



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA
LABORATORIO DE NEUROENDOCRINOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA GHRELINA SOBRE LA
CAPACIDAD PROLIFERATIVA Y MIGRATORIA DE
CÉLULAS PROVENIENTES DE
CÁNCER DE PRÓSTATA, LÍNEA TUMORAL PC-3**

T E S I S

Para obtener el título de:

LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

P R E S E N T A

LIZBETH BECIEZ BEDOLLA

DIRECTOR DE TESIS

DR. EDUARDO MONJARAZ GUZMÁN

MAYO 2025



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán, por brindarme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y por su disposición para resolver mis dudas. Por su orientación, compromiso y acompañamiento en el desarrollo de esta tesis.

A mis revisores, la Dra. María Cristina González Vázquez y el Dr. José Everardo Avelino Cruz, por sus comentarios constructivos y su invaluable orientación. Por su tiempo y compromiso que permitieron a este trabajo llegar a su mejor versión.

A mi mamá, Justina Bedolla Rivera, por su amor incondicional, su confianza en mí y su apoyo en cada etapa de mi vida. Por enseñarme que no hay obstáculos imposibles y por inspirarme a siempre dar lo mejor de mí.

A mi hermana, Jaqueline Beciez Bedolla, por su cariño y apoyo constante. Por ser una guía tanto en lo académico como en la vida, y por estar siempre presente.

A César Díaz López, por su interés en mi proyecto, por escuchar con atención mis explicaciones y por motivarme a buscar la claridad en mis ideas.

A Evelyn Aparicio, por compartir conmigo su conocimiento, por enseñarme las técnicas de laboratorio, por su paciencia y su disposición a ayudarme.

A Jaime Daniel Hernández Arrieta, por su cariño, por las enriquecedoras discusiones y por compartir conmigo su conocimiento. Por su compañía durante mis experimentos, por ser mi apoyo emocional y por alegrar todos mis días desde que nos conocimos.

A Estefanía Barrientos Mora, por ser como una hermana para mí. Por estar en los momentos más importantes de mi vida, por siempre escucharme y por darme ánimos cuando más lo necesitaba.

A Jesús R. Alvarado García, por su apoyo durante las primeras etapas de este proyecto y por cederme su computadora, la cual fue de gran utilidad para la escritura de esta tesis.

A la técnico July López y a todos mis compañeros del laboratorio entre ellos—July, Rubén, Sele, Zuri, Deni, Max, Natalia y Mariella— por su apoyo y compañía durante este proceso. Su presencia y contribuciones, grandes o pequeñas, fueron parte fundamental de este trabajo.

A todos, gracias por ser parte de este logro. Sin su apoyo, este camino no habría sido el mismo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	3
ABREVIATURAS.....	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Cáncer.....	9
1.2 Cáncer de próstata.....	12
1.3.1 Factores de riesgo.....	14
1.3.2 Patogénesis.....	14
1.3.3 Diagnóstico y tratamiento del cáncer de próstata.....	17
1.3 Metástasis.....	17
1.4 Ghrelina.....	22
1.4.1 Biosíntesis de ghrelina.....	24
1.4.2 Receptor de ghrelina.....	26
II. ANTECEDENTES.....	29
2.1 Relación ghrelina y cáncer.....	29
2.2 Relación ghrelina y cáncer de próstata.....	35
III. JUSTIFICACIÓN.....	37
IV. HIPÓTESIS.....	38
V. OBJETIVOS.....	38
Objetivo general.....	38
Objetivos particulares.....	38
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
6.1. Cultivo de la línea celular PC-3.....	39
6.2. Conteo celular.....	40
6.3. Ensayos de migración en cámara Transwell.....	41
6.4. Ensayo de RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa).....	42
6.4.1. Extracción de ARN total.....	42
6.4.2. Cuantificación y determinación de la pureza del ARN.....	43
6.4.3. Transcripción reversa.....	43
6.4.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	44
6.4.5. Electroforesis en gel de agarosa.....	46
6.4.6. Densitometría.....	47
6.5. Análisis de datos.....	47
VII. RESULTADOS.....	48
7.1. Las células PC-3 expresan el ARNm que codifica para la isoforma 1a del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR-1a).....	48

7.2. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad proliferativa en células PC-3.....	49
7.3. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad migratoria en células PC-3.....	50
7.4. El tratamiento con ghrelina promueve el fenotipo mesenquimal en células PC-3.....	51
7.5. El tratamiento con ghrelina inhibe el fenotipo epitelial en células PC-3....	52
7.5. Ghrelina promueve la expresión del ARNm que codifica para factores de transcripción asociados a la transición epitelio-mesénquima en células PC-3	53
VIII. DISCUSIÓN.....	56
IX. CONCLUSIONES.....	64
X. PERSPECTIVAS.....	64
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estudios sobre el efecto de ghrelina acilada sobre la capacidad proliferativa, migratoria e invasiva de células cancerosas.....	32
Tabla 2. Mix de reacción para retrotranscripción.....	43
Tabla 3. Mix de reacción para PCR.....	44
Tabla 4. Oligonucleótidos utilizados para ensayos de PCR de punto final.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características distintivas del cáncer (Tomado y modificado de Hanahan, 2022).....	10
Figura 2. Incidencia de cáncer a nivel mundial (Globocan, 2022).....	11
Figura 3. Incidencia de los tipos de cáncer más comunes a nivel mundial (Globocan, 2022).....	11
Figura 4. Mortalidad por cáncer a nivel mundial (Globocan, 2022).....	12
Figura 5. Nuevos casos de cáncer de próstata a nivel mundial (Globocan, 2022).....	13
Figura 6. Incidencia de cáncer de próstata en América Latina y el Caribe (Globocan, 2022).....	13
Figura 7. Progresión histopatológica y genes/vías importantes en cada etapa del cáncer de próstata humano (Tomado y modificado de Saranyutanon et al., 2020; Shen & Abate-Shen, 2010).....	16
Figura 8. Proceso de metástasis (Tomado y modificado de Fares et al., 2020)...	18
Figura 9. Modificaciones morfológicas durante la EMT (Tomado y modificado de Lai et al., 2020).....	20

Figura 10. Principales funciones fisiológicas de la ghrelina.....	23
Figura 11. Transcripción genética, empalme y modificaciones postraduccionales de ghrelina.....	25
Figura 12. Vías de señalización de GHSR-1a dependientes de ghrelina (Tomado y modificado de Xiao et al., 2020).....	27
Figura 13. Morfología de células PC-3. Microfotografías de células sembradas a baja densidad (izquierda) y a alta densidad (derecha) (Imagen tomada de ATCC).....	39
Figura 14. Temperaturas utilizadas en el ciclo de retrotranscripción.....	44
Figura 15. Protocolo para cada ciclo de la PCR.....	45
Figura 16. Las células PC-3 expresan el ARNm que codifica para GHSR-1a y su nivel no difiere en presencia de ghrelina.....	48
Figura 17. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad proliferativa en células PC-3.....	49
Figura 19. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad migratoria en células PC-3.....	51
Figura 20. El tratamiento con ghrelina aumenta la expresión de Vimentina y α -SMA en células PC-3.....	52
Figura 21. El tratamiento con ghrelina disminuye la expresión de E-cadherina en células PC-3.....	53
Figura 23. El tratamiento con ghrelina aumenta la expresión de ZEB1 y TWIST-1 en células PC-3.....	55

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AJ	Uniones adherentes
AMPK	Proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina
AR	Receptor de andrógenos
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ATM	Ataxia telangiectasia mutada
ATR	Proteína relacionada con ataxia-telangiectasia y Rad3
BAI1	Inhibidor de angiogénesis cerebral 1
Bcl-2	Proteína 2 de linfoma de células B
CaMKII	Proteína quinasa II estimulada por calmodulina
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementario
COX-2	Ciclooxigenasa 2
CXCL12	Ligando de quimiocina motivo CXC 12
CXCR4	Receptor de quimiocina CXC 4
DS	Desmosomas
ECM	Matriz extracelular
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
EMT	Transición epitelio-mesénquima
ERK	Quinasa regulada por señales extracelulares
EZH2	Potenciador del homólogo 2 de Zeste
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
FOXA1	Forkhead box A1
GH	Hormona de crecimiento
GHSR	Receptor secretagogo de la hormona de crecimiento
GHSR-1a	Isoforma 1A del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento
GLOBOCAN	Observatorio Global de Cáncer
GOAT	Ghrelina-O-aciltransferasa
GPCR	Receptores acoplados a proteínas G
GSTP1	Glutatió S-transferasa Pi 1
HDS	Hemidesmosomas
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
HGPIN	Neoplasia intraepitelial prostática de alto grado
IP3	Inositol 1,4,5-trifosfato
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos
MRI-TRUS	Resonancia magnética y ecografía transrectal
mTOR	Objetivo mecanicista de la rapamicina
MYC	Homólogo del oncogén viral de mielocitomatosis aviar v-myc.
NKX3.1	Proteína homeobox NKX3.1
OMS	Organización Mundial de la Salud

PCA3	Antígeno 3 del cáncer de próstata
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PI-RADS	Sistema de Informes y Datos de Imágenes de Próstata
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinasa
PKC	Proteína quinasa C
PLC	Fosfolipasa C
PSA	Antígeno prostático específico
PTEN	Homólogo de fosfatasa y tensina
RAD51	Recombinasa RAD51
RANK	Receptor activador del factor nuclear kappa-B
RANK-L	Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B
RB1	Retinoblastoma
RT	Transcriptasa Reversa
SMAD4	Miembro 4 de la familia SMAD
SPOP	Proteína speckle-type POZ
TGFβ	Factor de crecimiento transformante beta
TJ	Uniones estrechas
TMPRSS2-ERG	Fusión del gen relacionado con la serina proteasa transmembrana 2-ETS
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
ZO-1	Zónula de oclusión 1

RESUMEN

El cáncer de próstata es la segunda neoplasia más común en hombres a nivel mundial y una de las principales causas de mortalidad relacionada con el cáncer. Su progresión a un estado metastásico representa un desafío clínico significativo debido a la resistencia a los tratamientos convencionales.

Algunas hormonas peptídicas, incluida la ghrelina, han sido propuestas como intermediarias en la progresión tumoral a través de la activación de vías de señalización específicas. La ghrelina, además de su papel en la regulación del metabolismo energético, ha sido asociada con procesos oncológicos clave como la proliferación, migración, invasión y angiogénesis.

Dada la evidencia contradictoria sobre su papel en la progresión del cáncer y la escasez de estudios en cáncer de próstata, este estudio tuvo como objetivo evaluar sus efectos sobre la capacidad proliferativa y migratoria de células de cáncer de próstata metastásico utilizando la línea celular PC-3.

Inicialmente, se confirmó la expresión del receptor de ghrelina (GHSR-1a) para establecer su relevancia funcional en este modelo. Los resultados demostraron que el tratamiento de células PC-3 a una concentración de 100 nM de ghrelina durante 48 horas aumentó significativamente su capacidad proliferativa, evidenciado por un incremento en la expresión de Ki-67. Asimismo, la ghrelina potenció la capacidad migratoria al elevar la expresión de los factores de transcripción asociados con la transición epitelio-mesénquima SNAIL-2, TWIST-1 y ZEB-1. Finalmente, se demostró que la ghrelina favorece el fenotipo mesenquimal al incrementar la expresión de vimentina y α -SMA, a la vez que reduce la expresión de E-cadherina, disminuyendo así las características epiteliales.

Estos hallazgos resaltan la importancia de la ghrelina en la progresión del cáncer de próstata y subrayan la necesidad de realizar estudios adicionales para dilucidar con mayor precisión sus efectos y evaluar su potencial como blanco terapéutico.

ABSTRACT

Prostate cancer is the second most common neoplasm in men worldwide and one of the leading causes of cancer-related mortality. Its progression to a metastatic state represents a significant clinical challenge due to resistance to conventional treatments.

Peptide hormones, including ghrelin, have been implicated in tumor progression by activating specific signaling pathways. Beyond its role in energy metabolism regulation, ghrelin has been associated with key oncological processes such as proliferation, migration, invasion, and angiogenesis.

Given the contradictory evidence regarding its role in cancer progression and the limited studies in prostate cancer, this study aimed to evaluate its effects on the proliferative and migratory capacity of metastatic prostate cancer cells using the PC-3 cell line.

Initially, the expression of the ghrelin receptor (GHSR-1a) was confirmed to establish its functional relevance in this model. The results demonstrated that treating PC-3 cells with 100 nM ghrelin for 48 hours significantly increased their proliferative capacity, as evidenced by an upregulation of Ki-67 expression. Similarly, ghrelin enhanced migratory capacity by increasing the expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT)-associated transcription factors SNAIL-2, TWIST-1, and ZEB-1. Finally, ghrelin was shown to promote a mesenchymal phenotype by upregulating vimentin and α -SMA expression while reducing E-cadherin levels, thereby decreasing epithelial characteristics.

These findings highlight the importance of ghrelin in prostate cancer progression and underscore the need for further studies to precisely elucidate its effects and evaluate its potential use as a therapeutic target.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Cáncer

El cáncer corresponde a un conjunto de enfermedades que se producen cuando células anormales, provenientes de casi cualquier órgano o tejido, crecen de forma descontrolada, superan sus límites normales y se diseminan a zonas adyacentes u otras partes del cuerpo (OMS, 2024).

El cáncer surge de una serie de alteraciones genéticas y epigenéticas en el ADN que provocan la desregulación de la estructura, función y expresión de los genes, dando lugar a células anormales (Hassanpour & Dehghani, 2017). Conforme las células anormales se multiplican, se generan continuamente nuevas variantes mutantes; si una mutación otorga una ventaja de crecimiento selectivo, la replicación se ve potenciada y tras múltiples rondas de mutación y selección, una variante neoplásica evoluciona para causar cáncer (Brown et al., 2023).

La inestabilidad genética se refleja en modificaciones en la expresión, funcionamiento y estructura de proteínas que pueden influir directa o indirectamente en mecanismos de proliferación, transformación y supervivencia celular (Quesne et al., 2010). Así mismo, las células adquieren la capacidad de invadir tejidos cercanos e incluso extenderse a otros órganos del cuerpo, lo cual se conoce como metástasis y es la principal causa de muerte en personas con cáncer (Aku & Patil, 2022).

Se han propuesto características cruciales para la transformación de células normales a células con la capacidad de formar tumores malignos (**Figura 1**), incluidas la autosuficiencia en la señalización proliferativa, la evasión de supresores de crecimiento, la resistencia a la muerte celular, el potencial replicativo ilimitado, la inducción/acceso a la vasculatura, la activación de la invasión y metástasis, la reprogramación del metabolismo celular y la evasión de la destrucción inmunológica (Hanahan, 2022).



Figura 1. Características distintivas del cáncer (Tomado y modificado de Hanahan, 2022).

Dentro de las características distintivas del cáncer, la autosuficiencia en la señalización proliferativa y la evasión de supresores de crecimiento destacan por su dependencia a alteraciones del ciclo celular, el cual es regulado por complejos clave como ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (CDK) (Hanahan, 2022; Pellarin et al., 2025). En condiciones normales, el ciclo celular es controlado rigurosamente por mecanismos que garantizan la replicación precisa del ADN (Almalki, 2023). No obstante, alteraciones en estos mecanismos, como la desregulación de ciclinas D, B, E o A y sus CDK asociadas, pueden conducir a una proliferación descontrolada promoviendo así la tumorigénesis (Almalki, 2023).

Las causas del cáncer son variadas; la predisposición genética, la exposición a radiación ionizante, la exposición a radiación UV, el fumar tabaco, el consumo de alcohol, la exposición a contaminantes, la mala dieta, el sedentarismo, la edad, así como las infecciones causadas por agentes patógenos como algunas bacterias y virus, son factores importantes en los procesos de carcinogénesis (Lewandowska et al., 2019).

De acuerdo con las últimas estadísticas publicadas por el Observatorio Global de Cáncer de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2022, se presentaron casi 20 millones de nuevos casos de cáncer (**Figura 2**) y cerca de 10 millones de muertes por esta causa a nivel mundial (Globocan, 2022).

Adicionalmente, se estima que para 2040 el número de casos aumentará a 28.4 millones.

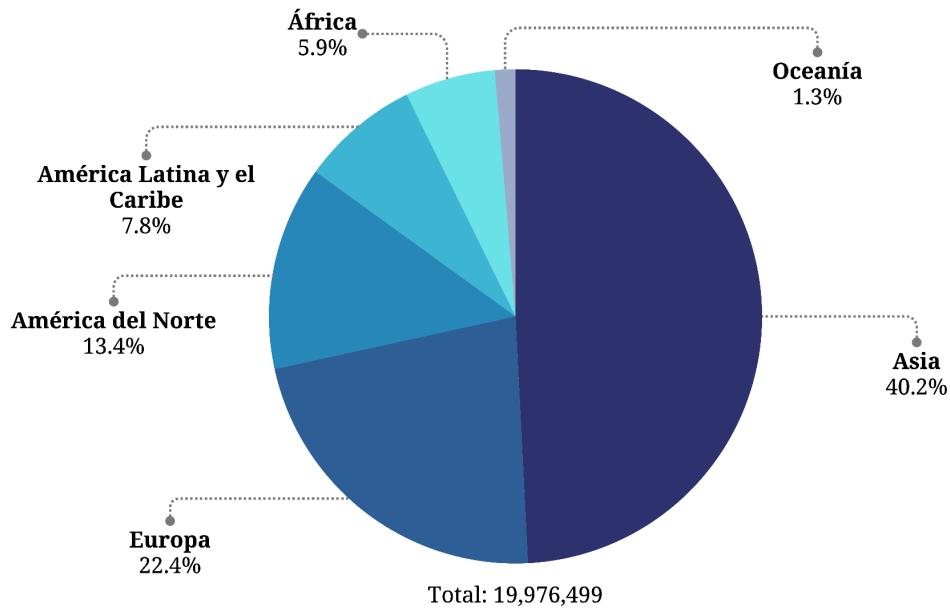


Figura 2. Incidencia de cáncer a nivel mundial (Globocan, 2022).

En humanos, los tipos de cáncer con mayor incidencia son de: pulmón, mama, colorrectal, próstata y estómago (**Figura 3**) (Globocan, 2022).

El de pulmón, próstata, así como el colorrectal son los principales tipos de cáncer entre los hombres; mientras que los de mama, colorrectal y pulmón son los más comunes entre las mujeres (Globocan, 2022).

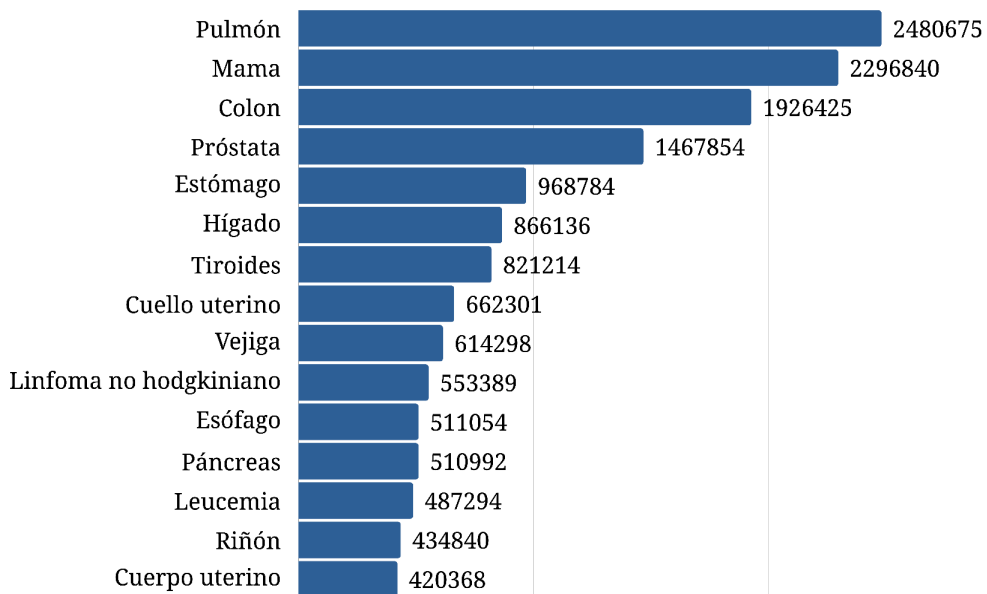


Figura 3. Incidencia de los tipos de cáncer más comunes a nivel mundial (Globocan, 2022)

En cuanto a mortalidad relacionada con cáncer, el de pulmón tiene la tasa más alta (18.7%), seguido del colorrectal (9.3%), hígado (7.8%), estómago (6.8%) y mama (6.8%) (**Figura 4**) (Globocan, 2022).

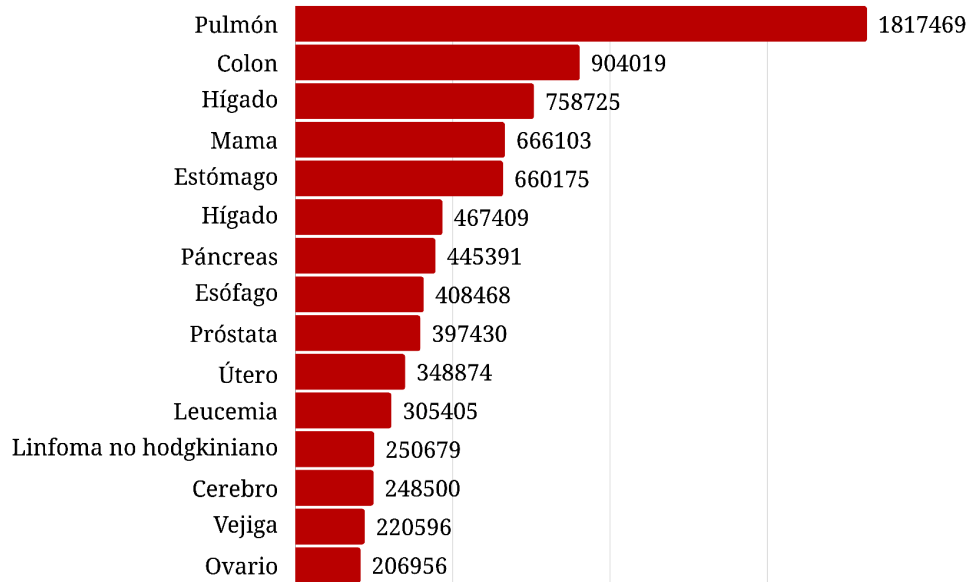


Figura 4. Mortalidad por cáncer a nivel mundial (Globocan, 2022)

El cáncer de próstata se encuentra posicionado en segundo lugar con mayor incidencia en hombres y ocupa el quinto lugar en mortalidad entre los tipos de cáncer que afectan a este grupo (Globocan, 2022).

