



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE
POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

TESIS

**EFFECTO SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y LA
EXPRESIÓN GENÉTICA, AL APLICAR EXTRACTOS
DE *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet),
A LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA:
MDA-MB-231 Y MCF-7**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

PRESENTA:
ALEJANDRA ORTIZ GONZÁLEZ

DIRECTORES:
DRA. MAURA CÁRDENAS GARCÍA
DRA. MARÍA GUADALUPE HERNÁNDEZ LINARES
DR. PEDRO PABLO GONZÁLEZ PÉREZ

Puebla, Puebla.

Octubre de 2021

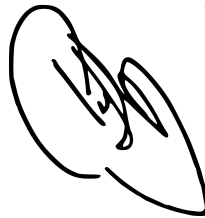
DIRECTORES DE TESIS



D. C Maura Cárdenas García



D. C María Guadalupe Hernández Linares



D. C Pedro Pablo González Pérez

Maestría en Ciencias Médicas e Investigación

REVISORES DE TESIS



D. C Irma del Carmen Zamora Ginez



D. C Blanca Guadalupe Baez Duarte



D. C Ana Marta de los Ángeles Lobo Sánchez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al apoyo que me otorgó el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con la beca No. 997734.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por crear programas de estudio que nos otorgan capacitación continua.

A mis directores de tesis la Dra. Maura Cárdenas García, la Dra. María Guadalupe Hernández Linares y al Dr. Pedro Pablo González Pérez por compartir su conocimiento y brindarme orientación en cada momento para poder realizar este trabajo.

A los docentes de la maestría que gracias a ellos pude extender mis conocimientos, desarrollar nuevas habilidades de estudio y mejorar mi capacidad de adaptación ante los cambios e imprevistos de la vida.

Al grupo de estudiantes y amigos del Laboratorio de Fisiología Celular de la BUAP en la Facultad de Medicina, al personal del CIBIOR que nos permitió ocupar su equipo de citometría de flujo, al Dr. José Guillermo Vázquez de Lara por el uso del Nanodrop y por el apoyo técnico prestado por la M.C. Lilia Cabrera.

A los doctores José Luis Ventura Gallegos, Alejandro Zentella Dehesa del Departamento de Bioquímica del Instituto de Investigaciones Biomédicas, Unidad Periférica INCM y Nutrición y Jorge Ramírez Salcedo responsable de la Unidad de Microarreglos del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, especialmente a Luis Sánchez por permitirme continuar con lo que sabe que es mi pasión y a mis padres: José Martín Ortiz Rojas y María del Carmen González Moreno y hermanos Alondra y Aldo, por alentarme a seguir siempre adelante.

También dedico este trabajo a todos los familiares y amigos que han partido durante la pandemia por COVID-19, que, aunque ya no pudimos vernos, siempre estuvieron y estarán en mi mente, así mismo les dedico este trabajo, a todos aquellos que aún estamos y que no hemos podido reunirnos, pero que con llamadas nos damos ánimos para dar lo mejor cada día.

RESUMEN

El cáncer es considerado una de las primeras causas de muerte en la población mexicana y el cáncer de mama especialmente la primera causa en las mujeres por presencia de tumoración maligna. A pesar de existir tratamientos la sociedad busca tratamientos complementarios en la Medicina Tradicional, aunque no se conozcan sus efectos terapéuticos ni sus efectos adversos. Por emplear este tipo de terapias los pacientes abandonan las terapias hospitalarias o prolongan el tiempo de diagnóstico, sin un sustento científico, acudiendo en etapas avanzadas al diagnóstico, lo que se asocia con un mal pronóstico. El objetivo de este trabajo fue buscar explorar la actividad antiproliferativa de *Opuntia joconostle*, especie nativa de México empleada contra el cáncer, en células de cáncer de mama MDA-MB-231 y MCF-7, a través de un trabajo multidisciplinario con el fin de determinar su efecto antiproliferativo y los posibles mecanismos de acción en las células cancerosas. Abordamos el trabajo *in silico* mediante la plataforma bioinformática Big Data Cellulat, donde se determinaron las posibles concentraciones con efecto antiproliferativo en las que los extractos podrían ser empleados *in vitro* y también se realizó la simulación de hipótesis del mecanismo de acción del extracto en diferentes vías de señalización. Los extractos se realizaron por el método convencional y soxhlet empleando diferentes disolventes para después ser caracterizados por métodos espectroscópicos y evaluada su actividad antiproliferativa por el método de XTT. Los resultados presentaron una relación entre la concentración del extracto y su efecto antiproliferativo, siendo el extracto acuoso de *Opuntia joconostle* obtenido por el método convencional el que presento un mejor efecto antiproliferativo sobre las líneas celulares de cáncer de mama, a una CL₅₀ de 0.021 µg/µl sobre células de cáncer de mama triple negativo y una CL₅₀ 0.028 µg/µl de para el cáncer de mama subtipo Luminal A, al detener a las células en la fase G2/M del ciclo celular y producir una activación e inhibición de genes que actúan sobre las vías de señalización de PI3K/Akt/mTor, EGFR y Wnt. Concluyendo que el extracto acuoso de *Opuntia joconostle* muestra un panorama prometedor para el tratamiento de cáncer de mama, al mismo tiempo que se promueve el uso de productos nacionales evaluados científicamente.

ÍNDICE

CAPITULO 1	1
1. ANTECEDENTES GENERALES	1
1.1 Cáncer	1
1.2 Cáncer de mama	2
1.3 Cáncer de mama hormonodependiente.....	3
1.4 Cáncer de mama triplenegativo	4
1.5 Ciclo celular y proliferación en cáncer	5
1.6 Comunicación celular. Vías de señalización.....	7
1.7 Modelos de estudio del cáncer	10
1.8 Expresión génica por microarreglos.....	13
1.9 Medicina Tradicional.....	14
1.10 Plantas medicinales y su uso contra el cáncer	15
1.11 <i>Opuntia joconostle</i> (F.A.C. Weber ex Diguet)	16
2. ANTECEDENTES ESPECIFICOS	22
CAPÍTULO 2	24
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
4. HIPÓTESIS.....	25
5. OBJETIVO	25
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	25
5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	25
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
6.1 Diseño del estudio	26
6.2 Ubicación espacio tiempo	26
6.3 Diseño y tipo de muestreo	26
6.3.2 Tamaño de la muestra	27
6.4 Criterios de selección	27
6.5 Definición de las variables	28

6.6 Estrategia de trabajo.....	28
6.7 Método de recolección de datos	29
6.8 Técnicas y procedimientos	30
6.9 Diagrama de flujo.....	38
6.10 Análisis de datos.....	39
7. RESULTADOS	40
8. DISCUSIÓN.....	92
9. CONCLUSIÓN.....	102
CAPÍTULO 3	103
10. SEGOS Y LIMITACIONES	103
11. BENEFICIOS PARA LA SOCIEDAD	104
12. FORTALEZAS	104
13. PERSPECTIVAS	105
14. BIBLIOGRAFÍA.....	106
15. ANEXOS.....	116

LISTA DE CUADROS

Número y título de cuadro	Página
Cuadro 1. Subtipos de cáncer de mama	3
Cuadro 2. Datos taxonómicos de <i>Opuntia joconostle</i> .	17
Cuadro 3. Fenoles y antioxidantes en genotipos de <i>Opuntia joconostle</i> .	19
Cuadro 4. Contenidos totales de compuestos en <i>Opuntia joconostle</i> .	19
Cuadro 5. Contenido de compuestos bioactivos en <i>Opuntia joconostle</i> .	20
Cuadro 6. Definición de reacciones y parámetros cinéticos vía PI3K/Akt/mTor,	44
Cuadro 7. Definición de reacciones y parámetros cinéticos vía Wnt.	45
Cuadro 8. Definición de reacciones y parámetros cinéticos vía EGFR.	46
Cuadro 9. Concentraciones de los extractos de <i>O. joconostle</i>	58
Cuadro 10. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los extractos	61
Cuadro 11. Determinación fitoquímica de xoconostle	62
Cuadro 12. Cromatografía en capa fina	63
Cuadro 13. Efecto antiproliferativo y su Concentración Letal 50.	64
Cuadro 14. Prueba de Kruskal-Wallis	72
Cuadro 15. Prueba de pos hoc de Dunn para MCF-7	73
Cuadro 16. Prueba de pos hoc de Dunn para MDA-MB-231	74
Cuadro 17. Vías de señalización y genes activados en MCF-7	84
Cuadro 18. Vías de señalización y genes inactivados en MCF-7	86
Cuadro 19. Vías de señalización y genes activados en MDA-MB-231	88
Cuadro 20. Vías de señalización y genes inactivados en MDA-MB-231	90
Cuadro 21. Descripción de las variables	116
Cuadro 22. Especificaciones para líneas celulares	120
Cuadro 23. Resultados estadísticos descriptivos	127
Cuadro 24. Prueba de normalidad Shapiro - Wilk	128
Cuadro 25. Prueba de Levene	128

LISTA DE FIGURAS

Número y título de figura	Página
Figura 1: Fases del ciclo celular y mecanismos de control.	6
Figura 2: Interfase inicial de la plataforma Big-Data Cellulat.	12
Figura 3: <i>Opuntia joconostle</i>	17
Figura 4: Diagrama de la Vía PI3K /Akt / mTOR.	40
Figura 5: Diagrama de la vía Wnt	42
Figura 6: Diagrama de la vía EGFR	43
Figura 7: Simulación PI3K/Akt/mTOR en el tiempo cero	47
Figura 8: Simulación de la vía PI3K/ Akt/mTOR a través del tiempo	48
Figura 9: Simulación Wnt en el tiempo cero	49
Figura 10: Simulación en programa Cellulat de Wnt en curso	50
Figura 11: Simulación de la vía Wnt a través del tiempo	50
Figura 12: Simulación EGFR en el tiempo cero	51
Figura 13: Simulación en programa Cellulat de la vía EGFR	52
Figura 14: Simulación de la vía EGFR en células de cáncer de mama	52
Figura 15: Simulación PI3K/AKT/mTOR con extracto de <i>O. joconostle</i>	53
Figura 16: Simulación Wnt al agregar el extracto de <i>O. joconostle</i>	54
Figura 17: Simulación EGFR al agregar el extracto de <i>O. joconostle</i>	55
Figura 18: Proceso de preparación para la identificación de la especie	56
Figura 19: Proceso de secado de epicarpio de <i>O.joconostle</i>	57
Figura 20: Proceso de realización de <i>O. joconostle</i> extractos por el método convencional.	58
Figura 21: Proceso de realización de extractos de <i>O. joconostle</i> por el método Soxhlet	58
Figura 22: Espectro UV-VIS obtenido en los extractos de <i>O. joconostle</i> por la metodología convencional	59
Figura 23: Espectro UV-VIS obtenido en los extractos de <i>O. joconostle</i> obtenidos por método de Soxhlet	60
Figura 24: Placas cromatográficas	63

Figura 25: Efecto del extracto acuoso convencional de <i>O. joconostle</i> sobre MCF-7	65
Figura 26: Efecto del extracto acuoso Soxhlet de <i>O. joconostle</i> sobre MCF-7.	66
Figura 27: Efecto del extracto etanólico Soxhlet de <i>O. joconostle</i> sobre MCF-7,	67
Figura 28: Efecto del extracto acuoso convencional de <i>O. joconostle</i> sobre MDA-MB-231	68
Figura 29: Efecto del extracto acuoso Soxhlet de <i>O. joconostle</i> sobre MDA-MB-231	60
Figura 30: Efecto del extracto Acetato de Etilo en Soxhlet de <i>O. joconostle</i> sobre MDA-MB-231	70
Figura 31: Efecto del extracto etanólico en Soxhlet sobre MDA-MB-231	71
Figura 32: Histograma de citometría de flujo de células MDA.MB.231	75
Figura 33: Histograma de citometría de flujo de células MDA.MB.231	76
Figura 34: Histograma comparativo del ciclo celular en células MDA-MB-231	77
Figura 35: Porcentaje de células por fases individuales MDA-MB-231	77
Figura 36: Histograma de citometría de flujo de células MCF-7	78
Figura 37: Histograma de citometría de flujo de células MCF-7	78
Figura 38: Histograma comparativo del ciclo celular en células MCF-7	79
Figura 39: Porcentaje de células. MCF-7 por fases individuales	79
Figura 40: Electroforesis de RNA	80
Figura 41: Microarreglo y mapeo de genes para MCF-7	81
Figura 42: Microarreglo y mapeo de genes para MDA-MB-231	82
Figura 43: Algoritmo de análisis en Orange	83
Figura 44: Genes regulados positivamente en las células MCF-7	85
Figura 45: Genes regulados negativamente en las células MCF-7	87
Figura 46: Genes regulados positivamente en las células MDA-MB-231	89
Figura 47: Genes regulados negativamente en las células MDA.MB-231	91

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
ATCC	American Type Culture Collection
CDK	Cinasas dependientes de ciclinas
CE	Equivalentes de catequina
CI50	Concentración inhibitoria 50
CKI	Proteína inhibidora de la quinasa dependiente de ciclina
cm ²	Centímetro cuadrado
COX-2	Ciclooxigenasa
DMSO	Dimetil sulfóxido
DNA	Ácido desoxiribonucleico
dw	Material seco
FW	Peso fresco
GAE	Equivalentes de ácido gálico
HER2	Factor de crecimiento epidérmico humano.
HPLC- MS	Cromatografía líquida de alta eficacia con espectro de masas.
mer	Unidades de repetición
mg	miligramos
mm	milímetros
mmol	mili mol
µg mL ⁻¹	microgramos mililitro
µM	micro molar
°C	grados celcius
OMS	Organización Mundial de la Salud
PI	Yoduro de propidio
PTEN	Gen localizador BRCA

RB	Retinoblastoma
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
Skp2	Gen de la cinasa 2 asociada a fase S
TAM	Tamoxifeno
TGH- β	Factor de crecimiento transformante beta
Trolox	Capacidad antioxidante equivalente
UV-VIS	Espectrofotometría ultravioleta-visible
NF- κ B	Factor nuclear κ -potenciador de cadena ligera de células B activadas
XTT	Sal de tetrazolio (sal sódica del ácido 3'-[1-(fenilaminocarbonilo)- 3,4- tetrazolio]-bis (4-metoxi6-nitro) bencen sulfónico hidrato)

CAPÍTULO 1

1. ANTECEDENTES GENERALES

1.1. CÁNCER

El cáncer es un proceso de desarrollo y diseminación tisular producido por una proliferación descontrolada de las células, con capacidad de invasión de otros tejidos, originándose a partir de cualquier tipo de célula; como problema de salud ha tomado gran importancia en los últimos años, al estar dentro de las primeras causas de muerte a nivel global, ocupando el sexto lugar¹.

Para el año 2015 a nivel mundial se calculó que el cáncer provocó 8.8 millones de muertes y en el año 2018 aumentó la carga con 18 millones de casos nuevos y 9.6 millones de defunciones, encontrándose el cáncer hepático, colorrectal, gástrico y de mamá, como los principales tipos causantes de muerte².

En México, el cáncer se considera como la tercera causa de muerte, después de los eventos cardiovasculares y la diabetes; al menos, durante el periodo de 2011 a 2016, se registró una alta mortalidad en la población con una edad entre 30 y 59 años por causa de tumores malignos de órganos digestivos, de mama, cáncer de órganos genitales femeninos, cáncer de órganos hematopoyéticos y tumores malignos de órganos respiratorios; siendo los más graves en hombres, el cáncer de próstata y pulmón y en mujeres el cervicouterino y de mama^{3,4}.

1.2 CÁNCER DE MAMA

Para el año 2020 se ha determinado que el cáncer de mama es el cáncer más comúnmente diagnosticado a nivel mundial, siendo la enfermedad que ocupa el primer lugar en términos de incidencia, siendo detectado en uno de cada 8 pacientes con tumoraciones, con 2.3 millones de casos nuevos y se considera la quinta causa de muerte por cáncer en el mundo con 685,000 muertes al año, representando una de cada 6 muertes por cáncer⁵.

En México, el cáncer de mama ha mostrado un aumento en la incidencia y mortalidad, registrándose para el año 2020 una incidencia del 40.5 % con un total de 29,929 casos nuevos, una prevalencia de 26,682 a un año y un total de 7,931 defunciones, divididas en tres grupos de edad, concentrando el mayor número de muertes, entre las mayores de 60 años con 3,826 casos (48.3 %), seguidas de 3,465 casos en mujeres entre 40 a 60 años (22.5 %) y en menor proporción aquellas menores de 40 años con 610 casos⁵.

El ritmo de vida y hábitos adquiridos por la población mexicana, han impactado al incrementar la tasa de incidencia por cáncer de mama, logrando alcanzar el primer lugar como causa de muerte en mujeres, entre los 30 y 54 años por tumores malignos⁶.

En un estudio realizado en México, se observó que existen limitaciones para disminuir las cifras de defunciones, por no realizar una intervención oportuna, ya que, existe una cobertura baja e insuficiente de tamizaje para su detección, falta de continuidad y seguimiento de los casos, así como tiempos prolongados en inicio del tratamiento⁷, datos que se complementan con otro estudio realizado dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), donde se calculó, que las mujeres deben esperar aproximadamente 7.8 meses para ser diagnosticadas con cáncer y 8.4 meses para comenzar el tratamiento correspondiente⁸.

Para la correcta identificación del tipo de tratamiento específico del tumor y pronóstico de la enfermedad, influyen varios factores como: el estado menopáusico, tratamientos anteriores, toxicidad y biología del tumor, de la cual se ha presentado una subtipificación de los tumores (Cuadro 1) con base en la expresión positiva o negativa de receptores a estrógeno, progesterona y al factor de crecimiento epidérmico humano (HER 2)⁹.

Cuadro 1: Subtipos de cáncer de mama

Subtipo	Receptor a estrógeno	Receptor a progesterona	HER 2
Luminal A	+	+	-
Luminal B	+	-	-
Luminal B HER2	+	+	+
HER2 enriquecido	-	-	+
Triple negativo	-	-	-

HER2: Factor de crecimiento epidérmico humano

Tomada de: Kos, Z., & Dabbs, D. J. 2016. Biomarker assessment and molecular testing for prognostication in breast cancer⁹.

1.3 CÁNCER DE MAMA HORMONODEPENDIENTE

Aproximadamente el 75 % de los tumores de mama de tipo invasivo expresan a los receptores de progesterona y estrógenos, como son los subtipos Luminal A y B (Cuadro 1), llamándolos hormonodependientes. Estos tumores son mejor diferenciados y con un mejor pronóstico que aquellos que no expresan receptores para estrógenos, ni para progesterona, ni HER 2, denominados Triple negativo (Cuadro 1); este tipo de cáncer es el más difícil de eliminar y pueden experimentar recurrencia tardía entre 6 y 15 años tras el diagnóstico¹⁰.

Para el subtipo luminal A y B, se sugiere como tratamiento la terapia endócrina, la cual reside en prevenir que las células acepten estimulación por estrógeno por medio de Tamoxifeno (TAM) que es un antagonista estrogénico, que se une a los receptores y evita la estimulación de los mismos, con una respuesta positiva de hasta un 70 %; sin embargo, se ha demostrado que los inhibidores de la aromatasas, enzima que cataliza la síntesis de estradiol, presentan una actividad mayor que el TAM en algunos pacientes, todo dependiendo de la edad y situación del paciente y el resultando en el uso de terapias combinadas, con menos recurrencias, pero con casos de resistencia¹¹.

Otro tratamiento que se emplea para tratar a los pacientes cuyo tipo de cáncer sobreexpresa ciertas proteínas específicas como es el caso del cáncer de mama hormonodependiente, es la terapia dirigida; este tipo de terapia involucra el uso de anticuerpos que interfieren directamente en la función de moléculas específicas, causando un bloqueo en los procesos que benefician el crecimiento del cáncer¹². Actualmente se cuenta con diferentes terapias dirigidas para el cáncer de mama hormonodependiente, dentro de las cuales se mencionan: el Afinitor (everolimus) que es un inhibidor de mTOR y aquellos actúan como inhibidores de CDK 4/6 como el Ibrance (palbociclib), Kisqali (ribociclib) y Verzenio (abemaciclib)¹³, todos ellos producen una detención del crecimiento y propagación de las células y son empleados con el objetivo de brindar tratamientos mejorados con mayores tasas de supervivencia general para los pacientes y un mejor pronóstico de vida¹².

1.4 CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

El cáncer de mama triple negativo (Cuadro 1), ocupa del 10 al 17 % de los casos de cáncer diagnosticados generalmente en pacientes menores de 50 años, se caracteriza porque sus tumores no expresan receptores para estrógenos, para progesterona o para HER2; este tipo de tumor tiene un camino clínico muy agresivo, ya que tiene un crecimiento acelerado y altamente metastásico, lo que le da un mal

pronóstico arrojando una supervivencia de menos de 4 años al momento de su detección, así como un alto índice de metástasis a pulmón y cerebro; el tratamiento del triple negativo requiere el uso de quimioterapia, ya que al no expresar receptores este no es sensible a TAM o a inmunoterapia con trastuzumab (anticuerpo monoclonal dirigido a HER2)¹⁴.

En el metaanálisis realizado por Biagi y cols., en el 2011¹⁵ comprobaron que el tiempo de aplicación de la quimioterapia influye en la estimación de vida del paciente, concluyendo que hay un 6 % de incremento en la probabilidad de muerte por cada 4 semanas de retraso del tratamiento y que el inicio de la terapia dentro de los primeros 20 días posteriores al diagnóstico en pacientes premenopáusicas con receptores a estrógenos negativos, da buenos resultados en la sobre vida¹⁴.

1.5 CICLO CÉLULAR Y PROLIFERACIÓN EN CÁNCER

El ciclo celular es el proceso mediante el cual las células se duplican y dan lugar a dos nuevas células mediante la duplicación del ácido desoxirribonucleico (DNA) cromosómico en forma exacta de una célula madre para luego distribuirlo en dos células hijas genéticamente iguales de forma ordenada; el ciclo celular de una célula (Fig.1), consta de 2 fases principales que son: la fase M o mitótica y la interfase, la cual a su vez se subdivide en: fase G1 o gap1, fase S y fase G2 o gap 2, comprendiendo todas las etapas de crecimiento de la célula, desde el nacimiento como producto de la división celular, hasta alcanzar el tamaño y condiciones adecuadas para su propia división, tomando mayor tiempo la interfase, en donde crecerá, duplicará sus cromosomas y se preparará para la división celular, entrando posteriormente a la mitosis y concluyendo en su división^{16,17}.

El ciclo celular es regulado por diversos mecanismos de control en los que se involucra la participación de ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas (CDK), las cuales realizan fosforilaciones de proteínas específicas en puntos de control

localizados entre las fases G1/S y G2/M (Fig.1), en donde se realiza la verificación de señales y procesos, buscando así reducir alteraciones causadas por mutaciones, deteniendo el ciclo y evitando que una célula mutada se multiplique y de lugar al cáncer¹⁸.

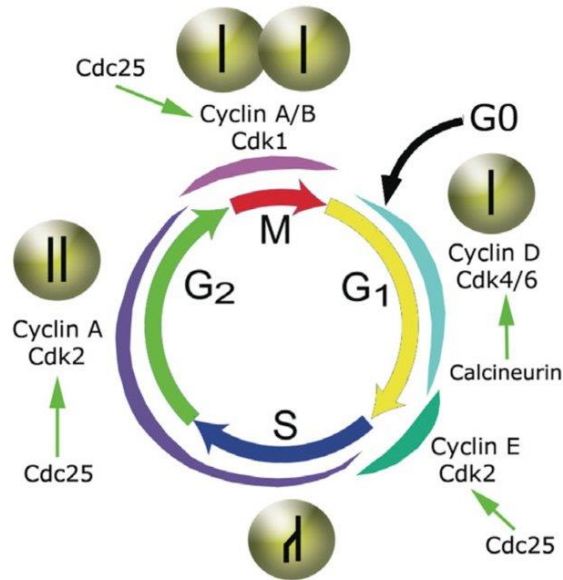


Figura 1: Fases del ciclo celular y mecanismos de control. Tomada de: Muranen 2007¹⁹.

Las principales mutaciones presentes dentro del ciclo celular, relacionadas con el desarrollo de cáncer, pueden deberse a diversas alteraciones entre las que se mencionan: una sobreexpresión de ciclinas D1 y E1, alteraciones en la codificación para CDK y de la proteína inhibidora de la quinasas dependiente de ciclina (CKI), pérdida de la expresión de la proteína del retinoblastoma (RB) y de los genes p53, BRCA 1, BRCA 2, el gen localizador de BRCA (PTEN), el gen p27 y el gen de la quinasas 2 asociada a la fase S (Skp2); estas mutaciones afectan directamente a las diversas vías de señalización involucradas en los procesos celulares, desencadenando respuestas desfavorables como inhibición de la apoptosis y un aumento de la proliferación celular²⁰.

La proliferación celular, es un fenómeno medible dentro del laboratorio, que cuando se detecta en células normales se dice que comienza el proceso de evolución a una célula con potencial tumorigénico²¹. Esta proliferación se considera como un indicador vital en ensayos empleados para evaluar los mecanismos de acción de genes, proteínas y vías de señalización implicadas en la supervivencia o muerte celular después de la exposición de las células cancerígenas a agentes tóxicos²². Por lo que el comprender a nivel celular y molecular en el que participan las proteínas modificadas, asociadas a cada tipo de tumor es esencial para identificar nuevos blancos terapéuticos, así como emplear nuevas moléculas con efectos antiproliferativos que actúen contra estos blancos²¹.

El desarrollo e identificación de nuevas moléculas con efecto antiproliferativo son base fundamental en el tratamiento del cáncer por la capacidad que tienen de inhibir el desarrollo descontrolado de células, como por ejemplo los inhibidores de la síntesis del DNA: cisplatino y doxorubicina también llamada adriamicina y vincristina. Sin embargo, actualmente se han observado efectos menos efectivos en las células debido a la resistencia genética que desarrollan los pacientes, despertando así el interés de encontrar nuevas terapias dirigidas²³.

1.6 COMUNICACIÓN CELULAR. VÍAS DE SEÑALIZACIÓN

El proceso de regulación celular que comprende división, crecimiento, diferenciación, muerte, está regulado por vías de señalización que cumplen un papel muy importante al considerar la progresión, malignidad y resistencia terapéutica del cáncer; por lo que en análisis de las vías de señalización relacionadas con el cáncer es de gran importancia para identificar posibles blancos terapéuticos que funcionan como base para formular nuevos tratamientos²⁴.

A continuación, se describen las principales vías de señalización que se ven involucradas en el desarrollo del cáncer:

Vía de NF- κ B (factor nuclear κ -potenciador de cadena ligera de células B activadas): NF- κ B, es un factor de transcripción que cumple la función de regulador de genes, controlando la proliferación y supervivencia celular, en un estado de reposo normal el factor nuclear se desplaza entre el citoplasma y el núcleo de manera equilibrada²⁵. Pero cuando las células son estimuladas por señales externas dadas por sustancias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 1 (IL1) diversos polisacáridos o radiación ionizante, el NK- κ B, se activa y entra al núcleo uniéndose así a la región promotora de genes que están relacionados con la proliferación celular, la apoptosis, la angiogénesis y la metástasis²⁶. La activación de NF- κ B, se muestra principalmente en líneas celulares de cáncer de mama que no expresan receptores de estrógenos, por lo que el bloqueo de esta vía de señalización puede inhibir la metástasis convirtiéndose en un objetivo para el tratamiento de cáncer de mama²⁵.

Vía TGH- β (factor de crecimiento transformante beta): esta vía está involucrada en el crecimiento, diferenciación, apoptosis y homeostasis celular; con ligandos de tres formas distintas, TGH- β (1,2,3); normalmente actúa como control de la proliferación celular, sin embargo se ha visto que en células de cáncer la respuesta de TGH- β se encuentra inhibida, lo que propicia efectos tumorigénicos, el normalizar el funcionamiento de esta vía mediante tratamientos exógenos puede ayudar a inhibir la proliferación celular en las células alteradas²⁷.

Vía de señalización PI3K / AKT / mTOR: juega un papel importante en la regulación del ciclo celular y está directamente relacionada con la inactividad celular, proliferación y duración del cáncer; la activación esta vía, se debe a la unión de un factor de crecimiento al del receptor de tirosin quinasa, el cual se localiza en la membrana plasmática, esta unión da como resultado la autofosforilación de la tirosina, lo cual conduce a la activación alostérica de la subunidad catalítica dando como resultado la producción de fosfatidilinositol-3 (PIP₃) a partir de fosfatidilinositol 4-5 (PIP₂), mediante la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), desencadenando la

activación de PI3K, seguido de la fosforilación del complejo 1 de AKT y mTOR que como consecuencia llevan a proliferación celular e inhibición de la proliferación celular, al inhibir proteínas proapoptóticas como Bcl-2, Bad y la ciclina D²⁸.

Vía de señalización de Notch: la vía de señalización Notch, es fundamental para la proliferación, diferenciación, desarrollo y homeostasis celular. La vía Notch se activa cuando un ligando de los cinco probables que son, 2 ligandos de tipo Jagged (1-2) y tres ligandos Delta like (1,3,4), se une a un receptor Notch del cual hay 4 subtipos diferentes, esta unión provoca una escisión proteica que libera el dominio intracelular Notch, el cual se transloca al núcleo donde se une con el factor transcripcional CSL convirtiéndose un complejo activador de genes diana principalmente de la familia Hes y Hey esto ocurre de manera normada apoyando el desarrollo celular. Sin embargo esta misma vía se encuentra desregulada en neoplasias malignas como es el cáncer de mama al existir una mayor unión al ligando delta DLL-4, por una sobreexpresión de los receptores Notch lo que desencadena una desregulación aumentando la entrada de la proteína DLL-4, la cual funciona como un regulador positivo de la progresión tumoral mediante el aumento de la angiogénesis y el crecimiento tumoral, lo que se relaciona con un mal pronóstico de cáncer, así como resistencia a los antiestrogénicos ^{29, 30}.

Vía Wnt β -catenina: esta vía estimula varias vías de transducción de señales intracelulares, incluida la vía canónica o dependiente de Wnt / β -catenina y la vía no canónica o independiente de β -catenina; esta vía de señalización juega un papel decisivo en los procesos de regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular, por lo que su alteración da lugar a numerosas anormalidades en el desarrollo, crecimiento y homeostasis; se ha visto que la activación o inactivación de oncogenes y genes supresores de tumores afectan el funcionamiento de las diferentes proteínas que participan en la vía canónica de Wnt provocando una sobreactivación de la señalización lo que desencadena proliferación celular y desarrollo de cáncer. Siendo esta una de las principales vías detectadas en el desarrollo del cáncer de mama³¹.

1.7 MODELOS DE ESTUDIO EN CÁNCER

El empleo de diversos modelos y herramientas para la investigación del cáncer es esencial, ya sea: *in silico*, *in vitro* o *in vivo*, permiten la identificación de carcinógenos, blancos para nuevas terapias, cribado de fármacos, información sobre mecanismos de desarrollo y metástasis tumoral, entre muchas otras³².

- **Modelos *in vitro*: líneas celulares para cáncer de mama**

Las líneas celulares, son modelos de estudio *in vitro*, que se emplean en trabajos de investigación como una herramienta para la valoración de principios activos contra diversos tipos de cáncer. Para el estudio de posibles tratamientos aplicados específicamente al cáncer de mama, se cuenta con una gran variedad de líneas celulares, con diferentes características, por ejemplo, como de modelo de cáncer luminal “A” las más empleadas son las líneas celulares T47D, MCF-7 y ZR75, destacando la línea MCF-7. Todas estas líneas presentan características de cáncer luminal con expresión de receptores a estrógeno, progesterona y/o HER2. La línea celular MDA-MB-231 que es un modelo ideal para poder estudiar el cáncer de mama triple negativo³³.

Línea celular MCF-7: es una línea de cáncer epitelial de adenocarcinoma de mama, sus siglas MCF se refieren a la Fundación de Cáncer de Michigan por sus siglas en inglés, que fue en donde se aisló y cultivo la línea celular y el número 7, es el número de intentos que se llevaron para generar la línea celular, esta línea expresa receptores para estrógenos y progesterona, y no expresa HER-2; sus características principales son: línea celular de *Homo sapiens*, humano, del tejido de glándula mamaria, célula epitelial, nivel de bioseguridad 1, de enfermedad adenocarcinoma de un adulto de sexo femenino de 69 años de edad, haciéndola así una línea de gran importancia en la investigación y comprensión efecto de los estrógenos en cáncer de mama luminal “A”³³.

Línea celular MDA-MB-231/triple negativo: s una de las líneas más utilizadas *in vitro*, sus siglas MDA se refieren a que fue esta línea celular fue aislada en el centro de cáncer MD Anderson y MB que fue obtenida a partir de melanoma de mama, se caracteriza por no expresar receptores para estrógenos, progesterona ni HER-2 y fue aislada por primera vez en 1973 mostrando un rápido crecimiento en medios poco enriquecidos; sus características son: línea celular de *Homo sapiens*, humano del tejido de glándula mamaria, célula epitelial, nivel de bioseguridad 1, de enfermedad adenocarcinoma de un adulto de sexo femenino de 51 años de edad, siendo un modelo ideal para el estudio del cáncer de mama triple negativo³⁴.

- **Modelos *in silico*: Big-Data Cellulat**

El enfoque de modelado y simulación *in silico* ha demostrado ser prometedor para el análisis y predicción de la acción de elementos diana sobre las vías de señalización intracelular, ya que se requiere de una profunda comprensión de los elementos de señalización, de las interacciones y del comportamiento global. Las herramientas de simulación computacional de sistemas bilógicos se basan en un amplio espectro de modelos, tales como matemáticos, estadísticos, físicos y computacionales³⁵.

- Modelos matemáticos, los cuales comúnmente están basados en sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias, métodos estadísticos y métodos numéricos.
- Modelos computacionales, los cuales han encontrado una fuerte inspiración en técnicas de inteligencia artificial, tales como autómatas celulares, redes Booleanas, redes Petri, redes neuronales artificiales y sistemas multi-agente.

Ayudando así el modelado *in silico*, a la predicción e identificación de nuevos blancos terapéuticos para el diseño de fármacos que comúnmente involucra la exploración y el análisis de diferentes vías de señalización³⁵.

Sin embargo, muchas de las abstracciones computacionales desarrolladas inicialmente proveían abstracciones para simular solo sistemas de señalización intracelular por lo que han emergido otros requerimientos en la simulación de

sistemas de transducción de señales celulares como multi compartimentalización, localización, topología y sincronización guiando el desarrollo de nuevos modelos y herramientas computacionales y dentro de estas nuevas propuestas se encuentra la plataforma bioinformática Big-Data Cellulat³⁶.

Big-Data Cellulat, es una plataforma bioinformática de simulación computacional, para el modelado y simulación de redes de señalización celular, que proporciona un laboratorio virtual bioinformático para llevar a cabo la experimentación *in silico* en sistemas de señalización celular (Fig. 2).

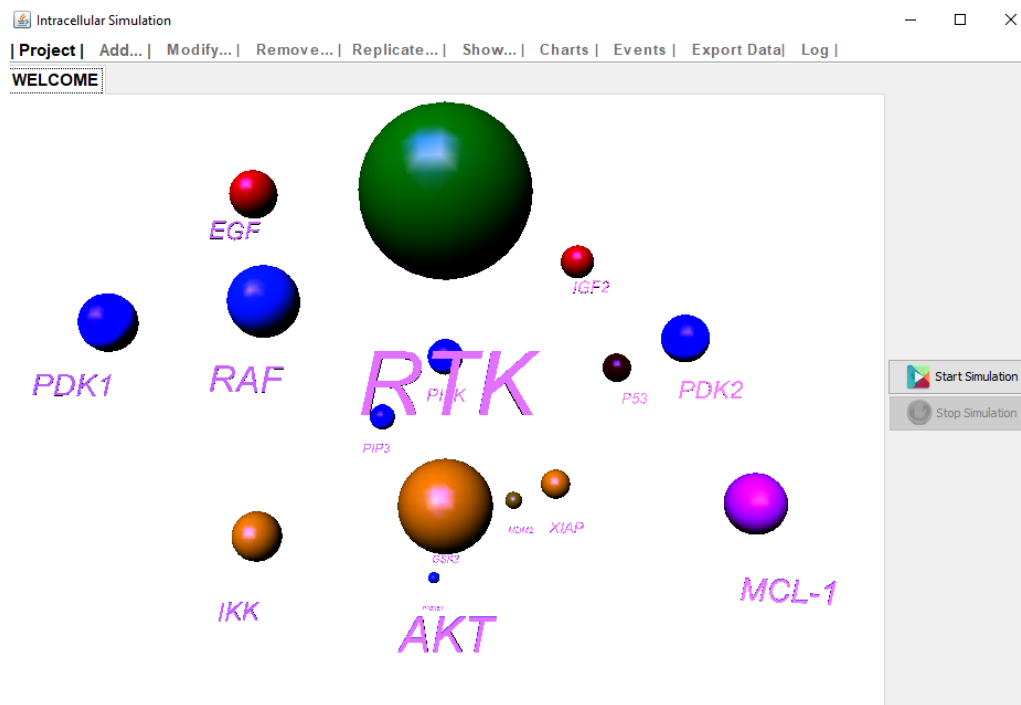


Figura 2: Interface gráfica de usuario (GUI) inicial de la plataforma Big-Data Cellulat. Foto del autor.

Esta plataforma bioinformática incluye herramientas para la simulación, exploración, análisis y predicción de sistemas biológicos, además de la producción, preprocesamiento y registro de grandes volúmenes de datos, para su uso en tareas de *data mining* y *deep learning*. De forma particular, Big-Data Cellulat permite³⁵.

1. Modelar, visualizar y simular de forma integral la complicada estructura y funcionamiento de las vías de señalización celular.

2. Visualizar el estado de actividad de la vía general, las interacciones que ocurren entre los diferentes elementos y las variaciones de sus estados en el tiempo.

3. Predecir los efectos a nivel celular de los cambios y perturbaciones en el sistema en tiempo real y en las condiciones fisiológicas requeridas. Incluyendo la variación en la concentración molar de los elementos de señalización, mutaciones a proteínas, incorporación de otros elementos de señalización en la vía de señalización y eliminación total de elementos de señalización.

4. Producción, pre-procesamiento y registro de grandes volúmenes de datos, para su posterior uso en tareas de data.

1.8 EXPRESIÓN GÉNICA POR MICROARREGLOS

La expresión genética es el proceso mediante el cual la secuencia de nucleótidos de un gen se utiliza para dirigir la síntesis de proteínas y producir las proteínas que requiere la célula para todas y cada una de sus funciones³⁷. Dentro de las herramientas y tecnologías de micromatrices que han aportado grandes avances en el estudio de la expresión genética, para poder estudiar los diferentes tipos de cáncer se encuentran los microarreglos. Estos permiten detectar y cuantificar simultáneamente la expresión de miles de genes, y brindan la ventaja de analizar los cambios en la expresión genética de diversas muestras, describiendo patrones globales de expresión en diferentes condiciones; siendo su principio básico el emparejamiento de bases e hibridación³⁸.

Cada microarreglo es una plataforma sólida con un grupo limitado y finito de genes o fragmentos de genes que dependiendo el fabricante, pueden generar hasta 35,000 genes por centímetro cuadrado (cm²); al tiempo que cuenta con secuencias especialmente caracterizadas que presentan el acomodo espacial de una matriz

matemática; sobre esta plataforma con las secuencias de DNA, cDNA u oligonucleótidos, se hibrida con la muestra control y estudio, marcándolas previamente con diferentes fluorocromos como son la fluoresceína, rodamina o la gran variedad de colorantes fluorescentes Alexa; clasificando al final, la intensidad de la fluorescencia, apreciando colores verdes cuando hay una sobre expresión con rojo para supresión y amarillo cuando no hay cambios en la expresión entre la muestra control y la muestra problema³⁸.

En el estudio de cáncer de mama, se han utilizado microarreglos para identificar patrones de expresión capaces de predecir el resultado o la respuesta después de tratamientos específicos, por lo que se requieren biomarcadores adicionales que ayuden a predecir el fracaso o éxito del tratamiento³⁹.

Los microarreglos de cáncer humano con oligos fabricados por la compañía MWG, que son los que se emplearon en este trabajo, cuentan con una colección de 2,000 genes asociados con cáncer, contemplando entre ellos, a genes frecuentemente asociados al cáncer de mama como; PBOV1, BCAS2, BCAR3, BRCA1, BRCA2, BCAR1. Estos microarreglos cuentan con un tamaño de sondas de 50 unidades de repetición cuyo número representa la longitud de un oligonucleótido (mer) y un número total de 4,096 aplicaciones⁴⁰.

1.9 MEDICINA TRADICIONAL

La Medicina Tradicional es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁴¹ como “La suma total de conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, sean explicables o no, utilizadas tanto en el mantener la salud como en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades físicas y mentales”; con base a la importancia que tiene sobre la población la OMS ha propuesto objetivos estratégicos consistentes en el aprovechamiento de las aportaciones por parte de las medicinas tradicionales

orientadas principalmente a la salud y promoción del uso seguro mediante una reglamentación derivada de la investigación y práctica.

La Medicina Tradicional en México procede de diferentes culturas las cuales han determinado históricamente un desarrollo nacional, que en la actualidad aún es base fundamental de la población indígena, y en ocasiones es el único recurso disponible para la atención de su salud o en algunos casos es una opción complementaria a la medicina académica. A pesar de la importancia en la población y de los progresos sobre el estudio dentro de la medicina tradicional mexicana a lo largo de los años, aún queda una brecha en las actividades de investigación y desarrollo, para poder mejorar la calidad, seguridad, normatividad y control del uso y venta de los productos empleados en la medicina tradicional⁴².

1.10 PLANTAS MEDICINALES Y SU USO CONTRA EL CÁNCER

En México se han descrito poco más de 25 mil especies de plantas lo que equivale aproximadamente a 9.1 % de las especies descritas en el mundo y de esas el 5 % son de uso medicinal distribuidas en los diferentes estados, de las cuales solo se ha realizado la validación química, farmacológica y biomédica en un 5 % de las especies⁴³. La importancia del estudio de plantas medicinales se concentra en validar a las plantas tal como son utilizadas en la medicina tradicional, determinando: eficacia, dosis, posología y riesgos, así como la identificación de sus principios activos y la posible síntesis de fármacos a partir de estos⁴⁴.

La formulación y elaboración de fármacos antineoplásicos a partir de productos naturales comenzó en los años cincuenta, cuando se estudió la vincapervinca (*Vinca rosea* o *Catharanthus roseus*) la cual era usada en muchas culturas para el tratamiento de la diabetes, con el fin de encontrar productos hipoglucemiantes naturales y se descubrió que los alcaloides que contenía y sus derivados semisintéticos tenían efectos anticancerígenos; obteniendo así los

primeros agentes antineoplásicos extraídos como constituyentes puros y utilizados en la clínica⁴⁵.

Los alcaloides vegetales son un ejemplo de tratamientos de quimioterapia, dentro de los que se encuentran los alcaloides de vinca, los taxanos que se producen a partir del árbol del Pacífico (*Taxus*) y las podofilotoxinas, derivados de la mandrágora, los cuales funcionan como agentes microtubulares o inhibidores de la topoisomerasa y los alcaloides vegetales inhibidores específicos del ciclo celular⁴⁶.

1.11 *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet) / “Xoconostle”

Opuntia joconostle, es una especie nativa de nuestro país, la cual se desarrolla en el bosque tropical caducifolio y el matorral xerófilo; la distribución de *Opuntia* dentro del país puede agruparse en dos regiones: Región centro Norte, conformada por Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro y San Luis, y la Región centro Sur conformada por Hidalgo, Tlaxcala y Estado de México⁴⁷.

El nombre Xoconostle, proviene del nahuatl, “Xococ” que significa agrio y “Nocht” que quiere decir tuna “Tuna agria”; la parte de su nombre (F.A.C. Weber ex Diguet), corresponde a los autores que dieron validez a su identificación, Frédéric Albert Constantin Weber. *Opuntia joconostle*, es una planta, perteneciente a la familia *Cactaceae* (Cuadro 2), que alcanza hasta los 2.5 m de altura, se caracteriza por contar con un tronco grisáceo; cuenta con cladodios o pencas, que son obovados de 18 a 28 cm de largo y 11.5 a 18.5 cm de ancho, de color verde pálido recubiertos de una capa cerosa (Fig. 3a), los cuales cuentan con aréolas dispuestas en series de 7 a 10, ligeramente piriformes de 2 a 3 mm de largo y de 1 a 2 mm de ancho, espinas blancas de 1 a 3 sobre las aréolas, cortas rígidas y desiguales pueden llegar a medir hasta 7mm de largo y flores amarillas de 6.5 cm de largo (Fig. 3b)⁴⁸.

Cuadro 2: Datos taxonómicos de *Opuntia joconostle*

<i>Opuntia joconostle</i> (F.A.C. Weber ex Diguet)	
Reino	<i>Plantae</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Phylum o división	<i>Tracheophyta</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Cactaceae</i>
Género	<i>Opuntia</i>

* F.A.C: Frédéric Albert Constantin. Tomado de: Tropicos, 2020⁴⁹.



Figura 3: *Opuntia joconostle*, a) cladodios de *O. joconostle*, b) flor, c) fruto. NaturaLista, 2017⁴⁸.

La parte específicamente del fruto (Fig. 3c) tiene forma subglobosa de 2 a 4 cm de diámetro con cáscara blanco verdoso, a veces rosa, con una superficie de 6 series de espirales de aréolas chicas, de 1 cm entre sí y 1.5 cm entre las series, en su interior contienen varias semillas de coloración rosada con una disposición céntrica y acumulada, de aproximadamente 1.5 mm de diámetro; este fruto se diferencia de otros ya que no cae al madurar, logrando quedarse hasta varios meses sobre las pencas, o permanecer durante todo el año⁴⁸.

El uso de xoconostle es importante para la población mexicana, siendo un fruto cuyas paredes tienen ácidos, es utilizado para elaborar salsas, mole de olla y frutas cristalizadas, dentro de sus usos en la medicina tradicional mexicana se mencionan como tratamiento en la diabetes, hipertensión, obesidad y antitumoral; a la vez que es considerado como una fuente no convencional de pectinas, las cuales tienen un 41.7 % de ácido galacturónico, y una composición de azúcares donde predomina la ramnosa⁵⁰. La importancia de las pectinas radica en su uso en la industria alimentaria como agentes espesantes y gelificantes, demostrado que las pectinas tienen actividad antitumoral, antimicrobiana y prebiótica ^{51,52}. Se ha registrado a *Opuntia joconostle* como un fruto con propiedades farmacológicas, incluyendo actividad anticancerígena, debido a la cantidad elevada que posee de pigmentos, compuestos fenólicos y betacianinas, que posee⁵³.

En un estudio realizado por Osorio-Esquivel y cols. ⁵⁴, en el año 2011, sobre extractos metanólicos de diferentes partes de *O. joconostle* (pericarpio, mesocarpio y endocarpio), se obtuvo un registro de que la mayor parte de compuestos fenólicos y el contenido total de flavonoides se encontró en el pericarpio con 27 mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de peso fresco (FW), 0.6 mg equivalentes de catequina (CE)/g FW y 7 compuestos fenólicos diferentes: ácido protocatechuico, 4-hidroxibenzoico, vanílico, cafeínico, siringico, quercetina y rutina.

Dentro de los extractos obtenidos del endocarpio se identificó la presencia de betacianinas en mayor cantidad 23.03 mg de equivalentes de betanina /100 g de peso fresco; las betacianinas identificadas por cromatografía líquida de alta eficacia con espectro de masas (HPLC-PDA-MS) fueron la betanina, isobetanina, betanidina, isobetanida y filoactina; en cuanto a la actividad antioxidante fue reportada como mayor en el pericarpio⁵⁴.

En otro estudio realizado en el año 2014 por Morales y cols.⁵⁵, también se confirma la actividad antioxidante de *Opuntia joconostle*, encontrando que la mayor actividad antioxidante se encuentra en la cascara y en la pulpa (Cuadro 3) con un

valor de 1.22 (mmol)/ capacidad antioxidante (Trolox) / g, en dos de los genotipos de xoconostles endémicos de Zacatecas, así como también un alto contenido de compuestos fenólicos en la cáscara con valores de 1.60 hasta 2.00 mg/GAE/g dentro de las variaciones⁵⁵.

Cuadro 3: Fenoles y antioxidantes en genotipos de *Opuntia joconostle*.

Variedades de Xoconostle	Fenoles (mg GAE/g)		Antioxidantes (mmol Trolox E/g)	
	cascara	pulpa	cascara	pulpa
Borrego	1.80	1.10	1.10	1.10
Chivo	2.0	1.08	1.10	1.22
Querétaro	1.60	1.15	1.20	1.10

GAE: equivalentes de ácido gálico. Tomado de: Morales Martínez, 2014⁵⁵.

