



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Facultad de Medicina
Licenciatura en Biomedicina

Instituto de Fisiología
Laboratorio de Cáncer y Comunicación Intercelular

Receptores Purinérgicos en Cáncer de Mama, Próstata y Pulmón

Tesis presentada por

Jose Manuel Bahena Sánchez

para obtener el grado de

Licenciado en Biomedicina

Director de tesis

Dr. Fabian Galindo Ramírez

Puebla de Zaragoza, febrero del 2023

Índice General

Índice General.....	1
Resumen	2
Abreviaturas.....	3
1. Introducción.....	5
2. Justificación	9
3. Antecedentes Generales.....	12
3.1 Señalización purinérgica	14
3.1.1 Receptores P1	21
3.1.2 Receptores P2X	22
3.1.3 Receptor P2Y.....	26
3.2 Fisiología y patología purinérgica	28
4. Cáncer y señalización purinérgica.....	33
4.1 Receptores de Adenosina en Cáncer	33
4.2 Receptores de ATP en cáncer.....	35
4.3 Señal purinérgica en el microambiente tumoral.....	37
5. Cáncer de pulmón.....	43
5.1 Fisiopatología purinérgica en cáncer.....	47
6. Cáncer de próstata	53
6.1 Fisiopatología purinérgica en cáncer de próstata	57
7. Cáncer de mama	61
7.1 Fisiopatología purinérgica en cáncer.....	63
8. Conclusión.....	71
9. Perspectiva.....	75
10. Bibliografía.....	78

Resumen

A nivel mundial y en la sociedad mexicana el cáncer de mama, próstata y pulmón representan una causa preocupante en términos de tasa de incidencia y morbimortalidad, sumado los diversos factores etiológicos que distingue a la predisposición genética, la edad y los hábitos. La célula neoplásica es pleomórfica para diferentes procesos celulares, hábil para adaptarse a diferentes condiciones permitiendo una selección clonal ante la supervivencia celular, estos fenómenos son respuestas de múltiples vías de señalización y acción de diversos metabolitos. Uno de esos metabolitos corresponde al ATP y derivados purinergicos. Desde que Rapaport en 1983 reportó la actividad antineoplásica del ATP en adenocarcinoma de páncreas y de colon a través de la inhibición de la fase S del ciclo celular, se colocó como objetivo de interpretación purinérgica en procesos que desencadenan fenómenos que afectan el tumorigénesis, metabolismo celular, la adhesión celular, migración, diferenciación, proliferación celular, angiogénesis y su participación en MT. Tal es el caso que al activar $P2X_7$ permite la diferenciación y apoptosis de células neoplásicas mediante el reclutamiento de proteínas cinasas p38/MAPK y SAPK/JNK. La importancia de vías ERK1/2, MAPK/p38, PI3K, AKT-mTOR, Bax/Bcl2 y vías secundarias a consecuencia de la activación de purinoreceptores y ectoenzimas especialmente $P2X_7$, $P2X_4$, $P2Y_1$, $P2Y_2$, CD73 y CD39, para segundas mensajeros como Snail, Slug, Src, c-Myc, D1, CDK4, FOX, β -catenina, ROS, caspasas, MMPS, E-cadherina y factores de crecimiento que regulan la actividad apoptótica, la detención del ciclo celular, las fluctuaciones en Ca^{+2} intracelular/extracelular para efecto de segundos mensajeros, la transición epitelio-mesenquimatoso, la angiogénesis, la generación de NLRP3 y la actividad prooncogénica. Está clara la ubicuidad y pleiotropía de la señal purinérgica en homeostasis y la patología para nuestro interés en cáncer de mama, próstata y pulmón. Permitiendo puntos de partida en la interpretación de las respuestas purinérgicas y orientarlas hacia nuevas terapias o complementar ya existentes en el tratamiento antitumoral.

Abreviaturas

ATP: adenosín trifosfato	ARN: ácido ribonucleico	ATX: autoxina
α, β meATP: α , β -metilenoATP	ARNm: ARN mensajero	LPA: ácido lisofosfatídico
Bz-ATP: benzoilbenzoil-ATP	miARN: microARN	Flt-1: anticuerpo monoclonal FTL
ATP-γS: adenosín- γ -tiotriofosfato	NO: óxido nítrico	ABC: transportadores dependientes de ATP
ADP: adenosín difosfato	iNANC: inhibidor NANC	AR: receptor de andrógenos
AMP: adenosín monofosfato	CASP o Casp: caspasa	CXC4R: receptor de quimiocina 4
AMPc: monofosfato de adenosina cíclico	DAG: diacilglicerol	ER: receptor de estrógenos
AC: adenilil o adenilato ciclasa	IP3: inositol 1,4,5-trifosfato	PANX o Panx: panexina
ADO o Ado: adenosina	PLC: fosfolipasa C	PR: receptor de progesterona
ART: ADP-ribosiltransferasa	PKC: proteína cinasa C	KDR: receptor de cinasa insertado en dominio
DATP: trifosfato de diadenosina	PKA: proteína cinasa A	P1: receptor de adenosina
UTP: uridina trifosfato	CDK: ciclina dependiente de cinasa	P2: receptor purinérgico
UTP-γS: uridina- γ -tiotriofosfato	CAMKII: calcio calmodulina cinasa II	P2X: receptor purinérgico subtipo X
UDP: uridina difosfato	MMP: metaloproteinasas	P2Y: receptor purinérgico subtipo Y
UDP-glucosa: uridina difosfato-glucosa	C5a: anafilotoxina C5a	CFTR: regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística
GTP: guanosina trifosfato	HGMB1: proteína 1 del grupo de alta movilidad	PPR: receptor de reconocimiento de patrones
TTP: tiamina pirofosfato	HIF-1α: factor 1- α inducible a hipoxia	GLUT-1: transportador de glucosa
CTP: citidina trifosfato	TFG-β1 o TFG-β: factor transformante β 1	RAGE: receptor para glicación avanzada en endoproducidos
NDPK: nucleósido difosfato cinasa o cinasa	VEGF: factor de crecimiento endotelial	SERCA2: sarco/retículoendoplasmico Ca ⁺² ATPasa
NAD+: nicotinamida adenina dinucleótido oxidado	EGF: factor de crecimiento epidérmico	SOCE: Entrada operada por Ca ⁺²
NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido	FGF-2: factor de crecimiento de fibroblastos 2	SOC: canales de almacenamiento operados por Ca ⁺²
GABA: ácido- γ -aminobutírico	NGF: factor de crecimiento nervioso	CaCC: canal de cloro dependiente de Ca ⁺²
GSK-3β: glucógeno sintetasa cinasa	BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro	ROCC: receptor operado por canales de Ca ⁺²
CD73: ecto-5'-nucleotidasa	I-CAM: molécula de adhesión intercelular 1	VDCC: canales de voltaje dependiente de Ca ⁺²
CD39: ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa	V-CAM: proteína de adhesión celular-vascular	TRPV: receptores transitorios sensibles a vanilooides
IFN-γ: interferón γ	PDGF: factor de crecimiento derivado de fibroblastos	NK: célula natural killer
IL-1β,6,8: interleucina-1 β ,6,8	E-MAP4: proteína asociada a microtúbulos equinodérmica 4	Treg: linfocito T regulador
TNF-α: factor de necrosis tumoral α	G-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos	IARC: Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
CTLA4: antígeno de Linfocito T citotóxico 4	GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos	
CXCL12: quimiocina 12	CaS: catepsina S	
ADN: ácido desoxirribonucleico		

OMS: Organización Mundial de la Salud

NSCLC: cáncer de pulmón de células no pequeñas

SCLC: cáncer de pulmón de células pequeñas

NANC: transmisión no adrenérgica-colinérgica

MT: microambiente tumoral

TME: transición epitelio-mesenquimatoso

EVs: vesículas extracelulares

FT: factor tisular

ROS o Ros: especies reactivas de oxígeno

BCa: cáncer de pulmón

TNBC: triple negativo BCa

PCa: cáncer de próstata

ME: matriz extracelular

μ M: micromolar

mM: milimolar

nM: nanomolar

Da: daltons

pH: potencial de hidrogeno

Kd: constante de disociación

S: segundos

1. Introducción

Un “crecimiento nuevo”, análogamente una forma de describir el término “neoplasia” como una masa anormal de tejido, con crecimiento celular excesivo y descoordinado, en relación con el tejido sano, que persiste de forma exagerada cuando cesan los estímulos que indujeron dicho cambio. Desencadenada por una serie de mutaciones adquiridas que afectan a una sola célula y su progenie, proporcionando una ventaja para supervivencia y crecimiento, que permiten proliferación excesiva e independiente de señales fisiológicas. El comportamiento biológico se basa, en esencia, en el componente parenquimatoso, pero su velocidad de crecimiento y propagación dependen de manera crítica del estroma. Confiriéndole propiedades fenotípicas que imparten las diversas alteraciones genómicas y epigenómicas. Desplegando ocho cambios fundamentales en su fisiología celular: la autosuficiencia de señales de crecimiento, insensibilidad a las señales inhibitorias de crecimiento, alteración del metabolismo celular, evasión de la apoptosis, potencial ilimitado de replicación, angiogénesis sostenida, la capacidad de invasión y evasión de la respuesta inmune del anfitrión. Estos cambios fisiológicos celulares puede ser consecuencia de la pérdida de regulación por mutaciones de oncogenes y genes de supresión tumoral producida por cascadas señalizadoras que sufren una reprogramación fisiológica. Kumar V., Abbas A. and Aster J (2021), mencionan que el cáncer resulta de una “reprogramación celular” ante procesos que implican una mayor proliferación y crecimiento celular, así como una disminuida o nula diferenciación y muerte celular, en contraste a células normales que poseen una regulación para las distintas fases del crecimiento y proliferación. La falta de diferenciación, o anaplasia, se considera un rasgo distintivo de malignidad, sumado con alteraciones morfológicas como pleomorfismo y una morfología nuclear anormal, el tumor evoluciona genéticamente durante su expansión y progresión bajo presión Darwiniana. Desde el principio toda célula anormal es genéticamente idéntica y desciende de una sola célula fundadora transformada. En la progresión tumoral, resulta una selección entre una gran cantidad de células que mueren por apoptosis, que durante este proceso se entabla una competición entre células neoplásicas por el acceso a nutrientes y nichos microambientales, aquellas seleccionadas dominan la masa tumoral para después ser reemplazados por otras subclonas. Como consecuencia, sus células anormales suelen mostrar una enorme heterogeneidad genética. La selección de las células más dotadas explica no solo la evolución natural del cáncer, sino también

de los cambios de la conducta tumoral tras el tratamiento. Una de las presiones selectivas más intensas son la quimioterapia y radioterapia, algunos tipos de cáncer desarrollan quimiorresistencia después del tratamiento, una posible causa puede ser la selección de subclonas celulares, quienes dotan de un genotipo modificado afable a la supervivencia celular.

El cáncer siendo la segunda causa de muerte en E.E. U.U., solo detrás de enfermedades cardiovasculares, se encuentra en un crecimiento en naciones desarrolladas y subdesarrolladas. La revisión epidemiológica posiciona al cáncer como una causa de preocupación en el sector salud a nivel mundial, actualmente existe una mayor tasa de incidencia presentada en la última década y cada vez la tasa se correlaciona con población joven. Factores genéticos y ambientales definen el progreso del cáncer. La polarización es apreciable tratándose del sexo, por ejemplo, en México solo existe dos polos que representan grupos de carácter alarmante en la sociedad: el cáncer de mama y el cáncer de próstata, se encuentran en la cúspide de la pirámide epidemiológica de la sociedad mexicana. De igual forma factores ambientales y hábitos en exceso, por ejemplo, en este último coloca al tabaquismo como el principal agente etiológico en cáncer de pulmón. En EE. UU., se estima que cada 40 de cada 100 hombres y 39 de cada 100 mujeres desarrollaran cáncer a lo largo de su vida (American. Cancer. Society., 2022). Y las probabilidades tienen su protagónico en la incidencia de cáncer en la población general y pueden diferir en los individuos debido a las variaciones como la exposición ambiental (tabaquismo), antecedentes familiares o susceptibilidad genética. La predisposición genética refleja principalmente la herencia de variaciones genéticas que confieren un riesgo de leve a moderado, junto con exposiciones compartidas a factores de estilo de vida/ambientales entre los miembros de la familia. Aquellos avances en el tratamiento, así como el diagnóstico oportuno de cáncer no denota un avance notorio, pues esto depende del tipo de cáncer y su estadio. El cáncer no constituye una enfermedad, sino muchos trastornos con una evolución natural y una repuesta terapéutica muy variada. Un mejor conocimiento de sus causas y de su patología profesará una esperanza ante la lucha contra el cáncer. Diversos esfuerzos para caracterizar esta patología y crear un panorama que explique los mecanismos fisiopatológicos, permitirá diseñar y planificar una estrategia terapéutica, tal es el caso de la inmunoterapia. Múltiples receptores y vías utilizan recursos de bloqueo, inhibición, competición, adyuvante en procesos tumorales que establezcan una terapia especializada con buenos resultados. La evolución generacional del cáncer ha permitido construir sistemas fisiopatológicos del proceso tumoral celular. En este caso, el

sistema purinérgico, apunta para ser una pieza más del panorama del proceso tumoral, un sistema compuesto de múltiples señales conformadas para receptores de membrana y definiendo mecanismos de cascada de señalización celular. Nucleótido y nucleósidos (ATP, ADP, UTP, UDP, adenosina, entre otros), por mucho tiempo se enfatizó su papel en el metabolismo celular como fuente/reserva energética (Burnstock G. , 2014). Desde su hallazgo como neurotransmisor y sus respectivos receptores cuyos componentes son poderosas señales exócrinas y endócrinas con funciones específicas en diversas partes del organismo permitieron desarrollar la estructura molecular, farmacológica, ontogénica y filogenética de receptores purinérgicos. El papel de los purinoreceptores es amplio, emergen en la regulación de funciones celulares donde se involucra el crecimiento, diferenciación y muerte celular, así como en secreción hormonal, inflamación, dolor y estrés, excluyendo procesos complejos (regeneración ósea y comportamiento que incluye aprendizaje, sueño, locomoción y memoria) (Burnstock., 2018). En células dañadas o estresadas por cambios en la presión osmótica y la deformación mecánica, responden liberando ATP al medio extracelular. El ATP puede ser liberado de diferentes maneras, por ejemplo, mecanismos inespecíficos y controlados en respuesta a diferentes estímulos, sean canales o transportadores de membrana (conexinas, panexinas, canales de maxioaniones, canales regulados por volumen y transportadores ABC, receptores purinérgicos y liberación mediada por vesículas) (Campos-Contreras ADR, Díaz-Muñoz M and Vázquez-Cuevas FG. , 2020).

En condiciones patológicas, en esencia, el cáncer posee altos niveles de ATP y el equilibrio dinámico entre ATP/adenosina produce un fenómeno procarcinogenico o anticancerígeno tanto en neoplasias como en líneas celulares de cáncer. Por otro lado, empezando por Rapaport en 1983 y sus efectos contra cáncer en ensayos con ADP/ATP, el resultado es una intervención en la fase S del ciclo celular de líneas celulares de adenocarcinoma pancreático, tumor primario pancreático, adenocarcinoma de colon, melanoma metastásico y tumor de glándula mamaria fibroblástica en concentraciones oscilantes entre 40-80 μM (Rapaport E., 1983). Ahora, se ha demostrado que receptores $P2Y_{1,2}$ modulan la proliferación tumoral, que el receptor $P2X_5$ media la diferenciación celular provocando una antiproliferación, mientras $P2X_7$ regula la muerte por apoptosis en células neoplásicas (Burnstock G. , 2006). La inhibición de la proliferación celular también se relacionó con la actividad del receptor $P2Y_6$, donde implica la entrada de Ca^{+2} operada por almacén (SOCE) y β -catenina. Las células neoplásicas poseen un alto contenido de

ATP, si se produce una reducción de la concentración intracelular en ratones deficientes en ecto-5'-nucleotidasa (CD73) demuestra una inhibición de la progresión tumoral, mientras que ectonucleósido trifosfato dihidrolasa vascular (CD39) promueve directamente el crecimiento celular. Estudios posteriores han demostrado una acción antineoplásica de nucleótidos extracelulares en cáncer colorrectal, leucemia, cáncer esofágico, células del tumor de ascitis de Ehrlich, cáncer de piel de células escamosas, cáncer de pulmón, cáncer de cuello uterino, células de hematoma H35, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, retinoblastoma, neuroblastoma, glioma y melanoma. (Burnstock G. y Di Virgilio F., 2013)

El sistema purinérgico es una vía que regula la homeostasis, ubicua pero cuya distribución es distinta en cada estirpe celular, expresando un conjunto dinámico de receptores purinérgicos y ectonucleosidasas, donde el resultado depende de diversos factores, así como fluctuaciones constantes en la proporción de los niveles extracelulares e intracelulares de ATP y adenosina. La señalización purinérgica es flexible y adaptable, el ATP liberado activa la comunicación paracrina y autocrina, dado que su hidrólisis genera una serie de moléculas de señalización adicional. Este prospecto puede ser crucial en la comunicación de célula a célula y más en la patología, en esencia, con enfoque en cáncer de mama, pulmón y próstata. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) estima a nivel mundial que 1 de cada 8 hombres y 1 de cada 11 mujeres mueren a causa de la enfermedad. El cáncer de mama representa el principal cáncer diagnosticado en la mujer, encima de cáncer colorrectal, cervicouterino, pulmonar y tiroideo. Para el hombre el cáncer de próstata y pulmón figuran casi un tercio tipológicamente del cáncer en el varón. (GLOBOCAN 2020). El perfil de México establece una perspectiva, según la OMS en 2020, define casi una sexta parte de nuevos casos para cáncer de mama, seguido de una séptima parte aproximadamente de cáncer de próstata. Y donde también la edad influye en la incidencia, independientemente de los nuevos métodos de diagnóstico han reducido su tasa considerablemente, no obstante, un estudio ha revelado un crecimiento exponencial del 140% en el número de nuevos casos del cáncer en adultos mayores entre los años de 2012 y 2035. Un 66.6 % de las muertes por cáncer ocurren en personas mayores a los 65 años. Estadísticas del GLOBOCAN en 2018, mencionan que los adultos mayores ya representaban la mitad de nuevos casos estimados en la región con el cáncer de próstata, de mama, colorrectal, de pulmón en especial el carcinoma de células no pequeñas (NSCLC), como los principales en ambos sexos. En EE. UU., el 80% de las personas diagnosticadas posee más

de 55 años, independientemente de hábitos como fumar o el “vaping”, el exceso de peso, consumo de alcohol y una dieta poco saludable. En Latinoamérica se ha experimentado un rápido envejecimiento de sus poblaciones, la proporción de personas de más de 65 años ha sido duplicada durante 30 años. Por último, el pronóstico ante respuestas quimiorresistentes de cáncer de mama con tamoxifeno, un antiestrógeno no esteroideo, en una respuesta inicial manifiestan desensibilización. En México usan terapia neoadyuvante para cáncer de mama, incluyendo fluorouracilo, ciclofosfamida y doxorubicina, estimulando un efecto de acción citotóxica y al sistema inmune. Apetoh, Stoetzer y sus colaboradores (2007, 2013), describieron el efecto de doxorubicina u oxaliplatino, donde las células neoplásicas liberan HMGB1, una alarmina que actúa en receptores PRR (receptor de reconocimiento de patrones). Induce una actividad de CD8⁺ que produce IFN- γ e incrementa la liberación de IL-1 β e IL-17 en modelo murino. En muestras de cáncer de mama humano, se ubica una mayor expresión de genes para CD8 α , CD8 β e IFN- γ asociado al tratamiento con doxorubicina.

El trabajo por explorar en el panorama del ATP puede empezar con la construcción de sondas moleculares para la medición del ATP extracelular donde pueden alcanzar concentraciones en el rango μM que lo diferencia del estado fisiológico purinérgico, que permita crear evidencia de esta molécula en sitios de inflamación, microambiente tumoral y neoplasias. Correlacionado con los diferentes subtipos de receptores P1 y P2, cuya expresión celular y actividad agonista/antagonista depende del tipo de cáncer, ofrecen una enorme plasticidad a la señalización purinérgica tumoral. El papel terapéutico del sistema purinérgico, con fin de crear un panorama de los detalles moleculares y bioquímicos de las vías implicadas, proporcionara material para explotar e identificar en cáncer de mama, pulmón y próstata, los efectos tróficos sobre las células neoplásicas debidos al ATP y derivados en su fisiopatología, así como una manifestación quimiorresistente.

2. Justificación

Se espera que en 2022 se diagnostiquen en EE. UU., algo más de 1.9 millones de nuevos casos de cáncer en el año, esta estimación excluye al cáncer de piel de células basales y escamosas y el carcinoma *in situ* (cáncer no invasivo), excepto de vejiga. La tasa de morbilidad del cáncer es aproximadamente 609, 360 decesos, dichas estimaciones se basan en la incidencia y mortalidad por cáncer hasta 2018 y 2019, respectivamente (American Cancer Society., 2022).

La IARC, estima a nivel mundial, 1 de cada 5 personas desarrollan cáncer durante su vida, y 1 de cada 8 hombres y 1 de cada 11 mujeres mueren a causa de la enfermedad. Estas nuevas estimaciones sugieren que más de 50 millones de personas viven dentro de los cinco años posteriores a un diagnóstico de cáncer anterior. El cáncer de mama representa 1 de cada 4 cánceres diagnosticados entre las mujeres a nivel mundial con 2 261 419 nuevos casos en 2020 (24.5%). Los cánceres colorrectal, pulmonar, de cuello uterino y de tiroides también son los más comunes entre las mujeres. El cáncer de pulmón (1 435 943 de nuevos casos, un 14.3 %) y de próstata (1 414 259 nuevos casos, un 14.1%) son los más comunes entre los hombres, y juntos representan casi un tercio tipológicamente del cáncer en el varón. (GLOBOCAN 2020). En la sociedad mexicana, el cáncer ha permanecido con 195 499 nuevos casos de cáncer, en contraste con 90 222 muertes por la enfermedad en 2020. Del total de nuevos casos, 15.3% (29,929) corresponde a cáncer de mama, seguido de 13.7% (26 742) a cáncer de próstata, un 7.6% de cáncer colorrectal (14 901 casos), un 5.7% de cáncer tiroideo (11 227 nuevos casos), un 4.8% de cáncer cervicouterino (9 439 casos) y el resto 52.8% define otros tipos de cáncer. La mujer en México posee mayor incidencia de enfermarse por cáncer que el hombre, el cáncer de mama ocupa el primer puesto en estadísticas epidemiológicas, seguido del cáncer cervicouterino, tiroideo, colorrectal y de útero son más comunes, en comparación con el hombre encabezando el cáncer de próstata, seguido de cáncer colorrectal, estómago, pulmón y linfoma no-Hodgkiniano. La edad promedio para la incidencia para cáncer de mama es de 40.5 años y el cáncer de próstata con 42.4 años. La mortalidad para cualquier tipo de cáncer se define por una edad en promedio de 63.2 años, para la mujer alrededor de 60.4 años, en comparación con 67.2 años en el hombre 67.2 años, datos correlacionados en 100, 000 personas. En el caso de la mortalidad, la proporción es más alta en mujeres, representa un 45.4% por cáncer, un dato de suma importancia puesto que ocurre en período laboral (15 a 64 años), además tiene mayor índice de mortalidad al norte del país (OMS, 2021)

La edad, conforma otro rol en común. La población de la tercera edad es un sector vulnerable, pues el 60% por ciento de nuevos cánceres y dos tercios de las muertes por cáncer ocurren en personas mayores a los 65 años, sumado que la incidencia aumenta cada año. En EE. UU., el 80% de las personas diagnosticadas tiene ≥ 55 años y el 57% tiene ≥ 65 años, independientemente de hábitos como fumar el exceso de peso, consumo de alcohol y una dieta poco saludable En Latinoamérica, se ha experimentado un rápido envejecimiento de sus

poblaciones, la proporción de personas de más de 65 años ha sido duplicada durante 30 años. Un estudio ha revelado un crecimiento exponencial del 140% en el número de nuevos casos del cáncer en adultos mayores entre los años de 2012 y 2035. En el esquema referido por GLOBOCAN en 2018, menciona que los adultos mayores ya representaban la mitad de nuevos casos estimados en la región con el cáncer de próstata, de mama, colorrectal, de pulmón en especial el carcinoma de células no pequeñas (NSCLC), como los principales en ambos sexos. Estos cánceres representan casi el 73% y 68% en hombre y mujeres respectivamente. Entre los hombres el cáncer de próstata, colorrectal, NSCLC y de pulmón estaban entre los más comunes. En la mujer, el cáncer de mama, colorrectal y NSCLC está entre las cinco principales en cada subregión y a nivel mundial. Para la región de Latinoamérica y el Caribe se presentó un aumento del 126 % de la población geriátrica comparado con el 56% en los Estados Unidos, existe la estimación de 679,000 nuevos casos en adultos de 65 años y mayores (371,000 de hombres y 308,000 en mujeres), que define un 48% de nuevos casos en comparación con EE. UU. (62%) y 50% a nivel global (Pilleron S., Soerjomataram I., Soto-Perez-de-Celis E., Ferlay J., Vega E., Bray F. and Piñeros M., 2019). Por otro lado, se suman factores etiológicos, se presenta el “vaping” como posible causa de cáncer de pulmón, no existe evidencia etiológica como agente causante, no obstante, si como catalizador de alguna enfermedad respiratoria crónica y en su defecto cáncer de pulmón, se ha comprobado que el diacetilo genera bronquiolitis obliterante con neumonía en trabajadores de fábricas. Asimismo, productos secundarios de la combustión del disolvente, como formaldehído, poseen características carcinogénicas. Este tema se detallará en cáncer de pulmón y sus factores etiológicos. (Bracken-Clarke D., Kapoor D., Baird A., Buchanan P., Gately K., Cuffe S., Finn S., 2021)

Por otro lado, la mayor parte de los pacientes con tumores responden inicialmente a la quimioterapia, presentan recaídas en su evolución, provocando una insensibilidad al tratamiento por la adquisición de una resistencia a fármacos antineoplásicos. La capacidad de mutación genética de células que desarrollan resistencia, ejerce una fuerte presión selectiva si se recibe en dosis tales que sea más letal para los que no son resistentes. La falta de respuesta al tratamiento y la recidiva de tumores inicialmente quimiosensibles son responsables de un número importante de muertes en pacientes con cáncer. Opciones terapéuticas como quimioterapia alternante, la intensificación de dosis o quimioterapia regional, no ha aportado resultados esperados. Ante la necesidad de nuevas alternativas terapéuticas ha estimulado la investigación

sobre mecanismos que provocan quimiorresistencia y sobre sustancias capaces de inhibir el efecto. Quizás las nuevas terapias consistan en una medicina especializada que integre información sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación celular, además de invasión y metástasis donde explique la fisiopatología del cáncer, y proponer nuevas terapias que implique la señalización purinérgica. Centrando la atención del tema, en cáncer de mama, pulmón y próstata evidenciando una alarma epidemiológica en términos de tasa de morbimortalidad a nivel mundial y especialmente en México. El objetivo de este trabajo es crear un panorama purinérgico que permita describir la función fisiopatológica y procesos tumorales de estas neoplasias, así como el rol de cada vía de señalización y cascadas de señalización responsable, además de segundos mensajeros correlacionados. Dado el papel clave de las purinas en procesos metabólicos fundamentales y su participación en el sistema purinérgico para la regulación de procesos fisiológicos fundamentales (como la coagulación y hemostasia, así como en la neurotransmisión), asimismo la desregulación y mal funcionamiento del sistema contribuye a la fisiopatología de numerosas enfermedades incluidas la gota, la diabetes, las enfermedades neurodegenerativas, aterosclerosis, osteoporosis y el cáncer. (Huang Z. y col., 2021)

3. Antecedentes Generales

Según Momma Hejmadi (2010), el cáncer se define como una enfermedad en la cual un grupo anormal de células tiene un crecimiento descontrolado, estirpes celulares que ignoran las reglas de la división celular. La división celular fisiológica se encuentra en una regulación de señales homeostáticas indicando cuando es necesario dividirse, sin embargo, las células cancerígenas desarrollan una autonomía a estas señales, dando como resultado un crecimiento y una proliferación aberrante. La propagación de la proliferación resulta ser un fenómeno fatal, en efecto, el 90% de las muertes está relacionado con la propagación e invasividad del tumor, es decir, metástasis. La base biológica del cáncer bajo el principio donde todas las células de mamíferos comparten redes moleculares similares que controlan la proliferación, diferenciación y muerte celular, sustentando la génesis y el tratamiento del cáncer, por su transformación celular gracias a modificaciones en las vías metabólicas y de señalización celular. El dogma del cáncer afirma que la sumatoria de mutaciones y la expansión clonal selectiva conducen a la formación de una masa neoplásica. Las rondas subsiguientes de mutación y expansión producen el crecimiento y progresión del tumor, invade la membrana basal que rodea a los tejidos y

conduce a la diseminación a otros tejidos por vía circulatoria. Los decesos del cáncer se deben a la invasión, erosión y diseminación de los tumores a los tejidos normales debido a la expansión clonal no controlada de estas células somáticas. Los agentes etiológicos del cáncer dependen tanto de factores externos (tabaco, radiación, químicos y organismos infecciosos) como factores internos (mutaciones, hormonas, condición inmunológica y mutaciones del metabolismo). Estos factores pueden actuar en conjunto o en secuencia, y en efecto resulta en un comportamiento celular anormal y una proliferación excesiva. El crecimiento y la expansión clonal de las células anormales, afecta el entorno y la homeostasis de los tejidos, con el riesgo de propagación a otras zonas (metástasis). La acumulación de las mutaciones se logra a través de meses o años en cualquier tipo de cáncer, estas mutaciones del ADN surgen en frecuencia de 1 en cada 2 millones por genes por división celular, cuando el número promedio de células formadas en cualquier individuo durante su vida biológica es 10^{16} . La acumulación de mutaciones da lugar a propiedades distintivas del cáncer, entre ellas la autosuficiencia en las señales de crecimiento, y poca o nula regulación fisiológica; la ausencia de respuesta a las señales inhibitorias del crecimiento que controlan las proliferaciones celulares no neoplásicas, como las hiperplasias; la evasión de la muerte celular; el potencial de replicación ilimitado, es decir, inmortalidad; el desarrollo de angiogénesis; la capacidad de invadir los tejidos localmente y de diseminarse; la reprogramación de las rutas metabólicas, en especial un cambio a una glucólisis anaerobia aun en presencia de oxígeno o la evasión del sistema inmune.

