorar la calidad de vida y aumentar la supervivencia de los pacientes.

2.6.3.1 Posibles efectos secundarios de la quimioterapia

os fármacos quimioterapéuticos actúan principalmente sobre células que presentan una rápida tasa de división, característica común de las células cancerosas. No obstante, existen otros tipos celulares normales en el organismo que también se reproducen rápidamente, como las células de los folículos pilosos y las del revestimiento de la cavidad oral e intestinos. Debido a ello, la quimioterapia puede afectar estos tejidos sanos y provocar diversos efectos secundarios.

Los efectos secundarios de la quimioterapia dependen del tipo, la dosis y el tiempo de administración de los medicamentos. Algunos efectos secundarios comunes de la quimioterapia según la American Cancer Society (2023) son:

- Caída de pelo.
- Úlceras (llagas) en la boca.
- Pérdida de apetito y pérdida de peso.
- Náuseas y vómitos.
- Diarrea.
- Cambios en las uñas.
- Cambios en la piel.

La quimioterapia también puede afectar las células productoras de sangre de la médula ósea, lo que puede causar:

- Aumento de la probabilidad de infecciones (debido a que hay muy pocos glóbulos blancos).
- Tendencia a presentar moretones o sangrados fácilmente (debido a que hay muy pocas plaquetas).

Cansancio (debido a que hay pocos glóbulos rojos y a otras razones)

2.6.4 Tratamientos del CC según la etapa

Depende de su localización y estadio, según Charúa-Guindic *et al.* (2008) mencionan los siguientes estadios y tratamientos:

- Estadio I (T1, N0, M0 y T2, N0, M0):
 - ❖ Tercio inferior: En tumores localizados en este tercio del recto se pueden realizar procedimientos como escisión local, resección radical o resección abdominoperineal, generalmente sin necesidad de terapia adyuvante. En lesiones T2, el manejo puede incluir resección local acompañada de tratamiento adyuvante antes o después de la cirugía, aunque también puede considerarse la resección abdominoperineal sin terapia complementaria.
 - ❖ Tercio medio: Las opciones quirúrgicas incluyen resección total del mesorrecto, resección radical y resección anterior baja con anastomosis, con posibilidad de colostomía protectora. En casos T2, suele recomendarse la combinación de resección total mesorrectal con terapia adyuvante preoperatorio o posoperatorio. Aunque la terapia complementaria no siempre es indispensable tras una resección radical, si puede ser beneficiosa después de la resección total mesorrectal
 - ❖ Tercio superior: En lesiones ubicadas en el tercio superior, el tratamiento quirúrgico más utilizado es la resección anterior baja.

- Los estadios II y III del CC presentan diferentes grados de invasión tumoral. El estadio II se caracteriza por extensión hacia la grasa mesorrectal (T3) sin afectación de ganglios linfáticos, mientras que el estadio III incluye tumores T1, T2 o T3 con compromiso ganglionar:
 - ❖ En tumores localizados en el tercio inferior, suele recomendarse terapia adyuvante antes de la cirugía seguida de resección radical o resección abdominoperineal. Cuando el estadio tumoral no puede determinarse con precisión, el tratamiento adyuvante puede indicarse después de la intervención quirúrgica.
 - ❖ Para lesiones ubicadas en el tercio medio se aplican criterios terapéuticos similares a los empleados en el tercio inferior; sin embargo, generalmente se prefiere la resección anterior baja sobre la resección abdominoperineal.
 - ❖ En los tumores localizados en el tercio superior, el tratamiento más frecuente consiste en resección anterior baja asociada con terapia adyuvante administrada antes o después de la cirugía.

- Estadio IV (T1-4, cualquier N, M1):

El manejo terapéutico de la enfermedad metastásica depende principalmente del grado de diseminación tumoral. En estos casos, la combinación de tratamiento quirúrgico y manejo médico representa una de las principales estrategias terapéuticas. A la vez, el control del tumor primario locorregional debe abordarse de manera intensiva, siguiendo criterios similares a los utilizados en etapas menos avanzada, excepto en pacientes con enfermedad muy extensa.

2.6.5 Tratamientos alternativos y coadyuvantes

La terapia no convencional comprende aquellos métodos utilizados para el diagnóstico, tratamiento o cuidado de pacientes que no forman parte de las prácticas incluidas dentro de la medicina convencional. Las terapias no convencionales son denominadas medicina alternativa y complementaria (MAC) y de ellas existen actualmente más de 300 tipos (Páez Aguirre, 2011).

La medicina alternativa es cualquier sistema no convencional usado en lugar de un tratamiento médico convencional. La medicina complementaria es cualquier método no convencional usado en conjunción con el tratamiento médico convencional. La MAC es usada por varias razones que incluyen curar el cáncer, reducir la velocidad de su progresión, complementar y disminuir los efectos secundarios del tratamiento convencional, fortalecer al paciente y aliviar los síntomas. (Páez Aguirre, 2011).

Diversos estudios han relacionado el consumo elevado de carne roja, colesterol y grasas saturadas con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de colon. En contraste, una alimentación rica en frutas y vegetales parece ejercer un efecto protector frente a esta enfermedad. Este beneficio se atribuye principalmente a la presencia de antioxidantes naturales, entre ellos los compuestos fenólicos. Dichas sustancias poseen la capacidad de neutralizar especies reactivas de oxígeno y radicales libres, contribuyendo así a disminuir el daño celular asociado con procesos patológicos como el cáncer (Ramos-Gómez et al., 2011).

2.7. Estrés oxidativo en el cáncer

2.7.1 Radicales libres

Se ha descrito en la literatura científica que los radicales libres y el estrés oxidativo pueden inducir cáncer, pero al mismo tiempo las células transformadas, es decir las células cancerosas, generan más radicales libres que las células normales (Llacuna & Mach, 2012).

Los radicales libres se generan como consecuencia de los procesos de oxidación celular. Entre las principales especies oxidante, se encuentran el radical superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno. En concentraciones controladas, estas moléculas cumplen funciones importantes dentro del organismo, especialmente en la respuesta inmunitaria, ya que participan en la eliminación de microorganismo patógenos.

Sin embargo, cuando existe una producción excesiva de radicales libres y se pierde el equilibrio oxidativo, pueden desencadenarse efectos perjudiciales para la salud. Diversas investigaciones han relacionado el estrés oxidativo con enfermedades degenerativas,

alteraciones cardiovasculares y trastornos del sistema nervioso, además de patologías como cáncer, sida y envejecimiento prematuro. Estos efectos ocurren debido a que los radicales libres pueden dañar el ADN celular, alterar la función normal de las células e interferir con los mecanismos de renovación celular (Llacuna & Mach, 2012).