1.2 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es una enfermedad resultante de la transformación de las células prostáticas (Murray, 2021) y corresponde a la segunda neoplasia maligna más común en hombres de todo el mundo, principalmente a aquellos de mediana edad entre 45 y 60 años (Bergengren et al., 2023; Sekhoacha et al., 2022).

De acuerdo con Globocan, en 2022 se presentaron 1,467,854 nuevos casos de cáncer de próstata a nivel mundial (**Figura 5**).

Según los datos de Global Burden of Disease (GBD), alrededor de 10 millones de hombres viven con un diagnóstico de cáncer de próstata y cerca de 700,000 de ellos viven con una enfermedad metastásica (James et al., 2018; Foreman et al., 2018).

En México, en 2022, se presentaron 26,565 nuevos casos de este tipo de cáncer (**Figura 6**), y se posicionó en primer lugar tanto de incidencia como mortalidad en hombres (Globocan, 2022).

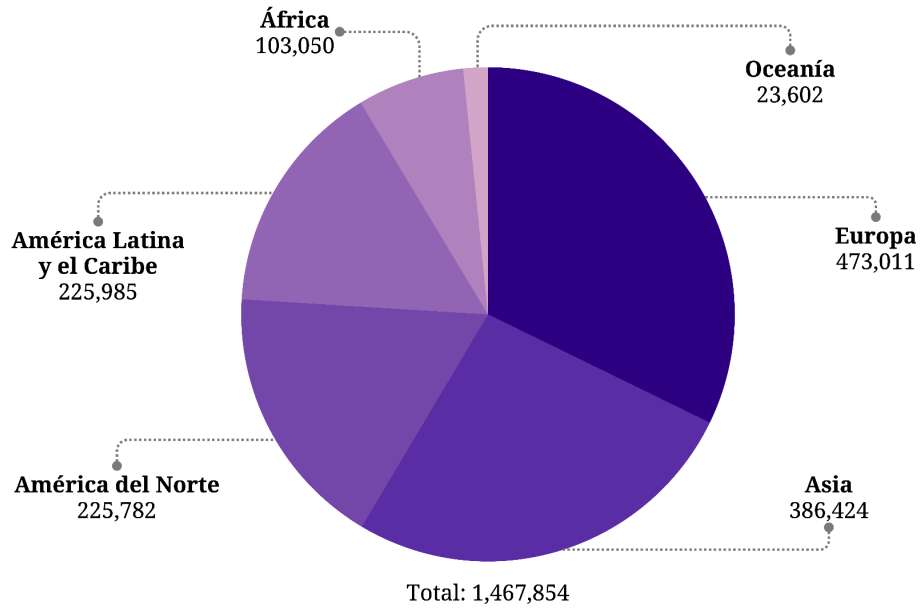


Figura 5. Nuevos casos de cáncer de próstata a nivel mundial (Globocan, 2022).

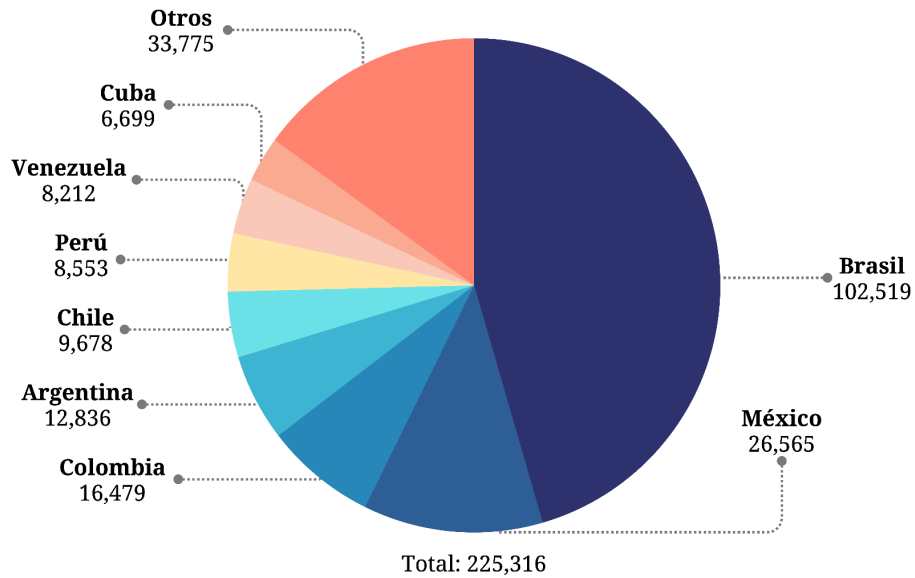


Figura 6. Incidencia de cáncer de próstata en América Latina y el Caribe (Globocan, 2022).

1.3.1 Factores de riesgo

El cáncer de próstata es una enfermedad influenciada por diversos factores, entre ellos; pertenecer al sexo masculino, la edad avanzada (>50 años), el origen étnico, los antecedentes familiares positivos, la hipertensión, la inactividad física, los niveles persistentemente elevados de testosterona y la obesidad (Leslie et al., 2024). Además, el tipo de dieta, el consumo de tabaco y alcohol, la exposición a radiación ionizante y a químicos tóxicos también aumentan el riesgo de cáncer de próstata avanzado (Berenguer et al., 2023).

Aunque la mayoría de los casos se diagnostican en hombres mayores de 65 años (Rebbeck et al., 2013), existe una mayor propensión a desarrollar formas más agresivas a edades tempranas en descendientes de europeos del norte y afroamericanos, en comparación con los africanos y asiáticos nativos, quienes son menos susceptibles a la enfermedad (Berenguer et al., 2023)

1.3.2 Patogénesis

La patogénesis del cáncer de próstata involucra una serie de eventos moleculares y celulares que contribuyen al desarrollo de la enfermedad.

La próstata es un órgano fibromuscular y glandular masculino cuyas funciones principales son la producción de líquido seminal y la transformación de testosterona en su forma biológica activa; la dihidrotestosterona (Belkahla et al., 2022; Swerdloff et al., 2017). En adultos, este órgano está estructuralmente dividido en zonas central, de transición y periférica, en esta última zona, la más externa, es donde surge la mayoría de los tumores de próstata (Kufe et al., 2003).

El carcinoma de próstata se origina cuando las células epiteliales de la glándula prostática, ya sean basales y/o lumbales, se convierten en su fenotipo maligno debido a las mutaciones en su ADN (Leslie et al., 2023). Posteriormente, el crecimiento celular desmesurado permite la extensión de células malignas al tejido prostático inmediatamente circundante y la formación de un nódulo tumoral (Leslie et al., 2023).

La investigación sobre el surgimiento y progresión del cáncer de próstata sugiere la neoplasia intraepitelial prostática de alto grado o HGPIN como un precursor de este tipo de cáncer. HGPIN se caracteriza por la aparición de hiperplasia epitelial luminal, la reducción pero no ausencia de células basales, el agrandamiento de núcleos y nucléolos, la hiper cromasia citoplasmática, la atipia nuclear y los niveles elevados de marcadores de proliferación celular (Shen & Abate-Shen, 2010). Si bien HGPIN no es cáncer, representa una etapa intermedia entre el epitelio benigno y el carcinoma maligno invasivo, tanto a nivel patológico como genotípico (Brawer, 2005).

Los estudios a nivel molecular demuestran que HGPIN se desarrolla por la pérdida de homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) y de la proteína Homeobox NK3.1 (NKX3.1), la sobreexpresión del proto-oncogén MYC, la sobreexpresión de la proteína 2 del linfoma de células B (Bcl-2) y del gen de la glutatión S-transferasa pi 1 (GSTP1), acompañados de la mutación de la proteína Speckle Type BTB/POZ (SPOP) y la fusión del gen relacionado con la serina proteasa transmembrana 2-ETS (TMPRSS2-ERG) (Saranyutanon et al., 2020).

Así mismo, una mayor pérdida de la proteína del retinoblastoma (RB1), junto con la activación de la telomerasa y la frecuente mutación Forkhead Box A1 (FOXA1), conduce al desarrollo de adenocarcinoma de próstata a partir de HGPIN (Saranyutanon et al., 2020).

Por otra parte, aberraciones moleculares, incluida la pérdida del miembro 4 de la familia SMAD (SMAD4), correpresores del receptor de andrógenos (AR), mutaciones en AR, FOXA1, BRCA1/2, ATM, ATR y RAD51 acompañadas de la ganancia de función del coactivador AR, CXCL12, CXCR4, RANK -RANKL, EMT, BAI1 y EZH2 promueven el desarrollo de cáncer de próstata metastásico (**Figura 7**) (Saranyutanon et al., 2020).

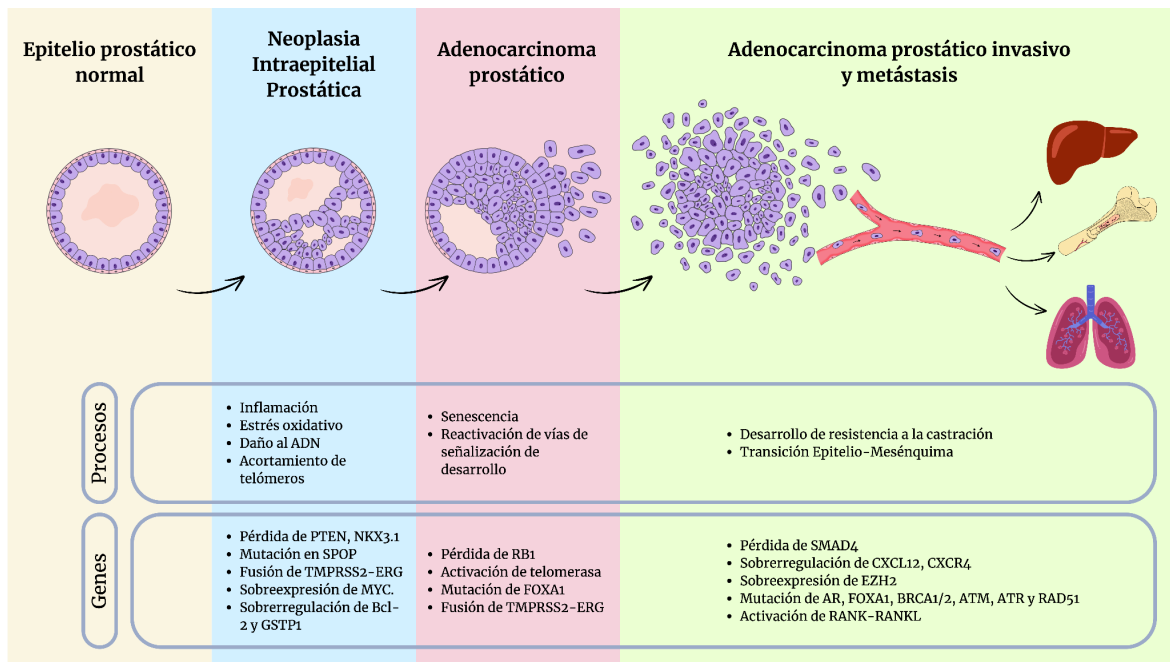


Figura 7. Progresión histopatológica y genes/vías importantes en cada etapa del cáncer de próstata humano (Tomado y modificado de Saranyutanon et al., 2020; Shen & Abate-Shen, 2010).

El cáncer de próstata posee un elevado potencial para evolucionar a una enfermedad metastásica, con una predominante diseminación hacia los huesos, pulmón, hígado, pleura y ganglios linfáticos (Shen & Abate-Shen, 2010; Budczies et al., 2015). Las lesiones óseas metastásicas se presentan más frecuentemente en la pelvis, la columna lumbar, los fémures, la columna torácica y las costillas (Lanfranco et al., 2007).

En diagnósticos iniciales de cáncer de próstata, se ha observado que 10% de los pacientes ya presentan metástasis óseas (La Manna et al., 2019). En tanto, 20-30% de los pacientes sometidos a prostatectomía radical por cáncer de próstata confinado, recaen y evolucionan a una enfermedad avanzada, en cuyo caso 70-80% de esos pacientes albergarán metástasis óseas (La Manna et al., 2019).

En relación a signos y síntomas del cáncer de próstata, los pacientes no experimentan síntomas tempranos, pero los síntomas tardíos pueden incluir anemia, dolor óseo, parálisis por metástasis espinales e insuficiencia renal por obstrucción ureteral bilateral (Leslie et al., 2023).

1.3.3 Diagnóstico y tratamiento del cáncer de próstata

Actualmente, los métodos de diagnóstico principales para este tipo de cáncer son la prueba de antígeno prostático específico (PSA, por sus siglas en inglés) y la biopsia de tejido prostático transrectal guiadas por ecografía, no obstante la fiabilidad de la primera aún resulta controvertida (Humphrey & Andriole, 2010). El hallazgo de características histopatológicas mediante la observación microscópica permite clasificar el tejido canceroso según el grado de diferenciación bajo el sistema Gleason (Wasim et al., 2022).

Otras formas de diagnóstico más recientes incluyen la cuantificación de PSA total y libre, identificación de PCA3, pruebas de exosomas, análisis genómico, imágenes por resonancia magnética, puntuación PI-RADS y biopsias guiadas por fusión MRI-TRUS (Sivaraman & Bhat, 2017; Wasim et al., 2022).

En cuanto al tratamiento, para el cáncer localizado se incluye la prostatectomía radical y radioterapia (Auchus & Sharifi, 2019). Para el cáncer metastásico el tratamiento consiste en la terapia de privación de andrógenos, generalmente castración médica con un antagonista de la hormona liberadora de gonadotropina o agonistas de acción prolongada como leuprolida, goserelina, triptorelina e histrelina, sin embargo, con el tiempo, la respuesta a la terapia disminuye y el cáncer progresa hasta convertirse en cáncer de próstata resistente a la castración (Auchus & Sharifi, 2019).

Tomando en cuenta la tendencia al desarrollo de cáncer de próstata metastásico y las consecuencias que trae consigo para los pacientes con este tipo de cáncer, se denota la importancia de continuar con la investigación relacionada con el tema, tratando de comprender y conocer los mecanismos destacados en la patogénesis del cáncer de próstata.

1.3 Metástasis

La metástasis es la diseminación de células cancerosas desde un tumor primario hacia diferentes órganos del cuerpo (Novikov et al., 2021).

La principal preocupación asociada con el cáncer es su capacidad de progresión hacia una forma metastásica, pues en este estadio ocurren más del 90% de muertes relacionadas con esta enfermedad (Fares et al., 2020).

La capacidad metastásica de las células surge de anomalías genéticas, las cuales dan lugar a fenotipos malignos que les confieren nuevas características (Novikov et al., 2021); como la habilidad de invasividad, entendido como la capacidad de atravesar la membrana basal (Bao & Fukuda, 2010), y de migración, entendido como la aptitud de desplazamiento de un sitio a otro.

La diseminación de células tumorales implica una variedad de mecanismos celulares. Estos incluyen la penetración en la membrana basal, la migración a través de la matriz extracelular del tejido circundante, la intravasación a los sistemas circulatorio y linfático, la evasión del ataque inmunológico, la extravasación en lechos capilares y la proliferación en órganos distantes (Seyfried, 2013; Wu et al., 2021) (**Figura 8**).

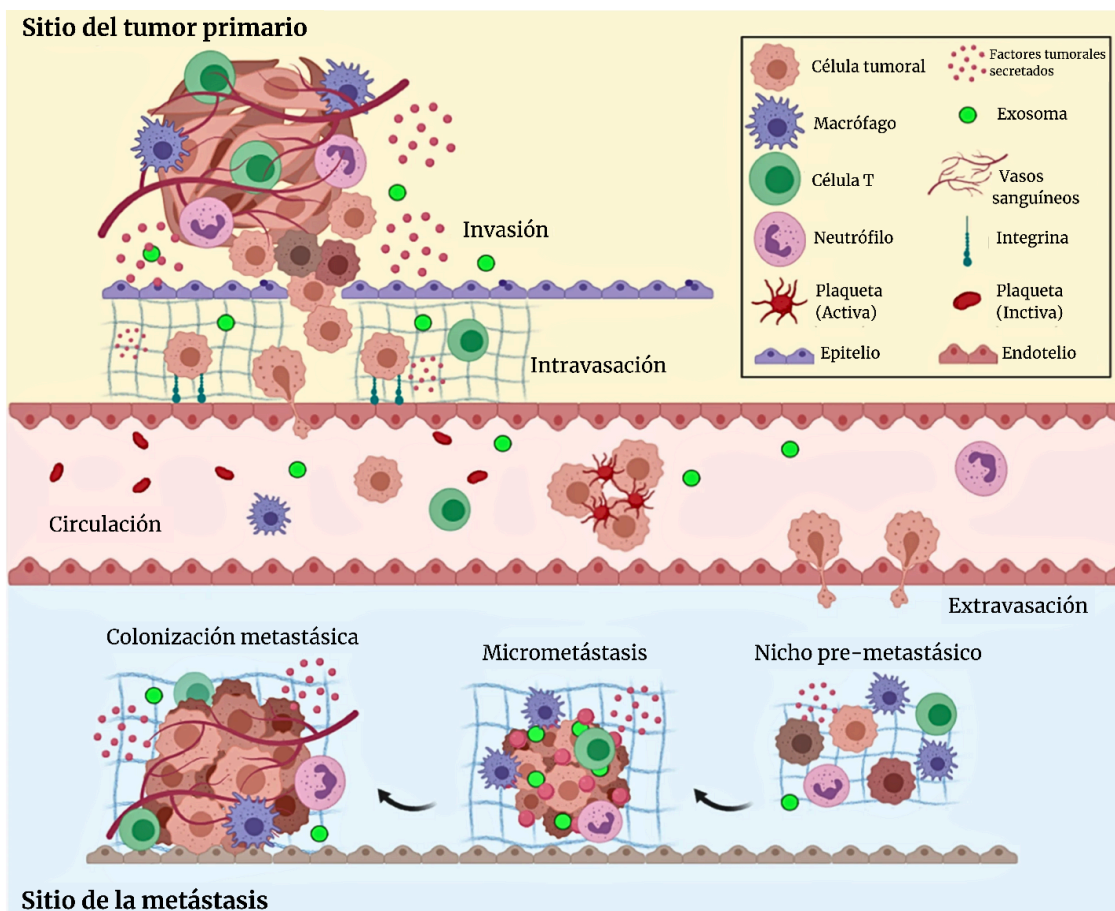


Figura 8. Proceso de metástasis (Tomado y modificado de Fares et al., 2020).

En este contexto, la transición epitelial a mesenquimatosa (EMT) emerge como un evento fundamental durante la metástasis. La EMT concede a las células tumorales la capacidad de cambiar de un estado epitelial inmóvil a uno mesenquimatoso móvil (Novikov et al., 2021). Esta transformación implica una mayor plasticidad celular, así como una mayor invasividad y resistencia a la senescencia, apoptosis y tratamientos médicos (Novikov et al., 2021).

Debido a la regulación a la baja de marcadores epiteliales y a la elevada expresión de marcadores mesenquimales, la EMT permite la separación de células cancerosas individuales provenientes de un tumor primario y aumenta su motilidad (Aiello et al., 2018).

Las células epiteliales presentan una forma plana y poligonal sostenida estructuralmente por el citoesqueleto de actina y filamentos intermedios, tienen una región apical orientada hacia el lumen y una región basal con sentido opuesto. Así mismo, las células epiteliales adyacentes se conectan mediante uniones estrechas (TJ), uniones adherentes (AJ), desmosomas (DS) y hemidesmosomas (HDS), fusionándose para formar una capa continua que constituye el tejido epitelial básico (Huang et al., 2022).

Las células mesenquimales se caracterizan por su morfología irregular, con una forma alargada y fusiforme, así como por una topografía menos rígida en comparación con las células epiteliales. Estas células desarrollan principalmente una polaridad antero posterior, acompañada de la pérdida de adhesión celular y uniformidad en su composición (Huang et al., 2022).

En las células mesenquimales, la expresión de queratinas disminuye, mientras que la de vimentinas aumenta, lo que refuerza el citoesqueleto, incrementa su flexibilidad y potencia su capacidad para migrar e invadir tejidos (Huang et al., 2022). Durante el proceso de transformación, se reduce la expresión o función de genes epiteliales, como la E-cadherina y la zónula de oclusión 1 (ZO-1), mientras que se incrementa la expresión de genes asociados al fenotipo mesenquimal, entre ellos vimentina, fibronectina, N-cadherina, e integrinas $\beta 1$ y $\beta 3$ (Huang et al., 2022) (**Figura 9**).

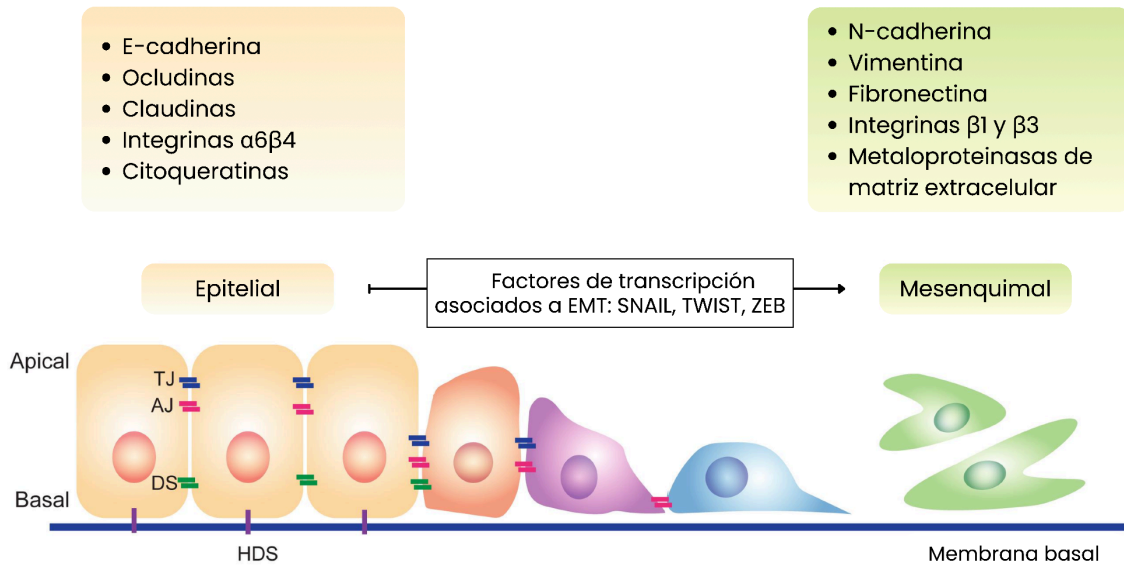


Figura 9. Modificaciones morfológicas durante la EMT (Tomado y modificado de Lai et al., 2020).