La evidencia, define a un número de factores que intervienen dramáticamente en las incidencias de la patología a través de los países. De forma generalizada los factores que contribuyen son propios de la herencia y el ambiente. Ciertas poblaciones cargan grandes números de genes susceptibles o el ambiente de vida de las poblaciones contribuye a las tasas de incidencias del cáncer. En el estilo de vida, en uno de sus primeros reportes se notificó la interacción de cáncer nasal y el uso del tabaco, por un físico inglés llamado John Hill. Para finales del siglo XVIII, Sir Percival Pott reportó que el cáncer escrotal se relaciona con deshollinadores a causa de una pobre higiene. En 1950, la evidencia epidemiológica más clara y de gran impacto, sucedió en fumadores activos donde se reportaba que eran 20 veces más propensos a desarrollar cáncer de pulmón comparado con los no fumadores. Más de medio millón de muertes anuales producidas por el estilo de vida como la obesidad, sedentarismo, dietas. Además, el riesgo de cáncer se

incrementa por infecciones de agentes infecciosos que incluyen virus de hepatitis B, virus del papiloma humano y el virus de inmunodeficiencia humana en carcinoma nasofaríngeo y cervical, y sarcoma de Kaposi respectivamente. *Helicobacter pylori*, incrementa el riesgo de cáncer de estómago, que podría prevenirse mediante cambio de comportamiento o la vacunación para prevenir la infección. Dentro del margen de la OMS sobre las 20 principales causas de morbilidad estimadas como años de vida ajustados por discapacidad, los cánceres imponen una magnitud 244,6 millones en hombres y 137,9 millones en mujeres seguidos de la cardiopatía isquémica con valor de 203,7 millones y el accidente cerebrovascular de 137,9 millones. La carga relacionada con el cáncer es leve pero no significativamente mayor en hombre que en mujeres (9,6% frente a 8,6%). Las leucemias (37%), seguidas de los cánceres de cerebro y del sistema nervioso (16%) y los linfomas (13%), son las enfermedades malignas más prevalentes en sujetos con un rango de edad menor de 14 años. En edades comprendidas entre 15 a 49 años, se ubica el cáncer de mama (13%) como la neoplasia más común, después de los cánceres de hígado (12%) y pulmón (9%). En el rango entre 50-59 años, el cáncer de pulmón es la enfermedad neoplásica maligna más frecuente (18%), seguida del cáncer de hígado (11%) y de mama (9%), mientras que las neoplasias malignas más frecuentes en sujetos mayores de 60 años son cánceres de pulmón (21%), el colorrectal (9%), estómago (9%) e hígado (9%) (Lippi, 2019).

3.1 Señalización purinérgica

Los fenómenos de los compuestos de adenosina fueron por primera vez descritos, gracias al trabajo de Drury y Szent-Gyorgyi en 1929, demostrando una acción potente de ATP y adenosina en miocitos y arterias coronarias. Emmelin y Feldberg (1948) con trabajos en gatos, evidenciaron que a través de una dosis intravenosa en ventrículo lateral de ATP produce efectos que afectan mecanismos periféricos y centrales, como ataxia debilidad muscular y somnolencia. Buchthal y Folkow (1948) reconocieron la fisiología celular del ATP en la unión neuromuscular, la liberación de ACh inicia una contracción potenciada de las fibras musculares en la rana. La modulación presináptica de ACh en músculo estriado en rata, reportada por Ginsborg y Hirst en 1972, era a causa de purinas. La significancia fisiológica en acción farmacológica y terapéutica la trabajo Berne, quien propuso una hipótesis con vasodilatación coronaria, mediada por adenosina, bajo condiciones hipóxicas en el miocardio. A partir de esta hipótesis, surgió una versión alterna, estableciendo el mismo fenómeno de vasodilatación cuya liberación de ATP

por endotelio ejercía una acción directa en receptores purinérgicos, provocando liberación de óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador vascular (Burnstock., 2018). Previo a 1972, Geoffrey Burnstock registró cambios correlativos continuos de la actividad eléctrica y mecánica del musculo liso de *Taenia coli* en cobayo, junto a Campbell y Max Bennet trabajaron en las respuestas mediadas por noradrenalina y ACh con la misma *Taenia coli* de cobayo al bloquear la respuesta de ambos neurotransmisores. La respuesta encontrada fue hiperpolarización con altas frecuencias y relaciones asociadas en respuesta a pulsos eléctricos simples, en contraste a una despolarización esperada. El descubrimiento de la tetradotoxina por Yoshizumi Tahara en 1909 con bloqueo en la conducción nerviosa pero no la contracción muscular, con antagonismo para las hiperpolarizaciones, permitió descubrir potenciales de unión inhibitorios no adrenérgico no colinérgico, en respuesta de un inhibidor no adrenérgico y no colinérgico (iNANC). En sincronía Martinson y Muren en Suecia, identificaron la existencia de neurotransmisor inhibidor NANC en estomago de gato, pues inhibía a cualquier capa muscular del musculo liso (circular, transversal y longitudinal). Burnstock sugirió que el neurotransmisor NANC, en sus estudios en el estómago de cobayo, el íleon en el conejo, el estómago de la rana y la molleja del pavo era ATP. La evidencia experimental constituía el mimetismo del efecto NANC mediada por la respuesta de ATP, la medición de liberación de ATP durante la estimulación de nervios NANC con luminometria de luciferina-luciferasa, tipificación histoquímica de subpoblaciones de neuronas en el intestino con quinacrina (un colorante fluorescente conocido por marcar selectivamente altas concentraciones del complejo ATP-péptidos) y la demostración del α,β -metileno ATP un análogo no degradable del ATP produciendo desensibilización selectiva del receptor del ATP, en esencia P2X, descubierto en colaboración con Peter Sneddon, posee un acción donde bloqueaba las respuestas a la estimulación nerviosa NANC . La inclusión del término “purinérgico”, produjo cierta resistencia al paradigma bioquímico pues estipulaba que el ATP, una fuente de energía intracelular implicada en ciclos metabólicos, era improbable que una molécula omnipresente participara en la señalización celular. No obstante, el ATP, una molécula biológica que ahora sustenta teorías biogénicas de la vida, era lógico que se utilizara para fines de comunicación celular. Finalmente, la descripción de ectoATPasas en una variedad de tejidos consolidó las acciones extracelulares del ATP. Las múltiples actividades del ATP han sido evidenciadas y descritas en la neurotransmisión purinérgica, y tuvo que complementarse con otro concepto cuya importancia explicaba la transmisión purinérgica, desafiando el

principio de Dale describiendo más de un solo neurotransmisor en la sinapsis nerviosa. La cotransmisión purinérgica en vertebrados e invertebrados, reportando que el ATP era liberado por los nervios simpáticos y nervios inhibidores NANC de *Taenia Coli*; la noradrenalina y el ATP como contranmisores de los nervios simpáticos descritos en la cola de rata y la arteria safena del conejo, al parecer con distribución variable durante el desarrollo, el envejecimiento y las diferentes condiciones fisiopatológicas. Fisiológicamente, ACh y ATP son cotransmisores en nervios parasimpáticos; y la liberación del ATP junto con péptidos como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina provee la actividad del arco reflejo en las subpoblaciones de neuronas somatosensoriales. Sumado, la actividad cotransmisora de neuronas sensoriales del mesenterio con inhibidores NANC y péptido intestinal vasoactivo/NO. A nivel del sistema nervioso central cotransmite con NA, 5- hidroxitriptamina (serotonina), dopamina, GABA y glutamato. EL ATP y NA actúan sinérgicamente para liberar vasopresina y oxitocina en el hipotálamo. El glutamato está involucrado con la potenciación a largo plazo de las neuronas de la región CA1 del hipocampo asociado con el aprendizaje y la memoria (Burnstock., 2018).

La ubicuidad de la neurotransmisión purinérgica reconocida en múltiples procesos bioquímicos y de mensajeros ubicados en el lado extracelular de cualquier célula, requería la presencia de receptores purinergicos en la membrana celular. Desde su descubrimiento en 1976 por Burnstock, dos años después, el mismo identifico dos familias de purinoreceptores P1 (para adenosina) y P2 (para ATP/ADP), con la premisa que la degradación directa del ATP a adenosina por ectoenzimas requiere un exceso de energía, no se colocaban como únicos ligandos lo que sugirió dianas de acción para receptores distintos. Burnstock propuso una clasificación de dos tipos de receptores purinergicos, nombrado P1 y P2 preferentemente activados por adenosina y ATP. Su clasificación está basada en cuatro criterios: I) las relativas potencias de ATP, ADP, AMP y adenosina; II) la acción selectiva de antagonistas, particularmente metilxantinas, la cual antagoniza solo adenosina; III) la modulación de la adenilato ciclasa que cambia los niveles intracelulares de AMPc; IV) la inducción de la síntesis de prostaglandinas por ATP, pero no por adenosina. El avance sustancial se realizó en 1985, cuando la farmacología de Charles Kennedy y Burnstock determinaron otros dos subtipos, pero ahora de P2 (P2X y P2Y) (Burnstock G. y Knight G., 2004). Un año después, nombraron otros dos subtipos de P2, un receptor P2T selectivo para el ADP en plaquetas y un receptor P2Z en macrófagos. A estos

les siguieron subtipos, de los cuales el más importante es P2U, que puede reconocer pirimidinas como el UTP, además de ATP (Burnstock G. , 2006). A principios de la década de 1990, se clonaron y caracterizaron los cuatro subtipos de receptores P1 (adenosina), que actualmente se conocen. En una reunión celebrada en 1994, Williams señaló que una clasificación de los purinoreceptores P2 basada en “paseo aleatorio por el alfabeto” no era satisfactoria, y Abbracchio y Burnstock en el mismo año propusieron que los purinoreceptores debían de pertenecer a dos familias principales: una familia P2X de receptores de canales iónicos activados por ligandos y una familia P2Y de receptores acoplados a proteínas G, clasificación formada sobre la base de los estudios del mecanismo de transducción y la clonación de receptores de nucleótidos. (Burnstock G. y Knight G., 2004).

La liberación exocítica de vesículas de ATP en nervio, posee una concentración de nucleótidos de hasta 100 mM, pues se creía que la principal fuente de ATP que actuaba sobre receptores purinérgicos incluía a células con daño o apoptóticas. Complementando, que su liberación es una respuesta fisiológica o fisiopatológica al estrés mecánico, la hipoxia, la inflamación y algunos agonistas. Existe prueba de la liberación exocítica de células endoteliales y uroteliales, los osteoblastos, los astrocitos, mastocitos y células cromafines, pero también de transportadores, incluyen transportadores casete de unión de ATP, los hemicanales de conexina y canales aniónicos dependientes de voltaje. Un estudio por Zimmermann (2001) sobre las endonucleotidasas que desintegran el ATP liberado por la neurona, reporta que existen varias familias de enzimas degradativas, como la ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa (E-NTPDasas); ectonucleótido pirofosfatasa (E-NPP) de tres subtipos (E-NPP1,2,3); fosfatasas alcalinas; ecto-5'-nucleotidasa (CD 73) y ectonucleósido difosfocinasa (E-NPDK). Ocho genes *ENTPD* diferentes codifican miembros de la familia NTPDasa, enzimas típicas ubicadas en la superficie celular cuyo sitio catalítico se encuentra hacia el exterior de la célula este grupo corresponde a NTPDasa 1,2,3,8. Para NTPDasa 5 y 6 exhiben localización intracelular mientras que NTPDasa 4 y 7 están completamente en el interior de la célula y en organelos citoplasmáticos. En el caso de propiedades catalíticas, todas ellas requieren de iones Ca^{+2} y Mg^{+2} en el rango mM para actividad máxima y se inactivan en su ausencia. NTPDasa 1 (CD 39) hidroliza ATP directamente a AMP (adenosina monofosfato) transitoriamente de cantidades menores de ADP libre y de UTP a UDP, mientras que la NTPDasa 2 hidroliza ATP a ADP y 5'-nucleosidasa hidroliza ATP a adenosina, así permitiendo la degradación purinérgica con

preferencia por los nucleósidos trifosfatos. Para NTPDasa 3 y 8 revelan una preferencia por ATP sobre ADP como sustrato. (Robson SC., Sévigny J. and Zimmermann H., 2006). E-NPPs catalizan ATP o ADP a AMP, sin productos intermediarios. La adenosina también se puede generar mediante la vía CD38 por la generación de ADP-ribosa a partir de NAD⁺ extracelular, así como la degradación adicional de ADP-ribosa a AMP por la enzima pirofosfatasa/fosfodiesterasa del ectonucleósido. La degradación de AMP por CD73 es la vía común final para todos los principales sistemas generadores de adenosina, mostrado en la fig. I. En la actualidad, se reconocen 7 subtipos de receptores P2X y ocho subtipos de P2Y que incluyen receptores sensibles a las pirimidinas y a las purinas. La evolución de esta señalización primitiva ha confirmado muchos mecanismos neuronales y no neuronales, como las respuestas inmunitarias, la secreción exocrina y endocrina, la inflamación, el dolor, la agregación plaquetaria y la vasodilatación mediada por el endotelio, además de la proliferación, la diferenciación y la muerte celular (Verkhatsky and Burnstock, 2014). Las acciones de los nucleótidos extracelulares están mediadas por dos familias de receptores: los receptores P2X (P2X) y los receptores P2Y (P2Y). La familia P2X incluye canales de cationes no selectivos ($P2X_1$ a $P2X_7$) activados por ATP y modulados por Ca⁺², Na⁺, Mg⁺² y H⁺ extracelulares. Su activación moviliza el Ca⁺² intracelular y provoca la despolarización de la membrana. La familia P2Y contiene receptores acoplados a proteínas G ($P2Y_1$, $P2Y_2$, $P2Y_4$, $P2Y_6$ y $P2Y_{11}$ - $P2Y_{14}$) activados por ATP, UTP, ADP, UDP y azúcares-UDP. La ocupación del receptor inicia la descomposición de los fosfoinosítidos de las membranas plasmáticas por la fosfolipasa C, lo que da lugar a la formación de dos secundarios: inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG). Mientras IP₃ desencadena la liberación de Ca⁺² de las reservas intracelulares, y DAG activa cascadas de señalización dependientes de proteínas cinasas. El metabolito del ATP, la adenosina (ADO) media respuestas celulares a través de cuatro receptores P1 acoplados a proteínas G: A_1 , A_{2A} , A_{2B} y A_3 . La selectividad agonista y sus propiedades de señalización con proteínas G inhibitoras (i), estimuladoras (s) o $G_q/11$, vinculados a la movilización de Ca⁺² de reservas y/o aumento de AMP cíclico. En resumen, presentado en la siguiente tabla I. (Lazarowski Eduardo R., 2011). El sistema de nucleótidos de pirimidina extracelular también es poco conocido, no está claro si la inosina tiene función biológica extracelular. Se informa que es un agonista débil de A_3 de roedores, pero podría afectar indirectamente la señalización purinérgica al competir con el transporte de nucleósidos. (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017).

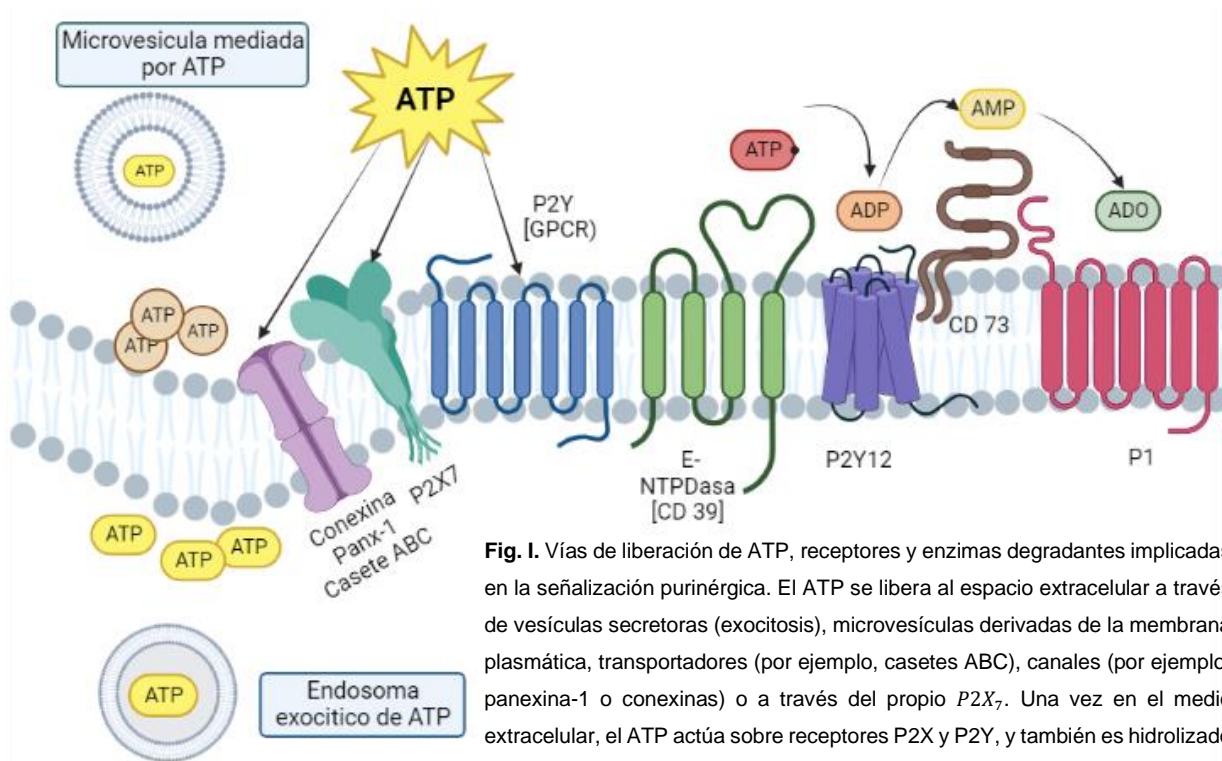


Fig. I. Vías de liberación de ATP, receptores y enzimas degradantes implicadas en la señalización purinérgica. El ATP se libera al espacio extracelular a través de vesículas secretoras (exocitosis), microvesículas derivadas de la membrana plasmática, transportadores (por ejemplo, casetes ABC), canales (por ejemplo, panexina-1 o conexinas) o a través del propio P2X₇. Una vez en el medio extracelular, el ATP actúa sobre receptores P2X y P2Y, y también es hidrolizado a ADP y AMP por E-NTPDasas como CD39. ADP activa P2Y₁₂ y se degrada aún más a adenosina (ADO) por CD73. La adenosina generada por CD73 activa los receptores de adenosina (P1) y es degradada a inosina por la adenosina desaminasa. Fuente: imagen modificada de (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017).

Los receptores P2 y P1 son constituyentes de una cadena de transducción de señales que *in vivo* opera en tándem ya que la adenosina, se genera a partir de ATP extracelular. Con implicaciones relevantes para el estudio de las respuestas mediadas por nucleótidos o nucleósidos, ya que las concentraciones extracelulares de ATP y adenosina son modificables modulando la actividad de la ectonucleotidasa. CD39 aumenta/disminuye la concentración local de ATP/ADP. Y para CD73 aumenta/disminuye los niveles de AMP y modula los niveles de adenosina sobre la adenosina desaminasa. Siguiendo la fig. I. (Di Virgilio F., 2018)

Tabla I. Receptores purinérgicos

<i>Familia</i>	<i>Subtipo</i>	<i>Agonista</i>	<i>Vía de señalización</i>
		<i>Natural</i>	
Receptores P2X	<i>P2X₁</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²]
	<i>P2X₂</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²]
	<i>P2X₃</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²]
	<i>P2X₄</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²]
	<i>P2X₅</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²]
	<i>P2X₆</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²]
	<i>P2X₇</i>	ATP	Canal iónico activado por ligando [Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²] y un macroporo permeable para moléculas de hasta 900 Da
Receptores P2Y	<i>P2Y₁</i>	ADP	G _{q/11} (PLC)
	<i>P2Y₂</i>	ATP/UTP	G _{q/11} (PLC)
	<i>P2Y₄</i>	UTP	G _{q/11} (PLC) y G _i (AMPc _i)
	<i>P2Y₆</i>	UDP	G _{q/11} (PLC)
	<i>P2Y₁₁</i>	ATP	G _{q/11} (PLC) y G _s (AMPc _↑)
	<i>P2Y₁₂</i>	ADP	G _i (AMPc _i)
	<i>P2Y₁₃</i>	ADP	G _i (AMPc _i)
	<i>P2Y₁₄</i>	UDP- Glucosa	G _i (AMPc _i)
Receptores Adenosina	<i>A₁</i>	Adenosina	G _i (AMPc _i)
	<i>A_{2A}</i>	Adenosina	G _s (AMPc _↑)
	<i>A_{2B}</i>	Adenosina	G _s (AMPc _↑)
	<i>A₃</i>	Adenosina	G _i (AMPc _i)
Abreviación	PLC: Fosfolipasa C, AMPc _i : disminución de APM cíclico, AMPc _↑ : Incremento de AMP cíclico		

3.1.1 Receptores P1

La adenosina que se forma en el citosol puede ingresar al espacio intersticial por medio de un transportador de nucleósidos. Al menos cuatro receptores de superficie acoplados a proteínas G de pertenencia en la clase purinérgicos P1 median los efectos biológicos de la adenosina ya sea por la descomposición intracelular o extracelular de los nucleótidos de adenina o por la hidrólisis de S-adenosil-L-homocisteína. Receptores A_1 son proteínas integrales de membrana de al menos 37 kDa con siete dominios que atraviesan la membrana, acoplados principalmente a la adenilciclase a través de proteínas G inhibitoras (G_i/G_o), pero también actúan mediante la activación de fosfolipasa C (G_q/G_{11}). Estos son altamente expresados en cerebro, médula espinal, los testículos y el tejido adiposo. En niveles más bajos, también se ubican en corazón y riñón. La adenosina actúa mediante la protección tisular al reducir la demanda de oxígeno. Dichos subtipos median diversos efectos fisiológicos, incluida la modulación de actividades cardiovasculares, inmunitarias y del sistema nervioso central (Burnstock, 2018).

Los receptores se acoplan a la adenilato ciclase; los A_1 y A_3 son inhibidores de la adenilato ciclase (G_i), mientras que los A_{2A} y A_{2B} son proteínas G estimuladoras de la adenilato ciclase (G_s). Estos receptores modulan la actividad de la adenilato ciclase (AC), y AC regula la actividad y concentración del AMPc citoplasmático, detallado en la tabla I. La adenosina extracelular activa A_1 y A_2 en miocitos y fibroblastos cardíacos, con una producción regulada de AMPc negativamente en miocitos, pero a un aumento del nivel de AMPc en fibroblastos cardíacos, como método de prevención para la hipertrofia y la fibrosis miocárdica. AC, regula segundos mensajeros como fosfolipasa C (PLC) y la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK). Se han hallado complejos heteroméricos funcionales de receptores P1, A_1 - A_2 se une a proteínas G_s y G_i , lo que desencadena señales opuestas de AMPc. Un complejo bidireccional traería consigo una modulación dependiendo de la concentración de adenosina. Las concentraciones bajas activan preferentemente a A_1 contrarrestando la actividad de AC. Cuando la adenosina es alta, el receptor A_2 se activa provocando un aumento acelerado de la producción de AMPc. Estos subtipos de receptores P1 muestran una afinidad diferente por la adenosina, una farmacología distinta y patrones de expresión específicos de tejido. Brevemente, los receptores A_1 , A_{2A} y A_3 tiene una alta afinidad y selectividad a adenosina, activados a nivel fisiológico en el rango nM.

Por el contrario, la activación de receptor A_{2B} requiere una mayor concentración, en el rango μM , lo que conduce a condiciones patológicas como la hipoxia (Huang Z. y col., 2021).

Es habitual estudiar las repuestas de los subtipos de receptores individuales, asumiendo que no interactúan entre sí. Sin embargo, existe evidencia sólida de que receptores de adenosina pueden formar homo-oligómeros o hetero-oligómeros con otros receptores, por ejemplo, con P2 para receptor dopamina D1, produciendo complejos híbridos con un perfil farmacológico específico. Los receptores P2 y P1 son constituyentes de una cadena de transducción de señales que *in vivo* coopera en tándem como adenosina, el único agonista fisiológico de P1, y se genera a partir de ATP extracelular. Esto tiene implicaciones relevantes para el estudio de respuestas mediadas por nucleótidos o nucleósidos, en un principio las concentraciones de ATP y adenosina, y por ende la activación de P2 y P1 podrían modificarse con la actividad de ectonucleotidasas. CD39 aumenta las concentraciones locales de ATP/ADP desencadenando la activación de P2 y CD73 aumenta los niveles de AMP, así reduce las concentraciones de adenosina lo que inhibe la activación de P1. En contraste la sobreexpresión de CD73 o el bloqueo de la adenosina desaminasa, aumenta la concentración de adenosina intersticial (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017).

3.1.2 Receptores P2X

Se plantean como canales iónicos activados por trifosfato de adenosina presentables en numerosas células excitables y no excitables de diversas especies, incluidos humanos (hP2XR), en ratas (rP2XR), en ratón (mP2XR) y en pez cebra (zP2XR) donde contribuyen al control de variadas funciones fisiológicas. El panorama presenta P2X1-7 demostrando una topología de subunidades intracelulares C-terminal y N-terminal con motivos de unión para las proteínas cinasas y dos regiones transmembrana (TM1 y TM2). TM1 está implicada en la apertura del canal y TM2 cubre el poro iónico, con un bucle extracelular de 10 residuos de cisteína conservados, con la eliminación de un segmento rico en cisteína en la región yuxtamembranal intracelular del rP2X₇ causa pérdida de la permeabilidad. Y por último, una región hidrofóbica H5 al vestíbulo del poro que funge como una posible modulación (Rokic M. B. and Stojkovic S.S., 2013)

La estructura del receptor zP2X₄ en estado abierto mostró que los residuos clave para la unión de ATP se encuentran aproximadamente a 0.45 nm de la membrana plasmática, además estudios

de mutagénesis revelaron que los residuos K67, K69, K293, K295 y K313 en su contenido son cruciales para el reconocimiento de los grupos fosfato, mientras que el resto de adenina se encuentra en la profundidad del bolsillo de unión y se estabiliza mediante puentes de hidrogeno. Por otro lado, en su estado cerrado define que los dominios centrales de las tres subunidades se entrelazan mutuamente, formando una cavidad vertical central, el ectodominio se proyecta 0,7 nm por encima de la membrana plasmática y contiene tres vestíbulos a lo largo de su eje central. En condiciones fisiológicas los P2X responden a la estimulación de ATP con corrientes de entrada moduladas en amplitud. Mediante el registro de células completas, estas corrientes pueden describirse mediante cuatro parámetros: (I) el tiempo de activación, (II) la amplitud de corriente pico, (III) la tasa de caída de la amplitud de la corriente durante una estimulación sostenida del receptor y (IV) la tasa de disminución de la amplitud actual durante el lavado del agonista. El tiempo de activación disminuye y aumentan con elevación en la concentración del agonista: la amplitud de corriente máxima y la tasa de desensibilización del receptor, mientras que la tasa de desactivación actual es independiente de la concentración del agonista, fenómeno que está bien documentado para *rP2X₄* utilizando un sistema de perfusión ultrarrápida. En el nivel de un solo canal, la activación se define como la transición del estado cerrado al estado abierto, la desensibilización como la transición del estado abierto al estado cerrado-desensibilizado, y el estado desactivación como la transición del estado abierto al estado cerrado (Rokic M. B. and Stojikovic S.S., 2013).