Compuestos endógenos antioxidantes como el superóxido dismutasa, la catalasa, el glutatión, los alfa tocoferoles y los betacarotenos pueden limitar los efectos del estrés oxidativo, aunque estos sistemas pueden ser rápidamente acaparados por elevadas cantidades de radicales (Llacuna & Mach, 2012).

2.7.2 Los antioxidantes y su papel protector en el cáncer

Los antioxidantes son compuestos capaces de disminuir o evitar la oxidación de otras moléculas. La oxidación corresponde a una reacción química en la que ocurre transferencia de electrones hacia un agente oxidante, proceso que puede favorecer la formación de radicales libres. Estas moléculas inestables desencadenan reacciones en cadena capaces de producir daño celular.

La función de los antioxidantes consiste en neutralizar los radicales libres mediante la eliminación de intermediarios reactivos, interrumpiendo así las reacciones oxidativas y reduciendo el daño ocasionado a las células. Los antioxidantes son sustancias que pueden proteger a la célula contra el daño causado por las moléculas inestables (Llacuna & Mach, 2012).

El ser humano dispone de un sistema antioxidante constituido por sustancias que sintetiza y por los compuestos antioxidantes que ingiere con su dieta. Los compuestos que son sintetizados por la célula se denomina antioxidante endógeno y aquellos compuestos que se incorporan con la alimentación son los antioxidantes exógenos. Por lo que el ser humano puede incrementar su defensa antioxidante ingiriendo frutas y verduras, ricos en este compuesto. Los antioxidantes exógenos incluyen a los polifenoles, carotenoides, vitaminas y los flavonoides (Guija-Guerra & Guija-Poma, 2023).

La intervención antioxidante consiste en la rotura radical de la cadena mediante la donación de hidrógeno, la extinción del oxígeno simple, la descomposición del peróxido y la inhibición de la enzima oxidante o absorción de la radiación (Ángel *et al.*, 2018)

El sistema endógeno de defensa antioxidante (antioxidante enzima, ácido úrico, bilirrubina, proteína ligante metálicas como ferritina, transferrina, lactoferrina, ceruloplasmina) se complementa con la intervención de antioxidantes exógenos presentes en la dieta o en suplementos nutricionales (ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, fenólicos-flavonoides y no flavonoides) (Ángel *et al.*, 2018).

2.8. Quelites

Como ya se mencionó anteriormente, los alimentos ricos en antioxidantes son las frutas, verduras y hortalizas. En México, existe un grupo de quelites han sido definidos como “plantas cuyas hojas, tallos tiernos y en ocasiones las inflorescencias inmaduras, son consumidas como verdura” (Castro *et al.*, 2011).

La palabra "quelite" proviene del término náhuatl *quilitl*, utilizado para referirse a distintas hierbas comestibles. Este concepto también posee equivalentes en diversas lenguas indígenas de México. Por lo anterior, se puede decir que los quelites son verduras nativas de México y se conocen más de 200 especies de quelites (Castro *et al.*, 2011)

Los quelites forman parte de la llamada dieta complementaria que junto con la dieta básica conforman el patrón alimenticio de gran parte de la población mexicana. En lo referente al valor nutricional, los quelites son una fuente de proteína y fibra cruda, necesaria para un buen funcionamiento del intestino. También aportan minerales y vitaminas esenciales para una alimentación balanceada (Castro *et al.*, 2011)

Los quelites más conocidos son: el alache comúnmente conocido como violeta, la chaya, el chepil conocido también como chipilín o chipil, el pápalo, la verdolaga, el nabo, entre otros (Castro., *et al.*, 2011).

2.9. *Porophyllum ruderale*

El *porophyllum ruderale* comúnmente conocido como pápalo quelite es originario de México y ha sido utilizado como verdura desde época prehispánicas (Castro *et al.*, 2011). Sus hojas verdes, aromáticas y de sabor fuerte, asemejan las alas de una mariposa; de ahí su nombre, el cual deriva del náhuatl “Paploquilitl”, donde “pápalotl” significa mariposa, y “quilitl”, quelite o hierba comestible. (SIAP, 2018)

2.9.1 Distribución

Por lo general prospera en sitios que van de los 0 msnm a los 2700 msnm con diferentes tipos de climas entre los que destacan, climas húmedos con abundantes lluvias en verano, cálidos subhúmedos con lluvias en verano, semicálidos y templados subhúmedos con lluvias en verano (Castro., *et al.*, 2011).

El pápalo quelite es una planta cultivada en huertos familiares o en terrenos destinados ex profeso para su cultivo. Está generalmente asociada a sitios de vegetación perturbada cuya cubierta original fue principalmente selva baja caducifolia, matorrales espinosos y bosques de pino-encino, aunque también es posible encontrarlo en zonas de selva alta perennifolia, selva mediana subperennifolia (Castro., *et al.*, 2011).

2.9.2 Importancia económica

La relevancia económica del pápalo se relaciona con sus aplicaciones alimentarias, medicinales e industriales. Dentro de los quelites, se considera una de las especies de mayor consumo entre poblaciones indígenas y mestizas, independientemente del nivel socioeconómico. La contribución nutritiva del pápalo quelite en la alimentación humana es importante si se toma en cuenta el precio del alimento y su contenido nutricional (Castro., *et al.*, 2011).

2.9.3 Contenido nutricional

En la Tabla 3 se observan los valores nutritivos reportados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y Latin Foods para pápalo quelite.

Tabla 3. Componentes nutricionales de pápalo quelite.

Agua (g)	93.2
Proteínas (g)	1.8
Grasas (g)	0.3
Cenizas (g)	0.9
Hidratos de carbono totales (g)	3.8
Energía (kcal)	25
Colesterol (mg)	0
Calcio (mg)	361
Hierro (mg)	2.4
Vitamina A Equiv. Totales (µg)	129
Tiamina (mg)	0.08
Riboflavina (mg)	0.2
Niacina (mg)	0.3
Vitamina C (mg)	19

Datos por 100 ml o 100 g de porción comestible (Castro., *et al.*, 2011).

III. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es la enfermedad más común en el mundo y de acuerdo con la OMS es la principal causa de muerte en el mundo, dentro de los más comunes se encuentran el de; mama, pulmón, colon, y próstata, respectivamente. El cáncer de colon ocupa uno de estos primeros lugares, y de acuerdo con los datos del Global Cancer Observatory, el CC en México es el tercer cáncer más común.

Además, el CC tiene una relación directa con la nutrición debido a la interacción de los compuestos en la alimentación con los colonocitos y dependiendo de la alimentación, estos al reproducirse, pueden mutar y dar lugar a la carcinogénesis. El estilo de vida es uno de los factores que más influye en el cáncer de colon, y se ha comprobado que las personas con una dieta excesiva en proteína animal y grasa tienen más tendencia a desarrollar cáncer de colon que los que tienen una dieta rica en fibra.