La EMT es estimulada por diferentes factores de crecimiento, incluyendo el factor endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), así como citocinas como el factor de crecimiento transformante beta ($TGF\beta$) (Merino et al., 2022; Sarrand & Soyfoo, 2023), de igual forma, la EMT es activada por factores de transcripción pertenecientes a la familia SNAIL; SNAIL1, SNAIL2 y SNAIL3, los de la familia básica hélice-bucle-hélice; TWIST1 y TWIST2, y los factores homeobox de unión a la caja E con dedos de zinc; ZEB1 y ZEB2, debido a su capacidad de regular a la baja la expresión de genes epiteliales y aumentar la expresión de genes mesenquimales (Huang et al., 2022). Por otra parte, se ha demostrado que vías de señalización como $TGF-\beta$, Wnt, Notch y la vía fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) también participan en la red reguladora de la EMT (Novikov et al., 2021; Huang et al., 2022).

Las ciclinas, conocidas por su papel en la regulación del ciclo celular, también desempeñan un rol importante en los procesos metastásicos del cáncer (Almalki, 2023). Su desregulación no solo impulsa la proliferación descontrolada de células tumorales, adicionalmente favorece la adquisición de características que otorgan a las células capacidad invasiva y migratoria. Se ha descrito que la ciclina D1 promueve la EMT al activar la vía Wnt/ β -catenina, facilitando la migración e invasión celular (Montalto & De Amicis, 2020). Asimismo, se

demostró que la baja expresión de la ciclina A2 induce la EMT a través de la activación de la vía β -catenina/Fosfolipasa C (Cheung et al., 2015). Por otra parte, la expresión de ciclina E se ha correlacionado positivamente con metástasis en ganglios linfáticos y metástasis a distancia (Zhang et al., 2021). Cuando estos efectos se combinan con la resistencia a la apoptosis mediada por otras ciclinas, como la ciclina B (Pellarin et al., 2025), se genera un microambiente tumoral propicio para los procesos de metástasis.

La migración celular efectiva requiere de la dinámica coordinada de numerosos componentes celulares y de la regulación de señales inductoras de movimiento. Las proteínas relacionadas con la migración de células cancerosas incluyen RhoA, RhoB, RhoC, Cdc42, Rac, la superfamilia Ras, la familia WASP/WAVE, el complejo Scrib, el complejo Par, PI3K y PTEN, PKC, FAK, ERK y Src, entre otros (Lou et al., 2021).

Como se mencionó previamente, el carcinoma de próstata y otros tipos de cáncer pueden ser influenciados por el efecto de diversas hormonas peptídicas. Sin embargo, aún no se tiene un registro claro sobre la influencia de varias de ellas en el desarrollo de esta enfermedad.

Debido a la importancia de la regulación de la energía en el origen y desarrollo del cáncer (Hanselmann & Welter, 2016), surge el interés por el posible efecto de la ghrelina, una hormona peptídica conocida por regular el apetito y el metabolismo, en la progresión del cáncer.

1.4 Ghrelina

La ghrelina, descubierta en 1999, es una hormona peptídica de 28 aminoácidos producida y secretada principalmente en el estómago, por células tipo P/D1 en humanos (Jiao & Luo, 2022). La ghrelina se produce en cantidades variables en otros segmentos del tracto gastrointestinal, como el duodeno, yeyuno, íleon y colon (Spiridon et al., 2021). Otros tejidos como los riñones, pulmones, páncreas, ovarios, mamas, testículos, próstata, glándula pituitaria, hipófisis e hipotálamo también producen ghrelina, pero en bajos niveles (Soleyman-Jahi et al., 2019; Bukhari, 2022; Spiridon et al., 2021).

La ghrelina se libera en el fondo gástrico y circula en el torrente sanguíneo en 2 isoformas, ghrelina acilada o ghrelina desacilada. La gran mayoría de la ghrelina circulante corresponde a ghrelina desacilada con un porcentaje de 78% de la ghrelina total, por otra parte, la ghrelina acilada, es menos abundante, presentando un porcentaje de 22% de la ghrelina circulante total (Anderson et al., 2023).

Tanto la ghrelina acilada como la desacilada se liberan en el torrente sanguíneo, donde la primera se transforma rápidamente en la segunda. Como resultado, la proporción entre ghrelina acilada y desacilada en el plasma varía entre 0.1 y 0.4, mientras que en el tejido gástrico es de aproximadamente 2.5 (Fritz et al., 2020).

La liberación de ghrelina ocurre de forma tónica en el torrente sanguíneo con picos de concentración cuando hay un balance energético negativo. Dicha liberación es activada por receptores como los receptores β 1-adrenérgicos, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, el polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa y receptores de secretina (Fritz et al., 2020; Spiridon et al., 2021).

Por otra parte, la ghrelina es inhibida por ácidos grasos de cadena corta y cadena larga, el lactato, el calcio extracelular, los aminoácidos y los receptores de somatostatina (Spiridon et al., 2021)

La ghrelina, conocida como la hormona del hambre por sus efectos orexigénicos, desempeña un papel clave en la detección de nutrientes y la

regulación del apetito (Kotta et al., 2022). Su forma acilada tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y unirse al receptor GHSR-1a en el hipotálamo, donde estimula las neuronas productoras de NPY y proteínas relacionadas con agouti, promoviendo así el apetito (Anderson et al., 2023).

No obstante, el término “hormona del hambre” no engloba adecuadamente la amplia gama de funciones que se atribuyen a la ghrelina, pues cumple con funciones adicionales en la regulación del equilibrio metabólico del cuerpo, la respuesta inflamatoria, la función cardíaca, la diferenciación y proliferación celular, la adipogénesis y el comportamiento de depresión, ansiedad y adictivo (**Figura 10**) (Jiao & Luo, 2022; Davis et al., 2021).

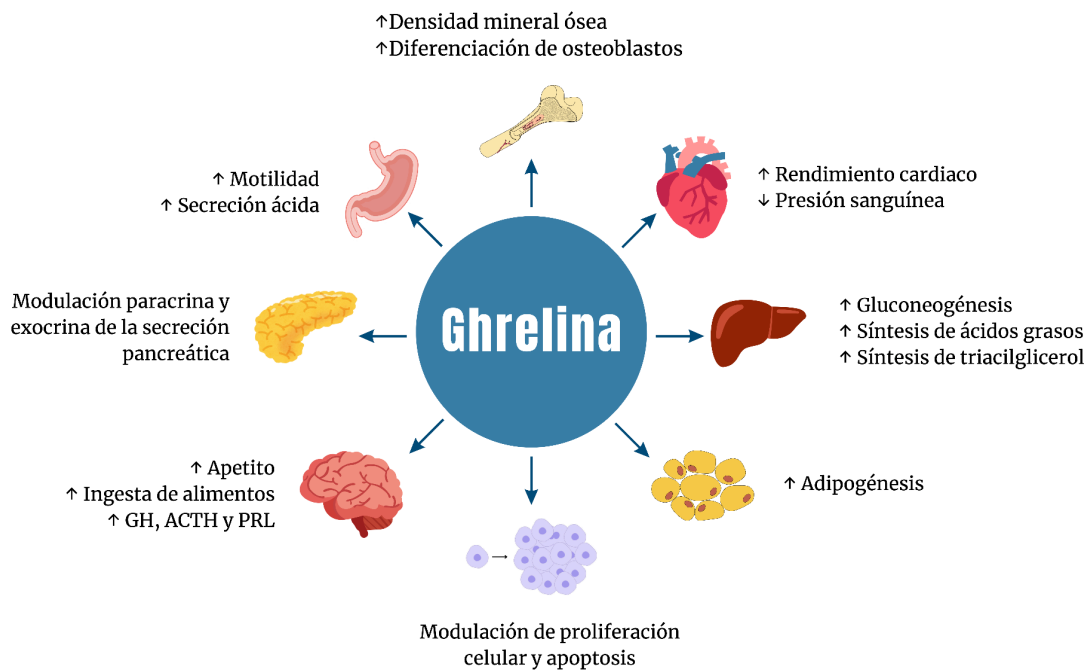


Figura 10. Principales funciones fisiológicas de la ghrelina.

1.4.1 Biosíntesis de ghrelina

La biosíntesis de ghrelina ocurre principalmente en el estómago y el intestino delgado, aunque también se produce en otros tejidos (Jiao & Luo, 2022).

El gen de la ghrelina humana (GHRL) está ubicado en el brazo corto del cromosoma 3, específicamente en la región 3p25-26 (Li et al., 2019). Cuando este gen se transcribe y traduce, produce un polipéptido largo de 117 aminoácidos denominado preproghrelina, el cual pasa por una serie de procesos de empalme, escisión y acilación alternativos para dar lugar a ghrelina en su forma activa (Kotta et al., 2022).

La obtención de ghrelina comienza en el retículo endoplásmico, donde la preproghrelina sufre una escisión proteolítica en un péptido señal N-terminal de 23 aminoácidos para dar lugar a proghrelina (94 aa), la cual está compuesta por dos péptidos, ghrelina (28 aa) y C-ghrelina (66 aa) (Delporte, 2013). En el aparato de Golgi, la prohormona convertasa 1/3 escinde a la proghrelina en Arg51 para generar tanto ghrelina como obestatina, proteínas con funciones opuestas para estimular y suprimir el apetito, respectivamente, (Thomas et al., 2022; Soleyman-Jahi et al., 2019; Kotta et al., 2022).

Del mecanismo previo se pueden obtener dos variantes de ghrelina según el estado de acilación de la proghrelina; acilghrelina y desacilghrelina. A diferencia de la desacilghrelina, el tercer aminoácido de la acilghrelina es acilado por la enzima ghrelina-O-aciltransferasa (GOAT) (**Figura 11**), que une un ácido graso de 8 carbonos a la serina de la posición 3 (Ma et al., 2022; Bukhari, 2022).

Tanto la ghrelina como la proghrelina pueden ser aciladas por GOAT, por lo que la acilghrelina se puede obtener a partir de proghrelina acilada o de desacilghrelina (Thomas et al., 2022).

La octanoilación de la ghrelina es crucial para la funcionalidad de la proteína, pues solo en esta conformación la ghrelina puede unirse a la isoforma 1a del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR-1a), inducir la liberación de la hormona de crecimiento y desencadenar diversas vías de señalización (Bukhari, 2022).

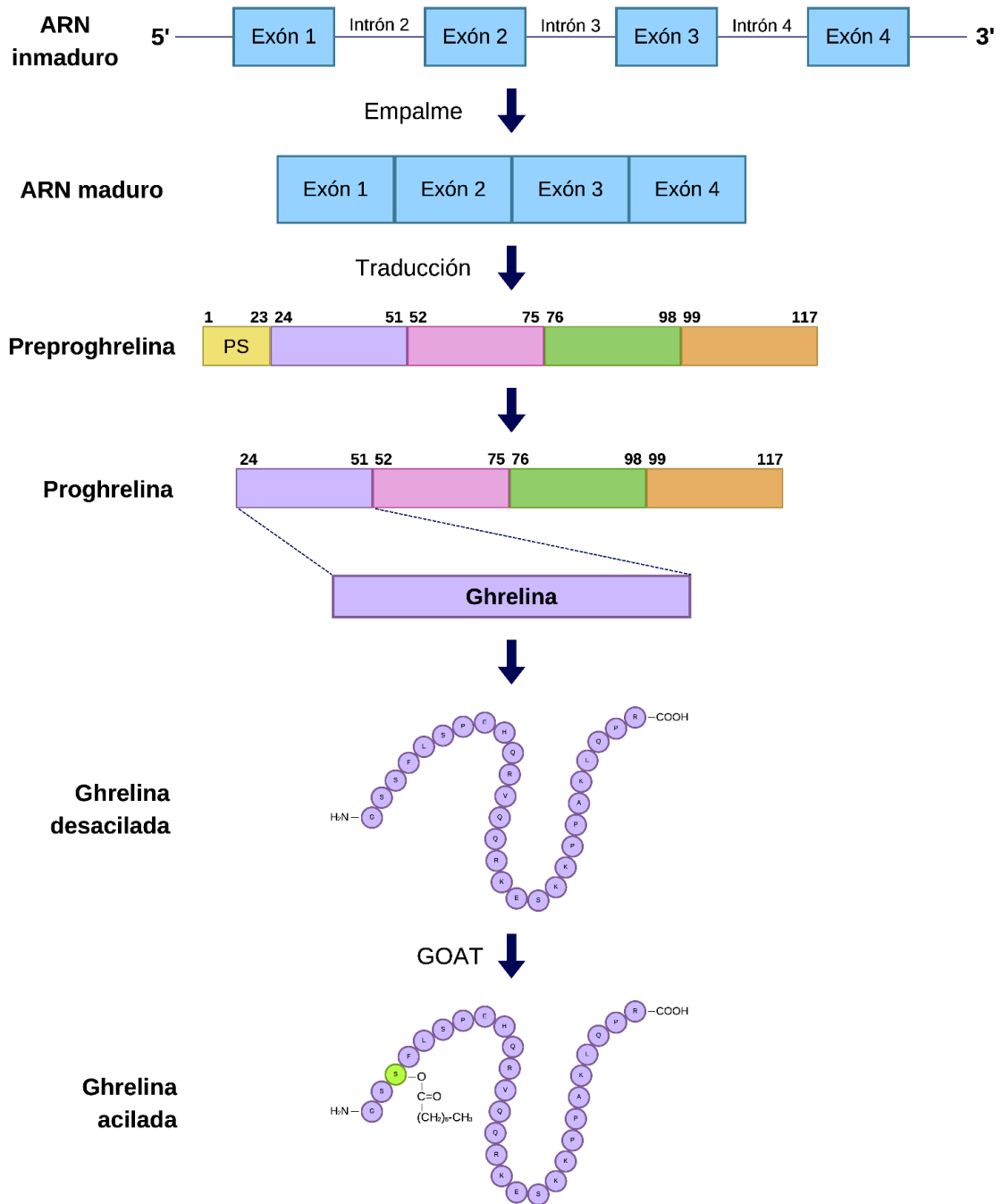


Figura 11. Transcripción genética, empalme y modificaciones postraduccionales de ghrelina.

1.4.2 Receptor de ghrelina

El receptor de ghrelina también llamado receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR), es un polipéptido acoplado a proteína G heterotrimérica, miembro de la familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) (Yin et al., 2014). La denominación de “secretagogo” se debe a su papel clave en la estimulación de la secreción de la hormona de crecimiento (GH) tras el acoplamiento de su ligando endógeno (Jiao & Luo, 2022).

GHSR presenta dos isoformas, GHSR-1a y GHSR-1b. GHSR-1a comprende 377 aminoácidos, presenta una estructura de siete hélices transmembrana y es el receptor funcional de la ghrelina acilada, por otra parte, GHS-R1b es una variante troncada pues no posee las hélices transmembrana 6 y 7, no puede unirse a acilghrelina y tampoco transducir sus señales (Davis et al., 2021).

GHSR-1a ejerce su señalización a través del acoplamiento divergente de la proteína G o del reclutamiento de β -arrestina y muestra actividad constitutiva con 50% de actividad desencadenada por ghrelina (Qin et al., 2022). La interacción de este receptor con su ligando puede regular la síntesis y secreción de GH mediante la activación de PKC, PKA, MAP quinasa y la transcripción de fragmentos del gen del factor de transcripción Pit-1 en células secretoras de hormona de crecimiento (Jiao & Luo, 2022).

GHSR-1a puede formar homodímeros o heterodímeros de GHSR-1a con GHSR-1b, receptores de dopamina (DA), el receptor de melanocortina-3 (Mc3R), el receptor de somatostatina-5 (SST5), el receptor de serotonina 2C (5-HT_{2c}R), el receptor de orexina 1 (OX1R), la proteína accesoria del receptor de melanocortina 2 (MRAP2) y el receptor acoplado a proteína G 83 (GPR83) y posteriormente llevar a cabo diferentes funciones activando distintas vías de señalización (Xiao et al., 2020).

Cuando la ghrelina se une a GHSR-1a, la proteína G se activa mediante la disociación de las subunidades α y $\beta\gamma$ y permite el reclutamiento de β -arrestina. $G\alpha_q$ estimula la fosfolipasa C (PLC) para activar a inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) el cual conduce a un aumento en la concentración de calcio intracelular ([Ca²⁺]_i) que en última instancia, activa a la proteína quinasa C (PKC), la proteína quinasa

El estimulado por calmodulina (CaMKII) y la proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK). $G\alpha_{i/o}$ puede activar a la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), que a su vez activa PKC ϵ , lo que lleva a la activación de la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK). Así mismo, PI3K puede activar AKT (**Figura 12**) (Davis et al., 2021; Xiao et al., 2020)

Por su parte, la β -arrestina es una proteína que ayuda a regular la actividad de los GPCR. Su función principal es reducir la respuesta de estos receptores a sus agonistas, un proceso conocido como desensibilización, que evita una estimulación excesiva. Además de este rol, la β -arrestina también puede activar otras rutas de señalización sin necesidad de la proteína G. Por ejemplo, en el caso del receptor GHSR-1a, la β -arrestina facilita la activación de las vías ERK1/2-MAPK, relacionada con el crecimiento y diferenciación celular, y AKT/PKB la cual es importante para la supervivencia y metabolismo celular (Xiao et al., 2020).

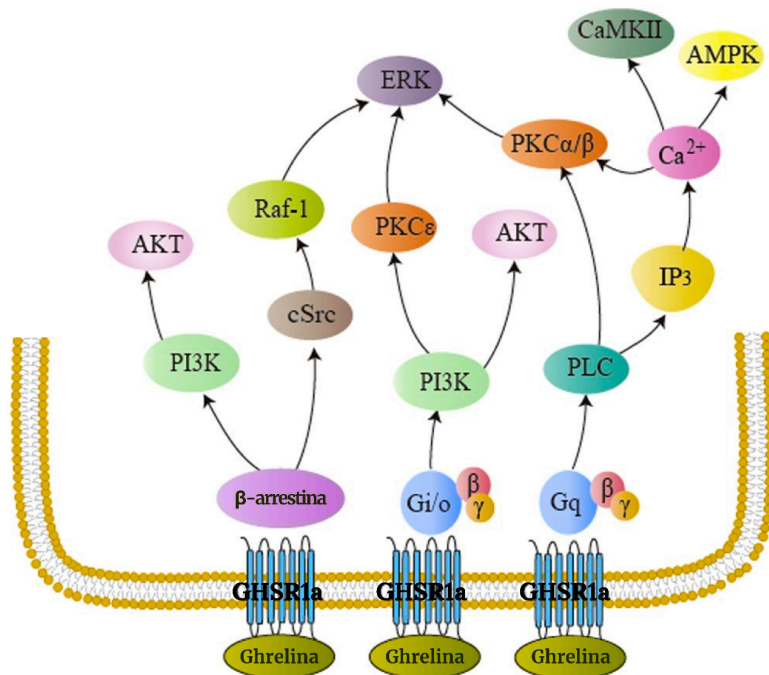


Figura 12. Vías de señalización de GHSR-1a dependientes de ghrelina (Tomado y modificado de Xiao et al., 2020).

El receptor de la ghrelina es clave en la regulación de múltiples procesos fisiológicos. Su expresión no se limita a un solo tejido, sino que se encuentra en diversas estructuras del organismo, incluyendo las glándulas gástricas, el hipotálamo y la glándula pituitaria, células inmunes, islote pancreático, glándula

suprarrenal, glándula tiroides, pulmones, próstata, hígado y riñones (Jiao & Luo, 2022).

GHSR desempeña un papel crucial en una amplia gama de funciones fisiológicas que impactan diversos sistemas del cuerpo humano. Desde la regulación de la liberación de hormonas clave como la hormona de crecimiento, la hormona adrenocorticotrópica y la prolactina, hasta la modulación del metabolismo energético, GHSR influye en procesos fundamentales para el equilibrio homeostático. Además, este receptor está involucrado en la regulación de la motilidad y secreción gastrointestinal, la proliferación celular, la protección contra la apoptosis, y la atenuación de respuestas inflamatorias, sugiriendo su impacto tanto en la salud celular como en la protección de sistemas vitales como el nervioso y cardiovascular (Yin et al., 2014; Xiao et al., 2020).

Se ha demostrado que GHRL se expresa altamente en diversos tipos de cáncer; entre ellos el de vías biliares, mama, endometrio, riñón, pulmón, páncreas, próstata, testículo, glioblastoma, linfoma de células B grandes, glioma, mesotelioma y linfoma mieloide agudo, lo cual sugiere un papel patológico para el gen que codifica para ghrelina y su receptor (Lin & Hsiao, 2017).

En este contexto, resulta importante destacar el papel de los secretagogos en la fisiopatología del cáncer, pues tras ser activados por sus ligandos, pueden desencadenar cascadas de señalización que modulan funciones clave como la proliferación, migración y supervivencia celular. La desregulación en los secretagogos o su sobreexpresión en tejidos tumorales puede contribuir al desarrollo y la progresión del cáncer al otorgar ventajas funcionales a las células malignas (Gallagher & LeRoith, 2010; Muta et al., 2020).