En 2014 Morales y cols.⁵⁵ también realizaron la caracterización individual de cada uno de los compuestos bioactivos y totales presentes en epicarpio de xoconostle al realizar un extracto metanol/agua, estudio que se complementó en 2019 con García Saavedra y cols.⁵³, con la comprobación de componentes en todo el fruto con un extracto agua/ etanol (Cuadro 4 y 5).

Cuadro 4: Contenidos totales de compuestos en *Opuntia joconostle*.

Totales	García Saavedra y col. 2019 ⁵³	Morales y col 2014 ⁵⁵
Ácidos grasos saturados (%)	16.93 ± 0.08	57.55 ± 0.05
Ácidos grasos monoinsaturados (%), (g/100g dw)	8.49 ± 0.02	5.8 ± 0.20
Ácidos grasos poliinsaturados (%), (g/100g dw)	74.58 ± 0.06	36.75 ± 0.25
Tocoferoles (mg/100g dw)	11.5 ± 0.4	27.80 ± 0.44
Ácidos orgánicos (mg/100g dw)	22.76 ± 0.05	-----
Compuestos fenólicos (mg/g)	7.9 ± 0.1	18.45 ± 0.23
Betacianinas (mg/g)	0.726 ± 0.005	-----

dw: draw way, materia vegetal seca.

Cuadro 5: Contenido de compuestos bioactivos en *Opuntia joconostle*.

Grupo	Compuestos identificados	García Saavedra y col. 2019 ⁵³	Morales y col. 2014 ⁵⁵
Ácidos grasos (%)	Ácido caproico	0.07 ± 0.001	0.15 ± 0.05
	Ácido caprilico	0.020 ± 0.001	0.30 ± 0.00
	Ácido caprico	0.39 ± 0.02	0.30 ± 0.00
	Ácido laurico	0.223 ± 0.004	5.20 ± 0.10
	Ácido mirístico	0.277 ± 0.003	5.85 ± 0.15
	Ácido pentadecanóico	0.071 ± 0.001	0.80 ± 0.10
	Ácido palmitico	11.95 ± 0.03	15.55 ± 0.05
	Ácido palmitoléico	0.284 ± 0.002	0.50 ± 0.05
	Ácido heptadecanóico	0.1050 ± 0.0001	0.75 ± 0.05
	Ácido esteárico	2.763 ± 0.004	3.65 ± 0.05
	Ácido oléico	8.18 ± 0.02	5.30 ± 0.00
	Ácido linoléico	73.52 ± 0.01	14.70 ± 0.20
	Ácido a-linoléico	1.06 ± 0.05	9.00 ± 0.20
	Ácido araquídico	0.25 ± 0.01	2.80 ± 0.00
	Ácido eicosanóico	0.031 ± 0.001	nd
	Tocoferoles (mg/100g dw)	a-Tocoferol	7.2 ± 0.2
b- Tocoferol		0.117 ± 0.003	nd
g-Tocoferol		4.1 ± 0.2	0.72 ± 0.06
d-Tocoferol		0.078	0.23 ± 0.02
Ácidos Orgánicos (mg/100g dw)	Ácido oxálico	0.161 ± 0.002	0.77 ± 0.01
	Ácido málico	1.12 ± 0.02	4.52 ± 0.04
	Ácido ascórbico	0.39 ± 0.01	0.91 ± 0.0
	Ácido cítrico	21.08 ± 0.01	11.65 ± 0.07
	Ácido quínico	nd	0.48 ± 0.02

Nd: no detectado; Nq: no cuantificado;

Cuadro 5: Contenido de compuestos bioactivos en *Opuntia joconostle*.

Compuestos fenólicos (mg/g de extracto)	Ácido eucómico	0.22 ± 0.02	nc
	Ácido ferúlico	0.143 ± 0.009	0.20 ± 0.01
	Quercetin-O-(di-deoxyhexosyl-hexoside)	0.928 ± 0.002	0.38 ± 0.02
	Kaempferol-O-(di-deoxyhexosyl-hexoside)	0.939 ± 0.001	0.75 ± 0.02
	Isorhamnetin-O-(di-deoxyhexosyl-hexoside)	1.029 ± 0.003	1.58 ± 0.02
	Isorhamnetin-O-(di-deoxyhexosyl-hexoside)	1.60 ± 0.04	8.57 ± 0.04
	Isorhamnetin-O-(deoxyhexosyl-hexoside)	0.938 ± 0.005	2.41 ± 0.03
	Isorhamnetin-3-O-rutinoside	1.0371 ± 0.0003	0.37 ± 0.02
	Quercetin 3-O-rutinosido	nd	0.21 ± 0.02
	Quercetin 3-O-glucoside	nd	0.19 ± 0.02
	Isorhamnetin 3-O-glucoside	nc	trazas
	Kaempferol 3-O-rutinoside	nd	0.14 ± 0.01
	Isorhamnetin O-hexoside	nd	0.63 ± 0.02
	Isorhamnetin O-(deoxyhexosyl-pentoside)	nd	trazas
	Betacianinas (mg/g de extracto)	Betanina	0.382 ± 0.007
Isobetaina		0.34 ± 0.002	nd
Betanidin O-hexoside		nd	nq

nd: no detectado nq: no cuantificado

2 ANTECEDENTES ESPECIFICOS

2.1 *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet) “xoconostle” y cáncer

Dentro de las especies del género *Opuntia*, incluyendo a *O. joconostle* se ha reportado su acción farmacológica principalmente debida a la presencia de diversos biocomponentes siendo los principales; los compuestos fenólicos y betacianinas.

Diferentes especies de *Opuntia* han mostrado efectos antiproliferativos sobre líneas celulares de cáncer de colon y cervicouterino, como se observa en un estudio realizado por Kim y cols., en 2015, donde valoraron mediante el Kit de sal de tetrazolio (XTT), el efecto sobre la proliferación celular extractos orgánicos y acuosos de *Opuntia ficus-indica* en una relación 80:20, sobre las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y de cáncer de colon , a las 48 hrs de su administración⁵⁷.

Los resultados de Kim y cols.⁵⁷, mostraron un efecto antiproliferativo del extracto de acetato de etilo de *Opuntia ficus-indica* para las células SW480 de cáncer de colon a una concentración inhibitoria (CI₅₀) de 52.6 microgramos por mililitro ($\mu\text{g mL}^{-1}$) y un efecto antiproliferativo con el extracto en metanol para la línea MCF-7 a una CI₅₀ de 77.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$; el mecanismo de acción que se plantea para explicar el efecto antiproliferativo con respecto a las células de cáncer de colon SW48 por el extracto, es la inducción en la relación Bax /Bcl (36 %, $p<0.05$) e inhibición de ciclooxigenasa 2 (COX-2) (28 %, $p<0.01$) pero sin llegar a la degradación de PARP y para las células de MCF-7 con el extracto metanólico, se plantea que hay una degradación significativa de PARP (29 %, $p<0.05$), así como inhibición de COX-2 (14 %, $p<0.05$) y un nivel creciente de Bax (10 %, $p=0.07$); planteando en manera generalizada que el efecto antiproliferativo del extracto

de *Opuntia ficus-indica*, debe a una inhibición de la COX- 2 y a un aumento de la relación Bax/ Bcl, estimulando la degradación de la poli (ADP-ribosa) polimerasa, induciendo a la apoptosis celular. Atribuyendo el efecto en el extracto metanólico a los compuestos fenólicos, quercetina, rutina y taxifolina, que se encontraron en mayor proporción, sin embargo se deja claro que a pesar de encontrarse en mayor cantidad hay otros componentes que pueden contribuir a la actividad biológica del extracto.

Para el caso de las betacianinas presentes en especies del género *Opuntia*; también se ha propuesto un mecanismo de acción al emplearse como tratamiento complementario en cáncer, específicamente sobre la inhibición de las ciclooxigenasas (COX) e inducción de la inhibición de la proliferación celular en líneas celulares de leucemia linfoblástica aguda, así como en el aumento de la cantidad de células en la fase G0/G1, determinada por el ensayo de exclusión de azul tripano; comprobando que existe un aumento del efecto de vincristina para alcanzar una dosis letal 50 sobre células Jurkat, que es una línea celular de leucemia aguda de linfocitos T, a una dosis de 10.20 μM + 275.5 μM de betacianinas, después de las 24 horas de tratamiento; mostrando una diferencia estadística entre los diferentes grupos por medio de un análisis de varianza (CDK) y post hoc Tukey, con una $p < 0.05^{58}$.

CAPÍTULO 2

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer es uno de los principales problemas de salud a nivel mundial y en México el cáncer de mama es la primera causa de muerte en mujeres por tumoraciones malignas. A pesar de contar con terapias y tratamientos ya establecidos, la sociedad busca tratamientos complementarios con disponibilidad y precio accesible dentro de la medicina tradicional mexicana como es *Opuntia joconostle*. Sin embargo, a pesar de su empleo, hasta nuestro conocimiento, no hay estudios que comprueben los efectos de este fruto sobre el cáncer de mama y mucho menos se cuenta con normativas de su uso. Siendo así el consumo de especies vegetales de manera indiscriminada, una de las causas por la que los pacientes abandonan las terapias clínicas y/o prolongan el tiempo de diagnóstico, acudiendo así a su atención en etapas avanzadas de cáncer, con efectos no deseados y mal pronóstico.

Por lo que, en este trabajo se busca investigar la actividad biológica de *Opuntia joconostle* sobre el cáncer de mama, al mismo tiempo que se establecen sus posibles blancos terapéuticos. Buscando propiciar así una normatividad y dosificación adecuada sobre su uso.

¿Cuál es el efecto sobre la proliferación celular y la expresión genética al aplicar extractos de *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet) a las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB231 y MCF-7?

4. HIPÓTESIS

Los extractos de *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguét) tienen un efecto antiproliferativo y regulan la expresión génica al aplicarlos a las líneas celulares de cáncer de mamá MDA-MB-231 y MCF-7.

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto sobre la proliferación celular y la expresión genética al aplicar extractos de *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguét) a las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB231 y MCF-7.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Modelar y simular las vías de señalización relacionadas con cáncer de mama en la plataforma bioinformática Cellulat, de forma tal que se puedan efectuar experimentos *in silico* (correspondientes a las hipótesis propuestas), que complementen y guíen los correspondientes experimentos *in vitro* con los extractos de *Opuntia joconostle*.
2. Caracterizar los extractos de *Opuntia joconostle*.
3. Evaluar la actividad antiproliferativa de extractos de *Opuntia joconostle*, sobre el crecimiento de las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231.
4. Determinar la correlación entre la concentración de compuestos fenólicos presentes en el extracto y la proliferación celular.
5. Identificar las fases del ciclo celular en las que se encuentran las células a las que se les aplicó el extracto por citometría de flujo.
6. Establecer los genes regulados de forma positiva y negativa a través del estudio en microarreglos de ácido ribonucleico mensajero (mRNA) de las células a las que se les aplicó el extracto con mejor efecto antiproliferativo.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO:

El presente estudio tiene la característica de ser; experimental, comparativo, longitudinal, prospectivo y prolectivo.

6.2 UBICACIÓN ESPACIO-TIEMPO:

El proyecto se realizó en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Facultad de Medicina BUAP, Laboratorio de Investigación y Herbario del Jardín Botánico BUAP, durante el periodo comprendido de agosto de 2019 a Julio de 2021.

El protocolo fue registrado ante el Comité de Investigación de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla con el número de registro 811 (Anexo 15.1).

Al momento de recolectar las plantas y realizar los extractos nos apegamos a la NORMA Oficial Mexicana NOM-018-STPS-2015 y para el manejo de las plantas se tomó la NOM-059-SEMARNAT-2010.

En este protocolo se menciona el uso de líneas celulares de cáncer de mama dentro del laboratorio, las cuales fueron trabajadas de forma responsable con el fin de no afectar a ninguna persona o un mal manejo de los materiales. El trabajo con las líneas celulares se realizó respetando la NOM-EM-001- SSA1-2012 y la NOM-065-SSA1-1993, donde se menciona que: Las líneas celulares deben contar con certificado de origen y caracterización, registros de uso, correcto almacenaje, etiquetado adecuado, cierre hermético y temperatura adecuada. El laboratorio debe

contar con un ambiente controlado de los lotes de siembra y bancos celulares con sistemas cerrados. Se debe realizar una monitorización de la viabilidad celular con controles de calidad y buscar las condiciones necesarias para realizar las pruebas, así como la adecuada eliminación o inactivación.

6.3 DISEÑO DE MUESTREO:

Diseño experimental con selección aleatoria

6.3.1 TIPO DE MUESTREO:

La población está conformada por células de cáncer de mama, de las líneas celulares MDA - MB -231 y MCF-7, obtenidas de la Empresa American Type Culture Collection (ATCC).

6.3.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA:

5, 000 células por pozo, en un total de 96 pozos por extracto, por línea celular. Cada uno por duplicado.

6.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

Criterios de Inclusión: Líneas celulares de cáncer de mama; MDA-MB-231 (ATCC ® HTB-26 ™) y MCF7 (ATCC ® HTB-22 ™).

Criterios de exclusión: Células con viabilidad menor al 70 % y líneas celulares contaminadas (bacterias, hongos u otras células).

Criterios de eliminación: Líneas celulares de cáncer mamario que sean diferentes a MDA-MB-231 (ATCC ® HTB-26 ™) y MCF7 (ATCC ® HTB-22 ™).

6.5 DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN:

Las variables dependientes son: Proliferación celular, CI_{50} y expresión génica y la variable independiente es: Extractos orgánicos y acuoso de *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet) (Anexo 16.2).

6.6 ESTRATEGIA DE TRABAJO

Etapa 1

- Modelado y simulación *in silico*, de las vías de señalización relacionadas con cáncer PI3K/Akt/mTOR, Wnt y ERGB, en la plataforma bioinformática Cellulat.
- Experimentación *in silico* en la plataforma Cellulat con las hipótesis formuladas sobre el efecto del extracto de *Opuntia joconostle* en cada una de las vías de señalización, para predecir su concentración letal media.

Etapa 2

- Recolección e identificación de la especie vegetal.
- Elaboración de extractos acuosos y orgánicos, empleando el método de extracción convencional y extracción por Soxhlet de *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet).

- Caracterización de los extractos mediante espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS), determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.
- Análisis fitoquímico del extracto seleccionado

Etapas 3

- Evaluación de la actividad antiproliferativa y determinación de la CI_{50} de los diferentes extractos sobre el crecimiento de la línea celular MCF-7 y MDA-MB-231.
- Identificar las fases del ciclo celular en las que se encuentran las células tratadas con los diferentes extractos por medio de citometría de flujo.
- Determinación la expresión génica positiva y negativa a partir del mRNA de las células a las que se les adicionaron los extractos mediante el estudio de microarreglos.
- Establecer el mecanismo de acción a través de la regulación de la expresión génica positiva y negativa de los extractos sobre las líneas celulares mediante el análisis de resultados del estudio de los microarreglos de RNA, a través de técnicas de redes neuronales artificiales con aprendizaje profundo empleando el programa Orange Data Mining.
- Realizar el análisis estadístico correspondiente.

6.7 MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Todos los datos para cada determinación se colectan mediante la elaboración de hojas de cálculo en Excel, para su posterior análisis usando el software informático IBM SPSS Statistics para Windows.

6.8 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

- **Fase de modelado *in silico***

En la fase de modelado se identificaron y caracterizaron las estructuras celulares, las reacciones químicas que tienen lugar en cada una de éstas, los reactivos y los estados celulares finales implicados en la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR, Wnt y EGFR. Las cuales fueron inicialmente modeladas, verificadas y validadas con parámetros teóricos ya conocidos y posteriormente, se realizó un segundo modelo de esta vía, incluyendo las reacciones que involucran el papel del extracto de xoconostle.

- **Fase de simulación *in silico***

Una vez concluido el modelado de las vías de señalización y las reacciones complementarias que involucran al extracto de xoconostle, se llevó a cabo la fase de simulación empleando la plataforma bioinformática Cellulat y guiada por el siguiente enfoque metodológico:

1) Traducción de modelos. Creación / modificación de los compartimentos celulares, reacciones y reactivos implicados en la vía de señalización.

2) Verificación y validación. Ejecución de la simulación, de manera que se verificó y validó su comportamiento esperado, basándonos en el rango de gráficos y tablas de concentración / tiempo que proporcionó la plataforma Cellulat. Si era necesario, se ajustaban los valores de concentración y los parámetros cinéticos requeridos en el modelo para calibrar la simulación y volver al paso 1).

3) Traducción de modelos. Incorporación en la simulación las reacciones y reactivos que se modelaron en la hipótesis sobre el papel del extracto de xoconostle en la inhibición de la proliferación celular.

4) Verificación y validación. Ejecución de la simulación y observación si el comportamiento resultante estaba influenciado por la presencia de extracto de xoconostle.

5) Experimentación y análisis. Experimentos que permitieron observar el papel del extracto de xoconostle en la inhibición de la proliferación, modificando su concentración en diferentes órdenes de magnitud.

- **Experimentación *in silico***

La experimentación *in silico* se llevó a cabo en la plataforma Cellulat, que es una herramienta de simulación de redes de señalización celular, basada principalmente en dos elementos clave: a) el concepto de espacio de tuplas y b) el algoritmo de Gillespie. Esta experimentación consistió en la ejecución de la simulación de las tres vías previamente modeladas y simuladas, en los dos escenarios: a) la conocida vía de señalización en las células cancerosas y b) esta misma vía de señalización con tratamiento.

En donde una vez determinadas las reacciones y ejecución de la simulación en el modelo de cáncer sin tratamiento, se pudieron desarrollar diferentes hipótesis para cada vía de señalización sobre los posibles puntos diana del extracto de *O. joconostle* a diferentes concentraciones para lograr el efecto antiproliferativo.

Las hipótesis se plantearon de acuerdo al mecanismo de acción de tratamientos ya conocidos para el cáncer de mama, obteniendo de este modo las posibles concentraciones letales que dieran esos resultados *in vitro*.

- **Recolección, selección e Identificación de especie**

Se realizó la recolección de la materia vegetal, en un campo de cultivo de xoconostle ubicado en el estado de Puebla, municipio General Felipe Ángeles, paraje El carrizal, coordenadas 23° 55' 0" N, 104° 36' 0" W., durante el periodo de cosecha de invierno que abarca los meses de diciembre a febrero del 2019. Este lugar se eligió por su producción exclusiva y constante de xoconostle, así como por su cercanía al laboratorio. Los frutos seleccionados fueron aquellos que presentaron un aspecto de madures sobre el epicarpio, el cual denota una coloración rojiza, a diferencia de los inmaduros que eran verdes y se eliminaron aquellos ejemplares que presentaron hongo, picaduras, magulladuras o plagas.

Para la identificación de la especie, se preparó un ejemplar siguiendo las recomendaciones y especificaciones brindadas por el curador del Herbario del Jardín Botánico de la BUAP.

- **Método de secado del material vegetal**

Una vez que se seleccionó el material vegetal que no presentará presencia de insectos, magulladuras u hongos, se realizó un lavado del fruto y se obtuvo la parte de la cascara de cada fruto (ya que fue la que se empleó para los extractos), esta se cortó en de forma vertical y se colocó sobre una rendija de acero inoxidable, sobre una parrilla de calentamiento a 40 °C dentro de una campana de flujo laminar, hasta estar completamente seca.

- **Método de extracción convencional**

Al tener lista la materia seca y pulverizada, se pesaron 1.5 g en 15 mL del disolvente, para obtener una concentración final del 10 %. El polvo y el disolvente se colocaron en una parrilla con agitación magnética a una temperatura de 45 °C,

durante 10 min. Posteriormente se retiró del calor y se colocó en un tubo estéril adecuado al volumen de la mezcla, el cual se agitó a máxima velocidad durante 10 min en Vortex y se centrifugo a 4, 500 rpm en dos ciclos de 10 min cada uno para recuperar el sobrenadante. El producto final obtenido fue filtrado dentro de la campana de flujo laminar para su esterilización a través de un filtro pirinola estéril de 0.22 μm y almacenado en un frasco estéril, color ámbar, manteniéndolo a 4 °C para su uso posterior.

- **Obtención de extractos acuosos y orgánicos por Soxhlet**

La metodología del equipo Soxhlet se basa en la extracción de grasa de la muestra mediante el tratamiento con disolventes, los cuales se seleccionaron con base a sus características fisicoquímicas, (Anexo 15.3.1) en dicho equipo. Finalmente, los extractos de los principios activos se realizaron con Agua y con dos disolventes orgánicos Acetato de etilo y Etanol, para posteriormente probar su actividad antiproliferativa. Los extractos se elaboraron a una concentración de 3g / 250 mL para cada caso. Colocando el disolvente en un matraz de bola sobre una parrilla de calentamiento con agitación. Se esperó a que el disolvente llegue a su punto de ebullición, el cual se evapora por medio de un condensador a reflujo, el líquido condensado cae sobre un recipiente el cual contiene un cartucho poroso, con la muestra en su interior y se observa 3 veces el ascenso del nivel del disolvente cubriendo el cartucho, realizando un efecto de sifón que regresa el solvente con el material extraído al matraz.

- **Caracterización por espectroscopía Ultravioleta visible de los extractos.**

Se realizó el análisis de los espectros UV-VIS de los diferentes extractos obtenidos, en el Espectrofotómetro *NANODROP* 1000. La espectroscopia UV-Vis se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética que puede

absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente. Por lo que los picos de absorción que se observan cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos de la sustancia relacionando así a la cantidad de especie activa presente en la muestra.

- **Caracterización por análisis fitoquímico**

Una vez seleccionado el extracto con mejor efecto antiproliferativo, se procedió a la realización del análisis fitoquímico de manera cualitativa de los siguientes biocomponentes: flavonoides, esteroides, alcaloides, óxidos fenólicos, insaturaciones, cumarinas, fitoesteroles, lactonas y saponinas (Anexo 15.3.2).

- **Experimentos *in vitro*. Proliferación celular por el método XTT**

La proliferación celular fue determinada empleando el KIT XTT de Roche sembrando 5×10^4 células en placas de 96 pozos, adicionando la concentración del extracto deseada en cada poso, y pasadas las 24 hrs se agregaron 50 μ l de XTT, dejando la placa incubar por 4 hrs a 37 °C y en una atmósfera húmeda con 5 % de CO₂, en donde una vez pasado el tiempo se determinó la absorbancia a 500 nm y 600 nm. (Anexo 15.3.3).

- **Citometría de flujo**

La citometría de flujo es una técnica de medición rápida para estudiar los atributos celulares y en este caso se empleó para monitorear el ciclo celular. Se realizó una tinción con yoduro de propidio (PI), colorante fluorescente de unión al ADN, la muestra fue examinada registrando diversas mediciones con base en la intensidad de fluorescencia emitida, permitiendo la resolución de las tres fases del ciclo celular. Se utilizó un grupo control sin tratamiento para cada línea celular

(MDA-MB-231 Y MCF-7) y una segunda muestra correspondiente a las células tratadas con la CL₅₀ del extracto acuoso de *Opuntia joconostle* obtenido por el método convencional, ya que es el que presentó el mejor efecto antiproliferativo en ambas líneas.

El estudio se realizó en el citómetro de flujo FACScantoll del Centro de investigación Biomédica de Oriente, con el apoyo de la M. C. Lilia Karina Cabrera Cosme y la D. C. Dalia Ramírez, a una lectura de 1, 000 eventos por segundo, empleando yoduro de propidio, con una excitación de 493 nm y una emisión de 605 nm. Con un detector de dispersión frontal FSC (tamaño celular) de 606 y un detector de dispersión lateral SSC (complejidad) de 493. (Anexo 15.3.4).

- **Extracción de mRNA de las células en ausencia y presencia de los extractos por el método de trizol**

Se trataron células durante 24 hrs. con la misma CL₅₀ del extracto de joconostle, de manera paralela como control se emplearon células sin tratamiento. Una vez listas las células fueron homogenizadas en el volumen de trizol correspondiente (Invitrogen, Carlsbad, CA), para purificar el ARN de acuerdo con las instrucciones del fabricante, este método se basa en el empleo de fenol para disolver grasas y proteínas celulares, de hidroxiquinoleína para inhibir RNAasas, de tiocinato de guanidina y tiocinato de amino como solución desnaturizante, así como cloroformo para separar las fases acuosa y orgánica en la muestra.

En una última etapa, el ARN se recupera de la fase acuosa mediante precipitación con 2-propanol concentrado y dos lavados con etanol al 75 % (Anexo 15.3.5), el RNA se cuantificó en el nanodrop a 260 nm y para confirmar la integridad se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % (Anexo 15.3.6).

- **Obtención de sondas de cDNA fluorescentes para la fabricación de microarreglos**

Se utilizaron 75 µg de RNA total. Para la obtención del cDNA se parte de RNA, 2 µg de Oligo (dt) 12-18, la mezcla se colocará a una temperatura de 65 °C por 5 min, y posteriormente colocada en hielo. Agregar 12.5 µL de una mezcla con, 6 µl de la solución tampón 5x, para la síntesis de la primera cadena de c-DNA, 24 nM DTT, 0.6 µL de una mezcla 50X de aminoallyldNTPs (25 mM dATP; 25mM dCTP; 25 mM dGTP; 25 mM de la mezcla, aadUTP: dTTP, en una relación 4:3), 60 U del inhibidor de Rnasas, OUT (Invitrogen) y 1.4 µL de agua milli-Q.

La mezcla se incuba a 37 °C por 2 min, luego se le agregan 400 U de transcriptasa reversa (Superscript II RT (Introgen) y se incuba a 42 °C por 2 hrs. La reacción es detenida por incubación a 70 °C durante 15 min. El ARN se degrada por agregado de µl de Hidróxido de sodio 2.5 M, e incuba a 37 °C durante 15 min, posteriormente la mezcla es neutralizada por el agregado de 15 µL de HEPES 2M.

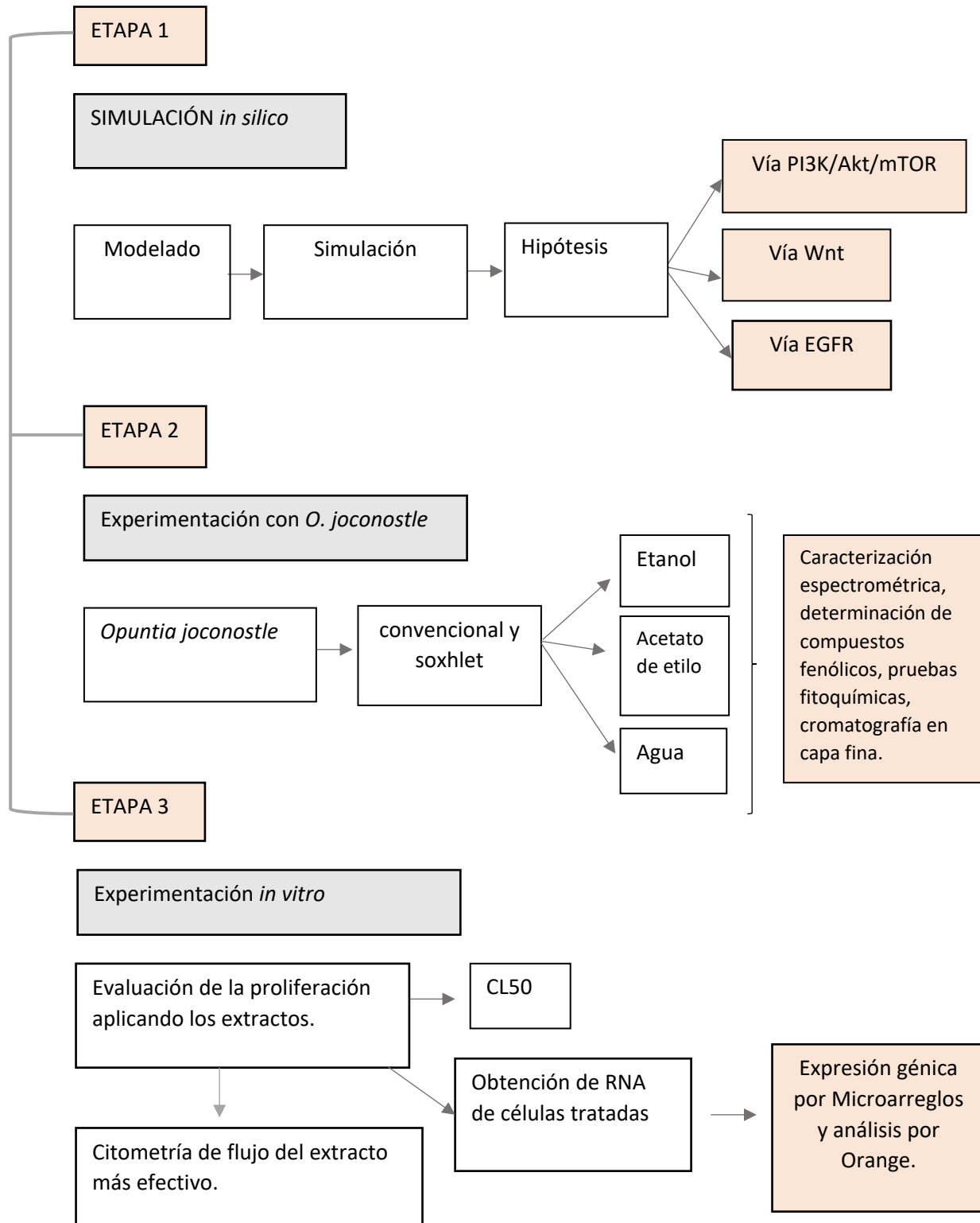
El cDNA obtenido se precipita con etanol, resuspendiendolo en 4.5 µL de una solución amortiguadora 0.1 M NaHCO₃ (pH9), combinado con 4.5 µL de solución de Cy3 o Cy5 re suspendidos en dimetil sulfóxido (DMSO), e incubado durante 60 min a temperatura ambiente, sin luz. Las sondas son purificadas a través de las columnas de purificación SNAP (Invitrogen), con una única modificación. Al inicio, se le agrega a la mezcla de c-DNA y fluoróforos (Alexa 555 y Alexa 647), 500 µL de una solución de carga 2.25 M de guaninidinio Ácido clorhídrico, todo sembrado en la columna SNAP e incubado por 4 min a temperatura ambiente. La base sólida fue fabricada en la Unidad de Microarreglos del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, mismos que nos proporcionaron el protocolo de trabajo (Anexo 15.3.7), resultados y cuantificación.

- **Análisis de microarreglos a través de redes neuronales**

A partir de los resultados obtenidos de los microarreglos resultantes, los datos obtenidos fueron trasladados a una matriz de valores numéricos (excel, csv.), que constituyó el conjunto de patrones de ingreso a la red neuronal artificial. Empleando el programa informático Orange Data Mining, para realizar minería de datos y análisis predictivo. En el cual se introdujo primeramente la tabla de datos numéricos del documento csv y posteriormente se tradujo la información a un código de la base de datos de NCBI Gene, a través del Widget Gene, dando como resultado una tabla de datos nueva la cual fue analizada por el widget KEGG Pathways, logrando así agrupar los genes traducidos en la lista, a cada una de las vías de señalización correspondientes

6.9 DIAGRAMA DE FLUJO

Se esquematiza el diagrama de trabajo dividido en fases:



6.10 Análisis de datos

El análisis estadístico, se lleva a cabo con el software informático IBM SPSS Statistics versión 23 para Windows, reportando estadísticos descriptivos de los resultados de las pruebas (mediana y rangos máximo y mínimo).

A los resultados obtenidos de la evaluación del efecto de todos los extractos de xoconostle en ambas líneas celulares, se les aplicaron las pruebas de normalidad de Shapiro - Wilk ya que la muestra por cada grupo es menor a 50. Así como la prueba de Levene para determinar la homogeneidad de varianza. Las pruebas estadísticas aplicadas mostraron que los grupos de datos para los extractos empleados para el tratamiento de las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231, no son normales y las varianzas son de tipo heterogéneas; por lo que se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para la comparación entre grupos y una prueba pos hoc de Dunn para diferenciarlos (Anexo 15.4).

7. RESULTADOS

- **Resultados de la simulación de las vías de señalización, modelado *in silico***

Se realizó el estudio de las principales vías de señalización involucradas en el desarrollo del cáncer de mama, a través del desarrollo de diagramas que mejoran su comprensión y actividad en una fase de modelado, para posteriormente transformar las interacciones en reacciones con parámetros cinéticos que permitieron la simulación de la vía en la célula con cáncer y posterior al tratamiento con el extracto del xoconostle.

Fase de modelado: para el modelado de las vías de señalización PIK3 /Akt/ mTor (Fig. 4), Wnt (Fig. 5) y EGFR (Fig. 6), se realizó una revisión exhaustiva en diversas fuentes teóricas y una esquematización de cada uno de los elementos participantes en las vías de señalización así como de las interacciones entre ellos, para poder de visualizar el proceso de desarrollo de cáncer en una célula de cáncer de mama, mediante una proliferación celular descontrolada, inhibición de la apoptosis, y alteraciones en el crecimiento celular.

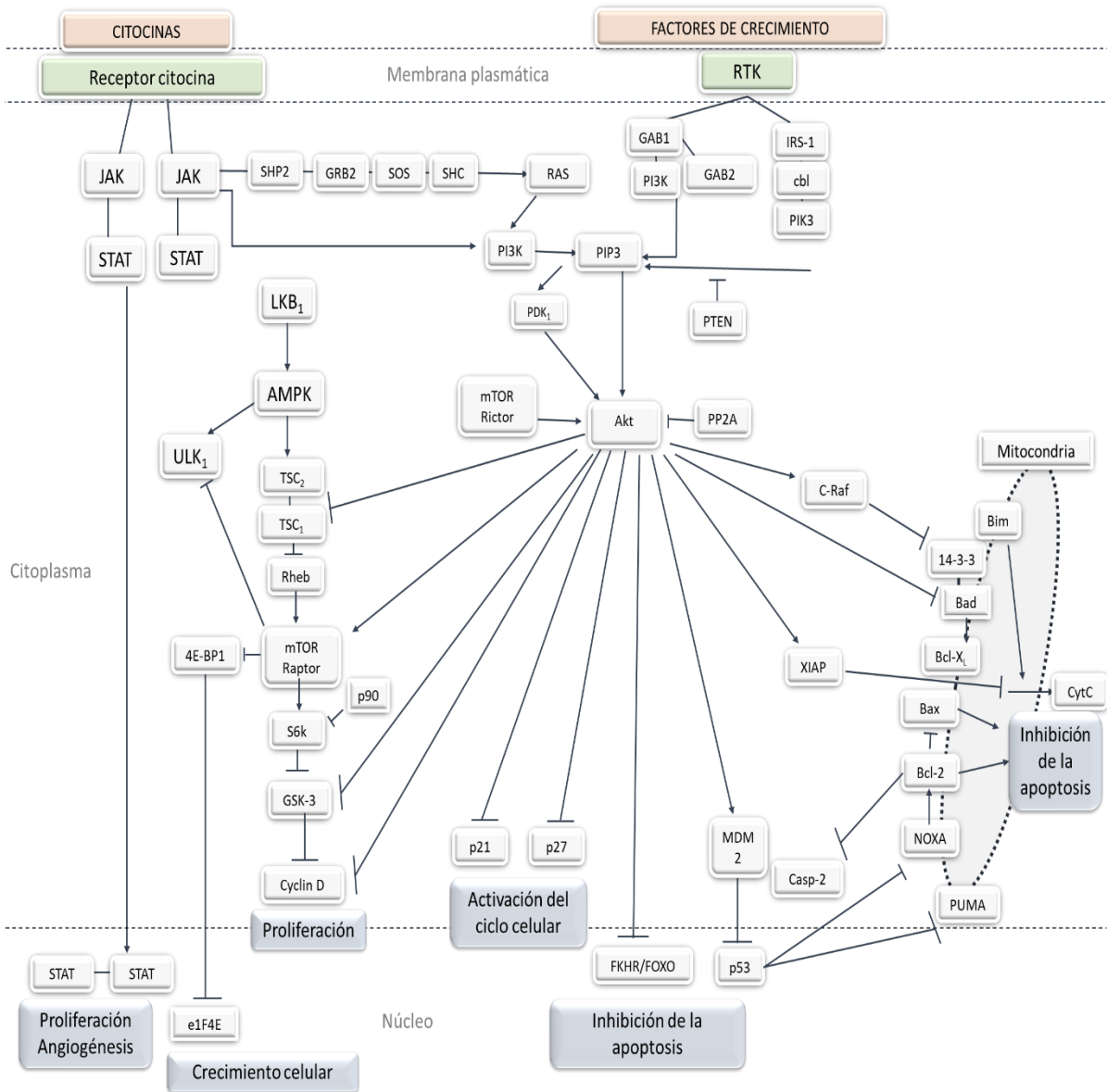


Figura 4: Diagrama de la Vía PI3k /Akt / mTOR. Muestra el resultado de la fase de modelado con las interacciones e inhibiciones de los componentes activados a partir de citocinas llevando a la proliferación e inhibición de la apoptosis a una célula de cáncer de mama.

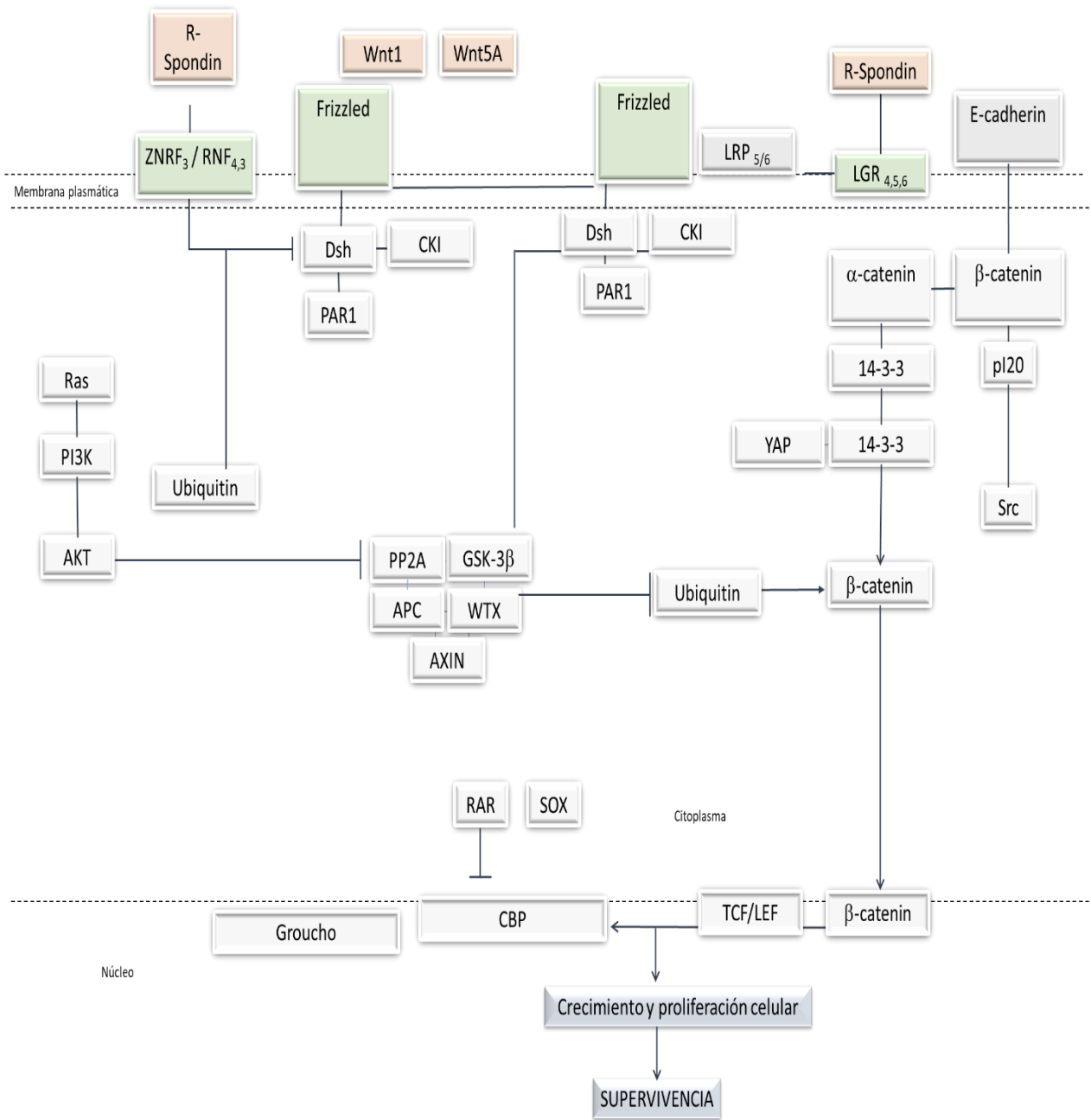


Figura 5: Diagrama de la vía Wnt, resultado del modelado de la vía Wnt, en donde se observa la activación principalmente del receptor de Frizzled por Wnt1, llevando a las células a la supervivencia mediante el crecimiento acelerado y la proliferación celular.

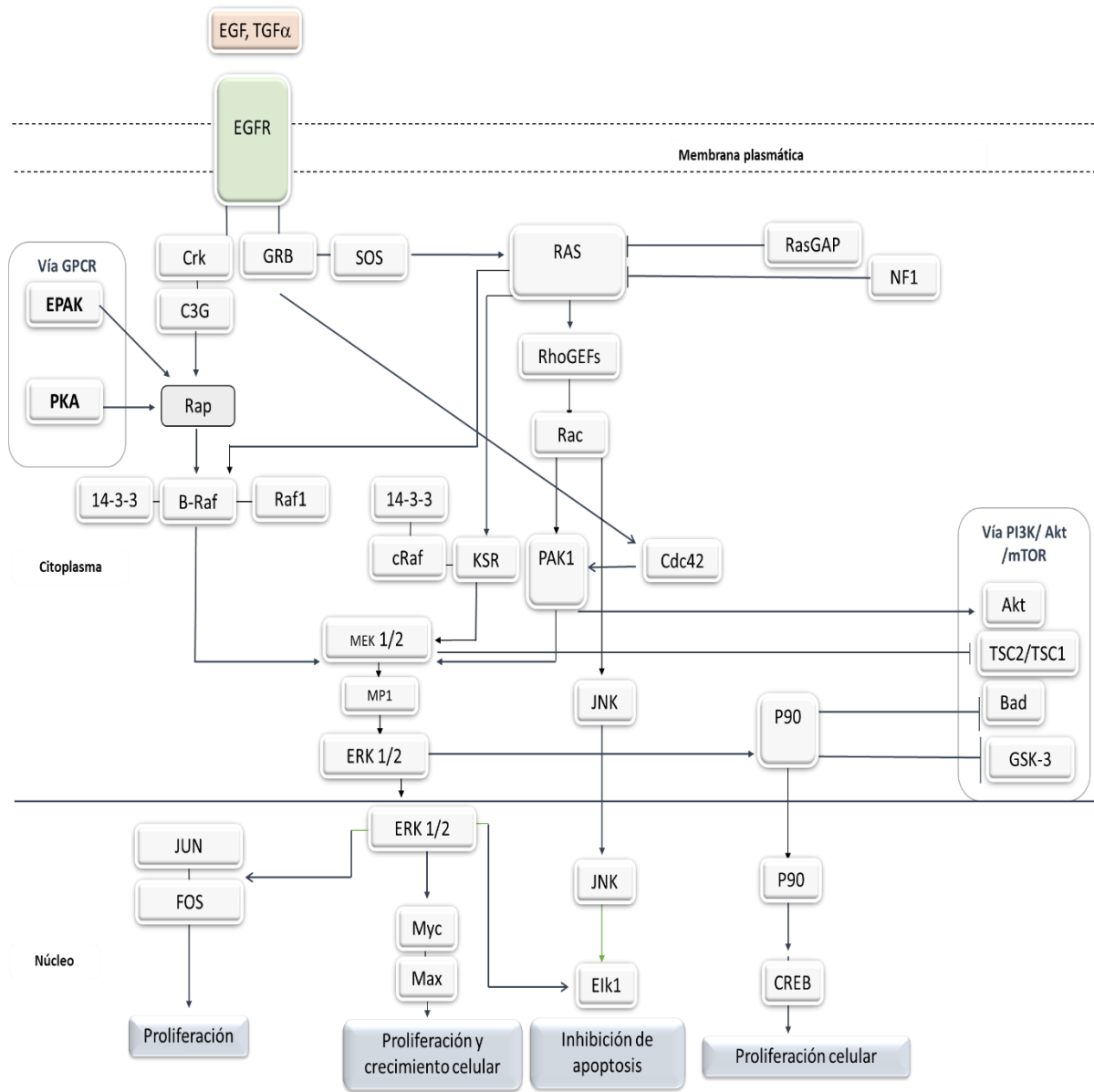


Figura 6: Diagrama de la vía EGFR, resultado del modelado que muestra las interacciones de los elementos de esta vía para llevar a la célula al desarrollo del cáncer de mama a la supervivencia mediante proliferación e inhibición de la apoptosis.

Posterior a la realización de los modelos, igualmente dentro de la fase de modelado, se determinaron las reacciones, parámetros cinéticos y concentraciones (Cuadro 6 al 8) logrando realizar un esquema de señalización completo para cada vía; en el cuadro 6 se presenta un fragmento de las reacciones, restantes y parámetros cinéticos de cada vía de señalización.

Cuadro 6: Definición de reacciones y parámetros cinéticos vía PI3K/Akt/mTor,

Elemento	Reacción	CI μM	Km μM	Vmax $\mu M/\mu l/s$	Vo
Cyt RK	Cyt + RK -> CytRK	0.1 0.25	34.2	7.6	2.22222E-05
JAK	CytRK+JAK -> CytRKJAK*	0.012			
Cyt RK STAT	CytRKJAK*+STAT -> CytRKJAK*+ STAT*	0.000 1 0.25 0.4	34.2	7.6	2.22222E-05
Cyt RK		0.000 1 0.25	74.1	49	6.61268E-05
Proliferación / Angiogenesis	STAT* -> Proliferación / Angiogenesis	0.4	74.1	49	0.263087248
SHP1 Cyt RK	CytRKJAK* + SHP1* -> CytRKJAK	0.045 0.1 0.25	34.2	7.6	2.22222E-05
SHP2 Cyt RK GRB SOS SHC	CytRKJAK*+SHP2+GRB2+SOS+SHC -> CytRKJAKSHP2GRB2SOSSH*	0.035 0.1 0.25 0.09 0.11 0.76	34.2	7.6	2.22222E-05
RAS	CytRKJAKSHP2GRB2SOSSH* + RAS -> CytRKJAKSHP2GRB2SOSSH* + RAS*	0.8	74.1	49	0.263087248
PI3K RAS	RAS* + PI3K -> PI3K*	0.9 0.8	53.4	49	0.091588785

* CI: concentración inicial, Vmax: velocidad máxima, Vo: velocidad inicial. Se muestra en la segunda columna la reacción formulada para la interacción de cada elemento seguida de los parámetros cinéticos que definen su comportamiento.

Cuadro 7: Definición de reacciones y parámetros cinéticos vía Wnt.

Elemento	Reacción	CI μM	Km μM	Vmax $\mu M/\mu l/s$	Vo
WNT1 FRIZZ	WNT1 + FRIZZ -> WNT1FRIZZ	9.8 5.9	33.1	2	0.006024096
WNT1 FRIZZ DSH PAR1 CKI	WNT1FRIZZ+DSH+CKI+PAR1> WNT1FRIZZDSHCKIPAR1*	9.8 5.9 18.5 7.26 1.31	26	2	0.007662835
FRIZZ DSH PAR1 CKI	FRIZZ+DSH+CKI+PAR1> FRIZZDSHCKIPAR1	5.9 18.5 7.26 1.31	6.46	4.85	0.073932927
FRIZZ DSH PAR1 CKI GSK3b PP2A APC WTX AXIN	FRIZZDSHCKIPAR1+PP2A+GSK3b+APC+WTX +AXIN-> PP2AGSK3bAPCWTXAXIN*	5.9 18.5 7.26 1.31 7.8 0.67 9.8 7.1 0.94	3.67	4.02	0.1066313
WNT1 Frizz DSH CKI GSK3b PP2A* APC WTX AXIN	WNT1FRIZZDSHCKIPAR1*+ PP2A*+GSK3b*+APC*+WTX*+AXIN* ->PP2AGSK3bAPCWTXAXIN	9.8 5.9 18.6 1.31 7.8 0.67 9.8 7.1 0.94	24.97	1.32	0.005265257
GSK3b	PP2AGSK3bAPCWTXAXIN + BCATENIN -> BCATENIN*	7.8	43.82	1.5	0.003415301

* CI: concentración inicial, Vmax: velocidad máxima, Vo: velocidad inicial. Se muestra en la segunda columna la reacción formulada para la interacción de cada elemento seguida de los parámetros cinéticos que definen su comportamiento.