México tiene estos 3 grupos de alimentos mencionados, y uno de ellos son las hortalizas o mejor conocidos como los quelites, que desde tiempos prehistóricos se han consumido, algunos ejemplos son las verdolagas, el epazote, la chaya y el pápalo. Para este estudio se eligió *Porophyllum ruderale* mejor conocido como pápalo debido a la poca información que hay de éste y que los tratamientos contra el cáncer pueden causar efectos secundarios negativos, se trata de buscar diferentes alternativas que no repercutan en el organismo, por lo tanto, el quelite además de ser un alimento nativo e importante en la dieta mexicana durante muchos años, podría contribuir como estrategia complementaria a la prevención del cáncer debido a la presencia de compuestos bioactivos con actividad antioxidante y antiinflamatorios.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar el perfil fenólico, capacidad antioxidante y efecto citotóxico por apoptosis y ciclo celular del quelite *P. ruderale*.

4.2. Objetivos específicos

1. Obtener la muestra vegetal del mercado de La Cruz, Santiago de Querétaro, Querétaro.
2. Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y taninos condensados a través de técnicas colorimétricas del quelite *P. ruderale*.
 - 2.1 Determinar la capacidad antioxidante a través de las técnicas DPPH, FRAP y ABTS.
3. Evaluar el efecto citotóxico por MTT del quelite *P. ruderale* en células de cáncer de colon SW480
4. Evaluar el efecto en ciclo celular y en apoptosis por citometría de flujo del quelite *P. ruderale* en células de cáncer de colon SW480.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materia Vegetal

Las hojas frescas del *P. ruderale*, se obtuvieron del mercado de La Cruz, Santiago de Querétaro, Querétaro. Posteriormente, se lavaron con agua destilada y se desinfectaron con hipoclorito de sodio (200 ppm), las hojas se secaron en un horno de aire caliente forzado (She Lab FX 1375, Sheldon Manufacturing, Cornelius, OR, EE.UU) a 40°C durante 72 horas hasta obtener un peso constante.

Después del secado del material, las hojas secas se molieron en un molino eléctrico (Thomas Model 4 Wiley Mill, Thomas Scientific, New Jersey, EE.UU.) y se tamizaron a través de un tamiz de 0.5 mm. El polvo se recolectó en una bolsa hermética y se almacenó a -80°C para conservarlo.

5.2. Extracto acuoso

Para el extracto, se pesó 5 g de la muestra seca del *P. ruderale* y se le agregó a un matraz de 500 mL con agua destilada. La solución se dejó agitando por 16 horas a 100 rpm a una temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, protegidas de la luz. Pasando las 16 horas, se filtró con papel Whatman ($0.22 \mu\text{m}$) y se liofilizó durante 72 horas (FreeZone 6 Liter Benchtop Freeze Dry System, Labconco, Kansas City, MO, EE.UU.). Posterior a las 72 horas, se almacenaron los tubos falcon a -80°C .

5.3. Cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y taninos condensados.

Los compuestos fenólicos totales se determinaron siguiendo el método de Folin-Ciocalteu, ya que éste se usa comúnmente en estudios de plantas y alimentos. Su basa en el cambio de color a azul, donde los fenoles reaccionan con el Folin-Ciocalteu y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto liofilizado (mg EAG/100 mg EL) (Shi *et al.*, 2022). El contenido total de flavonoides (CTF) se determinó siguiendo el método de Zhishen *et al.* 1999 y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina por gramo de extracto liofilizado (mg EC/100 g EL). Los taninos condensados (TC) se determinaron mediante el método de vainillina y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina por gramos de extracto liofilizado (mg EC/100 g EL) (Vargas-Madriz *et al.*, 2023).

5.4. Cuantificación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante el *P. ruderale* se determinó siguiendo la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) por el método de Brand-Williams, que consiste en que éste radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido. Los resultados se expresaron en μmol equivalente de Trolox por gramo de extracto liofilizado (μmol ET/100 g EL) (Eva Ramos Llica *et al.*, 2008).

También se utilizó la técnica de FRAP (Flourescence Recovery After Photobleaching) por el método de Benzie-Strain, que consiste en evaluar el efecto combinado de las defensas antioxidantes no enzimáticas que se encu entran presentes en los fluidos biológicos, como un índice de la capacidad de resistir el daño oxidante (Benítez-Estrada *et al.*, 2020). Los resultados se expresaron en μmol equivalente de Trolox por gramo de extracto liofilizado (μmol ET/100 g EL). Por último, se utilizó la técnica ABTS por el método de Miller, que consiste en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS y debido a que este método no afecta la fuerza iónica es capaz de evaluar antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos (Ruiz Benitez, 2020). Los resultados se expresaron también en μmol equivalente de Trolox por gramo de extracto liofilizado (μmol ET/100 g EL).

5.5. Ensayos de cultivo celular

Se eligieron células humanas de cáncer de colon SW480 (ATCC CCL-228) se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC®). Las células se sembraron en placas de 60mm de diámetro en medio de cultivo Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (GIBCO, Nueva York, EEUU), suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%(Biowest, Lakewood Ranch, FL, EEUU) y solución antibiótico-antimicótica al 1% (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EEUU) a 37°C bajo una atmósfera acuosa saturada de CO₂ al 5%, cambio de medio cada dos días.

5.6. Determinación de la actividad metabólica celular mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT)

Las células (1.5×10^4 células/pocillo; 100 µL) se cultivaron en una placa de 96 pocillos durante 24 horas. Las células fueron expuestas a concentraciones seriadas del extracto acuoso de PA (0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10 mg/mL), disueltos en DMEM suplementado con 0.5% de albúmina sérica bovina (ASB) durante 24 horas a 37°C. Tras la incubación, el medio se sustituye por DMEM suplementado con 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) (0,5 mg/mL, 100 µL cada pocillo, Sigma-Aldrich) durante 4h a 37°C. Posteriormente, el medio se retiró y se colocó dimetilsulfóxido (DMSO), y se realizó la lectura de la placa por espectrofotómetro a una absorbancia de 562 nm. La concentración letal media (CL₅₀) se calculó utilizando la ecuación dosis-respuesta proporcionada por el software GraphPad Prism v.8.0. Las células no tratadas se consideran como grupo control negativo. Como grupo control positivo se implementó Triton X-100 (Sigma-Aldrich) (se disolvió 1 µl del reactivo puro en 100 µl para cada pocillo).

5.7. Evaluación de la apoptosis mediante citometría de flujo

Se utilizó el kit Muse® Annexin V and Death Cell Assay Kit (MCH 100105, Millipore, Darmstadt, Alemania) para evaluar el impacto de los tratamientos con PA en la inducción de la apoptosis en las células. Las células se cultivaron como se ha descrito anteriormente y, tras alcanzar la confluencia, se trataron concentraciones de PA-CL₅₀. Tras la recolección por tripsinización y la concentración por centrifugación (6000 x g, 5 min), las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) 1 mM, ajustada a 1×10^6 células/mL, y la determinación se realizó en un analizador celular Guava® Muse (Luminex, Austin, TX, EE.UU.) Los resultados se mostraron en porcentaje de células vivas, apoptóticas tempranas, apoptóticas tardías y apoptóticas totales.