Tomando lo anterior en consideración, surge el interés por el posible efecto de la ghrelina y su receptor en la progresión del cáncer.

II. ANTECEDENTES

2.1 Relación ghrelina y cáncer

En los últimos años, la implicación de la ghrelina en diversas patologías, incluido el cáncer, ha despertado un creciente interés. Se ha demostrado que la ghrelina, así como su receptor GHSR-1a, están expresados en múltiples tipos de tumores y pueden influir en la capacidad proliferativa, migratoria e invasiva de distintos tipos de células cancerosas. Estos hallazgos sugieren que esta hormona peptídica desempeña un papel relevante en la progresión del cáncer. Sin embargo, su función exacta en el desarrollo de esta enfermedad aún no está completamente esclarecida.

La ghrelina cumple con una variedad de funciones fisiológicas tanto locales como sistémicas, por lo que podría contribuir al desarrollo y comportamiento del cáncer mediante numerosos procesos, entre ellos la regulación del metabolismo energético, la motilidad intestinal, la modulación del sueño y del apetito, los efectos antiinflamatorios y la regulación de la función endocrina (Soleyman-Jahi et al., 2019).

Estudios en líneas celulares transformadas y no transformadas de tipo suprarrenal, prostáticas, intestinales malignas, cardíacas, hipofisarias, mamarias, pancreáticas y hepatomatosas, demuestran los efectos estimulantes de la ghrelina sobre la proliferación celular (Waseem et al., 2014).

La influencia de la ghrelina en la proliferación, migración e invasión celular se sugiere porque puede activar diversas vías de señalización involucradas en estos procesos celulares. Dentro de las vías de señalización activadas por ghrelina, se encuentra PI3K/AKT, una de las más comúnmente activadas en los cánceres humanos (Lawrence et al., 2014). La señal inducida por la interacción ghrelina-GHSR-1a, a través del receptor de insulina (ISR-1) y la fosforilación de AKT permite la activación de la vía PI3K (Yin et al., 2014). La forma activa de las tres isoformas de AKT fosforila a una variedad de sustratos relacionados con el crecimiento, la proliferación, la supervivencia y el metabolismo celular (Yin et al., 2014). La estimulación de PI3K-AKT en células cancerosas aumenta la actividad

de los transportadores de nutrientes y de las enzimas metabólicas. De esta manera, la ghrelina puede contribuir a satisfacer las demandas anabólicas de las células anormalmente proliferantes (Hoxhaj & Manning, 2019).

Estudios en cardiomiocitos revelaron que la ghrelina, mediante la activación de PI3K-AKT, además de promover la proliferación, migración y angiogénesis, inhibe la apoptosis celular (Baldanzi et al., 2002).

La ghrelina también puede activar la vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) en células de las glándulas suprarrenales, miocitos, adipocitos y osteoblastos (Yin et al., 2014).

La cascada de MAPK induce numerosos procesos, incluida la proliferación, diferenciación, la apoptosis y la respuesta al estrés (Guo et al., 2020). Esta vía se compone por tres quinasas principales: la quinasa quinasa de la MAPK (MKK), la quinasa de la MAPK (MAPKK), y la MAPK misma. ERK1 y ERK2 son quinasas reguladas por señales extracelulares pertenecientes a esta vía, son serina-treonina quinasas conservadas evolutivamente y ubicuas. En condiciones normales, ERK es importante durante el desarrollo, pero su sobreactivación está relacionada con la progresión del cáncer (Guo et al., 2020).

La vía de señalización Ras/Raf/MAPK/MEK/ERK es la cascada más destacada entre todas las vías de transducción de señales MAPK y juega un papel esencial en la supervivencia y el desarrollo de las células tumorales (Roskoski, 2012).

Otras vías activadas por ghrelina son aquellas asociadas con el objetivo mecanicista de la rapamicina (mTOR). mTOR es una serina-treonina quinasa responsable de actuar como un sensor de cambios en el equilibrio energético, factores de crecimiento, nutrientes y oxígeno (Martins et al., 2012). Adicionalmente, funge como regulador de la proliferación celular, el metabolismo y la síntesis de proteínas (Pena et al., 2020). Específicamente, el complejo 1 de mTOR (mTORC1) se ocupa del equilibrio entre los factores estimulantes del crecimiento y de la disponibilidad de nutrientes. Así, su participación en los mecanismos de proliferación celular está dada por su papel como coordinador del equilibrio entre metabolismo anabólico y catabólico (Saxton & Sabatini, 2017).

mTORC1 también puede ser activado por AKT al fosforilar la proteína del complejo de esclerosis tuberosa 2 (TSC2) (Hoxhaj & Manning, 2019).

La ghrelina también es capaz de activar CaMKII y promover la migración en células de glioma (Chen et al., 2011). CaMKII es una serina/treonina quinasa conocida por su papel fundamental en el aprendizaje y la memoria. Sin embargo, se descubrió que promueve la migración e invasividad de células de carcinoma de colon y de células escamosas de cabeza y cuello (Wang et al., 2015)

En células de cáncer gástrico, la migración, invasión y apoptosis mediada por ghrelina se atribuye a su acción reguladora de la vía PI3K/Akt/COX-2 (Li et al., 2021). Otro estudio en cáncer gástrico señala que la ghrelina promueve la progresión del cáncer a través de la activación de la vía de señalización NF- κ B/P65, la cual está involucrada en numerosas actividades de las células cancerosas, incluida la inflamación, transformación, proliferación, angiogénesis, invasión, metástasis, quimiorresistencia y radioresistencia (Tian et al., 2013)

La mayoría de los estudios donde se emplean líneas celulares cancerosas para evaluar la influencia de la ghrelina sobre la proliferación, migración e invasión celular apuntan hacia un efecto estimulante de estos procesos (ver tabla 1.1), lo cual se puede explicar por los mecanismos ya mencionados.

Trabajos alternativos muestran el efecto inhibitorio de la ghrelina sobre la progresión del cáncer, lo cual puede ser apoyado por la activación de la señalización de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) por medio de su interacción con GHSR-1a. La vía AMPK promueve la detención de las vías metabólicas de carbohidratos, lípidos y proteínas (Cahova, 2015). Como los procesos de proliferación celular requieren una gran cantidad de energía (Keerthana et al., 2023), se propone que la ghrelina ocasiona un efecto inhibitorio de crecimiento celular anormal.

Tabla 1. Estudios sobre el efecto de ghrelina acilada sobre la capacidad proliferativa, migratoria e invasiva de células cancerosas.

Tipo de cáncer	Línea celular	Ensayo	Concentración	Duración del tratamiento	Efecto	Referencia
Pancreático	PANC1	Migración	10 nM	24 h	↑	(Duxbury et al., 2003)
	MIAPaCa2	Invasión			↑	
	BxPC3 Capan2	Proliferación		72 h	↑	
Mamario	MDA-MB-435	Proliferación	0.1, 1, 10, 100 y 1000 nM	72 h	↑	(Jeffery et al., 2005)
	MDA-MB-231				↑	
	MCF-7		1000 nM	96h	↓	(Cassoni, 2001)
Gástrico	AGS	Proliferación	1 y 10 nM	24 h	↑	(Tian et al., 2012)
			1,10 y 100 nM		↑	(Tian et al., 2013)
		Migración	100 nM	48 h	↑	(Li et al., 2021)
			10 nM	24 h	↑	
	Invasión	100 nM	48 h	↑	(Tian et al., 2013)	
				↑		
	SGC7901	Migración	100 nM	48 h	↑	(Tian et al., 2013)
					Invasión	
Proliferación		1,10 y 100 nM	24 h	↑	(Tian et al., 2012)	
1 y 10 nM	↑					

Colorrectal	HT-29	Proliferación	1 nM	48 h	↑	(Lien et al., 2016)
	Caco-2		0.1, 1, 10 y 100 nM	72 h	↑	(Waseem et al., 2014)
Pulmonar	CALU-1	Proliferación	1000 nM	96 h	↔	(Ghe et al., 2002)
	HLC-1		10, 100, 1000, 10000 nM	24 h	↔	(Tsubouchi et al., 2017)
	H345		1, 10, 100 y 1000 nM	48 h	↓	(Cassoni, 2006)
Hepático	HepG2	Proliferación	100 nM	48 h	↑	(Murata et al., 2002)
Renal	SW-13	Proliferación	0.01, 0.1, 1, 10, 100 nM	72 h	↑	(Delhanty et al., 2007)
	ACHN	Migración	180 y 360 nM	48 h	↑	(Lin et al., 2015)
	A-498				↑	
	786-0				↑	
Cerebral	IK-148 IK-155 IK-169	Proliferación	20 nM	48 h	↑	(Farhat et al., 2025)
			50 nM		↓	
	Migración	20 nM	24 h	↑		
		50 nM		↓		
	U251	Migración	10 y 30 nM	24 h	↑	
Ovárico	A2780	Proliferación	1 nM	24 h	↑	(El-Kott et al., 2019)
Endometrial	Ishikawa	Proliferación	0.1, 1, 10, 100 y 1000 nM	72h	↑	(Fung et al., 2010)
	HEC1B				↑	
	KLE				↑	

Tiroideo	ARO	Proliferación	10, 100, 1000 nM	48, 96 h	↓	(Volante et al., 2003)
	N-PAP				↓	
Coriocarcinoma	JEG-3	Proliferación	100, 250, 500, 1000 pg/mL	48 h	↑	(Rak-Mardyla et al., 2010)
Prostático	DU145	Proliferación	0.01, 1000 nM	72, 96 h	↓	(Cassoni et al., 2004)
			10, 100, 1000 nM	72h	↓	(Lawnicka et al., 2012)
			10 nM	24 h	↔	(Hormaehcha et al., 2017)
	↑					
	↔					
	↔					
	LNCaP		1 y 10 nM	72h	↑	(Yeh et al., 2005)
	PC-3		10 nM		↑	
			5 y 10 nM		↑	(Jeffery et al., 2002)
			10, 30, 50 nM		↓	(Díaz et al., 2010)
			0.01 nM	48, 72, 96 h	↑	(Cassoni et al., 2004)
1000 nM		↓				
	Migración	10 nM	12 h	↔	(Hormaehcha et al., 2017)	

↑(aumento/mejora/asociación positiva); ↓(disminución/asociación negativa); ↔(ningún efecto/sin asociación).

Como se puede interpretar en este apartado, los resultados sobre el efecto de la ghrelina en líneas celulares cancerosas aún son controvertidas y esto es más notorio en tipos de cáncer específicos, como el de próstata.

2.2 Relación ghrelina y cáncer de próstata

Así como en otros tipos de cáncer, existe una controversia en el papel de la ghrelina en el cáncer de próstata.

En condiciones normales, tanto la ghrelina como su receptor, se expresan y ejercen acciones endocrinas/paracrinas a nivel de la próstata (Gahete et al., 2013). Esta hormona peptídica también se expresa en hiperplasia benigna humana y carcinoma prostático (Cassoni et al., 2004).

En líneas celulares de cáncer de próstata se expresan consistentemente ghrelina acilada, ghrelina In1 y ghrelina con exón 3 eliminado, las cuales se han correlacionado con una mayor agresividad de cáncer (Yeh et al., 2005; Hormaechea et al., 2017).

Aunque diversos datos sugieren una posible relación entre la ghrelina y el cáncer de próstata, aún no se esclarece el papel fisiopatológico de esta proteína (Gahete et al., 2013).

El número de estudios respecto a este tema es reducido y los informes generados hasta la fecha son contradictorios. Algunos estudios demuestran que la ghrelina acilada aumenta la proliferación de líneas celulares de próstata (Yeh et al., 2005; Hormaechea et al., 2017; Jeffery et al., 2002) posiblemente a través de la vía MAPK/ERK y/o PI3K/AKT/mTOR (Yeh et al., 2005).

Por otra parte, existen estudios donde la ghrelina presentó un efecto antiproliferativo y proapoptótico en células de cáncer de próstata (Díaz et al., 2010; Lawnicka et al., 2012; Cassoni et al., 2004), y otra investigación mostró un efecto nulo de la ghrelina en migración y proliferación celular (Hormaechea et al., 2017).

Los estudios existentes sobre el papel de la ghrelina en el cáncer de próstata se centran en evaluar su efecto en la proliferación celular y han dejado de lado su influencia en la migración celular. Hasta la fecha, solo el estudio realizado por Hormaechea y colaboradores (2017) abordó específicamente el impacto de la ghrelina acilada en la migración de células PC-3. Sus resultados

indicaron que una concentración de 10 nM de ghrelina acilada no altera la capacidad migratoria de dichas células.

Considerando esta información, resalta la importancia de realizar más estudios para comprender el verdadero papel de la ghrelina en el cáncer de próstata.

III. JUSTIFICACIÓN

El cáncer de próstata es la segunda neoplasia más frecuentemente diagnosticada y la quinta causa de mortalidad asociada al cáncer en la población masculina. Cada año se detectan más de 1.4 millones de casos nuevos a nivel mundial y en 2022 ocurrieron 397,430 muertes por esta causa. El cáncer de próstata progresa de forma inadvertida desde sitios confinados hasta formas agresivas y metastásicas, las cuales dan lugar a un peor pronóstico para el paciente. A pesar de los avances recientes en el tratamiento del cáncer de próstata, continúa siendo necesaria la búsqueda de nuevos marcadores pronósticos y posibles dianas terapéuticas para esta enfermedad.

La comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo de cáncer de próstata metastásico, incluyendo la regulación de la proliferación y migración celular, resultan importantes para desarrollar estrategias terapéuticas para combatir esta enfermedad.

La ghrelina, una hormona principalmente reconocida por su papel en la regulación del apetito y el metabolismo, se ha propuesto como un regulador importante en procesos tanto fisiológicos como patológicos, incluyendo el cáncer.

Estudios *in vitro* han demostrado que la ghrelina puede influir en la capacidad proliferativa, migratoria e invasiva de células provenientes de diversos tipos de cáncer, no obstante, su papel no es totalmente claro en el cáncer de próstata y no se han realizado estudios suficientes.

En el contexto de comprender los mecanismos de regulación de la migración celular en el cáncer de próstata, esta investigación se centra en explorar el efecto de la ghrelina sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células de cáncer de próstata resistente a la castración, línea celular PC-3.

Este estudio permitirá reconocer la importancia de la ghrelina en el proceso de metástasis en cáncer de próstata, contribuirá al conocimiento actual sobre la migración celular en este tipo de cáncer y dará pie a la mejora de las consideraciones terapéuticas orientadas a prevenir o frenar la progresión metastásica de esta enfermedad.

IV. HIPÓTESIS

La ghrelina acilada exógena estimula la capacidad proliferativa y migratoria de la línea tumoral PC-3, derivada de cáncer de próstata.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la ghrelina acilada sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células tumorales humanas PC-3.

Objetivos particulares

1. Identificar la presencia del ARNm que codifica para el receptor de ghrelina GHSR-1a en células PC-3.
2. Comparar la capacidad proliferativa de células PC-3 tratadas y no tratadas con ghrelina acilada mediante conteo celular en cámara de Neubauer.
3. Comparar la capacidad migratoria de células PC-3 tratadas y no tratadas con ghrelina acilada mediante ensayos en cámara Transwell.
4. Evaluar el nivel de expresión de ARNm que codifica para factores de transcripción asociados a la EMT, así como marcadores moleculares epiteliales y mesenquimales en células PC-3 en presencia y ausencia de ghrelina acilada.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Cultivo de la línea celular PC-3

La línea celular PC-3 se obtuvo a partir de una metástasis vertebral lumbar de un adenocarcinoma de próstata de grado IV de un hombre caucásico de 62 años (Saranyutanon et al., 2020). Las células PC-3 crecen en modalidad monocapa y exhiben características de un adenocarcinoma pobremente diferenciado que expresa CK7, CK8, CK18 y CK19, pero no AR y PSA (**Figura 13**) (Saranyutanon et al., 2020).

Las células PC3 poseen la capacidad de replicar el comportamiento metastásico observado en pacientes con este tipo de cáncer, por lo que son un modelo adecuado para investigar los mecanismos moleculares y factores que subyacen la propagación metastásica (Hera BioLabs, 2024).

ATCC Number: **CRL-1435**
Designation: **PC-3**

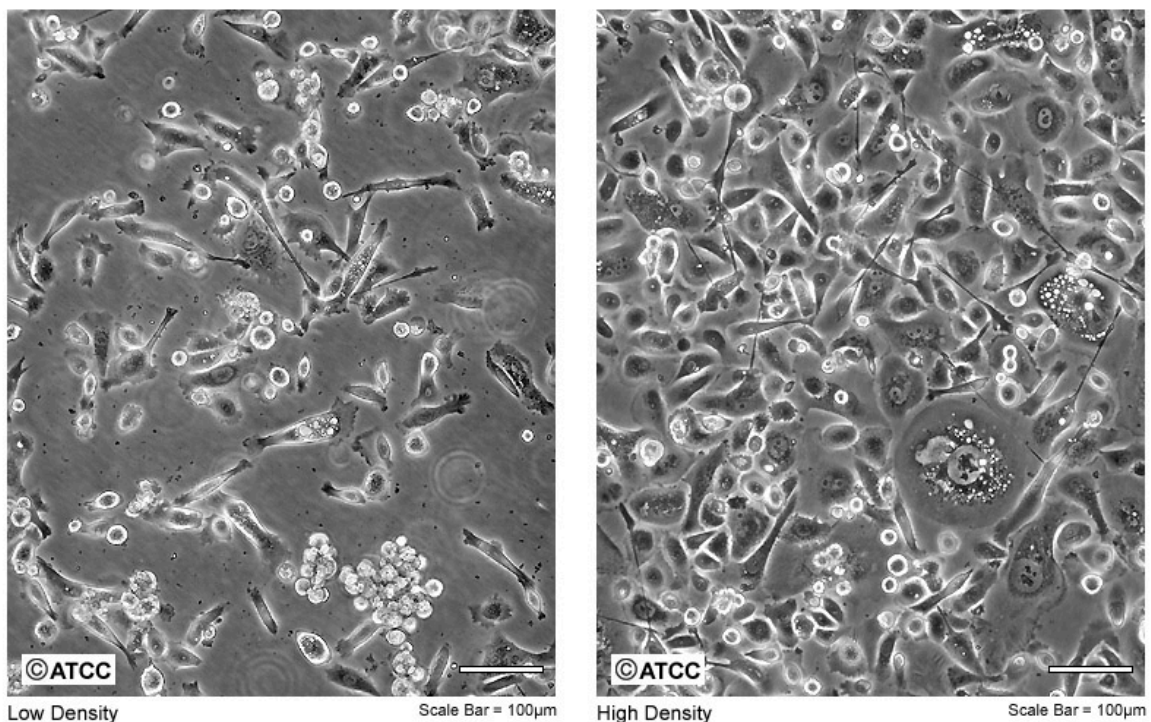


Figura 13. Morfología de células PC-3. Microfotografías de células sembradas a baja densidad (izquierda) y a alta densidad (derecha) (Imagen tomada de ATCC).

Las células se cultivaron en matraces de poliestireno de 25 cm² utilizando medio de cultivo Advanced-DMEM (Gibco®), suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB), 1% de L-glutamina y 1% de una solución antibiótica-antimicótica compuesta por 10,000 µg/mL de estreptomicina, 10,000 unidades/mL de penicilina y 25 µg/mL de anfotericina B. Los cultivos se mantuvieron en un ambiente controlado a 37 °C, con una atmósfera húmeda compuesta por un 5% de CO₂ y un 95% de aire.

El medio de cultivo se renovó cada 48 horas y, cada 7 días, las células se sometieron a un proceso de tripsinización. Primero se retiró el medio de cultivo, se realizaron dos lavados con 5 mL de PBS estéril y se adicionaron 2 mL de solución de tripsina-EDTA al 0.25%. Una vez desprendidas las células, se añadieron 4 mL de medio de cultivo suplementado con SFB para desactivar la enzima. La suspensión celular resultante se recolectó en un tubo cónico estéril y se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos. Tras eliminar el sobrenadante, el pellet celular se resuspendió en medio de cultivo fresco. Finalmente, se tomaron alícuotas de la suspensión celular para regenerar el cultivo madre y para realizar cultivos en cajas Petri de 35 mm, los cuales fueron empleados para llevar a cabo los ensayos de conteo celular, migración celular y RT-PCR.

6.2. Conteo celular

Las células PC-3 fueron sembradas en placas Petri de 35 mm de diámetro. Una vez que alcanzaron una confluencia de 60%, se trató el cultivo con ghrelina (BioVision) a una concentración de 100 nM durante un periodo de 48 horas, renovando el medio cada 24 horas y manteniendo la concentración del tratamiento. Posteriormente, las células fueron tripsinizadas y resuspendidas en medio de cultivo. Se tomó una alícuota de 10 µL de la suspensión celular y se mezcló con 40 µL de azul de tripano (CORNING). El recuento de células viables se realizó empleando un hemocitómetro (BLAUBRAND) bajo microscopía óptica a 10X. Finalmente, se realizaron los cálculos correspondientes para determinar el número total de células.

6.3. Ensayos de migración en cámara Transwell

Las células PC-3 se sembraron en placas Petri de 35 mm de diámetro. Al alcanzar una confluencia de 60%, el cultivo se trató con ghrelina (BioVision) a una concentración de 100 nM durante 48 horas. El medio se renovó a las 24 horas y se mantuvieron las condiciones iniciales.

Tras finalizar el tratamiento, se retiró el medio de cultivo y las células se lavaron dos veces con 1 mL de PBS estéril. Posteriormente, se adicionaron 500 μ L de solución de tripsina-EDTA y las células se incubaron durante 5 minutos.

La acción de la tripsina se neutralizó añadiendo 750 μ L de medio de cultivo completo, y la suspensión celular se recolectó en un tubo Eppendorf. La muestra se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos en una microcentrífuga (Centrifuge 5415 D, Eppendorf). Se descartó el sobrenadante, y el pellet celular se resuspendió en medio de cultivo libre de SFB. Finalmente, se realizó un conteo celular tomando una alícuota de 10 μ L de la suspensión celular, tal como se describió previamente.