Los P2X son permeables al Na⁺, K⁺ y Ca⁺² con corrientes de entrada moduladas por la amplitud, pero la permeabilidad a este último varía dependiendo de la isoforma. Algunos receptores homoméricos y heteroméricos también muestran una regulación de la selectividad iónica dependiente del tiempo al desarrollar un nuevo estado abierto que permite que cationes relativamente grandes atraviesen por el poro. Este fenómeno se denomina dilatación de poros, y el poro dilatado define un segundo estado abierto con mayor conducción iónica. (Rokic M. B. and Stojikovic S.S., 2013). El polimorfismo de P2X en humanos, en particular el *P2X₇*, es altamente polimórfico y contiene un largo conjunto de un solo nucleótido polimórfico (SNPs). Estudios de asociación genética reportan nucleótidos no sinónimos de SNPs, con importancia como un factor genético de susceptibilidad en varias condiciones fisiopatológicas. Los polimorfismos de un solo nucleótido no sinónimo están asociados a varias enfermedades, que

incluyen la esclerosis múltiple, osteoporosis, trastorno de ansiedad, sepsis, tuberculosis, cardiopatías, trastorno de bipolaridad y desorden de depresión mayor (Caseley, y otros, 2014).

La corriente generada por *rP2X₇* expresado en células HEK293 y *hP2X₇* en ovocitos de *Xenopus* presenta un registro bifásico de celdas enteras: el rápido aumento inicial de la corriente (I1) acompañado de un crecimiento de corriente lento secundario (I2), cuya tasa aumenta con la concentración de agonista. A su vez, se produjo un cambio en el potencial de inversión, lo que indica que la cinética de descomposición de una corriente de salida a una de entrada refleja a la dilatación de los poros. Por lo tanto, la ruta de permeación de receptores *P2X₄* y *P2X₇* no es una transición de un solo paso de un poro pequeño a un grande, lo que sucede en el receptor es una dilatación progresiva. Además, el proceso de dilatación de *rP2X₇* fue independiente de Ca^{+2} , en contraste con la activación de *P2X₇* que estuvo influenciada alostericamente por la presencia de Ca^{+2} . Sin embargo, la dilatación de poros *rP2X₄* fue bloqueada por el baño de Ca^{+2} . Se propuso un modelo que sugiere que el acoplamiento de transiciones cinéticas desde el estado abierto al estado cerrado-insensibilizado o a un estado abierto (dilatado), que también es el estado sensibilizado/facilitado. La transición a este estado sensibilizado-abierto se favorece cinéticamente sobre la transición al estado desensibilizado, lo que lleva a la generación de una respuesta de corriente bifásica durante la aplicación inicial del agonista. Se sugirió que una vía para la dilatación de poros era a través de panexina-1 (Pax1) para mediar en la formación de poros y la liberación de IL-1 β , no obstante, el rol de Pax1 en la liberación de ATP está definido, pero no para la dilatación *P2X₇*, respaldado por experimentos que utilizaron macrófagos derivados de medula ósea knockout para Pax1. El papel de los dominios citosólicos, la pauta que el extremo C de *rP2X₇* junto con *hP2X₇* exhibieron propiedades de activación dependientes para la dilatación del receptor, determinante en la permeación en un estado específico. La eliminación de un segundo segmento rico en cisteína de la región intracelular yuxtamembranal de *rP2X₇* causa la pérdida de la permeabilidad, lo que indica que N-terminal contribuye al control de la transición del estado abierto al dilatado (Rokic M. B. and Stojkovic S.S., 2013)

Subtipos del receptor P2X

Las células mamíferas expresan genes para la codificación de 7 subunidades de P2X. La variedad de los receptores P2X constituidos por tres subunidades, forman un trímero estrecho que tanto los heteromultímeros y los homomultímeros participan en la formación del poro

iónico. Estas subunidades poseen la capacidad de formar receptores homoméricos por si solos, con la excepción de la subunidad $P2X_6$ o receptores heteroméricos siendo $P2X_{1/2}$, $P2X_{1/4}$, $P2X_{1/5}$, $P2X_{2/3}$, $P2X_{2/5}$, $P2X_{2/6}$ y $P2X_{4/6}$ receptores que ya han sido identificados (Burnstock., 2018). Gracias al trabajo de la biología molecular con cadenas complementarias de ADN, permitió identificar las múltiples isoformas de P2X. En primera instancia la acción del agonista α , β -metileno ATP, diferencio receptores $P2X_1$ y $P2X_3$, además otros estudios reportan que se ubica en clústeres en *vas deferens* por medio de expresión adenoviral y una proteína verde fluorescente. El receptor $P2X_2$ fue aislado de la línea celular PC12 en ratas y en la glándula pituitaria. Los protones y concentraciones bajas de zinc y cobre potencian dichos receptores, en comparación con receptores $P2X_1$ y $P2X_3$ que no está desensibilizados. Un receptor heteromultimérico $P2X_{1/2}$ descrito de ovocitos de *Xenopus spp.*, cuya sensibilidad característica es al pH. $rP2X_3$ son frecuentemente expresados en neuronas sensitivas, incluyendo terminaciones nerviosas nociceptoras. Receptores heteroméricos $P2X_{2/3}$, al concebirse como homomérico de $rP2X_2$ y $rP2X_3$, poseen afinidad al pH ácido y sensible al bloqueo por 2'(3')-O-(2,4,6-trinitrofenil) ATP, expresados por subpoblaciones de neuronas sensitivas, células ganglionares simpáticas y células cerebrales. A partir de ADNc en humano, ratón, *Xenopus* y pollo del ganglio cervical superior y encéfalo, se aisló el receptor $P2X_4$ activado solo por ATP, pero no por α , β -meATP, con corrientes evocadas de ATP características, potenciadas por ivermectina. En $P2X_4$ de rata se muestra una insensibilidad al bloqueo por antagonistas no selectivos como suramina y ácido piridoxalfosfato-6-azofenil-2',4'-disulfónico (PPADS), al contrario, con derivados de la carbamazepina que son potentes antagonistas del purinoreceptor. Cuyas corrientes provocadas por ATP son incrementadas por PPADS y suramina, probablemente porque son inhibidores de ectonucleotidasas (Burnstock., 2018).

El receptor $P2X_5$ se identificó por primera vez del ganglio celiaco y de corazón de rata; en musculo esquelético de pollo embrionario. Sus corrientes por ATP en rata son de pequeña amplitud en comparación con receptores $P2X_{1-4}$. Quizás la clave con $P2X_5$ sea su ARNm sobreexpresado en musculo esquelético en desarrollo. En la homeostasis epidérmica permite regular la diferenciación, actuando como marcador para los queratinocitos e impedir su proliferación celular. Sin embargo, esto cambia cuando se constituye $P2X_{1/5}$ y $P2X_{2/5}$ siendo

más sensible al ATP que aquellos receptores homoméricos. Sus agonistas potentes son ATP y ATP γ S, y los únicos antagonistas disponibles son los no selectivos como suramina y ácido pirodoxalfosfato—azofenil-2,4-disulfónico (White & Burnstock, 2006). El receptor $P2X_6$ en rata se clonó a partir del ganglio cervical superior (GCS) y cerebro, su equivalente humano se identificó de linfocitos periféricos y se expresó abundante en músculo esquelético, además de neuronas respiratorias del tronco encefálico. La subunidad $P2X_{2/6}$ es funcionalmente como un heteromultímero y a pH 6.5, la inhibición de la corriente por la suramina es bifásica. Por último, $P2X_7$ se aisló primero de GCS y habénula media de rata, en estado abierto el canal posee una exposición prolongada a altas concentraciones de ATP y experimenta una conversión de canal a poro que permite el paso de grandes moléculas. El 2',3'-O-(benzoil-4benzoil)-ATP (BzATP) es un agonista potente, aunque no selectivo del receptor. Después de la aplicación continua de BzATP (30 μ M) durante 30s, la membrana plasmática desarrolla ampollas grandes, vesículas precedidas por el desprendimiento de vesículas más pequeñas (<1 μ m de diámetro) que liberan citoquinas inflamatorias (Burnstock., 2018).

Ya que son receptores ATP selectivos, por lo que no poseen acción con algún otro nucleótido. $P2X$ puede subclasificarse en receptores de rápida sensibilización ($P2X_1$ y $P2X_3$), baja o nula sensibilización ($P2X_{2,4,7}$) y no funcional en estados nativos ($P2X_{5,6}$). La concentración molar requerida para la afinidad de ATP en $P2X_{1-4}$ está en el rango de μ M, mientras que $P2X_7$ tiene un umbral de activación notablemente que oscila entre 0.5 y 1,0 mM de ATP según la estirpe celular y las condiciones experimentales. $P2X_7$, es caracterizado por tener la habilidad de activar un macroporo en la membrana celular permitiendo la captación de moléculas extracelulares de hasta 900 Da de masa molecular. Demostrado que este macroporo es intrínseco y activado sin retraso después de la estimulación del receptor, ya que se creía que requería de proteínas accesorias para su formación. En el caso de receptores $P2X_{2,4}$ permiten la captación de moléculas orgánicas hidrofílicas de hasta una masa de aproximadamente 400 Da (Di Virgilio F., 2018).

3.1.3 Receptor P2Y

La familia del receptor P2Y contiene ocho receptores acoplados a proteína G activados por adenosín 5'-trifosfato (ATP), uridina 5'-trifosfato (UTP), adenosin 5'-difosfato (ADP), uridina 5'-difosfato (UDP) y/o UDP-glucosa. El metabolito del ATP, la adenosina (ADO), media las

respuestas celulares a través de cuatro receptores P1 acoplados a proteína G: (Lazarowski Eduardo R., 2011). Este tipo de receptores son receptores de proteína G ($G_{q/11}$, G_s o $G_{i/o}$), asociados con la modulación intracelular de AMPc y con el aumento de Ca^{+2} citoplasmático. Estos receptores son bastante poco selectivos a ATP en el sentido que este nucleótido es ligando preferido solo para la especie $P2Y_{11}$, mientras que los otros P2Y, nucleótidos de pirimidina o ADP son sus potentes agonistas. La afinidad de P2Y está en el rango de μM , produciendo que estos sean altamente sensibles a minúsculos cambios de la concentración del nucleótido. La clonación mediante homología permitió aislar un receptor ADP acoplado a G_i de plaquetas, $P2Y_{12}$ en 2001. $P2Y_{13}$ y $P2Y_{14}$ se caracterizaron durante un estudio de receptores “huérfanos” es decir sin ligando conocido. En la actualidad, corresponden a ocho miembros $P2Y_{1,2,4,6,11,12,13,14}$, la serie faltante representan ortólogos o receptores de no mamíferos que no poseen evidencia funcional de respuesta a nucleótidos. La alta divergencia de secuencias consiguió una clasificación de dos subgrupos distintos P2Y, el primer subgrupo incluye $P2Y_{1,2,4,6,11}$ y el segundo corresponde a subtipos $P2Y_{12,13,14}$. Es posible que exista dimerización involucrando P2Y con no P2Y, por ejemplo, $P2Y_1/A_1$ localizados en neuronas de corteza/hipocampo/cerebelo. Funcionalmente, permite la movilización de Ca^{+2} y generación/inhibición de AMPc, así como la estimulación de vías señalización ERK/MAPK (Di Virgilio F., 2018).

Subtipos del receptor P2Y

La clonación mediante homología permitió aislar y reconocer los receptores $P2Y_1$ conocidos, se han caracterizado en tejidos de humano, rata, ratón, vaca, pollo, pavo y *Xenopus*. El ARNm de $P2Y_1$ es alto en diferentes regiones del encéfalo, próstata y placenta. El ADP es su agonista predilecto en comparación con ATP, y 2-metil-tio-ADP (2-MeSADP) es incluso más potente. Los antagonistas más efectivos cuya selectividad del purinoreceptor actualmente son MRS2179, MRS2279 y MRS2500. $P2Y_2$ clonado y caracterizado de humano, rata, ratón, caninos y porcinos. Es activado por concentraciones equivalentes de ATP y UTP, sin embargo, tiosulfato γ de UTP (UTP γ S) e INS 37217 potencian su agonismo y resisten la hidrólisis de los receptores $P2Y_2$. La expresión en miocitos de musculo liso está regulada por agentes inflamatorios incluidos IL-1 β , interferón- γ y TNF- α . En células epiteliales, aumenta la secreción de Cl^- e inhibe la absorción de Na^+ . Se ha descrito que en un ratón inactivado de este receptor es

defectuoso en la secreción de iones por nucleótidos en las células epiteliales de vías respiratorias. $P2Y_4$ se clonaron e identificaron de humano, rata y ratón. Siendo el UTP el principal activador en receptor humano, además con receptores recombinantes de rata/ratón se activa intensamente por ATP y UTP. $P2Y_6$ son selectivos a UDP en ratón, rata y humano. Cuya alta distribución tisular es más alta en bazo, intestino, hígado, encéfalo e hipófisis. El receptor $P2Y_{12}$ sensibilizado por ADP y caracterizado en rata, ratón y humano. Altamente expresado en plaquetas donde su objetivo es apoyar la hemostasia (su activación estimula al receptor de la glucoproteína IIb/IIIa), siendo un blanco farmacológico del clopidogrel y ticagrelor como antiplaquetario, sumado su relevancia en subregiones del cerebro, células gliales, células endoteliales de los capilares cerebrales, células del musculo liso y células cromafines. El receptor $P2Y_{13}$ se encuentra en bazo, placenta, hígado, corazón, medula ósea, mocitos, células T y pulmón, como agonista natural ADP y trifosfato de diadenosina (DATP). Por último, $P2Y_{14}$ se han reivindicado funciones quimioatrayentes y neuroinmunes, siendo 47% idéntico a $P2Y_{12,13}$; y activado por UDP-glucosa acoplado a $G_{i/o}$. Mostrado en la tabla I (Burnstock., 2018).

3.2 Fisiología y patología purinérgica

La señalización purinérgica denota una ubicuidad en células neuronales y no neuronales, encontrada en la neurotransmisión sináptica, en fenómenos como la contracción y relajación del musculo y en la secreción exocrina y endocrina. Interactúa con otras moléculas de señal para formar una red compleja que regula numerosos procesos celulares, incluida la proliferación, la diferenciación y la muerte celular. Inicialmente, se sugirió que el ATP extracelular afectaba la permeabilización de la membrana plasmática mediante dos mecanismos: a través de su interacción con los receptores P2 y mediante el uso de un mecanismo independiente de P2 para hacer que los poros fueran lo suficientemente grandes como para permitir la permeación de sustancias con pesos moleculares que oscilan entre 300 y 900 Da. Otros autores sugieren que ambas acciones están bajo la acción de receptores P2 e introdujeron el término “P2Z” para describir un supuesto receptor P2 permeable que requiere para la activación altas concentración de ATP, bajas concentración de benzoiladenosina-5-trifosfato (BzATP) y la eliminación de Ca^{+2}/Mg^{+2} del medio. El primer receptor con perfil farmacológico fue clonado en 1996 y

denominado $P2X_7$, capaz de permear la membrana celular (Rokic M. B. and Stojikovic S.S., 2013).

Además, P2X y P2Y juegan un rol importante en la modulación de la embriogénesis incluido el sistema nervioso, el cartílago en yemas de las extremidades, los mesonefros, la retina, los miotúbulos y en placa neuromuscular. Finalmente, receptores purinérgicos se colocan en un interés con potencial terapéutico que involucra un receptor agonista y antagonista, inhibidores de ectoenzimas (ectoATPasas) y potenciadores o inhibidores del transporte de ATP en un amplio marco de enfermedades relacionadas por receptores purinérgicos. Acompañado con cambios de expresión en cotransmisores y receptores durante el desarrollo y envejecimiento celular ante cualquier condición fisiológica o fisiopatológica. Se ha entendido que la presencia de nucleotidasas en la membrana plasmática finalizan cualquier señal purinérgica, postulando una comunicación versátil y plástica, un sistema de comunicación que es susceptible a distintos niveles de modulación (Di Virgilio F., 2018). Las células responden a ATP extracelular en una manera graduada y estrictamente regulada, y continua con la retroalimentación a través de P2 informando a las células del estado energético y el estado morfológico de las células vecinas así la liberación de ATP es uno de los tempranos signos de estrés celular en términos fisiológicos. Los primeros ADN complementarios que codifican para los receptores A_1 y A_2 , fueron aislados en 1989 por Libert y colaboradores, para después clonar y caracterizar el resto de los subtipos, además de observaciones con polimorfismos en los tipos A_1 y A_{2A} . El receptor A_1 , fue evaluado en el efecto de su deficiencia en la regulación de la tasa de filtración glomerular (TFG), siendo una respuesta complementaria al receptor de angiotensina II o genes de la enzima convertidora de angiotensina. En general la adenosina actúa a través del receptor purinérgico protegiendo los tejidos al reducir la demanda de oxígeno. La adenosina es un mediador paracrino produce vasoconstricción, reduciendo el flujo renal en la corteza externa, produciendo una disminución en la tasa de filtración glomerular, es posible que la adenosina liberada por células de la macula densa hacia el intersticio del aparato yuxtglomerular active al receptor A_1 en musculo liso o en las células mesangiales por difusión, facilitando la excreción de agua y NaCl. Es sugerible que la producción de adenosina este determinada por la hidrólisis de ATP dependiente de la tasa metabólica (Sun, y otros, 2001).

La red purinérgica del epitelio de las vías respiratorias aloja un discreto subconjunto de receptores purinérgicos. Fenómenos de tensión mecánica como el cizallamiento rítmico y la compresión, triplican la tasa de liberación de ATP experimentadas durante la inhalación/exhalación y tos. Este aumento transitorio en la concentración de ATP (10-100 nM) activa $P2Y_2$. La liberación constitutiva de ATP en la superficie de las células epiteliales alveolares puede considerarse como un mensajero extracelular para la regulación autocrina y paracrina de funciones específicas. Por ejemplo, la estimulación paracrina de las células ATII por el ATP extracelular liberado por las células ATP está implicada en la secreción de tensoactivos (Barth K. y Kasper M., 2009). La tipificación de diversos canales iónicos a partir de células ATI y ATII en pulmones de rata, revela que ambos expresan Na^+/K^+ ATPasa, ENaC sensible a amilorida, CFTR (un canal de Cl^- dependiente de AMPc), acuaporina 5 (AQP5), un canal de K^+ activado por nucleótidos cíclicos selectivos de cationes, un receptor de GABA, un canal de cloro activado por ligandos y purinoreceptores. El receptor predominante de detección de nucleótidos es $P2Y_2$, activado por un grado y potencia similar al ATP y UTP. La unión con su ligando inicia la ruptura de la membrana celular por la fosfolipasa C, lo que resulta en la formación de IP₃ y DAG. Por un lado, IP₃ desencadena a la liberación de Ca^{+2} intracelular y DAG activa la cascada de señalización dependientes de proteína cinasa C (PKC). Estas vías promueven la secreción de mucina, inhibición del canal epitelial de Na^+ (ENaC) y activación del canal de Cl^- activado por Ca^{+2} (CaCC) recientemente identificado como (ANO)/TMEM16. El ATP extracelular puede modificar la actividad de ENaC, actuando indirectamente por medio de la activación de los receptores P2 de la superficie celular, debido a que el propio ENaC es insensible a ATP extracelular. Se ha demostrado que los receptores P2X apicales median su inhibición de la absorción de Na^+ después de la activación de $P2X_{3,4}$. Se ha propuesto que los receptores heteroméricos de P2X cuyo objetivo es mejorar la afinidad a ATP (muy probablemente el subtipo, $P2X_{2/4}$ o $P2X_{4/6}$), a través de fosfatidilinositol 3-cinasa, podrán funcionar con sensores de Na^+ extracelular responsables de inhibir o potenciar la actividad de ENaC dependiendo de la concentración de Na^+ extracelular (Wirsching E, 2020). En el parénquima, células alveolares expresan receptores $P2X_{4,7}$, este último receptor asociado con caveolas, su uso de agonistas y antagonistas selectivos y estables permite participar en la regulación de canales iónicos que intervienen en la hidratación de las vías respiratorias. En el epitelio alveolar, los agonistas de P2X estimulan el transporte de Cl^- a través de la mucosa nasal

y participan en la regulación del latido ciliar, gracias a que aumentan la concentración de Ca^{+2} intracelular de manera potente quizás CFTR regula otros canales iónicos o transportadores en los epitelios para modular el volumen celular, es decir, el control en condiciones hipotónicas e isotónicas (Barth K. y Kasper M., 2009).

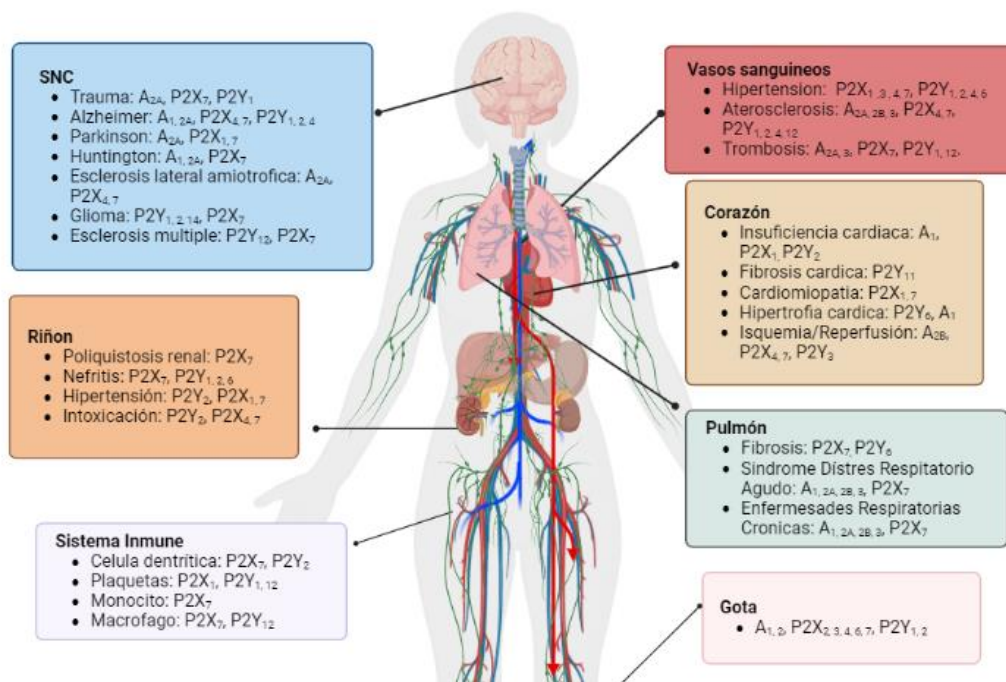


Fig. II. El papel causal de la señalización purinérgica en las enfermedades humanas. Los purinoceptores, incluidos los receptores $P1$, $P2X$ y $P2Y$, se expresan de forma difusa en todas las partes del cuerpo humano, como el sistema nervioso, el sistema circulatorio, el sistema respiratorio, el sistema inmunitario y el sistema urinario, entre otros. La disregulación de la función de los purinoceptores da lugar a diversas enfermedades, como las neurológicas, reumáticas, cardiovasculares, oncológicas, etc. Fuente: imagen modificada de (Huang Z. y col., 2021).

Según el subtipo de receptor purinérgico y adenosina cuyas vías de señalización involucradas desencadenan fenómenos fisiológicos a corto plazo que afectan el metabolismo celular, la adhesión celular y migración. En respuestas prolongadas se incluye la proliferación celular tal es el caso que la activación de $P2Y$ por ATP, la diferenciación y apoptosis, por ejemplo, al activar $P2X_7$ detiene el crecimiento celular mediante el reclutamiento de proteínas cinasas $p38/MAPK$ y $SAPK/JNK$ (Huang Z. y col., 2021). Se cree que la exposición prolongada esta referida en procesos patológicos como la aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Alzheimer, Parkinson, Huntington, etc.) y en varias afecciones inflamatorias de

carácter crónico como la gota. Se muestra en la fig. II evidencia de aquellos purinoreceptores involucrados en la patología del SNC, renal, hemodinámica, cardíaca, pulmonar y sistema inmune. En células del epitelio traqueales, la secreción de IL-8 es inducida por TNF- α y la respuesta esta amplificada por $P2X$, Di Virgilio ha demostrado que a altas concentraciones de ATP (en el rango μM) se conserva el receptor en aéreas de inflamación. Receptores como A_{2B} , estimula la conductancia de CFTR y la frecuencia del latido ciliar. Y A_{2A} , promueve la cicatrización y las respuestas inflamatorias. (Burnstock G., 2007). También se ha sugerido que el responsable de la entrada de Ca^{+2} activado por ATP tanto en la fibrosis quística, así como en células epiteliales respiratorias sin fibrosis quística, es $P2X_4$. El zinc extracelular y el ATP desencadenan la entrada de Ca^{+2} y una señal sostenida derivada de las reservas extracelulares (Barth K. y Kasper M., 2009). Los subtipos de receptores de adenosina se expresan diferencialmente en cada célula diana, A_{2A} se expresa en gran medida en células inmunitarias como los neutrófilos y linfocitos, mientras que A_{2B} se expresa fuertemente en las células endoteliales vasculares. A través de fosfohidrolisis de nucleótidos mediada por ectoenzimas. En este caso, CD39 regula la conversión a AMP. El metabolismo de AMP a adenosina por CD73, si se tiene una deficiencia o desregulación, exhiben un aumento de los niveles de ATP, ADP y adenosina dando como resultado un mayor riesgo de desarrollar una inflamación desordenada e incontrolada. Las mutaciones de pérdida de función en el gen CD73 en humano dan como resultado calcificaciones arteriales periféricas familiares. Por otro lado, a adenosina ha dilucidado estados patológicos, por ejemplo, los efectos cronotrópicos de la adenosina vía A_1 esencial para el tratamiento de la taquicardia. A_2 cumple con funciones antiinflamatorias en neutrófilos, disminuyendo la activación de otras células. Los antagonistas de A_{2A} ejercen beneficios en la enfermedad de Parkinson. A_{2B} contribuye a la adaptación de los tejidos en respuesta a la inflamación, la isquemia y la hipoxia. A_3 funciona en la producción de humor acuoso y su agonismo ha demostrado su eficacia en el tratamiento del ojo seco (Le Thanh-Thuy T., *et. al*, 2019).

4. Cáncer y señalización purinérgica

Los receptores P2X y P2Y por estudios inmunohistoquímicos han demostrado que no solo se encuentran expresados en célula excitables (neuronas o musculo liso) así como células no excitables (células epiteliales o células epiteliales glandular en piel, pulmonares, intestinales, renales, musculo liso vascular y endotelio), una vez demostrado el panorama purinérgico en diversas enfermedades y estados fisiopatológicos. Respecto al cáncer, el interés con actividad antineoplásica fue reportado por Rapaport en 1983 por primera vez, demostró que una adición exógena de ATP en células de adenocarcinoma de páncreas y de colon inhiben su ciclo mitótico, siendo puntual, inhiben la fase S del ciclo celular, contrario a la adenosina que tiene fenómenos de promoción del crecimiento tumoral (Di Virgilio & Burnstock, 2013). Los resultados fueron obtenidos de ensayos *in vivo*, inoculando células cancerígenas en ratones con la administración de ATP sistémico por vía intraperitoneal de 1 mg/g a 2 mg/g de peso corporal con una concentración plasmática de 3-5 μM de 1-5 horas postinyección, con los efectos ya mencionados, y agregando un tiempo prolongado de supervivencia y la inhibición de caquexia. El resultado arrojó significativamente la inhibición del crecimiento celular en la línea celular CT26 (carcinoma de colon). También se ha demostrado esta acción sinérgica con agentes quimioterapéuticos y de radioterapia. Surge el interés al postularse la hipótesis sobre el mecanismo terapéutico en receptores P2, estableciendo en primera instancia: el ATP es degradado a adenosina por ectonucleosidasas para después incrementar la concentración intracelular de adenosina que también activan receptores P1, lo que ambiguamente resulta en un efecto anticancerígeno, particularmente la prevención de la caquexia, quizá modulen el aumento intracelular del ATP en el metabolismo energético por alguna acción extracelular de ligandos a receptores P2. (White & Burnstock, 2006).