5.8. Análisis del ciclo celular por citometría de flujo

Las células (3×10^5 células/60 mm-dish) se trataron con la concentración de PA-CL50 durante 12 horas, posteriormente se recogieron por tripsinización y centrifugación (6000 x g, 5 min). Se lavaron con PBS 1 mM + EDTA y se fijaron en etanol a 70% v/v durante 4 horas a -20°C , siguiendo las condiciones indicadas por el fabricante (MCH1006, Muse® Cell Cycle Assay Kit, Millipore, Darmstadt, Alemania) en un analizador celular Muse® (Luminex, Austin, TX, EE.UU.). Células no tratadas (DMEM + 0,5% BSA) se utilizaron como control negativo.

5.9. Análisis estadístico

Los datos se presentan como la media \pm desviación estándar (DE) de al menos tres experimentos independientes por triplicado. Para la descripción de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, se realizó estadística descriptiva con la media \pm DE. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) con *post hoc* de Dunnet para los estudios *in vitro* utilizando una $p < 0.05$ como parámetro de significación.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Perfil de polifenoles del *P.ruderales*

En la Tabla 4 se muestra la cantidad total de compuestos fenólicos totales libres (CFT), el contenido total de flavonoides (TFC) y los taninos condensados (TC).

Tabla 4. Análisis de los compuestos fenólicos de *P. ruderales*.

Compuestos fenólicos	<i>Porophyllum ruderales</i>
CFT (mg EAG/100 g EL)	2,645.50 \pm 10.70
FT (mg EC/100 g EL)	475.40 \pm 26.10
TC (mg EC/100 EL)	3.00 \pm 0.10

CFT: Compuestos Fenólicos Totales, **FT:** Flavonoides Totales, **TC:** Taninos Condensados, **EAG:** Equivalentes de ácido gálico, **EC:** Equivalentes de catequina, **EL:** extracto liofilizado.

La alta ingesta en compuestos fenólicos provenientes de frutas y verduras disminuye el riesgo de padecer enfermedades degenerativas causadas principalmente por estrés oxidativo, y uno de los mecanismos ampliamente descritos es a la capacidad actividad antioxidante que estas moléculas poseen (Boeing et al., 2012). En un estudio realizado de la composición fenólica y la capacidad antioxidante de la verdolaga cruda, obtuvieron como resultado en compuestos fenólicos totales libres que tenía 57 mg EAG/ g extracto seco (Fernández-Poyatos *et al.*, 2021), y que utilizaron como solvente el metanol para la extracción de los compuestos bioactivos. Aquí es importante destacar que el estudio realizado del *P.ruderales* crudo fue 100% acuoso y aun así obtuvo mayor contenido de compuestos fenólicos totales libres. Es decir que, a pesar de que en muchos estudios se utiliza más los solventes alcohólicos porque tiene más capacidad para extraer fenoles (Vargas-Madriz *et al.*, 2024), el quelite *P. ruderales*, nos muestra que es rico en compuestos fenólicos estando en solución acuosa.

De igual manera, en otro estudio realizado con un quelite que es el quintonil, donde se hizo la extracción de compuestos en solución acuosa, arrojó que en los compuestos fenólicos totales tiene 29.2 mg EAG/ 100g PF (Peso Fresco) (Campos-González & , López-Martínez, 2023), en este caso el estudio utiliza las mismas técnicas para analizar los compuestos fenólicos y se utiliza agua para la extracción fenólica, por lo que podemos mencionar que el *P. ruderales*, sigue siendo alto en compuestos fenólicos totales.

6.2. Capacidad antioxidante del *P.ruderales*

Las moléculas antioxidantes desempeñan un papel importante en la protección del daño oxidativo causado por los radicales libres. En la Tabla 5 se muestra la capacidad antioxidante por los diferentes métodos que se realizaron.

Tabla 5. Análisis de la capacidad antioxidante de *P. ruderales*.

Capacidad antioxidante	<i>Porophyllum ruderales</i>
DPPH($\mu\text{mol ET}/100\text{ g EL}$)	342.50 \pm 16.60
FRAP ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g EL}$)	364.00 \pm 138.40
ABTS ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g EL}$)	290.40 \pm 20.50

DPPH:Depleción del 2,2-difenil-1-picrilhydrazil, **FRAP:**Poder antioxidante reductor del hierro, **TEAC:**Depleción del 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-acido sulfónico, **ET:** Equivalentes de Trolox, **EL:** Extracto liofilizado.

Los ensayos de DPPH y ABTS permiten estimar la capacidad de los compuestos presentes en una muestra para transferir electrones y neutralizar radicales libres, mientras que FRAP evalúa el potencial reductor frente a especies metálicas, lo que podría contribuir indirectamente a disminuir la formación de radicales hidroxilos mediante reacciones asociadas con la vía de Fenton. (Baenas, 2020).

Los resultados obtenidos indican que el quelite evaluado presenta capacidad de transferencia electrónica actividad reductora. Estas propiedades podrían relacionarse con un potencial efecto antioxidante de interés biológico, considerando que el estrés oxidativo se ha asociado con diversos procesos fisiopatológicos, incluido el cáncer.

En el estudio Composición fitoquímica y actividad antioxidante de *Portulaca oleracea*: influencia del proceso de cocción al vapor de Fernández-Poyatos *et al.*, 2021, la capacidad antioxidante de la verdolaga cruda evaluada mediante ABTS y DPPH fue de 390 $\mu\text{mol ET/ extracto seco}$ y 260 $\mu\text{mol ET/ extracto seco}$, respectivamente. En comparación con dichos resultados, *P. ruderale*, presentó valores superiores de actividad antioxidante, aun cuando el extracto utilizado fue acuoso. Estos hallazgos podrían sugerir diferencias en el contenido o disponibilidad de compuestos antioxidantes presentes entre ambas especies.

Con el estudio del quintonil (Campos-González & , López-Martínez, 2023), sólo se realizó la técnica de DPPH para analizar su capacidad antioxidante y éste mostró tener 284.7 $\mu\text{mol ET/ 100g PF}$ y a diferencia de *P. ruderale* sigue mostrando mayor cantidad, la diferencia es mucha entre el quintonil y *P. ruderale*.

6.3. Dosis-respuesta en las células SW480

Los resultados del comportamiento de la actividad metabólica a varias concentraciones de PR, donde se muestra una tendencia dosis respuesta en PR en la Figura 1. En la Figura 2 se muestra la cuantificación de la concentración letal (LC_{50}).