El ensayo se realizó en placas de 24 pozos con insertos de tereftalato de polietileno con poros de 8 μ m de diámetro (CORNING). En el compartimento superior de cada inserto, se añadió el volumen de suspensión celular con 20,000 células, así como medio libre de suero para tener un volumen final de 300 μ L. En el compartimento inferior, se adicionaron 750 μ L de medio de cultivo suplementado con 10% de SFB, el cual actuó como quimioatrayente. En ambos compartimentos, la concentración de ghrelina se mantuvo a 100 nM durante el ensayo.

Las células se incubaron en las cámaras de migración durante 16 horas a 37 °C con una atmósfera compuesta por un 5% de CO₂ y un 95% de aire. Al finalizar el tiempo, se retiró el medio de ambos compartimentos. Enseguida, se removieron las células que quedaron en la parte superior de la membrana del inserto utilizando un hisopo de algodón, mientras que las células migradas y adheridas a la parte inferior de la membrana del inserto, fueron fijadas con 1 mL de solución metanol/acetona (dilución 1:1) durante 20 minutos y teñidas con 1 mL cristal violeta 0.05% por 20 minutos.

Finalmente, se tomaron 5 microfotografías de 5 campos aleatorios utilizando el objetivo de 10X en un microscopio de campo claro. Finalmente, el conteo de las células migradas se realizó utilizando el programa Image J.

6.4. Ensayo de RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa).

6.4.1. Extracción de ARN total

Las células se cultivaron en cajas Petri de 35 mm y una vez alcanzada una confluencia del 90%, se realizó la extracción de ARN total utilizando el kit comercial FavorPrep™, Tissue total RNA Purification Mini (FLAVORGEN), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Primero se retiró el medio de cultivo de las placas y se realizaron dos lavados con 1 mL de PBS 1X, enseguida, se añadieron 500 µL de tripsina y se dejó incubar por 5 minutos. Posteriormente se adicionaron 750 µL de medio completo y se recolectó todo el volumen en un tubo Eppendorf de 1.5 mL el cual se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos.

Seguidamente, se descartó el sobrenadante dejando únicamente el pellet formado, el cual se resuspendió en 350 µL de Buffer de lisis suplementado con 1% de β-mercaptoetanol. El homogenado celular se transfirió a una columna con filtro blanco colocada dentro de un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se centrifugó a 13000 rpm por 2 minutos. Al volumen filtrado se le adicionaron 350 µL de etanol al 70% y se vortexeó por 5 segundos. A continuación, se recuperó todo el volumen del tubo y se transfirió a una columna con filtro rojo colocada dentro de un tubo colector para después centrifugar a 13000 rpm por 2 minutos. Acto seguido, se desechó el contenido del tubo colector, sobre el filtro rojo se agregaron 400 µL de Buffer de lavado 1, se centrifugó a 13000 rpm por 2 minutos y se decantó el líquido del tubo colector. Ulteriormente se colocaron 400 µL de Buffer de lavado 2 sobre el filtro rojo y se centrifugó a 13000 rpm por 2 minutos. Este último paso se repitió una vez más y posteriormente el filtro rojo se centrifugó en seco a 13000 rpm por 2 minutos.

Después, se transfirió el filtro rojo a un tubo Eppendorf estéril de 1.5 mL, se colocaron sobre el filtro rojo 30 μ L de agua libre de RNAsas y se dejó reposar por 3 minutos a temperatura ambiente. Finalmente se centrifugó el tubo con el filtro rojo a 13000 rpm por 3 minutos para obtener el RNA total.

6.4.2. Cuantificación y determinación de la pureza del ARN

Posterior a la extracción de ARN total, se cuantificó la concentración y calidad del extracto mediante espectrofotometría. Se hizo una dilución de 4 μ L de la muestra con 196 μ L de agua inyectable para obtener un volumen final de 200 μ L. Para calcular la concentración se evaluó la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 260 nm, mientras que la integridad del ARN se determinó a partir del cociente de la absorbancia a 260 nm y 280 nm (A260/A280). Para los ensayos de RT-PCR, se consideró una muestra de buena calidad cuando el valor del cociente A260/A280 se encontró en un rango de 1.7-2.0.

6.4.3. Transcripción reversa

A partir del ARN total extraído y purificado se realizó la síntesis de ADN complementario (cDNA) utilizando el kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems) siguiendo las indicaciones del fabricante. El mix de reacción utilizado se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Mix de reacción para retrotranscripción.

Reactivo	Cantidad
Buffer RT	4 μ L
dNTPs	1 μ L
Random primers	1 μ L
Reverse transcriptase	0.5 μ L

El proceso se llevó a cabo en un termociclador Mastercycler gradient X50s (Eppendorf®) bajo las condiciones mostradas en la **Figura 14**.

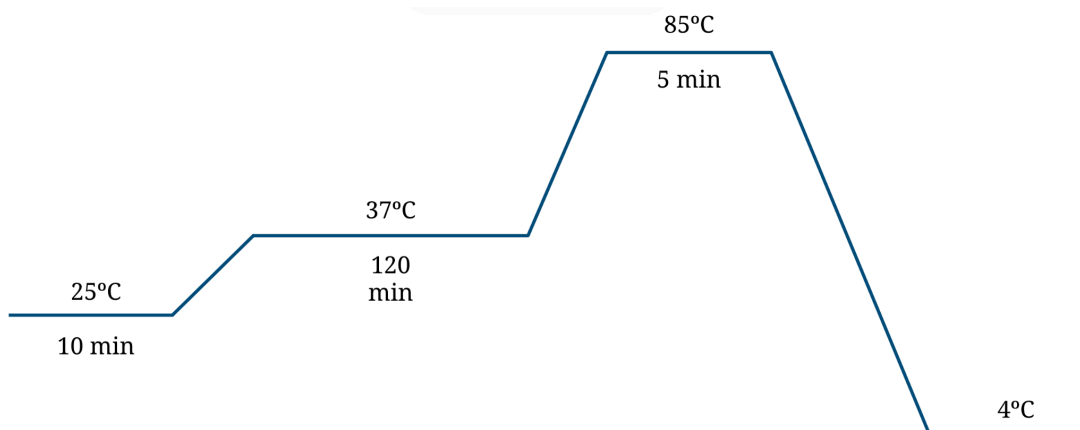


Figura 14. Temperaturas utilizadas en el ciclo de retrotranscripción.

El volumen final de cada tubo fue de 20 μL , de forma que se complementa con agua de grado molecular y el volumen respectivo de muestra para tener una concentración final de 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de ARN.

6.4.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

A partir del cDNA obtenido en la transcripción reversa, se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de los genes de interés que se muestran en la tabla 4. Los oligonucleótidos utilizados fueron diseñados por el grupo del Laboratorio de Neuroendocrinología y sintetizados por T4OLIGO y Sigma-Aldrich.

Se utilizó el kit DreamTaq PCR Master Mix (Thermo Scientific). El mix de reacción utilizado se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Mix de reacción para PCR.

Reactivo	Cantidad
DreamTaq Green	10 μL
Primer Fw	1 μL
Primer Rv	1 μL
Agua	6 μL
Muestra RT	2 μL

El proceso se llevó a cabo en un termociclador Mastercycler gradient X50s (Eppendorf®) bajo las condiciones mostradas en la **Figura 15**.

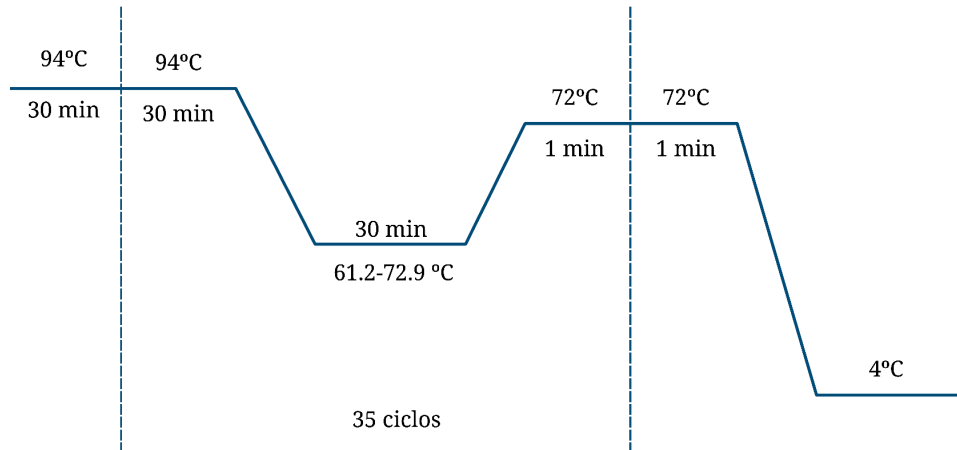


Figura 15. Protocolo para cada ciclo de la PCR.

Tabla 4. Oligonucleótidos utilizados para ensayos de PCR de punto final.

Primer	Dirección	Secuencia	T _m (°C)	Tamaño del amplificado (pb)
<i>GHSR-1a</i>	Forward	CGTGCCTTTGTCCTCTTCTAC	62.7	242
	Reverse	TGTGCTATGTCTTCCGGTTTAG		
<i>Ki-67</i>	Forward	TACCAGGAGGTGAGGATAAA	62.6	413
	Reverse	CTGCACTGGAGTTCCCATAAA		
<i>Ciclina E1</i>	Forward	ATCCTCCAAAGTTGCACCAG	64.5	259
	Reverse	AGGCAGTCAACATCCAGGAC		
<i>Ciclina B1</i>	Forward	TTGGTGTCCTGCCATGTTT	63.6	314
	Reverse	TAAGCAAAAAGCTCCTGCTG		
<i>E-Cadherina</i>	Forward	TCCATTTCTTGGTCTACGCCT	64.2	363
	Reverse	CACCTTCAGCCATCCTGTTT		

<i>Vimentina</i>	Forward	AGAACCTGCAGGAGGCAGAAGAAT	71.5	201
	Reverse	CTTCCATTTACGCATCTGGTA		
<i>Fibronectina</i>	Forward	CTGAGACCACCATCACCATTAG	63.8	476
	Reverse	GGGCTCGCTCTTCTGATTATT		
α -SMA	Forward	CTCAGCAGTAGTAACGAAGGAA	61.9	421
	Reverse	GACCCTGAAGTACCCGATAGA		
<i>SNAIL-1</i>	Forward	CCTTCGTCCTTCTCCTCTACTT	62.1	388
	Reverse	GGCACTGGTACTTCTTGACATC		
<i>SNAIL-2</i>	Forward	CTCTCTCCTCTTTCCGATACT	62.6	236
	Reverse	CAGTGCAGCTGCTTATGTTTG		
TWIST 1	Forward	GGAGTCCGCAGTCTTACGAG	64.0	201
	Reverse	TCTGGAGGACCTGGTAGAGG		
<i>ZEB 1</i>	Forward	GTGGCATACACCTACTCAACTAC	61.2	458
	Reverse	CGTTCTTCCGCTTCTCTCTTAC		
β -actina	Forward	CAAGAGATGGCCACGGCTGCT	72.9	275
	Reverse	TCCTTCTGCATCCTGTCCGCA		

6.4.5. Electroforesis en gel de agarosa

Los productos de PCR amplificados fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.2% teñido con Bromuro de etidio.

Para la preparación del gel, se disolvieron en un matraz Erlenmeyer 0.6 g de agarosa en 50 mL de Buffer TAE 1X aplicando calor durante 1 minuto. El matraz se agitó vigorosamente hasta conseguir una solución completamente homogénea. Enseguida, se añadieron 4 μ L de bromuro de etidio, el matraz se agitó nuevamente y se vertió en la cámara de electroforesis para dejarse gelificar por 25 minutos a temperatura ambiente.

El gel se cargó con 8.7 μ L de muestra para cada pocillo. Como marcador se empleó el patrón de ADN comercial Gene Ruler 100 pb DNA Laddery (Thermo Scientific, EUA)

La separación electroforética se llevó a cabo en Buffer TAE 1X a 65 V por 80 minutos. Finalmente, el gel se reveló utilizando un fotodocumentador (Axygen GD-1000, Corning) y se obtuvieron tres fotografías.

6.4.6. Densitometría

Se realizó el análisis densitométrico de las bandas obtenidas empleando el software ImageJ, el cual es proporcionado gratuitamente por el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América (NIH).

6.5. Análisis de datos

Al finalizar la fase experimental, se realizó el análisis e interpretación de los resultados empleando el software SigmaPlot 12.5 (Jandel Corporation, EUA).

Se empleó la prueba estadística de *t* de *Student* para evaluar la diferencia entre el grupo control y el tratado con ghrelina 100 nM. Se consideró un valor estadísticamente significativo cuando $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ y $***p < 0.001$. Los datos graficados se muestran como la media \pm E.E.M (error estándar de la media) de tres experimentos independientes.

VII. RESULTADOS

7.1. Las células PC-3 expresan el ARNm que codifica para la isoforma 1a del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR-1a)

En primera instancia se decidió confirmar que las células PC-3 utilizadas en nuestro trabajo de tesis, expresan el ARNm codificante para la isoforma 1a del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR-1a) la cual se ha identificado como aquella que transduce la señal de ghrelina acilada. Mediante ensayos de RT-PCR se determinó que el modelo celular efectivamente expresa el ARNm codificante para GHSR-1a y no varía en presencia o ausencia de ghrelina acilada 100 nM, tal como se observa en la **Figura 16**.

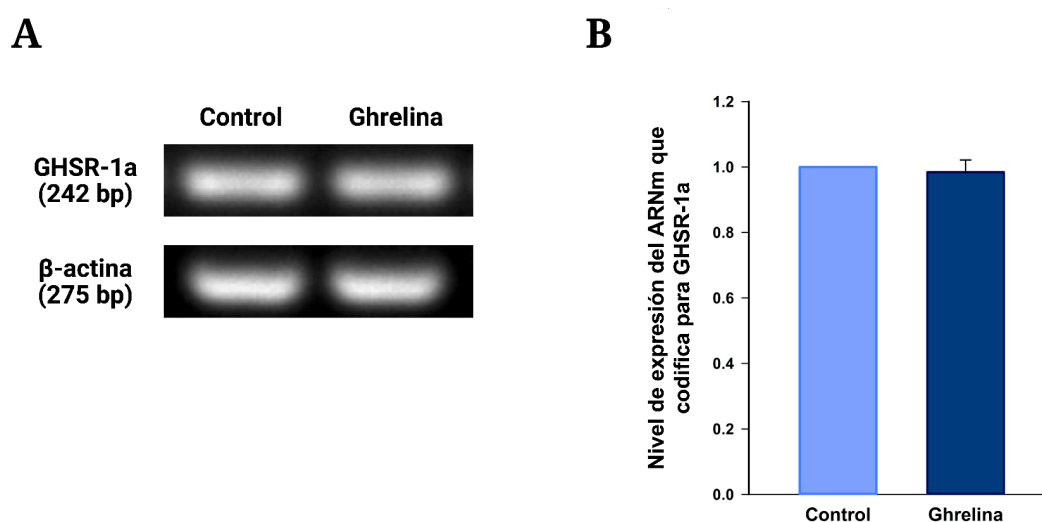


Figura 16. Las células PC-3 expresan el ARNm que codifica para GHSR-1a y su nivel de expresión no depende de la presencia de ghrelina. Las células PC-3 fueron tratadas con ghrelina 100 nM por 48 horas, posteriormente se determinó el nivel de expresión del ARNm codificante para GHSR-1a mediante ensayos de RT-PCR. A) Bandas correspondientes a la expresión del ARNm que codifica para GHSR-1a. B) Gráfico de barras resultante de la densitometría de cada condición. Se confirmó que la línea tumoral PC-3 expresa la isoforma del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento. No se observó una diferencia significativa entre el grupo control y el tratado con ghrelina 100 nM. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto a β -actina, y representan la media \pm E.E.M de tres experimentos independientes.

7.2. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad proliferativa en células PC-3

A continuación, se procedió a evaluar el efecto de la ghrelina sobre la capacidad proliferativa de células PC-3 mediante la realización de conteos celulares empleando un hemocitómetro. Los resultados mostraron que las células tratadas con ghrelina acilada 100 nM durante 48 horas tuvieron un crecimiento acelerado, de forma que se alcanzó una población celular 40% mayor en comparación con el grupo control (**Figura 17**).

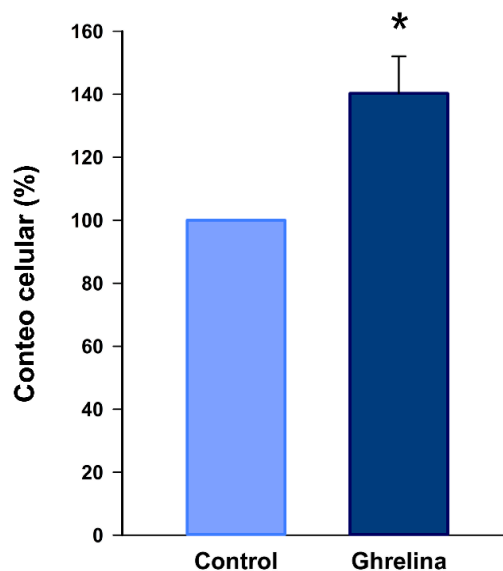


Figura 17. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad proliferativa en células PC-3. Las células PC-3 fueron tratadas con ghrelina 100 nM por 48 horas, enseguida se evaluó la proliferación mediante un recuento de células viables ocupando el colorante diferencial azul de tripano y un hemocitómetro. Se observó un aumento en la población celular de aproximadamente 40% en el grupo de ghrelina en comparación con el grupo control. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto al control, y representan la media \pm E.E.M. Gráfico resultante de tres experimentos independientes (* $p < 0.05$).

Con el objetivo de identificar los elementos moleculares relacionados con el incremento observado en la población celular, se evaluó el nivel de expresión del ARNm que codifica para marcadores moleculares asociados a la proliferación y la regulación del ciclo celular: Ki-67, Ciclina E1 y Ciclina B1, mediante ensayos de RT-PCR de punto final. Después de 48 horas de tratamiento con ghrelina 100 nM, se extrajo el ARNm de las células PC-3 y se observó un aumento significativo, de aproximadamente 17%, en la expresión del ARNm que codifica para Ki-67, en comparación con el grupo control. Caso contrario con ambas

ciclinas, las cuales mostraron una tendencia a la baja sin diferencia significativa (**Figura 18**).

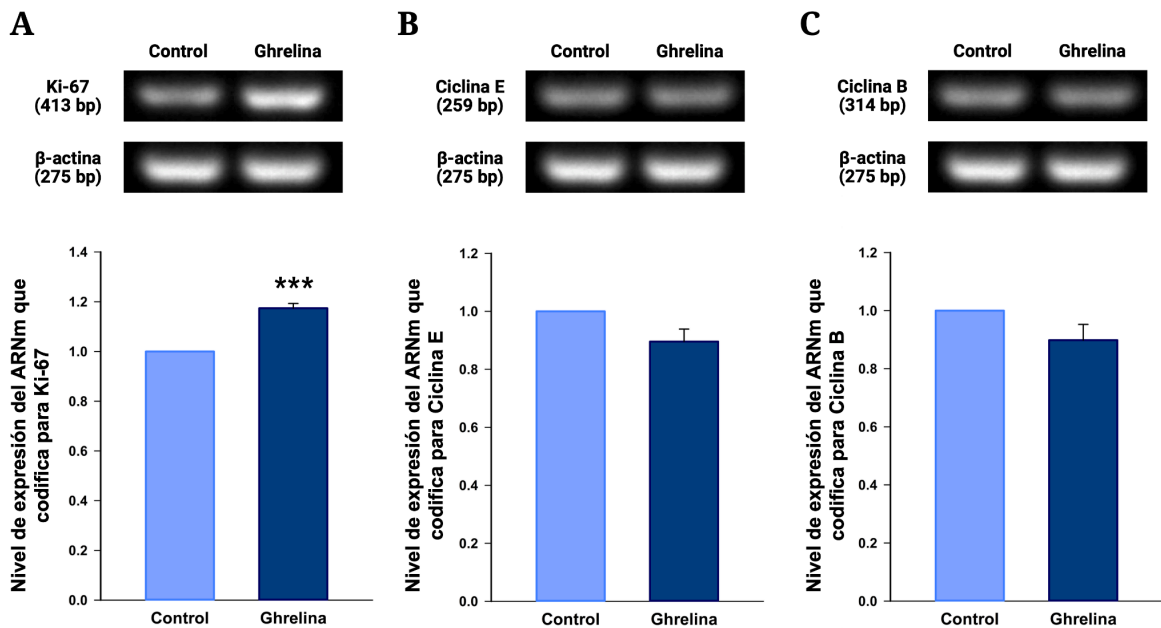


Figura 18. El tratamiento con ghrelina aumenta la expresión de Ki-67 en células PC-3. Las células PC-3 fueron tratadas con ghrelina 100 nM por 48 horas, posteriormente se determinó el nivel de expresión del ARNm codificante para Ki-67, Ciclina E1 y Ciclina B1 mediante ensayos de RT-PCR. Expresión del ARNm que codifica para A) Ki-67, B) Ciclina E1 y C) Ciclina B1. La expresión de β -actina se utilizó como control interno. Las células tratadas con ghrelina mostraron un aumento significativo en la expresión de Ki-67 del 17% en comparación con las células control. Por otra parte, la expresión de Ciclina E1 y Ciclina B1 mostraron una reducción no significativa. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto a β -actina, y representan la media \pm E.E.M de tres experimentos independientes (***) $p < 0.001$.

7.3. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad migratoria en células PC-3

Para determinar si la ghrelina acilada tiene un efecto sobre la capacidad migratoria de células tumorales PC-3, las células fueron tratadas con ghrelina 100 nM durante 48 horas, posteriormente se realizaron ensayos en cámara Transwell. De acuerdo con los resultados mostrados en la **Figura 19**, se determinó que la ghrelina promueve la capacidad migratoria de células PC-3, debido a que el grupo tratado exhibió un incremento significativo del 60% en comparación con las células no tratadas.