4.1 Receptores de Adenosina en Cáncer

La adenosina siendo una de las sustancias bioquímicas pleiotrópicas con mayor actividad y presencia en el microambiente tumoral (MT), generalmente posee una actividad inmunodepresora y antiinflamatoria en el tumor. Aún se desconoce, los efectos del sistema purinérgico, pues dependiendo de los receptores P1 expresados en las células tumorales será la acción tumoral efectuada, por ejemplo, A_1 puede apoyar al crecimiento de células de cáncer de mama y quimiotaxis en melanoma, pero en contraste, se manifiesta en bajos niveles en el cáncer

de próstata en estadio avanzado. Recientemente se demostró que este receptor posee un efecto protector en carcinoma de endometrio al promover la polimerización de actina cortical, aumentar la adhesión célula-célula y finalmente ayudar a preservar la integridad epitelial, estas respuestas reducen la invasión de tejidos y metástasis. Para A_{2A} y A_{2B} sucede algo similar, en contexto, estimulando A_{2A} puede mejorar la proliferación en la línea celular MCF-7 o desencadenar la muerte celular en A375 en células de melanoma. Los receptores A_{2B} activados inhiben la proliferación a través de la vía ERK en las células MDA-MB-231; en carcinoma oral de células escamosas se encuentra sobreexpresado y su silenciamiento inhibe el crecimiento celular. También este receptor puede estar involucrado en la invasión y la diseminación metastásica. Un reciente estudio demuestra que al estimular a A_{2B} provoca la acumulación de Rap-1b no prenilado, una pequeña proteína GTPasa que controla la adhesión celular, esto mejora la dispersión celular y podía promover la proliferación celular (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017). A_3 se expresa en diferentes líneas celulares (K562 de eritroleucemia, linfoma de Jurkat y A375 una línea de melanoma humano) y varios tumores primarios (glioblastoma y cáncer prostático), donde existen indicios de que su expresión se correlaciona con la progresión de la enfermedad. Algunos fenómenos descritos, por ejemplo, su estimulación inhibe la proliferación de células de carcinoma de próstata PC3, carcinoma de colon HCT-116 y carcinoma de páncreas MIA-PaCa, por otro lado, promueve la proliferación de células de cáncer de colon HT29 y CaCo2. La manera de desarrollarlo es con un acople con el glucógeno sintetasa cinasa (GSK)- 3β con la vía WNT/ β -catenina. Se informan datos contrastantes sobre A_3 y su efecto estimulante en la propagación metastásica. A pesar de los resultados, A_3 es el receptor de adenosina más ampliamente distribuido y apto para el direccionamiento farmacológico, se ha trabajado en ensayos clínicos de fase I/II para probar la eficacia de agonistas A_3 para el tratamiento del carcinoma hepatocelular (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017).

La vía adenosinérgica es exquisitamente sensible al nivel de oxígeno intratumoral. En microambiente tumoral (MT) típicamente hipóxico facilita la progresión del tumor al acelerar la selección de clones tumorales más agresivos y eficientes en metástasis y al desregular la respuesta inmune antitumoral. La activación de HIF- 1α y Sp1 estimula la expresión CD39 y CD73, aumentando así la producción de adenosina. Parece que la expresión de ectoenzimas productoras de adenosina es crítica tanto en tejidos hematopoyéticos como no hematopoyéticos

posiblemente porque CD73 participa en la angiogénesis y podría facilitar la migración y la diseminación metastásica independientemente de la respuesta inmune, mostrado en la figura III. En cáncer de próstata, la presencia de CD73 en células epiteliales prostáticas sanas inhibe la inmunovigilancia de las células T y, por lo tanto, promueve su crecimiento tumoral, su expresión de CD73 por parte de las propias células cancerosas restringe el crecimiento al inhibir la señalización de NF- κ B a través de la generación de adenosina y la señalización de A_{2B} . Sin embargo, al inducir hiperoxia respiratoria inhibe la señalización de adenosina y reduce el crecimiento tumoral, dependiendo por completo de células NK, un efecto debido a la sensibilidad de las células NK a la inhibición mediada por A_{2A} . La hiperoxia respiratoria reduce la expresión de CTLA4 por parte de las células T_{reg} infiltradas en el tumor. En un estudio clínico, con un tratamiento de 60% oxígeno demostró que redujo la hipoxia en fibrosarcoma pulmonar MCA205 y disminuyó considerablemente el número de metástasis pulmonar en melanoma B16 (Ruiz V. y colab., 2020).

4.2 Receptores de ATP en cáncer

Se ha descrito e hipotetizado que el incremento de las concentraciones de ATP en el MT está bajo la influencia de receptores P2, en especial, $P2Y_1$ y $P2Y_2$, este efecto es fundamental para el crecimiento y proliferación en cáncer de próstata y mama, y quizás en este último contribuye a la metástasis. Receptores P2Y proveen soporte, promueven la migración o quimiotaxis en melanoma y cáncer de pulmón, caso contrario con el carcinoma nasofaríngeo ya que inhibe su proliferación o la apoptosis de células en el carcinoma de colon. Esto podría explicarse por una activación simultánea de sistemas de segundos mensajeros con efectos opuestos o por diferencias en la concentración intracelular de ATP. Mientras con $P2Y_1$ su función es disminuir la proliferación celular en melanoma, en $P2Y_2$ suele aumentar el número de células, pero esto sucede también en condiciones fisiológicas. Quizás sean los subtipos más estudiados en cáncer, para ambos su principal vía de señalización es la activación de PLC, para finalizar en la movilización de Ca^{+2} desde almacenes intracelulares, una segunda vía de movilización podría ser la inhibición de adenilato ciclasa, y otras vías como la proteína cinasa dependiente de la calmodulina II (CAMKII) y la activación del factor nuclear- κ B (NF- κ B). En $P2Y_{11}$ modula la diferenciación de líneas celulares, HL-60 y NB4 de leucemias promielocíticas agudas en células similares a los neutrófilos, evocando por vías acoplada a la generación de AMPc y activación

de PKA (White & Burnstock, 2006). En la metástasis, donde las células tumorales se transportan en la sangre como émbolos recubiertos con plaquetas y facilitando la extravasación. Se ha demostrado que los émbolos tumorales desencadenan la liberación de nucleótidos ADP y ATP de las plaquetas, y activan a $P2Y_2$ de las células endoteliales para promover la migración transendotelial de las células tumorales. Evidenciado que en ratones con delección al receptor albergan plaquetas defectuosas en la secreción de ADP/ATP experimentando una diseminación reducida. $P2Y_{1,2,6}$ cuya activación hace responsable de impulsar la resistencia a los inhibidores de ALK en cáncer de pulmón. Fig. III (Di Virgilio F., 2018).

En el caso de $P2X$, participa en la destrucción de células tumorales a concentraciones nM de ATP, el más estudiado es $P2X_7$ y ubicuo en diferentes etapas de progresión del cáncer, representa una diana terapéutica importante dado sus múltiples efectos tumorales. El resultado de la promoción de supervivencia y proliferación celular debido a la estimulación tónica de bajo nivel. Comportándose como un receptor bifuncional, dependiendo del nivel de activación y el tipo celular desencadena su crecimiento o la muerte celular. Aunque una sobreestimulación de $P2X_7$ precipita en una marcada catástrofe mitocondrial, una estimulación tónica estabiliza la red mitocondrial aumentando el potencial mitocondrial y la eficacia de la fosforilación oxidativa. En sinergia, se incrementa la producción de ácido láctico y modula enzimas y transportadores involucrados en glucólisis y en el efecto Warburg (GLUT1 a gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa a fosfofructocinasa a piruvato cinasa M2 y piruvato deshidrogenasa cinasa 1), este inactiva GSK-3 β expandiendo reservas de glucógeno intracelular. La potenciación combinada de fosforilación oxidativa y glucólisis aerobia da como resultado un incremento de ATP, además de abundantes compuestos intermediarios para la síntesis de ácidos nucleicos, fosfolípidos y aminoácidos no esenciales (reacción anaplerótica) y acumular la reducción de equivalentes en forma de NADPH lo que le confiere a $P2X_7$ una cualidad sorprendentemente ventajosa en la proliferación de células tumorales. La disección de las señales y su transducción de señales promotoras del crecimiento indica que PI3K/Akt/ERK, así como HIF-1 α y los factores de transcripción NFATc1 son responsables. También $P2X_7$ podría contribuir a la invasividad de las células cancerosas y la propagación metastásica mejora la infiltración y liberación de catepsinas de cisteína activas, enzimas sobreexpresadas conocidas por digerir matriz extracelular. Su estimulación apoya la migración del carcinoma de pulmón PC9 y cáncer

de mama T47D, mientras que su silenciamiento inhibe la migración e invasividad en células de cáncer de próstata, y mitiga la expresión de genes implicados en la transición epitelial/mesenquimatoso (TEM) como Snail, E-cadherina, Claudina 1, IL-8 y MMP-3. Fig. III (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017). En cuestión del pronóstico del cáncer, $P2X_7$ sugiere que su sobreexpresión es indicador de malignidad en neoplasias como leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda, carcinoma papilar de tiroides, cáncer de próstata y neuroblastoma. Aquí es donde VEGFR2 (receptor tipo 2 del factor de crecimiento endotelial y vascular), en un estudio con polimorfismos se asocia con un pronóstico favorable o desfavorable en cáncer de próstata, ya que es modulado por el propio $P2X_7$, pues estudios *in vivo* muestran que con un bloqueo de VEGF por bevacizumab inhibe el crecimiento tumoral por la expresión de $P2X_7$. Existen otros P2X investigados en la oncogénesis como $P2X_3$ y $P2X_5$. $P2X_3$ facilita la proliferación por vía JNK en carcinoma hepatocelular, es decir, una desfavorable prognosis. Este receptor es rápidamente desensibilizado en presencia de ATP, podría explicarse por dos opciones: la célula tumoral es defectuosa o MT contiene factores que impiden su desensibilización. $P2X_5$ está expresado en carcinomas de células basales y escamosos, tales como carcinoma de células escamosas de piel y cáncer de próstata, y actúa contrarrestando el crecimiento celular actuando sobre ciclo celular. Puede que el ATP y sus análogos actúen sobre células diferenciadas (en células de piel, intestino, vejiga, timo, musculo esquelético y medula espinal) provocando una disminución del recuento celular debido a cambios en el ciclo celular (White & Burnstock, 2006).

4.3 Señal purinérgica en el microambiente tumoral

La síntesis de energía endógena en células cancerígenas está directamente dirigida a la supervivencia, proliferación, invasión de tejidos adyacentes y la diseminación. por lo tanto, la eficiencia de la generación de ATP estaba involucrada a que mayor producción de energía resulta en una mayor agresividad. Se ha demostrado que durante el crecimiento y progresión, el ATP y la adenosina, y posiblemente otros nucleótidos, son activamente secretados, pasivamente o generados en el ambiente extracelular, donde cumplen un papel esencial como mensajeros extracelulares. Así en un MT, el ATP y la adenosina se acumulan en altos niveles como en sitios inflamatorios. Algunas investigaciones reportan que las células tumorigénicas presentan respuestas inusuales a estimulación con NAD^+ o ATP. El MT representa un entorno dinámico y

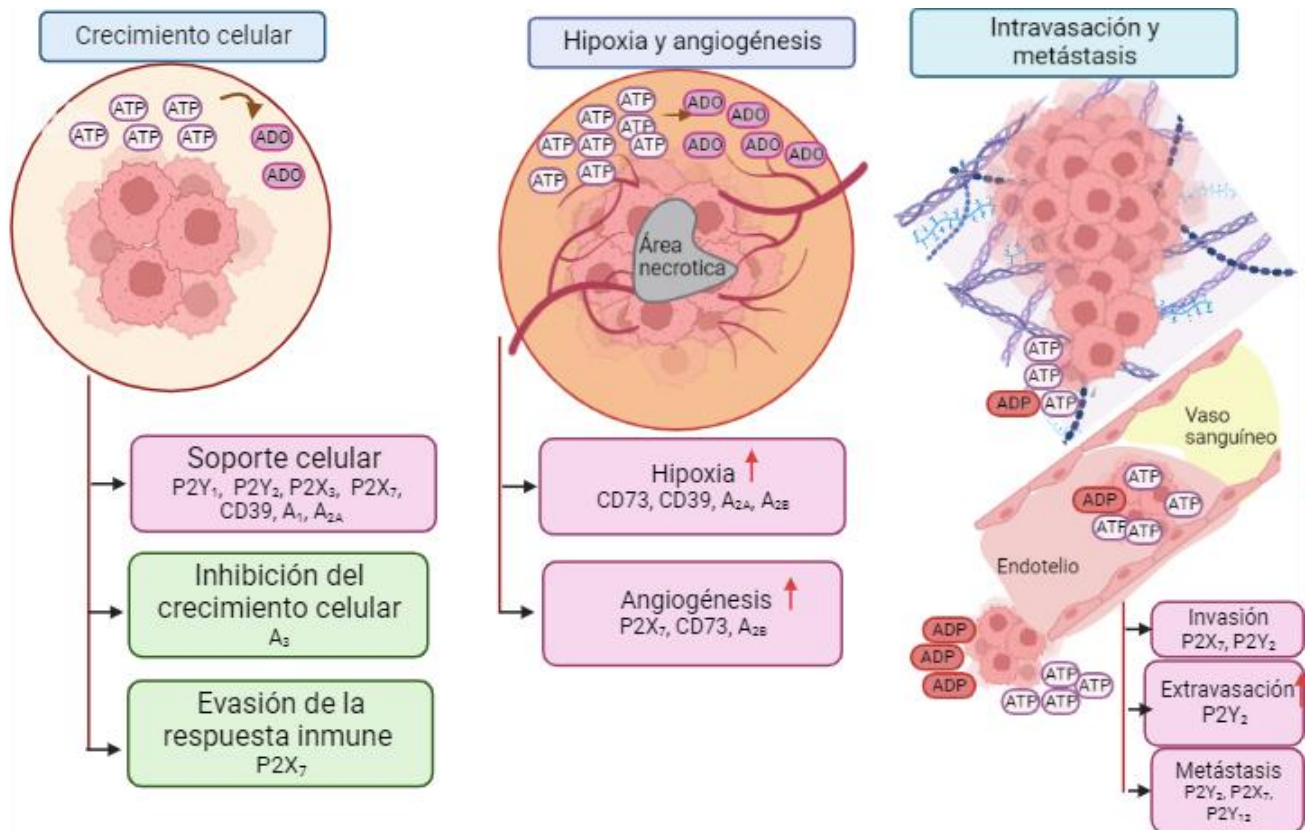


Fig. III. La señalización purinérgica modula múltiples pasos en la progresión del tumor. Esta figura resume la actividad de los receptores de ADO y ATP en las diferentes etapas y fenómenos tumorales. Participando en todas las fases principales de la progresión tumoral con efectos opuestos (apoyando el crecimiento tumoral; y oponiéndose al crecimiento tumoral), dependiendo del subtipo de receptor específico activado. La hipoxia del tumor provoca la acumulación de ATP y adenosina y promueve la expresión de CD73, CD39, A_{2A} y A_{2B}. Además, la hipoxia también promueve la expresión de P2X₇ y CD73, que a su vez estimulan la angiogénesis. Los nucleótidos y sus receptores promueven la degradación de la matriz extracelular y la invasión de tejidos (P2X₇ y P2Y₂), la migración de células tumorales, la extravasación y la diseminación metastásica (P2Y₂, P2X₇ y P2Y₁₂). Fuente: imagen modificada de (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017).

un sitio privilegiado donde las células tumorales tienen un contacto cercano con el hospedero. La composición bioquímica y celular juegan un rol fundamental en la regulación del metabolismo celular, proliferación, movilidad y diseminación. Los receptores P2 se encuentran no solo en las células inmunitarias sino también en las células tumorales lo que hace que uno se pregunte porque las células expresan moléculas “suicidas”, y es más pronunciado debido al hecho de que el ATP extracelular no solo se filtra de las células necróticas, sino que deriva de la secreción activa asociada con el metabolismo de las células tumorales. Parece que la inmunidad antitumoral se potencia con alto nivel de ATP, mientras que un pequeño aumento de ATP liberado endógenamente promueve la proliferación de células tumorales. Se ha hablado

que el ATP se acumula en el intersticio del tumor a una concentración que oscila en el rango micromolar mientras que es casi indetectable en las muestras sanas. Varios tipos de receptores P2 están implicados en la supresión del crecimiento tumoral, $P2X_5$ contribuye a los efectos citotóxicos de las células T y la supresión de leucemia mieloide crónica. Por el contrario, la inactivación de $P2X_7$ disminuye la población de células T citotóxicas $CD8^+$. Por tanto, el enriquecimiento de ATP en el microambiente parece ser un mecanismo antitumoral intrínseco inducido por el sistema inmunitario. Parece que la inmunidad antitumoral se potencia con alto nivel de ATP suministrado farmacológicamente, mientras que un pequeño aumento de ATP liberado endógenamente promueve la proliferación de células tumorales. De hecho, se ha demostrado que la sobreexpresión o la regulación a la baja de $P2X_7$ facilita o suprime el crecimiento tumoral respectivamente. Además de la función de la promoción del crecimiento, los niveles bajos de ATP también pueden dar lugar a tumorigénesis a través de la liberación de citocinas inmunosupresoras, IL-10. Esta evidencia revela que la expresión de ciertos receptores P2 proporciona ventajas para los tumores, pero también implica un enfoque para futuras terapias. De acuerdo con este enfoque, se ha demostrado que la infusión de ATP alivia la pérdida de peso y restaura la fuerza muscular en pacientes con cáncer de pulmón. De manera similar la adenosina se concentra en MT, por ejemplo, la activación de A_3 en el glioblastoma aumenta la migración y la invasión bajo hipoxia. Como factor inmunosupresor, la adenosina apoya el crecimiento tumoral reprimiendo respuestas inmunitarias antitumorales evidenciado con la inhibición de A_{2A} restauran la actividad de células T. Este fenómeno de inhibición para suprimir a ectoenzimas, tiene efectos considerables para mejorar la respuesta inmunitaria. Se encontró un incremento en los niveles fisiológicos de AMPc en carcinoma hepatocelular (HCC), en contraste con linfoma y cáncer de ovario donde los niveles se reducen. El AMPc se une a las subunidades reguladoras de la proteína cinasa A (PKA), y junto otro efector, PLC, catalizan la producción de diacilglicerol (DAG) e inositol-1,4,5-fosfato (IP3), que afectan la tumorigénesis. Estos mensajeros juegan un papel importante en la transducción de señales que incluso se vinculan con aquellas señales que forman parte del desarrollo embrionario (MEK, p38/MAPK, ERK, AR, CREB, ATF2, Hippo, Wnt, Hedgehog, Notch y TGF- β) (Huang Z. y col., 2021).

En general, ATP actúa como señal de peligro que activa las células inmunitarias, mientras que la adenosina atenúa respuestas inflamatorias. Conceptualmente, el ATP extracelular activa los

receptores P2 para iniciar la respuesta inmunitaria, posteriormente es convertido a ADO por ectoenzimas lo que conlleva contener la respuesta por receptores P1. Este modelo, guía la siguiente información: CD39 y CD73 expresados en células T reguladoras (T_{reg}) convierten el ATP extracelular a ADO, suprimiendo la función de células T efectoras ($CD8^+$). Sin embargo, en condiciones de lesiones infecciosas o con daño tisular, el ATP se libera diferente por medio de la panexina-1 (Panx-1). A diferencia de la necrosis, el ATP liberado por el canal Panx-1 está regulado, ya que ciertos estímulos como la hipoxia inducen a Panx-1 a formar un conducto de ATP, lo que acelera la salida de ATP intracelular. El receptor funcional $P2X_7$ con conformaciones variables, controla la liberación de citocinas y la activación de células inmunitarias, la estimulación de $P2X_7$ activa el inflamasoma NLRP3, su inhibición permite la disminución de la escisión de caspasa-1 teniendo como efecto la liberación de IL-1 β y una reducción de la inflamación. Podría explicarse con un mecanismo de interacción molecular entre ambos receptores. Concluyendo que $P2X_7$ es el activador más potente del inflamasoma NLRP3. En ratones con $P2X_7$ desactivado, la liberación de IL-1 β en macrófagos peritoneales está bloqueada en gran medida. No obstante, los agonistas directos de NLRP3 pueden desencadenar su secreción en forma independiente de $P2X_7$, mejor evidenciado en la fig. IV. Además de IL-1 β , otra citoquina liberada es IL-18. Otra purina depositada en sitios inflamatorios es la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+), activando a $P2X_7$ de forma sinérgica con ATP, descrito en ratón. NAD^+ proporciona un ADP-ribosa que se transfiere covalentemente a sustratos proteicos, cuya reacción es catalizada por la ADP-ribosiltransferasa (ART). Esta modificación postraducciona, ADP-ribosilación, ocurre en el dominio extracelular del receptor $P2X_7$ para iniciar la respuesta inflamatoria y regulando parcialmente, compartiendo similitudes con ATP en términos de modulación de la inmunidad. En primer lugar, se definen ambas como señales de peligro. En segundo lugar, ambas se liberan en células necróticas o dañadas. Por último, tanto el NAD^+ como el ATP pueden acumularse en altas concentraciones en sitios lesionados. Se ha evidenciado a detalle en la fig. IV, que NAD^+ es un agonista por excelencia del receptor $P2Y_{11}$ (Huang Z. y col., 2021).

La participación de vesículas extracelulares (exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos), en la respuesta inmune tumoral, en otras patologías y en estado fisiológico ha permitido demostrar que proveen inmunoestimulación, con moléculas proinflamatorias con localización

atípica en primera instancia la liberación extracelular de interleucina-1 β (IL-1 β) por actividad del inflamasoma, ya que carece de una secuencia señal y no participa en la vía secretora ER/Golgi. Si bien pueden existir múltiples rutas de salida donde aparentemente está implicado $P2X_7$, estudios en células THP-1 (una línea celular similar a monocitos/macrófagos) produce la liberación rápida de IL-1 β en lo que se denomina microvesículas, cuyo efecto fue acompañado por la activación de esfingomielinasa ácida y fosforilación de p28 MAPK. Otro receptor purinérgico $P2Y_{11}$, está involucrado en la activación autocrina de células THP-1, así como *in vivo* en macrófagos murinos al inducir la liberación de ATP en EVs, es decir, vesículas extracelulares divididas hacia microvesículas. Un efecto de la liberación de ATP prevalece en la polarización de los macrófagos promoviendo al tipo M1. M1 es relacionado con respuestas proinflamatorias antitumorales e incluye la expresión de IL-1 α , IL-1 β , IL-27, IL-18, factor de necrosis tumoral (TNF- α), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF). Así además de canales de panexina y conexinas y transportadores ABC, el ATP extracelular puede resultar de la lisis de vesículas extracelulares que contienen el nucleótido. El EVs liberado requiere de los componentes del inflamasoma, la proteína adaptadora asociada a la apoptosis que contiene la proteína CARD (ASC) y la proteína 3 con el dominio NACHT, LRR y PYD (NLRP3), esta última no es dependiente de la caspasa 1 (CASP1). Esto quiere decir, que se necesitó de la actividad de CASP1 para generar EVs. Por lo tanto, para que este último se active requiere una cascada de reacciones en tioredoxina reductasa de la vía de caspasa-1. CASP1 es necesaria para activar la calpina y liberar factor tisular (FT) unidos a filamina para pasar a filopodios y ensamblarse a dominios de membrana para ser excretados como micropartículas, esta información puede complementarse con la figura IV (Graner M., 2018).

En su momento las mediciones de las concentraciones extracelulares de ATP complicaron la descripción de los fenómenos identificados del sistema purinérgico, pero ahora se conoce la importancia de la concentración citoplasmática del ATP, pues modulaciones en su concentración pueden definir fenómenos fisiopatológicos. El sesgo persistió incluso después de la clonación de receptores purinérgicos *in vitro*, así como la medición de K_d (constante de disociación) para adenosina y ATP lo que reveló una afinidad para el rango μM bajo compatible con la activación por concentraciones relativamente bajas. Sin embargo, el valor de K_d no puede

reflejar estrictamente las condiciones fisiológicas reales *in vivo* ya que podría ser modificado por condiciones mal caracterizadas (la presencia de moduladores alostéricos o cambios en el pH y iónicas).

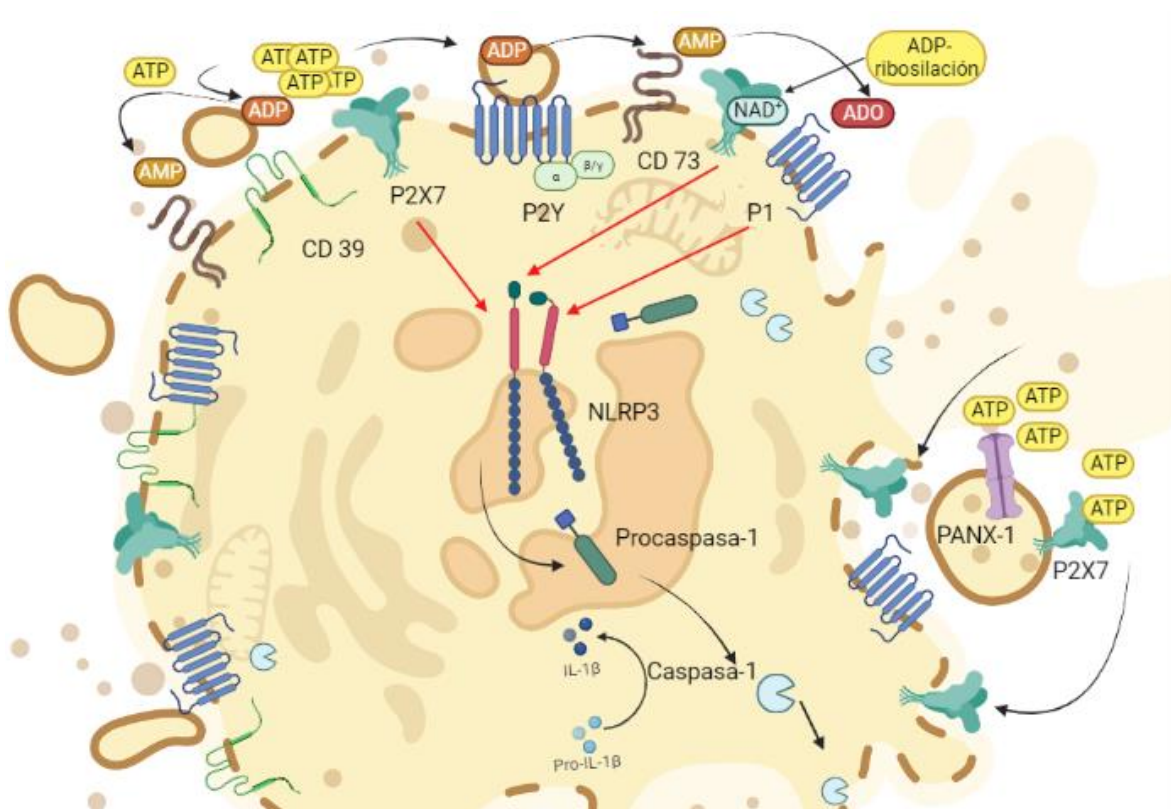


Fig. IV. La señalización purinérgica regula las respuestas inmunitarias e inflamatorias. Además de las células necróticas, el ATP extracelular puede liberarse de las células vivas a través del canal Panx1. El ATP extracelular activa los receptores $P2X_7$, que posteriormente activan el inflamasoma NLRP3 para inducir la escisión de la pro-caspasa-1. Este efecto conduce a la maduración y liberación de la caspasa-1, iniciando así una respuesta inmunitaria o inflamatoria. Alternativamente, el ATP extracelular está listo para ser degradado en adenosina (ADO) por ectoenzimas como CD39 y CD73. La producción de adenosina generalmente reprime la respuesta inmunitaria e inflamatoria a través de la unión con los receptores P1. Además, $P2X_7$ puede ser activado por ADP-ribosilación utilizando NAD^+ como donante de ADP-ribosa. Fuente: elaboración propia.