Cuadro 8: Definición de reacciones y parámetros cinéticos vía EGFR.

Elemento	Reacción	CI μM	Km μM	Vmax $\mu M/\mu l/s$	Vo
EGFR EGF	EGFR+EGF-> EGFRRGF*	1.9 10.4	77	0.32	0.0000004156
EGF EGFR GRB SOS	EGFREGF* + GRB + SOS -> EGFREGFGRBSOS*	10.4 1.9 1.26 3.18	77	0.32 0.5	0.0000004156
EGF EGFR GRB SOS RAS	EGFREGFGRBSOS*+ RAS -> RAS*	10.4 1.9 1.26 3.18 0.9	77 74.1	0.32 0.5 49	0.0000004156 0.263087248
EGF EGFR CRK	EGFREGF*+ CRK -> EGFREGFCRK*	10.4 1.9 5.8	77	0.32	0.0000004156
EGF EGFR CRK C3G	EGFREGFCRK*+ C3G -> EGFREGFCRKC3G*	10.4 1.9 5.8 4.45	77	0.32	0.0000004156
EGF EGFR CRK C3G Rap	EGFREGFCRKC3G* + Rap -> Rap*	10.4 1.9 5.8 4.45 0.2	77	0.32	0.0000004156
Rap B-raf 14-3-3 Raf1	Rap*+ B-raf + 14-3-3 + Raf1 -> B-raf14-3-3Raf1 *	0.2 0.8 0.2 0.2	11.7	2.9	0.048739496

* CI: concentración inicial, Vmax: velocidad máxima, Vo: velocidad inicial. Se muestra en la segunda columna la reacción formulada para la interacción de cada elemento seguida de los parámetros cinéticos que definen su comportamiento.

Fase de simulación: en esta segunda fase empleando la plataforma bioinformática Cellulat, se crearon los compartimentos celulares, se registraron las reacciones con sus parámetros cinéticos, así como los reactantes con sus concentraciones iniciales, y se ejecutó la simulación. Como resultado, se pudo visualizar el comportamiento de cada uno de los elementos de señalización, con base a la selección y ejecución de las reacciones químicas determinada por el algoritmo de Gillespie, dentro de las vías en diferentes tiempos, comenzando desde el tiempo cero (Fig. 7), en donde ninguno de ellos se encuentra inhibido ni activado, hasta el tiempo en que se llega a observar un aumento en los compuestos que desencadenan el proceso del cáncer; dentro de los que se encuentran procesos como la inhibición de la apoptosis, descontrol del ciclo celular y proliferación celular.

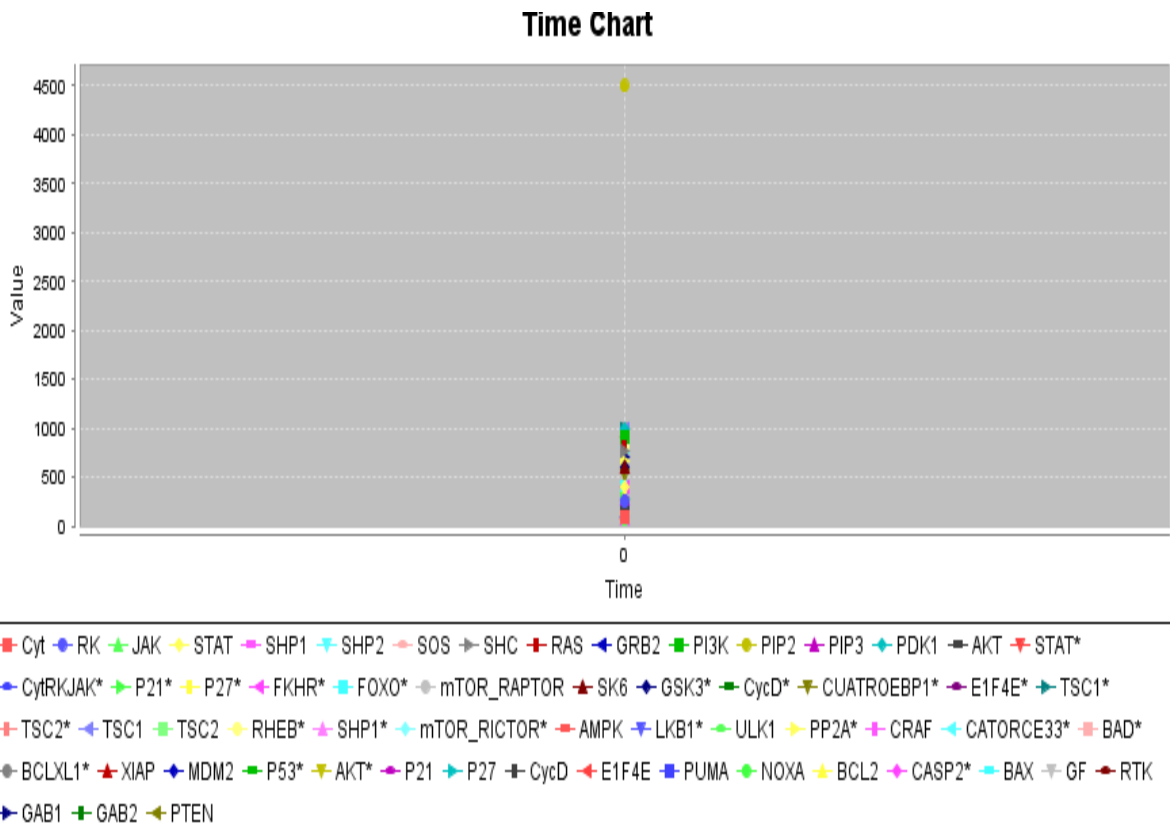


Figura 7: Simulación PI3K/Akt/mTOR en el tiempo cero, en donde se observa que todos los participantes en la vía PI3K/Akt/mTOR no están realizando ninguna de las acciones dentro de las células.

Simulación de la vía PI3K/AKT/mTOR: En este paso se encontró que el modelo propuesto basado en el comportamiento de las reacciones químicas y los reactantes dentro de la vía, a determinados valores cinéticos y concentraciones, que efectivamente desarrollan un proceso canceroso en las células (Fig. 8). Mediante la activación principalmente del receptor de citocinas por ligandos como citocinas y factores de crecimiento que a través de reacciones de fosforilación activan a segundos mensajeros y factores de transcripción como STAT, el cual se logra homodimerizar y pasar al núcleo para activar la transcripción de genes que participan en la proliferación celular y en la angiogénesis. También se observa la activación de la proteína de control mTOR y la proteína cinasa Akt que activan a proteínas esenciales como es Bcl-2 e inactivan al regulador de la apoptosis Bax lo que lleva a inhibición de la apoptosis.

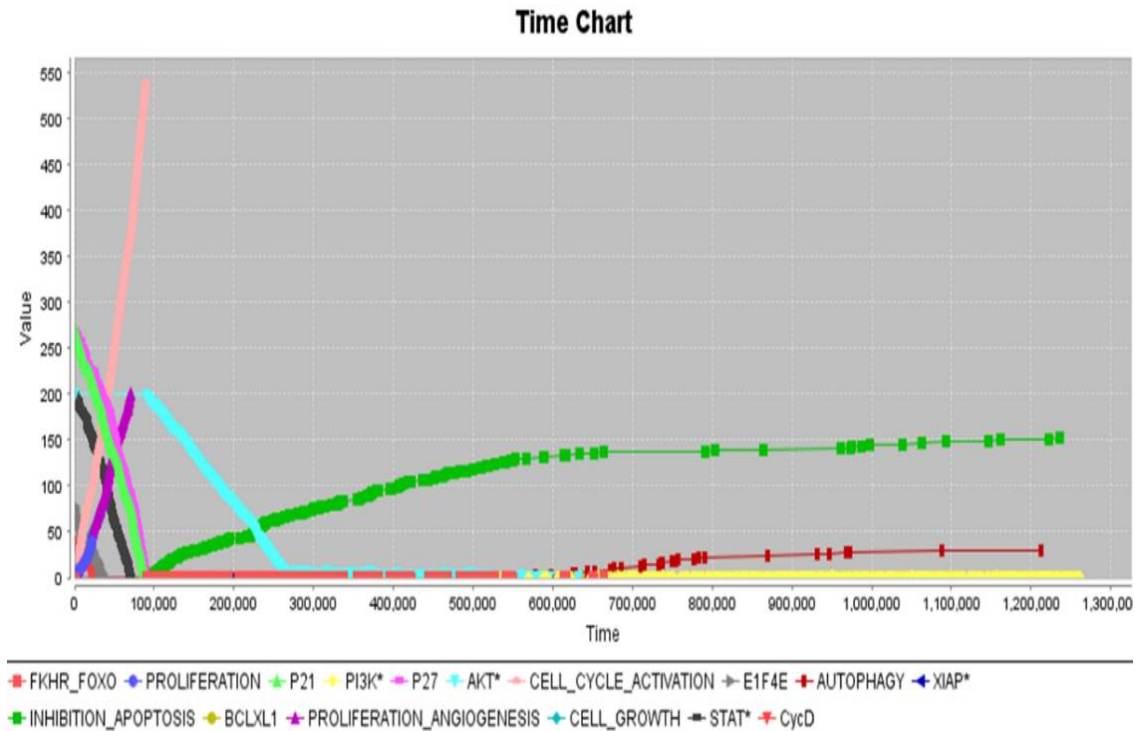


Figura 8: Simulación de la vía PI3K/ Akt/mTOR a través del tiempo al modificar los parámetros en células de cáncer de mama, mostrando un aumento en la inhibición de la apoptosis (verde), así el comienzo de la proliferación y apoptosis (violeta).

Simulación de la vía Wnt: como ya se comentó, esta vía se subdivide en vía canónica y vía no canónica, al simular esta vía comenzando desde el tiempo cero (Fig. 9), se observó que la vía canónica, así como la activación del receptor Frizzled por Wnt 1 (Fig. 10) , inhibiendo la activación del complejo Axina (AXIN), el cual está compuesto por una citocinquinasa 1 (CK1), el supresor tumoral (APC), la glucógeno sintasa 3 (GSK3) y otro supresor tumoral (WTX), la el cual ayuda a iniciar la ubiquitinación de la β -catenina para su posterior degradación por el proteasoma. Sin embargo, al ser inactivado este complejo la β -catenina aumenta a nivel citoplasmático y es traslocada al núcleo en donde logra activar a un grupo de factores de transcripción conformado por TCF/LEF que llevan a la célula a supervivencia mediante el crecimiento descontrolado y aumento en la proliferación celular (Fig.11). Es importante mencionar que se observó que el complejo de Axina también se puede ver inactivado por Akt, dando un puente de unión entre la vía Wnt y la vía PI3K/Akt/mTor.

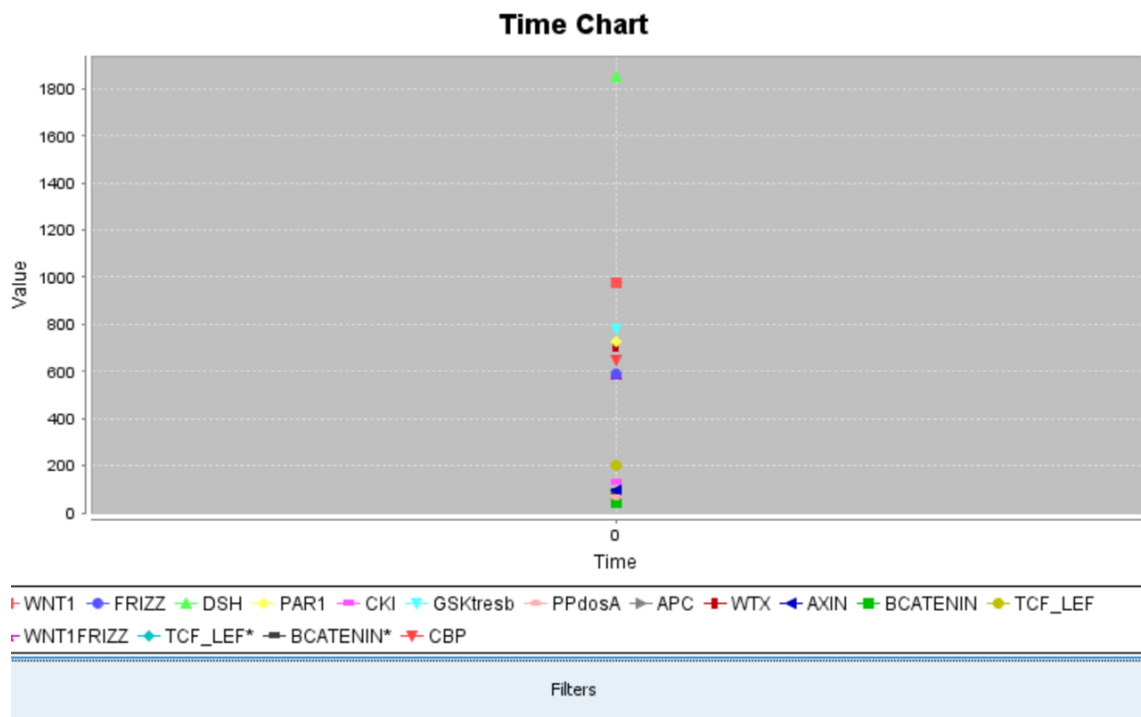


Figura 9: Simulación Wnt en el tiempo cero, en donde se observa que todos los participantes en la vía están presentes pero no están realizando acción alguna dentro de las células.

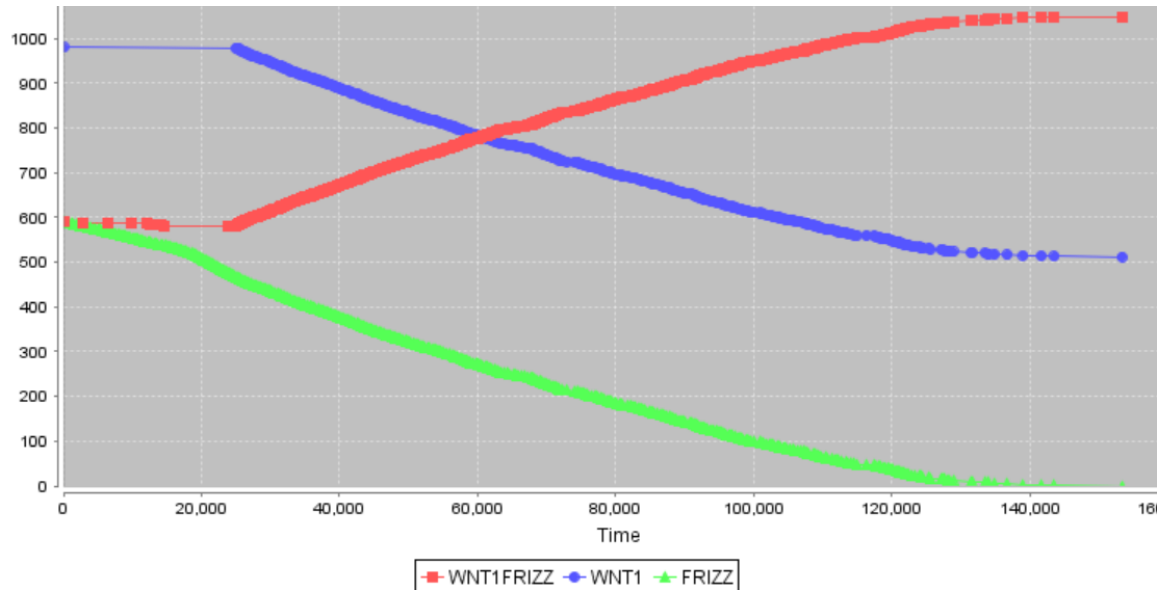


Figura 10: Simulación en programa Cellulat de Wnt en curso, en donde se ve la unión del receptor Frizzled al ligando Wnt1, dando paso a la activación de la vía canónica Wnt.

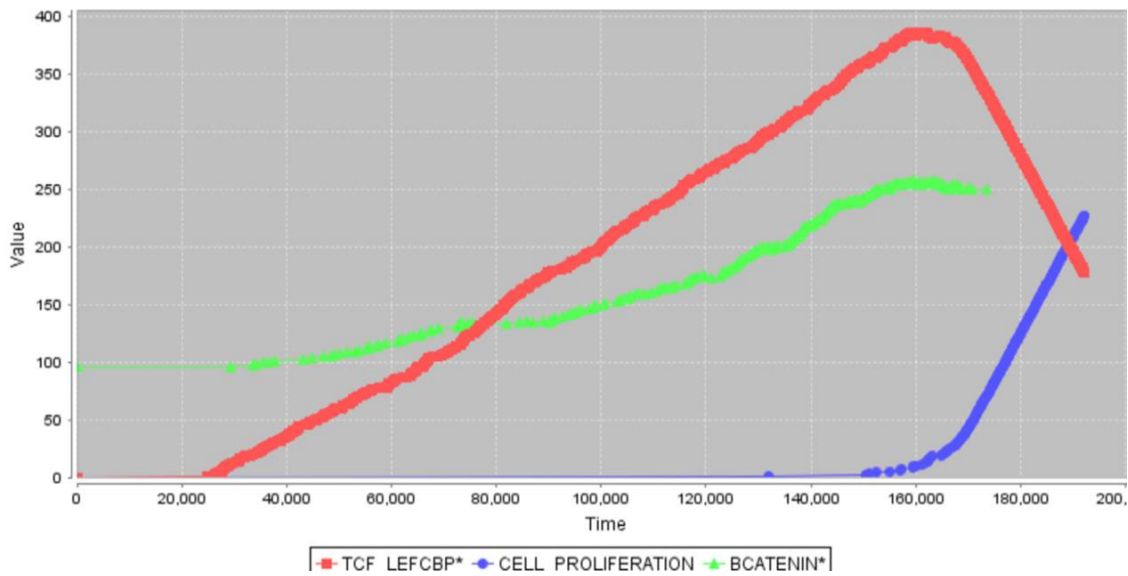


Figura 11: Simulación en Cellulat del comportamiento de la vía Wnt a través del tiempo al modificar los parámetros en células de cáncer de mama, que al paso del tiempo comienza a marcar un aumento en la proliferación celular (azul) posterior al aumento de la activación del factor de los factores de transcripción TCF / LEF (rojo) por el aumento de β -catenina.

Simulación de la vía EGFR: la simulación de esta vía amplió el concepto de las diferentes cascadas de señalización dentro de EGFR que llevan a la supervivencia celular. Comienza desde el tiempo cero (Fig. 12) y una vez que corre el tiempo, se nota que la activación de esta vía se hace evidente el entrecruzamiento entre vías por medio de diferentes elementos, específicamente el p90 que participa en la vía PI3K/Akt/mTOR inhibiendo a Bad y a GSK 3, y la proteína cinasa PARK 1 que activa a Akt (Fig.13). La vía EGFR, se activa con la presencia de factores de crecimiento tumoral alfa o del factor de crecimiento epidérmico, estos se unen al receptor de factor de crecimiento y activan a las proteínas Rap y Ras, activadores principales de la vía de las MAP cinasas, las cuales activan directamente a p90 y a diversos factores de transcripción como son JUN-FOS, Myc-Max, Elk1 y CREB lo que se refleja como proliferación celular, crecimiento celular e inhibición de la apoptosis (Fig. 14).

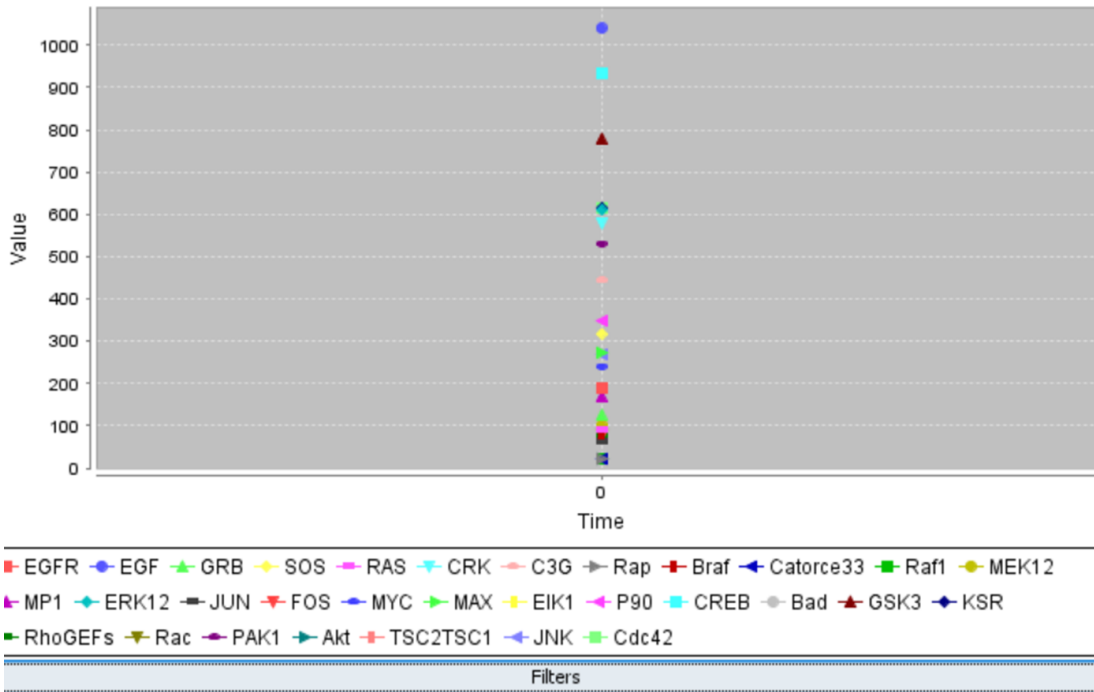


Figura 12: Simulación EGFR en el tiempo cero, en donde se observa que todos los participantes en la vía EGFR no están realizando ninguna de las acciones dentro de las células.

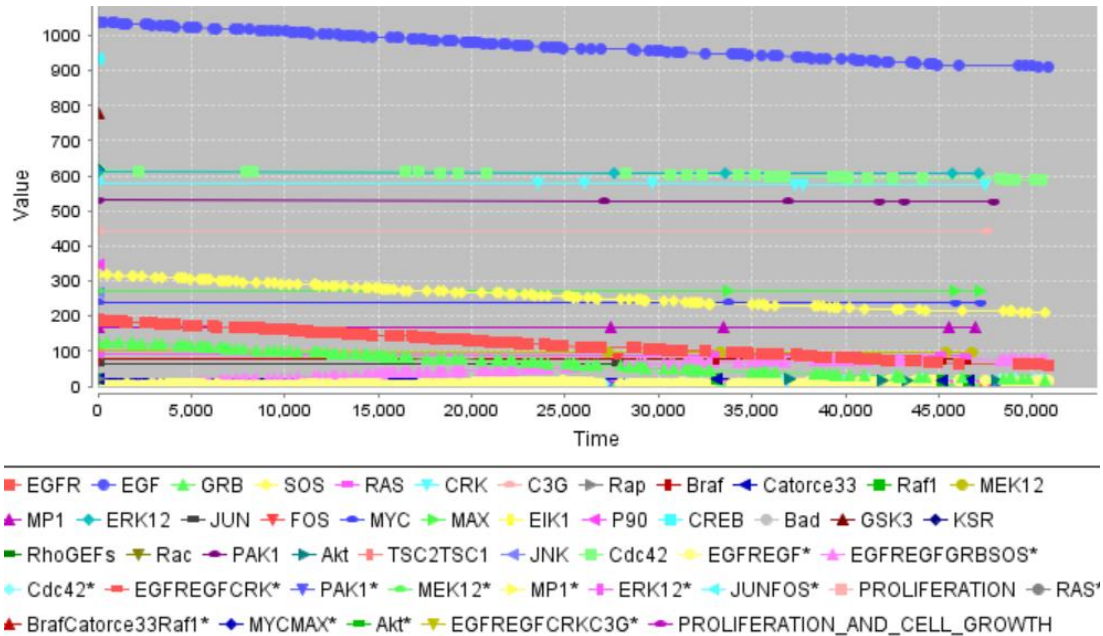


Figura 13: Simulación en programa Cellul8t de la vía EGFR, donde se observa la participación de componentes que interactúan con otras vías como p90 y Akt.

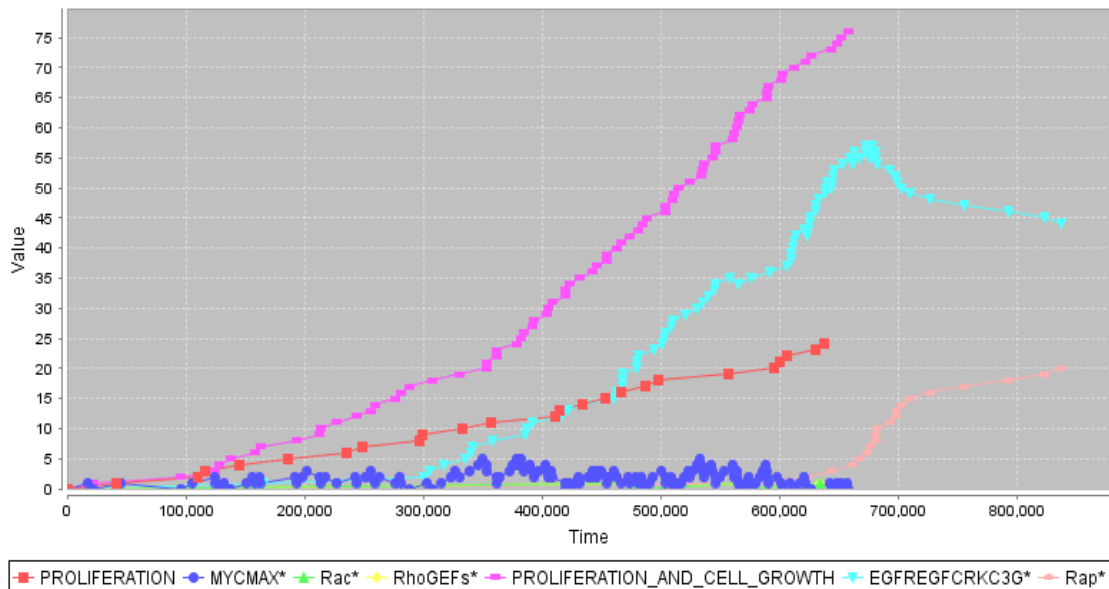


Figura 14: Simulación en Cellul8t del comportamiento de la vía EGFR al modificar los parámetros a través del tiempo en células de cáncer de mama, que al paso del tiempo comienza a marcar un aumento en la proliferación celular (rojo) y crecimiento celular (violeta) posterior al aumento de la activación del factor de los factores de transcripción JUN-FOS, Myx-Max, CREB, EIK1.

Con el fin de estudiar los posibles blancos del extracto de xoconostle sobre las tres vías para causar un efecto antiproliferativo, se plantearon tres conjuntos de hipótesis, definiendo las reacciones y parámetros cinéticos a diferentes concentraciones del extracto de *O.joconostle*. Simulaciones en donde, una vez administrado el extracto, se observó en os experimentos en Cellulat, una disminución de la proliferación celular e inhibición de la angiogénesis.

Hipótesis para la vía PI3K/AKT/mTOR: un principio activo presente en el extracto sería el ligando para el receptor de citosinas, inactivando a JAK, lo que no causaría una fosforilación de estas proteínas, evitando una homodimerización del factor de transcripción STAT, por lo tanto, éste no puede pasar al núcleo y se observa una inhibición de la proliferación y disminución de la angiogénesis (Fig. 15).

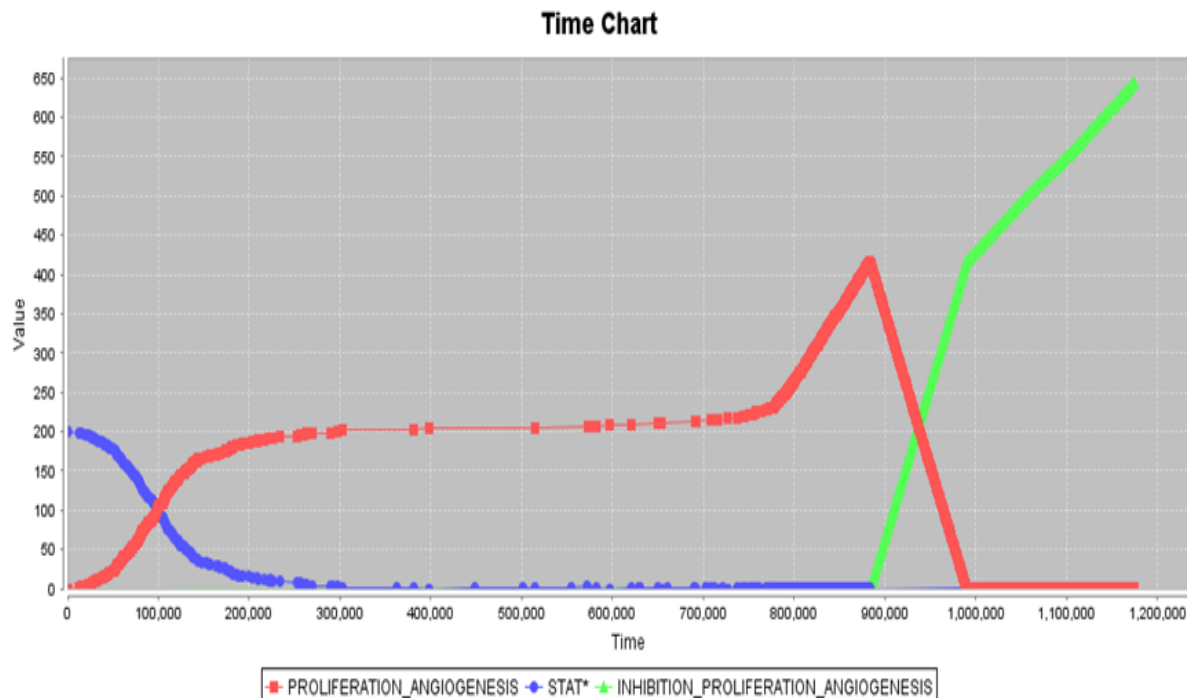


Figura 15: Simulación PI3K/AKT/mTOR al agregar el extracto de *O. joconostle*, apoyando la hipótesis de que la unión de los compuestos con el receptor de citocinas impide la activación de STAT (Azul) y por tanto se ve una disminución en la proliferación celular y una inhibición de la angiogénesis (verde),

Hipótesis para la vía Wnt: un principio activo presente en el extracto sería el ligando para el receptor Frizzled de manera que se activa y aumenta la concentración de la enzima PP2A, logrando activar al complejo axina al tiempo que también ayuda a inhibir la activación de Akt. La activación del complejo apoya la ubiquitinación de b-catenina, la cual puede ahora ser degradada por el proteasoma, lo que impide su translocación al núcleo y por tanto la inactivación de los factores de transcripción asociados a esta. Visualizándose una disminución de la proliferación (Fig.16).

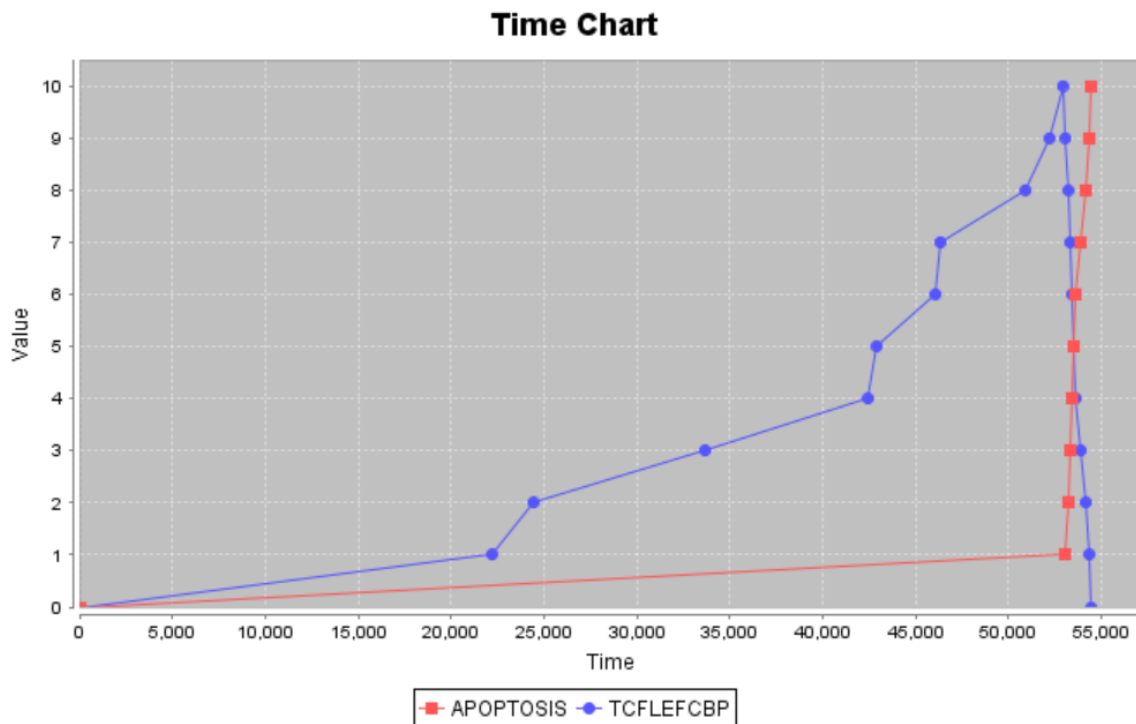


Figura 16: Simulación Wnt al agregar el extracto de *O. joconostle*, apoyando la hipótesis sobre la vía, donde la unión de los compuestos con el receptor Frizzled, ayudando a la degradación de b-catenina, inactivando al complejo TCF/LEF (azul), causando apoptosis (rojo).

Hipótesis para la vía EGFR: Un principio activo presente en el extracto de *Opuntia joconostle* se une directamente al receptor EGFR que se encuentra en estado activo, la unión de este ligando interrumpe la activación de Ras y, por lo tanto, da lugar a la inactivación de la vía de las MAP cinasas, lo que interrumpe la activación de los factores de transcripción asociados, observándose una inhibición de la proliferación celular, apoptosis y control del ciclo celular (Fig.17).

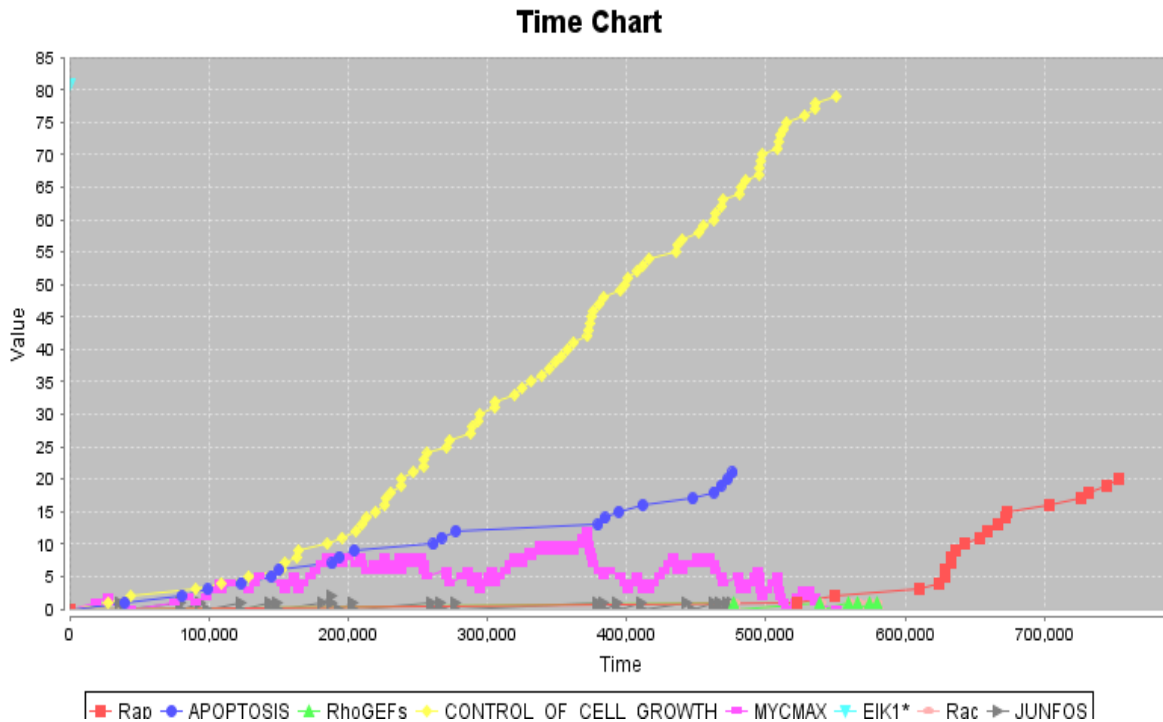


Figura 17: Simulación EGFR al agregar el extracto de *O. joconostle*, apoyando la hipótesis de que la unión de los compuestos del extracto de *O. joconostle* con el receptor EGFR impide la activación de Ras y por tanto de las MAP cinasas, inactivando JUN-FOS, Myc-Max, CREB, llevando a la célula a apoptosis (azul) y control del crecimiento celular (amarillo).

- **Caracterización de los extractos de *Opuntia joconostle*.**

Para poder realizar los extractos y llevar a cabo su caracterización, se realizó la preparación de la muestra vegetal para su adecuada identificación dentro del Herbario del Jardín Botánico BUAP. A partir de una muestra tomada del Municipio General Felipe Ángeles, paraje El carrizal, coordenadas 23° 55' 0" N, 104° 36' 0" W. Se realizó el lavado y preparación de la muestra, de acuerdo a las especificaciones que indicó el curador del Herbario del Jardín Botánico de la BUAP; partiendo las pencas flores y frutos (Figura 18a), en láminas para su posterior prensado y secado en una mufla a 40 °C (Figura 18), este proceso se realizó durante tres semanas, con cambios continuos de papel para evitar la proliferación de hongos por humedad. Una vez concluido el proceso, el material obtenido se entregó al curador para su caracterización, obteniendo de ese modo el un número de registro y certificación del espécimen vegetal por parte del Jardín Botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Identificado como *Opuntia Joconostle* Weber ex Diguet, con el ID: 83872.

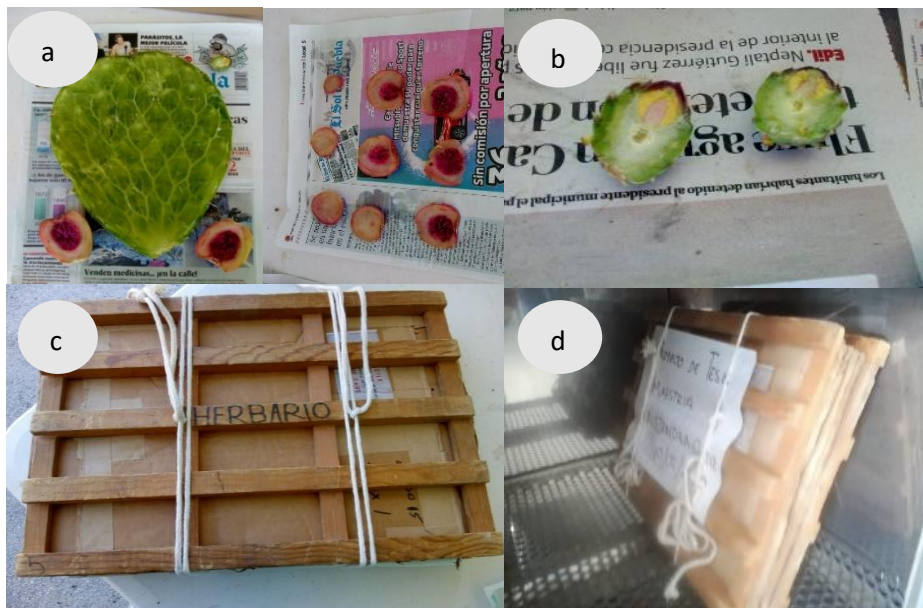


Figura 18: Proceso de preparación para la identificación de la especie vegetal. a) cladodio y frutos, b) flores, c) prensado, d) secado.

Para preparar los extractos a caracterizar, se realizó el secado del cada una de las partes del fruto del Xoconostle, para su respectivo uso en la preparación de extractos y se pudo calcular el porcentaje de humedad en cada una de ellas comparando el peso total al día 1, con el resultante el día 12. Obteniendo un 91.67 % de agua en el epicarpio, 91.32 % en el mesocarpio y 66.37 % en el endocarpio (Figura 19)

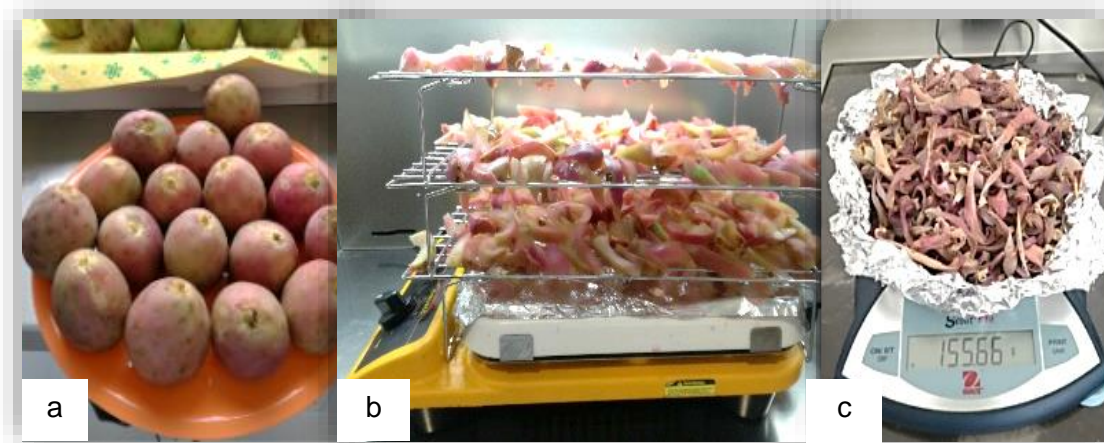


Figura 19: Proceso de secado de epicarpio de *O.joconostle*. a) fruto integro antes del corte, b) epicarpio de xoconostle día 1, c) epicarpio de xoconostle día 12.

Posteriormente, se elaboraron los extractos únicamente de la cáscara de xoconostle, de acuerdo con lo reportado por Osorio Esquivel y cols., en el 2011 y Morales Martínez en el 2014, donde determinaron que la cascara es la región del xoconostle que contiene mayor cantidad de compuestos antioxidantes.

Los extractos se realizaron con tres diferentes disolventes (Anexo 15.3.1): agua, acetato de etilo y etanol (Cuadro 9). Por dos metodologías: el método convencional (Figura 20) y el método de Soxhlet (Figura 21).

Cuadro 9: Concentraciones de los extractos de *O. joconostle*

Concentración final de los extractos		
Disolvente	Método de extracción	
	Convencional	Soxhlet
Agua	0.1 g/ml	0.1 g/ml
Etanol	0.09 g/ml	0.1 g/ml
Acetato de etilo	0.05 g/ml	0.1 g/ml



Figura 20: Proceso de realización de *O. joconostle* extractos por el método convencional.

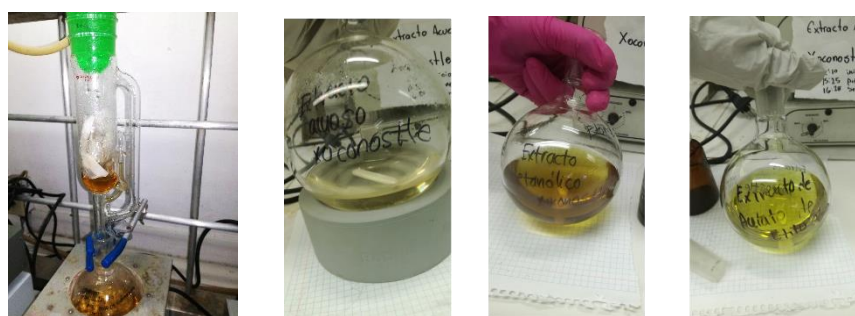


Figura 21: Proceso de realización de extractos de *O. joconostle* por el método Soxhlet

Para caracterizar los extractos se realizó el espectro UV-VIS de cada uno de los los diferentes extractos obtenidos por las dos metodologías, en el Espectrofotómetro *NANODROP* 1000. En donde se observaron espectros con picos similares para todas las muestras dentro de un rango de longitud de onda de 220 a 375 nm, rango de absorbancia de compuestos fenólicos. Siendo el extracto acuoso obtenido por el método convencional (Fig. 22) y el extracto etanólico por Soxhlet (Fig. 23) los que muestran una mayor absorbancia en este rango.

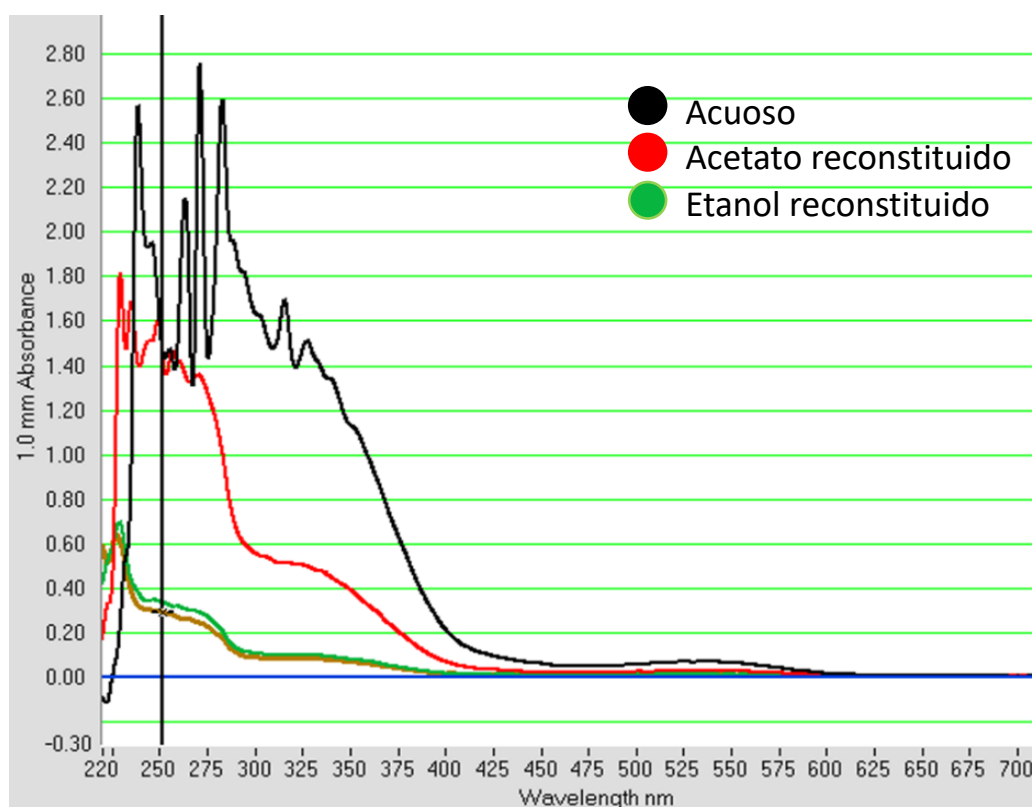


Figura 22: Espectro UV-VIS obtenido en los extractos de *O. joconostle* por la metodología convencional, en donde se observa una longitud de onda (λ) máxima de absorbancia en 265 nm para el extracto acuoso (color negro) a comparación con los otros extractos correspondiente al rango de compuestos fenólicos. Infiriendo así que existe una mayor concentración de los compuestos presentes en ese rango según la Ley de Lambert-Beer.