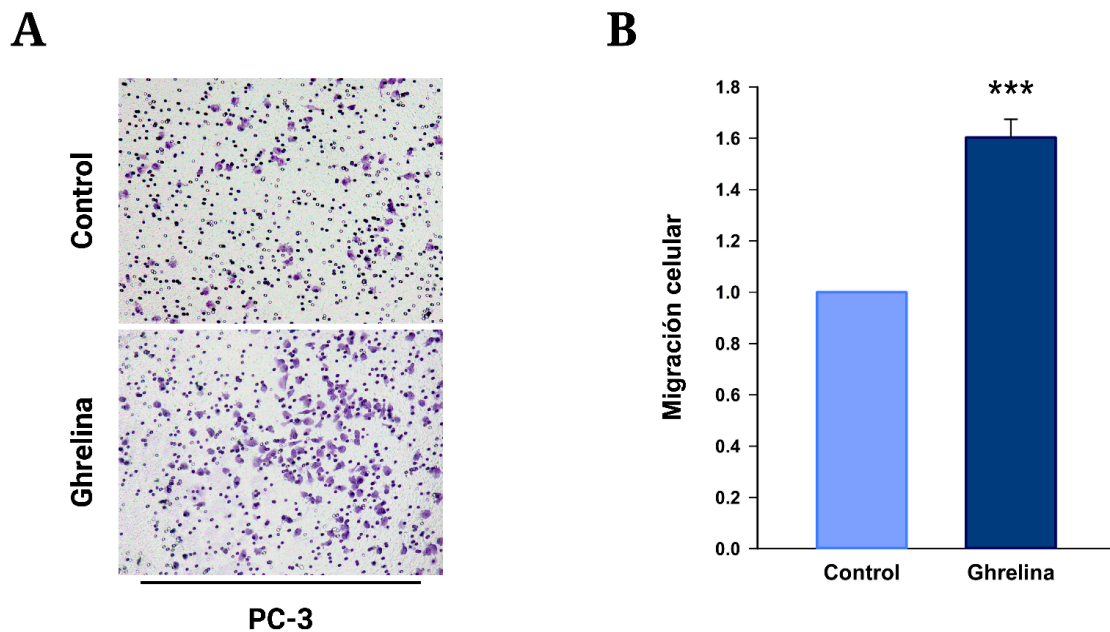


Figura 19. El tratamiento con ghrelina aumenta la capacidad migratoria en células PC-3. Las células PC-3 fueron mantenidas en presencia de ghrelina 100 nM durante 48 horas, posteriormente se cosecharon y emplearon para ensayos de migración en cámara Transwell. A) Se muestran micrografías representativas (10X) del ensayo de migración. B) Cuantificación de la migración celular. Se observa una mayor migración en el grupo tratado con ghrelina 100 nM en comparación con el grupo control, con una diferencia de aproximadamente 60%. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto al control, y representan la media \pm E.E.M resultante de tres experimentos independientes (** $p < 0.001$).

7.4. El tratamiento con ghrelina promueve el fenotipo mesenquimal en células PC-3

Mediante ensayos en cámara Transwell, se observó un aumento del 60% en la migración de las células tratadas en comparación con el grupo control. Para explorar los mecanismos asociados a este fenómeno, se analizó el nivel de ARNm codificante para los marcadores moleculares α -SMA, vimentina y fibronectina, proteínas clave en la EMT y la remodelación del citoesqueleto. Se observó que el tratamiento con ghrelina generó un aumento significativo en la expresión del ARNm codificante para α -SMA y vimentina del 3% y 48%, respectivamente. La expresión del ARNm codificante para fibronectina no reflejó cambios significativos (**Figura 20**).

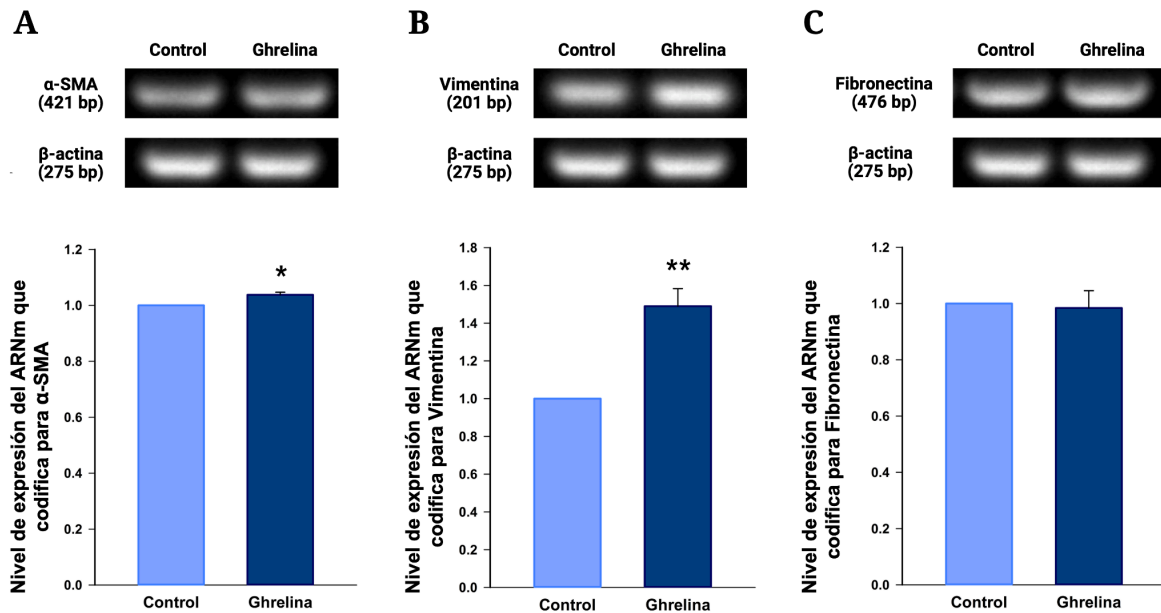


Figura 20. El tratamiento con ghrelina aumenta la expresión de vimentina y α -SMA en células PC-3. Las células PC-3 fueron tratadas con ghrelina 100 nM por 48 horas, posteriormente se determinó el nivel de expresión del ARNm codificante para α -SMA, vimentina y fibronectina mediante ensayos de RT-PCR. Se muestra la expresión del ARNm que codifica para A) α -SMA, B) Vimentina y C) Fibronectina. En comparación con el grupo control, las células tratadas con ghrelina mostraron un aumento significativo en la expresión a nivel de ARNm de los marcadores moleculares del fenotipo mesenquimal α -SMA y vimentina del 3% y 46% respectivamente. Por otra parte, la expresión de Fibronectina no tuvo cambios significativos al comparar ambos grupos. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto a β -actina, y representan la media \pm E.E.M de tres experimentos independientes (* p <0.05, ** p <0.01).

7.5. El tratamiento con ghrelina inhibe el fenotipo epitelial en células PC-3

La adhesión celular es un factor clave en la regulación de la migración y plasticidad celular. Previamente se observó un aumento en la expresión de α -SMA y vimentina, lo que sugiere una posible transición hacia un fenotipo mesenquimal. Para complementar estos hallazgos, se evaluó la expresión de E-cadherina, una proteína central en la adhesión célula-célula y en el mantenimiento del fenotipo epitelial.

Los resultados de los ensayos de RT-PCR demostraron que las células tratadas con ghrelina 100 nM exhibieron una disminución significativa en la expresión de E-cadherina del 30% en comparación con el control (**Figura 21**). De forma que los cambios observados en α -SMA y vimentina están acompañados de

una reducción en la cohesión celular, lo cual favorece la migración y reprogramación fenotípica de las células de cáncer de próstata empleadas en este estudio.

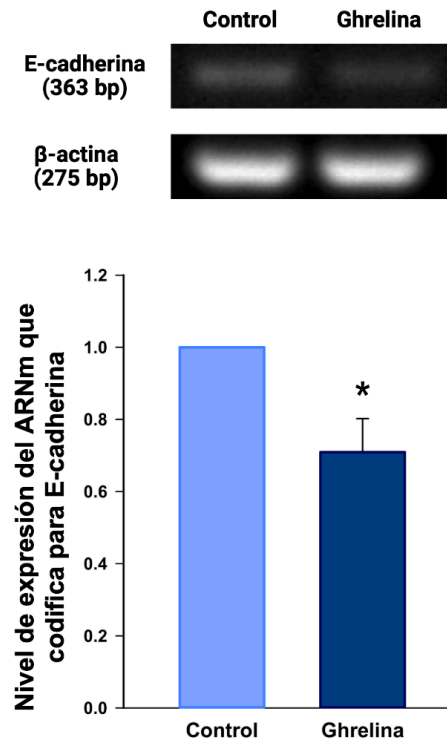


Figura 21. El tratamiento con ghrelina disminuye la expresión de E-cadherina en células PC-3. Las células PC-3 fueron tratadas con ghrelina 100 nM por 48 horas, posteriormente se determinó el nivel de expresión del ARNm codificante para E-cadherina mediante ensayos de RT-PCR. Se muestran las bandas correspondientes a la expresión del ARNm que codifica para E-cadherina y el gráfico de barras resultante de la densitometría de cada condición. Las células tratadas con ghrelina mostraron una disminución significativa en la expresión de E-cadherina del 30% en comparación con las células control. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto a β -actina, y representan la media \pm E.E.M de tres experimentos independientes (* $p < 0.05$).

7.5. Ghrelina promueve la expresión del ARNm que codifica para factores de transcripción asociados a la transición epitelio-mesénquima en células PC-3

La EMT es un proceso clave en la adquisición de un fenotipo migratorio y mesenquimal. En análisis previos, se observó un aumento en la migración celular, acompañado de una mayor expresión de α -SMA y vimentina, así como la reducción de E-cadherina. Finalmente, para profundizar en el esclarecimiento de la regulación molecular de los cambios observados, se analizó la expresión de los

factores de transcripción SNAIL-1, SNAIL-2, ZEB-1 y TWIST-1, conocidos reguladores de la EMT.

En el grupo tratado con ghrelina, la expresión de SNAIL-1 disminuyó significativamente en un 11 % respecto al control. Por otro lado, SNAIL-2 presentó un incremento significativo del 8 % en esta condición (**Figura 22**).

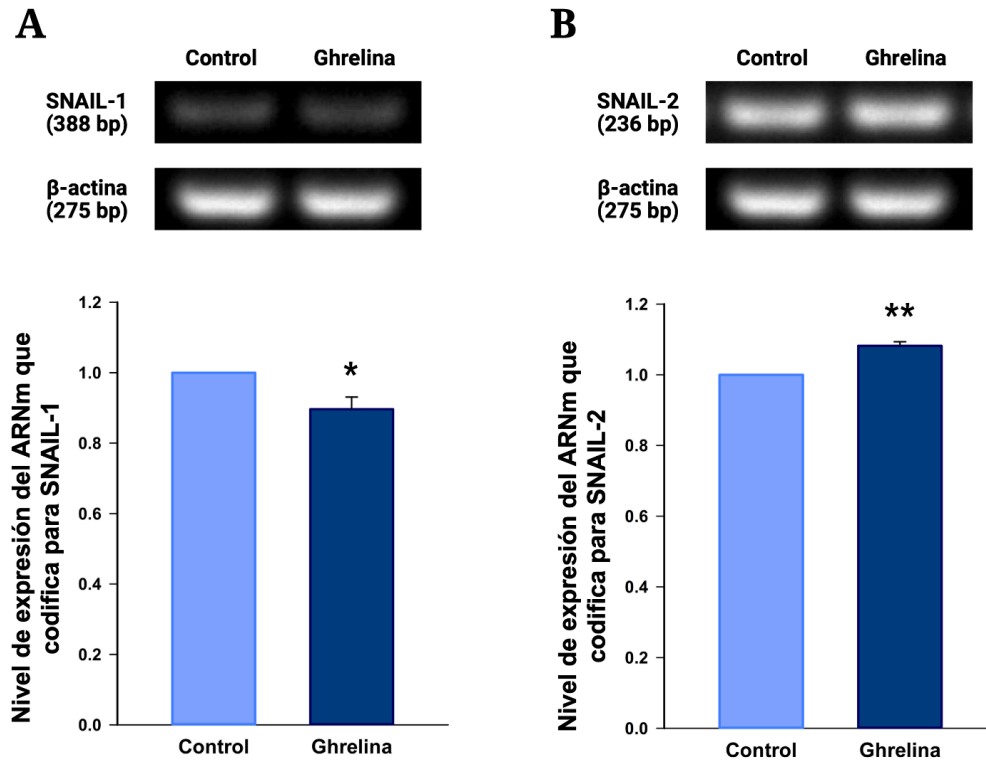


Figura 22. El tratamiento con ghrelina modifica la expresión de SNAIL-1 y SNAIL-2 en células PC-3. Las células PC-3 se trataron con ghrelina 100 nM por 48 horas, posteriormente se determinó el nivel de expresión del ARNm codificante para SNAIL-1 y SNAIL-2 mediante ensayos de RT-PCR. Se muestra la expresión del ARNm que codifica para A) SNAIL-1 y B) SNAIL-2. Las células tratadas con ghrelina mostraron una disminución significativa en la expresión de SNAIL-1 de aproximadamente 11% respecto al control. Por otra parte, la expresión a nivel ARNm de SNAIL-2 presentó un aumento significativo del 8% en el grupo de ghrelina en comparación con el control. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto a β -actina, y representan la media \pm E.E.M de tres experimentos independientes (* p <0.05, ** p <0.01).

En el grupo tratado con ghrelina, ZEB-1 mostró una tendencia al aumento; sin embargo, la diferencia con el grupo control no fue estadísticamente significativa. En contraste, la expresión de TWIST-1 fue significativamente mayor en el grupo tratado, registrando un incremento del 37% en comparación con el control (**Figura 23**).

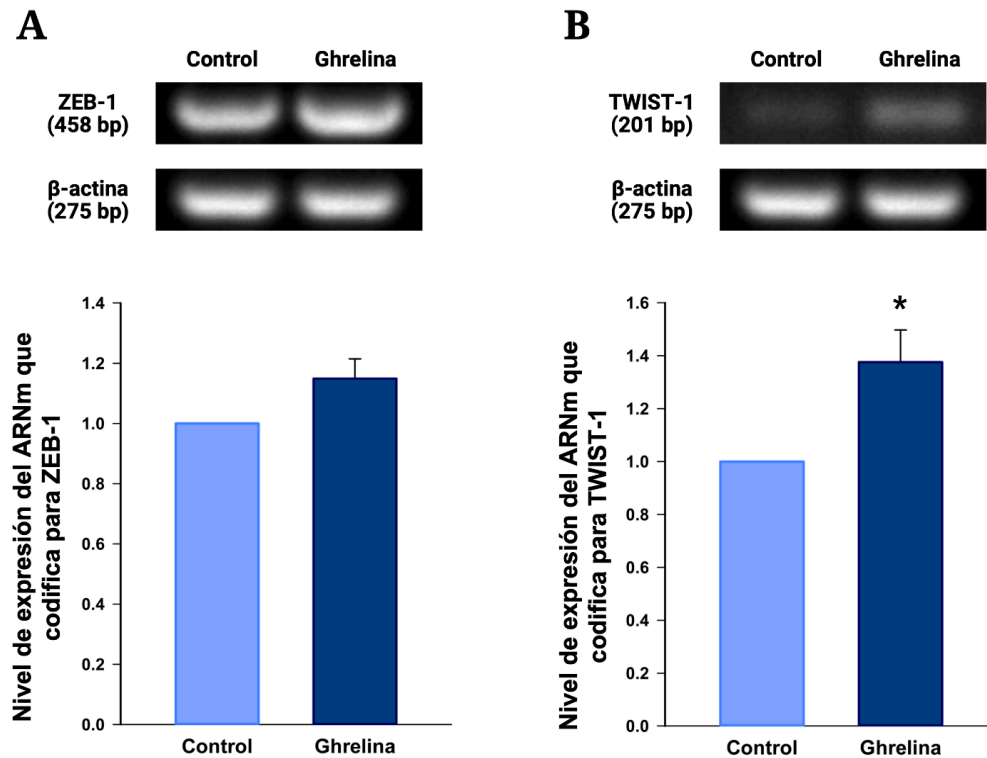


Figura 23. El tratamiento con ghrelina aumenta la expresión de ZEB1 y TWIST-1 en células PC-3. Las células PC-3 fueron tratadas con ghrelina 100 nM por 48 horas, posteriormente se determinó el nivel de expresión del ARNm codificante para ZEB-1 y TWIST-1 mediante ensayos de RT-PCR. Se muestra la expresión del ARNm que codifica para A) ZEB-1 y B) TWIST-1. Las células tratadas con ghrelina mostraron una tendencia a la alta en la expresión de ZEB-1 y un aumento significativo en la expresión de TWIST-1 de aproximadamente el 37% en comparación con las células control. Los valores mostrados se expresan normalizados respecto a β -actina, y representan la media \pm E.E.M de tres experimentos independientes (* $p < 0.05$).

VIII. DISCUSIÓN

El cáncer de próstata es un problema de salud pública a nivel mundial ya que representa la segunda neoplasia más común en hombres y ocupa el quinto lugar de mortalidad en la población masculina (Globocan, 2022). La metástasis es la etapa más crítica del cáncer de próstata, pues solo el 30% de los pacientes con cáncer de próstata metastásico tiene un periodo de supervivencia de 5 años (Robello et al., 2021).

Dentro de los factores que regulan la progresión y diseminación del cáncer de próstata, se ha identificado a la ghrelina acilada como un factor con posibles implicaciones en la proliferación y migración celular. Sin embargo, su papel específico en la progresión metastásica del cáncer de próstata aún no se comprende completamente. Por ello, el propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto de la ghrelina acilada sobre el potencial metastásico en la línea celular de cáncer de próstata PC-3.

La ghrelina, a través de su receptor (GHSR-1a) desencadena una variedad de señales que se correlacionan con la malignidad de células cancerosas y la progresión del cáncer, incluido el de próstata (Lin & Hsiao, 2017). La expresión de GHSR-1a se ha confirmado, mediante RT-PCR, en diferentes líneas celulares de cáncer de próstata, incluidas ALVA41, DU145, LNCaP y PC-3 (Jeffery et al., 2002; Díaz et al., 2010). Consistentemente con lo reportado, en este trabajo se confirmó la expresión del receptor de ghrelina a nivel de ARNm en la línea celular PC-3. Los resultados demostraron que al exponer células PC-3 a ghrelina acilada a una concentración de 100 nM no influyó sobre la expresión del ARNm codificante para GHSR-1a.

En diversos modelos de cáncer, se ha reportado que el tratamiento con ghrelina acilada exógena puede inducir efectos contradictorios. Estudios en líneas celulares de cáncer pancreático, como PANC-1, MIAPaCa-2, BxPC-3 y Capan-2, han demostrado que la ghrelina promueve la proliferación celular (Duxbury et al., 2003). De manera similar, el tratamiento con ghrelina en las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-435 y MDA-MB-231 resultó en un incremento en su capacidad proliferativa (Jeffery et al., 2005). Este efecto también se ha observado

en células de cáncer gástrico, específicamente en las líneas AGS y SGC-7901 (Tian et al., 2012; Tian et al., 2013), así como en líneas de cáncer colorrectal, incluyendo HT-29 y Caco-2 (Lien et al., 2016; Waseem et al., 2014). Asimismo, se ha reportado un aumento en la proliferación celular inducido por ghrelina en células de carcinoma hepatocelular HepG2 (Murata et al., 2002), carcinoma renal SW-13 (Delhanty et al., 2007) y cáncer de endometrio en las líneas Ishikawa, HEC-1B y KLE (Fung et al., 2010). Sin embargo, en algunos modelos de cáncer, la ghrelina acilada ha mostrado un efecto opuesto al previamente descrito, inhibiendo la proliferación celular. En las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-231 y MCF-7, su tratamiento resultó en una reducción de la proliferación celular (Cassoni, 2001), efecto que también se observó en células de cáncer de pulmón H345 (Cassoni, 2006) y en líneas de carcinoma tiroideo ARO y N-PAP (Volante et al., 2003).

En cuanto a cáncer de próstata, los estudios sobre el efecto de la ghrelina acilada han sido limitados y han arrojado resultados contradictorios. En la línea celular DU145, se ha reportado una disminución en la proliferación tras el tratamiento con concentraciones de 0.01 a 1000 nM por 72 y 96 horas (Cassoni et al., 2004). De manera similar, Lawnicka et al. (2012) observaron una reducción proliferativa al tratar estas células con 10, 100 y 1000 nM de ghrelina durante 72 horas. Sin embargo, Hormaechea et al. (2017) no detectaron diferencias significativas en la proliferación de DU145 cuando se expusieron a 10 nM de ghrelina por 24 y 48 horas. Estos últimos investigadores tampoco encontraron efectos en las líneas VCaP y LNCaP; no obstante, en la línea 22Rv1, la ghrelina incrementó la proliferación celular tras 24 horas de tratamiento. En contraste con los hallazgos de Hormaechea et al. (2017), Yeh et al. (2005) evidenciaron un aumento en la proliferación de células LNCaP tras el tratamiento con 1 y 10 nM de ghrelina durante 72 horas, lo que sugiere un posible efecto estimulador dependiente de la dosis y el tiempo de exposición.

En la línea celular PC-3, se ha reportado un efecto inhibitorio con concentraciones de 10, 30 y 50 nM por 72 horas (Díaz et al., 2010), no obstante, otros estudios han demostrado que la ghrelina potencia la proliferación en esta línea celular. Cassoni et al. (2004) describieron un efecto bifásico: mientras que concentraciones elevadas (1000 nM) por 48, 72 y 96 horas redujeron la

proliferación, concentraciones bajas (0.01 nM) durante el mismo tiempo promovieron un incremento en la proliferación celular. De manera coherente con este efecto proliferativo, Yeh et al. (2005) encontraron que el tratamiento con 10 nM de ghrelina acilada por 72 horas aumentó la proliferación de células PC-3. De forma similar, Jeffery et al. (2002) reportaron que concentraciones de 5 y 10 nM durante 72 horas promovieron significativamente la proliferación en esta misma línea celular.

En concordancia con estos estudios, en el presente trabajo se demostró que la ghrelina acilada a 100 nM promueve un incremento significativo del 40 % en el número de células contadas en comparación con el control. Este hallazgo sugiere que la ghrelina puede actuar promoviendo la proliferación celular en nuestro modelo de estudio.