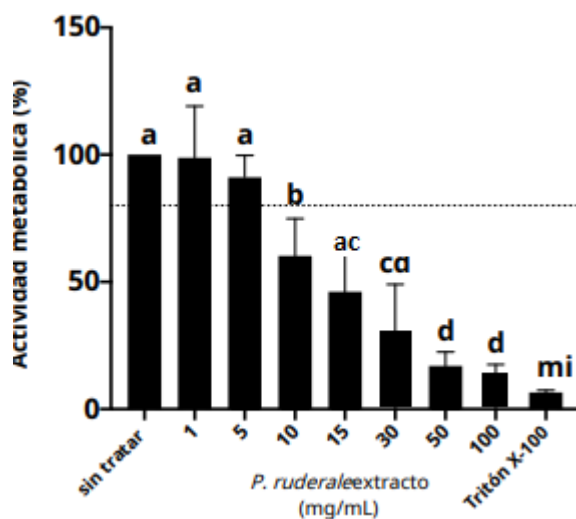


Figura 1. Efecto de los extractos de PR (mg/mL) en la actividad metabólica celular realizado mediante el estadístico de Tukey. Se utilizó Triton X-100 como control positivo.

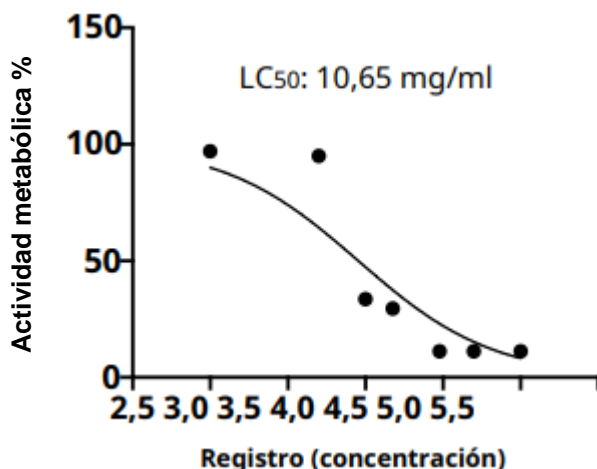


Figura 1. Ecuación dosis-respuesta ajustada y cálculo de la LC50 a partir de extractos de PR. Los resultados se expresan como la media \pm DE de tres experimentos independientes por triplicado.

Las células utilizadas en este estudio fueron SW480, que son de adenocarcinoma de colon humano y corresponden a una etapa intermedia en la progresión del cáncer Dukes B. El resultado de la disminución de la viabilidad celular por el extracto acuoso de PR resulta importante ya que, de manera dosis-dependiente, se sugiere que el extracto está encendiendo mecanismos moleculares para que la célula se conduzca a la muerte y no a la progresión. En la etapa en donde están las células sería importante detener la proliferación porque éstas podrían adquirir capacidades que le permitan llegar a etapas más tardías e invasivas del cáncer, como migración e invasividad. Por ello, la utilización del extracto en una célula de cáncer sería importante para impedir que el cáncer progrese a otras etapas.

Por ejemplo, se hizo un estudio similar con extractos acuosos de la *Salvia officinalis* y la *Salvia fruticosa* donde se demostró que es rico en fenoles y se sometieron a dos líneas celulares de cáncer de colon HCT15 y CO115, como resultado se observó que ambos inducen a la apoptosis y a la anti-proliferación en estas dos líneas celulares (Esmeta *et al.*, 2022).

6.4. El extracto de PR induce apoptosis en células SW480 y el ciclo celular detenido en la etapa G0/G1

En la Figura 3 se muestra la viabilidad celular frente a la detección de anexina V para las células no tratadas y del extracto PR. Y se muestra que el PR es efectivo para inducir apoptosis (44.62%), donde nos arrojó que las células tratadas por este extracto exhibieron principalmente una etapa apoptótica temprana (G0).

En el estudio de la chaya (Vargas-Madriz et al., 2023), se muestra que éste también es efectivo para inducir la apoptosis sólo que se exhibe en una etapa apoptótica tardía (G1).