Todas las técnicas para medir la concentración de ATP extracelular en los tejidos se han abordado de diferentes maneras (microscopia de fuerza atómica, “patch-clamp”, reacciones enzimáticas tándem, registro de microelectrodo o inmunofluorescencia) pero han convergido en la misma respuesta: el nivel de ATP en el intersticio de los tejidos sanos/en reposo es muy bajo en el rango nM, mientras que en sitios con daño tisular, patológico, inflamación, de metástasis o en este caso de MT pueden llegar a cientos de $\mu\text{mol/L}$. Se entiende que las concentraciones de ATP fisiológicas relevantes solo se acumulan en la proximidad de la membrana plasmática

o en sitios de contacto estrecho entre célula-célula, que posteriormente es el principio de la técnica que provee las mediciones más certeras de la concentración de ATP intersticial con pmeLUC (una luciferasa quimérica de membrana). La adenosina esta elevada en el MT, las únicas mediciones disponibles corresponden a los datos *ex vivo* informando una concentración de al menos un 30% mayor en el centro del tumor que en la periferia y en general al menos dos veces más alta en el ambiente tumoral que el tejido sano. Por ejemplo, en adenocarcinomas de pulmón y colon en el efluente sanguíneo la concentración de adenosina fue significativamente mayor (de 0.2 a 2.4 $\mu\text{mol/L}$) que en el sano (30 nmol/L), evidentemente la producción de adenosina extracelular se genera a expensas del ATP extracelular a través de la actividad enzimática de ectonucleotidasas CD39 y CD73 (Di Virgilio F., Adinolfi E., 2017).

5. Cáncer de pulmón

La Sociedad Americana de Cáncer ha estimado 169,500 nuevos casos de cáncer de pulmón. En los hombres, esta patología es la segunda enfermedad en términos de frecuencia seguida del cáncer de próstata y representa el 14% de los canceres recién diagnosticados. También es el segundo más común en las mujeres (después de cáncer de mama), que representan el 12% de nuevos casos. Aproximadamente 1:3 de cada hombre fallece por cáncer de pulmón, mientras que las mujeres 1:4. (Cersosimo, 2002). En ambos sexos combinados, el cáncer de pulmón es la neoplasia más comúnmente diagnosticada con 11.6% del total de los casos y la principal causa de muerte con un 18.4%, se estimaron 2.1 millones de nuevos casos y 1.8 millones de muertes en 2018 (Bray F., 2018). En cáncer, las células epiteliales respiratorias pueden sufrir una acumulación de adaptaciones microambientales y autónomas produciendo un descontrol en la división y muerte celular. Dicha acumulación de alteraciones regulatorias que pueden conducir hasta el cáncer, surgir de una prolongada exposición por tabaco, lo que trae en consecuencia un daño estructural al epitelio bronquial progresando de célula basal hiperplásica a metaplasia, displasia severa a carcinoma *in situ* y finalmente a carcinoma. Esta serie de cambios se asocia principalmente con el subtipo escamoso del tipo NSCLC. La progresión de los adenocarcinomas se asocia con lesiones premalignas menos caracterizadas denominadas como hiperplasia adenomatosa atípica y se introducen conceptos para pequeños adenocarcinomas solitarios como

adenocarcinoma in situ con crecimiento lepidico puro y adenocarcinoma mínimamente invasivo con crecimiento lepidico y menos de 5 mm de invasión. (Gridelli C. y col. 2015).

Los adenocarcinomas pueden surgir en el contexto de una fuerte exposición a carcinógenos y daño pulmonar subyacente, en menor medida en comparación al tabaquismo. Se estima que del 75-80% de los decesos por cáncer de pulmón está relacionado con el tabaco, en cantidad por día, así como por el tiempo haciendo la actividad, manifestando una enfermedad pulmonar obstructiva crónica y/o enfisema. Pero este contexto aumenta en tabaquismo pasivo, incrementado el riesgo de cáncer alrededor de un tercio en la tasa de incidencia. Por otro lado, ante nuevas actividades del tabaquismo, por ejemplo, el “vaping” o “vapeo” posiblemente represente un peligro para vías respiratorias y permita el desarrollo de enfermedades respiratorias agudas o crónicas, sin embargo, la falta de evidencia epidemiología y científica sobre el “vaping” y sus efectos, no coloca dicha actividad en un factor etiológico para cáncer de pulmón. Los riesgos potenciales por lo que se considera un peligro, provienen de múltiples lugares, entre los que destacan son la composición de los productos líquidos utilizados para vaporizar y el potencial de toxicidad cuando se inhalan en formas concentradas. Los componentes activos de los productivos no están regulados y tampoco sus métodos de vaporización. Sea que inhale THC, nicotina (nitrosamina, un carcinogénico derivado de la nicotina, que incrementa la metilación del ADN), o sustancias de carácter carcinogénico: hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminas y benceno derivados (Bracken-Clarke D., Kapoor D., Baird A., Buchanan P., Gately K., Cuffe S., Finn S., 2021). Los disolventes usualmente utilizados han sido propilenglicol y glicerol, sus productos de descomposición al calentamiento incluyen formaldehído y hemiacetales como acetaldehído. El formaldehído es carcinógeno con un riesgo de cáncer de por vida de 5 a 15 veces mayor. Hemiacetales como la acroleína y la acetona se relacionan con irritación nasal, efectos cardiovasculares y daño a la mucosa pulmonar. Todo ello dependerá del aumento de la temperatura, donde se incrementa en dispositivos de mayor voltaje. Para los saborizantes agregados y aditivos alimentario se conoce su seguridad alimentaria, el diacetilo es un aditivo que se usó para saborizar cigarrillos electrónicos, en algún momento se relacionó como causa de bronquiolitis obliterante con neumonía en trabajadores de fábricas. Algunas investigaciones mencionan que los saborizantes incorporados tienen efectos citotóxicos. Un estudio que utilizó un modelo murino de células

epiteliales demostró mayor liberación de IL-6 y IL-8, así como cambios fibroblásticos sujeto a sabores más dulces. (Lacks P and Salzman GA, 2020).

El cáncer de pulmón está clasificado en dos formas: carcinoma de células pequeñas (SCLC) y carcinoma de células no pequeñas (NSCLC). Este último incluye una clasificación histológica: adenocarcinoma y carcinoma de células grandes, representan aproximadamente el 85% de todos los nuevos casos de cáncer de pulmón. De esta se subdivide en escamoso (30%) y no escamoso (70%), con sus respectivos porcentajes de incidencia. Adenocarcinoma pulmonar y carcinoma de células grandes (10%) corresponden al subtipo no escamoso. El más abundante es el adenocarcinoma pulmonar con un 90%, que incluye una gran variedad de adenocarcinomas siendo parte: lepidico (no mucinoso o mucinoso), acinar, papilar, micropapilar, sólido y mezclado. Dicha clasificación patológica está en constante adaptación con criterios específicos usados para diferenciar carcinoma de células escamosas de adenocarcinoma, ya que poseen pocas diferencias distinguibles. (Gridelli C., Rossi A., Carbone D., Guarize J., Karachaliou N., Mok T., Petrella F., Spaggiari L., Rosell R., 2015). El carcinoma de células escamosas, un tipo de NSCLC representa el 30 % del cáncer de pulmón. Este tipo de tumor es uno de los dos más comunes asociados con fumar, el otro es el carcinoma de células pequeñas. Tumores de células escamosas son usualmente encontrados en la parte central del tórax y tienden a crecer con lentitud. El adenocarcinoma es el más común del cáncer de pulmón encontrado en no fumadores y en mujeres. Alrededor del 30% a 40 % tienden a detectarse como adenocarcinoma con mayor tendencia a metastatizar que los carcinomas de células escamosas. Los carcinomas de células grandes son la forma menos común y representan alrededor del 10%-15% de los canceres de pulmón y al igual que los adenocarcinomas son más propensos a hacer metástasis que los carcinomas de células escamosas. Los carcinomas de células pequeñas representan alrededor del 20-25% y tienden a originarse en lugares centrales y crecen muy rápidamente, la gran mayoría de los pacientes tienen enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico. El área que recibe en primera instancia diseminación más allá del epitelio respiratorio es la región de los nódulos linfáticos, comúnmente localizados en el nódulo hilar, mediastinal y paraórtico. Los sitios más comunes de metástasis a distancia son el hígado, el cerebro, los huesos y las glándulas suprarrenales (Cersosimo, 2002).

SCLC es un carcinoma neuroendocrino de alto grado y con un mal pronóstico, representa solo el 15% de su incidencia. Refleja su alta predisposición a metastatizar pues la concentración de células tumorales circulantes está entre la más altas de cualquier tumor sólido. Los SCLC también ocurren típicamente por exposición intensa a carcinógenos, pero surgen de raras células neuroendocrinas pulmonares bien caracterizadas. El perfil mutacional del tumor SCLC revela una clara influencia del tabaquismo al inicio de la neoplasia. Los cambios estromales y el microambiente inmunitario contribuyen a la tumorigénesis, sin embargo, factores intrínsecos y extrínsecos al tumor afecta a la estirpe celular pulmonar de la cual se inicia. (Rudin C., Brambilla E., Faivre-Finn C. and Sage J., 2021). La clasificación patológica de SCLC por la OMS reconoce dos subtipos del 15% de incidencia: SCLC puro (aproximadamente el 80% de los casos) y SCLC combinado (el resto 20 % de los casos). Los subtipos histológicos de NSCLC más comunes en el SCLC combinado son el carcinoma de células grandes o el carcinoma neuroendocrino de células grandes (LCNEC), que ocurre en 4 a 16% de todos los tumores de SCLC; los tumores combinados con otros subtipos de NSCLC representan solo del 1 al 3%. El SCLC combinado se reconoce con mayor frecuencia en muestras quirúrgicas que en muestras pequeñas de biopsia, debido al aplastamiento. (Rudin C., Brambilla E., Faivre-Finn C. and Sage J., 2021)

En cáncer de pulmón existe una amplia variedad y tipificación aportada por la identificación de mutaciones oncogénicas. Estas mutaciones adquiridas por las cinasas confiriendo una señalización constitutiva y en células susceptibles conduce a una transformación oncogénica. Los oncogenes implicados en NSCLC incluye mutaciones activadoras en el gen del receptor de crecimiento epidérmico (EGFR) y translocaciones del gen cinasa del linfoma anaplásico (ALK). Las translocaciones de ALK colocan el dominio cinasa bajo el control de secuencias 5' y elementos promotores como la proteína asociada a microtúbulos equinodérmica tipo 4 (EMAP-4), la cadena pesada de quinesina 1 (UKHC), entre otros. Las mutaciones de EGFR más comunes son la delección del exón 19, el exón 21, y el exón 18, las cuales responden a la terapia dirigida a EGFR. No obstante, la inserción del exón 20 le confiere una ventaja de crecimiento fundamental para la transformación neoplásica, dicha mutación es resistente para terapias contra EGFR. Las anomalías menos comunes incluyen translocaciones de RET, ROS1 y receptores de tirosina-cinasa, mutaciones en BRAF, MET (codifica el receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, HGF) y HER2 o ERBB. Y amplificaciones de MET, HER2 y FGFR1. Las mutaciones en el oncogén KRAS son frecuentes en adenocarcinomas, pero poco frecuentes en

los tumores escamosos y ausentes en los SCLC. Mutaciones en el supresor tumoral serina/treonina cinasa 11 (STK11 o LKB1). Y por último docenas de mutaciones se siguen informando y clasificando e incluyen mutaciones en la vía AKT, la vía MAPK, las ciclinas y muchas otras (Gridelli C. y col., 2015).

5.1 Fisiopatología purinérgica en cáncer

Los receptores purinérgicos median funciones fisiopatológicas como la proliferación, la diferenciación y la apoptosis. Estos procesos son eventos característicos en el desarrollo del cáncer, la cicatrización de heridas y durante la ontogénesis y fibrogénesis pulmonar. Los niveles extracelulares de ATP aumentan después de una lesión pulmonar después de un estrés mecánico, traumatismo, hipotonicidad extracelular, estrés oxidativo e infección por patógenos. Existe una liberación rápida de ATP en un daño o lisis celular epitelial. La supervivencia del estrés oxidativo inducido por la hiperoxia en células endoteliales microvasculares depende de la señalización extracelular mediada por ATP. Las vías PI3K y MAPK podrían bloquearse con secuestrantes de ATP. Los nucleótidos extracelulares actúan sobre el receptor $P2Y_2$ modulando el transporte de iones y la eliminación mucociliar. La adenosina induce broncoconstricción en modelos animales y en pacientes con enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias. Dentro de los efectos proinflamatorios se incluye: la liberación de IL-6, IL-1 β y profibroticos (la participación del receptor a adenosina puede promover la diferenciación de fibroblastos pulmonares a miofibroblastos en la lesión pulmonar), con evidencia donde la eliminación de adenosina desaminasa podría bloquear a la fibrosis previniendo elevaciones de la adenosina pulmonar. Sin embargo, los receptores A_{2B} parecen desempeñar un papel activo en la patogenia de fibrosis pulmonar. Los experimentos con animales de Goncalves *et al.* proporcionaron la primera evidencia indirecta de la participación de $P2X_7$ en la inflamación y la fibrosis renal después de la obstrucción ureteral unilateral en ratones. La infiltración de macrófagos, la deposición de colágeno, la producción de citoquinas profibroticas y la apoptosis epitelial se redujeron en ratones knockout para $P2X_7$. Varias enfermedades pulmonares están asociadas con daño extenso al epitelio pulmonar y los mecanismos involucrados requieren de diversos canales iónicos para la liberación de factores de crecimiento que promueven la reparación alveolar estimulando la migración, proliferación y la diferenciación celular. Se ha demostrado que el ATP está involucrado en la migración celular *in vitro* con la activación de las vías MAPK y

metaloproteinasas 9 lo asocia con cambios de pH intracelular y transporte de H^+ así como la liberación de peróxido de hidrógeno epitelial por la activación de la oxidasa dual 1. En pulmón, CD39 se localiza principalmente en el parénquima, las células bronquiales y células endoteliales. En pacientes con fibrosis quística, se ha detectado la expresión de CD39 en células epiteliales alveolares y bronquiales y en células endoteliales. La atenuación de la expresión de CD39 pulmonar en EPOC, podría ser la responsable del aumento de los niveles de ATP detectado. Curiosamente, se ha informado que las altas cantidades de ATP durante exacerbaciones del asma podrían deberse a la expresión leucocitaria reducida de ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (ENPP1), otra enzima degradante de ATP. Además, se ha demostrado que CD39 participa en la patogénesis de la inflamación alérgica al modular la función de células dendríticas. Ante un escenario pulmonar, con alto nicho de ATP, este puede favorecer las respuestas proinflamatorias del sistema inmune innato a través de receptores P2X. Se ha demostrado actividad ATPasa pulmonar en el líquido de lavado broncoalveolar de humanos y ratones con exposición al humo del cigarrillo en estructuras previamente descritas, como la disminución de la actividad de CD39 en los compartimentos tisulares dado por estrés oxidativo y las citoquinas inflamatorias, como TNF- α (Aliagas E. *et. al.*, 2018).

Siendo que el cigarrillo es el factor de riesgo más importante para el cáncer de pulmón. Un estudio encontró que fumar afecta la expresión y la actividad de la catepsina S (CatS) en el tejido pulmonar y su mayor expresión está asociada con tumores pulmonares, siendo un factor oncogénico. La exposición al humo estimula principalmente la liberación de ATP en células epiteliales bronquiales humanas primarias a través de un potencial receptor transitorio (TRPV1, TRPV4) y canales de Panx-1. Las altas concentraciones de ATP también activan $P2X_7$, p38 MAPK y las vías de señalización de la fosfolipasa A2 citosólica, liberando rápidamente CatS activo. Además de los factores de riesgo tradicionales mencionados anteriormente, la evidencia acumulada ha demostrado que la inflamación juega un papel importante en la carcinogénesis del cáncer del pulmón. Un metaanálisis reveló una correlación positiva entre las enfermedades inflamatorias pulmonares (EPOC y la bronquitis crónica) y el riesgo de cáncer de pulmón. $P2X_4$ y $P2X_7$ permean en la liberación de autotoxina (ATX) del epitelio pulmonar, resultando en un incremento del nivel de LPA (ácido lisofosfatídico), la formación del complejo ATX/LPA ha puesto evidencia que tiene un rol prooncogénico, esencial para el crecimiento celular tumoral.

Aquí es cuando entra en juego $P2X_7$ regulando cambios funcionales y eventos proinflamatorios, con la respuesta y la creación del inflamasoma NLRP3, promoviendo la secreción de IL-1 β e IL-18. El cáncer ocurre en áreas de inflamación crónica, priorizando en un entorno inflamatorio pretumoral y de progresión tumoral. En líneas celulares de cáncer de pulmón humano: A549, PC-9 y H292 contienen $P2X_7$, pero no en células epiteliales BEAS2B no tumorales, implícitamente este purinoreceptor puede aumentar durante el deterioro de las células epiteliales pulmonares. En la clínica, solo se expresa en dos variantes histológicas de NSCLC: carcinoma de células escamosas y adenocarcinoma. En una etapa avanzada, se encuentra en abundancia en células broncoalveolares de pacientes con NSCLC metastásico (Li Q. y col., 2020).

El aumento de Ca^{+2} intracelular inducido por $P2Y$ y $P2X$, facilita el trabajo de Bcl-2/Bax para promover la supervivencia de células tumorales. En efecto, aunque el alto nivel de ATP en MT puede provocar apoptosis en células normales, la disminución en la expresión de $P2X_7$ y una mayor proporción de Bcl-2/Bax en células tumorales puede permitir su supervivencia. Los receptores $P2X_{7,4}$ y $P2Y_1$ están asociados a metástasis pulmonares y a un aumento de la degradación de ADP y ATP. Se encontró que TGF- β 1 induce en A549 y H292 a liberar ATP y activar $P2X_7$ promoviendo la migración por medio de remodelación de actina. Un microambiente tumoral enriquecido con el gen $P2YR13$ se asocia con una mayor infiltración de células T CD4/CD8, macrófagos M1 y células B en adenocarcinoma pulmonar. En contraste, la baja expresión del gen correlaciona negativamente con células y factores inmunosupresores como TGF- β . Asimismo, proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), incluida JNK pueden regular la migración celular, y Rho cinasa puede provocar remodelación de actina. En PC-9 mutantes a EGFR, junto la activación $P2X_7$ puede incitar a la migración celular de distintas maneras. Favorece el fenotipo mesenquimatoso y la regulación negativa de los marcadores del fenotipo epitelial, por factores como Slug y Snail, además de otros. También, el ATP extracelular se internaliza mediante macropinocitosis, contribuyendo aún más en la transición de epitelio-mesenquimatoso. El reordenamiento del citoesqueleto sucede a través de una translocación y liberación de HMGB1 (caja 1 del grupo de alta movilidad) activando $P2X_7$ para posteriormente activar productos finales de glicación avanzada (RAGE), posteriormente producir MMP2, a detalle en fig. V. La expresión de ARNm de $P2X_7$ puede regularse postranscripcionalmente por microARN para afectar la progresión del tumor. Entre ellos,

miARN-21 se expresa en NSCLC y se relaciona con metástasis. Además, que mutaciones K-Ras, sobreexpresan miARN-21 regulando a la baja *P2X₇*, ambos fenómenos conducen a un mal pronóstico a pacientes con NSCLC (Li Q. y col., 2020).

Un problema clínico más desafiante es la recurrencia tumoral y metástasis de células que sobreviven al tratamiento, la radio-quimioterapia induce un microambiente prometastásico. Entre quimioatrayentes péptidos y lipídicos. Células estimuladas por el quinto fragmento de escisión del complemento, la anafilotoxina *C5_a*, pueden liberar nucleótidos, junto con HGF aumentan en respuesta terapéutica. Entre otras moléculas bioactivas al ATP, ADP, UTP, AMP y ADO, se ha encontrado capacidad de respuesta de células tumorales de pulmón a TTP, CTP y GTP. Toda molécula bioactiva profesa respuestas funcionales por la fosforilación de MAPKp42/44 y AKT, así como transitorios de Ca^{+2} intracelular. Otros aspectos de la biología de cáncer de pulmón, ATP sensibiliza sus células a la apoptosis inducida por cisplatino y mejora el efecto antitumoral en PC14 y A549. P2Y mediado por ATP o UTP produce invasión celular y lo concreta con mayor producción de VEGF y que P1 media su secreción y presencia en condiciones de hipoxia, con la posible contribución a la estromalización del tumor en crecimiento (Scheinder G., 2015; Kumar V., Abbas A. and Aster J. , 2021). En la proliferación celular, que involucra *P2Y₂* y *P2Y₆*, principalmente el primero comienza de ATP o UTP, evidencia hecha en células A549, por medio de la PLC y de Ca^{+2} /calmodulina dependiente de proteína cinasa II (CaMKII) y de NF-kB para la fosforilación de EGFR en su transactivación, pero no sobre PKC sin involucrar MAPK1 o MAPK2, PI3K o Src cinasa. La estimulación por UTP y no ATP, atenúa el efecto a través de citocinas IL-1 β y IL-6, pero sin TNF- α . Esto indica el rol de la activación por pirimidinas en la respuesta inflamatoria en el epitelio respiratorio (Schäfer R., *et. al*, 2003).

También, la señalización purinérgica puede ejercer efecto en la neovascularización del tumor. Se conoce que factores de crecimiento como NGF (factor de crecimiento nervioso), BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro) y FGF-2 (factor de crecimiento de fibroblastos 2) se unen al ATP y forman complejos no covalentes. En el caso de FGF-2, el complejo imparte resistencia térmica y proteolítica. Para la neovascularización se une con VEGF-165 independientemente de Mg^{+2} , induciendo un cambio conformacional de VEGF-A165, siendo el responsable bioactivo, pero a una concentración por encima de 1.8 nM para producir el efecto,

de por medio la señalización del receptor P2Y. Incluso en ausencia de VEGF-A165, el propio nucleótido es capaz de transactivación de $P2Y_{1/2}$ -VEGFR2, lo que induce proliferación celular. Todas las isoformas de VEGF-A codifican proteínas homodiméricas que son glicosiladas y secretadas. La señalización se produce de la unión del receptor VEGF-1 (Flt-1) y VEGF-2 (KDR) (Gast R.E., 2011). En adenocarcinoma de pulmón, P2Y estimula la proliferación celular, aumentando los niveles de $[Ca^{+2}]_i$, dependiente del factor de transcripción NF-kB, que también actúa sobre la transcripción de Bax. Bax permite la apertura del canal mitocondrial, liberando citocromo C y factores proapoptóticos. Sin embargo, en cáncer de pulmón, la acción de Bax también puede ser antiapoptótica favoreciendo su supervivencia celular (Ribeiro M., 2020). En A549, la activación de $P2Y_{1,2}$, estimula la proliferación celular, al incremento de Ca^{+2} intracelular dependiente de NF-kB antes mencionado, la relación de Bcl-2/Bax aumenta en células después de la estimulación con ATP, y su elevación puede permitir que las células tumorales sobrevivan. La inhibición de EMT mediante la regulación negativa de MALAT1 (transcripción 1 de adenocarcinoma de pulmón asociada a metástasis). La molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1), que participa en la transición de epitelio-mesenquimatoso (EMT) caracterizado por la pérdida de moléculas de adhesión célula-célula (E-cadherina) y la regulación de marcadores mesenquimales (fibronectina y vimentina), y la invasión tumoral, el ATP puede disminuir la expresión de claudina-1, una proteína de unión estrecha, mostrado en fig. V. La manera de inhibir la proliferación celular se logra con la detención en fase S, y por ende conduce a la acumulación de células en G_0/G_1 (Wang Xia, 2017).

Las células de cáncer de pulmón exhiben dos fases (fase de meseta y transitoria) de aumento de Ca^{+2} citosólico causado por ATP, mientras que solo se observa la fase transitoria en células sanas. La eliminación de Ca^{+2} extracelular inhibió el aumento de la fase de meseta de $[Ca^{+2}]_i$, lo que indica que su aumento se debe a la entrada del mismo catión. La relación de Bcl-2/Bax aumento en las células de cáncer de pulmón después del tratamiento con ATP, sin embargo, la proteína antiapoptótica demostró más sensibilidad al ATP que la proteína proapoptótica, siendo $[Ca^{+2}]_{ext}$ un mediador crítico en el aumento por ATP, en relación con las proteínas apoptóticas produciendo un factor para la supervivencia celular. Se ha demostrado que en A549, ATP extracelular, UTP y UDP estimulan la proliferación que depende de receptores $P2Y_2$ y $P2Y_6$. Algún factor implicado en la expresión diferencial de P2Y y P2X puede definir patrones

cinéticamente distintos de aumentos mediados por ATP en Ca^{+2} citosólico, en producto las diferentes respuestas de Ca^{+2} darán lugar a efectos diferenciales en las células tumorales, es decir, proliferación en frente a apoptosis. Se ha demostrado que los receptores $P2X_{3,4,5}$ y $P2Y_{2,4,6}$ son receptores purinérgicos que más se expresan en cáncer de pulmón. Se ha demostrado que la disminución de SERCA2 conduce a una baja capacidad de Ca^{+2} del retículo endoplasmático, lo que reduce el riesgo de sobrecarga en Ca^{+2} mitocondrial. Una SOCE (la entrada de Ca^{+2} operada por la SOC) encuentra una acción reducida en células tumorales y puede deberse a una capacidad reducida de Ca^{+2} en retículo endoplasmático, y el responsable es la sobreexpresión de Bcl-2. El receptor $P2X_7$ se considera que actúa como un factor proapoptótico al aumentar la permeabilidad de la citomembrana por una alta concentración de ATP. La adaptación a niveles elevados de ATP en el microambiente tumoral a través de una baja expresión de $P2X_7$, puede repercutir como efecto secundario para escapar de la apoptosis.

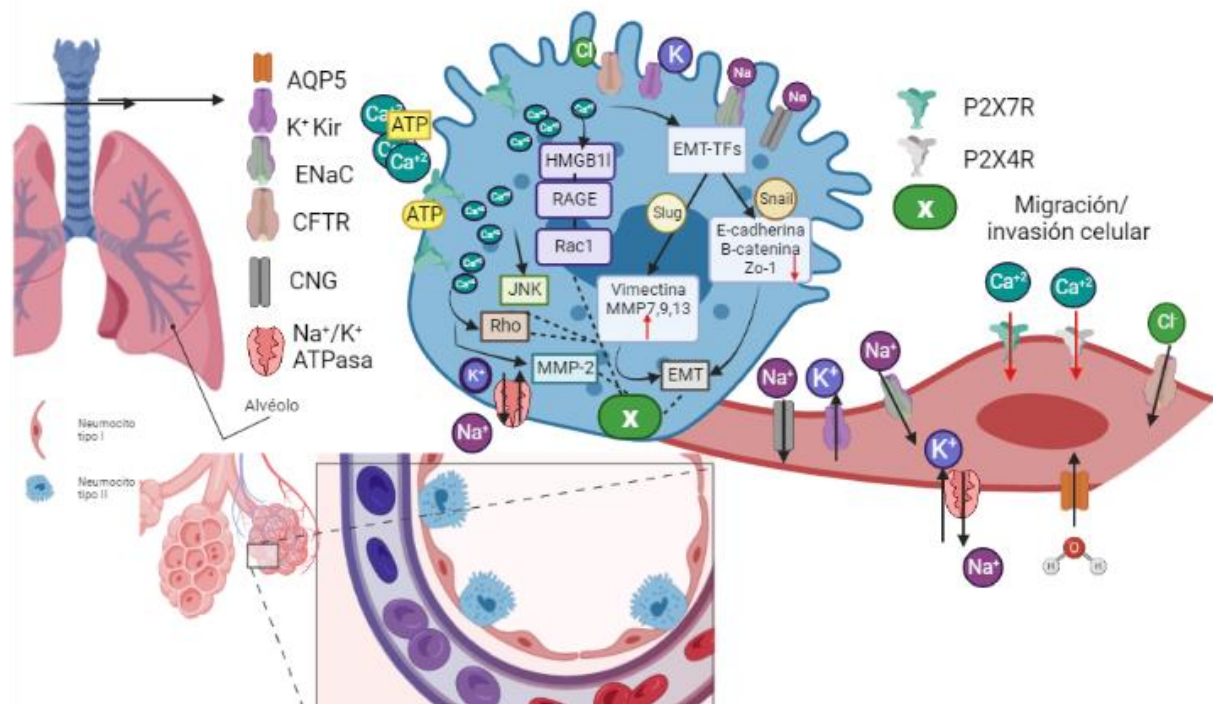


Fig. V. Distribución de canales iónicos y transportadores en Neumocitos tipo I (ATI) y Neumocitos tipo II (ATII) de los alveolos y las vías de señalización relacionadas con $P2X_7$ en cáncer de pulmón.