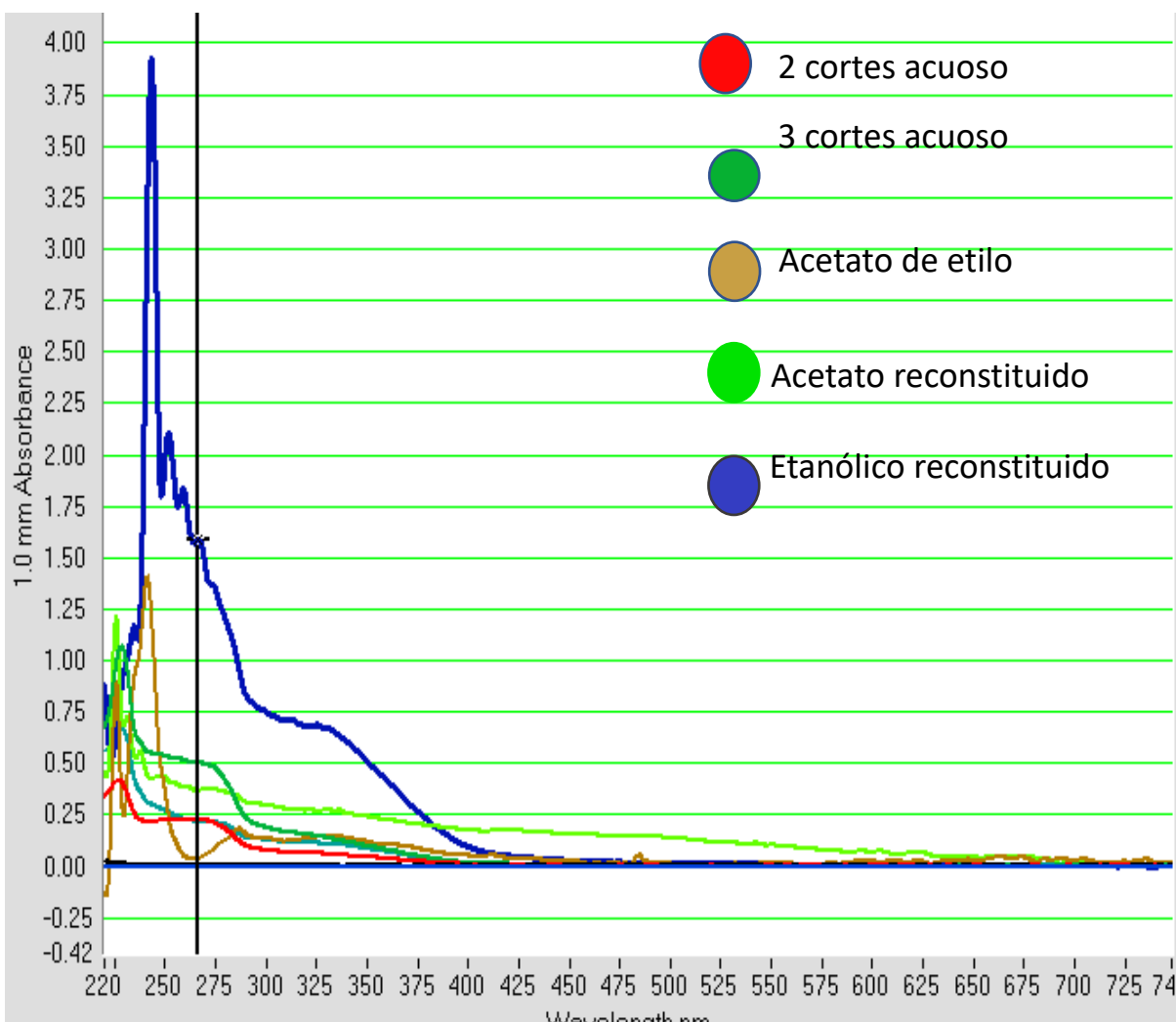


Figura 23: Espectro UV-VIS obtenido en los extractos de *O. joconostle*, obtenidos por método de Soxhlet, en donde se observa una longitud de onda (λ) de absorbancia máxima en 250 nm para el extracto etanólico ya reconstituido en agua (color azul). Longitud de onda que se encuentra dentro del rango de absorbancia característica de los compuestos fenólicos. También se observa en el espectro del extracto de acetato de etilo obtenido por Soxhlet un pico muy pequeño a 480nm, que indica la presencia de betaxantinas.

Como parte de la caracterización, se determinó el contenido total de compuestos fenólicos totales, así como la capacidad antioxidante de cada extracto. Los compuestos fenólicos totales se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu basado en la cuantificación de compuestos fenólicos que reaccionan con reactivo de Folin, a pH básico, dando lugar a una coloración azul, la cual es determinada espectrofotométricamente a 765 nm y la capacidad antioxidante se determinó por el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) tomando en cuenta la reducción de la absorbancia del radical por los antioxidantes presentes en los extractos.

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales presentes en cada microlitro de extracto realizado, confirmando así la presencia de fenoles dentro de cada extracto (Cuadro 10), encontrando una mayor concentración en los extractos obtenidos por el método convencional que los obtenidos por Soxhlet, así como también una mayor capacidad antioxidante en los extractos acuosos obtenidos por ambos métodos y en el extracto etanólico obtenido por Soxhlet.

Cuadro 10: Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los extractos

EXTRACTO	Compuestos fenólicos (mg/ml)	Capacidad Antioxidante por DPPH (%)
Extracto acuoso convencional	0.140	99.7
Extracto acuoso Soxhlet	0.019	98.5
Acetato reconstituido Soxhlet	0.019	61.68
Etanólico reconstituido Soxhlet	0.104	98.41
Acetato reconstituido Convencional	0.154	59.32
Etanólico reconstituido Convencional	0.168	92.7

µg: cantidad de compuestos fenólicos, µl: volumen de extracto

Dentro de la caracterización, se determinó el perfil fitoquímico de las muestras del epicarpio de xoconostle (Cuadro 11). Se emplearon ensayos cualitativos colorimétricos para verificar la presencia o ausencia de los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos, mostrando la presencia de biocomponentes relacionados al grupo de los compuestos fenólicos como; fenoles, lactonas flavonoides que previamente también fueron detectados en el espectro UV-VIS, pero también se determinó la presencia de algunos otros biocomponentes como son: las saponinas, azúcares reductores, esteroides y terpenos.

Cuadro 11. Determinación fitoquímica de xoconostle

Compuestos	<i>Opuntia joconostle</i>	Ensayo empleado
Alcaloides	Negativo	Dragendorff
Fitoesterol	Positivo	Salkowski
Flavonoides	Positivo	Shinoda
Insaturaciones	Negativo	Baeyer
Lactonas	Positivo	Baljet
Azúcares reductores	Positivo	Fheling
Saponinas	Positivo	Foam
Terpenos	Positivo	Liebermann-Buchard
Fenólicos	Positivo	Ferric chloride

Otra prueba realizada para determinar la presencia de compuestos fenólicos en el extracto acuoso de xoconostle fue la cromatografía en capa fina, donde se comparó el extracto con diversos estándares (Cuadro 12). Identificando de esta forma a dos compuestos fenólicos que están presentes en el extracto de *Opuntia joconostle* que son: 3 hidroxiflavona y quercetina (Fig.24).

Cuadro 12: Cromatografía en capa fina

Standar	Identificación en el extracto
3 hidroxiflavona	Identificado
Rutina	No identificado
Quercetina	Identificado
Morina	No identificado
Guanidina	No identificado
Betacianina	No identificado

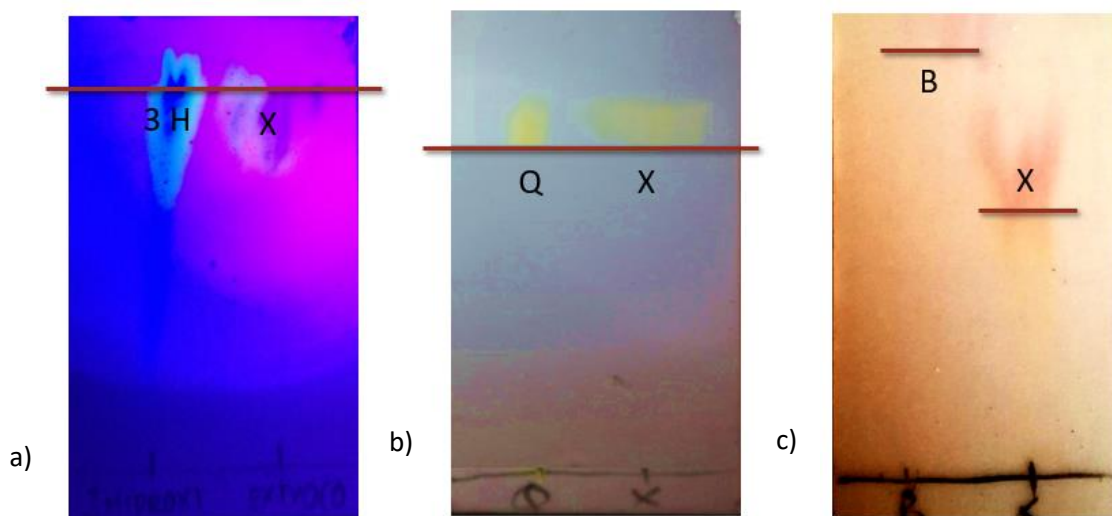


Figura 24: Placas cromatográficas, a) Placa con control 3 hidroxiflavona (3H) y extracto de xoconostle (X) empleando la fase móvil isopropanol, etanol, agua, ácido acético (6:7:6:1) b) placa con control quercetina (Q) contra extracto de xoconostle con fase móvil metanol, ácido acético, cloroformo (2:1:1), c) placa con control de betacianina (B) empleando la fase móvil agua/metanol (9:1).

- **Actividad antiproliferativa de extractos de *Opuntia joconostle*, sobre el crecimiento de las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231.**

Se realizó la evaluación del efecto antiproliferativo de los extractos de *Opuntia joconostle* mediante el Kit XTT, con base a la metodología ya descrita, empleando cada uno de los extractos acuosos y orgánicos obtenidos por el método convencional y por Soxhlet en las líneas celulares de cáncer de mama; MDA.MB-231 Y MCF-7, determinando la Concentración letal 50 (CL50) de los extractos que causaron un efecto antiproliferativo (Cuadro 13).

Cuadro 13: Efecto antiproliferativo y su Concentración Letal 50.

EXTRACTO	MCF-7 (CL50, µg/µl)	MDA-MB-231 (CL50, µg/µl)
Acuoso convencional	0.035	0.021
Acuoso Soxhlet	0.0095	0.0085
Etanólico convencional	NP	NP
Etanólico Soxhlet	0.0156	0.0156
Acetato de etilo convencional	NP	NP
Acetato de etilo Soxhlet	NP	0.01045

CL50: Concentración letal 50, NP: no presenta una CL50

Para cada uno de los extractos se determinó la relación entre las diferentes concentraciones de compuestos fenólicos presentes en cada extracto y el porcentaje de proliferación celular en la línea celular MCF-7, donde solo el extracto acuoso obtenido por el método convencional, el extracto acuoso obtenido por Soxhlet y el extracto etanólico obtenido por Soxhlet son los que mostraron el efecto antiproliferativo (Fig. 25:27).

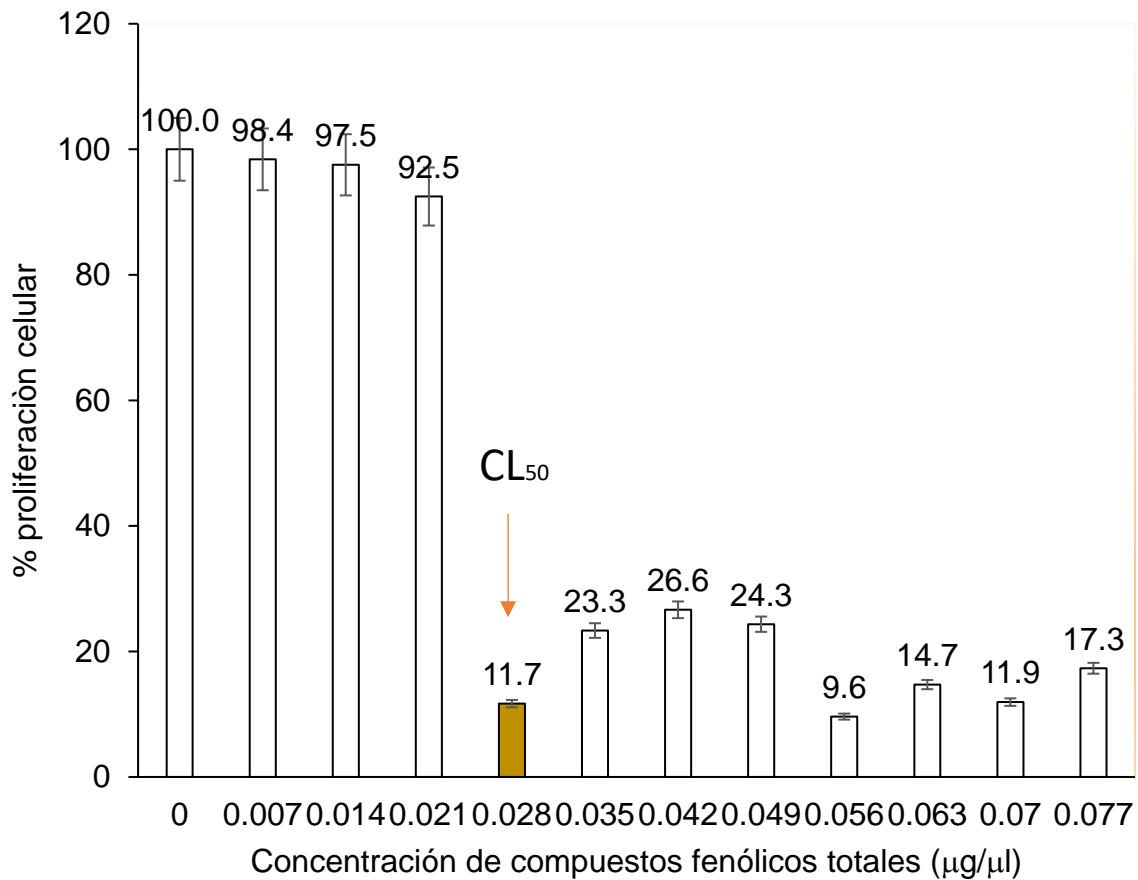


Figura 25: Efecto del extracto acuoso convencional de *O. joconostle* sobre MCF-7, se muestra la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer de mama luminal A para diferentes concentraciones del extracto acuoso de xoconostle, mostrando una proliferación de solo 11.7 % en una concentración de 0.028 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

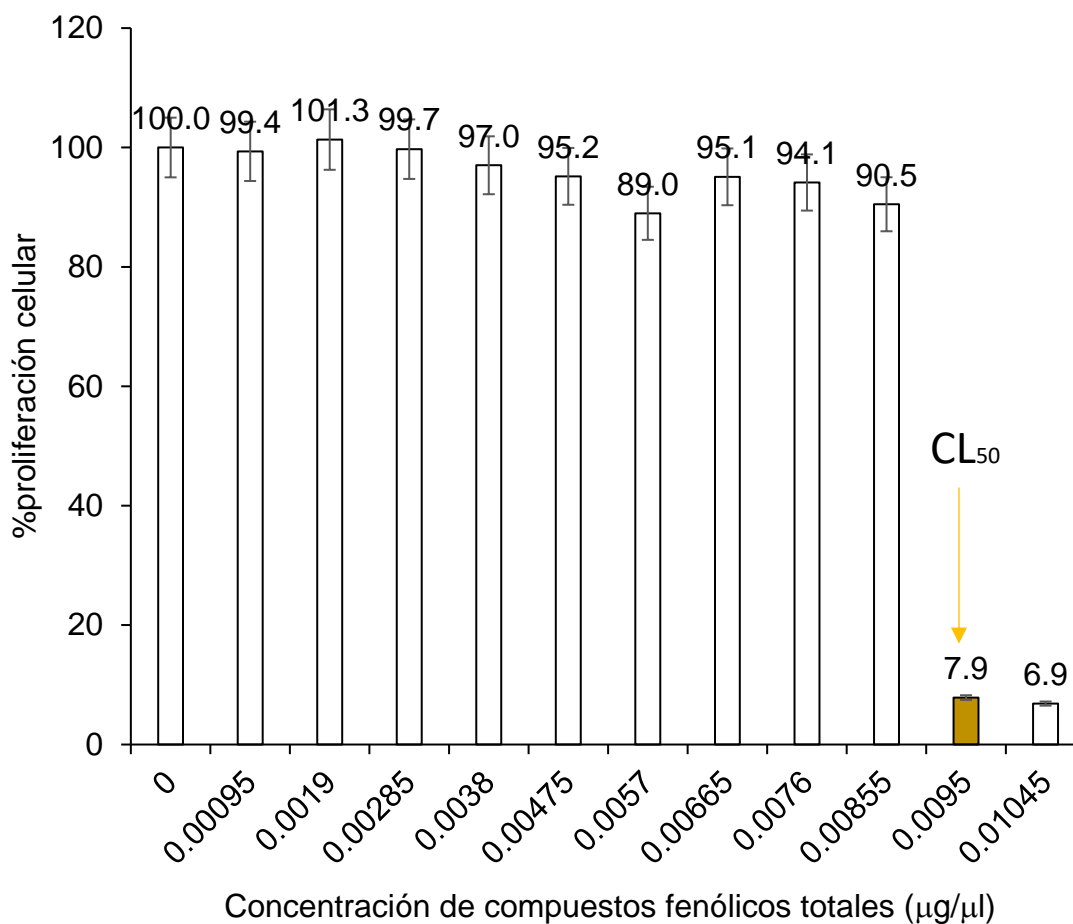


Figura 26: Efecto del extracto acuoso Soxhlet de *O. joconostle* sobre MCF-7. Se muestra la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer de mama luminal A al extracto acuoso por Soxhlet de xoconostle, mostrando una proliferación menor al 50 % en una concentración de compuestos fenólicos de 0.0095 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ logrando una proliferación de solo el 7.9 %.

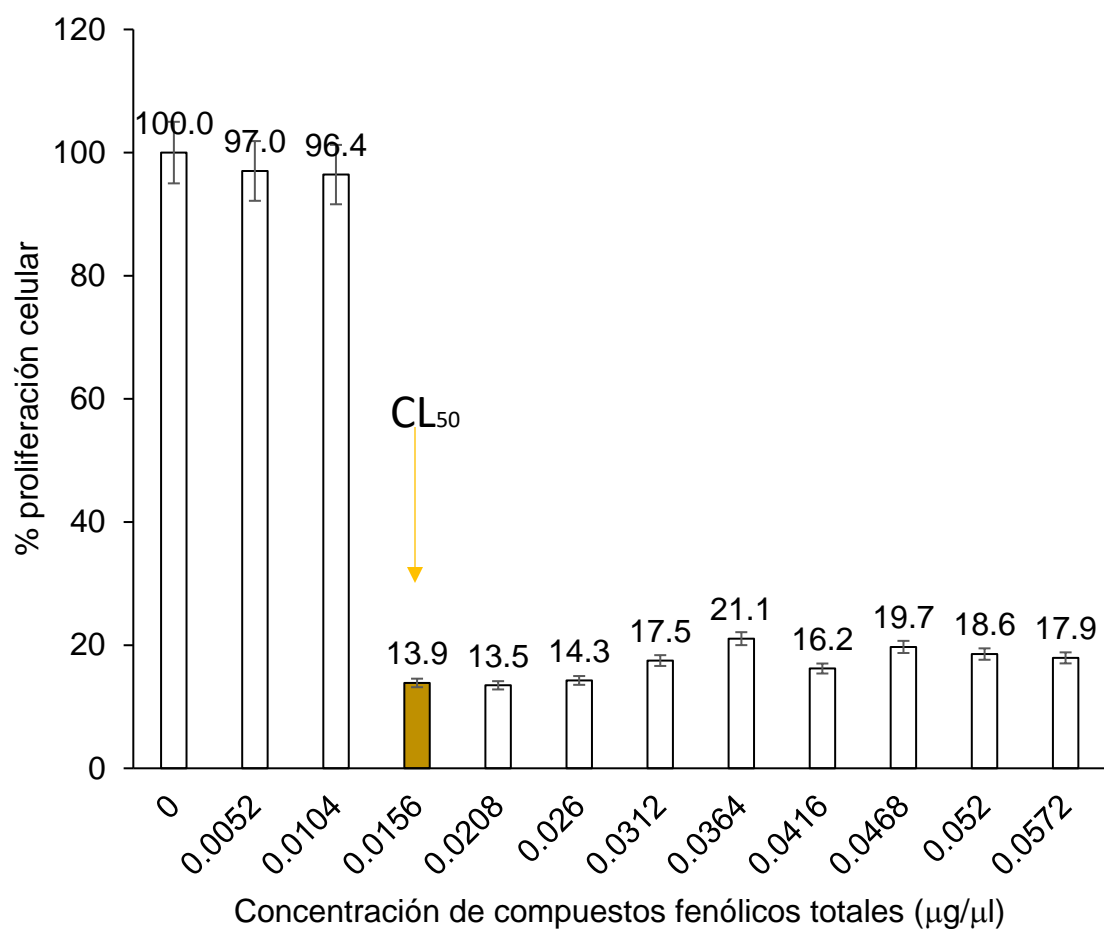


Figura 27: Efecto del extracto etanólico Soxhlet de *O. joconostle* sobre MCF-7, se observa la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer de mama luminal A con el extracto etanólico por Soxhlet de xoconostle, mostrando una proliferación menor al 50 % en una concentración de compuestos fenólicos de 0.0156 µg/µl. logrando una proliferación de solo el 13.9 %.

El mismo procedimiento se realizó para la línea celular MDA-MB-231, pero este mostró que los mismos extractos tuvieron un el efecto antiproliferativo y a estos resultados se sumó también el extracto de Acetato de etilo obtenido por Soxhlet (Fig. 28:31).

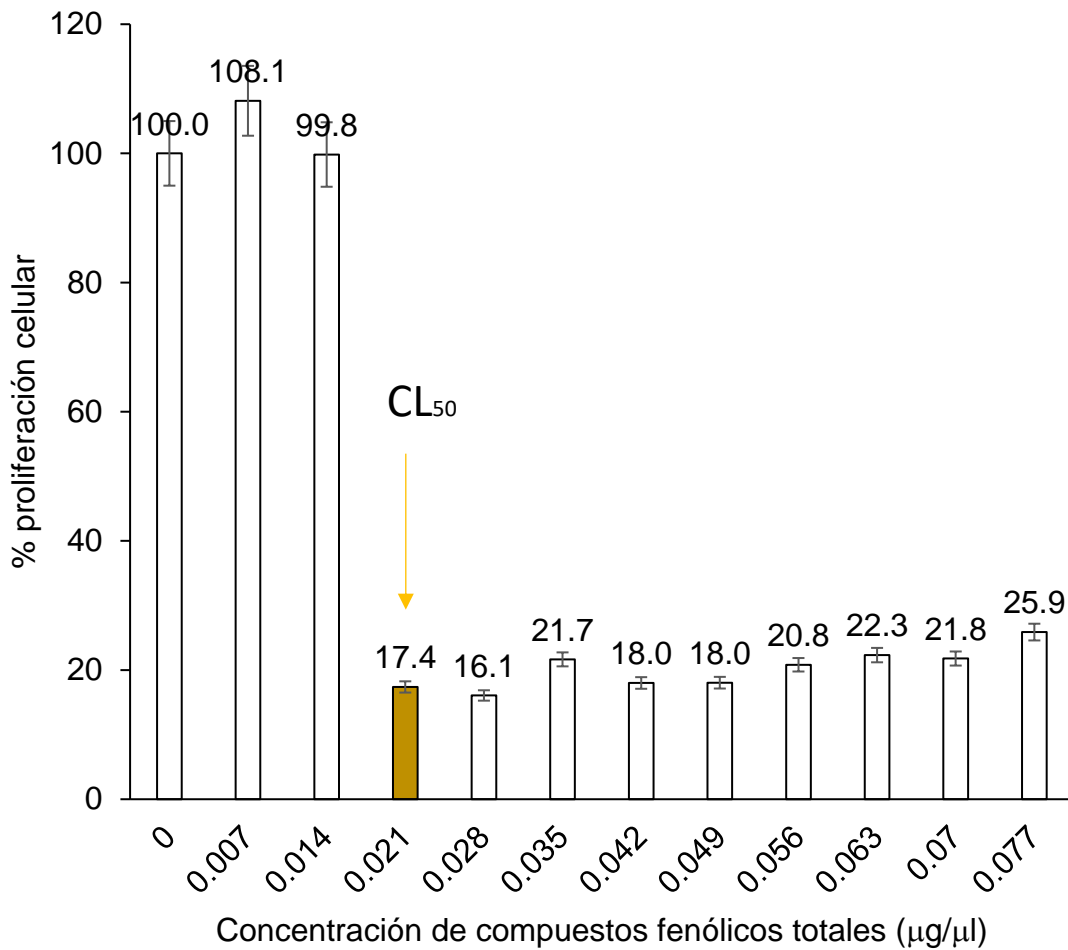


Figura 28: Efecto del extracto acuoso convencional de *O. joconostle* sobre MDA-MB-231, se observa la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer triple negativo con el extracto acuoso convencional el cual a una concentración de 0.021 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ presenta una proliferación de 17.4 %, menor al 50 %.

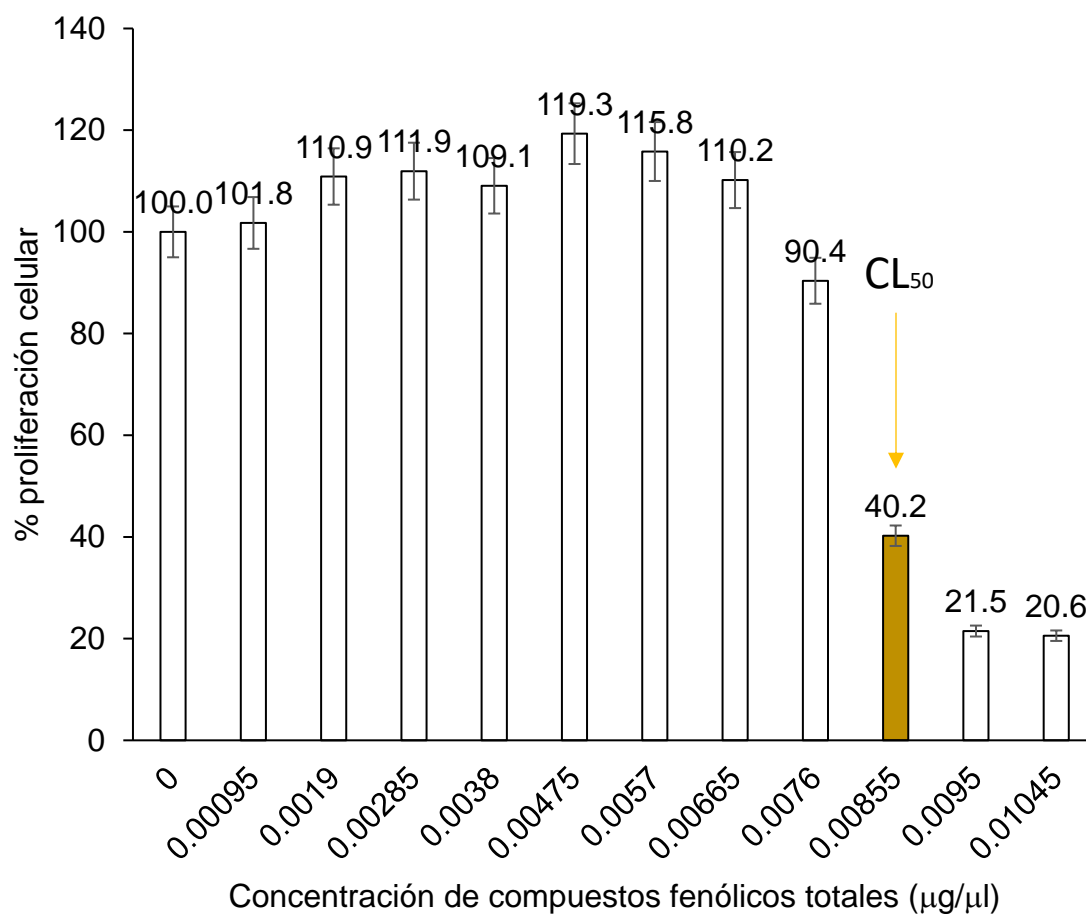


Figura 29: Efecto del extracto acuoso Soxhlet de *O. joconostle* sobre MDA-MB-231, se observa la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer triple negativo con el extracto acuoso por Soxhlet, el cual a una concentración de 0.00855 µg/µl presenta una proliferación de 40.7 %.

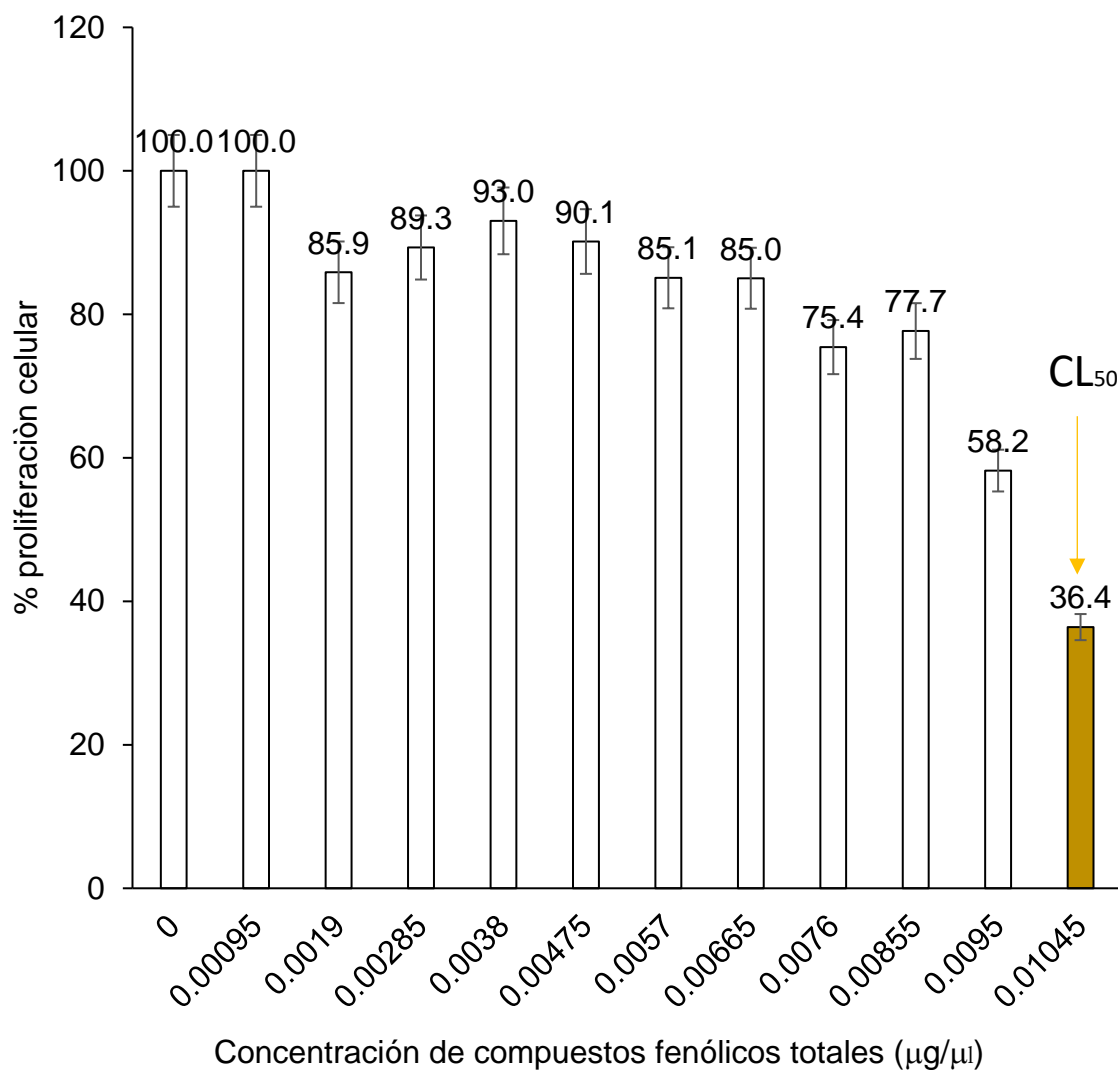


Figura 30: Efecto del extracto Acetato de Etilo en Soxhlet de *O. joconostle* sobre MDA-MB-231, se ve la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer triple negativo con el extracto de Acetato de etilo por Soxhlet el cual a una concentración de 0.0145 µg/µl presenta una proliferación de 36.4.

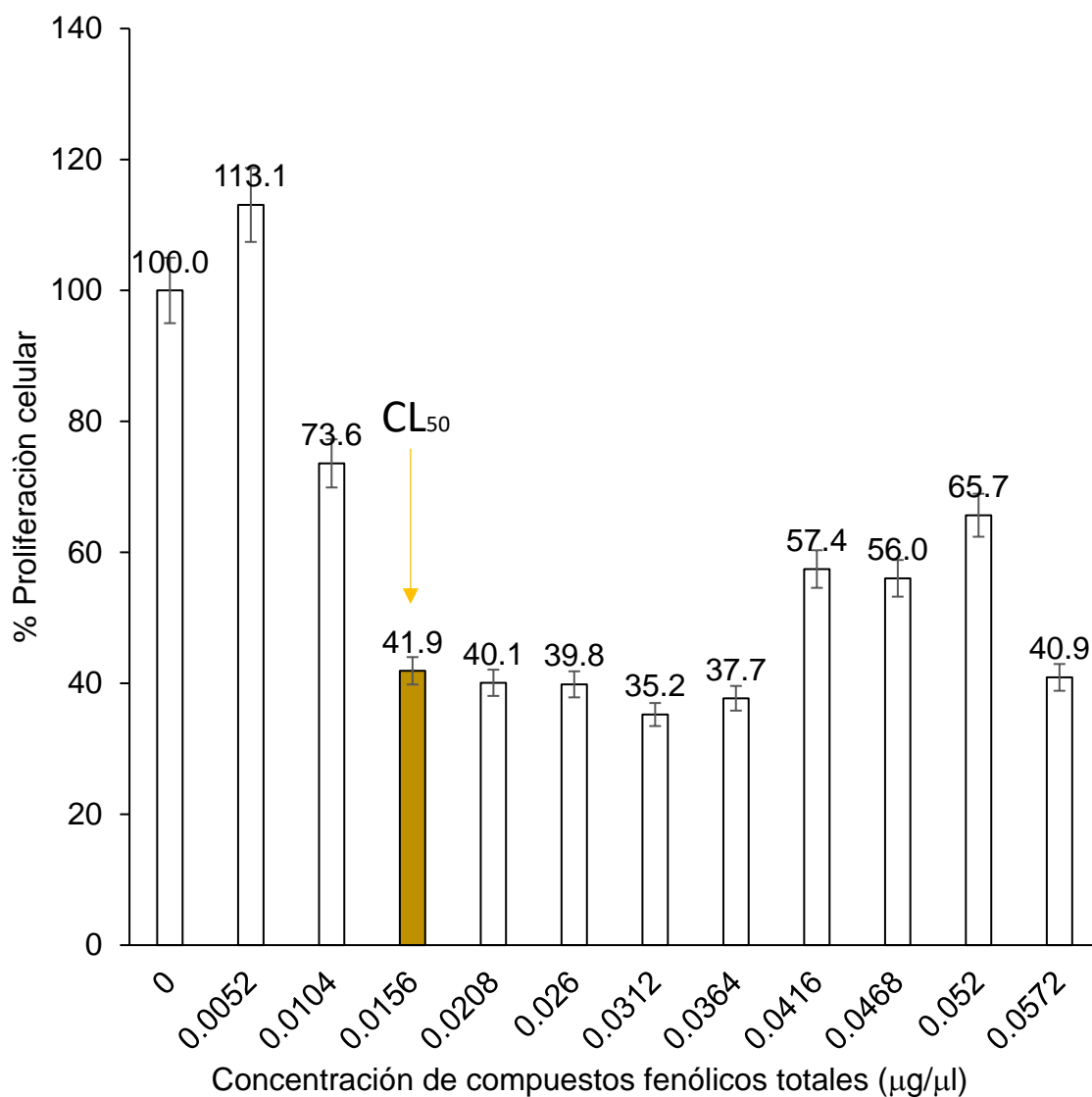


Figura 31: Efecto del extracto etanólico en Soxhlet sobre MDA-MB-231, se observa la respuesta de la proliferación celular de la línea celular de cáncer triple negativo con el extracto etanólico por Soxhlet el cual a una concentración de 0.0156 µg/µl presenta una proliferación de 41.9.

Los resultados estadísticos sobre la concentración de los diferentes extractos y el efecto antiproliferativo observado mediante la prueba de Kruskal Wallis (Cuadro 14) y pos hoc de Dunn (Cuadro 15 y 16), mostraron que el extracto acuoso convencional y el extracto etanólico por Soxhlet son los extractos con un mejor efecto sobre la línea celular MDA-MB-231, Y MCF-7

Cuadro 14: Prueba de Kruskal-Wallis

EXTRACTO		MCF-7	MDA-MB-231
ACUOSO	CONVENCIONAL	25.13	15.63
	SOXHLET	42.54	43.29
ETANÓLICO	CONVENCIONAL	43.63	48.21
	SOXHLET	22.21	24.13
ACETATO DE ETILO	CONVENCIONAL	34.92	58.42
	SOXHLET	50.58	29.33
Significancia		p= 0.04	p= 0.01

p: significancia, $p < 0.05$ indica que se rechaza la hipótesis nula de que no hay diferencias significativas entre los grupos.

Cuadro 15: Prueba de pos hoc de Dunn para MCF-7

Comparación entre extractos	Estadístico de prueba	Error estándar	p
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL	2.917	8.538	1.000
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	-12.708	8.538	1.000
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	20.333	8.538	.259
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ETANÒLICO CONVENCIONAL	21.417	8.538	.182
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-28.375	8.538	.013
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	-9.792	8.538	1.000
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	-17.417	8.538	.620
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ETANÒLICO CONVENCIONAL	-18.500	8.538	.454
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-25.458	8.538	.043
EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	7.625	8.538	1.000
EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL-EXTRACTO ETANÒLICO CONVENCIONAL	8.708	8.538	1.000
EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-15.667	8.538	.998
EXTRACTO ACUOSO SOXHLET-EXTRACTO ETANÒLICO CONVENCIONAL	-1.083	8.538	1.000
EXTRACTO ACUOSO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-8.042	8.538	1.000
EXTRACTO ETANÒLICO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-6.958	8.538	1.000

Significancia estadística $p < 0.05$

Cuadro 16: Prueba de pos hoc de Dunn para MDA-MB-231

Comparación entre extractos	Estadístico de prueba	Error estándar	p
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET	-8.500	8.538	1.000
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-13.708	8.538	1.000
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	-27.667	8.538	.018*
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ETANOLICO CONVENCIONAL	-32.583	8.538	.002
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	-42.792	8.538	.001
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	-5.208	8.538	1.000
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	19.167	8.538	.372
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ETANOLICO CONVENCIONAL	24.083	8.538	.072
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	-34.292	8.538	.001
EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET-EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	13.958	8.538	1.000
EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET-EXTRACTO ETANOLICO CONVENCIONAL	18.875	8.538	.406
EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	29.083	8.538	.010*
EXTRACTO ACUOSO SOXHLET-EXTRACTO ETANOLICO CONVENCIONAL	-4.917	8.538	1.000
EXTRACTO ACUOSO SOXHLET-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	-15.125	8.538	1.000
EXTRACTO ETANOLICO CONVENCIONAL-EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	-10.208	8.538	1.000

Significancia estadística $p < 0.05$

- **Identificación por citometría de flujo de las fases del ciclo celular en las células a las que se les aplicó el extracto.**

Se seleccionó el extracto acuoso por el método convencional para determinar las fases del ciclo celular que predominan en las células que recibieron el tratamiento empleando la CL50 del extracto acuoso, ya que es el que presentó un efecto antiproliferativo significativo sobre ambas líneas celulares. Por lo que se realizó el análisis de las fases del ciclo celular con este extracto a las 24 horas posteriores a administrar la CL50 para cada línea celulares MDA-MB-231 (Fig.32:35) y MCF-7 (Fig.36:39). Se encontró que en ambas líneas que la distribución de la población al emplear el extracto cambia de estar mayormente en la fase G0/G1 a la fase G2/M, lo cual indica que el extracto tiene un papel muy importante en la regulación del ciclo celular al impedir que las células logren concretar su división celular.

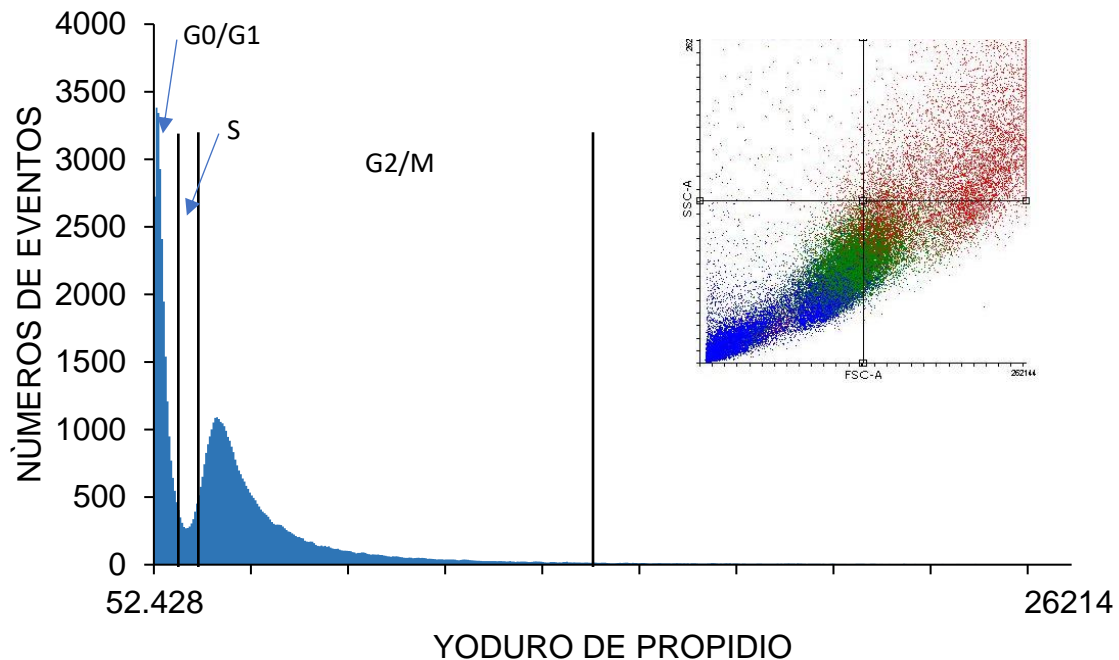


Figura 32: Histograma de citometría de flujo de células MDA.MB.231, que muestra la distribución de las fases del ciclo celular de la muestra control encontrando un mayor porcentaje de las células distribuidas en la fase G0/G1.

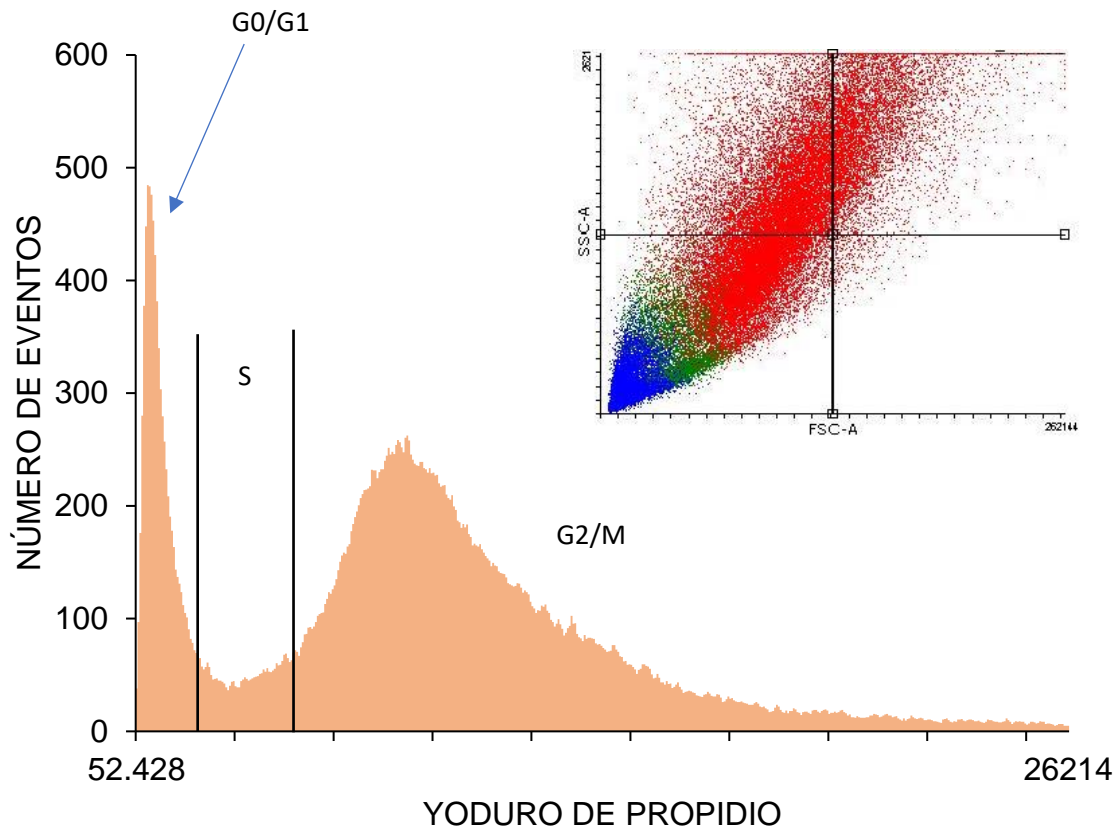


Figura 33: Histograma de citometría de flujo de células MDA.MB.231, que muestra la distribución de las fases del ciclo celular 24 horas posteriores al tratamiento con el extracto acuoso de *Opuntia joconostle* a una concentración de compuestos fenólicos de 0.021 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), distribuyendo la población mayormente a la fase G2/M

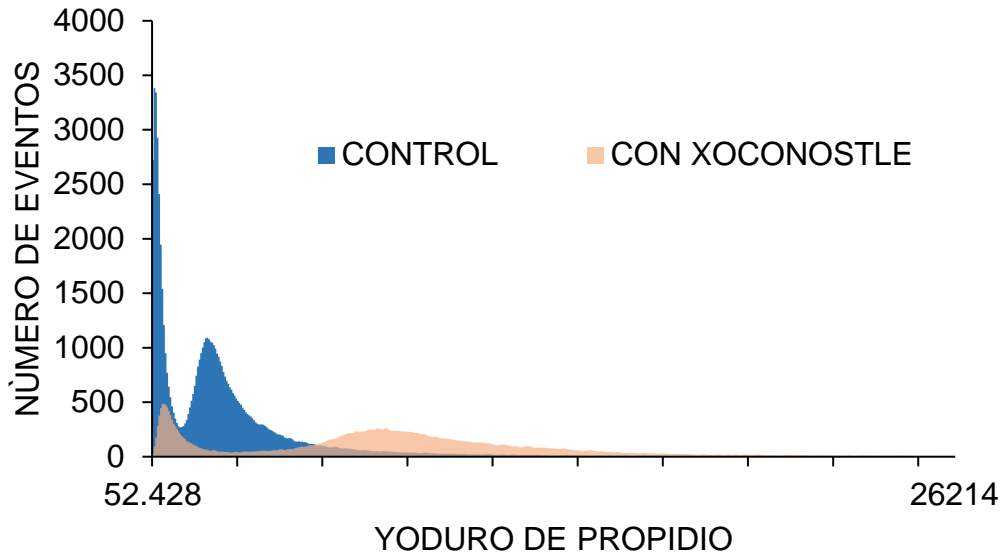


Figura 34: Histograma comparativo del ciclo celular en células MDA-MB-231 de la muestra control (azul), contra el tratamiento con *O. joconostle* las 24 horas, observándose un cambio de distribución de las células pasando una mayor población a la fase G2/M.

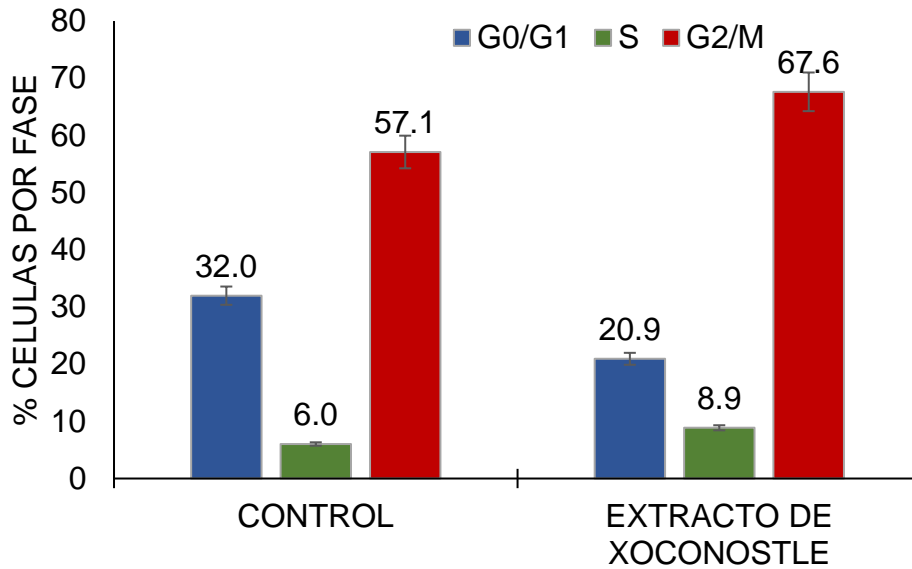


Figura 35: Porcentaje de células por fases individuales MDA-MB-231, en el grupo control y en el grupo con tratamiento de extracto de *O. joconostle* 24 horas posteriores a una concentración de compuestos fenólicos de 0.021 µg/µl).