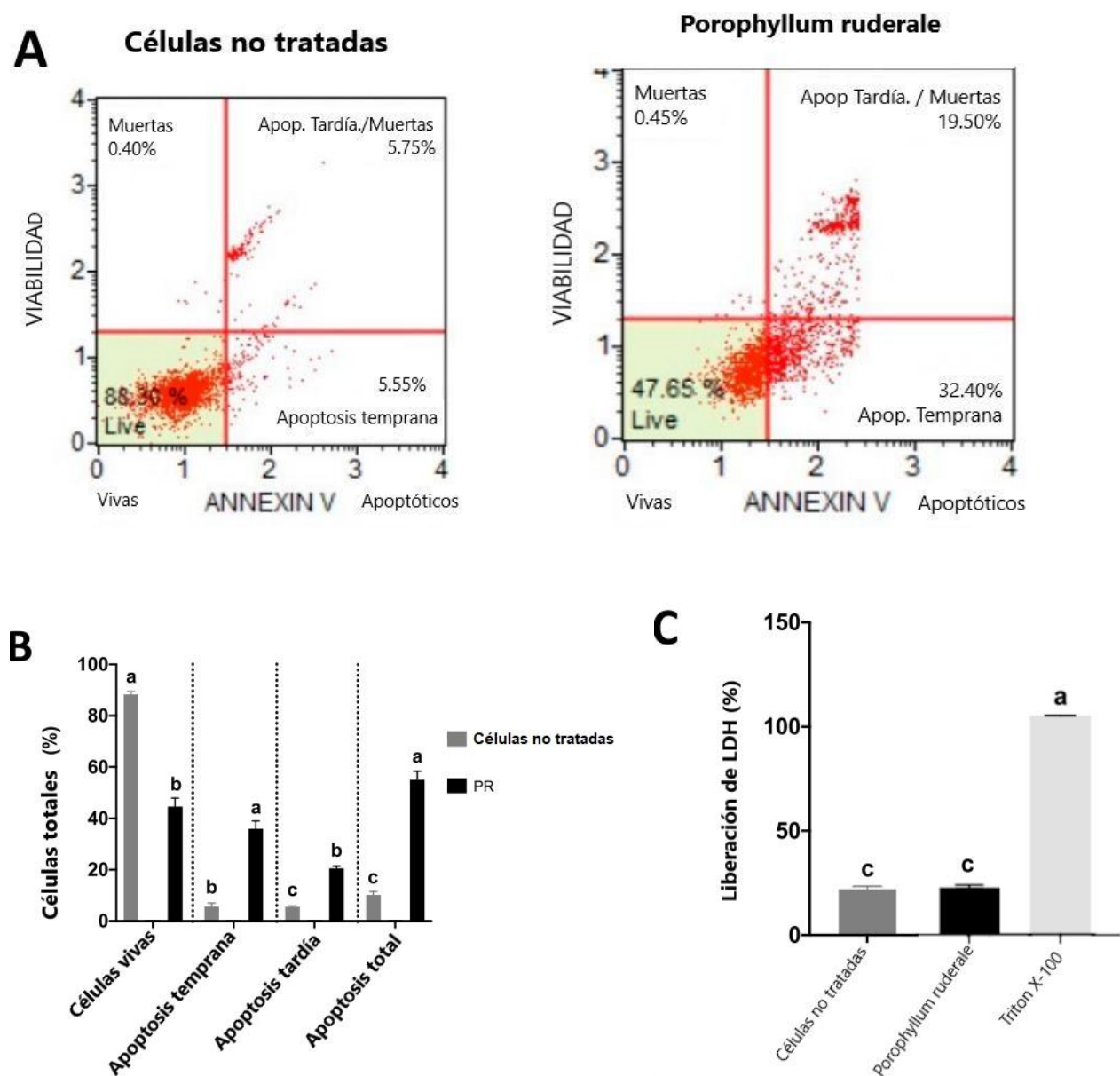


Figura 3. Evaluación de la muerte celular y de la

liberación de lactato deshidrogenasa tras el

tratamiento

de células SW480 con dosis LC_{50} del extracto de PR. (A) Imágenes representativas de citometría de flujo del impacto de la dosis LC_{50} de (B) Cuantificación del total (%) de células vivas, apoptóticas totales. Los resultados se expresan como la media \pm DE de dos experimentos independientes por triplicado. En (C), la evaluación estadística se realizó entre los grupos: células no tratadas (DMEM + 0% BSA); PR: *P. ruderale* (CL_{50} : 15.34 mg/mL). Para el ensayo de LDH se utilizó Triton X-100 como control positivo.

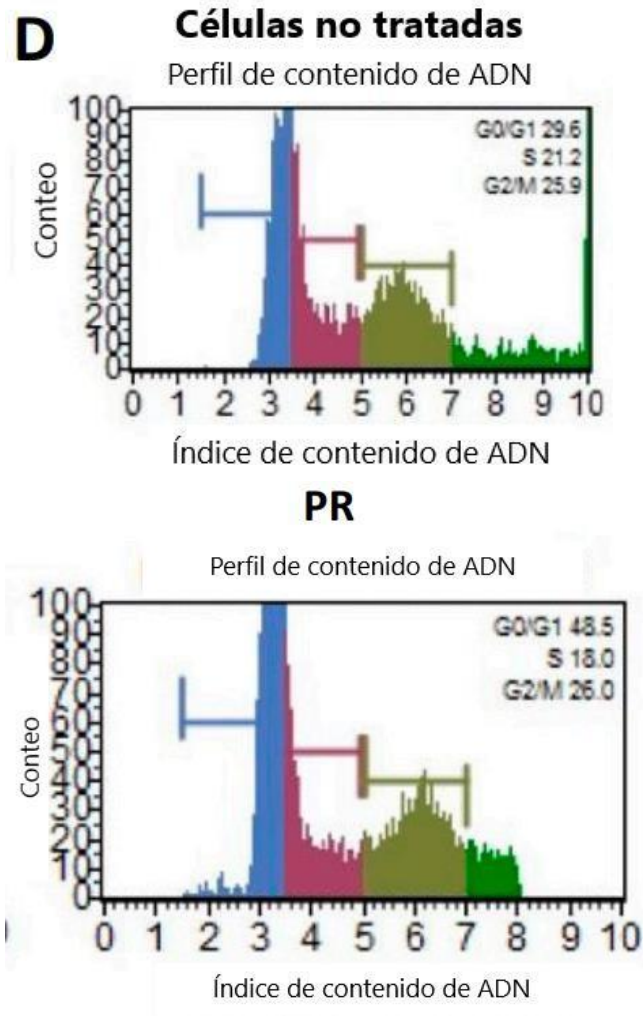
A pesar de que hay estudios en quelites, son estudios enfocados en analizar la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos que podría tener el quelite, pero hay muy poca evidencia de éstos en si tiene algún efecto citotóxico en alguna enfermedad o en específico en el cáncer de colon.

Existen diversos estudios que demuestran la participación de compuestos fenólicos en la activación de muerte celular por apoptosis. Se ha demostrado que la quercetina induce apoptosis en líneas celulares de cáncer de colon a través de la activación de proteínas proapoptóticas como Bax, inhibición de la proteína antiapoptótica Bcl-2, activación de caspasa 3 entre otras (Darband *et al.*, 2018). Majumdar *et al.*, (2009) reportaron que el resveratrol redujo los niveles de IGF-1R en un 74% promoviendo la inhibición de la proliferación celular y la inducción de apoptosis en células de cáncer de colon HCT-116. En el presente estudio confirmamos que el *P. ruderale* tiene gran cantidad fenólica y capacidad antioxidante, por consiguiente, en los resultados en los ensayos de cultivo celular, podemos notar que los compuestos bioactivos, en este caso, los antioxidantes sí tienen este efecto que se busca tener, por ejemplo, en la Figura 3 (B) nos muestra que *P. ruderale* tiene respuesta y activa la apoptosis, resultado que lo hace atractivo como tratamiento para combatir células de cáncer de colon.

La Figura 3C muestra el porcentaje de citotoxicidad inducido por el tratamiento y el grupo control positivo, éste último se vio aumentado debido al daño letal que muestra el tritón al 1% sobre las células SW480. El porcentaje de necrosis inducido por el extracto acuoso de *P. ruderale* fue alrededor del 20%, mismo que, aunque es bajo, podría estar contribuyendo a la disminución en la proliferación total de la línea celular, junto con otros procesos de muerte celular incluyendo la necroptosis, no evaluada en este proyecto. La necroptosis es un proceso controlado también, en el que actúan proteínas específicas similar al mecanismo apoptótico (Xu *et al.*, 2018).

6.5. Análisis del ciclo celular por citometría de flujo

En la figura 4 se muestra el número de células y el porcentaje de células vivas con y sin el tratamiento PR.