ATP activa el $P2X_7$ para abrir canales iónicos en la membrana de las células de las células del cáncer de pulmón. El $P2X_7$ puede activar la JNK y Rho cinasa y la vía HMGB1-RAGE. Además, el $P2X_7$ induce la transición mediante la regulación de la expresión de proteínas relacionadas con la EMT, y estas vías pueden promover la migración o la invasión de las células de cáncer de pulmón. Fuente: elaboración propia.

La relación Bcl-2/Bax modulada por ATP, requiere más ensayos con el propósito de describir la causa-efecto ante el aumento sostenido de Ca^{+2} intracelular, proporcionando un objetivo terapéutico importante. La eliminación del aumento mediado por ATP, tiene como consecuencia una atenuación de la capacidad antiapoptótica del cáncer de pulmón para canales como VDCC (canal de calcio dependiente de voltaje) y ROCC (canal operado por calcio) o mecanismos de secuestro a Ca^{+2} (Song, S y col., 2016). Estas células también expresan $P2Y_6$, lo que induce actividad de CaCC con un efecto máximo en comparación con el resto de P2Y. Un estudio realizado en líneas celulares como A549, una línea celular alveolar humana, y BEAS-2B de células epiteliales bronquiales, donde se expresa $P2Y_{14}$ participando en respuestas inflamatorias específicas ante la regulación purinérgica de la secreción de IL-8, este receptor con su gran capacidad de respuesta al agonista selectivo UDP-glucosa. Su activación induce la movilización de Ca^{+2} desde los depósitos intracelulares. La primera y la respuesta más documentada del epitelio respiratorio a las citoquinas de la “primera ola” quimioatrayente de neutrófilos. El UTP, un agonista de $P2Y_2$ estimula la secreción de IL-8 a partir de cultivos de células epiteliales bronquiales humanas, pues su regulación está basada en un mecanismo purinérgico inducido por patógenos, dando protagonismo a las cascadas de señalización dependientes de DUOX/EGFR1. Demostrando que la activación del receptor tipo Toll por productos bacterianos provoca la liberación de ATP para producir peróxido de hidrogeno por DUOX1. H_2O_2 activa enzimas de superficie que degradan ligandos de EGFR. El resultado de la activación de EGFR provoca la activación de las vías ERK1/2 y NF- κ B, la cual promueve IL-8 (Burnstock G., 2007).

6. Cáncer de próstata

La próstata está organizada de manera análoga a un grupo de uvas sumergidas en una gelatina fibrosa. Cada una de estas uvas es equivalente a un alveolo revestido con células epiteliales secretoras columnares altas que drenan por un sistema de conductos ramificados en la uretra prostática. El epitelio prostático este compuesto por tres tipos de células: epiteliales secretoras (tubuloalveolares), basales y progenitoras. El epitelio consta de células basales, neuroendocrinas y secretoras (luminales) y esta polarizado de modo que las secreciones surgen en el aspecto luminal del epitelio. Las células epiteliales ubicadas en la base secretan matriz extracelular para la membrana basal y también influyen el tallo y sus poblaciones progenitoras. El estroma

fibromuscular consta de células de musculo liso, fibroblastos, nervios, células endoteliales, células inmunitarias y vasos sanguíneos (Gail, 2018). Se encuentra evidencia que fibroblastos estromales tienen la capacidad protumorigénica en microambiente tumoral por inducir la transformación epitelial y estimular la supervivencia que incluso contribuyen al crecimiento persistente de células tumorales después de la intervención terapéutica. Es sede de las tres grandes causas de morbilidad en el hombre: hiperplasia prostática benigna (BPH), cáncer de próstata y prostatitis. La zona de transición, que es el 15 al 30% de la glándula prostática, es el sitio donde surge con más frecuencia BPH. El cáncer de próstata se trata de una enfermedad de crecimiento lento, aproximadamente un tercio de los hombres tratados no se curan, el tumor reaparece y la enfermedad reaparece hasta metástasis. A diferencia de las enfermedades benignas, suele surgir en la zona periférica de la glándula y algunos pacientes tienen BPH y cáncer de próstata. En un joven adulto, la zona periférica representa más del 70% del tejido glandular y con la mayor aportación funcional. Asimismo, la zona periférica es la región más común para el origen tumoral, dato respaldado en un 80% en casos en tumores de próstata. Aunque se han usado términos para describir la displasia epitelial prostática o atípica, estas lesiones morfológicas heterogéneas ahora se consideran bajo el termino único de “neoplasia intraepitelial prostática”. Esta se define como la presencia de células epiteliales citológicamente atípicas o displásicas dentro de glándulas y acinos de apariencia arquitectónicamente benigna, se considera una lesión premaligna con base a su presencia común adyacente a los adenocarcinomas. La hiperplasia adenomatosa atípica representa una lesión con un cambio premaligno, cumpliendo con los criterios arquitectónicos de malignidad (ruptura de la capa de células basales, principalmente de la zona de transición), pero sin los cambios citológicos diagnósticos del cáncer. Más del 95% de los canceres de próstata son adenocarcinomas que surgen de las células epiteliales. Se han descrito otras histologías raras, que incluyen carcinoma mucinoso o de células en anillo de sello, carcinomas quísticos adenoides, tumores carcinoides, carcinomas del conducto prostático grande y canceres indiferenciados de células pequeñas. Los tumores con apariencia neuroendocrina /carcinoides y de células pequeñas indiferenciadas) puede surgir de las células de Kulchitsky, que se encuentran en las regiones basales del epitelio prostático. Los carcinomas de células pequeñas de próstata tienen características histológicas y clínicas similares de otros carcinomas de células pequeñas extrapulmonares (Oh W.K., 2003).

El cáncer de próstata es el segundo cáncer más común en hombres después del cáncer de pulmón y representa el 7% de los nuevos cánceres diagnosticados en hombres a nivel mundial. Más de 1,2 millones de nuevos casos son diagnosticados y la mortalidad global relacionada con el cáncer de próstata supera los 350,000 anuales, lo que la convierte en una de las principales causas de muerte por cáncer en hombres. El riesgo de cáncer de próstata aumenta fuertemente con la edad y más del 85% de los individuos recién diagnosticados tienen más de 60 años. En consecuencia, la incidencia del cáncer es particularmente en regiones con una alta esperanza de vida como E.E.U.U. y el Reino Unido. La incidencia de cáncer de próstata es más alta en las naciones en desarrollo, las regiones con mayor incidencia son Australia y Nueva Zelanda en Oceanía, América del Norte y Europa, así como regiones de América del Sur, como Brasil. Las regiones con bajos ingresos como Asia meridional, Asia central y África subsahariana, tiene la incidencia más baja, pero algunas de las tasas más alta de aumento anual de la incidencia. En la parte racial, algunos grupos étnicos con descendencia africana o caribeña tienen un riesgo relativo dos veces mayor de cáncer de próstata temprano y más agresivo que las poblaciones blancas. Por el contrario, los hombres de ascendía asiática que viven en Asia tiene un riesgo menor de cáncer de próstata que los hombres blancos que viven en E.E.U.U. Las causas de la mortalidad ajustada por edad en los países en desarrollo también pueden relacionarse con un aumento de factores riesgo. Los factores no hereditarios, generalmente aumentan la mortalidad relacionada con el cáncer de próstata, y se incluyen: la exposición al humo del cigarrillo, obesidad y una dieta occidental. La obesidad es una afección proinflamatoria, y su efecto está estrechamente relacionado con la gravedad de la BPH, la progresión y el aumento de la retención urinaria. Se correlaciona este fenómeno con la inflamación, la activación de la señalización NF- κ B y la posterior expresión de la variante 7 del receptor de andrógenos constitutivamente activo se correlaciona con la progresión de BPH. Los nódulos estromales contienen un aumento de linfocitos T y B, y la infiltración de células inflamatorias y citocinas (IL-2, IL-8, IL-17 e IFN- γ).

Grupos étnicos como judíos asquenazíes y los descendientes de islandeses, presentan mayor riesgo de cáncer a temprana edad, además que el cáncer de próstata es más agresivo. Este riesgo está relacionado con mutaciones de la línea germinal en genes como BRCA2. En términos de herencia, la incidencia se considera una de las más altas ante cualquier malignidad (aproximadamente del 9% de las personas). La acumulación de mutaciones somáticas en el genoma de células epiteliales de la próstata a lo largo de la vida de un paciente, estas

aberraciones ocurren en oncogenes o genes supresores de tumores, conduciendo a defectos de transcripción o transducción, y a una homeostasis celular desregulada. Los genes de reparación al daño en ADN sufren mutaciones de la línea germinal y trae como consecuencia un mayor riesgo de aparición temprana de cáncer de próstata (aproximadamente antes de los 60 años). Los genes modificados son BRCA1, BRCA2, ATM, ATR, NBS1, así como genes relacionados con la reparación por errores de emparejamiento (MSH2, MSH6 y PMS2), CHEK2, RAD51D y PALB2). Aquellas mutaciones que confieren mayor riesgo son BRCA2 y HOXB13 que confieren un riesgo relativo mayor. Estudios de asociación del genoma ha identificado más de 179 polimorfismos de un solo nucleótido, incluso en la región genómica donde se ubica el oncogén MYC53. El panorama que presentan estos polimorfismos tiene gran utilidad para detectar cánceres de próstata familiares y de aparición temprana (Rebello R., 2021). Cabe hacer énfasis que FOXA1 es esencial para la organogénesis de la próstata y funciona como una oncoproteína para aumentar la transcripción de AR, particularmente sucede en cáncer avanzado con tendencia a metástasis. Alteraciones de PI3K, que incluyen mutaciones de ganancia de función en los intermediarios PI3KCA y PI3KCB, representan el 6% y el 2% respectivamente de AKT en tumores avanzados. El oncogén MYC y la pérdida de 8p, que contiene el supresor de tumoral NKX3-1, son frecuentes y ocurren del 20 al 30% de pacientes con enfermedad avanzada. La importancia de MYC no representa un pilar carcinogénico en próstata puesto que es expresado de forma ubicua en todas las etapas del desarrollo tumoral. TP53 y RB1, otros genes implicados en el control de la estabilidad genética, estos poco a poco pierden su funcionalidad y en efecto favorecen la progresión con eventos tumorigénicos. Las firmas genéticas que comprenden múltiples características incluyen alteraciones en copias de genes, metilación y fenómenos mutacionales como kataegis, cromotripsis, y cromoplexia, pueden ser indicativos de agresividad. El crecimiento de la inestabilidad genética y la relación con falla bioquímica y progresión clínica a metástasis (Rebello R., 2021). La metástasis de cáncer de próstata se relaciona con la diseminación linfática a ganglios locorregionales o diseminación hematogena y la localización en el estroma de la médula ósea sobre esqueleto axial, en casos raros, en sitios viscerales distantes. Siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad de la enfermedad. En el esqueleto axial, tanto quimiocinas (*CXC₄R* interactuando con *CXCL₁₂* en hueso) como adipocitos de la médula ósea, cuyo contenido son un atrayente clave en el nicho metastásico. Primero se debe presentar una proliferación extensa, neovascularización y

extravasación del sitio primario. Las células epiteliales malignas deben regular a la baja la expresión de proteínas involucradas en la unión célula-célula y célula-ME y convertirse en móviles, un proceso de transición epitelial-mesenquimatoso. Estas células degradan la ME, las células tumorales diseminadas deben evadir la vigilancia inmune y resistir la destrucción y mecanismos intrínsecos de muerte celular, desde donde los clones viajan posteriormente a través del torrente sanguíneo a un sitio secundario (Gail, 2018).

6.1 Fisiopatología purinérgica en cáncer de próstata

Un P2X comúnmente expresado en cáncer es $P2X_4$, donde la principal actividad realizada es la tumorigénesis y cuya evidencia involucra una invasividad inducida por $TGF\beta$ -1, además de la transición epitelial a mesenquimatoso en células de PCa. Un estudio reveló datos para la viabilidad, proliferación, migración, invasión y apoptosis con antagonistas selectivos $P2X_4$, 5-BDBD y PSB-12062, en líneas celulares PC3, LNCaP y la cepa C4-2B4 derivada de LNCaP, siendo este receptor purinérgico más expresado a nivel transcripcional en PCa. Su inhibición disminuye la proliferación y la viabilidad, pero no afecta la apoptosis celular *in vitro*, al extrapolar el fenómeno realizado contra el crecimiento en glioblastoma multiforme, donde se demostró que $P2X_4$ regula el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)/receptor de tropomiosina cinasa B (TrkB)/factor de transcripción activador 4 (ATF4). La falta de apoptosis en células PCa no es suficiente como se ha demostrado en cáncer de mama, pues $P2X_4$ modula otros receptores/señalización como $P2X_7$ y Panx-1. En migración e invasión inhibiendo $P2X_4$ afecta la movilidad celular, efecto regulado de la fosforilación de P38/MAPK inducida por el influjo de Ca^{+2} . En PCa, p38 activado promueve apoptosis, pero debe coordinarse con otras señales (vía PI3K/Akt), propiamente p38 considerado con característica prooncogénica. *In vivo*, $P2X_4$ desarrolla una insensibilidad a la necrosis tumoral, este rasgo se asocia con un mal pronóstico. Se sugiere que liberar ATP de panexina-1 activados por $P2X_{4/7}$ conduce a un modo mixto apoptótico-necrótico (por la exposición prolongada de $IL-1\beta$), lo que explicaría una necrosis ausente en ratones tratados con 5-BDBD (He J., 2020). Para el caso de receptores $P2X_1$, se ha demostrado una distribución en músculo liso, los receptores $P2X_7$ en las células epiteliales y los receptores $P2X_3$ en el tejido intersticial, probablemente asociados con los nervios sensoriales. Funcionalmente, se ha caracterizado que la próstata expresa el ARNm de los receptores $P2Y_1$ (Burnstock G. y Knight G., 2004). El efecto del ATP y la adenosina sobre

el cáncer de próstata (PCa) se describió por primera vez en 1992 cuando Fang y colaboradores encontraron que el ATP, así como algunos agonistas del receptor P2 inhiben su crecimiento celular independiente de andrógenos en DU145, PC-3 y PC-3M. Los agonistas indujeron respuestas de Ca^{+2} y señal de inositol en estas líneas celulares (Lertsuwan K., 2017). En las diferentes etapas de cáncer de próstata se expresan $P2X_{4,5,7}$, incluido el cáncer localizado, PCa sensible a las hormonas y PCa metastásico del tipo resistente a la castración. $P2X_7$ aumenta la entrada de Ca^{+2} o la participación mitocondrial. El ATP liberado bajo presión hipotónica promueve el crecimiento celular en PCa. El estrés hipotónico inicia el ciclo de alimentación hacia la liberación de ATP y la señalización del receptor purinérgico, luego aumenta el Ca^{+2} intracelular y activa proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK)/p38, ERK1/2 y PI3K en líneas celulares de PCa, p38/MPAK asociado a la proliferación celular. IL-6 influye en las células por medio de MAPK/SIRT1/p38 MAPK. P38/MAPK regula la muerte celular, promueve la apoptosis con la coordinación con otras señales como PI3K/AKT en tumores sólidos de manera dual según el estímulo y el tipo de células afectada, tal como sucede en la diferenciación neuroendocrina. La vía PI3K/AKT/mTOR, particularmente una asociación compleja entre MAPK y AR, pueden progresar PCa. La invasividad se aumenta con HIF-1 α acumulado, modulando propiamente al $P2X_7$, además estimula la angiogénesis por hipoxia. Tumores con expresión funcional de $P2X_7$ pueden detectarse en enriquecimiento del VEGF en una red vascular densa. En efecto, si se regula negativamente el purinoreceptor procede una reducción en los niveles de HIF-1 α , VEGF y la angiogénesis, como se muestra en la fig. VI. Sin embargo, en monocitos, la activación breve y prolongada facilita la liberación de VEGF. $P2X_7$ desencadena la vía PI3K/AKT promoviendo la invasividad; ERK1/2 y genes específicos relacionados con la transición epitelio-mesenquimatoso/invasión. Snail, IL-18, MMP-3, E-cadherina, y claudina-1 son factores de ME influenciado por ATP y BzATP. La hipoxia, HIF-1 α activa $P2X_7$ y el receptor para la expresión de productos finales de glicación avanzada (RAGE). Su expresión y RAGE median la fosforilación de AKT y ERK1/2 y la translocación del factor nuclear kappa B (NF-KB). Por otro lado, HIF-1 α afecta a MMP, especialmente MMP-9, y MMP-2, lo que da como resultado invasión, migración y metástasis ósea de las células de PCa (Wang Z. *et. al*, 2022).

El papel de los P2Y en la muerte celular y la supervivencia fue trabajado por Shabbir y col. (2008), donde la apoptosis esta mediada por receptores purinergicos en enfermedad resistente por castración. $P2Y_2$ desencadeno Src, que fosforilo p38, lo que resulto en una sobreexpresión de COX-2 y resistencia apoptótica celular en DU145. Por el contrario, utilizando un agonista selectivo del receptor $P2Y_1$, el análogo de ADP MRS2365, la activación de la muerte celular inducida por el receptor suprime la proliferación en células PC-3 por medio de la capacidad para desencadenar la fosforilación de ERK1/2. Además, estudios *in silico* y con evidencia computacional basada en estructuras y análisis de acoplamiento llevo a la misma conclusión, que $P2Y_1$ activado induce apoptosis y es logrado con la señalización de caspasas 3/7 y ROS, representado en la fig. VI. Se inhibe la proliferación por $P2Y_{2,11}$ eficazmente en las fases sensibles a andrógenos, independiente de andrógenos y de adaptación ósea. De caso contrario, tanto *in vitro* como *in vivo*, la migración e invasión se favorece por ATP. También el receptor P2Y desencadena la fosforilación inducida por ATP de EGFR y ERK1/2, lo que resulta en invasión y migración de células cancerosas orales en ratones. El ATP influye en IL-8, Snail, E-cadherina y claudina-1, en consecuencia en la transición epitelial-mesenquimatosa y genes de metástasis con aumentos en IL-8 y Snail, así como la reducción de E-cadherina y claudina-1. La interleucina permite la migración y la necesidad del purinoreceptor para la expresión mediada por ATP de la transición/ genes con la invasión celular (Wang Z. *et. al*, 2022).

La angiogénesis tumoral está regulada por canales iónicos de K^+ y Ca^{+2} , mientras que la invasión tumoral y la metástasis están modulados por canales de Na^+ y Cl. Su composición con 7 subunidades distintas que forman un complejo en forma de cáliz. Cada subunidad comprende un gran ectodominio que contiene un sitio de unión a ATP, terminales N y C intracelulares y dos dominios transmembranales. La metástasis requiere un fenotipo móvil temprano seguido de la transformación a un fenotipo adhesivo para facilitar la interacción con las proteínas de ME. Proteínas de unión GTP, Rac1 y Cdc42, desempeñan un papel crucial en la metástasis, a través de regulación de las estructuras del citoesqueleto de actina. Rac1 es un componente esencial del sistema NADPH oxidasa, una fuente importante de generación de superóxido en la célula. Sus subunidades de oxidasa como gp91, p22, p47 y p67 confieren la actividad enzimática. Otras proteínas asociadas con la activación de la holoenzima son p40, Rap1A y Rac1, su activación facilita a NADPH oxidasa y la generación de ROS. Las ROS no solo aumentan la transformación

oncogénica y la tasa de mutación, sino que activan vías para promover la proliferación y metástasis. Actúan como moléculas de señalización de receptores del MAPK (factor de crecimiento para activar la proteína cinasa activada por mitógeno) como p38, cinasa regulada por la señal extracelular (ERK) y la cinasa N-terminal c-Jun, siguiendo la fig. VI.

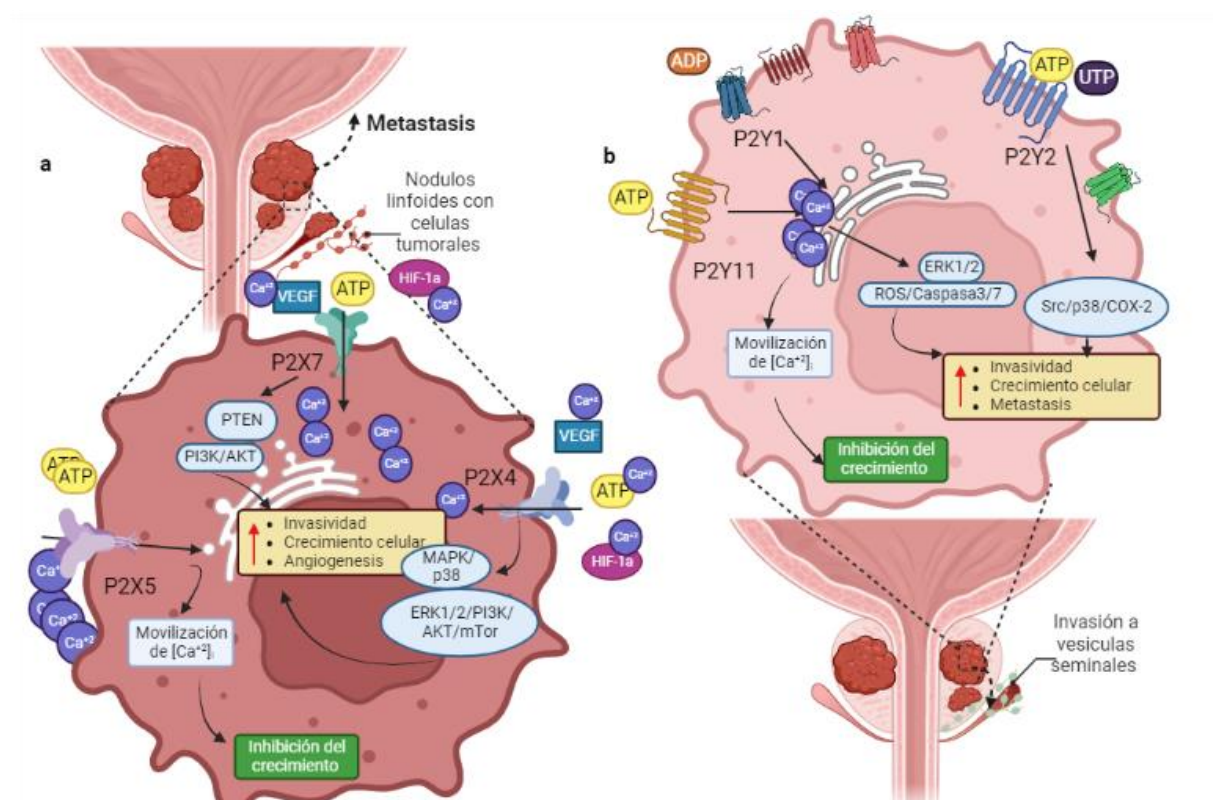


Fig. VI. La vía de P2X y P2Y en el cáncer de próstata.

- a. Al iniciar el ciclo de retroalimentación de liberación de ATP, $P2X_4$ y $P2X_7$ aumentan el Ca^{2+} intracelular y desencadenan la participación de MAPK, p38, ERK1/2 y PI3K. Mientras tanto, la vía PI3K-AKT-mTOR y las múltiples cascadas de señalización celular que interactúan, especialmente la compleja diafonía entre MAPK y AR, pueden promover aún más el crecimiento y la metástasis en las células de cáncer de próstata. A diferencia del crecimiento, el ATP puede inhibir el crecimiento de las células resistentes a la castración en un 90 % a través de un aumento rápido y transitorio del Ca^{2+} libre citoplasmático por parte de $P2X_5$, lo que induce la apoptosis en un mecanismo independiente de Ca^{2+} .
- b. La activación de $P2Y_2$, a su vez, activa Src, que fosforila a p38, lo que conduce a la sobreexpresión de COX-2, provocando resistencia a la apoptosis en las células de cáncer de próstata. Por el contrario, los receptores $P2Y_1$ y $P2Y_{11}$ inducen la fosforilación de ERK1/2, especialmente $P2Y_{1R}$ induce la activación de la apoptosis a través de la vía de señalización de caspasa 3/7 y especies reactivas de oxígeno (ROS).

Fuente: elaboración propia.

Estas vías culminan en la regulación de las proteínas del ciclo celular. A_3 con acción antitumoral, siguiendo el mecanismo subyacente ejerce la inhibición de AMPc, reduciendo la actividad de PKA y la glucógeno sintetasa cinasa- 3β , la desestabilización de β -catenina y la supresión de la ciclina D_1 y c-Myc, El agonista suprime el crecimiento *in vivo*. Y lo logra por una elevada actividad de NADPH oxidasa inhibiendo AMPc/PKA. PKA regula positivamente la activación de ERK1/2 que actúa como activador directo de p47. Además, A_3 activado reduce la expresión de p47 y Rac1, eliminando retroalimentación positiva de la generación de ROS. Es probable que la activación de ERK1/2 por PKA esta mediada por la proteína B-Raf, siendo sustrato para cinasa al tener una alta actividad de ERK1/2 en células de PCa. La secuencia principal en los sustratos al cual se dirige ERK1/2 es Pro-X-Ser/Thr.Pro, donde X es un aminoácido básico o neutro, es aquí donde la subunidad p47 contiene la secuencia diana (Ser-345 y Ser-348) con residuos de serina, representando objetivos funcionales para la fosforilación. IB-MECA se postula útil en cáncer independiente de andrógenos como opción de tratamiento. La vía ERK1/2 permite la proliferación con el aumento de la transcripción de ciclina D_1 , la activación de cinasas dependientes de ciclina o la inhibición del inhibidor de cinasa dependiente de ciclina p27. Además, ERK1/2 aumenta la expresión de Rac1 y MMP-1, 2 y 9, a través de A_3 produciendo la supresión de una vía de señalización de adenilato ciclasa-PKA, que regule directamente la MAPK/p38, ERK1/2 y NADPH oxidasa. En general, incrementando la migración e invasión celular (Jajoo S. *et. al.*, 2009).

7. Cáncer de mama

Es la neoplasia maligna más frecuente en la mujer de características heterogéneas a nivel molecular, dentro de los últimos 15 años la evolución del tratamiento contempla dicha heterogeneidad con énfasis en terapias dirigidas en la biología molecular. Las mejoras en la terapia multimodal han llevado a aumentar las posibilidades de supervivencia entre 70-80% de los pacientes, gracias a la detección oportuna. Por lo contrario, la enfermedad avanzada (metastásica) es una enfermedad tratable con el fin de prolongar la supervivencia y controlar los síntomas con baja toxicidad asociada al tratamiento para mantener la calidad de vida.