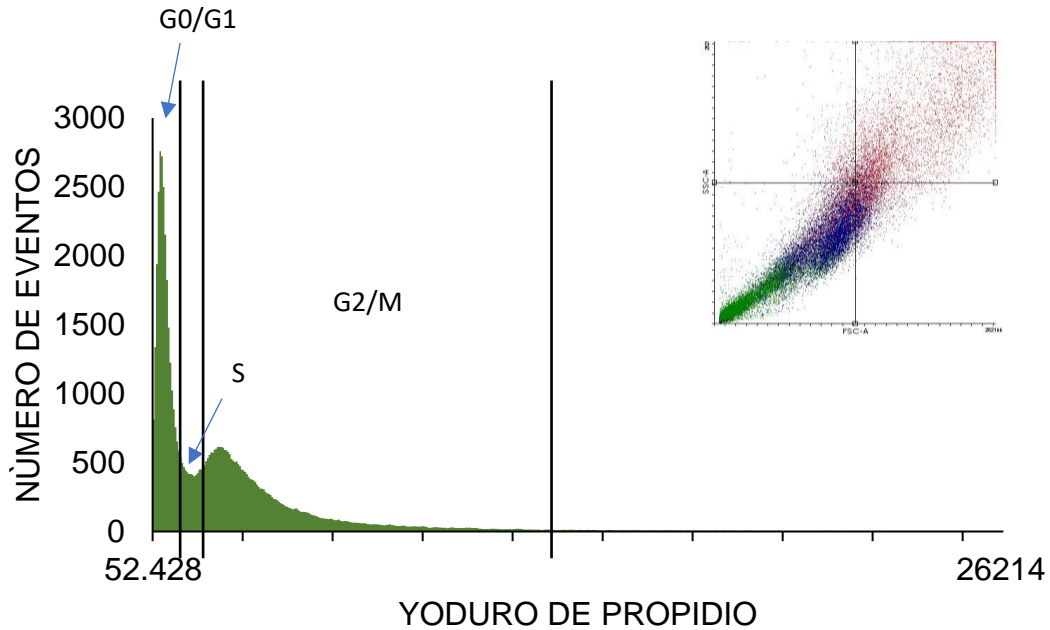


Figura 36: Histograma de citometría de flujo de células MCF-7, que muestra la distribución de las fases del ciclo celular de la muestra control, observando una mayor distribución de las células en la fase G0/G1.

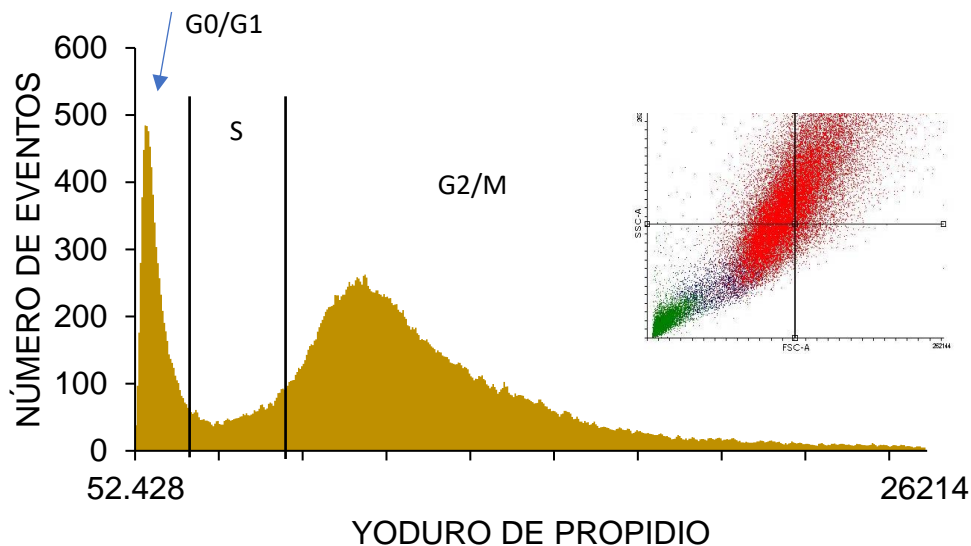


Figura 37: Histograma de citometría de flujo de células MCF-7, que muestra la distribución de las fases del ciclo celular 24 horas posteriores al tratamiento con el extracto de *Opuntia joconostle* a una concentración de compuestos fenólicos de 0.035 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

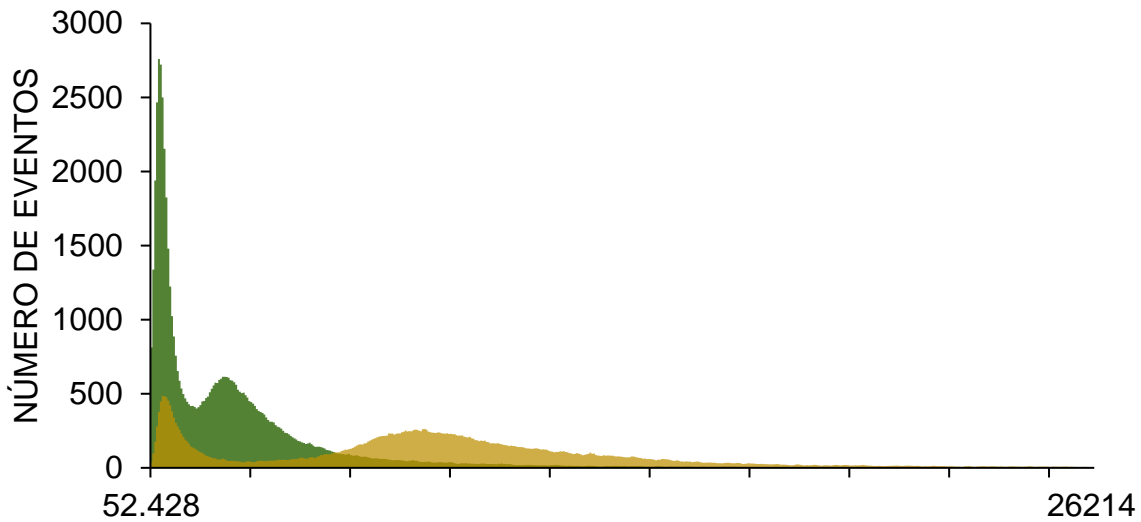


Figura 38: Histograma comparativo del ciclo celular en células MCF-7 de la muestra control (verde), contra el tratamiento a las 24 horas con el extracto acuoso de *O. joconostle* (amarillo), donde se observa un cambio en la distribución de la población celular.

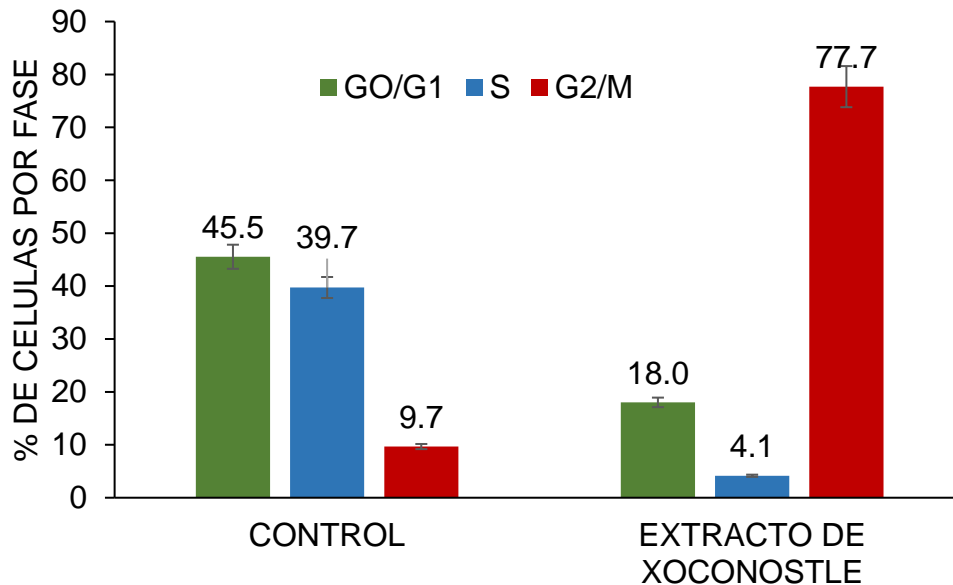


Figura 39: Porcentaje de células. MCF-7 por fases individuales en el grupo control y en el grupo con tratamiento de extracto de *O. joconostle*, donde se observa un cambio de la distribución de las células, pasando un mayor porcentaje a la fase G2/M.

- **Análisis de la expresión genética diferencial por acción del extracto acuoso, a través de microarreglos.**

Se realizó la extracción y verificación de la integridad del RNA de las células MDA-MB-231 y MCF-7 control sin tratamiento y de las células a las 24 horas de la administración del extracto de *O. joconostle* a la CL50 correspondiente para cada línea celular. El resultado final de la electroforesis mostró que el RNA obtenido se encontraba íntegro y listo para su empleo en los microarreglos (Fig. 40).

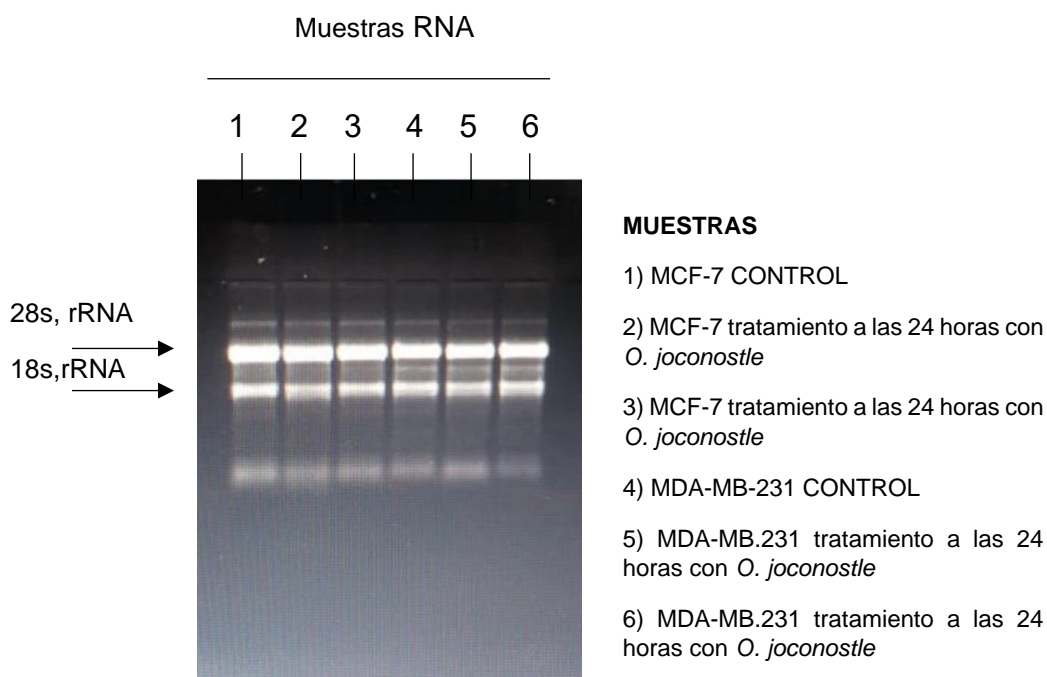


Figura 40: Electroforesis de RNA. Muestras de RNA total obtenido a partir de las células de cáncer de mama control y con tratamiento, en un gel de agarosa, teñido con bromuro de etidio. Se observa íntegro el RNA ribosomal 28s (superior) y 18s (inferior) en cada muestra. Carril (1) control para MCF-7, carriles (2 y 3) MCF-7 con tratamiento, carril (4) control MDA-MB-231, carriles (5 y 6) MDA.MB.231 con tratamiento.

Una vez obtenido el RNA se entregó a Dr. Jorge Ramírez responsable de la Unidad de Microarreglos de la UNAM, en donde se llevó a cabo el estudio de microarreglos. Obteniéndose los siguientes resultados para la línea celular MCF-7 (Fig.41) en donde se observó que tras la administración del extracto de *O. joconostle*, de los 2000 genes analizados, 859 genes fueron regulados positivamente (Anexo 15.5.1), 918 fueron regulados negativamente (Anexo 15.5.2) por acción del extracto y el resto no sufrieron cambio alguno.

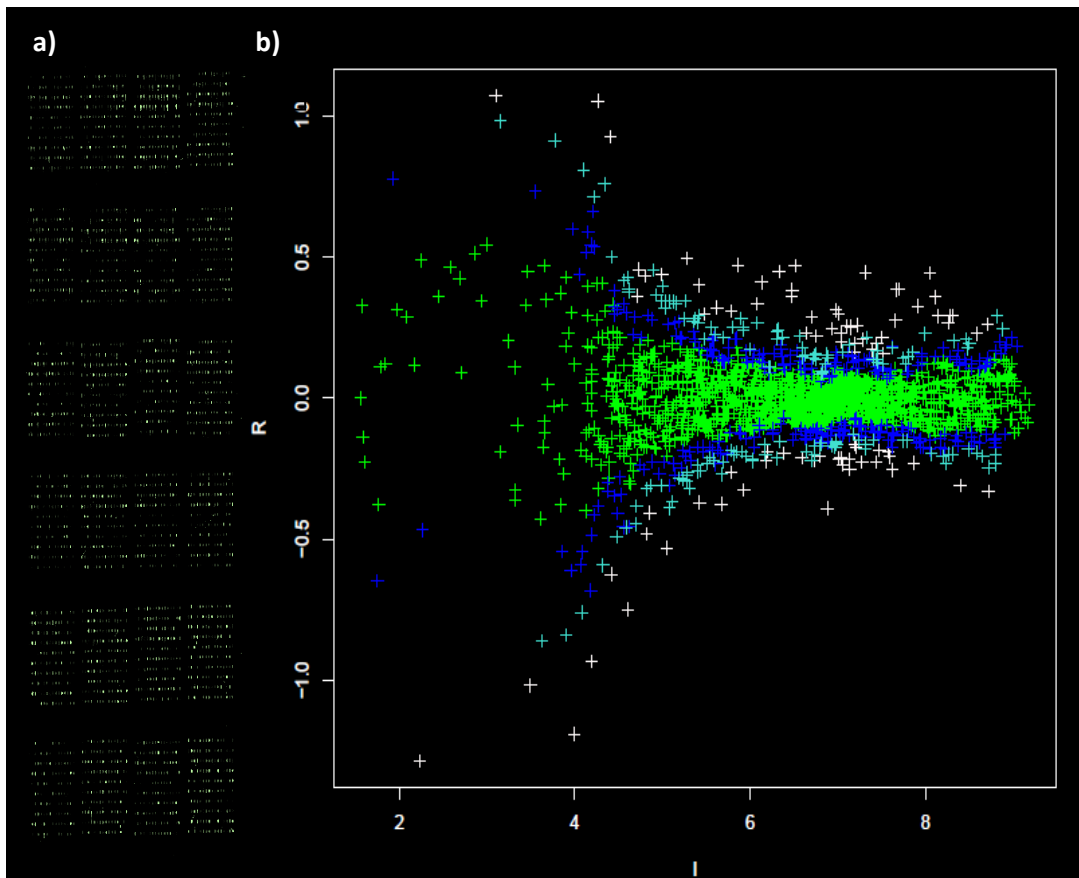


Figura 41: Microarreglo y mapeo de genes para MCF-7 y el extracto de *O.joconostle*. a) Imagen digital de la lectura del microarreglo. B) Mapeo de genes que muestra la clasificación de los genes expresados en el microarreglo, se observa por arriba del 0 aquellos genes que fueron regulados positivamente por la administración del extracto y en valores negativos aquellos que fueron regulados negativamente por el extracto.

Y para línea celular MDA-MB-231 se observó (Fig.42) que tras la administración del extracto acuoso de *O. joconostle*, de los 2000 genes analizados, 883 genes fueron regulados positivamente (Anexo 15.5.3), 892 fueron regulados negativamente (Anexo 15.5.4) por acción del extracto y el resto no sufrieron cambio alguno.

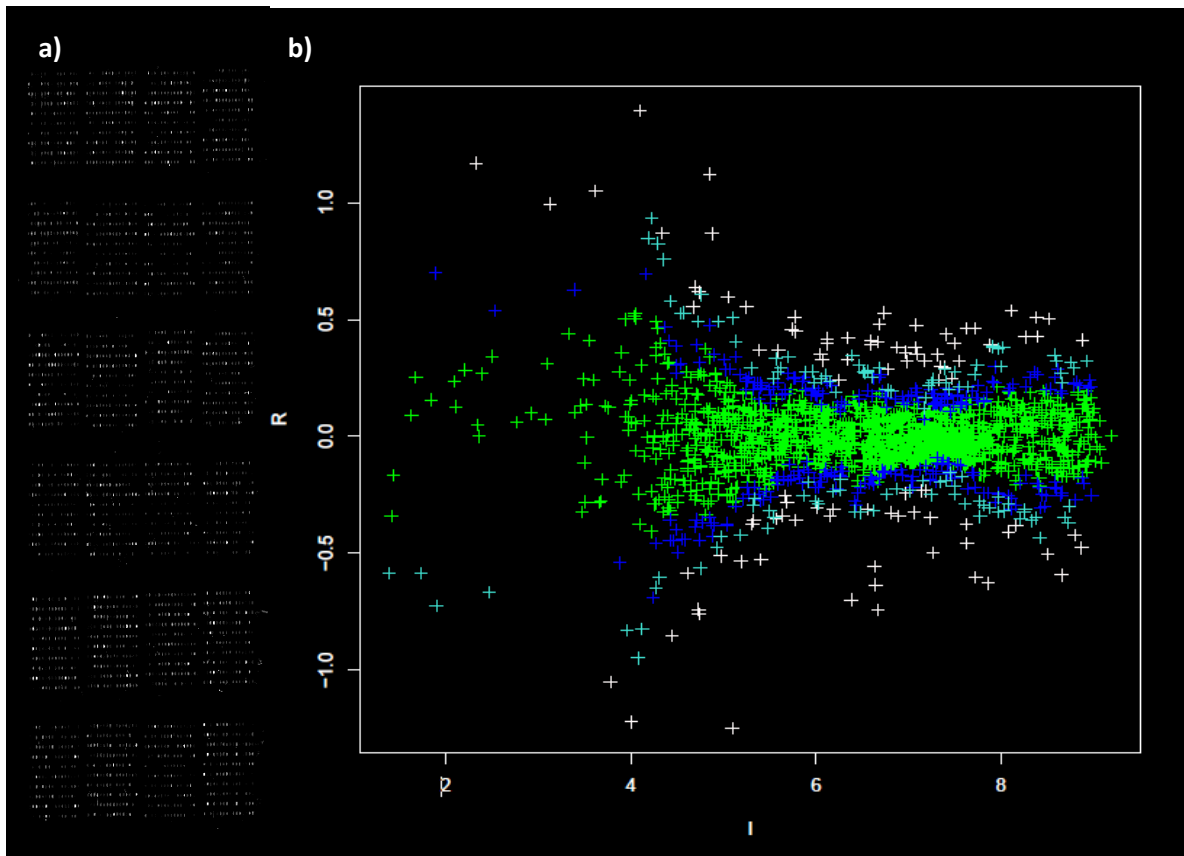


Figura 42: Microarreglo y mapeo de genes para MDA-MB-231 y el extracto de *O.joconostle*. a) Imagen digital de la lectura del microarreglo. B) Mapeo de genes que muestra la clasificación de los genes expresados en el microarreglo, se observa por arriba del 0 aquellos genes que fueron regulados positivamente por la administración del extracto y en valores negativos aquellos que fueron regulados negativamente por el extracto.

Los resultados obtenidos en cada microarreglo fueron normalizados y proporcionados de manera cuantitativa para su análisis al programa informático para realizar minería de datos y análisis predictivo “*Orange data mining*” (Figura 43).

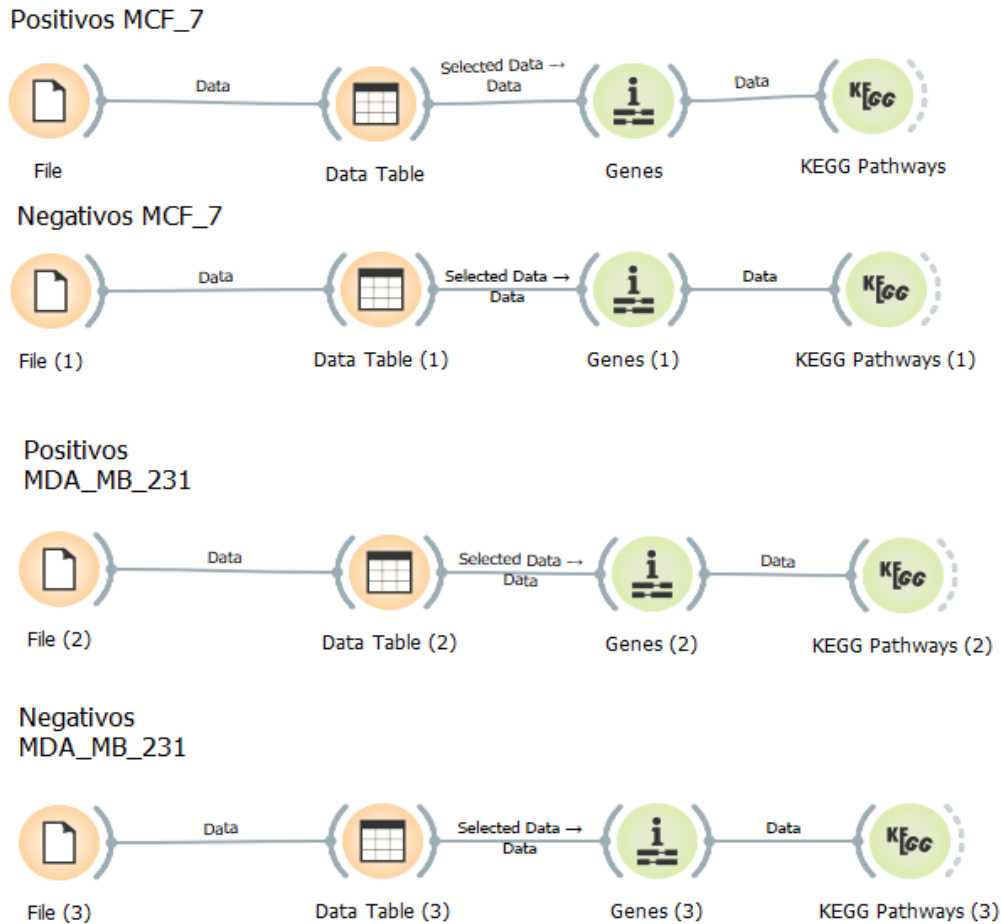


Figura 43: Algoritmo de trabajo y análisis de datos en Orange, en donde se muestra cada uno de los pasos realizados en el programa “*Orange*” para poder analizar los resultados de los microarreglos de ambas líneas celulares y divididos según el tipo de regulación positiva y negativa. El algoritmo involucra con la ayuda de diversos Widgets bioinformáticos dentro de los que se encuentra Genes y la base de datos de vías de señalización KEGG.

El análisis de los resultados obtenidos por microarreglos mostró que para la línea celular MCF-7, son 25 los genes regulados positivamente con el tratamiento con el extracto acuoso de *O. joconostle*, asociados a diversas vías de señalización relacionadas con el desarrollo de cáncer de mama (Cuadro 17) en donde se observa que los genes IGF, p53, Bcl-XL, Ras y p48 son los regulados más fuertemente con un valor de Zscore>1. (Figura 44).

Cuadro 17: Vías de señalización y genes regulados positivamente por el extracto de *O. joconostle* en las MCF-7

Vía de señalización	Gen en microarreglo	Sinónimo del gen en KEEG	Zscore
PI3K/JAK	PIK3CA	PI3K	0.250455959
	AKT3	Akt	0.100000000
	IL2	Cytokine	0.337500057
	EPO	Hormone	0.161837688
	BCL2L1	Bcl-XL	1.346685657
	IL9	JAK Receptor	0.586571126
	SOCS6	SOCS	0.124591924
	PIM1	PIMI	0.116964655
	CCND2	CycD	0.506930024
EGFR/MAPK	IGF1	IGF	1.669862573
	EGFR	EGFR	0.078185104
	SHC1	Shc	0.169156407
	HRAS	Ras	1.220000000
	FGF-8	FGF	0.770000000
NOTCH	NOTCH2	Notch	0.870000000
WNT	WNT10B	Wnt	0.910000000
	FZD4	Fizzled	0.500000000
	APC	APC	0.518682389
	TCF7	TCF/LEF	0.496105401
p53 pathway	TP53	p53	1.380225301
	BAX	Bax	0.074115509
	DDB2	p48	1.054899823
	POLK	POLK	0.029547047
	CDK6	CDK4/6	0.422967697
BRCA	BRCA1	BRCA1	0.500000000

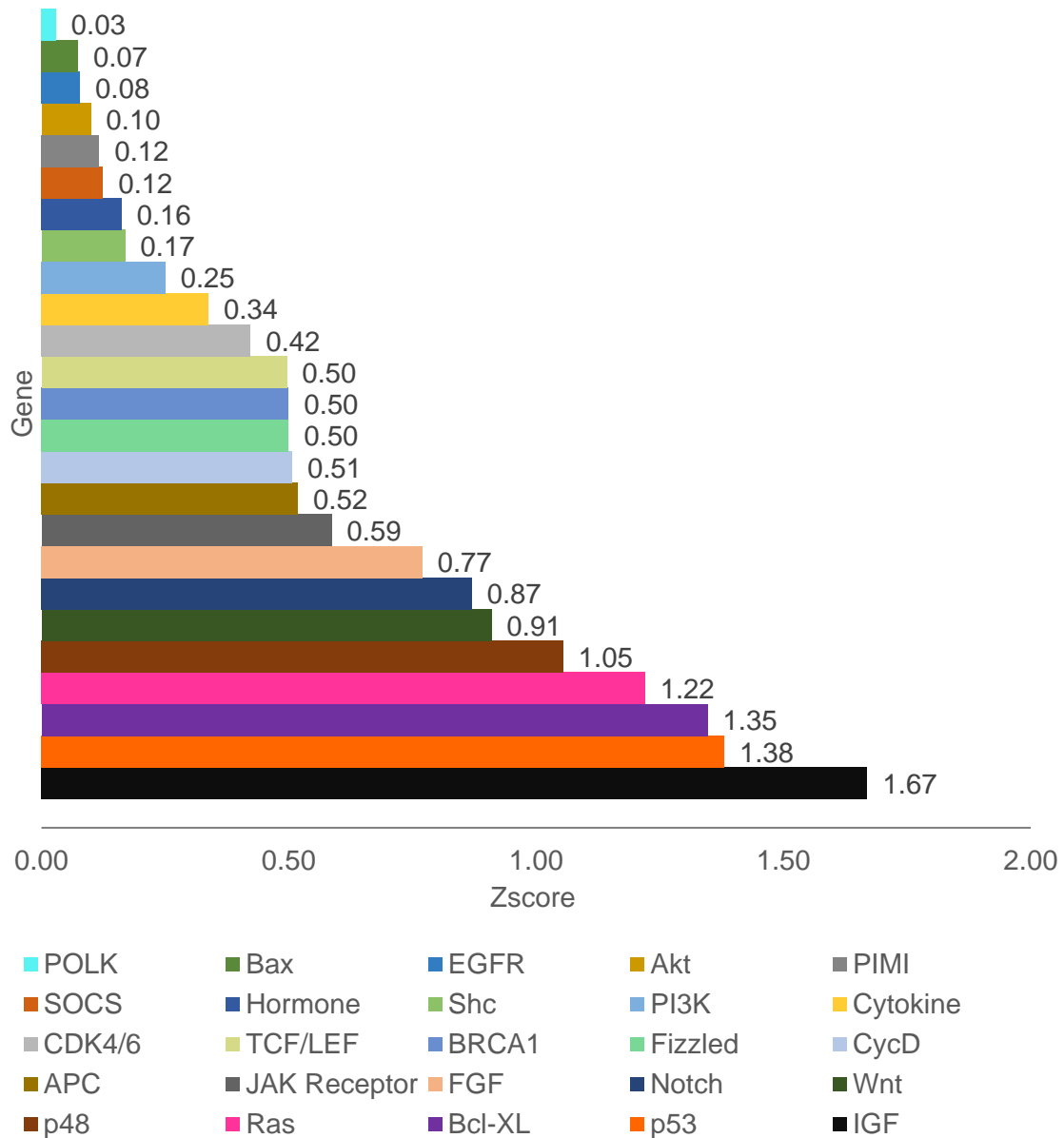


Figura 44: Genes regulados positivamente en las células MCF-7, se muestran los 25 genes regulados positivamente cuyos productos proteicos forman parte de las vías de señalización involucradas en el desarrollo de cáncer de mama, en donde los genes IGF, p53, Bcl-XL, Ras y p48 son aquellos regulados positivamente al incrementar su expresión a 1.05, 1.22, 1.35, 1.38 y 1.67 respectivamente, influenciados por la acción del extracto acuoso de *Opuntia joconostle* con valores de $z > 1.00$.

En cuanto a los genes regulados negativamente por el extracto acuoso de *O. joconostle*, se registrarón 29 genes (Cuadro 18), donde los genes Rb, BRCA2, PR, Raf, ERK1/2 y PTEN fueron aquellos en que se disminuyó su expresión Zscore menor a -1, ubicándolos en un rango de entre -1.09 hasta -1.61, por la acción del extracto acuoso de *Opuntia joconostle* (Figura 45).

Cuadro 18: Vías de señalización y genes regulados negativamente por el extracto de *O. joconostle* en las células MCF-7.

Vía de señalización	Gen en microarreglo	Sinónimo del gen en KEEG	Zscore
PI3K/JAK	PTEN	PTEN	-1.00583546
	FRAP1	mTOR	-0.23997121
	PDGFB	GF	-0.381142516
	STAT5B	STAT	-0.899435865
	BCL2	Bcl-2	-0.708374996
	CREBBP	CBP/P300	-0.448003406
	CDKN1A	P21	-0.734076219
EGFR/MAPK	ERBB2	HER2	-0.813962335
	FGFR1	FGFR1	-0.8713293220
	GRB2	Grb2	-0.6646837950
	BRAF	Raf	-1.0881561500
	MAP2K1	MEK	-0.71254946
	MAPK1	ERK1/2	-1.088106446
	KIT	KIT	-0.390935427
NOTCH	JAG2	Jegged	-0.776184934
	NFKB2	NF-Kb	-0.266285519
WNT	DVL3	Dvl	-0.57072312
	FRAT1	GBP	-0.972155268
	AXIN2	Axin	-0.120957249
	LEF1	TCF/LEF	-0.38
	MYC	c-Myc	-0.24509265
p53 pathway	CDKNA	p21	-0.73407622
	GADD45A	GADD45	-0.68812158
	CDK4	CDK4/6	-0.29
	RB1	Rb	-1.61139135
BRCA	BRCA2	BRCA2	-1.18288057
Progesterona y estrógenos	PGR	PR	-1.128459097
	JUN	API/SP1	-0.047899418
	WNT1	Wnts	-0.333006146

***Zscore:** valor de Z que utiliza el valor de la desviación estándar de la intensidad de señal calculado para cada individuo con relación a la de sus vecinos.

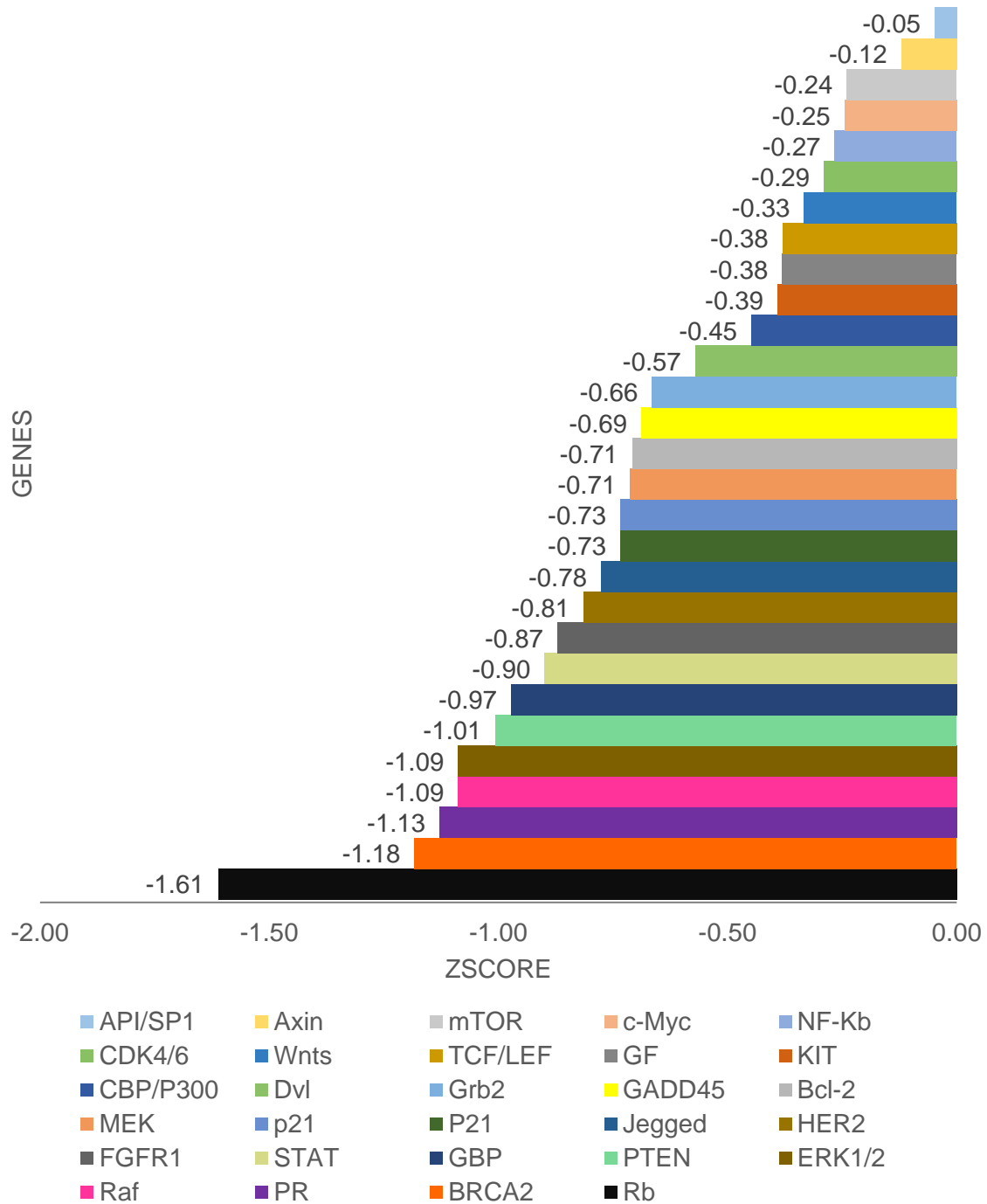


Figura 45: Genes regulados negativamente en las células MCF-7, se muestran los 29 genes a los cuales se inhibe su expresión en las vías de señalización de cáncer de mama, donde los genes Rb, BRCA2, PR, Raf, ERK1/2 y PTEN por la acción del extracto acuoso de *Opuntia joconostle*, con un valor de Zscore<-1.00.

Para la línea celular MDA-MB-231, el análisis de los microarreglos mostró un total de 23 genes, cuya expresión es activada por el extracto acuoso de *O. joconostle*, estos genes que están involucrados en diversas vías de señalización del cáncer de mama (Cuadro 19) y aquellos que tuvieron un valor de Zscore > 1 fueron Dvl, p53, IGF, Ras, p48, ERK1/2 y Notch (Figura 45).

Cuadro 19: Vías de señalización y genes regulados positivamente por el extracto de *O. joconostle* en MDA-MB-231

Vía de señalización	Gen en microarreglo	Sinónimo del gen en KEGG	Zscore
PI3K/JAK	PIK3CA	PI3K	0.007258742
	IL2	Cytokine	0.001625905
	LIFR	JAK receptor	0.134206655
	STAT3	STAT	0.153519361
	PIAS1	PIAS	0.038274303
	BCL2L	Bcl-XL	0.025453025
	PIM1	PIM1	0.589813714
	CCND2	CycD	0.045300496
	TP53	p53	2.192572473
	DDB2	p48	1.255628640
	RB1	Rb	0.351483258
EGFR/MAPK	FGF8	FGF	0.301006380
	IGF1	IGF	1.822417683
	ERBB2	HER2	0.482361903
	SHC1	Sch	0.681519910
	HRAS	Ras	1.530784554
	MAPK1	ERK1/2	1.181382195
NOTCH	NOTCH2	Notch	1.089572723
WNT	WNT10B	Wnt	0.674164861
	DVL3	Dvl	2.886214735
	AXIN2	Axin	0.131733826
	APC	APC	0.039192909
BRCA	BRCA2	BRCA2	0.143923236

*Zscore: valor de Z que utiliza el valor de la desviación estándar de la intensidad de señal calculado para cada individuo con relación a la de sus vecinos.

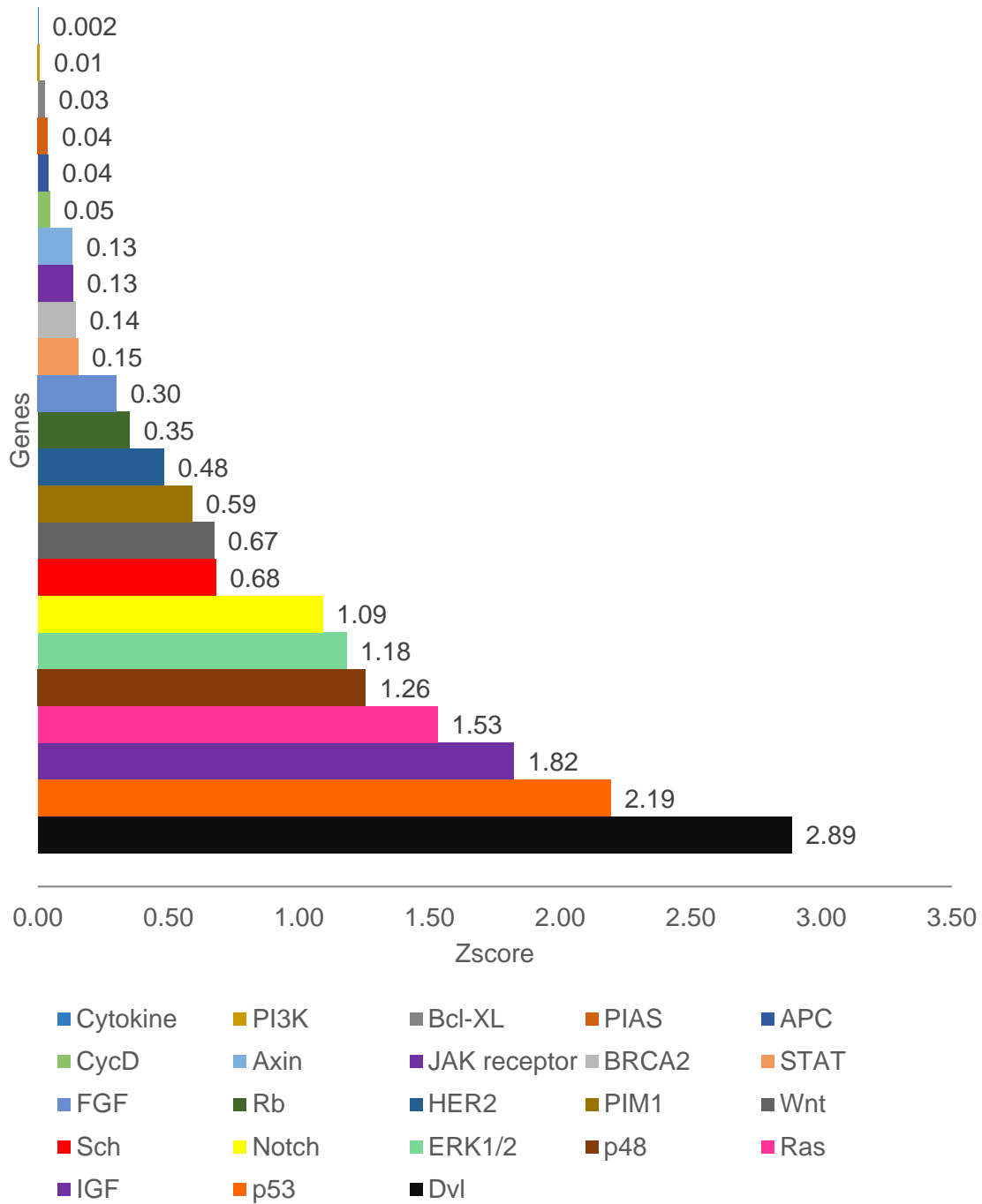


Figura 45: Genes regulados positivamente en las células MDA-MB-231, se muestran los 23 genes de los que se activa su expresión en las vías de señalización de cáncer de mama, donde los genes Dvl, p53, IGF, Ras, p48, ERK1/2 y Notch por la acción del extracto acuoso de *Opuntia joconostle*, con un valor de Zscore>1.00.

En la regulación negativa de la línea celular MDA-MB-231, se registraron un total de 28 genes involucrados en diversas vías de señalización del cáncer de mama por el extracto de *O. joconostle* (Cuadro 20), de los cuales TCF/LEF, FGFR1, MEK, Frizzled y Bcl-2 fueron los regulados más negativamente con valores de Zscore menores a -1, que van de -1.13 hasta -1.32 (Figura 46).

Cuadro 20: Vías de señalización y genes regulados negativamente por el extracto de *O. joconostle* en MDA-MB-231.

Vía de señalización	Gen en microarreglo	Sinónimo del gen en KEGG	Zscore
PI3K/JAK	PTEN	PTEN	-0.043636182
	AKT2	Akt	-0.799617212
	FRAP1	mTOR	-0.589113386
	EPO	Hormone	-0.631661686
	PDGFA	GF	-0.042390278
	EP300	P300	-0.213101378
	Bcl-2	BCL2	-1.132832065
	SOCS6	SOCS	-0.550642613
	MCL1	MCL1	-0.014816008
	GADD45A	GADD45	-0.180026876
	BAX	Bax	-0.14312105
	POLK	POLK	-0.537194064
	CDK6	CDK4/6	-0.665946344
EGFR/MAPK	FGFR1	FGFR1	-1.286409546
	GRB2	Grb2	-0.491473951
	BRAF	Raf	-0.1317882
	MAP2K1	MEK	-1.268836861
	EGFR	EGFR	-0.326075509
	KIT	KIT	-0.929991864
NOTCH	JAG2	Jagged	-0.77977774
	NFKB2	NF-KB	-0.409681852
	CDKN1A	P21	-0.717664036
	FLT4	VEGFR3	-0.540077983
WNT	FZD7	Frizzled	-1.263812808
	FRAT	GBP	-0.456615137
	TCF7L2	TCF/LEF	-1.322792448
	MYC	c-Myc	-0.76982550
Estrógenos	FOS	AP1/SP1	-0.591175216

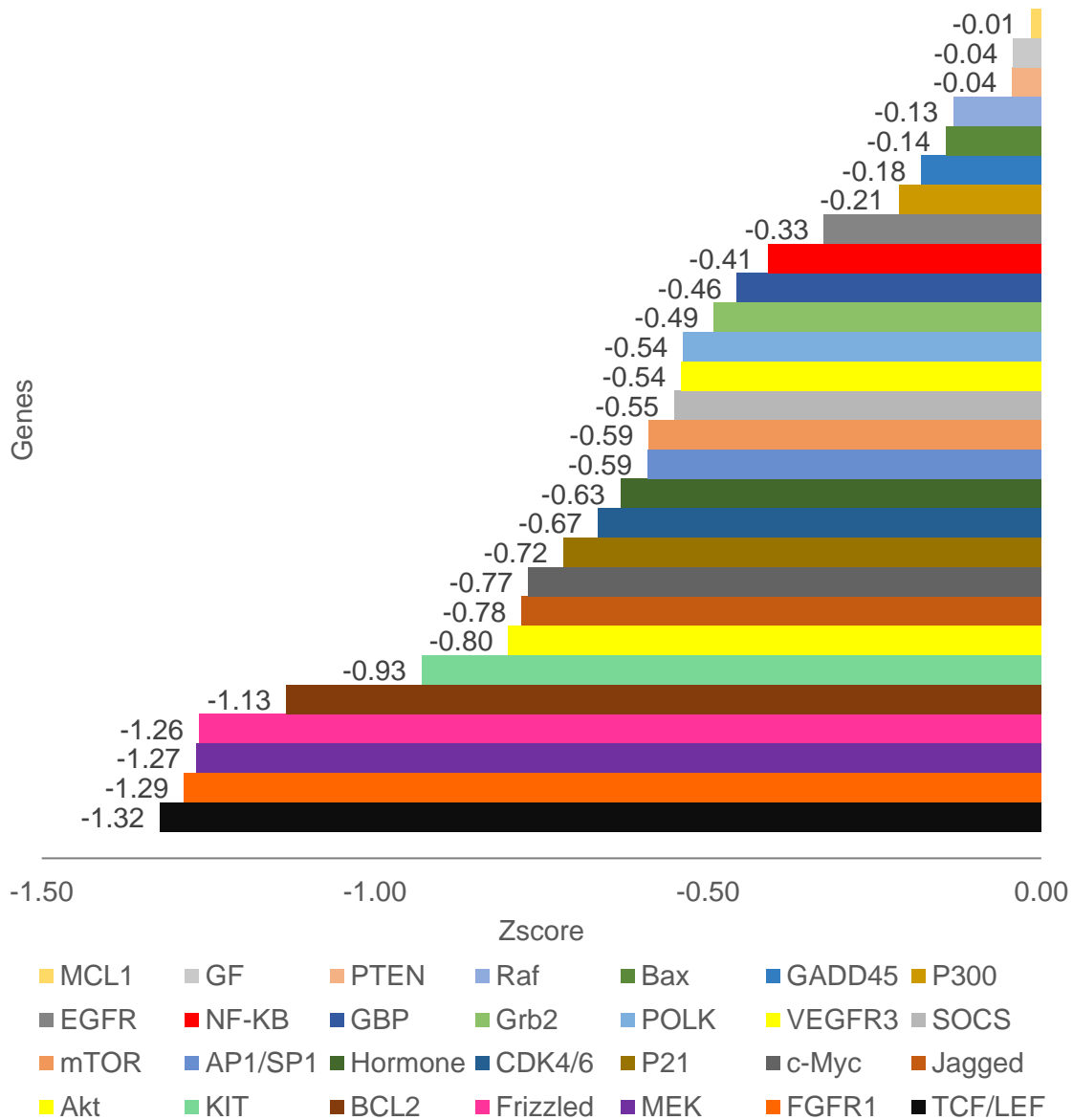


Figura 46: Genes regulados negativamente en las células MDA-MB-231, se muestran los 28 genes de los que se regula negativamente su expresión en las vías de señalización de cáncer de mama, donde los genes TCF/LEF, FGFR1, MEK, Frizzled y Bcl-2 son aquellos más influenciados por la acción del extracto acuoso de *Opuntia joconostle*, con un valor de Zscore < -1.00.

Los resultados obtenidos por el análisis de los microarreglos se asocian con la predicción e hipótesis planteadas en la experimentación *in silico* principalmente para las para las vías EGFR y Wnt.

8. DISCUSIÓN

La búsqueda de nuevos tratamientos complementarios a los ya conocidos contra el cáncer de mama que sean fáciles de obtener, con menos efectos secundarios y con mayor accesibilidad, es una prioridad para el sistema de salud, y así reducir las limitaciones para el tratamiento adecuado y oportuno del cáncer de mama⁷. Es por tales motivos que los conocimientos otorgados por la Medicina Tradicional brindan un panorama de estudio de nuevas sustancias a partir de especies vegetales que pueden proporcionar una solución a este problema, como se logró anteriormente con la Vincaprevinca (*Cathartus roseus*)⁵⁹.