De manera consistente, observamos un incremento en la expresión del ARNm codificante para Ki-67, un marcador clásico de proliferación celular, lo que refuerza la hipótesis de que la ghrelina estimula la capacidad proliferativa celular. En cuanto a la expresión de las ciclinas B1 y E1, no se observó una diferencia significativa, probablemente porque la expresión de ciclinas varía considerablemente en cada etapa del ciclo celular (Martínez-Alonso & Malumbres, 2020b).

Ki-67 es una proteína nuclear cuya expresión ocurre durante las fases G1, S, G2 y M, pero no en G0 (Yuan et al., 2015), y su aumento se correlaciona directamente con la actividad proliferativa de las células (Uxa et al., 2021). La regulación de Ki-67 por ghrelina ha sido reportada en otros contextos celulares. El estudio de Farhat et al., 2025 mostró que células IK-148 y IK-155 a una concentración de 20 nM de ghrelina acilada aumenta la expresión de Ki-67.

En este sentido, nuestros resultados coinciden con estudios previos que han propuesto un papel proliferativo de la ghrelina a través de la activación del receptor GHSR-1a y la modulación de vías de señalización como PI3K/AKT y ERK1/2 (Yeh et al., 2005; Yin et al., 2014).

El mecanismo exacto por el cual la ghrelina está promoviendo la proliferación celular en nuestro modelo aún requiere mayor investigación. Es

posible que la ghrelina esté actuando directamente sobre las células a través de su receptor específico, induciendo la transcripción de genes relacionados con el ciclo celular. Alternativamente, la ghrelina podría estar modulando el microambiente celular, favoreciendo la secreción de factores de crecimiento o citoquinas que promueven la proliferación.

Dado que nuestros hallazgos destacan el potencial de la ghrelina como modulador del crecimiento celular, y sugieren que su papel en los procesos proliferativos podría tener implicaciones en diversas condiciones fisiopatológicas, incluido el desarrollo tumoral, evaluamos la capacidad migratoria de las células PC-3 tras el tratamiento con ghrelina acilada a 100 nM.

En el contexto del cáncer, la migración celular es un proceso fundamental que adquiere un papel central en la metástasis, ya que permite a las células tumorales invadir nuevos tejidos y formar colonias secundarias (Migliaccio et al., 2023; Stuelten et al., 2018). Por ello, profundizar en los mecanismos que regulan la migración celular es esencial para entender la biología del cáncer.

Bajo nuestras condiciones, el tratamiento con ghrelina aumentó significativamente la capacidad migratoria de las células en un 60% en comparación con el control, lo cual sugiere un papel promotor de la ghrelina en este proceso. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que han vinculado a la ghrelina con la progresión tumoral en distintos tipos de cáncer. Duxbury et al. (2003) reportaron que el tratamiento con ghrelina acilada (10 nM) en líneas celulares de cáncer de páncreas, incluyendo PANC1, MIAPaCa2, BxPC3 y Capan2, incrementó su capacidad migratoria e invasiva. De manera similar, en consonancia con nuestros resultados, Tian et al. (2013) demostraron que la ghrelina (100 nM) estimula tanto la migración como la invasión celular en líneas de cáncer gástrico AGS y SGC7901. En otro estudio, Li et al. (2021) observaron que el tratamiento con ghrelina (10 nM) promueve la migración celular en células AGS de cáncer gástrico.

Asimismo, Lin et al. (2015) evidenciaron que en células de carcinoma renal (786-O, ACHN, A-498), la ghrelina aumenta la migración celular de manera dependiente de la dosis, con efectos observados a concentraciones de 180 y 360 nM. Por otro lado, Farhat et al. (2025) reportaron que en líneas celulares de

cáncer cerebral (IK-148, IK-155 e IK-169) el tratamiento con ghrelina (20 nM) incrementa la capacidad migratoria.

En el contexto de nuestro modelo experimental, Hormaechea et al. (2017) no encontraron diferencias significativas en la migración celular de la línea PC-3 entre el grupo control y el tratado con ghrelina 10 nM por 12 horas. Este resultado difiere de nuestros resultados, lo cual podría atribuirse a diferencias en la concentración empleada y el tiempo de exposición al tratamiento.

Un proceso fundamental durante la migración celular es la transición epitelial a mesenquimal (EMT), ya que determina la plasticidad de las células tumorales permitiéndoles cambiar de un estado epitelial no móvil a uno mesenquimal móvil. Tal transición está mediada por factores de transcripción clave que regulan principalmente la adhesión celular, la polaridad y la motilidad (Huang et al., 2022). De esta forma, los factores de transcripción asociados a la EMT, entre los más importantes, SNAIL, ZEB y TWIST, inducen la expresión de genes mesenquimales y suprimen los genes asociados con el fenotipo epitelial (Huang et al., 2022; Sarrand & Soyfoo, 2023).

Tomando lo anterior en consideración, se evaluó la expresión del ARNm de SNAIL-1, SNAIL-2, TWIST-1 y ZEB-1.

Bajo nuestras condiciones experimentales, la expresión de SNAIL-1 a nivel de ARNm mostró una disminución significativa del 11% en comparación con el control. Este resultado contrasta con lo reportado por Lin et al. (2015), quienes observaron un aumento en la expresión de SNAIL-1 tras tratar células de adenocarcinoma renal 786-O con ghrelina 180 nM durante 24 horas. Esta discrepancia podría deberse a la diferencia en el tipo celular y en los tiempos de evaluación de la expresión de ARNm. Se ha establecido que, en el proceso de EMT, SNAIL-1 actúa como un factor iniciador cuya expresión disminuye en etapas tardías del proceso (Tran et al., 2011). Por lo tanto, es posible que el pico de expresión de SNAIL-1 ocurriera antes de finalizar las 48 horas de tratamiento, y que, al momento de la medición, solo se detectara su reducción característica de una fase más avanzada de la EMT.

Se ha demostrado que, aunque SNAIL-1 es fundamental para la iniciación de la EMT, no es esencial para su mantenimiento (Tran et al., 2011). En nuestro estudio, observamos un aumento significativo en la expresión de SNAIL-2 y TWIST-1 a nivel de ARNm, con incrementos del 8% y 37%, respectivamente.

La evidencia sugiere que TWIST-1 y SNAIL-2 desempeñan un papel clave en la regulación y mantenimiento de la EMT. De acuerdo con Tran et al. (2011), la expresión de TWIST-1 se eleva a medida que SNAIL-1 disminuye, lo que sugiere una transición en la regulación del proceso. Además, se ha demostrado que TWIST-1 promueve la transcripción de SNAIL-2 al unirse específicamente a la E-box en su promotor (Casas et al., 2011). Esta interacción coordinada entre TWIST-1 y SNAIL-2 no solo sustenta la EMT, sino que también favorece la progresión tumoral y la metástasis (Casas et al., 2011).

En concordancia con el papel regulador de SNAIL-2 sobre la expresión de ZEB-1 (Wu et al., 2017; Casas et al., 2011), este factor de transcripción mostró, a nivel de ARNm, una tendencia al aumento. No obstante, la diferencia observada en nuestro estudio no fue estadísticamente significativa.

Tras comprobar que el tratamiento con ghrelina promueve la sobreexpresión de factores de transcripción asociados a la EMT en células de cáncer de próstata, decidimos investigar el efecto de tales factores sobre la expresión a nivel de ARNm de marcadores moleculares del fenotipo epitelial y mesenquimal.

Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con ghrelina induce un aumento significativo en la expresión del ARNm codificante para los marcadores del fenotipo mesenquimal α -SMA y vimentina, con incrementos del 3% y 46% respectivamente, mientras que la expresión de fibronectina no mostró cambios significativos. Tanto α -SMA como vimentina son proteínas que desempeñan un papel importante en la capacidad migratoria de las células tumorales ya que favorecen la remodelación del citoesqueleto, aumentan la capacidad de contracción y mejoran la elasticidad celular (Berr et al., 2023; Anggorowati et al., 2017; Z. Chen et al., 2020). Estas propiedades permiten a las células adaptarse a su entorno y facilitar su desplazamiento, contribuyendo así a la progresión tumoral.

Se ha descrito que α -SMA y vimentina están sobreexpresados en fibroblastos/miofibroblastos asociados al cáncer. En el cáncer de próstata, estos fibroblastos activados contribuyen al estado reactivo del estroma, favoreciendo la progresión tumoral (Bonollo et al., 2020). Adicionalmente, la sobreexpresión de α -SMA se ha correlacionado positivamente con estadios avanzados de la enfermedad, puntuaciones de Gleason más altas, metástasis linfáticas y niveles elevados de PSA, lo que sugiere su relevancia como marcador de agresividad tumoral (Wu et al., 2021).

Como complemento a la evaluación de marcadores mesenquimales, analizamos la expresión de E-cadherina, uno de los principales marcadores del fenotipo epitelial. Nuestros resultados mostraron una reducción significativa del 30% en la expresión de E-cadherina en células PC-3 tratadas con ghrelina, en comparación con el control. En concordancia con nuestros resultados, Lin et al. (2015) reportaron que el tratamiento con ghrelina a 180 nM durante 24 horas redujo la expresión de E-cadherina a nivel de ARNm en células 786-O.

E-cadherina es un componente esencial de las uniones de adhesión celular, y su regulación negativa es un sello distintivo de la EMT (Na et al., 2020). Se ha demostrado que SNAIL-1, SNAIL-2, ZEB-1, ZEB-2 y TWIST-1 pueden unirse a las E-boxes en el promotor de E-cadherina, reprimiendo su transcripción (Casas et al., 2011; Huang et al., 2022).

SNAIL-1 y SNAIL-2 pueden inhibir directamente la formación de uniones estrechas (TJ) y la expresión de marcadores epiteliales (Sarrand & Soyfoo, 2023). Por su parte, ZEB-1 regula negativamente los genes asociados a TJ, al tiempo que promueve la expresión de vimentina y N-cadherina, favoreciendo la transición a un fenotipo mesenquimal. De manera similar, TWIST-1 suprime la expresión de E-cadherina e impulsa la expresión de N-cadherina (Huang et al., 2022). En conjunto, la actividad de estos factores de transcripción debilita la adhesión celular y potencia la motilidad de las células tumorales, un mecanismo crucial para la metástasis.

En el presente estudio, se demostró que el tratamiento con ghrelina a 100 nM durante 48 horas induce un aumento significativo en la proliferación y migración de células PC-3, lo que sugiere que esta hormona peptídica podría

desempeñar un papel clave en la progresión del cáncer de próstata. A nivel molecular, los cambios observados en la expresión de marcadores asociados con la transición epitelio-mesenquimatoso (EMT) respaldan la hipótesis de que la ghrelina puede promover procesos de plasticidad celular que favorecen la progresión tumoral.

En este sentido, la ghrelina se perfila como un posible modulador de la agresividad tumoral, con potenciales implicaciones en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. No obstante, son necesarios estudios adicionales para caracterizar con mayor precisión su papel en la progresión del cáncer de próstata y evaluar su viabilidad como blanco terapéutico.

IX. CONCLUSIONES

1. Las células tumorales PC-3 expresan la isoforma 1a del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR-1a).
2. La presencia de ghrelina acilada exógena promueve la capacidad proliferativa de las células PC-3 aumentando la expresión del ARNm que codifica para Ki-67.
3. La ghrelina acilada exagera la capacidad migratoria de las células PC-3
4. La presencia de ghrelina acilada favorece el fenotipo mesenquimal en las células PC3, al promover la expresión de los factores de transcripción asociados a la EMT: SNAIL-2 y TWIST-1, los cuales a su vez, inducen un aumento en los marcadores moleculares relacionados con el fenotipo mesenquimal: vimentina y α -SMA, y una inhibición en la expresión de E-cadherina, marcador molecular del fenotipo epitelial.

X. PERSPECTIVAS

Como parte de las perspectivas de este trabajo de tesis, se propone utilizar un antagonista específico para GHSR-1a o silenciamiento génico mediante siRNA con el objetivo de confirmar que los efectos observados en la proliferación y migración celular son mediados directamente por este receptor. Asimismo, se plantea dilucidar los mecanismos moleculares involucrados en la respuesta a ghrelina acilada utilizando la técnica de Western Blot, enfocándose en la activación de vías de señalización relevantes como PI3K/AKT y MAPK/ERK. Finalmente, para validar los efectos observados en un contexto fisiológico más complejo, se propone realizar estudios *in vivo* mediante la generación de xenoinjertos en ratones inmunodeficientes, para después evaluar el crecimiento tumoral, la capacidad metastásica y la expresión de marcadores tumorales mediante inmunohistoquímica.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Aiello, N. M., Maddipati, R., Norgard, R. J., Balli, D., Li, J., Yuan, S., Yamazoe, T., Black, T., Sahmoud, A., Furth, E. E., Bar-Sagi, D., & Stanger, B. Z. (2018). EMT Subtype Influences Epithelial Plasticity and Mode of Cell Migration. *Developmental Cell*, 45(6), 681-695.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.05.027>
2. Aku, A. M., & Patil, A. (2022). Understanding cancer etiology. *AYU (An International Quarterly Journal Of Research In Ayurveda)*, 43(1), 1-7. https://doi.org/10.4103/ayu.ayu_318_21
3. Almalki, S. G. (2023). The pathophysiology of the cell cycle in cancer and treatment strategies using various cell cycle checkpoint inhibitors. *Pathology - Research And Practice*, 251, 154854. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154854>
4. Anderson, K. C., Hasan, F., Grammer, E. E., & Kranz, S. (2023). Endogenous Ghrelin Levels and Perception of Hunger: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Advances In Nutrition*, 14(5), 1226-1236. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.07.011>
5. Anggorowati, N., Kurniasari, C. R., Damayanti, K., Cahyanti, T., Widodo, I., Ghozali, A., Romi, M. M., Sari, D. C. R., & Arfian, N. (2017). Histochemical and Immunohistochemical Study of α -SMA, Collagen, and PCNA in Epithelial Ovarian Neoplasm. *PubMed*, 18(3), 667-671. <https://doi.org/10.22034/apjcp.2017.18.3.667>
6. ATCC. (s.f.). PC-3 (ATCC® CRL-1435™) [Homo sapiens, prostate]. American Type Culture Collection. <https://www.atcc.org/products/crl-1435>
7. Auchus, R. J., & Sharifi, N. (2019). Sex Hormones and Prostate Cancer. *Annual Review Of Medicine*, 71(1), 33-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051418-060357>
8. Baldanzi, G., Filigheddu, N., Cutrupi, S., Catapano, F., Bonissoni, S., Fubini, A., Malan, D., Baj, G., Granata, R., Broglio, F., Papotti, M., Surico, N., Bussolino, F., Isgaard, J., Deghenghi, R., Sinigaglia, F., Prat, M., Muccioli, G., Ghigo, E., & Graziani, A. (2002). Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *The Journal Of Cell Biology*, 159(6), 1029-1037. <https://doi.org/10.1083/jcb.200207165>
9. Bao, X., & Fukuda, M. (2010). A Tumor Suppressor Function of Laminin-Binding α -Dystroglycan. *Methods In Enzymology On CD-ROM/Methods In Enzymology*, 387-396. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(10\)79022-4](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(10)79022-4)
10. Belkahla, S., Nahvi, I., Biswas, S., Nahvi, I., & Amor, N. B. (2022). Advances and development of prostate cancer, treatment, and strategies: A systemic review. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.991330>

11. Bergengren, O., Pekala, K. R., Matsoukas, K., Fainberg, J., Mungovan, S. F., Bratt, O., Bray, F., Brawley, O., Luckenbaugh, A. N., Mucci, L., Morgan, T. M., & Carlsson, S. V. (2023). 2022 Update on Prostate Cancer Epidemiology and Risk Factors—A Systematic Review. *European Urology*, 84(2), 191-206. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2023.04.021>
12. Berr, A. L., Wiese, K., Santos, G. D., Koch, C. M., Anekalla, K. R., Kidd, M., Davis, J. M., Cheng, Y., Hu, Y., & Ridge, K. M. (2023). Vimentin is required for tumor progression and metastasis in a mouse model of non–small cell lung cancer. *Oncogene*, 42(25), 2074-2087. <https://doi.org/10.1038/s41388-023-02703-9>
13. Bonollo, F., Thalmann, G. N., Julio, M. K., & Karkampouna, S. (2020). The Role of Cancer-Associated Fibroblasts in Prostate Cancer Tumorigenesis. *Cancers*, 12(7), 1887. <https://doi.org/10.3390/cancers12071887>
14. Brawer M. K. (2005). Prostatic intraepithelial neoplasia: an overview. *Reviews in urology*, 7 Suppl 3(Suppl 3), S11–S18.
15. Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-23-0411>
16. Budczies, J., Von Winterfeld, M., Klauschen, F., Bockmayr, M., Lennerz, J. K., Denkert, C., Wolf, T., Warth, A., Dietel, M., Anagnostopoulos, I., Weichert, W., Wittschieber, D., & Stenzinger, A. (2015). The landscape of metastatic progression patterns across major human cancers. *Oncotarget*, 6(1), 570-583. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2677>
17. Bukhari, S. N. A. (2022). An insight into the multifunctional role of ghrelin and structure activity relationship studies of ghrelin receptor ligands with clinical trials. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 235, 114308. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114308>
18. Cahova, M. (2015). Regulation of autophagy in insulin resistance and type 2 diabetes. En M. A. Hayat (Ed.), *Autophagy: Cancer, other pathologies, inflammation, immunity, infection, and aging* (pp. 213–235). Academic Press.
19. Casas, E., Kim, J., Bendesky, A., Ohno-Machado, L., Wolfe, C. J., & Yang, J. (2011). Snail2 is an Essential Mediator of Twist1-Induced Epithelial Mesenchymal Transition and Metastasis. *Cancer Research*, 71(1), 245-254. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-10-2330>
20. Cassoni, P., Allia, E., Marrocco, T., Ghè, C., Ghigo, E., Muccioli, G., & Papotti, M. (2006). Ghrelin and cortistatin in lung cancer: Expression of peptides and related receptors in human primary tumors and in vitro effect on the H345 small cell carcinoma cell line. *Journal Of Endocrinological Investigation*, 29(9), 781-790. <https://doi.org/10.1007/bf03347371>
21. Cassoni, P., Ghe, C., Marrocco, T., Tarabra, E., Allia, E., Catapano, F., Deghenghi, R., Ghigo, E., Papotti, M., & Muccioli, G. (2004). Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *European Journal Of Endocrinology*, 173-184. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1500173>
22. Cassoni, P., Papotti, M., Ghe, C., Catapano, F., Sapino, A., Graziani, A., Deghenghi, R., Reissmann, T., Ghigo, E., & Muccioli, G. (2001). Identification,

- Characterization, and Biological Activity of Specific Receptors for Natural (Ghrelin) and Synthetic Growth Hormone Secretagogues and Analogs in Human Breast Carcinomas and Cell Lines¹. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(4), 1738-1745.
<https://doi.org/10.1210/jcem.86.4.7402>
23. Chen, J., Huang, S., Chen, C., Tsai, C., Yeh, W., Chou, S., Hsieh, W., & Lu, D. (2011). Ghrelin induces cell migration through GHS-R, CaMKII, AMPK, and NF-κB signaling pathway in glioma cells. *Journal Of Cellular Biochemistry*, 112(10), 2931-2941. <https://doi.org/10.1002/jcb.23209>
 24. Chen, Z., Fang, Z., & Ma, J. (2020). Regulatory mechanisms and clinical significance of vimentin in breast cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 111068. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111068>
 25. Cheung, C. T., Bendris, N., Paul, C., Hamieh, A., Anouar, Y., Hahne, M., Blanchard, J. M., & Lemmers, B. (2015). Cyclin A2 modulates EMT via β-catenin and phospholipase C pathways. *Carcinogenesis*, 36(8), 914–924. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv069>
 26. Davis, T. R., Pierce, M. R., Novak, S. X., & Hougland, J. L. (2021). Ghrelin octanoylation by ghrelin O-acyltransferase: protein acylation impacting metabolic and neuroendocrine signalling. *Open Biology*, 11(7). <https://doi.org/10.1098/rsob.210080>
 27. Delhanty, P. J. D., Van Koetsveld, P. M., Gauna, C., Van de Zande, B., Vitale, G., Hofland, L. J., & Van Der Lely, A. J. (2007). Ghrelin and its unacylated isoform stimulate the growth of adrenocortical tumor cells via an anti-apoptotic pathway. *AJP Endocrinology And Metabolism*, 293(1), E302-E309. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00377.2006>
 28. Delporte, C. (2013). Structure and Physiological Actions of Ghrelin. *Scientifica*, 2013, 1-25. <https://doi.org/10.1155/2013/518909>
 29. Díaz-Lezama, N., Hernández-Elvira, M., Sandoval, A., Monroy, A., Felix, R., & Monjaraz, E. (2010). Ghrelin inhibits proliferation and increases T-type Ca²⁺ channel expression in PC-3 human prostate carcinoma cells. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 403(1), 24-29. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.10.100>
 30. Duxbury, M. S., Waseem, T., Ito, H., Robinson, M. K., Zinner, M. J., Ashley, S. W., & Whang, E. E. (2003). Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 309(2), 464-468. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.08.024>
 31. El-Kott, A. F., Shati, A. A., Al-Kahtani, M. A., & Alqahtani, S. (2019). Acylated Ghrelin Renders Chemosensitive Ovarian Cancer Cells Resistant to Cisplatin Chemotherapy via Activation of the PI3K/Akt/mTOR Survival Pathway. *Analytical Cellular Pathology*, 2019, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2019/9627810>
 32. Fares, J., Fares, M. Y., Khachfe, H. H., Salhab, H. A., & Fares, Y. (2020). Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduction And Targeted Therapy*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0134-x>