Según su origen, el cáncer de mama (BC) puede desarrollarse en los conductos lácteos o en las glándulas productoras de leche, lo que clasifica los siguientes subtipos histológicos de acuerdo con el carácter preinvasivo e invasivo, se clasifica de la siguiente manera. El preinvasivo: se tiene el carcinoma ductal *in situ* (DCIS) propagándose a través de los conductos y distorsiona la arquitectura ductal, puede progresar a invasivo unilateral, un tipo de cáncer de mama temprano, es decir, el cáncer que se encuentra contenido en la glándula mamaria o que solo se ha diseminado en ganglio linfáticos axilares, es curable; y el carcinoma lobulillar *in situ* (LCIS) este no distorsiona el conducto en su citoarquitectura, presentándose bilateral y el factor de riesgo depende del lugar de origen. Después pasamos al invasivo: carcinoma ductal del tipo no especial se desarrolla a partir de DCIS, produce una masa fibrosa y hace metástasis en los ganglios linfáticos y sangre; y carcinoma lobulillar (CLI) aislado de células tumorales (mutaciones en CDH1) con una respuesta mínima fibrosa y hace metástasis preferentemente a través de vísceras. Las alteraciones moleculares que conducen a la carcinogénesis de mama a múltiples clasificaciones desarrollando un grupo de tumores. Perou y Sorlie en 2000 aportaron una clasificación amplia y que a lo largo de los años ha sido flexible a modificaciones. En su clasificación distinguieron cuatro subtipos de cáncer de mama: luminal A, luminal B (representando el receptor estrógeno ER, el factor receptor de crecimiento epidermal HER2). Esta clasificación hizo que el manejo clínico del cáncer de mama progresara, posteriormente se agregó un enfoque centrado a la biología. Actualmente, la práctica clínica suele clasificarlos en cinco subtipos sobre características histológicas y moleculares. Los tumores que expresan ER o receptores de progesterona (PR) se consideran cáncer de mama con receptores hormonales positivos mientras que los que no expresan ER, PR o HER2 son cáncer de mama triple negativo. Es decir, la evaluación de biopsias proporciona información sobre el grado de agresividad del tumor y la presencia o ausencia de marcadores específicos que ayuden a tomar decisiones, con cuatro posibles grupos moleculares intrínsecos dependiendo de la presencia de receptor de estrógeno (ER), progesterona (PR), o receptor 2 del factor de crecimiento epidémico humano (HER2): luminal A (ER⁺, PR⁺, HER2⁻), luminal B (ER⁺, PR^{+/-}, HER2^{+/-}), HER2-enriquecido (ER⁻, PR⁻, HER2⁺) y triple negativo (ER⁻, PR⁻, HER2⁻) (Harbeck N., Penault-Llorca F., Cortes J., Gnant M., Houssami N., Poortmans P., Ruddy K., Tsang J. and Cardoso F., 2019)

La predisposición genética asociada al historial familiar corresponde aproximadamente a un 10 %, esto varía dependiendo de la etnia y entre países en contexto del inicio temprano, bilateral o TNBC. Las personas con un familiar de primer grado que ha tenido cáncer de mama tienen un riesgo relativo elevado de 3 en cáncer de mama de aparición temprana. Sin embargo, los antecedentes familiares se asocian con un riesgo individual errático de cáncer de mama compuesto de diferentes variables, incluido el tamaño de la familia y los factores ambientales. Mutaciones en dos genes supresores tumorales de alta penetrancia, BRCA1 (17q21) y BRCA2 (13q13), cuyas proteínas están involucradas en la reparación de ADN por medio de la reparación homóloga. Estas mutaciones están asociadas con un riesgo acumulativo promedio de desarrollar cáncer de mama a la edad de 80 años de 72% y 69% respectivamente. La prevalencia de esta mutación varía entre grupos étnicos, siendo más baja en el grupo asiático (0.5%) y más alta en el grupo asquenazi (10.2%) en todo EE. UU. Se ha demostrado que varios síndromes relacionados con mutaciones de la línea germinal de genes implicados en la reparación de ADN y el mantenimiento de la integridad genómica están relacionados, en menor grado, con el riesgo de cáncer de mama. La secuencia de próxima generación ha permitido examinar paneles de genes más allá de BRCA1 y BRCA2 para determinar el riesgo hereditario e incluyen ATM, CHEK2, PALB2, PTEN, SLT11 y TP53 (Ruiz V. y colab., 2020).

7.1 Fisiopatología purinérgica en cáncer

En glándula mamaria, la señalización purinérgica se encuentra en células mioepiteliales de la mama, un tipo de célula contráctil derivada de células pluripotenciales a células epiteliales secretoras, y su contracción comprime los alveolos para expulsar la leche materna por el conducto galactóforo. La liberación de oxitocina por la neurohipófisis, el ATP actúa en sinergia con la oxitocina para incrementar la concentración de $[Ca^{2+}]_i$ evocando acople excitación-contracción, al parecer la cascada de señalización es debida a la presencia de receptores $P2Y_2$, sea por comunicación neural o paracrina (Burnstock G. y Knight G., 2004).

Los receptores de la familia P1, más expresados en células tumorales son A_3 y A_{2B} . En cáncer de mama, A_3 promueve una disminución de la mortalidad celular mientras que A_{2B} induce migración y metástasis. Los receptores $A_{1,2A,3}$ pueden ser estimulados por niveles inferiores de adenosina, alrededor de 20 a 300 nM. A_{2B} , necesita niveles altos de ADO para activarse en ambientes hipóxicos e inflamatorios. A_1 está involucrado en el proceso de carcinogénesis de

varios tumores, incluso cáncer de mama. Esta implicación se confirmó mediante el silenciamiento de este receptor en líneas celulares donde se observó la acumulación de células en fase G_2/M . Estudios *in vitro* utilizando células ER^+ y un agonista de A_1 aumenta la tasa de supervivencia mientras que los niveles de apoptosis disminuyen. La vía requerida quizá sea disminuir la expresión de p53 y caspasas. Sin embargo, se puede observar un efecto beneficioso de la activación de estos receptores ya que pueden garantizar la integridad endotelial, reduciendo el proceso invasivo. El receptor A_{2A} se expresa en linajes dependientes de hormonas en células tumorales de mama, conduciendo a una mayor actividad del adenilato ciclasa. El linaje MDA-MB-231 (ER^-) concentra altamente A_{2B} y apuntándose como biomarcador molecular potencial para el diagnóstico y pronóstico de cáncer de mama. Induciendo migración y metástasis, fenómenos producidos por la señalización de adenilato ciclasa, AMPc y PKA. El silenciamiento de A_{2B} se observa una menor actividad de las proteínas ERK1/2, FOXM1 y c-Myc, implicadas en el control del ciclo celular. En sincronía esta disminución sugiere el control del proceso metastásico del cáncer a través de cambios en vías Raf/MEK/ERK. Sumado que A_{2B} está relacionado con mayor resistencia a la doxorrubicina en el tratamiento. Por lo tanto, su inhibición disminuye el crecimiento y potencial metastásico en tumores ER negativos y TNBC. Fig. VII (De Araújo JB. *et. al.*, 2021). El receptor A_3 es encontrado en niveles altos tanto en tumores primarios como metastásicos. La activación de A_3 promueve apoptosis y la desregulación de Wnt/ β -catenina en células ER^+/ER^- . La apoptosis es inducida por una cinasa dependiente de ciclina (CDK) para las proteínas Bcl-2 y caspasas. En BCSC (células madre de cáncer de mama), la estimulación de A_3 a bajas concentraciones provoca una detección de G_1 , debido a una actividad disminuida de la ciclina D_1 y CDK. En este proceso está involucrada la vía ERK1/2, uno de los reguladores de la transición de G_1 a S siendo muy importante en la estabilización y formación de los complejos D_1 -CDK4. Por otro lado, si ocurre una alta estimulación de A_3 provoca apoptosis mediante la regulación de la vía Bax/Bcl2 y que se correlaciona con la caspasa-6, este efecto se identificó en los linajes celulares MCF-7 y MDA-MB-231. Aun así, se cree que los receptores de adenosina son inhibidores de la vía de señalización Hedgehog, cuya función es la renovación celular y manteamiento de células madre mamarias, como se muestra en la fig. VII (De Araújo JB. *et. al.*, 2021).

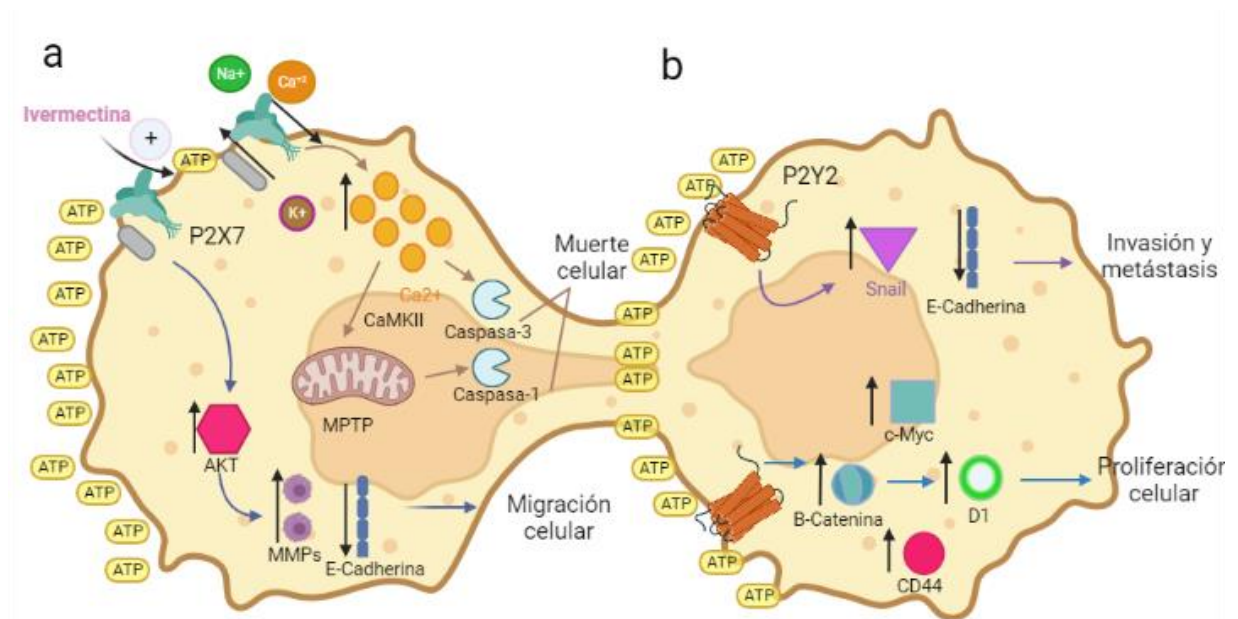
El microambiente generado por receptores A_{2A} y A_{2B} conlleva a actividad inmunosupresora. Estos receptores son los más estudiado del tipo P1 en la regulación de células T. Del mismo modo CD73, una ecto-5'-nucleotidasa, aprovecha AMP para producir adenosina, algunos estudios con antagonistas para receptores $A_{2A,2B}$ en células cancerosas positivas para CD73 reportan una reducción de la metástasis mientras que antagonistas del receptor A_{2A} aumentan la capacidad citotóxica de células NK. En BCa triple negativo (TNBC) que expresa altos niveles de CD73, efecto de la activación de receptores $A_{2A/2B}$ provoca metástasis y una actividad antitumoral inmune ineficaz que suprime la eficacia de antraciclinas, lo que sugiere que la señalización purinérgica podría conducir quimiorresistencia. Se encontró que los linfocitos T CD8⁺ mostraron una expresión disminuida de A_{2A} después de quimioterapia, y consecuencia de nula promoción de la células dendríticas para activar linfocitos T y aumentar la concentración de ATP extracelular, posiblemente un aumento en factores de transcripción como NF-kB, la regulación negativa de NF-kB por A_{2A} hace que los linfocitos T CD8⁺ anérgicos secreten baja producción de IFN- γ , esto en pacientes puede exponerse después del tratamiento de quimioterapia, por una disminución de la expresión del purinoreceptor (Ruiz V. y colab.,2020).

La abundancia del receptor $P2X_7$ en cáncer de mama lo coloca como un principal objetivo terapéutico. Se encuentra favorecido por la gran concentración de ATP en microambiente tumoral favorece su activación rápida permitiendo la apertura de un canal selectivo para la entrada de Na⁺ y Ca⁺² y la salida de K⁺. Cuando la estimulación se produce durante un lapso prolongado, el receptor purinérgico pierde su selectividad y permite el paso de diferentes moléculas de distintas masas moleculares, implicando actividades sobre mecanismos proliferativos y citotóxicos. En el estudio de Chadet *et al*, se encontró que MDA-MB-435s invasivo, durante la estimulación de $P2X_7$ aumenta la actividad proteolítica de ME favoreciendo el proceso metastásico. En el linaje celular BC-T47D, promueve la migración e invasión por la disminución de expresión de E-cadherina con el aumento de la secreción de MMP-13, siendo muy relevante en el proceso metastásico óseo. Se descubrió que $P2X_7$ induce la vía AKT en células T47D regulando enzimas proteolíticas para el proceso invasivo. El microambiente tumoral ha llamado la atención como un factor importante en la progresión del cáncer y la resistencia a fármacos, debido a repetidos procesos de crecimiento, muerte celular y respuestas inmunes adaptables. Los altos niveles de nucleótidos de purina extracelular estimulan una

señalización única a través del receptor purinérgico para la interacción huésped-hospedero. $P2X_7$ se distribuye en macrófagos, células microgliales y células pancreáticas, en piel, hueso y riñón. Su principal papel es en la activación dependiente de ATP del inflamasoma en las células inmunitarias. El $P2X_7$ activado unido a ATP desencadena la excreción de $[K^+]_i$ o la absorción de $[Ca^{+2}]_{ext}$ que es la siguiente activación de una proteína perteneciente a la familia NLR, un inflamasoma con 3 dominios (un dominio pirina N-terminal PYD; en el carboxilo terminal se encuentra un dominio que posee repeticiones ricas en leucina LRR; y una zona central conocida como NACHT que se une a nucleótidos y es responsable del proceso de oligomerización del inflamasoma), una proteína de enlace asociada a apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento de caspasa y pro-caspasa-1. Los NLR, receptores el tipo NOD corresponden a patrones conservados de secuencias proteicas, a través de receptores tipo PPR (un grupo especializado de proteínas intracelulares presentes en el citoplasma considerados esenciales para detectar patógenos e iniciar la respuesta inmune), responden a señales exógenas que proviene de bacterias, hongos o virus que contengan PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) o señales endógenas conocidas como DAMPs (damage-associated molecular patterns) también conocidas como alarminas las cuales, al ser liberadas por células dañadas ya sea por cáncer, trauma, necrosis e isquemia, estas moléculas median la inflamación asociada a procesos de estrés celular. Se han identificado la proteína HMGB-I (high mobility grupo box-1), la calgranulina A y B, y el amiloideo sérico tipo A como inductores de estrés. El inflamasoma NLRP3, también conocido como criopirina, resulta un complejo que funciona como un catalizador de la caspasa-14, una forma de caspasa de activación corte a la procaspasa-1, entre el dominio CAD y las regiones activas p10/p20 y produce un tetrámero activo caspasa-1/p10/p20, que es una proteasa de cisteínas que al activarse corta a la pro-IL-1 β , pro-IL-18 y pro-IL-33 lo que contribuye a la activación y secreción de IL-1 β , IL-18 y IL-33. También en un proceso de lisis celular llamado piroptosis que se da cuando el proceso de oligomerización no se lleva a cabo, quizás dichas responsables sean una proteína de choque térmico HSP90 y una proteína asociada con la ligasa de ubiquitina (SGT1) cuya tarea es regular la formación y activación del inflamasoma. En efecto, es consecuencia de una segunda señal de activación dada por la presencia de ROS, la salida de potasio a través de $P2X_7$ y la entrada de calcio, daño mitocondrial, la ruptura de vesículas de fagolisosomas que liberan catepsinas al espacio intracelular o bien la existencia de estrés en el microambiente celular, lo que favorece que

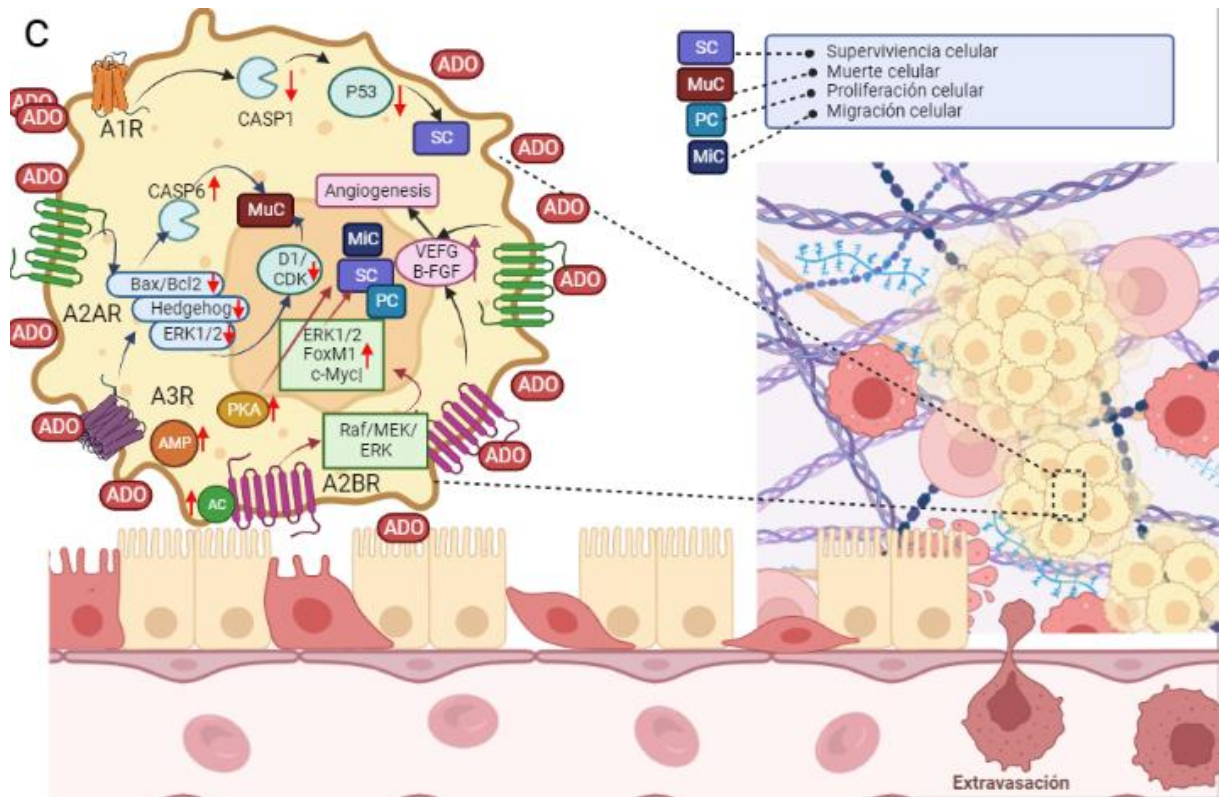
NLRP3 se active e interactúe con el dominio PYD con la proteína adaptadora ASC induciendo así la oligomerización del NLRP3, posteriormente el dominio CARD de ASC se une con su dominio CARD de la procaspasa-1 dando lugar a la formación del inflammasoma o complejo NLRP3. También se ha informado que la actividad del $P2X_7$ en la proliferación puede depender

Fig. VII. Papel de $P1$, $PX2$ y $P2Y$ en procesos celulares en cáncer de mama.



a) Entre los receptores $P2X$, se destaca el $P2X_7$ este receptor tiene una baja afinidad por el ATP, requiriendo altas concentraciones de esta molécula (como las que se encuentran en el MT) para su activación. Cuando la interacción entre ATP y $P2X_7$ ocurre rápidamente, se forma el macroporo que permite el paso selectivo de iones, con entrada de Na^+ y Ca^{+2} , y salida de K^+ . Este paso de iones conduce a la activación de vías de señalización como AKT, que promueve niveles elevados de MMP y disminución de la expresión de E-cadherina, los cuales están relacionados con una mayor migración e invasividad del tumor. Por otro lado, cuando la interacción se prolonga, hay una pérdida de selectividad de canal, lo que lleva a un aumento significativo en los niveles de Ca^{+2} intracelular. En estas condiciones, habrá la activación de vías apoptóticas y necróticas. El Ca^{+2} promoverá la activación de la proteína cinasa II dependiente de calmodulina (CaMKII), que a su vez activará el poro de transición de permeabilidad mitocondrial (MPTP), lo que conducirá a la liberación de caspasa-1, que está relacionada con el proceso necrótico. Además, el Ca^{+2} también dará lugar a la activación de la caspasa-3, relacionada con la vía apoptótica de la célula. Ambas caspasas promoverán la muerte celular. Cabe señalar que una de las actividades que desarrolla la ivermectina es aumentar la sensibilidad de $P2X_7$ al ATP, provocando que se produzca una activación prolongada de este receptor, activando así las vías de muerte celular, favoreciendo el control del crecimiento tumoral.

b) Dentro de la familia $P2Y$, el receptor que tiene una gran correlación es $P2Y_2$. Este receptor se encuentra altamente expresado en las células que conforman los bordes del tumor, y al ser activado por ATP promueve un aumento de la molécula Snail que controla la expresión de genes relacionados con la invasión y metástasis, y una disminución de E-cadherina. Tales condiciones favorecen la invasión y metástasis de las células tumorales. Además, la activación de $P2Y_2$ promueve un aumento de β -catenina, lo que a su vez provoca un aumento de los niveles de las moléculas c-Myc, ciclina D1 y CD44, todas ellas relacionadas con el control y progresión del ciclo celular. Así, $P2Y_2$, además de promover la invasión y metástasis, también promueve la proliferación de células BC (De Araújo y col., 2021).



c) El aumento de ADO en el medio extracelular por acción de CD73 provoca una mayor activación de los P1 y promueve la inmunosupresión en el MT, convirtiendo el control de las acciones de CD73 en una diana terapéutica. Los niveles bajos de glucosa y el pH bajo, así como las citocinas, como TGF- β , IFN y TNF- α , influyen positivamente en la actividad de CD73. (Flechas azules) La activación del receptor A_1 en una línea celular BC ER^+ (MCF-7) promueve la reducción del número de caspasas y de la proteína reguladora del ciclo celular p53, favoreciendo la supervivencia de estas células tumorales. Sin embargo, en esta misma línea celular, la activación del receptor A_3 , que puede ocurrir por agonistas como ADO y CI-BI-MECA, promueve (1) la disminución de la actividad de la vía de señalización ERK1/2, disminuyendo el número de complejos ciclina D1-CDK4, que están relacionados con la progresión del ciclo celular; (2) regulación de la vía Bax/Bcl2, provocando un aumento en el nivel de caspasas-6; y (3) disminución de la actividad de la vía de señalización de Hedgehog. El desempeño a través de estas tres vías promoverá la muerte celular. (Flechas negras siguen ER^+) La activación de los receptores A_{2A} y A_{2B} en las células endoteliales del MT promueve un aumento del VEGF y del bFGF, favoreciendo la angiogénesis. (Flechas rojas siguen células ER^-) En una línea celular BC ER^- (MDA-MB-231), la activación de los receptores A_{2B} por ADO regula las vías Raf/MEK/ERK, produciendo un aumento de las proteínas ERK1/2, FOXM1, c-Myc, que están involucradas en el control del ciclo celular. Además, la estimulación de este receptor conduce a un aumento de AC, lo que promueve un aumento de los niveles intracelulares de AMPc, que activa la PKA. Ambas vías A_{2B} promoverán la supervivencia, proliferación y migración de las células tumorales. Fuente: elaboración propia.

del tipo de célula o de la concentración de ATP extracelular. Ensayos con la línea celular TAMR-MCF-7 demuestra que $P2X_7$ no activa las vía de inflammasoma clásicamente conocidas lo que define que dicho receptor purinérgico puede controlar la vía no canónica en las células, está demostrado que causa piroptosis, una muerte celular a través de la estimulación continua del inflammasoma dado que se sobreexpresa en células con TAMR-MCF-7 en relación con MCF-

7. Esto puede ser causa de la deficiencia de ASC que se encuentra en las células TAMR-MCF-7, como un posible mecanismo de autoprotección para prevenir la muerte celular mediante la activación de $P2X_7$. Demostrado en la fig. VII (Park M. y col., 2019). Los receptores $P2Y$, en general tienden a promover la migración y contribuyen a la formación de nichos metastásicos. En linajes MCF-7 y MDA-MB-435, $P2Y_{2,11}$ activado promueve la reorganización del citoesqueleto y la membrana plasmática, favoreciendo la pseudopodia, condición necesaria para el proceso metastásico. La activación de $P2Y_{12}$ estimula el proceso metastásico, este intrínsecamente está involucrado en la agregación plaquetaria y también ayuda a la movilización de las células neoplásicas, mientras que $P2Y_2$ es activado por ADP y ATP en el endotelio, favoreciendo la migración celular. La migración de estas células está bajo el control de β -catenina. La señalización Wnt/ β -catenina incrementa la expresión de β -catenina, así como de genes regulados por esta molécula (c-Myc, ciclina D1 y CD44) controlando procesos de renovación, proliferación y diferenciación celular, además de influir en el control de la apoptosis. También este receptor purinérgico induce hipoxia por HIF-1 α , creando un ambiente favorable. Se encontró que aumenta su potencial invasivo por la transición mesenquimatoso epitelial (TEM) a través de una señal intracelular de Ca^{+2} . En los bordes mamarios, $P2Y_2$ encontrado en células que se infiltran en tejidos adyacentes, observándose una gran proporción de Snail y E-cadherina, expuesto en fig. VII. Es de gran importancia marcar que el mismo $P2Y_2$ esta correlacionado con el grado histológico, la amplificación de HER2 y el índice Ki-67 en los tumores mamarios. Finalmente, $P2Y_6$ presente y mutagénico se relaciona significativamente con un peor pronóstico en la enfermedad. La relación entre UTP y $P2Y_6$ produce mayor actividad de las MMP, a través de la señalización de ERK y NF- $\kappa\beta$, que estimula el escape del sitio del tumor primario y por ende la invasión a otras regiones. El subtipo TNBC sobreexpresa en gran magnitud ese receptor, aun así, tumores luminales A con peor pronóstico poseen elevados niveles de $P2Y_6$, un rasgo indicativo de características mesenquimales en estas células y se relaciona con la tasa de migración celular y la metástasis (De Araújo JB. y col., 2021).

El cáncer de mama y sus mecanismos de invasión y migración se realizan vía sanguínea y linfática, tal y como sucede con la diapédesis o la migración transendotelial de leucocitos, BCa viaja a lo largo de las paredes capilares a los bordes endoteliales, atravesando el endotelio y

subendotelio de la membrana basal para migrar al espacio intersticial. ICAM-1 y VCAM-1 permiten adherirse al endotelio con leucocitos interactuando con moléculas específicas (CD11, CD18, CD49 y CD29). El ATP mejora la unión al endotelio y la expresión de moléculas de adhesión se ve reforzada con receptores purinérgicos. El metabolismo de ATP localmente genera adenosina consistentemente regulando la permeabilidad del endotelio, dilatación-vasoconstricción de los vasos para regular el flujo. Además de la capacidad específica de la célula tumoral para elaborar factores de superficie en apoyo de interacciones adhesivas tumorales-endoteliales en la microvasculatura. En el caso de eventos de intravasación/extravasación pueden imitar la diapédesis, la liberación de elementos que favorecen la activación de receptores purinérgicos en células endoteliales. Las células tumorales de mama humano en cultivo secretan un nucleósido difosfato cinasa (NDPK-B) que apoya la activación de los receptores P2Y en células endoteliales. NDPK-B, una cinasa secretada como una fosfoproteína capaz de generar ATP de ADP localmente, que promueve vasodilatación y provoca la liberación adicional del factor vasoactivo de células endoteliales. En ensayos *in vitro* respalda la elaboración extracelular de NDPK-B y así aprovecha los mecanismos purinérgicos en vasos sanguíneos. La presencia y posterior metabolismo de ATP en el torrente sanguíneo suprimirá la agregación plaquetaria como ATP liberado por el endotelio o regenerado por NDPK-B en el sitio de intravasación/extravasación, así como en forma de adenosina. La angiogénesis involucra a NDPK-B, esta cinasa regula el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular, sin el acceso a oxígeno y nutrientes las células tumorales no crecerían más allá de 2-3 mm^3 , pero su mantenimiento endotelial se debe a un equilibrio de reguladores negativos (antiangiogénicos) y positivos (proangiogénicos) para proveer un cambio angiogénico en la tumorigénesis bajo condiciones mutagénicas e hipóxicas que impulsan a factores proangiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), la interleucina 8 (IL-8) y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β). Las sustancias que suprimen la angiogénesis, que raramente también la secretan tumores primarios pero si el caso de la angiostatina (un plasminógeno potente inhibidor), este inhibe la formación de metástasis en tumores secundarios de ratón y bloquea la acción de NDPK-B en estudios *in vitro*. La tirosina cinasa un inhibidor demostrado para el receptor de VEGF, el factor de crecimiento epidermal (EGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Buxton ILO. *et. al.*, 2009). Este mecanismo de

intravasación/extravasación, inhibición de la agregación plaquetaria, vasodilatación y diapédesis, se ve favorecida por una molécula identificada y secretada por células tumorales que eleva patológicamente los niveles de nucleótidos extracelulares, dicha actividad es realizada por NDPK-B. NDPK-B transfiere covalentemente γ -fosfato de un nucleósido trifosfato a un nucleósido difosfato, funciona como un nucleósido difosfato cinasa. La expresión de nm23-H1 (NDPK-A) y nm23-H2 (NDPK-B), distribuidos en el citosol y la membrana plasmática, así como en núcleo celular donde la isoforma NDPK-B funciona como PuF, un factor de transcripción c-MYC. Ha demostrado que las células de carcinoma de mama humano metastásico MDA-MB-435S y -231 secretan NDPK-B *in vitro*. El nucleósido difosfato cinasa es secretado, probablemente a través de una exportación no clásica, a pesar de una falta secuencia señal, analógicamente con la secreción de los factores de crecimiento de fibroblastos proangiogénicos 1 y 2 (FGF-1 y FGF-2) (Rumajahn S. *et. al.*, 2007).