Opuntia joconostle ha mostrado efectos benéficos en el tratamiento de padecimientos como en hiperglucemia y dislipidemias⁶⁰, sin embargo, no se ha estudiado hasta la fecha su efecto antineoplásico. Por tal motivo, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran el efecto antiproliferativo que esta especie puede tener comprobándolo a través del trabajo multidisciplinario y el empleo de modelos *in silico* e *in vitro*.

Los resultados obtenidos en el modelado y simulación *in silico* de las vías de señalización de células de cáncer de mama, antes y después de la aplicación del extracto de *Opuntia joconostle* a través de la plataforma Big Data Cellulat, proporcionan un panorama de todas las interacciones entre los diferentes elementos participantes dentro de las vías de señalización PI3K/Akt/mTOR, Wnt y EGFR. Con esto, se muestran las posibles dianas terapéuticas del extracto apoyando la experimentación *in vitro*.

Así se verifica que el empleo de modelos *in silico* de los tratamientos de cáncer, es una nueva manera de probar los posibles blancos moleculares en el cáncer con enfoques dirigidos. Este hallazgo coincide con lo reportado por Cava y cols.⁶¹, en el año 2018, en un estudio donde emplearon un modelo *in silico* para identificar las dianas terapéuticas de distintos fármacos en subtipos de cáncer de

mama y aunque ellos aplicaron fármacos conocidos y un modelo de simulación *in silico* diferente, concluyeron que “los métodos *in silico* podrían ofrecer enfoques valiosos para identificar tratamientos más personalizados y efectivos, en particular en enfermedades oncológicas heterogéneas.

La simulación comprobada del funcionamiento del extracto acuoso para la vía PI3K/Akt/mTOR, corrobora en primer lugar que en la célula cancerígena la unión de la citocina al receptor de tirosin cinasa desencadena el aumento de la proliferación celular, angiogénesis e inhibición de la apoptosis por diferentes cascadas que involucran a STAT, Akt y miembros de la familia BAX/ Bcl-2⁶²⁻⁶⁴, pero que una vez adicionado el extracto de xoco, este se une al receptor de tirosinas y causa la fosforilación de JAK causando su activación en primera estancia, pero ahora inhibiendo las cascadas de fosforilación subsecuentes, en este caso específicamente se simula la opción al inhibir la homodimerización de STAT impidiendo de esta forma su paso al núcleo, dando como resultado un efecto antiproliferativo. Confirmando lo reportado por Furqan y cols.⁶⁵, en el año 2013, en donde señalan que las células cancerosas dependen en gran porcentaje de la actividad de STAT por lo que la inhibición de STAT es un punto importante para inhibición del cáncer⁶⁶.

Para la vía Wnt la simulación *in silico* con los parámetros cinéticos reportados corrobora que en la célula cancerígena los valores elevados de β -catenina nuclear, así como una sobreactivación del receptor Frizzle y ligandos Wnt por la vía canónica desencadena respuestas dirigidas al crecimiento y proliferación celular⁶⁷. Esto debido a que los altos niveles de β -catenina en el citoplasma ya no pueden ser degradados por completo, lo que ocasiona que se dirija al núcleo y a consecuencia provoque la activación del complejo LEF-TFC, el cual induce la transcripción de cMYC, cJUN, CCND1 y PPARD^{68,69}. Cuando el extracto es adicionado se ve una reducción en la proliferación ocupando el sitio de los ligandos Wnt causando un bloqueo en la vía reduciendo las concentraciones de β -catenina, permitiendo su degradación adecuada en el citoplasma inhibiendo la activación del complejo LEF-

TFC y por tanto inactivando los factores de transcripción ya mencionados. Corroborando que los Frizzles son bloqueadas por anticuerpos o inhibidores de moléculas pequeñas, en este caso con el extracto de *Opuntia*, la vía de señalización de WNT no se activará de modo que podría ser un enfoque potencial para la terapia del cáncer^{70,71}. Ejerciendo un efecto similar al reportado por Zhou y cols.⁷², en el año 2017, donde demostraron que la baicalina que es un flavonoide aislado de la raíz de *Scutellaria lateriflora*, presenta un efecto antimetastásico en diversos tipos de cáncer incluyendo el cáncer de mama triple negativo, mediante la modulación de la vía de la β -catenina.

Finalmente para la predicción del efecto del extracto en la vía de señalización EGFR, se establece que el extracto debe actuar directamente en la unión con el receptor del factor de crecimiento, a causa de esto ayuda a que exista una disminución en la actividad de las MAP cinasas propiciando así la inactivación de los factores de transcripción JUN/FOS y Myc-Max, funcionando como aquellos medicamentos inhibidores del EGFR, dando como resultado una inhibición del crecimiento celular e inhibición de la proliferación celular⁷³. Mecanismo de acción que también se ha presentado en otros extractos naturales como lo demostraron Dai y cols.⁷⁴, en 2011, en donde el polvo obtenido del extracto de *Annona muricata* produjo una inhibición significativa sobre la proliferación de las células de cáncer de mama y modelos murinos, al disminuir la expresión de EGFR.

La actividad de los extractos formulados a partir de especies de la familia cactaceae a la cual pertenece *O. joconostle* y como lo describe Chauhan y cols.⁷⁵, en el 2010, para diferentes especies del género *Opuntia*, estas plantas deben sus propiedades farmacológicas a la presencia de diversos biocomponentes, que son principalmente compuestos secundarios productos del metabolismo de las plantas. En nuestros resultados, al realizar los extractos de *Opuntia joconostle* por disolventes y métodos de extracción diferentes, se demuestra que la cantidad de estos metabolitos y su presencia en los extractos depende de la polaridad del

disolvente así como de las condiciones del método de extracción, diferencias que son perceptibles a simple vista dadas por la coloración que toma cada extracto.

Esta aseveración se fortalece con los espectros obtenidos por UV- Vis donde los diferentes extractos de *O. joconostle* presentan diferentes picos de absorbancia. Siendo los picos más importantes aquellos que corresponden al extracto acuoso obtenido por el método convencional con un $\lambda_{\mu\max}$ ubicada en 260 nm localizando a este valor en el rango de los fenoles simples que tienen una absorbancia máxima entre 220 y 260 nm⁷⁶ y el valor obtenido para el extracto etanólico por Soxhlet con una λ_{\max} 235 nm, correspondiente a los flavonoides⁷⁷, sin embargo, se observa la presencia también de otras estructuras dentro del rango de los compuestos fenólicos. En el caso particular del extracto de Acetato de etilo obtenido por Soxhlet, se observa un pico muy característico que no se muestra en los demás extractos, en una absorbancia de 480 nm, este rango corresponde a las betaxantinas que pertenecen al grupo de las betacianinas y que se han relacionado también con efectos antiproliferativos en otros géneros de *Opuntia*^{78,79}.

De manera cualitativa mediante el análisis fitoquímico se determina la presencia de diversos biocomponentes presentes en el epicarpio de *Opuntia joconostle*, los cuales corresponden al grupo de compuestos fenólicos, incluidos flavonoides, fenoles simples y lactonas; así como también de saponinas y esteroides, estos hallazgos concuerdan con el análisis de HPLC realizado anteriormente por García-Saavedra y cols.⁸⁰, en el 2019 de todo el fruto 54 y por Morales y cols.⁵⁵, del epicarpio del xoconostle en el 2014.

Relacionando cada biocomponente encontrado en *Opuntia joconostle* con su actividad biológica se tiene que; los flavonoides son los compuestos encontrados en mayor proporción en los extractos de xoconostle, son polifenoles naturales, de los cuales se han descrito propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vasodilatadoras y antineoplásicas⁶⁴. También en el epicarpio del xoconostle, se detectan saponinas que son glicósidos de alcoholes

con una cadena espiroacetal, tienen la característica de ser solubles en agua y alcohol, son agentes espumantes y dentro de los efectos biológicos que tienen se encuentra el efecto antimicrobio, antifúngico y antineoplásico dentro de los mismos vegetales⁶⁵. Otro biocomponente detectado en el xoconostle son los esteroides, que son alcoholes secundarios policíclicos con estructura de ciclo pentano perhidro fenantreno, los cuales controlan el proceso de crecimiento y desarrollo de las especies vegetales así como su diferenciación celular, cuyo efecto fisiológico en seres humanos involucra modificación en la actividad hormonal, y efectos antiproliferativos específicos sobre diferentes tipos de cáncer dentro de los que se incluye el cáncer de mama, cervicouterino y de colon⁶⁶. Teniendo así un panorama de las posibles propiedades para *Opuntia joconostle*, infiriendo que por la presencia de los componentes puede poseer un efecto, antitumoral, analgésico y antiinflamatorio.

De todos estos biocomponentes se pone especial atención en los compuestos fenólicos, ya que están relacionados con la captación de radicales libres, lo que llega a brindar un efecto antitumoral⁸¹. Estudios con diversas especies del género *Opuntia* como el reportado por Abou-Ellella y Mohamed-Ali⁸², en 2014, en donde relaciona la capacidad antioxidante determinada por DPPH y el efecto anticancerígeno probado en células de Erlich, de diversos extractos obtenidos del epicarpio (como los hemos realizado en este trabajo), pero de *Opuntia ficus indica* concluye que hay una relación en la cantidad de compuestos fenólicos presentes en cada extracto. Lo cual coincide con nuestros hallazgos, en donde la cantidad de los compuestos fenólicos dentro de los extractos de xoconostle es variante dependiendo el disolvente empleado, ya que estos tienen mayor afinidad en compuestos polares, por lo que son principalmente solubles en agua⁸³.

También el estudio de Abou-Ellella y Mohamed-Ali⁸² se relaciona con nuestros resultados, ya que encontramos que debido a que la presencia de los biocomponentes en los extractos no es la misma, el efecto antiproliferativo también se ve diferenciado, determinando que la actividad biológica antiproliferativa de los

extractos de *Opuntia joconostle*, depende de la dosis empleada y el tipo de línea celular probada, observándose una correlación indirectamente proporcional de la concentración de compuestos fenólicos presentes en cada extracto con el porcentaje de proliferación obtenido.

En el presente estudio, tras probar cada extracto se muestra que el extracto de *Opuntia joconostle* acuoso obtenido por el método convencional junto con el etanólico por Soxhlet son los extractos que presentan un mejor efecto en las líneas celulares, datos que se acercan a la aproximación sugerida por el programa Cellulat en la simulación realizada *in silico*, dando una CL_{50} para la línea celular de cáncer de mama MCF-7, representante de cáncer luminal tipo A, de $0.028 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para el extracto acuoso y de $0.0156 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para el etanólico por Soxhlet y CL_{50} para la línea celular de cáncer de mama triple negativo de $0.021 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para el extracto acuoso y de $0.0156 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para el etanólico por Soxhlet y $0,0156 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para el etanólico.

Los compuestos principales asociados al efecto antiproliferativo en otras especies de *Opuntia* involucran a los compuestos fenólicos⁵⁷ y a las betacianinas⁶⁸, sin embargo en el caso de *Opuntia joconostle* en disolventes como agua y etanol, el espectro mostro un rango de longitud de onda máximo en los compuestos fenólicos y para el extracto acuoso que fue el seleccionado como el mejor no se encuentran rangos de absorbancia representativos de las betacianinas; por lo que se compara con lo observado con *Opuntia ficus indica* por Kim y cols.⁵⁷, en el año 2015, en donde el efecto sobre las células se relaciona más al contenido de compuestos fenólicos detectados que a las betacianinas.

En este trabajo se muestra que el extracto acuoso de *Opuntia joconostle* obtenido por el método convencional, el cual fue seleccionado por tener mejor significancia y resultados que los otros extractos, tiene un efecto antiproliferativo a las 24 horas a las concentraciones inhibitorias de $0.028 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para las células MCF-7 y $0.021 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ para las células MDA-MB-231, actuando sobre el ciclo celular al producir una detención en la progresión del ciclo induciendo el arresto de las células

en la fase G2/M, impidiendo que estas entren a mitosis, inhibiendo así la proliferación celular e induciendo la apoptosis, lo que se ve reflejado como un efecto antiproliferativo.

Esta detención de la fase del ciclo celular en la fase G2/M es similar a la observada por Cao y cols., en el año 2018⁸⁴, en donde la quercetina que es un flavonoide normalmente presentes en especies vegetales, inhibe significativamente la proliferación celular en células de cáncer de mama hormonodependiente y triple negativo, al inducir la apoptosis deteniendo el ciclo celular en la fase G2-M mediante mecanismos de acción que involucran la participación de la vía PI3K/Akt y en el año 2019, Zhu y cols.⁸⁵, informan la detención de las células de cáncer de mama MDA-MB-231 en la fase G2/M por acción del Kaempferol, pero en este caso el efecto se asoció a un aumento de la proporción de Bax/Bcl-2 y una regulación de la vía de las caspasas.

La administración del extracto acuoso de *O.joconostle* sobre las células de cáncer de mama causa una modificación de la expresión genética, que se midió mediante la técnica de microarreglos. En donde se pudo ver la inhibición y activación de la expresión de diversos genes que están involucrados en las vías de señalización relacionadas con el cáncer de mama.

En este análisis, se reporta que para la línea celular MCF-7 tratada con el extracto acoso de xoconostle, hay una activación principalmente de la expresión de los genes Ras, Bcl-XL, IGF, Wnt, p48, p53 y una inactivación significativa de la expresión de Rb, BRCA2, PR, Raf, ERK1/2 y PTEN. De este grupo de genes los que son de interés para considerar el efecto antiproliferativo que muestra el extracto de *O. joconostle* sobre esta línea celular son: p53, Bcl-XL, Raf, ERK1/2 y PR.

Con el antecedente realizado del modelado y simulación *in silico* en este trabajo, se agrupan los genes de importancia por su participación en las vías de señalización dentro del cáncer de mama, con el fin de generar una mejor

comprensión de la acción en la célula, por lo que para MCF-7 las principales vías involucradas son: la vía PI3K/Akt/mTor y la vía EGFR.

Para la vía de PI3K/Akt/mTor, la activación de la expresión de la proteína supresora de tumores p53 también conocida como “guardián del genoma” al regular el ciclo celular efecto que coincide con lo reportado por; Corbiere y cols.⁸⁶, en el 2004, en donde se comprobó que la administraron diosgenina en líneas celulares de cáncer de melanoma produce un aumento en la expresión de la proteína p53 (determinado por inmunofluorescencia), dando como resultado un efecto antiproliferativo en las células con una detención del ciclo celular en las fases G2/M. Así también dentro de esta vía se considera que la activación del gen regulador de la apoptosis Bcl-XI y la inhibición del protooncogen Raf por parte del extracto de *Opuntia Joconostle*, conduce a las células a la apoptosis celular^{87,88}.

Para la vía de señalización EGFR en estas células el extracto de xoconostle inhibe a las serina-treonin cinasas ERK1/2, complejo de cinasas que participa en la traducción de señales posterior a la activación de las MAP cinasas, por lo que esta condición permite una inhibición en los factores de transcripción Myc-Max y Jun-Fos (como se planteó anteriormente en la simulación *in silico*), produciendo un efecto antiproliferativo y una regulación en el ciclo celular en las células de cáncer de mama, este mismo hallazgo fue reportado por KOH y cols., en el año 2010, donde se comprobó el efecto antiproliferativo del licopeno a través de la inactivación de la acción de ERK1/2 (determinado por Western blot) en células de cáncer de mama⁸⁹.

En el caso de la línea celular MDA-MB-231 tratada con el extracto de *O. joconostle*, hay una activación significativa de la expresión de los genes Dvl, p53, IGF, Ras, p48, ERK1/2 y Notch y una inactivación principalmente de la expresión de TCF/LEF, FGFR1, MEK, Frizzled y Bcl-2. De este grupo de genes los que se consideran de interés para el efecto antiproliferativo del extracto en las células de cancer de mama triple negativo son: p53, TCF/LEF, FGFR1, MEK, Frizzled y Bcl-2,

estos genes se agrupan en las vías de señalización PI3K/Akt/mTOR, la vía Wnt y la vía EGFR.

La activación de la expresión del gen p53 y la inhibición de Bcl-2⁵⁷, se agrupan dentro de la vía pI3K/Akt/mTOR dando como respuesta la regulación del ciclo celular y la actividad antiproliferativa sobre las células, resultados similares fueron obtenidos por Suganyadevi y cols.⁹⁰, con las 3 desoxiantoxantinas obtenidas de *Sorgum bicolor*, donde se demostró una apoptosis inducida, mediada por la estimulación del gen p53 y la inhibición de Bcl-2 (determinado por PCR) en líneas celulares de cáncer de mama.

Por otro lado, la inactivación del receptor del factor de crecimiento FGFR1 y la inactivación de MEK por parte del extracto forman parte fundamental para la regulación de la vía de señalización EGFR en el cáncer de mama, principalmente induciendo la apoptosis y la regulación del ciclo celular⁹¹. La importancia de la acción de la inactivación de la expresión del factor de crecimiento es que este receptor se encuentra mutado y presente en uno de cada siete pacientes con cáncer de mama siendo así uno de los blancos más estudiados para el tratamiento de cáncer de mama⁹².

También se considera la participación del extracto de xoconostle con respecto a la vía de Wnt al causar una inhibición de la expresión del receptor Frizzled⁷⁰, así como también del complejo TCF/LEF, la inhibición de esta vía también se ha registrado en otros productos naturales como la licorina que es un producto alcaloide obtenido del cual fue reportado por Xiu y cols.⁹³, en el 2018, como un agente antiproliferativo sobre la línea celular MDA.MB.231 (misma que empleamos nosotros) donde se observó una disminución de la proliferación, migración e invasión asociando su efecto a la supresión de la vía de Wnt/ B catenina (determinado por Western blot).

Los genes activados como Wnt⁷¹ (en MCF-7), Dvl⁹⁴, Notch⁹⁵, ERK1/2⁹⁶ (en MDA-MB-231) y Ras⁹⁷, IGF⁹⁸, y p48 (en ambas líneas celulares), así como los genes inactivos Rb⁹⁹, BRCA2¹⁰⁰ y PTEN¹⁰¹ en la línea celular MCF-7, no se asocian al efecto antiproliferativo del extracto, ya en el cáncer de mama se encuentran normalmente en el estado de expresión genética encontrado en los microarreglos.

Finalmente, se comprobó que la simulación *in silico* al inicio de este trabajo fue asertiva y de gran ayuda en cuanto al planteamiento del efecto del xoconostle en las células de cáncer y al proporcionar un entendimiento previo de los genes involucrados en las vías de señalización obtenidos en los microarreglos. A pesar de que se comprueba que de todas las hipótesis planteadas pueden ser efectivas, las que tienen una mayor probabilidad de ocurrir son aquellas las que involucran a la activación de la expresión de Bcl.XL, p53 y una inhibición de la expresión de Raf y Bcl-2, en la vía PI3K/Akt/mTOR, una inhibición de ERK ½, MEK y el receptor EGFR en la vía del factor de crecimiento epidérmico y una inhibición en la expresión del complejo TCF/LEF Y el receptor FRIZZLED en la vía Wnt.

En resumen, el extracto de *O. joconostle* ejerce un efecto antiproliferativo sobre las líneas celulares de cáncer de mama a las CL50 correspondientes. Causando una detención del ciclo celular a nivel de G2/M provocando que las células no entren en una fase de mitosis lo que se ve reflejado como una disminución de la proliferación celular, a las 24 horas después de la administración del extracto. Esta detención es causada por la acción del extracto de *O.joconostle* sobre las líneas celulares, el cual produce una regulación de genes que intervienen en la modulación de 3 principales vías de señalización; PI3K/Akt/Mtor, EGFR y Wnt, provocando un efecto antiproliferativo por regulación del ciclo celular y activación de la apoptosis. Sin embargo, para conocer que principios activos causan el efecto antiproliferativo, sería necesario determinar cada componente por HPLC y realizar una purificación de estos para evaluarlos. Esperando que alguno de ellos conceda el efecto deseado o que finalmente el efecto antiproliferativo sea dado por una acción sinérgica de todos los componentes del extracto.

9. CONCLUSIÓN

El empleo del modelado, simulación y la consecuente experimentación *in silico* facilita el estudio y comprensión de las vías de señalización modificadas en cáncer al mismo tiempo que ayuda a reducir el tiempo y costos de los experimentos *in vitro*, dando una aproximación de las concentraciones a las que se debe trabajar en las fases *in vitro* e *in vivo* y una concepción de los puntos diana a los que puede actuar el extracto de xoconostle.

El contenido de los biocomponentes de los extractos obtenidos a partir del epicarpio de *O. joconostle* depende del disolvente y la metodología de extracción empleada, lo que afecta directamente al efecto ejercido sobre cada línea celular.

El extracto acuoso de *O. joconostle* muestra una mayor cantidad de compuestos fenólicos, entre ellos quercetina y 3 hidroxiflavonol.

El extracto acuoso de *O. joconostle* tiene un antiproliferativo significativo con un $p < 0.05$, a una CL50 de $0.021 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ sobre células de cáncer de mama triple negativo y una CL50 $0.028 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ para el cáncer de mama subtipo Luminal A, existiendo una correlación inversamente proporcional entre el contenido de compuestos fenólicos y la proliferación celular, en los extractos que si tienen un efecto antiproliferativo.

La acción antiproliferativa del extracto acuoso de *O.joconostle* a las CL50 efectivas, actúa a nivel del ciclo celular deteniendo a las células en la fase G2-M, impidiendo que estas pasen a mitosis.

El extracto de *O.joconostle* sobre las líneas celulares, produce una activación e inhibición de genes que intervienen en la modulación de 3 principales vías de señalización; vía PI3K/Akt/Mtor, EGFR y Wnt, provocando un efecto antiproliferativo por regulación del ciclo celular y activación de la apoptosis.

CAPÍTULO 3

10. LIMITACIONES

A pesar de realizar la caracterización de los extractos, las técnicas empleadas en el presente trabajo solo nos brindan un panorama de la presencia de biocomponentes agrupados por grupos funcionales y algunos compuestos comparados con estándares por cromatografía de capa fina como la quercetina de manera cualitativa. Por lo que el haber empleado técnicas más específicas como HPLC nos hubieran permitido distinguir de manera cuantitativa cada uno de los diferentes compuestos bioactivos presentes en cada grupo funcional en el extracto de *O. joconostle*, sin embargo debido a la falta de acceso al equipo no pudo realizarse.

Otra limitante es que a pesar de que se realizó una comparación entre el efecto sobre las células de cáncer de mama de diversos extractos de *O. joconostle*, no se elaboró una comparación con un fármaco de control por lo que no se pudo comparar dentro de las condiciones experimentales de este trabajo, si el alcance del efecto del extracto es similar con el fármaco empleado para el tratamiento actual.

11. BENEFICIOS A LA SOCIEDAD

El contenido de la investigación realizada en este trabajo de tesis brinda un aporte con relación al área social y en el área de la salud. Al rescatar y reforzar el conocimiento de la Medicina Tradicional del Estado de Puebla a partir de una especie vegetal nativa y cultivada regionalmente, como es el “xoconostle”; fruto empleado por la población como remedio para enfermedades crónico-degenerativas sin tener aún un estudio que compruebe su verdadero efecto cuando es usado como remedio para el cáncer de mama.

Por lo que con ese estudio pretende, enriquecer y valorar su efecto antiproliferativo de forma científica, para así a corto plazo rescatar y complementar el conocimiento existente sobre la Medicina Tradicional Mexicana, y en un futuro lograr con los hallazgos aquí encontrados desarrollar nuevas terapias complementarias que ayuden al tratamiento del cáncer de mama de las mujeres mexicanas y del mundo.

12. FORTALEZAS

El presente trabajo cuenta con la participación de expertos con una larga trayectoria educativa y experiencia en las áreas de fisiología celular y farmacología, química orgánica, matemáticas aplicadas, computación y medicina, logrando crear un proyecto multidisciplinario que fortalece cada conocimiento y resultado aquí planteado.

La especie vegetal fue recolectada en un campo de cultivo certificado y además los ejemplares fueron clasificados taxonómicamente por un experto de Herbario, brindando un registro de Herbario que comprueba que realmente el género y especie empleado es *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber ex Diguet).

13. PERSPECTIVAS

- Con los resultados obtenidos se puede hacer un seguimiento y aislamiento de los posibles principios activos responsables de la actividad antiproliferativa del extracto de xoconostle en las células de cáncer de mama.
- Valorar si el efecto regulador positivo o negativo que se encontró en los genes de cáncer puede tener efectos adversos en el paciente, al repetir el experimento de proliferación en células normales y posteriormente realizar el correspondiente análisis de microarreglos.
- Experimentar con modelos biológicos, con la dosis del extracto acuoso de xoconostle la cual mostro un efecto antiproliferativo en las células cancerosas, así como una detención de estas dentro del ciclo celular antes de entrar a la fase M.
- Comparar el efecto del extracto de *Opuntia joconostle* con anticancerígenos conocidos, para analizar si este puede reducir efectos secundarios o sí ayuda a disminuir de la resistencia celular.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. OMS | Cáncer [Internet]. Who. 2017. Disponible en:<https://www.who.int/cancer/es/%0Ahttp://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/%0Ahttps://www.who.int/topics/cancer/es/>
2. WHO-IARC. Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018 [Internet]. Press Release. 2018. p. 3–4. Disponible en: https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/09/pr263_E.pdf
3. Sociedad Mexicana de Oncología. Prevención y diagnóstico oportuno en cáncer Permanyer. 2016 .
https://www.smeo.org.mx/descargables/COPREDOC_GUIA.pdf
4. Reynoso Noverón N, Torres-Domínguez JA. Epidemiología del cáncer en México: carga global y proyecciones 2000-2020. *Rev Latinoam Med Conduct / Lat Am J Behav Med* 2018 ;8(1):9.
5. World Health Organization. Cancer Today [Internet]. Vol. 418, Cancer Today. 1984 p. 1–2. Disponible en: http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2018&mode=population&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&gro
6. Ghosn B, Benisi-Kohansal S, Ebrahimpour-Koujan S, Azadbakht L, Esmailzadeh A. Association between healthy lifestyle score and breast cancer. *Nutr J*;19(1):4.
7. Uscanga-Sánchez S, Torres-Mejía G, Ángeles-Llerenas A, Domínguez-Malpica R, Lazcano-Ponce E. Indicadores del proceso de tamizaje de cáncer de mama en México: un estudio de caso. *Salud Publica Mex.* el 13 de septiembre de 2014;56(5):528.
8. Bright K, Barghash M, Donach M, de la Barrera MG, Schneider RJ, Formenti SC. The role of health system factors in delaying final diagnosis and treatment of breast cancer in Mexico City, Mexico. *Breast.* 2011;20.

9. Kos Z, Dabbs DJ. Biomarker assessment and molecular testing for prognostication in breast cancer. Vol. 68, Histopathology. Blackwell Publishing Ltd; 2016. p. 70–85.
10. Sánchez CR, Valenzuela Y V, Pérez-Sepúlveda A, Villarroel AP, Medina LA, Camus MA, et al. Cáncer de mama avanzado receptor de estrógeno positivo: Manejo sistémico actual. Vol. 70, Rev Chil Cir. 2018.
11. González Espinoza IR, Villarreal Garza C, Juárez León OA, Adel Álvarez LA, Cruz López JC, Téllez Bernal E. Hormonal receptor positive breast cancer: Adjuvant treatment, first line in metastatic cancer and new strategies (mTOR inhibition). Gac Mex Oncol. 2015;14(5):277–92.
12. Masoud V, Pagès G. Targeted therapies in breast cancer: New challenges to fight against resistance. World J Clin Oncol. 2017 Apr 10;8(2):120-134.
13. Wojciechowski B. Targeted Therapies for Breast Cancer: Ibrance, Herceptin, Verzenio, and More. [Internet]. Breastcancer.org 2021. Disponible en: https://www.breastcancer.org/treatment/targeted_therapies
14. Mallma V, Veliz K, Enriquez D, Abugattas J, Mas L, Neciosup S. Influencia del tiempo de inicio de la quimioterapia adyuvante en el desenlace clínico en el cáncer de mama triple negativo. Carcinomas. 2016;6(1):13–21.
15. Biagi JJ, Raphael MJ, Mackillop WJ, Kong W, King WD, Booth CM. Association between time to initiation of adjuvant chemotherapy and survival in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. JAMA.;305(22):2335–42.
16. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer [Internet]. Vol. 411, Nature. Nature Publishing Group; 2001 p. 342–8.
17. Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. Nat Rev Cancer.;17(2):93–115.
18. Tume-Farfán L. Implicaciones del estudio de inestabilidad del ciclo celular en la biología del cáncer. Vol. 45, Revista CENIC : Ciencias Biológicas. 2014.
19. Striedinger K, VandenBerg SR, Baia GS, McDermott MW, Gutmann DH, Lal A. The neurofibromatosis 2 tumor suppressor gene product, merlin, regulates

- human meningioma cell growth by signaling through YAP. *Neoplasia*. 2008;10(11):1204–12.
20. Hernández ED. Biología del cáncer de mama. *Rev Venezolana Oncol*. 2016;28(3):188-200.
 21. Peralta-Zaragoza O, Bahena-Román M, Díaz-Benítez CE, Madrid-Marina V. Relationship between cell cycle and cancer development: Therapeutical approaches. *Salud Publica Mex*. 1997;39(5):451–62.
 22. Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, Glasebrook AL. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *J Immunol Methods*. 1991;142(2):257–65.
 23. Loraine S, Mendoza-Espinoza JA. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Rev Mex Ciencias Farm*. 2010;41(4):18–27.
 24. Lagunas C, Mendiola AV, Cruz IS. Iclo Celular : Ciencias la Salud [Internet]. 2014;17(2):98–107.
 25. Khongthong P, Roseweir AK, Edwards J. The NF-KB pathway and endocrine therapy resistance in breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2019;26(6):R369–80.
 26. Xia L, Tan S, Zhou Y, Lin J, Wang H, Oyang L, et al. Role of the NFkB-signaling pathway in cancer. *Onco Targets Ther* [Internet]. el 11 de abril de 2018 [citado el 24 de agosto de 2021];11:2063. Disponible en: /pmc/articles/PMC5905465/
 27. Fujio K, Komai T, Inoue M, Morita K, Okamura T, Yamamoto K. Revisiting the regulatory roles of the TGF- β family of cytokines. Vol. 15, *Autoimmunity Reviews*. Elsevier B.V.; 2016. p. 917–22.
 28. Paplomata E, O'Regan R. The PI3K/AKT/mTOR pathway in breast cancer: targets, trials and biomarkers. *Ther Adv Med Oncol*. 2014;6(4):154–66.
 29. The Overview of Breast Cancer: Related Signaling Pathways, Therapeutic Targets-CUSABIO [Internet]. Disponible en: <https://www.cusabio.com/c-20699.html>

30. Kontomanolis EN, Kalagasidou S, Pouliliou S, Anthoulaki X, Georgiou N, Papamanolis V, et al. The Notch Pathway in Breast Cancer Progression. *Sci World J*.;2018.
31. Yin P, Wang W, Zhang Z, Bai Y, Gao J, Zhao C. Wnt signaling in human and mouse breast cancer: Focusing on Wnt ligands, receptors and antagonists. Vol. 109, *Cancer Science*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. 3368–75.
32. Katt ME, Placone AL, Wong AD, Xu ZS, Searson PC. In vitro tumor models: Advantages, disadvantages, variables, and selecting the right platform. *Front Bioeng Biotechnol*. 2016;4.
33. Lee A V., Oesterreich S, Davidson NE. MCF-7 Cells - Changing the Course of Breast Cancer Research and Care for 45 Years. Vol. 107, *Journal of the National Cancer Institute*. Oxford University Press; 2015.
34. Cailleau R, Young R, Olivé M, Reeves WJ. Breast tumor cell lines from pleural effusions. *J Natl Cancer Inst*. 1974;53(3):661–74.
35. Cárdenas-García M, González- PP, Montagna S, Cortés OS, Caballero EH. Modeling intercellular communication as a survival strategy of cancer cells: An in silico approach on a flexible bioinformatics framework. *Bioinform Biol Insights*. el 26 de enero de 2016;10:5–18.
36. González PP, Cárdenas M, Camacho D, Franyuti A, Rosas O, Lagúnez-Otero J. Cellulat: An agent-based intracellular signalling model. *BioSystems*. 2003;68(2–3):171–85.
37. Brazma A, Vilo J. Gene expression data analysis. *FEBS Lett* , agosto,2000;480(1):17–24.
38. Salcedo M, Vázquez G, Hidalgo A, Pérez C, Piña P, Santillán K, Alatorre B, Arreola H, López R, Montoya C, Navarro B, Cerón T. Microarreglos en oncología. *Rev Espec en ciencias la salud UNAM*. 2003;6(1).
39. Jansen MPH, Foekens JA, Klijn JGM, Berns EMJJ. Re: Limits of predictive models using microarray data for breast cancer clinical treatment outcome. *J Natl Cancer Inst*. el 21 de diciembre de 2005 ;97(24):1851–2; author reply 1852-3.

40. Instituto de Fisiología Celular UNAM. Unidad de Microarreglos de DNA - IFC, UNAM [Internet]. 2020. Disponible en: <http://microarrays.ifc.unam.mx/>
41. WHO. OMS | Medicina tradicional: definiciones. Who [Internet]. 2010 Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
42. Pi-Suñer A. Medicina tradicional. America clínica. 1947.
43. Oldfield S, Jenkins M. Wild flora for improved rural livelihoods Executive summary Wild Flora for Improved Rural Livelihoods Case studies from Brazil. 2012;35.
44. Rodríguez-Acosta, M., Villaseñor, J., Coombes, AJ., Cerón A. Flora del Estado de Puebla, México. México. Puebla; 2014.
45. Mendoza-Espinoza JA, Loraine S. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. Rev Mex Ciencias Farm. 2010;41(4):18–27.
46. Gersten T. Tipos de quimioterapia. MedlinePlus. 2015.
47. Gallegos-Vázquez C, Scheinvar L, Núñez-Colín CA, Mondragón-Jacobo C. Morphological diversity of xoconostles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: A Mexican contribution to functional foods. Fruits. marzo de 2012;67(2):109–20.
48. Naturalista. Xoconostle (*Opuntia joconostle*) [Internet]. Disponible en: <https://www.naturalista.mx/taxa/274375-Opuntia-joconostle>
49. Tropicos | Name - *Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet [Internet]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/5108310>
50. Morales Martínez Y, López Cuellar MDR, Chavarría Hernández N, Rodríguez Hernández AI. Tuna y Xoconostle: fuentes de pectinas de interés alimentario. Boletín Ciencias Agropecu del ICAP. el 5 de enero de 2018;4(7).
51. Ciriminna R, Chavarría-Hernández N, Inés Rodríguez Hernández A, Pagliaro M. Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint. Biofuels, Bioprod Biorefining.;9(4):368–77.
52. Wicker L, Kim Y, Kim MJ, Thirkield B, Lin Z, Jung J. Pectin as a bioactive polysaccharide - Extracting tailored function from less. Food Hydrocoll. el 5 de diciembre de 2014;42(P2):251–9.

53. Tesoriere L, Butera D, Allegra M, Fazzari M, Livrea MA. Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *J Agric Food Chem.* el 23 de febrero de 2005;53(4):1266–70.
54. Osorio-Esquivel O, Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez VB, Dorantes-Álvarez L, Giusti MM. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res Int.* agosto de 2011;44(7):2160–8.
55. Morales P, Barros L, Ramírez-Moreno E, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. *Food Res Int.* 2014;65(PC):437–44.
56. Garcia-Saavedra NM, Barros L, Reis FS, Roriz CL, Alves MJ, García-Hernandez M, et al. Chemical characterization and biological activities of two varieties of xoconostle fruits: *Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar. *Food Funct.* el 1 de junio de 2019;10(6):3181–7.
57. Kim J, Soh SY, Shin J, Cho CW, Choi YH, Nam SY. Bioactives in cactus (*Opuntia ficus-indica*) stems possess potent antioxidant and pro-apoptotic activities through COX-2 involvement. *J Sci Food Agric.* 2015;95(13):2601–6.
58. Hernández GPH. Efecto antiproliferativo de la betanina y coadyuvante con vincristina en células de leucemia linfoblástica aguda tipo t. Universidad Autónoma de Querétaro; 2018.
59. Schlaepfer L, Mendoza-Espinoza JA. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2010;41(4).
60. Morales Martínez Y, López Cuellar MDR, Chavarría Hernández N, Rodríguez Hernández AI. Tuna y Xoconostle: fuentes de pectinas de interés alimentario. *Boletín Ciencias Agropecu del ICAP.* 2018;4(7):1–4.
61. Cava C, Bertoli G, Castiglioni I. In silico identification of drug target pathways in breast cancer subtypes using pathway cross-talk inhibition. *J Transl Med.* el 5 de junio de 2018 [citado el 4 de agosto de 2021];16(1).

62. Lim CP, Cao X. Structure, function, and regulation of STAT proteins. *Mol Biosyst.* 2006;2(11):536–50.
63. Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal.* 2002;14(5):381–95.
64. Brady HJM, Gil-Gómez G. Molecules in focus bax. The pro-apoptotic Bcl-2 family member, bax. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30(6):647–50.
65. Liu D, Furqan M, Akinleye A, Mukhi N, Mittal V, Chen Y. STAT inhibitors for cancer therapy. *J Hematol Oncol.* 2013;6(1):1–11.
66. Walker SR, Frank DA. STAT signaling in the pathogenesis and treatment of cancer. *Signal Pathways Cancer Pathog Ther.* 2012;9781461412:95–108.
67. Shimizu H, Julius MA, Giarré M, Zheng Z, Brown AMC, Kitajewski J. Transformation by wnt family proteins correlates with regulation of β -catenin. *Cell Growth Differ.* el 1 de diciembre de 1997;8(12):1349–58.
68. Rowlands TM, Pechenkina I V., Hatsell S, Cowin P. β -catenin and cyclin D1: Connecting development to breast cancer. *Cell Cycle.* 2004;3(2):143–6.
69. Easwaran V, Pishvaian M, Byers S. Cross-regulation of β -catenin – LEF / TCF and retinoid signaling pathways. :1415–9.
70. Zeng CM, Chen Z, Fu L. Frizzled receptors as potential therapeutic targets in human cancers. *Int J Mol Sci.* 2018;19(5).
71. Prosperi JR, Goss HK. Targeting the Wnt/ β Catenin Pathway in Breast Cancer. *Curr Drug Targets.* 2010;11(9):1074–88.
72. Zhou T, Zhang A, Kuang G, Gong X, Jiang R, Lin D, et al. Baicalin inhibits the metastasis of highly aggressive breast cancer cells by reversing epithelial-to-mesenchymal transition by targeting β -catenin signaling. *Oncol Rep.* el 1 de diciembre de 2017;38(6):3599–607.
73. Singh D, Attri B, Gill R, Bariwal J. Review On EGFR Inhibitors: Critical Updates. *Mini-Reviews Med Chem.* 2016;16(999):1–1.
74. Dai Y, Hogan S, Schmelz EM, Ju YH, Canning C, Zhou K. Selective Growth Inhibition of Human Breast Cancer Cells by Graviola Fruit Extract In Vitro and In Vivo Involving Downregulation of EGFR Expression. 2011;63(5):795–801.

75. Chauhan SP, Sheth NR, Jivani NP, Rathod IS, Shah PI. Biological Actions of Opuntia Species. Syst Rev Pharm. el 1 de diciembre de 2010;1(2):146–51.
76. Martínez-Valverde I, Periago MJ, Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoam Nutr. marzo de 2000;50(1):5–18.
77. Hess S, Alvarez JL, Iturra G, Romero M. Evidence of UVB differential response in *Sophora microphylla* from shady and sunny places. J Chil Chem Soc. 2002;47(4):501–10.
78. Calogero G, Marco G Di, Cazzanti S, Caramori S, Argazzi R, Carlo A Di, et al. Efficient Dye-Sensitized Solar Cells Using Red Turnip and Purple Wild Sicilian Prickly Pear Fruits. Int J Mol Sci. enero de 2010;11(1):254.
79. Msaddak L, Abdelhedi O, Kridene A, Rateb M, Belbahri L, Ammar E, et al. *Opuntia ficus-indica* cladodes as a functional ingredient: bioactive compounds profile and their effect on antioxidant quality of bread. Lipids Health Dis 2017;16(1):1–8.
80. Garcia-Saavedra NM, Barros L, Reis FS, Roriz CL, Alves MJ, García-Hernandez M, et al. Chemical characterization and biological activities of two varieties of xoconostle fruits: *Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguët and *Opuntia matudae* Scheinvar. Food Funct. 2019;10(6):3181–7.
81. López-Vélez M, Martínez-Martínez F, Valle-Ribes C Del. The Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants in Wine. Crit Rev Food Sci Nutr. 2003;43(2):233–44.
82. Abou-Elella FM, Ali RFM. Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Peel. Biochem Anal Biochem. 2014;3(4):1–9.
83. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Extraction of phenolic compounds: A review. Curr Res Food Sci. 2021;4(February):200–14.
84. Cao L, Yang Y, Ye Z, Lin B, Zeng J, Li C, et al. Quercetin-3-methyl ether suppresses human breast cancer stem cell formation by inhibiting the Notch1 and PI3K/Akt signaling pathways. Int J Mol Med. 2018;42(3):1625–36.

85. Zhu L, Xue L. Kaempferol suppresses proliferation and induces cell cycle arrest, apoptosis, and DNA damage in breast cancer cells. *Oncol Res.* 2019;27(6):629–34.
86. Corbiere C, Liagre B, Terro F, Beneytout J-L. Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells. *Cell Res* 2004 143. junio de 2004;14(3):188–96.
87. Trisciuglio D, Tupone MG, Desideri M, Di Martile M, Gabellini C, Buglioni S, et al. BCL-XL overexpression promotes tumor progression-associated properties. *Cell Death Dis* 2017 812. el 13 de diciembre de 2017;8(12):1–15.
88. Callans LS, Naama H, Khandelwal M, Plotkin R, Jardines L.. Raf-1 protein expression in human breast cancer cells. *Ann Surg Oncol.* 1995;2(1):38–42.
89. Min-Soo KOH J-SH, Moon A. Lycopene Inhibits Proliferation, Invasion and Migration of Human Breast Cancer Cells. *Korean Soc Appl Pharmacol.* el 31 de enero de 2010;18(1):92–8.
90. Suganyadevi P, Saravanakumar KM, Mohandas S. The antiproliferative activity of 3-deoxyanthocyanins extracted from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran through P53-dependent and Bcl-2 gene expression in breast cancer cell line. *Life Sci.* el 14 de marzo de 2013;92(6–7):379–82.
91. Navid S, Fan C, Flores-Villanueva PO, Generali D, Li Y. The fibroblast growth factor receptors in breast cancer: From oncogenesis to better treatments. *Int J Mol Sci [Internet].* el 2 de marzo de 2020;21(6).
92. Franklin DA, Sharick JT, Ericsson-Gonzalez PI, Sanchez V, Dean PT, Opalenik SR, et al. MEK activation modulates glycolysis and supports suppressive myeloid cells in TNBC. *JCI Insight.* el 6 de agosto de 2020;5(15).
93. Chen X-L. Lycorine inhibits MDA-MB-231 breast cancer cell proliferation, migration and invasion that are associated with Wnt/ β -catenin signaling. *Bangladesh J Pharmacol.* el 21 de junio de 2018;13(2):192–5.
94. Castro-Piedras I, Sharma M, Den Bakker M, Molehin D, Martinez EG, Vartak D, et al. DVL1 and DVL3 differentially localize to CYP19A1 promoters and

- regulate aromatase mRNA in breast cancer cells. *Oncotarget*. el 1 de noviembre de 2018;9(86):35639–54.
95. Krishna BM, Jana S, Singhal J, Horne D, Awasthi S, Salgia R, et al. Notch signaling in breast cancer: From pathway analysis to therapy. *Cancer Lett*. el 1 de octubre de 2019;461:123–31.
 96. Plotnikov A, Flores K, Maik-Rachline G, Zehorai E, Kapri-Pardes E, Berti DA, et al. The nuclear translocation of ERK1/2 as an anticancer target. *Nat Commun* 2015 61. el 30 de marzo de 2015;6(1):1–11.
 97. Mizuguchi R, Noto S, Yamada M, Ashizawa S, Higashi H, Hatakeyama M. Ras and signal transducer and activator of transcription (STAT) are essential and sufficient downstream components of Janus kinases in cell proliferation. *Japanese J Cancer Res*. 2000;91(5):527–33.
 98. Shi R, Yu H, McLarty J, Glass J. IGF-I and breast cancer: a meta-analysis. *Int J cancer*. 2004;111(3):418–23.
 99. Knudsen ES, Zacksenhaus E. The vulnerability of RB loss in breast cancer: Targeting a void in cell cycle control. *Oncotarget*. el 24 de julio de 2018;9(57):30940.
 100. Godet I, Gilkes DM. BRCA1 and BRCA2 mutations and treatment strategies for breast cancer. *Integr cancer Sci Ther*. 2017;4(1).
 101. Carbognin L, Miglietta F, Paris I, Dieci MV. Prognostic and predictive implications of PTEN in breast cancer: Unfulfilled promises but intriguing perspectives. *Cancers (Basel)*. el 1 de septiembre de 2019;11(9).

15. ANEXOS



Oficio No SIEP / C.I. / 060 / 2020

Asunto: Constancia de Registro

D.C. MAURA CÁRDENAS GARCÍA.
DRA. MARÍA GUADALUPE HERNÁNDEZ LINARES.
DR. PEDRO PABLO GONZÁLEZ PÉREZ.
ALEJANDRA ORTIZ GONZÁLEZ.

PRESENTES:

El Comité de Investigación de la Facultad de Medicina de la B.U.A.P., a través de la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado hace **C O N S T A R** que el Proyecto de Investigación presentado en autoría Colectiva por:

- ALEJANDRA ORTIZ GONZÁLEZ.
- D.C. MAURA CÁRDENAS GARCÍA.
- DRA. MARÍA GUADALUPE HERNÁNDEZ LINARES.
- DR. PEDRO PABLO GONZÁLEZ PÉREZ.

Titulado:

"EFECTO SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y ANÁLISIS DE MICROARREGLOS DE EXTRACTOS DE OPUNTIA JACONOSTLE (F.A.C. WEBER EX DIGUET), SOBRE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA: MDA-MB-231 Y MCF-7"

Ha sido registrado en esta Secretaría con los siguientes datos:

Fecha de registro: 17 de febrero de 2020.

Número de Libro: 2

Número de Hoja: 132

Número de Registro: 811

Vigencia: Inicio 12 de marzo Término 17 de diciembre de 2021

ATENTAMENTE

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"

H. PUEBLA DE Z., A 12 DE MARZO DE 2020

M.C. JOSÉ LUIS GANDARA RAMÍREZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

D.C. JORGE ALEJANDRO CEBADA RUIZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

c.c.p. archivo
c.c.p. minutarío
DC "ETR"etr

Recibido:
A. J. Ortiz
Alejandra Ortiz
González.

Facultad de Medicina 13 Sur 2702, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C.P. 72410
01 (222) 229 55 00
Ext. 6047 y 6048

15.2. Definiciones de las variables

Cuadro 21 : Descripción de las variables

Variable	Definición operacional	Definición conceptual	Escala	Unidades
Efecto antiproliferativo	Proliferación celular	Multiplicación o aumento del número de células	Continua	μg/μl
CL50	XTT	Concentración en la que el extracto disminuye el 50 % de la viabilidad celular.	Continua	μg/μl
Capacidad antioxidante	DPPH	Capacidad de un compuesto para poder ceder átomos de hidrógeno a los radicales peróxidos.	Continua	%
Expresión génica	Cambio de coloración en placa de silice, por fluoroforo Cy3 y Cy5.	Codificación de un gen para dirigir el montaje de una molécula de proteína	Continua	Número de genes

XTT: Sal de tetrazolio

CI50: Concentración Inhibitoria 50

15.3 Descripción de las técnicas

15.3.1 Características de los disolventes empleados en la extracción.

Características del Etanol: El etanol es un líquido incoloro, volátil, con un olor característico y sabor picante. También se conoce como alcohol etílico es más denso que el aire.

Es muy utilizado como disolvente en síntesis de fármacos, plásticos, lacas, perfumes, cosméticos, etc. Dentro de sus propiedades físicas y termodinámicas están: Punto de ebullición: 78.3 grados centígrados (°C). Punto de fusión: -130 °C. Densidad: 0.7893 a 20 °C.Presión de vapor: 59 mm de Hg a 20 °C. Es Miscible con agua en todas proporciones, éter, metanol, cloroformo y acetona.

Características del Acetato de Etilo

Líquido transparente olor característico Olor fuerte, afrutado, incoloro. Intervalo de ebullición: 77,1 °C Punto de inflamación: -4 °C Punto de Fusión: -83 °C Inflamabilidad (sólido, gas). Hidrosolubilidad: 3,4 %m/m a 20 °C (Agua en producto) / 7,29 % m/m (Producto en agua).