33. Farhat, S., Shuaib, A., Bukhari, S. M. S., Shah, F. A., Naseeb, I. K., Ahmad, S., Alamoudi, M. K., & Shah, M. (2025). Ghrelin's modulation of growth hormone secretagogue receptors in primary glioblastoma and meningioma: A comprehensive in-vitro study. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 751, 151397. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2025.151397>
34. Fritz, E. M., Singewald, N., & De Bundel, D. (2020). The Good, the Bad and the Unknown Aspects of Ghrelin in Stress Coping and Stress-Related Psychiatric Disorders. *Frontiers In Synaptic Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2020.594484>
35. Fung, J. N. T., Seim, I., Wang, D., Obermair, A., Chopin, L. K., & Chen, C. (2010). Expression and In Vitro Functions of the Ghrelin Axis in Endometrial Cancer. *Hormones And Cancer*, 1(5), 245-255. <https://doi.org/10.1007/s12672-010-0047-1>
36. Gahete, M. D., Rincón-Fernández, D., Villa-Osaba, A., Hormaechea-Agulla, D., Ibáñez-Costa, A., Martínez-Fuentes, A. J., Gracia-Navarro, F., Castaño, J. P., & Luque, R. M. (2013). Ghrelin gene products, receptors, and GOAT enzyme: biological and pathophysiological insight. *Journal Of Endocrinology*, 220(1), R1-R24. <https://doi.org/10.1530/joe-13-0391>
37. Gallagher, E. J., & LeRoith, D. (2010). Insulin, Insulin Resistance, Obesity, and Cancer. *Current Diabetes Reports*, 10(2), 93-100. <https://doi.org/10.1007/s11892-010-0101-y>
38. Ghe, C., Cassoni, P., Catapano, F., Marrocco, T., Deghenghi, R., Ghigo, E., Muccioli, G., & Papotti, M. (2002). The Antiproliferative Effect of Synthetic Peptidyl GH Secretagogues in Human CALU-1 Lung Carcinoma Cells. *Endocrinology*, 143(2), 484-491. <https://doi.org/10.1210/endo.143.2.8654>
39. Guo, Y., Pan, W., Liu, S., Shen, Z., Xu, Y., & Hu, L. (2020). ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis (Review). *Experimental And Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8454>
40. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31-46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-21-1059>
41. Hanselmann, R. G., & Welter, C. (2016). Origin of Cancer: An Information, Energy, and Matter Disease. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00121>
42. Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal Of Cancer Research And Practice*, 4(4), 127-129. <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>
43. Hera BioLabs. (2024). PC3 Cell Line. <https://herabiolabs.com/pc3-cell-line/>.
44. Hormaechea-Agulla, D., Gahete, M. D., Jiménez-Vacas, J. M., Gómez-Gómez, E., Ibáñez-Costa, A., L-López, F., Rivero-Cortés, E., Sarmiento-Cabral, A., Valero-Rosa, J., Carrasco-Valiente, J., Sánchez-Sánchez, R., Ortega-Salas, R., Moreno, M. M., Tsomaia, N., Swanson, S. M., Culler, M. D., Requena, M. J., Castaño, J. P., & Luque, R. M. (2017). The oncogenic role of the In1-ghrelin splicing variant in prostate cancer aggressiveness. *Molecular Cancer*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0713-9>

45. Hoxhaj, G., & Manning, B. D. (2019). The PI3K–AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nature Reviews. Cancer*, 20(2), 74-88. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0216-7>
46. Huang, Y., Hong, W., & Wei, X. (2022). The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis. *Journal Of Hematology & Oncology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01347-8>
47. Humphrey, P. A., & Andriole, G. L. (2010). Prostate cancer diagnosis. *Missouri medicine*, 107(2), 107–112.
48. James, S. L., Abate, D., Abate, K. H., Abay, S. M., Abbafati, C., Abbasi, N., Abbastabar, H., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abdollahpour, I., Abdulkader, R. S., Abebe, Z., Abera, S. F., Abil, O. Z., Abraha, H. N., Abu-Raddad, L. J., Abu-Rmeileh, N. M. E., Accrombessi, M. M. K., . . . Murray, C. J. L. (2018). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 392(10159), 1789-1858. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32279-7)
49. Jeffery, P. L., Murray, R. E., Yeh, A. H., McNamara, J. F., Duncan, R. P., Francis, G. D., Herington, A. C., & Chopin, L. K. (2005). Expression and function of the ghrelin axis, including a novel preproghrelin isoform, in human breast cancer tissues and cell lines. *Endocrine Related Cancer*, 12(4), 839-850. <https://doi.org/10.1677/erc.1.00984>
50. Jeffery, P., Herington, A., & Chopin, L. (2002). Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *Journal Of Endocrinology*, 172(3), R7-11. <https://doi.org/10.1677/joe.0.172r007>
51. Jiao, Z., & Luo, Q. (2022). Molecular Mechanisms and Health Benefits of Ghrelin: A Narrative Review. *Nutrients*, 14(19), 4191. <https://doi.org/10.3390/nu14194191>
52. Keerthana, C. K., Rayginia, T. P., Shifana, S. C., Anto, N. P., Kalimuthu, K., Isakov, N., & Anto, R. J. (2023). The role of AMPK in cancer metabolism and its impact on the immunomodulation of the tumor microenvironment. *Frontiers In Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1114582>
53. Kotta, A. S., Kelling, A. S., Corleto, K. A., Sun, Y., & Giles, E. D. (2022). Ghrelin and Cancer: Examining the Roles of the Ghrelin Axis in Tumor Growth and Progression. *Biomolecules*, 12(4), 483. <https://doi.org/10.3390/biom12040483>
54. Kufe, D. W., Pollock, R. E., Weichselbaum, R. R., et al. (Eds.). (2003). *Holland-Frei cancer medicine (6th ed.)*. BC Decker. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12354/>
55. La Manna, F., Karkampouna, S., Zoni, E., De Menna, M., Hensel, J., Thalmann, G. N., & Julio, M. K. (2018). Metastases in Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine*, 9(3), a033688. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033688>
56. Lai, X., Li, Q., Wu, F., Lin, J., Chen, J., Zheng, H., & Guo, L. (2020). Epithelial-Mesenchymal Transition and Metabolic Switching in Cancer:

- Lessons From Somatic Cell Reprogramming. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00760>
57. Lanfranco, F., Baldi, M., Cassoni, P., Bosco, M., Ghé, C., & Muccioli, G. (2007). Ghrelin and Prostate Cancer. *Vitamins And Hormones*, 301-324. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(06\)77013-3](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(06)77013-3)
 58. Ławnicka, H., Meleń-Mucha, G., Motylewska, E., Mucha, S., & Stępień, H. (2012). Modulation of ghrelin axis influences the growth of colonic and prostatic cancer cells in vitro. *Pharmacological Reports*, 64(4), 951-959. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(12\)70890-3](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(12)70890-3)
 59. Lawrence, M. S., Stojanov, P., Mermel, C. H., Robinson, J. T., Garraway, L. A., Golub, T. R., Meyerson, M., Gabriel, S. B., Lander, E. S., & Getz, G. (2014). Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*, 505(7484), 495-501. <https://doi.org/10.1038/nature12912>
 60. Leslie, S. W., Soon-Sutton, T. L., & Skelton, W. P. (2024). Prostate cancer. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470550/>
 61. Lewandowska, A., Rudzki, M., Rudzki, S., Lewandowski, T., & Laskowska, B. (2019). Environmental risk factors for cancer – review paper. *Annals Of Agricultural And Environmental Medicine*, 26(1), 1-7. <https://doi.org/10.26444/aaem/94299>
 62. Li, H., Zhang, X., & Feng, L. (2021). Ghrelin Regulates Cyclooxygenase-2 Expression and Promotes Gastric Cancer Cell Progression. *Computational And Mathematical Methods In Medicine*, 2021, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2021/5576808>
 63. Li, Y., Lu, X., Yang, X., Wang, H., Geng, H., Gong, G., Zhan, Y., Kim, H. J., & Yang, Z. (2019). GHRL Gene Leu72Met Polymorphism and Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis Involving 8,194 Participants. *Frontiers In Endocrinology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00559>
 64. Lien, G., Lin, C., Yang, Y., Wu, M., & Chen, B. (2016). Ghrelin induces colon cancer cell proliferation through the GHS-R, Ras, PI3K, Akt, and mTOR signaling pathways. *European Journal Of Pharmacology*, 776, 124-131. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.02.044>
 65. Lin, T., & Hsiao, M. (2017). Ghrelin and cancer progression. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Reviews On Cancer*, 1868(1), 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.02.002>
 66. Lin, T., Liu, Y., Chan, Y., Su, C., Lin, Y., Hsu, S., Yang, C., & Hsiao, M. (2015). Ghrelin promotes renal cell carcinoma metastasis via Snail activation and is associated with poor prognosis. *The Journal Of Pathology*, 237(1), 50-61. <https://doi.org/10.1002/path.4552>
 67. Lou, Y., Jiang, Y., Liang, Z., Liu, B., Li, T., & Zhang, D. (2021). Role of RhoC in cancer cell migration. *Cancer Cell International*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02234-x>
 68. Ma, Y., Zhang, H., Guo, W., & Yu, L. (2022). Potential role of ghrelin in the regulation of inflammation. *The FASEB Journal*, 36(9). <https://doi.org/10.1096/fj.202200634r>

69. Martínez-Alonso, D., & Malumbres, M. (2020b). Mammalian cell cycle cyclins. *Seminars In Cell And Developmental Biology*, 107, 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.03.009>
70. Martins, L., Fernández-Mallo, D., Novelle, M. G., Vázquez, M. J., Tena-Sempere, M., Nogueiras, R., López, M., & Diéguez, C. (2012). Hypothalamic mTOR Signaling Mediates the Orexigenic Action of Ghrelin. *PLoS ONE*, 7(10), e46923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046923>
71. Merino-Casallo, F., Gomez-Benito, M. J., Hervas-Raluy, S., & Garcia-Aznar, J. M. (2022). Unravelling cell migration: defining movement from the cell surface. *Cell Adhesion & Migration*, 16(1), 25-64. <https://doi.org/10.1080/19336918.2022.2055520>
72. Migliaccio, G., Ferraro, R., Wang, Z., Cristini, V., Dogra, P., & Caserta, S. (2023). Exploring Cell Migration Mechanisms in Cancer: From Wound Healing Assays to Cellular Automata Models. *Cancers*, 15(21), 5284. <https://doi.org/10.3390/cancers15215284>
73. Montalto, F. I., & De Amicis, F. (2020). Cyclin D1 in Cancer: A Molecular Connection for Cell Cycle Control, Adhesion and Invasion in Tumor and Stroma. *Cells*, 9(12), 2648. <https://doi.org/10.3390/cells9122648>
74. Murata, M., Okimura, Y., Iida, K., Matsumoto, M., Sowa, H., Kaji, H., Kojima, M., Kangawa, K., & Chihara, K. (2002). Ghrelin Modulates the Downstream Molecules of Insulin Signaling in Hepatoma Cells. *Journal Of Biological Chemistry*, 277(7), 5667-5674. <https://doi.org/10.1074/jbc.m103898200>
75. Murray, T. B. J. (2021). The Pathogenesis of Prostate Cancer. *En Prostate Cancer* (pp. 29-42). <https://doi.org/10.36255/exonpublications.prostatecancer.pathogenesis.2021>
76. Muta, H., Sugita, Y., Furuta, T., Shiimura, Y., Ohshima, K., Nakashima, K., Sato, K., Morioka, M., Abe, H., Nozawa, T., Fujii, Y., & Kakita, A. (2020). Expression of the ghrelin/growth hormone secretagogue receptor axis and its functional role in promoting tumor growth in primary central nervous system lymphomas. *Neuropathology*, 40(3), 232-239. <https://doi.org/10.1111/neup.12634>
77. Na, T., Schecterson, L., Mendonsa, A. M., & Gumbiner, B. M. (2020). The functional activity of E-cadherin controls tumor cell metastasis at multiple steps. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 117(11), 5931-5937. <https://doi.org/10.1073/pnas.1918167117>
78. Novikov, N. M., Zolotaryova, S. Y., Gautreau, A. M., & Denisov, E. V. (2021). Mutational drivers of cancer cell migration and invasion. *British Journal Of Cancer*, 124(1), 102-114. <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01149-0>
79. Pellarin, I., Dall'Acqua, A., Favero, A., Segatto, I., Rossi, V., Crestan, N., Karimbayli, J., Belletti, B., & Baldassarre, G. (2025). Cyclin-dependent protein kinases and cell cycle regulation in biology and disease. *Signal Transduction And Targeted Therapy*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02080-z>
80. Pena-Leon, V., Perez-Lois, R., & Seoane, L. M. (2020). mTOR Pathway is Involved in Energy Homeostasis Regulation as a Part of the Gut–Brain Axis. *International Journal Of Molecular Sciences*, 21(16), 5715. <https://doi.org/10.3390/ijms21165715>

81. Qin, J., Cai, Y., Xu, Z., Ming, Q., Ji, S., Wu, C., Zhang, H., Mao, C., Shen, D., Hirata, K., Ma, Y., Yan, W., Zhang, Y., & Shao, Z. (2022). Molecular mechanism of agonism and inverse agonism in ghrelin receptor. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-27975-9>
82. Quesne, J. P. L., Spriggs, K. A., Bushell, M., & Willis, A. E. (2009). Dysregulation of protein synthesis and disease. *The Journal Of Pathology*, 220(2), 140-151. <https://doi.org/10.1002/path.2627>
83. Rak-Mardyła, A., & Gregoraszczyk, E. L. (2010). Effect of ghrelin on proliferation, apoptosis and secretion of progesterone and hCG in the placental JEG-3 cell line. *Reproductive Biology*, 10(2), 159-165. [https://doi.org/10.1016/s1642-431x\(12\)60058-8](https://doi.org/10.1016/s1642-431x(12)60058-8)
84. Rebbeck, T. R., Devesa, S. S., Chang, B., Bunker, C. H., Cheng, I., Cooney, K., Eeles, R., Fernandez, P., Giri, V. N., Gueye, S. M., Haiman, C. A., Henderson, B. E., Heyns, C. F., Hu, J. J., Ingles, S. A., Isaacs, W., Jalloh, M., John, E. M., Kibel, A. S., . . . Zeigler-Johnson, C. M. (2013). Global Patterns of Prostate Cancer Incidence, Aggressiveness, and Mortality in Men of African Descent. *Prostate Cancer*, 2013, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2013/560857>
85. Rebello, R. J., Oing, C., Knudsen, K. E., Loeb, S., Johnson, D. C., Reiter, R. E., Gillessen, S., Van Der Kwast, T., & Bristow, R. G. (2021). Prostate cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>
86. Roskoski, R. (2012). ERK1/2 MAP kinases: Structure, function, and regulation. *Pharmacological Research*, 66(2), 105-143. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.04.005>
87. Saranyutanon, S., Deshmukh, S. K., Dasgupta, S., Pai, S., Singh, S., & Singh, A. P. (2020). Cellular and Molecular Progression of Prostate Cancer: Models for Basic and Preclinical Research. *Cancers*, 12(9), 2651. <https://doi.org/10.3390/cancers12092651>
88. Sarrand, J., & Soyfoo, M. S. (2023). Involvement of Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) in Autoimmune Diseases. *International Journal Of Molecular Sciences*, 24(19), 14481. <https://doi.org/10.3390/ijms241914481>
89. Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*, 168(6), 960-976. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>
90. Sekhoacha, M., Riet, K., Motloun, P., Gumenku, L., Adegoke, A., & Mashele, S. (2022). Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. *Molecules*, 27(17), 5730. <https://doi.org/10.3390/molecules27175730>
91. Seyfried, T. N., & Huysentruyt, L. C. (2012). On the Origin of Cancer Metastasis. *Critical ReviewsTM In Oncogenesis*, 18(1-2), 43-73. <https://doi.org/10.1615/critrevoncog.v18.i1-2.40>
92. Shen, M. M., & Abate-Shen, C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes & Development*, 24(18), 1967-2000. <https://doi.org/10.1101/gad.1965810>

93. Sivaraman, A., & Bhat, K. R. S. (2017). Screening and Detection of Prostate Cancer—Review of Literature and Current Perspective. *Indian Journal Of Surgical Oncology*, 8(2), 160-168. <https://doi.org/10.1007/s13193-016-0584-3>
94. Soleyman-Jahi, S., Sadeghi, F., Khoshbin, A. P., Khani, L., Roosta, V., & Zendehtdel, K. (2019). Attribution of Ghrelin to Cancer; Attempts to Unravel an Apparent Controversy. *Frontiers In Oncology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01014>
95. Spiridon, I., Ciobanu, D., Giușcă, S., & Căruntu, I. (2021). Ghrelin and its role in gastrointestinal tract tumors (Review). *Molecular Medicine Reports*, 24(3). <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12302>
96. Stuelten, C. H., Parent, C. A., & Montell, D. J. (2018). Cell motility in cancer invasion and metastasis: insights from simple model organisms. *Nature Reviews. Cancer*, 18(5), 296-312. <https://doi.org/10.1038/nrc.2018.15>
97. Swerdloff, R. S., Dudley, R. E., Page, S. T., Wang, C., & Salameh, W. A. (2017). Dihydrotestosterone: Biochemistry, Physiology, and Clinical Implications of Elevated Blood Levels. *Endocrine Reviews*, 38(3), 220-254. <https://doi.org/10.1210/er.2016-1067>
98. Thomas, A. S., Sassi, M., Angelini, R., Morgan, A. H., & Davies, J. S. (2022). Acylation, a Conductor of Ghrelin Function in Brain Health and Disease. *Frontiers In Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.831641>
99. Tian, C., Zhang, L., Hu, D., & Ji, J. (2013). Ghrelin induces gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion through GHS-R/NF- κ B signaling pathway. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 382(1-2), 163-172. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1731-6>
100. Tian, P. Y., & Fan, X. M. (2012). The proliferative effects of ghrelin on human gastric cancer AGS cells. *Journal Of Digestive Diseases*, 13(9), 453-458. <https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2012.00616.x>
101. Tran, D. D., Corsa, C. A. S., Biswas, H., Aft, R. L., & Longmore, G. D. (2011). Temporal and Spatial Cooperation of Snail1 and Twist1 during Epithelial–Mesenchymal Transition Predicts for Human Breast Cancer Recurrence. *Molecular Cancer Research*, 9(12), 1644-1657. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-11-0371>
102. Tsubouchi, H., Onomura, H., Saito, Y., Yanagi, S., Miura, A., Matsuo, A., Matsumoto, N., & Nakazato, M. (2017). Ghrelin does not influence cancer progression in a lung adenocarcinoma cell line. *Endocrine Journal*, 64(Suppl.), S41-S46. <https://doi.org/10.1507/endocrj.64.s41>
103. Uxa, S., Castillo-Binder, P., Kohler, R., et al. (2021). Ki-67 gene expression. *Cell Death & Differentiation*, 28, 3357–3370. <https://doi.org/10.1038/s41418-021-00823-x>
104. Volante, M., Allia, E., Fulcheri, E., Cassoni, P., Ghigo, E., Muccioli, G., & Papotti, M. (2003). Ghrelin in Fetal Thyroid and Follicular Tumors and Cell Lines. *American Journal Of Pathology*, 162(2), 645-654. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63858-8](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63858-8)
105. Wang, Y., Zhao, R., & Zhe, H. (2015). The emerging role of CaMKII in cancer. *Oncotarget*, 6(14), 11725-11734. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3955>

106. Waseem, T., Duxbury, M., Ashley, S. W., & Robinson, M. K. (2013b). Ghrelin promotes intestinal epithelial cell proliferation through PI3K/Akt pathway and EGFR trans-activation both converging to ERK 1/2 phosphorylation. *Peptides*, 52, 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.11.021>
107. Waseem, T., Javaid-Ur-Rehman, N., Ahmad, F., Azam, M., & Qureshi, M. A. (2008). Role of ghrelin axis in colorectal cancer: A novel association. *Peptides*, 29(8), 1369-1376. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.03.020>
108. Wasim, S., Lee, S., & Kim, J. (2022). Complexities of Prostate Cancer. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(22), 14257. <https://doi.org/10.3390/ijms232214257>
109. World Health Organization: WHO. (2025, 3 febrero). Cáncer. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
110. Wu, J., Jiang, J., Chen, B., Wang, K., Tang, Y., & Liang, X. (2020). Plasticity of cancer cell invasion: Patterns and mechanisms. *Translational Oncology*, 14(1), 100899. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100899>
111. Wu, W., You, R., Cheng, C., Lee, M., Lin, T., & Hu, C. (2017). Snail collaborates with EGR-1 and SP-1 to directly activate transcription of MMP 9 and ZEB1. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18101-7>
112. Wu, Z., Shi, J., Lai, C., Li, K., Li, K., Li, Z., Tang, Z., Liu, C., & Xu, K. (2021). Clinicopathological significance and prognostic value of cancer-associated fibroblasts in prostate cancer patients. *Urologic Oncology Seminars And Original Investigations*, 39(7), 433.e17-433.e23. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2021.05.004>
113. Xiao, X., Bi, M., Jiao, Q., Chen, X., Du, X., & Jiang, H. (2020). A new understanding of GHSR1a— independent of ghrelin activation. *Ageing Research Reviews*, 64, 101187. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101187>
114. Yeh, A. H., Jeffery, P. L., Duncan, R. P., Herington, A. C., & Chopin, L. K. (2005). Ghrelin and a Novel Preproghrelin Isoform Are Highly Expressed in Prostate Cancer and Ghrelin Activates Mitogen-Activated Protein Kinase in Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*, 11(23), 8295-8303. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-05-0443>
115. Yin, Y., Li, Y., & Zhang, W. (2014). The Growth Hormone Secretagogue Receptor: Its Intracellular Signaling and Regulation. *International Journal Of Molecular Sciences*, 15(3), 4837-4855. <https://doi.org/10.3390/ijms15034837>
116. Yuan, J. P., Wang, L. W., Qu, A. P., Chen, J. M., Xiang, Q. M., Chen, C., et al. (2015). Quantum dots-based quantitative and in situ multiple imaging on Ki67 and cytokeratin to improve Ki67 assessment in breast cancer. *PLoS ONE*, 10(4), e0122734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122734>
117. Zhang, Q., Ni, Y., Wang, S., Agbana, Y. L., Han, Q., Liu, W., Bai, H., Yi, Z., Yi, X., Zhu, Y., Sai, B., Yang, L., Shi, Q., Kuang, Y., Yang, Z., & Zhu, Y. (2021). G6PD upregulates Cyclin E1 and MMP9 to promote clear cell renal cell carcinoma progression. *International Journal Of Medical Sciences*, 19(1), 47-64. <https://doi.org/10.7150/ijms.58902>