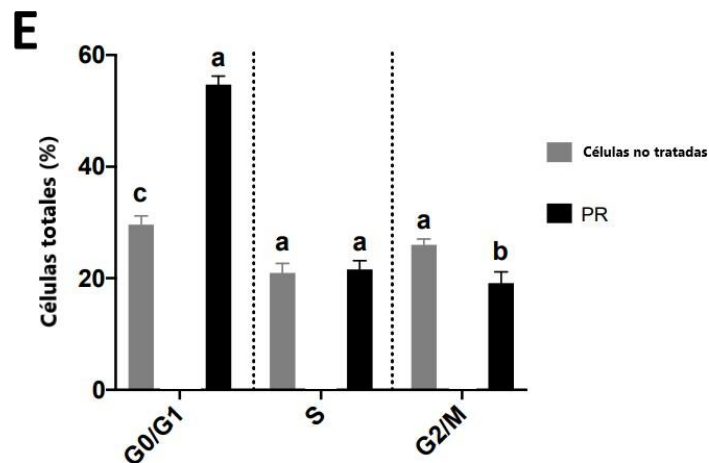


Figura 4. (D) Imágenes donde muestra el impacto del tratamiento en el ciclo celular. (E) Cuantificación de las células totales (%) por cada ciclo celular. Los resultados se expresan como la media \pm SD de los dos experimentos independientes en triplicado.

Se utilizó el análisis del ciclo celular por citometría de flujo para profundizar el proceso apoptótico. Donde en el histograma (Figura 4E) muestra un arresto del ciclo celular en la etapa G0/G1, es decir que, en fase temprana, los compuestos bioactivos del PR pudieron detener la actividad cancerígena, dañando probablemente el ADN y así, en las siguientes etapas éstas mismas disminuyeron e impidiendo el desarrollo de las células cancerígenas. Por lo tanto, es importante en futuros estudios implementar otros métodos para saber qué compuestos bioactivos del PR son los que tienen mayor actividad para la detención de la actividad cancerígena, ya que en un estudio de revisión (Brakim, *et al.*,2022) algunas plantas medicinales tienen compuestos fenólicos que son inductores apoptóticos.

VII. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos del extracto del quelite *Porophyllum ruderale*, es un alimento con compuestos fenólicos que contienen capacidad antioxidante y genera efectos citotóxicos y antiproliferativos *in vitro*. El extracto mostró un resultado proapoptótico y arresto del ciclo celular en la etapa G0/G1, conduciendo a la célula a apoptosis. Por lo tanto, el extracto acuoso del pápalo quelite tiene efectos en células de cáncer de colon por sus componentes bioactivos. Debido a esto, es importante darles esta importancia a los quelites y, en este caso, al *P. ruderale* y hacer más investigaciones para evaluar los mecanismos moleculares asociados a su quimioprotección, así como en las líneas celulares y modelos biológicos, para establecer toxicidad y posología, ya que, al ser un alimento nativo, esto puede ayudar a aumentar su consumo para la prevención del cáncer de colon.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Cancer Society. (2023). *Acerca del cáncer colorrectal ¿Qué es el cáncer colorrectal?*
- Ángel, M., Hidalgo, G., Ortiz Rubio, M., & Cruz, M. G. (2018). *Estrés oxidativo y antioxidantes* (Vol. 22, Issue 1).
- Baenas, N., Ruales, J., Moreno, D. A., Barrio, D. A., Stinco, C. M., Martínez-Cifuentes, G., Meléndez-Martínez, A. J., & García-Ruiz, A. (2020). Characterization of Andean Blueberry in Bioactive Compounds, Evaluation of Biological Properties, and In Vitro Bioaccessibility. *Foods*, 10, 1483.
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M. J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., & Watzl, B. (2012). Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European journal of nutrition*, 51(6), 637–663. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0380-y>
- Bakrim, S., El Omari, N., El Hachlafi, N., Bakri, Y., Lee, L. H., & Bouyahya, A. (2022). Dietary Phenolic Compounds as Anticancer Natural Drugs: Recent Update on Molecular Mechanisms and Clinical Trials. In *Foods* (Vol. 11, Issue 21). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods11213323>
- Brau-Figueroa, H., Palafox-Parrilla, E. A., Mohar-Betancourt, A., Brau-Figueroa, H., Palafox-Parrilla, E. A., & Mohar-Betancourt, A. (2020). El Registro Nacional de Cáncer en México, una realidad. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 19(3), 107–111. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.20000030>
- Castro, D., Francisco, L., Peña, B., María, L., Ovando, M., Arthur, R., & Boettler, B. (2011). *Los quelites, tradición milenaria en México SINAREFI Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura*.
- Castro, D., Robert, L., Bye Boettler, A., María, L., & Ovando, M. (2011). *Diagnóstico del pápaloquelite en México SINAREFI Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura*.
- Catalán, V., Honorato, B., García, F., Bandrés, E., Zabalegui, N., Zárata, R., Salgado, E., & García-Foncillas, J. (2003). *Carcinogénesis colónica: proceso de transformación neoplásica REV MED UNIV NAVARRA/ Carcinogénesis colónica: proceso de transformación neoplásica* (Vol. 47).

- Charúa-Guindic, L., De la Torre, A., Raña, R., López, E., Ramiro, J., Ávila, C., Serdio, M. Á., Brito, P., Vinageras, J., Murray, J., Lira, M., & Rodríguez, A. A. (2008). *Guías clínicas de diagnóstico y tratamiento del carcinoma de colon y recto. Tratamiento del cáncer de colon y recto.*
- Darband, S. G., Kaviani, M., Yousefi, B., Sadighparvar, S., Pakdel, F. G., Attari, J. A., Mohebbi, I., Naderi, S., & Majidinia, M. (2018). Quercetin: A functional dietary flavonoid with potential chemo-preventive properties in colorectal cancer. *Journal of cellular physiology*, 233(9), 6544–6560. <https://doi.org/10.1002/jcp.26595>
- David Lomanto Díaz, L., Leonel Ortiz Cala, Ó., Orlando Bretón Pinto, C., Iván Gómez Lizcano, Á., Matilde Mesa Cornejo, V., & Asociado, P. (n.d.). *Med UNAB Artículo estudiantil El ciclo celular.*
- David Lomanto Díaz, L., Leonel Ortiz Cala, Ó., Orlando Bretón Pinto, C., Iván Gómez Lizcano, Á., Matilde Mesa Cornejo, V., & Asociado, P. (2003). *Med UNAB Artículo estudiantil El ciclo celular.*
- Esmeeta, A., Adhikary, S., Dharshnaa, V., Swarnamughi, P., Ummul Maqsummiya, Z., Banerjee, A., Pathak, S., & Duttaroy, A. K. (2022). Plant-derived bioactive compounds in colon cancer treatment: An updated review. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 153). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113384>
- Eva Ramos Llica, Q., Castañeda Castañeda, B., & Lucy Ibáñez Vásquez, D. A. (2008). Revista Enero-Junio 2008. In *REV ACAD PERU SALUD* (Vol. 15, Issue 1).
- Félix Vargas-Madriz, Á., Luis Chávez-Servín, J., & Kuri-García, A. (2024). Procedimientos para la obtención de compuestos fenólicos de quelites mexicanos Procedures for Obtaining Phenolic Compounds from Mexican quelites. In *CIENCIA* (Vol. 31). <http://orcid.org/0000-0002-3589-1363><http://orcid.org/0000-0002-5866-4825><http://orcid.org/>
- Fernández-Poyatos, M. D. P., Llorent-Martínez, E. J., & Ruiz-Medina, A. (2021). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Portulaca oleracea*: Influence of the steaming cooking process. *Foods*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/foods10010094>
- Global Cancer Observatory. (2022). *Cancer Today*. Recuperado el 05 de marzo de 2024 de [Cancer Today \(who.int\)](https://gco.iarc.who.int/)
- Guija-Guerra, H., & Guija-Poma, E. (2023). Radicales libres y sistema antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 23(2), e2158. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n2.12>
- Ibet Juárez-Vázquez, C., Mónica, Y., Rosales-Reynoso, A., Alejandra, M., & Reynoso, R. (2014). Cáncer colorrectal (CCR): alteraciones genéticas y moleculares ARTÍCULO DE REVISIÓN Correspondencia. In *Gac Med Mex* (Vol. 150).
- Kuipers, E. J., Grady, W. M., Lieberman, D., Seufferlein, T., Sung, J. J., Boelens, P. G., Van De Velde, C. J. H., & Watanabe, T. (2015). Colorectal cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 1. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65>
- Lomanto Díaz, L. D., Ortiz Cala, Ó. L., Bretón Pinto, O. C., Gómez Lizcano, Á. I., & Mesa Cornejo, V. M. (2003). *El ciclo celular.*