Características del Agua

El agua es el disolvente universal, con características inoloro, inocloro y sin sabor. Sus moléculas son polares lo que convierte al agua en un excelente disolvente de sustancias también polares. La densidad del agua es de 1 kg/l, si bien va aumentando según disminuye la temperatura, alcanzando su máxima densidad a los 4 °C, A nivel del mar, el punto de ebullición del agua es 100 °C y el de fusión es 0 °C.

NOTA: La solubilidad de un sólido en un líquido es la medida de la afinidad de las moléculas de disolventes por las moléculas de soluto y en disolventes no polares la única fuerza presente entre sus moléculas es la dispersión. Por lo que los disolventes no polares disuelven compuestos no polares y los polares disuelven compuestos polares como fenoles y flavonoides.

15.3.2 Pruebas Fitoquímicas

- Flavonoides. Prueba de Shinoda, 1mg de la muestra se agregó a etanol y se agitó para realizar un pequeño extracto, en otro tubo se adicionaron 20 gotas del extracto de etanol con la planta, una viruta de magnesio y 5 gotas de ácido clorhídrico. Si se detectó un cambio de coloración naranja, rojo, rosa, violeta se dice que la prueba es positiva.
- Esteroides y triterpenos. Prueba de Liebmman- Buchard, en un tubo de ensayo se adicionó 1.5 mg de muestra vegetal en cloroformo, más el reactivo preparado con 1mL de anhídrido acético y 1 mL de cloroformo. Considerando positiva la prueba a esteroides en el cambio de coloración a tonalidades azules o verde y coloraciones violetas es positivo a triterpenos.
- Alcaloides. Prueba de Dragendorff, se agregaron 2 mg de la muestra en etanol y se colocan unas gotas sobre otro tubo de ensayo para posteriormente se agregó el reactivo de Dragendorff. La prueba es positiva al dar precipitados de color rojo, naranja o marrón.
- Colesteroles. En 1 g de planta en el tubo de ensaye, se adicionaron 3 mL de cloroformo para posteriormente adicionar el mismo volumen de ácido sulfúrico. Entendiendo que una coloración rojiza característica en la capa clorofórmica es positiva.
- Oxidrilos Fenólicos. Prueba de Cloruro férrico, se tomaron 2 mg de la muestra y se colocaron en 1mL de etanol, posteriormente se adicionaron 6 gotas de una solución de sulfato férrico al 5 %. Si al paso de unos minutos se observó un precipitado de color azul, verde o rojo se dice que la prueba es positiva.
- Insaturaciones. Prueba de Permanganato de potasio, 1mg de la muestra se situó en un tubo de ensaye más etanol, posteriormente se añadieron 2 gotas

de permanganato de potasio al 2 % en agua y se agitó. Si al paso de unos minutos se observa decoloración o un precipitado de color café se dice que la prueba es positiva.

- Cumarinas. Prueba de Hidróxido de sodio, se colocó gramo de la muestra en un tubo de ensaye, agregando posteriormente 6 gotas de hidróxido de sodio acuoso al 10 %. Mostrando una coloración amarilla, si el color desaparece al acidular con 5 gotas de ácido clorhídrico, se dice que es positivo.
- Lactonas. Se ocuparon 2 mg del material vegetal, agregando 6 gotas de hidróxido de sodio alcohólico al 10 % y agitar, si se observa el cambio de coloración a amarillo o anaranjado y posteriormente al agregar 5 gotas de ácido clorhídrico el color desaparece, se dice que la prueba es positiva.
- Saponinas. Prueba de espuma, a una porción de la corteza en un tubo se añadió agua hirviendo, agitando por 3 a 5 min. Si se observó la aparición de espuma, la prueba es positiva.

15.3.3. Proliferación celular y protocolo XTT

1. Proliferar células de las líneas de cáncer de mama a utilizar en cajas t-75 como medio de cultivo primario, estas células crecen en medio de cultivo específico como D-MEM. Diariamente se visualizan al microscopio dichas células, hasta lograr visualizar su confluencia.

Cuadro 22: Especificaciones para líneas celulares

Línea celular	Medio	SFB	L-Glut	Antibiótico	Cambio de medio
MCF-7	MEM	10 %	1 %	0.5 %	2 días
MDA-MB-231	DMEM	10 %	-	0.5 %	2 días

2. Una vez obtenido el 80% de confluencia, visualizada en el microscopio, se procede a contar mediante cámara de Neubauer. Para dicho proceso primero tenemos que tripsinar las células, con la finalidad de inhibir su adhesión. Se colocan 4mL de tripsina al 1x, por cada caja T-75 y se introduce a la incubadora por 3 min, posteriormente se corrobora la separación de las células al microscopio, de no estar completada se procede a percutir la caja suavemente. Una vez garantizada la separación total de dichas células se inhibe la tripsina con el medio correspondiente a la línea celular colocando el doble de volumen inicial (8 mL). Se vacía el contenido total a un tubo para centrifugo estéril de 15 mL y se centrifuga a 1,500 rpm por 10 min. Una vez obtenido el pellet, se elimina el sobrenadante y se adiciona 5ml de medio suplementado y se resuspende. En un tubo estéril de 1.5 mL se agregan 45 µL de PBS al 1x + 45 µl de azul de Tripán + 10 µL de la solución obtenida en el tubo para centrifugo estéril anterior. De dicha mezcla se obtienen 10 µL y se colocan en

la cámara de Neubauer cubierta por su respectivo cubreobjetos y se visualiza al microscopio.

Una vez obtenido el resultado, se agrega el volumen correspondiente a 5,000 células por pozo y se completa el volumen hasta obtener 200 μL por pozo.

3. Pasadas 24 h del paso anterior, se procede a visualizar las células al microscopio. Una vez corroboradas las características y la viabilidad celular, se retira el volumen por pozo (200 μL) por pipeta. Y se adicionan la concentración de extracto deseada (10' - 110') y se complementa el volumen con medio suplementado de la célula correspondiente.

4. 24 h posteriores, se retira todo el volumen y se agregan 50 μL de XTT (se elabora una solución de 5mL del frasco proliferado y 100 μL del activador) y se agregan 100 μL de medio suplementado de cada línea celular. Se ingresa a la incubadora y se esperan 4 h para leer en lector de ELISA a 500 nm y 600 nm.

15.3.4. Citometría de flujo

Preparación de una muestra

* Siembre una cantidad adecuada de células (generalmente, 1×10^6 en total) en placas de seis pocillos para que el protocolo sea más eficiente.

* Trate las células de acuerdo con sus planes experimentales, asegurándose de tener un grupo de control para cada condición de tratamiento y cada momento.

Para células adherentes: retire y deseche los medios de cultivo.

* Agregue 1 mL de 1X PBS por pocillo y agite la placa suavemente para lavarla.

* Añada 500 mL de solución de tripsina 1X al pocillo y siga el procedimiento de tipificación general.

* Vuelva a suspender el sedimento celular en 1 mL de 1X PBS y transfíralo a tubos de 1,5 mL.

Para células en suspensión

* Recoja el cultivo líquido en tubos de 15 mL.

*. Centrifugue durante 5 min a 200 rcf, a temperatura ambiente.

* Retire y deseche el sobrenadante.

* Vuelva a suspender el sedimento celular en 1 mL de 1X PBS, transfíralo a tubos de 1,5 mL.

Procedimiento general

* Centrifugue el sedimento celular resuspendido a 200 rcf, 4 °C durante 5 minutos. Retire y deseche el PBS.

* Para fijar las células, agregue 1 mL de etanol helado (96 ° C); pipetear hacia arriba y hacia abajo para mezclar.

* Almacene las muestras a 4 °C hasta que se vayan a utilizar o continúe con la tinción.

Tinción con yoduro de 2-propidio (PI) *

- * Prepare la mezcla maestra de tinción. * Tiñe solo si está analizando las muestras inmediatamente después.
- * Agite en vórtex los tubos de muestra a baja velocidad para homogeneizar.
- * Centrifugue los tubos a 500 rcf, 4 °C durante 5 min. Retire y deseche el sobrenadante (el alcohol es más difícil, así que asegúrese de que se haya ido por completo).
- * Lavar el sedimento celular con 1 mL de 1X PBS frío y centrifugar como se indicó anteriormente. Retire y deseche el PBS.
- * Tiñe las células agregando 500 µl de la mezcla maestra y resuspendiendo el sedimento celular.
- * Transfiera las muestras a tubos de poliestireno de fondo redondo de 5 mL.

Protocolo de citometría de 3 flujos

- * Cuando utilice la máquina de citómetro de flujo Beckton-Dickinson (LSR II), siga este protocolo.
- Encienda la máquina durante al menos una hora antes de usarla.
- Inicialice el software de control de láser OPSL al mismo tiempo; establezca la potencia del láser en 22 vatios.
- Abra el software FACS Diva BD; configure las puertas al voltaje y la corriente correspondientes, de acuerdo con el protocolo experimental que necesita.
- Analice las muestras una por una. Agite brevemente cada tubo y colóquelos debajo del brazo del citómetro de flujo.
- Leer muestras a baja velocidad de flujo.
- Transferir datos y analizarlos usando un paquete de software estadístico.
- Deseche los tubos en consecuencia al final de los experimentos.
- Lave la máquina según sea necesario para su mantenimiento.

15.3.5. Técnica de RNA trizol

- Añadir 1 mL trizol a cada caja Petri
- Dejar reposar 5 min a temperatura ambiente 37 °C
- Con un raspador raspar la caja Petri y tomar lo que se cae.
- Con la micropipeta y se pone un tubo de 1.5 mL estéril.
- Resuspender con una jeringa
- Incubar 5 min a temperatura ambiente
- Añadir 0.2 mL o 200 µL de cloroformo
- Agitar con el vortex 15 s.
- Incubar de 2 a 3 min temperatura ambiente
- Centrifugar a 1200 RCF por 15 min 8 °C, deberá separarse en dos fases
- Separar el volumen de la fase acuosa.
- Añadir 500 µL de propanol y agitar con el vortex 15 s.
- Incubar por 10 min y posteriormente centrifugar a 12000RCF por 15 min a 8 °C
- Extraer el sobrenadante y añadir 1 mL de etanol 75 %
- Agitar en el vortex por 15 s.
- Centrifugar 1000 RCF por 5 min a 8 °C
- Secar el pellet RNA durante 5 a 10 min (no se seque por completo)
- Resuspender el pellet RNA, agitar nuevamente en el vortex por 10 s.
- Los tubos tubo de 1.5 mL estéril se meten en el termo bloc 15 min y se agitan en el vortex, se metió en hielo, (muestras con el tratamiento y muestras controles)
- Tomar un tubo para centrífugo estéril con el tratamiento y otro control para hacer una electroforesis y mandarlo a los harán en microarreglos.

15.3.6. Preparación del gel agarosa para electroforesis de mRNA

- Se prepara la bandeja sellando los bordes por presión o con cinta adhesiva (dependiendo del modelo de cámara)
- Pesar 2,5 gr. de agarosa.
- Colocar la agarosa dentro de un envase de vidrio que contenga 250 mL de buffer TBE 0,5X y calentar en el baño de María hasta su completa disolución.
- Cuando la solución de agarosa haya alcanzado una temperatura soportable por la mano, agregar 2,5 µL de bromuro de etidio* (Solución madre 10 mg. 23 mL-1) o 25 µL de SYBR Green *1 (dilución final de la solución comercial es 1 en 10.000).
- Mezclar bien, agitando el recipiente en forma circular, evitando que se formen burbujas en la solución.
- Servir la solución en la bandeja de corrida vertiendo la solución lentamente por uno de los extremos de la bandeja y retirar las burbujas que quedan sobre el área de corrida de las muestras con una punta limpia.
- Dejar polimerizar la agarosa
- Para la corrida, llenar el tanque de la cámara de electroforesis con buffer
- TBE 0,5X hasta cubrir el gel.
- Conectar los electrodos de la cámara a la fuente de poder, graduar el voltaje deseado.
- Correr las muestras

Anexo 15.3.7 Protocolo de microarreglos

El protocolo el cual se recibió de La Unidad de Fisiología de la UNAM para llevar a cabo los microarreglos indica que:

1. Las muestras marcadas como MCF7-CTR, MCF7-24h, se hibridaron en un chip de Cáncer humano ALEXA555 y las muestras MDA231-CTR y MDA231-24h en un chip de Cáncer humano ALEXA647.
2. De la cuantificación de las imágenes se hizo un análisis estadístico con Genarise.
3. Del análisis se obtuvieron las listas de genes UP y DOWN regulados para dos cortes de Z-Score (1.5 y 2).
4. Los resultados cuantitativos se entregan en dos carpetas diferentes que incluyen los valores de zscore y los gráficos obtenidos.

Anexo 15.4 Pruebas estadísticas

Se realizaron las pruebas estadísticas donde se realizó la obtención de estadísticos descriptivos, así como la prueba de normalidad (cuadro 23) y de heterogeneidad (cuadro 24-25), para así poder seleccionar la prueba adecuada para los resultados obtenidos.

Cuadro 23: Estadísticos descriptivos

TIPO DE EXTRACTO	%VIABILIDAD CELULAR MCF7		%VIABILIDAD CELULAR MDA-MB-231	
	MEDIANA	MINIMO-MÁXIMO	MEDIANA	MINIMO-MÁXIMO
ACUOSO CONVENCIONAL	23.83	9.61 - 100	21.72	16.05 –108.4
ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	77.34	46.59 - 100	111.40	96.69-122-80
ETANÓLICO CONVENCIONAL	87.64	75.9 - 117.06	104.25	90.4- 114.41
ACUOSO SOXHLET	95.12	6.85 - 101	105.40	20.57-119.31
ACETATO DE ETILO SOXHLET	96.5	88.3 - 100	85.47	36.04-100
ETANÓLICO SOXHLET	18.24	13.48 - 100	48.96	35.22-113.06

Cuadro 24: Prueba de normalidad Shapiro- Wilk

EXTRACTO	MCF7.	MDA-MB-231
	p	p
EXTRACTO ACUOSO CONVENCIONAL	.001	.000
EXTRACTO ACUOSO SOXHLET	.000	.002
EXTRACTO ETANÒLICO CONVENCIONAL	.046	.057
EXTRACTO ETANOLICO SOXHLET	.000	.019
EXTRACTO ACETATO DE ETILO CONVENCIONAL	.041	.092
EXTRACTO ACETATO DE ETILO SOXHLET	.201	.029

p: significancia; $p < 0.05$ distribución no normal.

Cuadro 25: Prueba de Levene

%VIABILIDAD CELULAR	Estadístico de Levene	p
MCF7	6.928	.001
MDA-MB-231	5.619	.001

p: significancia, $p < 0.05$ indica que no hay heterogeneidad en las varianzas

Anexo 15.5.1 Genes regulados positivamente en la línea MCF-7

Los resultados obtenidos a partir del análisis de microarreglos para la línea celular MCF-7 mostraron a 859 genes que muestran en la lista junto con su correspondiente Zscore los cuales fueron regulados positivamente, por el extracto.

MCM2	5.3E-05	SEMA3B	0.075	OPRD1	0.151	CALCR	0.232	CP	0.317	AKT3	0.390
TSHR	0.001	PSMD7	0.075	MATR3	0.151	OGG1	0.232	DDX26	0.318	IFNG	0.393
GRB14	0.002	EGFR	0.078	PHEMX	0.154	HSPC12	0.235	TEAD4	0.319	RGL2	0.397
CFTR	0.003	TUSC2	0.080	SULT4A	0.159	TNF	0.235	RGS2	0.319	MYB	0.402
SCARA3	0.004	ABCC2	0.080	GSTM3	0.161	GAS1	0.236	C16orf3	0.320	IL6	0.403
FZD7	0.004	CDC25A	0.080	PLAT	0.161	RPL26	0.236	ERCC5	0.321	CDK3	0.405
GSTM1	0.006	PDGFA	0.080	TBXA2R	0.163	CD59	0.239	RPL9	0.322	PTGIS	0.407
EP300	0.011	DLEC1	0.083	MSMB	0.163	IAPP	0.240	GRN	0.322	C1QL1	0.407
SLC29A2	0.014	MYO1A	0.083	MYL9	0.164	SEMA3F	0.241	PICALM	0.322	MTHFR	0.409
GSN	0.014	SERPINB	0.086	PDCD5	0.165	APEX1	0.242	HPR	0.322	PLA2G1	0.409
LUZP4	0.016	NOX1	0.088	NEK2	0.167	BTC	0.243	WTAP	0.322	ALDH1A	0.411
KLRG1	0.016	CALCA	0.090	KLK5	0.168	PBX3	0.243	SERPINI	0.325	CYP11A1	0.412
TAF1	0.020	BRIP1	0.091	TSC1	0.169	SHH	0.244	PRG2	0.327	MPM1	0.416
CA12	0.023	GPR143	0.091	RNF139	0.169	VIPR1	0.244	HSPB1	0.329	POLD1	0.417
DPAGT1	0.023	LIG3	0.093	SHC1	0.169	PPP2CZ	0.245	RAB31	0.329	WAS	0.418
BC-2	0.025	TNFAIP6	0.095	PRKDC	0.173	CD19	0.248	CCL4	0.333	SMAD3	0.419
LGALS	0.026	DAPP1	0.095	MUC17	0.174	APXL	0.249	CDH3	0.334	RGS4	0.420
ELAVL4	0.029	PRKAR1	0.095	TINF2	0.176	PIK3CG	0.250	C6.1A	0.335	ARTS-1	0.421
TIF1	0.029	MRAS	0.096	VAMP5	0.178	CHS1	0.251	SERPIN	0.339	MMP10	0.423
POLK	0.030	ABL2	0.097	CA1	0.182	CD81	0.253	PTH	0.339	CDK6	0.423
IFNGR1	0.030	IFNA6	0.098	PIK3CA	0.182	TNFRSF	0.258	HOXC6	0.340	LCN2	0.423
PTCH	0.033	PTGS2	0.099	RAB7L1	0.183	GRIN2D	0.259	MEIS1	0.342	DYRK1A	0.424
GLI3	0.034	CBLC	0.102	HLA-E	0.186	DNAJC3	0.260	ISG20	0.343	APOBEC	0.425
RIPK3	0.036	DACH1	0.102	M17S2	0.187	VPS16	0.261	PRNP	0.344	TYROBP	0.426
ARCN1	0.037	PSTPIP2	0.103	NKX3-1	0.188	AADAC	0.262	SKIL	0.345	GBAS	0.426
RPS15	0.038	HSD17B	0.103	M11S1	0.189	FLT3	0.262	WT1	0.345	DFKB1	0.430
SCGB2A	0.039	BMI1	0.103	IL4	0.189	TNFRSF	0.262	SIAT8B	0.346	RPS19	0.432
HCA112	0.040	CRABP1	0.106	METAP2	0.191	PIGQ	0.266	TPR	0.347	HDAC1	0.433
EPHA1	0.041	SS18	0.107	SF1	0.191	HLA-DQ	0.267	AMD1	0.349	SELBP1	0.433
SSRP1	0.041	CYP27A	0.108	PRDM16	0.192	MGAM	0.268	CHC1	0.351	CNA13	0.433
BCAR3	0.041	ATF1	0.109	ITGB6	0.195	FANCG	0.268	SVIL	0.351	CDC2	0.434
MOS	0.042	LHCGR	0.110	KLK10	0.196	BARD1	0.269	OSR1	0.352	PES1	0.435
ACTR3	0.045	RPL15	0.112	SERPINB	0.198	GZMM	0.273	SLC1A5	0.354	MAPT	0.437
ITGA3	0.046	KLHL4	0.113	FUT8	0.201	TNFSF5	0.281	LOC559	0.356	FOLR1	0.437
TNFRSF10	0.046	KRT9	0.114	RAS	0.204	ELF5	0.283	MLLT4	0.361	RAB6A	0.437
FAU	0.046	PIM1	0.117	DEK	0.205	EXT2	0.283	MITF	0.367	RPL5	0.439
CYB561	0.049	PTTG1	0.119	CD47	0.208	ADRB2	0.285	TLE1	0.368	RPL22	0.439
PGBD3	0.049	VAV3	0.122	TNFAIP2	0.209	MAGEA1	0.288	PAX7	0.371	ACOX1	0.440
IL18	0.050	ASK	0.122	ACTA2	0.209	PNUTL2	0.289	PIAS1	0.372	FOXK2	0.442
BAP1	0.051	FANCC	0.123	TNFSF9	0.212	TBX2	0.291	EIF4G1	0.372	NEO1	0.445
ANKRD1	0.054	CDH7	0.124	PPY	0.212	RALA	0.291	AKAP13	0.372	BAI1	0.445
PRKCSH	0.054	SEL1L	0.131	TCEAL1	0.213	C6orf210	0.292	MSH6	0.373	EPO	0.445
BLMH	0.054	UBE1L	0.131	JUNB	0.214	MAPK9	0.292	MLF2	0.374	FLJ1265	0.447
STAT3	0.055	EDG6	0.132	RTN1	0.214	TLX3	0.293	GSTP1	0.375	EZH2	0.448
FAIM2	0.055	GPA33	0.135	BNIP3L	0.216	WRN	0.296	HGF	0.375	CACNB2	0.451
WNT2B	0.059	TNFSF4	0.136	SYK	0.216	TRIM25	0.297	PRKR	0.378	GSTO1	0.451
ERG	0.059	OS-9	0.138	CD164L1	0.218	IKBK	0.300	EI24	0.383	VIL2	0.453
FOXM1	0.062	BRS3	0.138	SLC2A8	0.220	BRAP	0.304	PPIE	0.383	LAPTM5	0.454
GNG11	0.062	SDCBP	0.139	MC1R	0.220	CXCR4	0.304	STX6	0.384	BLR1	0.454
COPZ1	0.064	PPP2R1	0.139	BRF1	0.221	EVI2B	0.308	LCP1	0.384	CA9	0.456
DNMT1	0.064	RELA	0.141	TM4SF5	0.222	NKX2-8	0.309	TACC1	0.384	IFNW1	0.457
CCDC6	0.067	PABPC1	0.141	RAN	0.223	LYZ	0.309	ALK	0.385	SLC35E3	0.458
CD151	0.072	VDR	0.142	CSF1R	0.225	TG	0.310	IL21R	0.386	PDCD6	0.459
AGC1	0.072	FAT	0.143	FGR	0.226	APAF1	0.312	S100A2	0.386	MAGEA4	0.460
IL8	0.072	TYMS	0.144	CTNNAL	0.228	VSNL1	0.313	MLH1	0.389	PPP1CA	0.460
BCL3	0.074	NME3	0.150	CEBPA	0.229	MAPRE1	0.316	ABCB8	0.389	CEBPD	0.460
BAX	0.074	SERPINA	0.151	MPZ	0.232	EBAG9	0.316	PRRX1	0.389	TAP1	0.461

KNTC2	0.461	MADD	0.576	SE57-1	0.712	GMPS	0.867	TERF2IP	1.047	ADAMTS	1.288
CD44	0.462	LOC220	0.577	CHST6	0.714	PPARBP	0.867	HTATIP2	1.048	KIF1C	1.289
IL11	0.463	PPP4C	0.579	WISP1	0.715	MSF	0.869	RECK	1.050	DCDC2	1.290
MMP8	0.463	PBX2	0.580	BCAS1	0.716	HIF1A	0.869	RIMS3	1.053	MSH2	1.300
MAD1L1	0.464	SLC20A1	0.588	NUDT6	0.716	TOP2A	0.872	USH2A	1.053	EGFL6	1.300
IGFBP5	0.464	TAF10	0.589	PTPRJ	0.718	EVI2A	0.874	MAS1	1.054	LOC6392	1.313
AMFR	0.468	XRCC3	0.589	CDH13	0.718	ZNHIT2	0.886	DDB2	1.055	SIAT8A	1.315
RPL6	0.469	ZNFN1A	0.594	SLC2A1	0.724	ACVRL1	0.894	XDH	1.057	SPARC	1.321
XPA	0.470	RBL2	0.594	ALAS2	0.730	BCL6	0.894	FY	1.061	ADAMTS	1.324
MAD2L2	0.470	MINPP1	0.595	ACTA1	0.734	COX7A2L	0.901	ID3	1.066	TIMP2	1.327
ARHGDI	0.479	PITX2	0.597	ABCB10	0.735	LRRFIP1	0.905	FAP	1.072	AIM2	1.332
ANP32D	0.480	PRDX6	0.597	CTSH	0.738	RTDR1	0.906	GAS7	1.077	TPMT	1.333
HSPA5B	0.482	ENO1	0.598	CD74	0.739	ETV4	0.908	HIST1H4I1	1.081	CDKN2B	1.342
LY6E	0.482	VHL	0.600	ADAMTS	0.741	FLJ3850	0.912	ENDOGL	1.086	ACO1	1.346
ULBP2	0.483	RCV1	0.601	IL1RN	0.747	CD34	0.912	IL24	1.088	BCL2L1	1.347
FOXO1A	0.484	MMP16	0.601	C13orf10	0.748	ANXA2	0.913	DCC	1.097	SLC3A2	1.348
UBE2N	0.484	CACNA1	0.601	MSH4	0.757	LECT2	0.915	XPR1	1.104	ABL2	1.355
CASP8	0.485	FZD4	0.603	ST14	0.758	SRY	0.916	F9	1.104	ADSL	1.357
DLG3	0.488	SSX1	0.604	PIGB	0.763	MYBL1	0.918	CD9	1.108	C1orf10	1.366
APRIN	0.490	XRCC1	0.609	B2M	0.764	ELL	0.920	RPS6	1.124	SLC3A2	1.374
MAF	0.491	CBS	0.609	MMD	0.765	C9orf78	0.920	PILRA	1.125	CITED2	1.377
MYH2	0.491	EDG7	0.615	HIP1	0.765	ITPA	0.920	USP32	1.127	TP53	1.380
TNFRSF	0.493	XRCC4	0.618	C1QB	0.766	PDE4A	0.921	ASNA1	1.127	NTRK2	1.382
SPOCK	0.496	TYRO3	0.620	SART1	0.770	PLAG1	0.926	RLF	1.128	EDG4	1.384
TCF7	0.496	RPLP1	0.621	CAV1	0.771	FANCA	0.931	CD38	1.130	BIN2	1.386
TEAD2	0.496	RPL21	0.622	PLK1	0.771	CTNND1	0.934	ANGPT2	1.134	SPG7	1.405
MDS1	0.498	RAB5C	0.625	OTC	0.772	RPL39L	0.939	SARDH	1.134	MYCN	1.413
CDK2AP	0.499	NQO1	0.626	SSTR1	0.776	MBD4	0.941	KIF2	1.136	TIMP4	1.428
DSP	0.502	GHRH	0.628	CXCL14	0.778	ITPKA	0.946	RPL28	1.138	PRKWINK	1.432
CBFA2T2	0.504	SOCS6	0.629	SSX3	0.778	VAR52	0.952	HSPA1A	1.143	MAZ	1.439
CD80	0.505	TLE3	0.629	FABP3	0.783	KIF20A	0.953	HFE	1.143	SET	1.439
CCND2	0.507	MC2R	0.632	CTSO	0.783	NME4	0.956	WIT-1	1.153	PPARG	1.440
FAH	0.507	C21orf7	0.633	GLTSCR	0.786	MSLN	0.957	TFAP2B	1.153	SMAD2	1.443
RAB33A	0.510	CD14	0.633	ATP7B	0.786	CDH17	0.959	LRMP	1.155	TNFRSF	1.445
STEAP	0.511	S100A4	0.633	HMGA1	0.789	RARA	0.961	MYST3	1.161	NBS1	1.452
NUMA1	0.512	MAP17	0.634	PCOLN3	0.790	DAPK1	0.967	CEACAM1	1.161	LIG1	1.454
TPO	0.514	MAN2A1	0.639	CNN1	0.791	HRK	0.967	CDC42S	1.162	PRDX2	1.455
ASCL1	0.515	ACTB	0.643	PCTK1	0.792	POLB	0.969	PSG5	1.166	BRD2	1.456
RAB32	0.516	ABCA3	0.646	TFF2	0.792	IFNA21	0.971	CFLAR	1.168	ENPP1	1.456
BRD1	0.518	NR0B1	0.647	FANCE	0.792	FGF8	0.981	BIN1	1.168	PTPRR	1.459
APC	0.519	DAB2	0.648	TNFSF15	0.793	BUB1B	0.985	TSN	1.172	XYLB	1.472
MTRF1	0.520	TCL1A	0.649	TRPM5	0.793	ADAMTS	0.987	FMR1	1.173	RREB1	1.479
DUSP6	0.520	BAG4	0.652	C9	0.795	GPR56	0.987	WFDC1	1.181	SLC22A4	1.483
DLG1	0.523	AF5Q31	0.652	MLLT10	0.796	BPHL	0.987	ULBP3	1.181	PGF	1.485
ANXA8	0.523	FABP5	0.653	IFNA14	0.802	LIFR	0.990	MMP2	1.190	TNFAIP1	1.486
PDZRN4	0.524	MSX1	0.655	GGTL4	0.807	PARP1	0.990	HMGB1	1.193	TRPM1	1.490
RAD54L	0.525	RAD17	0.663	TNFSF14	0.808	ALOX12	0.994	CST6	1.196	RASA1	1.498
HOXA5	0.534	BCL2	0.664	PSG1	0.808	GRAP2	0.995	BAD	1.199	TP73	1.510
NESG1	0.537	PSG3	0.667	RAB28	0.814	FEZ1	0.998	FADD	1.202	ULBP1	1.515
THBS2	0.541	PPP2R4	0.668	PAH	0.816	CALCA	0.998	NR2E1	1.203	CDKN1B	1.519
YY1	0.541	ATP6V1B0	0.674	CYB561	0.819	MCPH1	1.004	BMP7	1.205	IL12A	1.534
RUNX2	0.541	IL2	0.678	EPHA8	0.819	MFHAS1	1.004	CTAG2	1.211	TUSC4	1.538
PFKFB3	0.543	SIGLEC5	0.680	NDP	0.819	BCL7A	1.005	TACSTD	1.213	SIAT7F	1.549
SNRPD3	0.543	HYAL1	0.682	C14orf11	0.825	FGL1	1.007	MARK3	1.217	IGF2R	1.562
NAGA	0.545	SIRT1	0.682	KLK13	0.828	SIRT2	1.013	NEF3	1.228	BDNF	1.564
RPL13	0.547	CD160	0.683	MAGEC1	0.831	1-Dec	1.013	GSPT2	1.234	HDAC5	1.583
TEP1	0.548	SLC37A4	0.684	CCR2	0.831	HMBS	1.018	HAS1	1.240	RABIF	1.590
VBP1	0.548	ALDH9A	0.689	TM4SF160	0.833	RECQL	1.024	TNFRSF	1.241	RAD51L1	1.597
CSF3R	0.549	MPO	0.690	CLC	0.835	LASS2	1.026	RPS3	1.242	AK1	1.604
CDK7	0.554	SLC13A4	0.696	TERF1	0.835	LU	1.027	WNT10B	1.243	ABCB4	1.608
ANXA7	0.555	STK11	0.699	PRKACG	0.837	POLR2J2	1.027	CPNE7	1.246	FANCF	1.611
MAPKAP	0.562	PAP	0.700	VIM	0.839	P2RY2	1.029	RARRES1	1.247	ADAM17	1.620
DKC1	0.562	SMAD4	0.700	SKI	0.841	MAFK	1.031	SERPINB1	1.254	XRCC2	1.621
ZFP36	0.565	FLI1	0.701	TNFRSF	0.842	NDRG2	1.032	UCHL1	1.262	NP	1.626
MUTYH	0.567	SUMO1	0.702	RABGGT	0.849	DDIT3	1.033	TNFRSF	1.263	PLEK	1.629
CDA	0.568	GRB7	0.702	SLC43A1	0.851	EIF1AX	1.034	DUT	1.275	GRP19	1.635
CEP1	0.571	OCA2	0.703	ATP8B1	0.857	FASN	1.036	FGF12	1.275	BRC1	1.648
GML	0.573	PLK4	0.704	TFEC	0.858	HRB	1.036	CEACAM1	1.277	VILL	1.653
MAGEB1	0.573	HK2	0.708	AIP	0.859	KRT19	1.037	PRKCH	1.279	ITGB8	1.661
CD3G	0.575	SYT1	0.709	HSD17B	0.866	ZNF6	1.040	PTPN1	1.288	ITGB3	1.662

DUSP3	1.663	STAG1	1.747	CYP7B1	1.875	BCAN	2.002	TERF1	2.310	PNUTL1	2.700
TSC2	1.669	IFNA8	1.758	TP53I3	1.890	ABCC6	2.019	PCM1	2.357	FLJ1102	2.840
IGF1	1.670	JUND	1.759	TNFRSF	1.901	CDH2	2.021	ISLR	2.358	ABCC3	2.877
CRISP3	1.674	TNFAIP3	1.765	RAB10	1.903	RAD50	2.052	RAB1A	2.366	HLF	2.885
TIMP1	1.682	NUDT1	1.767	TIE	1.908	SSPN	2.053	EIF3S6	2.382	UMPS	2.889
IL9R	1.683	SLC7A1	1.771	ASPH	1.912	PDPK1	2.068	RALB	2.413	ACVR1B	2.939
HRAS	1.685	CD5	1.803	EIF4B	1.914	IGSF4	2.073	TAGLN	2.421	IGFBP6	2.984
RPS12	1.686	SP100	1.812	TPD52	1.935	GCNT3	2.095	TACC3	2.459	MSH3	2.995
CHRNA4	1.697	IGF2	1.813	S100A5	1.938	DPM2	2.111	NOL4	2.498	CLCA4	3.124
ALPPL2	1.704	PTPRO	1.830	VAV1	1.944	CDH15	2.149	THRSP	2.528	AKAP12	3.130
G1P3	1.711	ADAMTS	1.840	PRKCZ	1.945	RFP2	2.171	SMARCB1	2.548	PTCH2	3.144
COL3A1	1.711	PTTG1IP	1.843	THRB	1.975	AXL	2.177	RAB38	2.570	CUL2	3.174
LRP1B	1.727	UGCG	1.851	LIG4	1.978	NOTCH2	2.238	PTPRU	2.575	RAB22A	3.255
DPEP1	1.735	NEK4	1.852	DES	1.985	STAT5B	2.244	NME2	2.652	GLI	3.449
CYP2A6	1.740	MBP	1.864	RPL27A	1.988	ERCC4	2.258	EPX	2.654	MMP14	3.587
FGFR2	1.742	VEGF	1.869	RAB8A	1.989	IL5	2.306	DCT	2.680	ETV7	3.748
STMN2	4.222										

Anexo 15.5.1 Genes regulados negativamente en la línea MCF-7

Los resultados obtenidos a partir del análisis de microarreglos para la línea celular MCF-7 mostraron 918 fueron regulados negativamente por acción del extracto.

TFG	-3.915	HMG20B	-1.966	JTB	-1.621	IL1B	-1.464	WFDC2	-1.314	BLM	-1.153
OR3A1	-2.761	ANXA1	-1.942	FOS	-1.617	MPL	-1.461	NAPSA	-1.308	FUBP1	-1.150
MS4A1	-2.740	CYP4A11	-1.924	RB1	-1.611	FOSB	-1.457	TM4SF3	-1.296	SIRT4	-1.145
KIF22	-2.737	ERCC3	-1.911	ELAC2	-1.611	YES1	-1.452	MAGEA2	-1.281	FAM14A	-1.145
ID1	-2.627	NF1	-1.876	NR2C2	-1.611	TPD52L2	-1.450	AURKB	-1.276	ZNF217	-1.142
FGF3	-2.611	SLC22A3	-1.860	PLCB3	-1.608	TFAP2C	-1.441	DSG2	-1.275	FSTL3	-1.142
TOP3B	-2.601	PSD	-1.858	GLI2	-1.591	GNB2	-1.432	CTTN	-1.270	BRCA1	-1.138
DAP3	-2.590	LBX1	-1.858	CRIP2	-1.586	NEFH	-1.427	G22P1	-1.267	PSORS1	-1.136
CKB	-2.587	HSD17B	-1.838	APOA1	-1.581	CDC23	-1.426	ACAD9	-1.263	TIAM1	-1.135
TIMP3	-2.484	PTPN13	-1.832	DEFA3	-1.579	APS	-1.421	PLS1	-1.246	PGR	-1.128
MTAP	-2.477	ORC5L	-1.826	NFIB	-1.578	SH3GL1	-1.417	COL4A2	-1.243	PRDM1	-1.116
SLC4A7	-2.465	PAK1	-1.820	PBX1	-1.574	CDH2	-1.414	TACC2	-1.242	UBE2V1	-1.116
TNKS	-2.456	ZNF71	-1.818	SERPINB1	-1.573	CDK8	-1.414	ATF4	-1.234	SLC29A3	-1.114
CCL8	-2.432	RAD54B	-1.811	TEK	-1.555	FGFR3	-1.409	CSF2RB	-1.225	CTAGE5	-1.111
RAB3A	-2.421	GSTA4	-1.807	RAD23A	-1.550	TGFBR2	-1.407	ZNF146	-1.224	EPHB4	-1.111
GIPR	-2.379	CD99	-1.798	FGF20	-1.550	PRTN3	-1.405	HDAC3	-1.219	SCO2	-1.101
IFNA5	-2.365	MAP2K3	-1.784	INHA	-1.550	POMC	-1.401	PRCC	-1.212	GOLGA3	-1.101
NCOA6	-2.279	DPH2L1	-1.765	IL11RA	-1.544	MATK	-1.397	FCGR2A	-1.208	HHX	-1.097
ZNF278	-2.240	RABL2B	-1.748	C11orf13	-1.531	ASIP	-1.395	HR	-1.204	IFNAR2	-1.096
PAX8	-2.233	RPS29	-1.745	FOSL1	-1.526	LAMB1	-1.387	SERPINB1	-1.200	BRAF	-1.088
CTSL2	-2.200	KLK6	-1.740	CHN1	-1.525	DPYD	-1.385	LMOD1	-1.199	MAPK1	-1.088
NR4A3	-2.169	SERPINC1	-1.738	BIRC5	-1.520	HGF	-1.384	NR5A1	-1.193	SRC	-1.081
FSHR	-2.155	CYP11B1	-1.736	FER	-1.519	RPS23	-1.382	HDAC2	-1.191	GRPR	-1.075
RPS16	-2.152	CBR1	-1.718	TCF7L2	-1.515	BCL2	-1.373	CDC42B	-1.189	TRAF4	-1.074
HCK	-2.129	SFTPB	-1.710	MMP3	-1.512	CNN3	-1.372	NDN	-1.186	ITGA7	-1.073
CKK	-2.098	RBP1	-1.688	TFF3	-1.509	NOTCH3	-1.369	BECN1	-1.183	SMAD5	-1.071
TOPBP1	-2.097	IL13	-1.675	TPM2	-1.502	PPM1D	-1.363	BRCA2	-1.183	RFX1	-1.071
HHAT	-2.086	VPREB1	-1.664	GGH	-1.496	RAB3D	-1.359	XPC	-1.179	MS4A12	-1.069
MAGED1	-2.064	CTDSP2	-1.662	MUC13	-1.494	PART1	-1.358	RAD18	-1.175	CYR61	-1.064
MAP3K10	-2.061	ABCC5	-1.661	LIG3	-1.488	HPSE	-1.352	SERPIN	-1.170	SIL	-1.061
PLAGL1	-2.043	CCCL12	-1.656	TOPORS	-1.485	COPEB	-1.350	PCNA	-1.170	NR1D1	-1.057
F2RL3	-2.029	C5	-1.647	SLC12A2	-1.485	SIAT9	-1.335	IGFBP7	-1.166	PSG7	-1.056
SURF1	-2.014	COMT	-1.637	CKN1	-1.484	TCFL1	-1.335	TF	-1.163	PTPRC	-1.054
ABO	-2.014	INA	-1.636	TOP2B	-1.481	GAPD	-1.329	HPS1	-1.161	TOP3A	-1.053
RHOF	-2.005	FUSIP1	-1.636	PVRL2	-1.479	GAS8	-1.328	MGAT4A	-1.161	TLE2	-1.053
VTN	-1.981	MGMT	-1.628	STUB1	-1.474	LYN	-1.325	LZTS1	-1.159	NTRK1	-1.051
GLA	-1.974	CREB1	-1.625	MAGEA1	-1.472	VAT1	-1.317	CD1D	-1.155	PDGFRA	-1.046

CYP2E1	-1.045	SCARB2	-0.873	C2	-0.762	EREGL	-0.657	NINJ1	-0.567	HOXA10	-0.464
LIMK2	-1.044	ADRA1B	-0.873	RAB6B	-0.761	PNMA3	-0.655	VEGFB	-0.564	RAD1	-0.464
JARID1B	-1.044	LEF1	-0.872	RELB	-0.759	CXCL6	-0.651	TNNI2	-0.560	MAX	-0.462
XRCC5	-1.043	FGFR1	-0.871	ABCC4	-0.756	DMD	-0.650	FSCN1	-0.560	PDGFB	-0.461
CST7	-1.036	NHLH1	-0.871	FMR2	-0.755	CSF2	-0.649	KLK7	-0.559	GAGE5	-0.461
LGALS7	-1.033	SPINT1	-0.870	MST1R	-0.753	ELAVL3	-0.646	AF1Q	-0.555	CRYBA1	-0.460
ERCC1	-1.030	CCM1	-0.866	EIF2B5	-0.753	RAP2A	-0.646	HTLF	-0.555	TRA@	-0.459
NCR1	-1.028	PTK7	-0.866	BCL10	-0.752	MRE11A	-0.646	TM4SF2	-0.555	CREBBP	-0.459
MAP4K2	-1.027	MEN1	-0.866	MLANA	-0.748	PLOD2	-0.645	CTAG1B	-0.554	LIF	-0.458
PPARD	-1.025	ABI1	-0.863	BTG1	-0.748	MTA1	-0.644	IFRD2	-0.553	C14orf1	-0.457
RNPC2	-1.021	TGFA	-0.863	RET	-0.746	LHB	-0.644	PRDX3	-0.553	MGAT4B	-0.454
ITPR2	-1.019	SLC26A2	-0.860	RAB11A	-0.744	CXCL10	-0.643	HDAC8	-0.552	IFNB1	-0.453
TPD52L1	-1.016	SPINK1	-0.860	HYAL3	-0.741	TM4SF7	-0.641	RPN2	-0.552	MLLT3	-0.451
APG5L	-1.013	NR3C1	-0.859	HBD	-0.739	RPS5	-0.637	TCEA1	-0.550	GPR18	-0.450
LHX1	-1.010	CTSF	-0.858	ZNF91	-0.739	OSM	-0.636	IL8RA	-0.549	ACHE	-0.449
DNM1	-1.009	LTF	-0.855	OPTN	-0.738	RAB5B	-0.636	GAGEC1	-0.549	RAB3B	-0.449
SERPINB1	-1.008	ERBB4	-0.854	G6PC	-0.738	ELK1	-0.635	CTSL	-0.547	TRIM33	-0.448
PTEN	-1.006	TFRC	-0.850	TNFSF6	-0.737	RHBDL1	-0.634	NCK1	-0.547	K-ALPHA	-0.448
MAT1A	-0.991	MAPKAP	-0.849	CXCR3	-0.737	PXN	-0.633	MAGEB2	-0.547	MSH5	-0.447
MN1	-0.987	AVPR1B	-0.845	TDE1	-0.736	MAFF	-0.632	DDX6	-0.546	PSG11	-0.446
BACE2	-0.987	HRG	-0.844	CYP4B1	-0.736	BTK	-0.630	SNCB	-0.545	RORB	-0.445
OCIAD1	-0.981	SCGF	-0.843	RAB27A	-0.735	GNA12	-0.629	SEMA3C	-0.543	DMBT1	-0.444
SART3	-0.979	COL7A1	-0.843	AREG	-0.735	COL1A2	-0.627	AKT2	-0.540	BASP1	-0.442
ARMET	-0.978	NOVA2	-0.842	CDKN1A	-0.734	GLB1	-0.625	NCF2	-0.539	PTPRF	-0.441
RAI3	-0.973	STK6	-0.842	MGC124	-0.734	COL4A6	-0.621	RAB23	-0.537	PCDH7	-0.441
FRAT1	-0.972	TSPAN1	-0.840	DBC1	-0.733	RAG1	-0.621	RRAS2	-0.535	CD3D	-0.440
YWHAE	-0.972	PHLDA2	-0.839	TRA	-0.732	ABCC1	-0.618	PTGES	-0.533	THPO	-0.439
REG1A	-0.971	CD6	-0.839	ARNT	-0.732	CTSK	-0.615	CDC25B	-0.531	DNMT3A	-0.438
C5orf4	-0.965	RAF1	-0.838	AQP1	-0.732	LIMD1	-0.615	POU2AF	-0.529	MBD2	-0.436
STAT1	-0.954	DHRS9	-0.836	SOCS1	-0.730	TRPA1	-0.611	FEN1	-0.528	CCNA2	-0.435
NF2	-0.948	NGFR	-0.833	PPP2R5	-0.728	CBL	-0.610	ICT1	-0.527	PML	-0.434
PRDM10	-0.945	GSTM5	-0.833	TRA1	-0.728	DSC3	-0.608	G1P3	-0.526	USP4	-0.431
TERF2	-0.943	S100A3	-0.832	TNFSF8	-0.726	TM4SF1	-0.607	TFPI2	-0.524	MEST	-0.431
BRDT	-0.943	SSTR2	-0.831	UBL3	-0.725	ENC1	-0.606	TM7SF3	-0.523	TK1	-0.430
SLC20A2	-0.943	CYP2C1	-0.830	STAR	-0.724	ETS2	-0.606	SAFB	-0.522	GH2	-0.428
CLNS1A	-0.942	PLAC8	-0.829	PTPRN2	-0.724	MVP	-0.604	QPCT	-0.522	GNAS	-0.428
MLLT6	-0.940	TNFRSF	-0.827	MCF2	-0.721	ICAM2	-0.603	TAL1	-0.520	SIRT5	-0.426
ABL1	-0.937	AGER	-0.827	FGFR4	-0.719	FOXG1B	-0.603	CYP19A1	-0.519	MAGEB3	-0.425
FES	-0.933	CDSN	-0.825	ERBB3	-0.719	ATM	-0.601	ENG	-0.515	FUS	-0.425
GATM	-0.929	RAB4A	-0.823	RUNX1	-0.717	ROS1	-0.599	CTBP1	-0.515	AGT	-0.424
ACTR1A	-0.921	ITPR3	-0.820	TSSC4	-0.715	IFNA1	-0.599	JUP	-0.515	MGAT3	-0.423
RARB	-0.918	BCAR1	-0.819	NCF1	-0.714	NDUFV1	-0.598	PDE1B	-0.513	CCNE1	-0.423
NFKBIA	-0.917	FOXH1	-0.819	MAP2K1	-0.713	FGF2	-0.597	VAV2	-0.512	MRPL28	-0.422
P2RX1	-0.912	CDH5	-0.817	CDK4	-0.711	MUC2	-0.595	MLL2	-0.510	IDL1	-0.419
PSEN1	-0.912	ERBB2	-0.814	LRP2	-0.709	NTHL1	-0.593	DFNA5	-0.508	SLC26A3	-0.418
PTGS1	-0.909	PTHR1	-0.810	KLK12	-0.709	PBOV1	-0.591	NBL1	-0.508	D8S2298	-0.416
OGN	-0.909	KIAA116	-0.809	GAL3ST1	-0.708	AHR	-0.589	TNFRSF	-0.508	AR	-0.416
C18orf8	-0.906	DF	-0.808	SAS	-0.706	TNFSF1	-0.588	BIRC6	-0.507	AKAP1	-0.414
GH2	-0.901	APEH	-0.807	SPINT2	-0.704	RAB26	-0.586	CDK2	-0.506	RNASEH	-0.413
RAB9A	-0.901	TOM1	-0.807	ARHGEF	-0.702	C3	-0.586	IER3	-0.506	ZNFX2	-0.412
BAMBI	-0.901	GALNT4	-0.806	PLCD1	-0.702	FHL2	-0.584	SOCS2	-0.504	CHD4	-0.411
DPP4	-0.896	MARS	-0.805	TAX1BP1	-0.702	DDX18	-0.583	MYBL2	-0.499	LMO1	-0.410
CDC25C	-0.896	MARCKS	-0.804	TRAP1	-0.702	PRSS1	-0.583	IL6ST	-0.497	MMP17	-0.409
RAB18	-0.894	CD24	-0.801	NFRKB	-0.694	CUTL1	-0.582	INS	-0.496	AGA	-0.408
ACADS	-0.893	CRH	-0.796	CD22	-0.693	EVPL	-0.582	DNTT	-0.494	TPX2	-0.407
COPE	-0.891	CSF1	-0.794	PKP2	-0.691	TCF2	-0.582	RAB13	-0.486	RPS9	-0.406
MAP3K7	-0.889	MALT1	-0.788	CDW52	-0.688	SFN	-0.579	PITPNA	-0.484	SPP1	-0.404
SACS	-0.888	CCNC	-0.788	GADD45	-0.688	IRF1	-0.579	CYP1A1	-0.481	SLC22A1	-0.399
GP9	-0.888	ST7	-0.787	LGALS4	-0.688	HUNK	-0.576	HRMT1L	-0.477	SMARCA	-0.393
CHFR	-0.888	MIF	-0.786	ZNF43	-0.684	GLTSCR	-0.575	PLP1	-0.475	IGFBP3	-0.392
BLCAP	-0.887	SOD1	-0.781	TACSTD	-0.684	CITED1	-0.574	ABCG2	-0.473	HSPA8	-0.391
POLH	-0.886	JAG2	-0.776	WASPIP	-0.683	DLK1	-0.573	USP11	-0.473	KIT	-0.391
DNMT3B	-0.885	IL3	-0.773	SLC6A20	-0.675	RBBP9	-0.571	HCA66	-0.471	POLR2B	-0.389
ANKHD1	-0.881	ST13	-0.771	CTSZ	-0.673	MLF1	-0.571	ID2	-0.470	WISP2	-0.388
PTPRG	-0.880	WVVOX	-0.768	CTDP1	-0.671	PRG1	-0.571	TCF12	-0.469	CYP2D6	-0.386
MAFG	-0.879	PTPN12	-0.767	HD	-0.670	DVL3	-0.571	PRLR	-0.468	TFF1	-0.385
CDR1	-0.878	DSG3	-0.765	CRKL	-0.668	SIX1	-0.571	CLU	-0.467	F2R	-0.383
SLC17A7	-0.877	CHES1	-0.763	NR6A1	-0.665	ARHGAP	-0.570	NRAS	-0.467	DOK1	-0.383
AVP	-0.875	MHC2TA	-0.763	GRB2	-0.665	NKTR	-0.568	B3GALT5	-0.466	ITGB4	-0.382
PKM2	-0.874	MST1	-0.762	MFI2	-0.662	NR4A1	-0.567	NDE1	-0.466	ELL2	-0.382