8. Conclusión

El sistema purinérgico omnipresente en células neuronales y no neuronales, con efectos fisiológicos diversos. La comunicación se logra través de una interacción de señales moleculares que conforman una red compleja que regula y media numerosos procesos celulares (metabolismo, diferenciación, proliferación, invasión, muerte celular). El ATP y sus derivados orquestan una red de vías de señalización celular con el fin de regular respuestas fisiológicas que mantengan la homeostasis de la célula, ya sea por vías principales o secundarias. Y que una desregulación de la función de los purinoceptores puede dar lugar a diversas enfermedades, como las neurológicas, reumáticas, cardiovasculares y en este caso cáncer. En primer lugar, desde que el ATP es hidrolizado hasta adenosina por ectoATPasas provocan un aumento de la concentración intracelular, un efecto que obviamente activa receptores purinergicos P1 y beneficia al microambiente tumoral. Sin embargo, el ATP y otros nucleótidos, así como derivados, pueden desencadenar una actividad específica en la célula tumoral al ligarse a un purinoreceptor antes de ser hidrolizado hasta adenosina. La función de la fisiopatología purinérgica del cáncer de pulmón se facilita en áreas de inflamación crónica, en primera instancia un entorno proinflamatorio pretumoral y posteriormente la progresión tumoral. Factores oncogénicos, ATX Y CatS estimulados por tabaco y tolueno, activan una liberación de

ATP para sensibilizar $TRPV_{1,4}$ y Panx-1 y liberando más ATP para ser detectado por $P2X_7$ y desencadenar a MAPK/38 y PLA2. Por ende, conformar el complejo ATX/LPA, esto produce inflamación que permea en la carcinogénesis pulmonar. Producto de la creación de inflammasoma NLRP3 y secretar IL-1 β e IL-18. TGF- β 1 induce a A549 y H292 a liberar ATP y activar $P2X_7$ promoviendo la migración por MAPK/JNK, transducir señales por medio de Rho cinasa para la remodelación de actina. Además, $P2X_7$ se considera que actúa como un factor proapoptótico al aumentar la permeabilidad por niveles altos de ATP. En PC-9, una serie de vías (Slug, Snail) confieren movimientos migratorios, translocando el citoesqueleto y liberando HMGB1 produciendo la activación $P2X_7$ para después activar glicación y MMP2. En el caso de FGF-2, el complejo confiere resistencia térmica y proteolítica, una neovascularización se realiza con VEGF-165 independientemente de Mg^{+2} , induciendo un cambio conformacional de VEGF-A165, siendo el responsable bioactivo, a través de señalización del receptor P2Y. En estimulación de la proliferación celular de A549, $P2Y_{1,2}$ estimulado aumenta $[Ca^{+2}]_i$, que incrementa la actividad del factor de transcripción NF- κ B, que también actúa sobre la transcripción de Bax. Bax permite la apertura del canal mitocondrial, liberando citocromo C y factores proapoptóticos. Sin embargo, la acción de Bax también puede ser antiapoptótica, todo por efecto de la relación de Bcl2/Bax que estimulado aumenta y permite que las células sobrevivan, demostrando que las concentraciones pueden guiar a la muerte celular inducida. La sensibilidad de la proteína antiapoptótica es más fina a ATP que la proteína proapoptótica. La actividad de la bomba SERCA2 se ve disminuida y que probablemente estén involucrados los receptores $P2X_{3,4,5}$ y $P2Y_{2,4,6}$, la actividad conduce una baja capacidad de Ca^{+2} en retículo endoplasmático, lo que reduce una sobrecarga de concentración intracelular, además que SOCE en células tumorales reduce su acción por efecto secundario de SERCA2 y sobreexpresión de Bcl2. Otra vía utilizada por receptores P2Y, que permite la proliferación celular, es la vía PLC, Ca^{+2} /calmodulina dependiente de proteína cinasa II y NF- κ B fosforilando EFGR. En la neovascularización con FGF-2 y ATP se une con VEGF-165 para inducir un cambio conformacional y bioactivo gracias a la transactivación de $P2Y_{1/2}$ -VEGFR2.

Por el lado del cáncer de mama, los receptores más expresados son A_3 y A_{2B} , el primero disminuye la mortalidad celular mientras que el segundo induce migración y metástasis. $A_{1,2A,3}$ pueden ser sensibilizados alrededor de 20 a 300 nM. Pero A_{2B} necesita niveles más altos de

ADO para ambiente hipóxicos e inflamatorios. A_1 actúa sobre procesos carcinogénicos, pues su silenciamiento permite una acumulación de células en fase G_2/M . A_{2B} se concentra en linaje ER negativo, como se ha mencionado sus fenómenos celulares (supervivencia y proliferación celular) y los realiza por la señalización de adenilato ciclasa, AMPc y PKA, para recurrir a proteínas ERK1/2, FOXm1 y c-Myc, y para el control metastásico lo rige vías como Raf/MEK/ERK. A_3 activado promueve la apoptosis y la desregulación de Wnt/ β -catenina en células ER⁺/ER⁻. La apoptosis se adquiere por CDK para proteínas Bcl-2 y caspasas. Si este se estima en bajas concentraciones provoca una detección de G_1 por la vía ERK1/2. Por lo contrario, una alta estimulación provoca que complejos Bax/Bcl2 que se correlacionan con CASP6 implicando apoptosis en líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231. Así también es posible que inhiban la vía Hedgehog para la renovación y mantenimiento celular. Un reciente estudio demuestra que al estimular a A_{2B} provoca la acumulación de Rap-1b no prenilado, una pequeña proteína GTPasa que controla la adhesión celular, esto mejora la dispersión celular y podía promover la proliferación celular. Por el lado de P2X, $P2X_7$ es ubicuo e incita a la actividad proliferativa y citotóxica. En células T47D, actúa con ímpetu en E-cadherina y el aumento de secreción en MMP-13, para metástasis ósea. Trabaja sobre la vía AKT regulando enzimas proteolíticas, por acción en cadena de la entrada de Ca^{+2} . Siguiendo con el curso, la entrada de Ca^{+2} activa la proteína NLR, un pre-inflamasoma de tres dominios, proteínas de enlace asociadas a caspasas y procesadas. Este complejo cataliza a CASP14, quien cortará enzimáticamente a procaspasa-1 hasta concebir un complejo caspasa-1/p10/p20 que servirá de enzima para acabar a pro IL-1 β , pro IL-18, pro IL-33, hasta llegar ser idóneo para su actividad inflamatoria-inmune y la muerte celular. Después proteínas que regulan y activan al inflamasoma (HSP90 y SGT1), debido a la entrada de Ca^{+2} y la salida de K^+ , pueden traducirse como daño mitocondrial, favoreciendo su actividad del inflamasoma hasta formar el complejo NLRP3, promoviendo la muerte celular que está en función de la concentración de ATP extracelular, por lo que se requiere de un fármaco que aumente la sensibilidad de $P2X_7$ y aumente las concentraciones de ATP extracelular. La actividad de receptores P2Y, en especial $P2Y_2$ constituye en la periferia del tumor causa un aumento de Snail para control de metástasis y la disminución de E-cadherina. Sumado un aumento de β -catenina que propicia secreción activa de c-Myc, D1, CD44, para regular la progresión celular. En relación entre UTP y $P2Y_6$ se produce más MMP, por medio de ERK y NF- κ B, estimulan a el escape del sitio primario e invadir tejido anexo. Las células neoplásicas

en cultivo secretan NDPK-B que apoya la activación de P2Y, esta cinasa capaz de producir ATP de ADP, produce vasodilatación y favorece la secreción del factor vasoactivo en células endoteliales para sitios disponibles a angiogénesis regulando el flujo sanguíneo y permeabilidad celular. Condiciones hipóxicas y mutagénicas que impulsan a VEGF, bFGF, IL-8 y TGF- β . NDPK-B actúa como factor de transcripción para c-Myc, favorecen la angiogénesis. Dependiendo del estrés celular y de su inhibición, este consigue un efecto antiproliferativo mediado por la expresión de HIF-1 α y provocando un aumento de la CASP-3, y jugando un rol importante en angiogénesis y metástasis. Al utilizarse un agonista específico, como sucede en la activación de P2Y₂ por UTP reduce la proliferación celular en cáncer de mama dependientes de estrógenos como el linaje MCF-7 y células ER negativas, como MDA-MB-231. En particular la invasividad en cáncer de mama está relacionada con la sobreexpresión de MMP-2 y MMP-9, y es aquí donde la exposición a ATP o KN62 afecta levemente los niveles de ambos tipos de MMP.

Por último, la primera actividad purinérgica en cáncer de próstata fue una premisa para futuros experimentos de efectos con la activación e inhibición de purinoreceptores. El uso de agonistas para receptores P2 inhiben el crecimiento celular en medios independientemente de andrógenos, estos ensayos se realizaron en DU145, PC-3 y PC-3M, confirmó el sentido para una posible ruta terapéutica que involucra a receptores purinérgicos. Y esto se ha encontrado, en las diferentes etapas de cáncer de próstata se expresan P2X_{4,5,7}, incluido el cáncer localizado PCa sensible a las hormonas y PCa metastásico del tipo resistente a la castración. El ATP liberado bajo presión hipotónica promueve el crecimiento celular en PCa. El estrés hipotónico inicia el ciclo de alimentación hacia la liberación de ATP y la señalización del receptor purinérgico, permitido un incremento del Ca⁺² intracelular, produciendo una activación de una proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), p38, ERK1/2 y PI3K. La vía PI3K/AKT/mTOR, particularmente una asociación compleja entre MAPK y AR (receptores de andrógenos) pueden hacer progresar PCa. La invasividad se aumenta a medida con HIF-1 α acumulado, modulando propiamente a P2X₇, además estimula la angiogénesis por hipoxia. La activación del purinoreceptor, transduce a la vía ERK1/2 que permite la transición epitelio-mesenquimatoso. Su estimulación progresa la angiogénesis por hipoxia y puede detectarse por un enriquecimiento de VEGF dando como resultado invasión, migración y metástasis ósea, por lo que una acción inhibitoria se concede

como diana terapéutica. En $P2X_4$ se involucra con TGF- β 1 produciendo tumorigénesis, estudios revelan que el uso de agonistas mejora procesos de viabilidad, proliferación, migración, invasión y apoptosis, y gracias a la actividad regulada de la vía BDNF/TrkB/AFT4. En el campo de apoptosis, puesto este purinoreceptor modular a $P2X_7$ y Panx-1, liberando ATP de Panx-1 efecto secundario tras la activación de $P2X_{4/7}$ conduciendo a un modo “mixto” de apoptosis y necrosis. El rol de P38/MAPK por efecto de Ca^{+2} facilita la apoptosis, actividad coordinada por PI3K/Akt apoyándose de una vía secundaria para permitir muerte celular programada.

9. Perspectiva

A partir de la investigación y discusión presentada en esta tesis teórica, el panorama del sistema purinérgico se puede orientar a diversas direcciones según el enfoque deseado en futuros trabajos, existe un quehacer en el campo experimental. Esto permitirá integrar y definir las funciones del sistema purinérgico en cáncer de mama, próstata y pulmón. Pero principalmente este trabajo puede ofrecer rutas ante el desarrollo y diseño de terapias tumorales, que mejoren las existentes de principio a fin o que complementen otros tratamientos antitumorales. En primer plano patrones que tienen en común y se repiten en los tres casos, a partir de ello sin problemas se guía un trabajo que aporte solución a la desregulación de las vías ERK1/2, MAPK/p38, PI3K y su efecto de purinérgico, para segundos mensajeros como Snail, Slug, Src, c-Myc, D1, CDK4, FOX, entre otras pues poseen una actividad que median diversas respuestas celulares que involucran la migración, la proliferación y la supervivencia celular. Por ejemplo, vías PI3K y MAPK se bloquean con quelantes de ATP. Define una estrecha relación la concentración de ATP extracelular, propician el panorama buscado para conseguir los efectos que ensayos ya han evidenciado, caracterizar las concentraciones ideales para lograr el efecto esperado, al parecer a la célula tumoral prefiere suprimir intermediarios entre ATP a adenosina, principalmente para evitar estos mecanismos purinergicos, el efecto sea contraproducente para ellas mismas. Otros entusiastas ya se han puesto en marcha con uso de agonistas/antagonistas purinergicos, silenciamiento, la creación de complejo heteroméricos, tratamiento mezclado con inmunoterapia. El papel de receptores P1 en cáncer de mama, es claro pues permiten el progreso y supervivencia celular interviniendo en reducir caspasas y p53, así como disminuyendo la actividad de ERK o estimulando vías Raf/MEK/ERK en adición del aumento de AMPc para finalizar en PKA con múltiples efectos. El control eficazmente se colocaría sobre ectoenzimas,

CD73 y CD39, regulando la producción de ADO y por ende el microambiente tumoral con factores estimulantes como HIF-1 α , que favorecen a VEGF y b-FGF para angiogénesis. Para control de eventos proinflamatorios, donde está involucrado inflammasoma NLRP3, ADO reprime la respuesta inmune y la producción de citocinas proinflamatorias e inflamatorias.

La disposición de $[Ca^{+2}]_i$ y $[Ca^{+2}]_{ext}$, puede conducir a segundos mensajeros, células tumorales poseen arborizaciones preferidas según requeridas de segundos mensajeros. Existe evidencia en cáncer de pulmón, que por lo regular P2X poseen solo una fase transitoria de Ca^{+2} tras su activación, pues se ha detectado una segunda fase, una fase de meseta, en células neoplásicas respiratorias confiriendo con una concentración constante y en aumento de Ca^{+2} intracelular. Si es cierto que con estimulación con ligando ATP incrementa la relación Bcl2/Bax, sin embargo, Bcl2 define una mayor sensibilidad al ATP, produciendo un factor de supervivencia celular. También se ha demostrado en SERCA2 con una baja capacidad para activarse y por ende efecto para SOCE. Por lo que bloquear entradas extracelulares de Ca^{+2} , y que los responsables sean purinoreceptores, o un aumento sostenido de Ca^{+2} intracelular se posiciona como parte de la ecuación terapéutica usando purinoreceptores, un bloqueo de PANX-1 o mecanismos a CaMKII.

Para generar un punto de partida interesante de complementar, para la búsqueda terapéutica relacionada con purinoreceptores, es importante caracterizar rangos de concentraciones de ATP e intermediarios para efectos esperados en la respuesta de Ca^{+2} intracelular, se ha demostrado que las concentraciones imparten distinta función celular. Un control sea de bloqueo farmacológico de los purinoreceptores cuya ubicuidad rodea a cáncer de mama, próstata y pulmón, principalmente $P2X_7$ seguido de $P2X_4$, $P2Y_2$ y CD73, implicada en la evasión de respuesta inmune y fenómenos de invasión/metástasis/angiogénesis, en especial cáncer de mama. Ya existen protocolos y ensayos donde modulan la actividad por antagonistas y agonistas. Por ejemplo, en el esquema donde un silenciamiento o bloque farmacológico de $P2X_7$ inhibe la metástasis y la diseminación *in vitro*. Un tratamiento mixto con antraciclinas provee un mejor pronóstico, por otro lado, la ivermectina en TNBC en estudios con MDA-MB-231, MCF-7, linajes SKBR3 y con células triple negativo 4T1.2Balb/c, produce muerte celular vía $P2X_4/P2X_7/Panx-1$ asociado con CASP-1,3. Para el lado de $P2Y$, $P2Y_6$ y su sensibilidad por UTP actúa como regulador de la formación neoplásica, progresión con el fin de prevenir vías

de señalización relacionadas con metástasis y quimiorresistencia. Un bloqueo de $P2Y_{12}$, disminuirá la interacción de células anormales con plaquetas, relacionado con procesos de invasión. Por último, un uso de antagonistas P1 o inhibidores de adenosina desaminasa para provocar apoptosis mitocondrial. Regulando CD73 y receptores P1, permite inhibir el crecimiento tumoral y mejora respuestas inmunes antitumorales, al utilizar un inhibidor específico de la actividad de CD73 como α , β metileno adenosina-5'-difosfato, inhibe la proliferación celular en tumor de mama (De Araújo JB. *et. al.*, 2021). En cáncer de pulmón se ha usado y caracterizado antagonistas e inhibidores de $P2X_7$ como β -glucalina (BGG), KN62, oATP, A740003, A438079, Az10606120 o nuevos antagonistas basados en imidazoles. En ratones inmunodeficientes, el antagonista A438079 reduce la migración celular en líneas celulares HTB183 y HTB177. La emodina es un agonista que inhibe profundamente el influjo de Ca^{+2} inducido por $P2X_7$, junto con la vía $P2X_7$ /Akt y estatinas (atorvastatina) pueden reducir significativamente la tasa de supervivencia y proliferación celular. (Li Q. y col., 2020).

10. Bibliografía

- Aliagas E., Muñoz-Esquerre M., Cuevas E., Careta O., Huertas D., López-Sánchez M., Escobar I., Dorca J. y Santos S. (2018). Is the purinergic pathway involved in the pathology of COPD? Decreased lung CD39 expression at initial stages of COPD. *Respiratory Research*.
- American. Cancer. Society. (2022). Cancer Facts & Figures 2022. *American Cancer Society*.
- Aronson W. y deKernion J. (2007). *Prostate*. Encyclopedia of Gerontology | Elsevier.
- Barth K. y Kasper M. (2009). Membrane compartments and purinergic signalling: occurrence and function of P2X receptors in lung. *The FEBS Journal*, 341-351.
- Bracken-Clarke D., Kapoor D., Baird A., Buchanan P., Gately K., Cuffe S., Finn S. (2021). Vaping and lung cancer- A review of current data and recommendations. *Elsevier*, 12-16.
- Bray F., S. I. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer jin*, 394-424.
- Burnstock , G. (1972). Purinergic nerves. *Pharmacol. Rev.*, 509-581.
- Burnstock G. (2007). Physiology and Pathophysiology of Purinergic Neurotransmission. *Physiol. Rev.*, 659-797.
- Burnstock G. y Knight G. (2004). Cellular Distribution and Functions of P2 Receptor Subtypes in Different Systems. *Elsevier*.
- Burnstock G. y Di Virgilio F. (2013). Purinergic signalling and cancer. *Purinergic Signal*.
- Burnstock, G. (2006). Historical review: ATP as neurotransmitter. *Elsevier*.
- Burnstock, G. (2014). Purinergic signalling: from discovery to current developments. *Experimental Physiology*.
- Burnstock., G. (2018). Purine and purinergic receptors. *Brain and Neuroscience Advances*.

- Buxton ILO., Yokdang N. y Matz R. (2009). Purinergic Mechanisms in Breast Cancer Support Intravasation, Extravasation and Angiogenesis. *Elsevier Ireland*.
- Campos-Contreras ADR, Díaz-Muñoz M and Vázquez-Cuevas FG. . (2020). Purinergic Signaling in the Hallmarks of Cancer. *Cells*.
- Caseley, E. A., Muench, S. P., Roger, S., Mao, H.-j., Baldwin, S. A., & Jiang, L.-H. (2014). Non-Synonymous Single Nucleotide Polymorphisms in the P2X Receptor Functions and Potential use as Diagnosis Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, 13344-13371.
- Cersosimo, R. (2002). Lung Cancer: A Review. *Clinical Reviews*.
- De Araújo JB., Kerkhoff VV., De Oliveira M. and De Resende E Silva DT. (2021). Targeting the purinergic pathway in breast cancer and its therapeutic applications. *Springer / Nature*.
- Di Virgilio F., Adinolfi E. (2017). Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Nature*, 293-298.
- Di Virgilio F., S. A. (2018). Extracellular ATP and P2 purinergic signalling in the tumour microenvironment. *Nature Reviews/Cancer*.
- Gail, R. (2018). *Prostate Disease Overview*. Encyclopedia of Reproduction Academic Press.
- Gast R.E., K. S. (2011). Binding of ATP vascular endothelial growth factor isoform VEGF-165 is essential for inducing proliferation of human umbilical vein endothelial cells . *BMC Biochem*.
- Geoffrey, B. (2014). Purinergic signalling: from discovery to current developments. *Experimental Physiology* .
- Geoffrey, B., & Franceso, D. V. (2013). Purinergic signalling and cancer. *Springer Science/ Business Media*.
- Geoffrey., B. (2006). Historical review: ATP as a neurotransmitter. *Elsevier*.

- Graner M. (2018). Extracellular vesicles in cancer immune responses: roles of purinergic. *Springer Nature*.
- Gridelli C., Rossi A., Carbone D., Guarize J., Karachaliou N., Mok T., Petrella F., Spaggiari L., Rosell R. (2015). Non-small-cell lung cancer. *Nature / Primer*, 2.
- Gridelli Cesare, Rossi Antonio, Carbone David P., Guarize Juliana, Karachaliou Niki, Mok Tony, Petrella Francesca, Spaggiari Lorenzo and Rosell Rael. (2015). Non-small-cell lung cancer. *Disease Primers/Nature Reviews*.
- Harbeck N., Penault-Llorca F., Cortes J., Gnant M., Houssami N., Poortmans P., Ruddy K., Tsang J. and Cardoso F. (2019). Breast cancer. *Primer / Nature*.
- He J., Z. Y. (2020). Inhibiting the P2X4 Receptor Suppresses Prostate Cancer Growth In Vitro and In Vivo, Suggesting a Potential Clinical Target. *Cells*.
- Huang Z., Xie N., Illes P., Di Virgilio F., Ulrich H., Semyanov A., Verkhatsky A., Sperlagh B., Yu SG., Huang C., Tang Y. (2021). From purines to purinergic signalling: molecular functions and human diseases. *Signal Transduct Target Ther*.
- Jajoo S., Mukherjea D., Watabe K. and Ramkumar V. (2009). Adenosine A (3) receptor suppresses prostate cancer metastasis by inhibiting NADPH oxidase activity. *Neoplasia*.
- Kumar V., Abbas A. and Aster J. . (2021). Robbins y Cotran | Patologia, Estructural y Funcional . En A. A. Kumar V., *Robbins y Cotran / Patologia, Estructural y Funcional* (págs. 282-285). España: Elsevier.
- Lacks P and Salzman GA. (2020). The Dangers of Vaping. *UMKC / School of Medicine*, 161,162.
- Lazarowski Eduardo R., S. J. (2011). Nucleotide Release by Airway Epithelia . *Springer / Purinergic Regulation of Respiratory Diseases*, 2-6.
- Le Thanh-Thuy T., Berg Nathaniel K., Harting Mattew T., Li Xiangyun, Eltzschig Holger K. and Yuan Xiaoyi. (2019). Purinergic Signaling in Pulmonary Inflammation. *Frontiers / Immunology*.

- Lertsuwan K., P. W. (2017). Purinergic Receptor Expression and Cellular Responses to Purinergic Agonists in Human Prostate Cancer Cells. *Anticancer Research*.
- Li Q., Zhu X., Song W., Peng X., Zhao R. (2020). The P2X7 purinergic receptor: a potential therapeutic target for lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology / Springer*.
- Lippi, C. M. (2019). Current Cancer Epidemiology. *Journal of Epidemiology and Global Health*.
- Oh W.K., H. M. (2003). *Prostate Cancer / Holland-Frei Cancer Medicine* . Hamilton | 6th Edition.
- OMS. (2021). Mexico. Source | GLOBOCAN 2020. *International Agency for Research*.
- Park M., Kim J., Phoung NTT., Park JG., Park JH., Kim YC., Baek MC., Lim SC. and Kang KW. (2019). Involvement of the P2X7 receptor in the migration and metastasis of tamoxifen-resistant breast cancer: effects on small extracellular vesicles production. *Scientific Reports / Nature Research*.
- Pilleron S., Soerjomataram I., Soto-Perez-de-Celis E., Ferlay J., Vega E., Bray F. and Piñeros M. (2019). Aging and the cancer burden in Latin America and the Caribbean. *Elsevier*.
- Rapaport E. (1983). Treatment of Human Tumor Cells With ADP o ATP Yields Arrest of Growth in the S Phase of the Cell Cycle. *Journal of Cellular Physiology* .
- Rebello R., O. C. (2021). Prostate Cancer. *Nature Reviews Disease Primers*.
- Ribeiro M., N. L. (2020). Performance of P2X7 and P2Y Purinergic Receptors as an Inhibiting Factor in the Progression of Pulmonary Neoplastic Cells . *Annual Research and Review in Biology* .
- Robson SC., Sévigny J. and Zimmermann H, . (2006). The E-NTPDase family of ectonucleotidases: Structure function relationships and pathophysiological significance . *Purinergic Signal* .
- Rokic M. B. and Stojkovic S.S. (2013). Two open sates of P2X receptor channels. *Frontiers in Cellular Neuroscience*.

- Rudin C., Brambilla E., Faivre-Finn C. and Sage J. (2021). Small-cell lung cancer. *Nature / Primer*.
- Ruiz V., Turian E., Guel J., Garcia M., Zermeño J., Lopez N., Bernal S., Layseca E., Fuentes E. y Estrada A. (2020). Chemoresistance in Breast Cancer Patients Associated with Changes in P2X7 and A2A Purinergic Receptors in CD8+T Lymphocytes. *Frontiers in Pharmacology*.
- Rumajahn S., Javed M., Wong N., Law W. and Buxton ILO. (2007). Purinergic regulation of angiogenesis by human breast carcinoma-secreted nucleoside diphosphate kinase. *British Journal of Cancer*.
- Sarangi Sasmit, P. A.-L. (2013). P2Y12 receptor inhibition augments cytotoxic effects of cisplatin in breast cancer. *Springer*, 1-6.
- Schäfer R., Sedehizade F., Welte T. and Reiser G. (2003). ATP- and UTP-activated P2Y receptors differently regulate proliferation of human lung epithelial tumor cells. *Physiology Lung Cell Molecular* .
- Scheinder G., Glaser T., Lameu C., Abdelbaset-Ismail A., Sllens Z., Moniusko M. y Ratajczak M. (2015). Extracellular nucleotides as novel, underappreciated prometastatic actor that stimulate purinergic signaling in human lung cancer cells. *Molecular Cancer*.
- Shabbir M., Ryten M., Thompson C., Mikhailidis D. y Burnstock G. (2008). Characterization of calcium-independent purinergic receptor-mediated apoptosis in hormone-refractory prostate cancer. *BJU International* .
- Song, S., Jacobson, K. N., McDermott, K. M., Reddy, S. P., Cress, A. E., Tang, H., ... & Yuan, J. X. J. (2016). ATP promotes cell survival via regulation of cytosolic [Ca²⁺] and Bcl-2/Bax ratio in lung cancer cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*.
- Sophie Pilleron, I. S. (2019). Aging and the cancer burden in Latin America and the Caribbean Time to Act. (Elsevier, Ed.) *Journal of Geriatric Oncology*.

- Sun, D., Samuelson, L. C., Yang, T., Paliege, A., Saunders, T., Brigs, J., & Schnermann, J. (2001). Mediation of tubuloglomerular feedback by adenosine: Evidence from mice lacking adenosine 1 receptors. *PNAS*.
- Wang Xia, L. L. (2017). Emodin Inhibits ATP-Induced Proliferation and Migration by Suppressing P2Y Receptors in Human Lung Adenocarcinoma Cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*.
- Wang Z., Zhu S., Tan S., Zeng Y. and Zeng Y. (2022). The P2 purinoceptors in prostate cancer. *Purinergic Signalling*.
- White, N., & Burnstock, G. (2006). P2 receptors and cancer. *Elsevier*.
- Wilson FH, J. C. (2015). A functional landscape of resistance to ALK inhibition in lung cancer. *Cancer Cell*.
- Wirsching E, F. M. (2020). P2 Purinergic Signaling in the Distal Lung in Health and Disease. *Int J Mol Sci*.
- Zimmermann, H. (2001). Ectonucleotidases: some recent developments and a note on nomenclature. *Drug Dev*.