- Lagunas, M. del C., Valle, A., & Soto, I. (2014). *Ciclo celular: Mecanismos de regulación* (Vol. 17, Issue 2).
- Leal-Omar, J., Zarate-Guzmán, J., Peniche-Moguel, P., Gil-Rojas, N., Gutiérrez-Roa, A., Briones-Fraga, S., Gómez-García, T., Morones-Navarrete, G., & Mena-Contreras, A. (2019). *Demografía del cáncer colorrectal en los últimos 5 años de un hospital oncológico*. 31(2), 363–369. <https://doi.org/10.24875/END.M19000125>
- Llacuna, L., & Mach, N. (2012). Papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer. In *Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietetica* (Vol. 16, Issue 1, pp. 16–24). [https://doi.org/10.1016/S2173-1292\(12\)70067-4](https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70067-4)
- Lucía, B., Arias, A., Restrepo, G., Uribe, T., Fredy Betancur, J., Vancouver, R., Restrepo, N. G., Uribe, P. T., Fredy, J., & Archivos De Medicina, B. (2013). Cancer colorrectal: una mirada clínica, genética y molecular. In *Arch Med (Manizales)* (Vol. 13, Issue 2).
- Majumdar, A. P. N., Banerjee, S., Nautiyal, J., Patel, B. B., Patel, V., Du, J, Sarkar, F. H. (2009). Curcumin synergizes with resveratrol to inhibit colon cancer.
- Motta, G. A., Alonso, E., Lozano, G., Urbina, J. F., & Valenzuela, J. (2011). *La evaluación del cáncer colorrectal por tomografía computarizada multidetector*.
- Muñoz, A., Mañé, J. M., Viteri, A., & Barceló, R. (2003). Principles of cancer management. Indications and intentions of treatment. In *Gac Med Bilbao* (Vol. 27).
- Vargas-Madriz, Á. F., Luzardo-Ocampo, I., Moreno-Celis, U., Roldán-Padrón, O., Chávez-Servín, J. L., Vergara-Castañeda, H. A., Martínez-Pacheco, M., Mejía, C., García-Gasca, T., & Kuri-García, A. (2023). Comparison of Phytochemical Composition and Untargeted Metabolomic Analysis of an Extract from *Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I. I. Johnst and *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. and Biological Cytotoxic and Antiproliferative Activity In Vitro. *Plants*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/plants12101987>
- Páez Aguirre, S. F. (2011). Medicina alternativa y complementaria en pacientes oncológicos y pediátricos. *Gaceta Mexicana de Oncología* , 303–305.
- Pazo, R. A., Álvarez, M., Cebollero de Miguel, A., Agustín, M. J., Martínez, L., Anel, A., Pérez, J. L., & Antón, A. (2012). Apoptosis, cáncer & Go. *Revista Internacional de Grupos de Investigación En Oncología* , 1, 23–28.
- Peralta Zaragoza, O., Bahena Román, M., Díaz Benítez, E. C., & Madrid Marina, V. (1997). Regulación del ciclo celular y desarrollo de cáncer: perspectivas terapéuticas. *Instituto Nacional de Salud Pública*, 39, 451–461.
- OMS. (2 de febrero de 2022). *Organización Mundial de la Salud* . Recuperado el 19, septiembre, 2023 de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Ramos-gomez, M., Fernández Corre, J., Hernández Rivera, E., Arvizu Espinosa, M. G., Mendoza-Diaz, S., Reynoso-Camacho, R., & Flavia Loarca-Piña, Ma. G. (2011). Efecto de plantas comestibles mexicanas sobre el desarrollo de cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas sprague-dawley. *Ciencia UAQ*, 56–69.
- Sanabria, M. U. A. S. M. S. M. M. J. H. G. (2012). Vías de carcinogénesis colorrectal y sus implicaciones clínicas. *Revista Colombia Cancerol*, 16, 170–181.

- Spinelli, O. M., Altamirano, E. M., Corrons, F. J., Dreizzen, E., & González, P. H. (2002). Apoptosis y cáncer. *Prensa Medica Argentina*, 89(4), 301–307. <https://doi.org/10.29057/icsa.v9i17.4832>
- Sánchez, C. (2013, June 11). *Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer*. <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S071686401370659X>
- Vanegas, D. P., Ramírez López, L. X., Limas Solano, L. M., Pedraza Bernal, A. M., & Monroy Díaz, A. L. (2020). Revisión: Factores asociados a cáncer colorrectal. *Revista Médica de Risaralda*, 26(1). <https://doi.org/10.22517/25395203.23111>
- Vargas-Madriz, Á. F., Luzardo-Ocampo, I., Moreno-Celis, U., Roldán-Padrón, O., Chávez-Servín, J. L., Vergara-Castañeda, H. A., Martínez-Pacheco, M., Mejía, C., García-Gasca, T., & Kuri-García, A. (2023). Comparison of Phytochemical Composition and Untargeted Metabolomic Analysis of an Extract from *Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I. I. Johnst and *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. and Biological Cytotoxic and Antiproliferative Activity In Vitro. *Plants*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/plants12101987>
- Xu, Y., Zhang, J., Ma, L., Zhao, S., Li, S., Huang, T., & Chu, Z. (2018). The Pathogenesis of Necroptosis-Dependent Signaling Pathway in Cerebral Ischemic Disease. *Behavioural neurology*, 2018, 6814393. <https://doi.org/10.1155/2018/6814393>