VAMP2	-0.378	EVI5	-0.309	RFC1	-0.235	ETV6	-0.174	TDG	-0.102	UGT2A1	-0.051
GFI1	-0.377	CEACAM	-0.309	MGAT5	-0.234	RAP1GD	-0.172	MXI1	-0.099	LENG4	-0.050
PLSCR1	-0.376	MYO5A	-0.305	NR2F1	-0.234	MYBBP1	-0.171	PMP22	-0.098	CD63	-0.049
NFKBIL1	-0.375	GRP	-0.300	TNFRSF	-0.232	RXRA	-0.168	FOLR3	-0.098	JUN	-0.048
NMI	-0.373	THY1	-0.294	APRT	-0.231	CTGF	-0.166	TRIP11	-0.097	LYL1	-0.045
GOLGA2	-0.372	CXCL9	-0.293	MFGE8	-0.230	SART2	-0.165	CRK	-0.097	UBQLN1	-0.045
CDH6	-0.372	FARSLA	-0.292	USP7	-0.228	RAB2	-0.163	PSG3	-0.097	PIGF	-0.043
CLK1	-0.371	CYBB	-0.291	ACY1	-0.227	IFIT3	-0.162	IQGAP1	-0.095	RAGE	-0.041
DSCR1L	-0.371	TFR2	-0.291	HEM1	-0.226	GPR68	-0.162	RAD51	-0.090	FRZB	-0.040
CXCL1	-0.369	LGALS1	-0.290	RPL38	-0.226	ZNF354A	-0.160	MMP11	-0.090	CCL7	-0.040
MCL1	-0.369	AKT1	-0.288	SERPIN	-0.225	RAP1B	-0.156	TSG101	-0.088	TLX1	-0.039
CASP1	-0.368	CSRP2	-0.287	OLFM1	-0.222	CHIC2	-0.154	GAGEB1	-0.087	STXBP1	-0.036
MAP3K8	-0.358	USP25	-0.286	GNE	-0.222	CSF2RA	-0.153	L1CAM	-0.087	GZMK	-0.036
CTSG	-0.357	GH1	-0.283	TFE3	-0.217	SLC26A4	-0.149	MEP1A	-0.087	B3GALT1	-0.034
NOL1	-0.355	ITGB1	-0.281	MCAM	-0.214	SPO11	-0.149	GPD1	-0.086	MDM2	-0.034
CA2	-0.350	RNASE4	-0.280	PMS1	-0.213	ETHE1	-0.148	EGR1	-0.085	TXF202	-0.033
EPHA3	-0.349	CDKN1C	-0.279	ETV1	-0.212	HLA-DRB	-0.148	CPB1	-0.084	DDX1	-0.031
PMS2	-0.349	RAB27B	-0.278	PIM2	-0.212	DULLAR	-0.147	NOS3	-0.083	AAMP	-0.028
SFTPC	-0.349	PDGFRL	-0.275	TGM4	-0.212	ITGA2B	-0.139	RPS8	-0.083	RFXPAP	-0.028
C1QA	-0.348	LAF4	-0.271	UTF1	-0.212	LDOC1	-0.134	BMPR1B	-0.083	PTHLH	-0.027
CHEK2	-0.347	PTGER4	-0.269	FUT3	-0.211	RAB30	-0.131	ING4	-0.079	EPHB2	-0.027
STS	-0.342	PRKCE	-0.268	FCER1A	-0.207	HIC1	-0.130	CAMK2A	-0.079	FYN	-0.026
ETS1	-0.341	ALOX15	-0.268	GCN5L2	-0.207	CD8B1	-0.130	DPF2	-0.078	SLC14A2	-0.026
IL22	-0.341	NFKB2	-0.266	FGF4	-0.206	IMPJ1	-0.130	CCNA1	-0.077	TPM3	-0.025
DKFZP56	-0.339	NEU2	-0.264	CDK10	-0.206	GTF2F2	-0.130	CDK9	-0.076	CYP24A1	-0.025
CD33	-0.338	HOXA9	-0.262	TNFRSF	-0.206	CYP21A2	-0.128	MT3	-0.073	BCAS2	-0.021
FXYD3	-0.338	SCGB2A	-0.262	ZNF45	-0.204	SNCG	-0.127	IL2RA	-0.073	TNFSF7	-0.020
GCC2	-0.338	AGPS	-0.261	TGFB1	-0.203	HLA-DRA	-0.124	EPHX1	-0.070	OSMR	-0.019
INSM1	-0.336	HIST1H3	-0.260	HSD17B	-0.203	GUK1	-0.123	FLJ2318	-0.070	COL1A1	-0.018
WNT1	-0.333	TAF15	-0.260	TNFRSF	-0.201	TP73L	-0.121	GPT	-0.067	PNMA1	-0.016
TNFRSF	-0.333	UNG	-0.260	MARK2	-0.194	AXIN2	-0.121	FVT1	-0.063	CASP10	-0.014
TCF4	-0.331	GJB2	-0.259	GTPBP1	-0.192	SCN9A	-0.120	LCK	-0.063	ZBTB16	-0.013
GSTA2	-0.330	MAGEC2	-0.256	EEF1G	-0.192	EIF4G2	-0.120	TNFSF18	-0.062	MLL	-0.013
OVOL1	-0.330	ARAF1	-0.254	GFI1B	-0.192	FLT4	-0.118	G6PD	-0.060	CXCL13	-0.013
SEPP1	-0.329	NR2F6	-0.250	DACT1	-0.191	NFE2	-0.117	RAB36	-0.060	TUBB5	-0.013
DLEU1	-0.328	TDGF1	-0.248	HGF	-0.191	EXT1	-0.116	HLA-B	-0.060	SH3BP2	-0.010
CYP1A2	-0.326	RAPGEF	-0.246	GNRHR	-0.188	TOP1	-0.115	DOC-1R	-0.059	CDH11	-0.005
IL9	-0.326	PTOV1	-0.245	RAB35	-0.184	KLK8	-0.113	IGFBP1	-0.058	IL26	-0.005
CAPS	-0.325	MYC	-0.245	IL13RA2	-0.183	MBL2	-0.112	MAGEB4	-0.057	EBI2	-0.005
S100A1	-0.324	ICSBP1	-0.245	HRMT1L	-0.183	SCD	-0.109	PLCL1	-0.057	ARHI	-0.004
FKSG2	-0.319	PADI4	-0.241	TYRP1	-0.182	BCL9	-0.108	TNFRSF	-0.056	SLC30A9	-0.004
SDC4	-0.317	LGALS3	-0.240	TCTEL1	-0.181	FZD6	-0.108	ACTG2	-0.055	PURA	-0.004
TNFRSF	-0.314	FRAP1	-0.240	APOE	-0.180	HYAL2	-0.108	ST5	-0.055	FCGR1A	-0.003
NOTCH4	-0.314	RSN	-0.239	B4GALT7	-0.179	AMPH	-0.106	ANPEP	-0.055	TNFSF10	-0.001
SLC33A1	-0.314	TGFB3	-0.237	SLC19A1	-0.177	DAG1	-0.104	RPL35A	-0.054	NAT1	-0.001
APP	-0.313	KAI1	-0.236	MAN2A2	-0.174	MVK	-0.102	FOLH1	-0.054	SRI	-0.001

Anexo 15.5.3 Genes regulados positivamente en la línea MDA-MB-231

Los resultados obtenidos a partir del análisis de microarreglos para la línea celular MDA-MB-231-7 mostraron 883 fueron regulados positivamente por acción del extracto.

HEM1	0.0003	HBD	0.048	BIN2	0.122	P2RY2	0.182	CYP1A1	0.249	S100A5	0.331
TNFRSF	0.001	EXT2	0.050	SMAD4	0.122	GRIN2D	0.183	TRIM25	0.249	RARA	0.334
AKT1	0.001	ELF5	0.050	PTGS2	0.123	TNFAIP6	0.184	TNFSF6	0.250	BCAS1	0.334
ACOX1	0.001	FZD6	0.053	COPZ1	0.124	ISLR	0.185	TNFSF140.251		CHD4	0.334
SIGLEC5	0.002	ING4	0.054	TFEC	0.125	GSTM1	0.185	ZFP36	0.256	CYBB	0.335
MSMB	0.003	PURA	0.055	AXIN2	0.132	TNFRSF	0.186	RPL35A	0.258	XRCC3	0.337
ZNF354A	0.003	MAP17	0.057	ERCC1	0.133	DLEU1	0.187	RPS8	0.259	HSD17B	0.338
ERCC4	0.005	TLX3	0.057	PRDX3	0.133	CD19	0.193	MMP16	0.262	RAB6B	0.338
FLJ126	0.007	PPP2CZ	0.058	M17S2	0.134	B3GALT	0.193	FABP5	0.265	BC-2	0.339
PIK3CA	0.007	LYZ	0.058	ETHE1	0.134	MAP3K8	0.195	HSPC12	0.266	BCL2	0.339
CYB561	0.009	VAV2	0.059	HRMT1L0.135		IFNA1	0.196	PPP2R5	0.266	ZNF45	0.340
MSF	0.010	SLC22A	0.060	CDH2	0.135	RPL22	0.197	HLA-DQ	0.266	MCPH1	0.341
CDW52	0.011	BRD1	0.063	BDNF	0.135	MSLN	0.197	SERPINE0.267		ERCC5	0.341
NFE2	0.011	DDX1	0.064	CD3D	0.136	EPO	0.197	MGC124	0.270	CD22	0.342
GTPBP1	0.012	PLK4	0.064	PDGFA	0.137	MSX1	0.198	MBL2	0.271	KLK10	0.342
NOL1	0.014	TRIP11	0.067	DEK	0.139	PHLDA2	0.200	GSN	0.273	ANXA8	0.343
FGFR4	0.014	TSC1	0.068	ABL2	0.140	FVT1	0.202	PIGF	0.282	RALA	0.344
PDCD6	0.015	MLLT10	0.070	RAP1GD	0.140	IQGAP1	0.205	CRK	0.283	BAI1	0.345
TNFSF1	0.016	HSD17B	0.072	MST1	0.140	CYP27A10.209		TNFRSF	0.285	ASK	0.346
MTRF1	0.016	AF5Q31	0.072	GF11	0.140	FANCG	0.209	ARAF1	0.285	TPM2	0.346
POLH	0.018	NDRG2	0.072	IL6	0.141	CALCR	0.211	NGFR	0.285	RAB27B	0.346
FCGR2A	0.020	TP53I3	0.075	YY1	0.141	HRB	0.212	BMI1	0.286	TM4SF160.348	
CDK9	0.020	CEP1	0.076	RNF139	0.142	TIE	0.213	ULBP2	0.286	MAN2A1	0.351
KLHL4	0.021	ST13	0.077	EPHA3	0.143	ANPEP	0.214	NME2	0.287	TYRP1	0.351
ITGA2B	0.021	CDH15	0.079	CDH11	0.143	BCL7A	0.215	ATP7B	0.289	RB1	0.351
TCFL1	0.023	GAS7	0.081	XRCC2	0.143	KRT9	0.216	GH2	0.290	PLS1	0.352
HIC1	0.023	ETV1	0.082	BRCA2	0.144	SCN9A	0.220	MYBL2	0.291	TIMP1	0.352
BAD	0.023	MGMT	0.083	STK6	0.144	DSG3	0.224	EDG4	0.294	ATP6V1	0.353
TP73L	0.025	ANP32D	0.084	HTATIP2	0.146	AHR	0.227	ITGB1	0.296	JUP	0.355
BCL2L1	0.025	PLEK	0.085	S100A2	0.148	TYROBP	0.228	EDG7	0.299	MRE11A	0.357
ASIP	0.026	PLAGL1	0.089	JUNB	0.149	TGFB1	0.228	PMP22	0.300	RAP1B	0.359
TRA1	0.027	EPHX1	0.089	CHS1	0.149	NR5A1	0.229	DLEC1	0.300	IL11	0.360
OVOL1	0.027	PTPRR	0.089	CDKN1C	0.154	TOPORS	0.229	PTPRU	0.301	GPD1	0.360
CEACAM0.029		DPAGT1	0.090	GAPD	0.154	FLI1	0.230	DBC1	0.302	FASN	0.361
JUND	0.029	LCK	0.090	ZNFN1A	0.154	RAG1	0.230	PTH	0.306	PPP1CA	0.361
OS-9	0.030	MSH4	0.092	PIK3CG	0.154	PBX3	0.230	TRA@	0.311	HDAC8	0.362
TPM3	0.031	SLC29A2	0.094	PARP1	0.157	GLI	0.230	EIF1AX	0.311	CD160	0.362
CP	0.032	DACH1	0.095	DSC3	0.158	CLNS1A	0.231	CYP24A	0.312	CYP1A2	0.363
GSTM3	0.034	HPR	0.095	BMP7	0.160	EDG6	0.232	NR6A1	0.313	GATM	0.363
MYO5A	0.036	PTGIS	0.101	CASP1	0.163	BLMH	0.233	ZNF217	0.315	NRAS	0.364
PTPRO	0.036	CEACAM0.102		SF1	0.166	DYRK1A	0.233	CA9	0.315	AVPR1B	0.367
NR2F1	0.036	CD74	0.103	BCAS2	0.167	DKC1	0.234	ST14	0.318	CAPS	0.368
ELL2	0.038	CHRN4	0.109	BRD2	0.167	BUB1B	0.236	SKIL	0.318	MAZ	0.369
PAX7	0.038	SEMA3B	0.109	TAGLN	0.167	FGR	0.237	RPL39L	0.319	PCDH7	0.369
PIAS1	0.038	RABL2B	0.109	CFTR	0.168	TF	0.237	IFNA6	0.320	RAB32	0.369
CXCR3	0.039	BIN1	0.110	RPS3	0.173	MLF1	0.240	IL22	0.323	CCR2	0.380
GPA33	0.039	C6orf210	0.112	PDGFRL	0.175	CCNA2	0.241	TPR	0.323	OSMR	0.381
APC	0.039	USP7	0.114	DCC	0.175	UBE2N	0.241	CD59	0.324	FY	0.381
CPB1	0.042	VAMP2	0.115	CRKL	0.175	BLR1	0.243	RAB2	0.325	RPLP1	0.384
LAF4	0.044	TLE3	0.117	NUMA1	0.178	GAS1	0.246	HLF	0.325	RUNX2	0.384
CCND2	0.045	GGTL4	0.119	TSHR	0.178	WAS	0.247	LU	0.328	MDM2	0.385
CA2	0.046	PAP	0.119	DACT1	0.178	ALOX12	0.247	RPN2	0.329	ALAS2	0.391
LAPTM5	0.047	CXCL9	0.120	MVP	0.180	ACAD9	0.247	SSX3	0.329	PPP2R4	0.392
OSM	0.048	AK1	0.120	GSTM5	0.182	MSH5	0.248	RAB35	0.330	MAGEC1	0.393

NKX3-1	0.393	GMPS	0.503	PPP2R1	0.607	ARHGDI	0.739	TPO	0.912	ASNA1	1.094
RORB	0.396	WRN	0.507	AGC1	0.611	MDS1	0.741	TOP3B	0.913	AR	1.097
NF2	0.397	SKI	0.508	KLK13	0.614	OPRD1	0.745	FEN1	0.920	FABP3	1.097
MBD4	0.398	GNRHR	0.514	HUNK	0.615	ALK	0.748	MFGE8	0.923	LCN2	1.100
IDI1	0.399	PNUTL2	0.515	TNFRSF	0.616	TNFRSF	0.748	VBP1	0.924	PIM2	1.108
CXCL1	0.399	IL12A	0.516	TPD52	0.618	OLFM1	0.752	RBL2	0.926	BNIP3L	1.108
TAF1	0.399	THRSP	0.517	FAH	0.618	ACVR1B	0.756	CBFA2T	0.926	FLJ23181.113	
FOXO1A	0.405	CD3G	0.517	JUN	0.620	EIF2B5	0.759	ARTS-1	0.929	GAGE5	1.117
RREB1	0.406	ARNT	0.517	TEAD4	0.624	CDR1	0.764	RAB8A	0.930	ALDH9A1.120	
ERBB4	0.407	SARDH	0.519	RGS4	0.624	WFDC1	0.765	FOXG1B	0.930	IER3	1.124
CD9	0.408	CRABP1	0.519	ANKRD1	0.625	NEF3	0.770	CITED2	0.935	TACC1	1.126
GBAS	0.412	THY1	0.520	MGAT4B	0.626	PIGQ	0.777	GNA13	0.935	ELAVL3	1.127
TNFAIP2	0.413	NME4	0.521	D8S2298	0.627	CDH17	0.779	PILRA	0.937	IL2	1.128
TINF2	0.414	WIT-1	0.523	ZNF6	0.629	MSH6	0.782	TPMT	0.943	EPX	1.129
IFNA21	0.414	ARHGAP0.524		PABPC1	0.630	CDKN1B	0.783	TNFRSF	0.945	CPNE7	1.133
PHEMX	0.417	SEL1L	0.525	CA1	0.631	M11S1	0.785	RAB38	0.947	PTPN1	1.135
IL5	0.419	TERF2IP	0.527	PSMD7	0.631	PKM2	0.791	MCF2	0.947	ABCA3	1.140
TFAP2B	0.419	SPP1	0.528	RLF	0.634	TOP2A	0.793	PML	0.951	NOTCH3	1.144
RAN	0.420	PSG3	0.530	PRNP	0.635	PNUTL1	0.796	SLC20A1	0.953	CACNB2	1.146
MAGEA1	0.420	SPOCK	0.530	LOC639	0.635	MYB	0.797	MPZ	0.953	FLJ3850	1.148
HSD17B	0.422	MMP2	0.534	F2R	0.640	GNG11	0.798	ABCC3	0.955	CYP11A	1.154
DNMT1	0.422	PLK1	0.535	TERF1	0.642	TAF10	0.800	DUSP6	0.955	HCA66	1.160
DMD	0.423	KIF1C	0.535	ABL1	0.643	RALB	0.802	NP	0.956	TNFRSF	1.161
GRB14	0.424	CCNE1	0.535	TNNI2	0.650	ITGA3	0.805	XYLB	0.958	MARK2	1.161
PTHLH	0.427	MINPP1	0.538	FZD4	0.650	GAGEC1	0.806	SIRT2	0.961	PRKCZ	1.163
MAPT	0.428	CDK2AP	0.539	IL26	0.652	HDAC1	0.806	PRKCH	0.963	ANXA2	1.172
MMP8	0.428	ULBP1	0.541	HMBS	0.653	TNFSF9	0.806	SOD1	0.969	C9	1.173
TM4SF5	0.429	NOL4	0.541	TNFRSF	0.654	SERPINO.807		TNFRSF	0.975	APXL	1.176
NR2E1	0.430	EPHA1	0.541	HGF	0.660	GPR19	0.809	PLAT	0.977	MMP14	1.181
COPE	0.430	XPA	0.543	MXI1	0.660	TNFAIP3	0.809	ZNHIT2	0.981	MAPK1	1.181
CD47	0.432	NOX1	0.547	APAF1	0.660	POMC	0.812	PDPK1	0.981	PBX2	1.183
BRCA1	0.434	CTSO	0.553	CEBPA	0.661	STAT3	0.812	COX7A2L	0.981	CDKN2B	1.188
ACTR3	0.435	SIAT8B	0.555	RAB31	0.663	RPL5	0.818	BACE2	0.983	LRMP	1.190
NFKBIA	0.436	ITGB3	0.557	TGM4	0.664	PVRL2	0.821	IGF2R	0.985	SLC7A1	1.193
STX6	0.437	PRKAR1	0.557	MFHAS1	0.666	ENPP1	0.828	GPR56	0.987	PES1	1.194
SHH	0.438	GLI3	0.558	FGFR2	0.669	BTC	0.829	RPL6	0.987	GTF2F2	1.201
CYP1B1	0.439	LRP1B	0.558	EPHB2	0.671	MYL9	0.834	ETS2	0.989	STK11	1.207
ARHI	0.441	MYCN	0.559	ABCC6	0.676	CYB561D	0.836	PNMA3	0.990	NTRK1	1.208
NFRKB	0.443	TACC3	0.559	MAGEA4	0.678	SNCG	0.839	B2M	0.992	RAB4A	1.218
HFE	0.445	EGR1	0.560	SHC1	0.682	SNRPD3	0.840	PRKDC	0.994	XRCC4	1.219
TG	0.445	ETS1	0.560	TYRO3	0.682	CTSH	0.841	VILL	0.998	SIAT7F	1.225
FANCC	0.445	APRT	0.562	AADAC	0.682	C16orf3	0.841	SLC1A5	1.000	HRK	1.226
CD44	0.446	CBL	0.565	DPM2	0.683	RPS29	0.846	IFNW1	1.007	CD5	1.241
NDE1	0.446	IL4	0.565	CDK7	0.684	SLC2A1	0.847	DAPK1	1.014	CDH13	1.241
RAB7L1	0.446	OTC	0.565	GSTP1	0.684	ACTB	0.853	UGCG	1.016	CBS	1.246
MLH1	0.447	NTHL1	0.570	GAGEB1	0.685	LGALS3	0.853	TNFSF5	1.019	WTAP	1.247
MYO1A	0.454	TNFRS	0.571	PTPRJ	0.686	FANCA	0.854	WNT10B	1.023	DUT	1.249
XRCC1	0.458	RPL9	0.571	AKAP12	0.686	MGAM	0.855	CDC42S	1.024	XDH	1.250
BCL6	0.458	S100A4	0.571	VHL	0.688	ITGB8	0.855	C14orf1	1.027	HDAC5	1.252
MCM2	0.459	TFE1	0.575	EPHB4	0.689	PFKFB3	0.857	NEO1	1.028	DDB2	1.256
PRDX2	0.460	MAGEA1	0.575	CNN1	0.692	OCA2	0.860	FOLR1	1.029	CSF1R	1.260
LIFR	0.460	RRAS2	0.576	NQO1	0.695	AXL	0.862	STAG1	1.032	MALT1	1.262
MARS	0.465	TRIM33	0.576	PRG2	0.702	RPL21	0.864	RGS2	1.033	SMAD3	1.263
DOK1	0.472	HPS1	0.577	BCAN	0.703	HSD17B	0.866	FGF8	1.033	NOTCH2	1.264
HIF1A	0.473	MAD1L1	0.577	IGFBP5	0.704	SERPINI	0.866	SDC4	1.036	OSR1	1.267
ACADS	0.478	MAD2L2	0.579	BRCA1	0.705	LIF	0.869	CST7	1.038	DCT	1.268
PGF	0.482	CXCR4	0.583	BAP1	0.706	NUDT6	0.872	RPL27A	1.046	FOSL1	1.274
ERBB2	0.482	HCA112	0.583	MADD	0.706	UBE1L	0.877	TRPM5	1.048	RARRES	1.283
SEPP1	0.483	DEFA3	0.583	TOP1	0.708	TFRC	0.878	BPHL	1.048	RPL13	1.286
L1CAM	0.484	RAD17	0.586	RABIF	0.712	PTCH2	0.881	FEZ1	1.051	LIG4	1.293
B3GALT	0.485	FRZB	0.586	ATP8B1	0.713	PAH	0.887	ADAMTS1.062		USP32	1.297
CEBPD	0.486	AGA	0.587	IAPP	0.715	RAB28	0.889	SERPINB1.065		RECK	1.297
DDIT3	0.489	CTSK	0.588	CDC2	0.717	RPS6	0.889	G1P3	1.067	CD38	1.302
TNFRSF	0.489	PIM1	0.590	VSNL1	0.727	HSPA5B	0.890	NBS1	1.072	MMD	1.303
ELAVL4	0.490	DLC1	0.590	PGBD3	0.727	SLC12A	0.891	TAP1	1.074	AIP	1.303
WISP2	0.492	PSG1	0.591	CA12	0.729	MGAT5	0.899	AIM2	1.076	CD164L1	1.304
SLC26A4	0.495	VARS2	0.593	CBR1	0.730	ANXA7	0.909	PPY	1.078	CACNA1	1.310
PITX2	0.495	HK2	0.601	TPD52L2	0.730	RAB1A	0.909	FAP	1.078	CD8B1	1.310
STMN2	0.498	AMFR	0.604	MGAT3	0.730	TNFSF100.910		ACO1	1.080	CD34	1.315
GLTSCR	0.500	LGALS7	0.604	THRB	0.733	IGSF4	0.910	LASS2	1.086	TP73	1.316

SLC3A2	1.318	DCDC2	1.454	RAB6A	1.661	CFLAR	1.847	HAS1	2.127	ETV7	2.641
UGT2A1	1.319	LIG3	1.454	F9	1.663	COL3A1	1.880	SLC43A1	2.140	CLCA4	2.659
C9orf78	1.321	MAPRE1	1.458	FLJ1102	1.664	RIMS3	1.882	IGF2	2.143	TUSC4	2.687
CASP8	1.325	ACY1	1.473	RAD50	1.669	MYST3	1.887	EVI5	2.149	CST6	2.693
CDK3	1.350	NESG1	1.490	DHRS9	1.671	IFNA14	1.896	TP53	2.193	SMARCB2	2.758
PRRX1	1.354	SPO11	1.493	EVI2A	1.685	EIF3S6	1.906	C1orf10	2.207	CUL2	2.778
MAPKAP1	1.356	CD80	1.513	DES	1.702	UMPS	1.908	CAV1	2.226	GCN5L2	2.813
NCF1	1.361	ADAM17	1.521	EPHA8	1.709	SLC20A2	1.922	CYP7B1	2.226	SMAD2	2.848
LOC22051	1.363	DAG1	1.526	SUMO1	1.712	MYBL1	1.924	IFNB1	2.232	DVL3	2.886
IL8	1.364	DPYD	1.527	VAMP5	1.712	NEK4	1.925	G22P1	2.235	FMR2	2.919
DDX18	1.369	HRAS	1.531	FMR1	1.733	SAFB	1.930	ALPPL2	2.245	PLOD2	2.980
FANCE	1.375	FGL1	1.533	IGFBP6	1.749	GRN	1.930	LIG1	2.363	C3	3.002
USH2A	1.384	RCV1	1.539	CYP2A6	1.749	TRPM1	1.941	RAB10	2.395	ABCC1	3.115
POLD1	1.395	HIP1	1.541	MSH3	1.757	VAV1	1.947	LENG4	2.414	EIF4B	3.240
MUTYH	1.399	MRPL28	1.552	ID3	1.769	PRKR	1.969	ACHE	2.421	CLK5	3.250
RAB33A	1.400	CASP10	1.558	TIMP4	1.771	ABCB4	1.970	PRG1	2.427	PMS2	3.333
RFX1	1.401	LIMK2	1.561	ASPH	1.771	RPS12	2.022	SSPN	2.466	RPS5	3.402
NFKB1	1.420	SLC22A4	1.570	FUT8	1.776	ANGPT2	2.037	TUBB5	2.478	PTTG1IP	3.470
CTGF	1.428	TERF1	1.587	GSPT2	1.783	DNTT	2.047	CDH2	2.484	ENDOGL	3.598
ULBP3	1.433	TPD52L1	1.607	NPM1	1.796	SERPINB2	2.071	PLAG1	2.554		
ADAMTS1	1.436	STAT5B	1.608	AF1Q	1.801	PRKWNK2	2.076	FANCF	2.557		
SPARC	1.437	S100A1	1.616	RAB22A	1.807	VEGF	2.077	PLCL1	2.599		
ITPA	1.438	IFNA8	1.632	IGF1	1.822	ABL2	2.099	NR0B1	2.607		
ICAM2	1.443	RPS19	1.652	TNF	1.839	CTNND1	2.100	TSN	2.624		

Anexo 15.5.1 Genes regulados negativamente en la línea MDA-MB-231

Los resultados obtenidos a partir del análisis de microarreglos para la línea celular MDA-MB-231-7 mostraron 892 fueron regulados negativamente por acción del extracto.

SCGB2A	-4.447	RAD1	-2.189	PITPNA	-1.857	MAP2K3	-1.691	PART1	-1.470	TCF7L2	-1.323
C21orf7	-3.926	C1QA	-2.189	COPEB	-1.851	HRMT1L	-1.689	ZNF278	-1.466	NEK2	-1.323
ACTG2	-3.795	CKN1	-2.180	RAD54B	-1.845	SYT1	-1.678	CHN1	-1.465	ZNF71	-1.320
SIX1	-3.547	MMP17	-2.169	PDZRN4	-1.842	PTPN13	-1.675	CDK8	-1.459	FZD7	-1.317
CTBP1	-3.482	C5	-2.129	ITGA7	-1.832	TFG	-1.657	SART1	-1.455	MRAS	-1.315
GLI2	-3.440	CDA	-2.102	PAK1	-1.818	CCK	-1.650	KAI1	-1.445	RFXAP	-1.310
TCF12	-3.277	STAR	-2.089	FOXH1	-1.812	GLB1	-1.615	CHES1	-1.436	ABI1	-1.298
UBL3	-3.195	CREB1	-2.071	IL9R	-1.811	GSTA4	-1.610	CYP4A11	-1.436	LTF	-1.289
FXYD3	-2.823	ELAC2	-2.070	BCAR1	-1.805	CXCL6	-1.608	RRAS	-1.435	FGFR1	-1.286
VTN	-2.820	RPS9	-2.048	SCGF	-1.804	APRN	-1.597	CTSL2	-1.419	PTHR1	-1.282
MATK	-2.740	NINJ1	-2.038	COMT	-1.802	TSG101	-1.592	HPSE	-1.416	MAP2K1	-1.269
SLC4A7	-2.620	CDC25A	-2.029	FUT3	-1.801	MAGEB2	-1.589	SLC17A7	-1.410	TBX2	-1.262
SIRT4	-2.544	NF1	-2.023	APOA1	-1.794	OR3A1	-1.526	MARK3	-1.409	LAMB1	-1.262
FAM14A	-2.526	MPL	-2.010	RPS16	-1.773	LHX1	-1.522	IL11RA	-1.402	RAB3D	-1.255
NDN	-2.497	LMO1	-2.003	CCL8	-1.772	CUTL1	-1.515	LIMD1	-1.402	NR3C1	-1.247
MEST	-2.479	RAB11A	-1.996	MEP1A	-1.753	CCNC	-1.507	FGF3	-1.396	INA	-1.246
IFNA5	-2.433	SFN	-1.992	ITPR3	-1.750	CSF1	-1.505	GAS8	-1.391	PTPRF	-1.245
SAS	-2.431	TFE3	-1.980	MCAM	-1.749	NHLH1	-1.499	GALNT4	-1.386	TK1	-1.244
PSD	-2.424	MAGED1	-1.965	XPC	-1.739	DPP4	-1.489	DMBT1	-1.383	TIF1	-1.237
DAP3	-2.383	AGER	-1.958	FUSIP1	-1.734	PLCB3	-1.489	CXCL12	-1.372	GIPR	-1.231
IL13	-2.332	FAU	-1.935	CD1D	-1.721	WFDC2	-1.485	TAX1BP1	-1.370	RNASEH	-1.231
MTAP	-2.321	NR2C2	-1.935	PGR	-1.713	DNAJC3	-1.483	MC2R	-1.351	TNFSF8	-1.230
DNMT3A	-2.289	MIF	-1.915	NKX2-8	-1.708	MS4A1	-1.482	PTGES	-1.340	ABCC5	-1.228
RELB	-2.274	AVP	-1.901	EIF4G1	-1.707	RAD23A	-1.479	SERPINB1	-1.337	APP	-1.228
NR4A3	-2.273	HDAC2	-1.893	KIF22	-1.702	BCL2	-1.472	RUNX1	-1.335	FUBP1	-1.227
ZNF91	-2.219	DOC-1R	-1.892	ENC1	-1.695	BECN1	-1.470	LHB	-1.334	CDC23	-1.223

RBP1	-1.219	EREG	-1.000	MPO	-0.844	CRISP3	-0.746	EEF1G	-0.629	TCF7	-0.533
KIAA116	-1.216	CDK10	-0.995	ID2	-0.844	MLL	-0.743	RTDR1	-0.624	VEGFB	-0.530
RAB3A	-1.216	XPR1	-0.988	S100A3	-0.837	LHCGR	-0.742	IFNGR1	-0.622	ST5	-0.530
HIST1H4I	-1.215	BCL3	-0.987	C2	-0.836	SEMA3F	-0.740	GPR68	-0.622	WASPIP	-0.530
LRP2	-1.213	UCHL1	-0.987	CTDSP2	-0.835	TEP1	-0.735	IGFBP3	-0.622	RASA1	-0.526
FOS	-1.211	PSORS1	-0.984	GPT	-0.831	GRPR	-0.734	HLA-B	-0.620	RPL15	-0.523
SFTPFB	-1.208	SPINT2	-0.981	BAMBI	-0.831	PRDM1	-0.734	RAB13	-0.617	LYL1	-0.522
YWHAE	-1.200	SLC6A20	-0.978	SLC13A4	-0.830	ABO	-0.734	RPS23	-0.617	MC1R	-0.520
FGF20	-1.198	PAX8	-0.972	THPO	-0.829	APEH	-0.732	TFF1	-0.615	CTSF	-0.519
BRF1	-1.196	POLR2B	-0.969	NMI	-0.827	FGF2	-0.732	MAN2A2	-0.614	LOC5590	-0.516
TRA@	-1.194	SMAD5	-0.968	TCEAL1	-0.824	IL1B	-0.730	TNKS	-0.614	CD63	-0.515
SCARB2	-1.194	TPX2	-0.961	GSTO1	-0.824	UBE2V1	-0.728	SOCS2	-0.613	SCR1	-0.512
CDH5	-1.192	IFNG	-0.960	IFIT3	-0.820	HSPA1A	-0.727	KRT19	-0.613	APOE	-0.511
EBAG9	-1.192	GSTA2	-0.960	JARID1B	-0.819	SLC30A9	-0.726	DFNA5	-0.610	RHBDL1	-0.511
ID1	-1.190	RSN	-0.957	TACSTD	-0.819	SART2	-0.724	TM4SF3	-0.609	SVIL	-0.510
MMP3	-1.185	APG5L	-0.955	C5orf4	-0.819	SERPINB	-0.720	NCR1	-0.606	CREBBP	-0.510
MAP3K1	-1.179	SCO2	-0.949	NAGA	-0.818	RAD54L	-0.720	PRDM10	-0.605	TAF15	-0.509
NKTR	-1.175	MAGEA2	-0.948	SLC29A3	-0.817	CDKN1A	-0.718	ROS1	-0.601	RXRA	-0.508
RAB27A	-1.172	PSEN1	-0.943	CCDC6	-0.817	C6.1A	-0.716	TGFA	-0.601	GRB7	-0.507
AMPH	-1.170	LIG3	-0.941	LIG3	-0.817	FGFR3	-0.714	NOS3	-0.597	ZBTB16	-0.505
KLK6	-1.165	PTOV1	-0.940	CKB	-0.817	CYP2D6	-0.712	EVPL	-0.596	PPARD	-0.503
OPTN	-1.153	RAB30	-0.937	PTPRN2	-0.814	TNFRSF	-0.712	CD81	-0.595	GAL3ST1	-0.502
TFF2	-1.152	SFTPC	-0.931	RAD51	-0.814	STS	-0.712	DDX6	-0.593	KNTC2	-0.502
SIAT9	-1.148	HHAT	-0.930	BCAR3	-0.812	G6PD	-0.710	C13orf10	-0.592	ANKHD1	-0.502
VAT1	-1.136	ATM	-0.930	JTB	-0.809	ITGB6	-0.709	SLC33A1	-0.591	RAB36	-0.499
SCD	-1.135	KIT	-0.930	TNFRSF	-0.808	STEAP	-0.709	FRAP1	-0.589	CRYBA1	-0.499
IL3	-1.126	SMARCA	-0.928	SLC26A3	-0.806	NR1D1	-0.709	NEFH	-0.588	PCNA	-0.498
INHA	-1.126	FHL2	-0.928	DF	-0.806	GP9	-0.708	CDC25C	-0.588	METAP2	-0.495
NR4A1	-1.124	CYP2E1	-0.926	FAT	-0.806	SCARA3	-0.707	FADD	-0.587	BMPR1B	-0.492
FYN	-1.124	CYP21A2	-0.925	BLCAP	-0.802	GML	-0.706	GNB2	-0.587	GRB2	-0.491
RAB18	-1.120	SPINT1	-0.924	TGFBR2	-0.801	FAIM2	-0.704	PKP2	-0.586	SH3BP2	-0.490
MAGEB4	-1.120	RAB26	-0.924	SCGB2A	-0.801	SE57-1	-0.703	MUC2	-0.580	C14orf11	-0.487
ANXA1	-1.116	MEIS1	-0.919	AKT2	-0.800	MMP10	-0.696	SULT4A1	-0.579	RPS15	-0.487
ZNF146	-1.108	PDE1B	-0.917	PLSCR1	-0.799	BCL10	-0.695	LGALS3	-0.577	CCNA1	-0.486
TM4SF7	-1.107	KLK12	-0.916	FSHR	-0.792	NFIB	-0.695	VIPR1	-0.575	CSRP2	-0.484
PSG7	-1.107	PCTK1	-0.916	LRRFIP1	-0.792	TIAM1	-0.693	KIF20A	-0.575	STXBP1	-0.482
MS4A12	-1.107	TRAP1	-0.913	TYMS	-0.791	ABCG2	-0.692	MYBBP1	-0.575	RTL2	-0.478
MUC13	-1.102	WT1	-0.912	TDGF1	-0.786	TLX1	-0.691	ERG	-0.573	C1QB	-0.473
GNE	-1.099	ARMET	-0.911	C18orf8	-0.785	PTTG1	-0.690	TOPBP1	-0.569	DNM1	-0.473
PBX1	-1.090	HMG20B	-0.911	PRKACG	-0.785	ARHGFB	-0.687	HSPB1	-0.569	ACTA2	-0.471
TNFRSF	-1.088	PPP4C	-0.910	JAG2	-0.780	MATR3	-0.683	BARD1	-0.568	HYAL1	-0.471
CTTN	-1.086	MOS	-0.908	TACSTD	-0.779	DPH2L1	-0.683	NUDT1	-0.566	TLE2	-0.471
MST1R	-1.079	FER	-0.902	TERF2	-0.779	CXCL10	-0.678	CBLC	-0.565	TSPAN-1	-0.468
STUB1	-1.077	PBOV1	-0.900	LBX1	-0.778	PRSS1	-0.678	UTF1	-0.565	EXT1	-0.467
ORC5L	-1.076	IL8RA	-0.897	BASP1	-0.778	LGALS1	-0.672	NCF2	-0.564	HOXA9	-0.466
COL4A2	-1.072	FGF12	-0.896	HCK	-0.777	NTRK2	-0.670	IL6ST	-0.563	RECQL	-0.464
CTNNA1	-1.068	HLA-DRB	-0.894	CEACAM	-0.776	CDSN	-0.667	CDH7	-0.562	ETV6	-0.459
IGFBP7	-1.068	OGN	-0.894	DULLAR	-0.775	CDK6	-0.666	TCEA1	-0.561	TGFB3	-0.459
HMGB1	-1.067	APS	-0.890	PRCC	-0.775	WVVOX	-0.665	VIM	-0.560	LYN	-0.458
CALCA	-1.059	CD24	-0.887	POU2AF	-0.774	HDAC3	-0.660	SOCS1	-0.557	ABCC4	-0.458
RARB	-1.056	MAGEB3	-0.884	HHEX	-0.773	CTSZ	-0.659	GPR18	-0.554	RAPGEF	-0.458
VIL2	-1.053	PNMA1	-0.882	CLU	-0.772	STAT1	-0.658	GRAP2	-0.553	FRAT1	-0.457
TEK	-1.053	FSCN1	-0.881	RBBP9	-0.772	BRS3	-0.656	DAPP1	-0.552	LUZP4	-0.456
MAP4K2	-1.050	RABGGT	-0.878	CHFR	-0.771	DSG2	-0.654	ALOX15	-0.551	THBS2	-0.455
PADI4	-1.041	LGALS4	-0.871	MYC	-0.770	COL4A6	-0.652	SOCS6	-0.551	TM7SF3	-0.449
OCIAD1	-1.037	CDH3	-0.868	RHOF	-0.769	LZTS1	-0.650	PTGER4	-0.550	ATF4	-0.445
GRP	-1.035	PSG11	-0.868	IL2RA	-0.768	TCTEL1	-0.649	K-ALPHA	-0.550	SPG7	-0.443
C11orf13	-1.035	SRC	-0.867	FOSB	-0.762	MTHFR	-0.649	HOXA5	-0.550	MTA1	-0.442
MLANA	-1.035	GNAS	-0.866	SERPINB	-0.762	MARCKS	-0.648	HYAL3	-0.546	ARCN1	-0.441
CTAGE5	-1.033	SLC22A3	-0.864	CD33	-0.759	SDCBP	-0.648	NBL1	-0.544	MAS1	-0.440
DDX26	-1.033	GJB2	-0.862	PTPN12	-0.756	RET	-0.647	TNFRSF	-0.544	TCL1A	-0.439
YES1	-1.029	BRAP	-0.860	TRPA1	-0.755	SIRT5	-0.647	NDUFV1	-0.543	LY6E	-0.438
EGFL6	-1.029	TFAP2C	-0.859	GGH	-0.755	TRAF4	-0.647	PDCD5	-0.541	MEN1	-0.433
FSTL3	-1.021	ELK1	-0.858	FOLR3	-0.755	GH2	-0.646	NCK1	-0.540	SRI	-0.433
PLCD1	-1.020	CSF2RB	-0.855	IFNAR2	-0.753	ST7	-0.646	FLT4	-0.540	RAP2A	-0.428
CYP2C1	-1.011	AKT3	-0.854	SYK	-0.752	INSM1	-0.632	EBI2	-0.539	GOLGA2	-0.427
MAFG	-1.009	GH1	-0.850	CHC1	-0.752	RNPC2	-0.630	POLK	-0.537	PICALM	-0.427
ZNF42	-1.008	NR2F6	-0.850	GLTSCR	-0.749	TBXA2R	-0.630	SSX1	-0.537	RAB9A	-0.427
VDR	-1.007	CXCL13	-0.849	SEMA3C	-0.748	SERPIN	-0.630	COL1A1	-0.536	CTSL	-0.427
HD	-1.004	FUS	-0.846	PPIE	-0.747	SNCB	-0.629	ACTA1	-0.533	LCP1	-0.424

VPREB1	-0.423	BRDT	-0.333	PRDX6	-0.264	PRTN3	-0.207	VPS16	-0.144	RELA	-0.063
RAB3B	-0.422	GCC2	-0.329	ERCC3	-0.264	DNMT3B	-0.205	RPL28	-0.143	TNFAIP1	-0.063
CTSG	-0.417	CYP19A1	-0.329	QPCT	-0.264	HMGA1	-0.205	BAX	-0.143	G1P3	-0.062
BRAF	-0.416	LEF1	-0.327	TNFSF15	-0.257	RAD18	-0.204	TM4SF2	-0.143	FCER1A	-0.061
RAB5B	-0.414	GLA	-0.326	APEX1	-0.257	ITPKA	-0.204	PPM1D	-0.139	MAFF	-0.060
MAF	-0.414	EGFR	-0.326	AURKB	-0.257	MN1	-0.204	PDGFRA	-0.138	CSF2RA	-0.058
IFRD2	-0.413	TNFSF18	-0.325	ADSL	-0.256	CCL7	-0.203	RAGE	-0.137	ADAMTS	-0.057
TFPI2	-0.412	PTPRG	-0.325	TIMP3	-0.256	GZMK	-0.203	G6PC	-0.136	GHRH	-0.057
NFKB2	-0.410	KLK7	-0.323	ADAMTS	-0.255	RAB23	-0.201	IL13RA2	-0.133	MUC17	-0.056
DSCR1L	-0.408	HSPA8	-0.322	AQP1	-0.252	EIF4G2	-0.197	PRKCE	-0.133	CRH	-0.053
F2RL3	-0.408	SLC2A8	-0.322	SLC14A2	-0.251	HGF	-0.196	TSC2	-0.131	FOLH1	-0.052
TM4SF1	-0.406	POLR2J2	-0.321	TUSC2	-0.251	HLA-E	-0.195	LDOC1	-0.127	GCNT3	-0.051
HR	-0.405	PLA2G10	-0.318	ADAMTS	-0.248	PRDM16	-0.194	KLRG1	-0.127	WNT2B	-0.050
IKBK	-0.404	HOXA10	-0.317	MAGEB1	-0.248	INS	-0.194	DAB2	-0.126	SIL	-0.050
ACTR1A	-0.402	MAPK9	-0.316	RAI3	-0.247	ALDH1A	-0.193	ENO1	-0.125	GZMM	-0.046
BTG1	-0.402	CD151	-0.314	IL18	-0.246	SSTR2	-0.192	DSP	-0.123	APOBEC	-0.044
RPL38	-0.400	RIPK3	-0.313	BRIP1	-0.245	PMS1	-0.192	EI24	-0.119	PTEN	-0.044
CD99	-0.392	TEAD2	-0.313	TFF3	-0.244	PCM1	-0.191	AKAP1	-0.117	HTLF	-0.041
EZH2	-0.388	ELL	-0.313	GF1B	-0.244	DKFZP564O082		SIAT8A	-0.117	IL9	-0.040
MLLT4	-0.383	TOM1	-0.312	RAF1	-0.242	3	-0.191	TOP2B	-0.116	TNFRSF	-0.038
CSF3R	-0.383	FES	-0.311	AMD1	-0.242	TSSC1	-0.191	DUSP3	-0.115	SLC19A1	-0.037
ADRA1B	-0.382	CNN3	-0.311	PPARG	-0.241	FOXK2	-0.191	POLB	-0.115	CDC42B	-0.037
AGT	-0.382	BTK	-0.309	MVK	-0.240	CRIP2	-0.189	NME3	-0.112	FARSLA	-0.036
PRLR	-0.380	RFP2	-0.308	ERBB3	-0.239	NDP	-0.187	DLK1	-0.111	ALY2	-0.035
P2RX1	-0.380	CTDP1	-0.305	NFKBIL1	-0.239	ZNF43	-0.181	FGF4	-0.110	PIGB	-0.035
DPEP1	-0.378	IGFBP1	-0.304	USP11	-0.238	GADD45	-0.180	PTGS1	-0.107	CCL4	-0.032
AREG	-0.378	CALCA	-0.302	MAPKAP	-0.238	PDGFB	-0.179	CYP4B1	-0.105	SELENB	-0.030
NAPSA	-0.378	SSTR1	-0.302	TAL1	-0.236	GPR143	-0.179	ETV4	-0.104	FLT3	-0.029
TCF2	-0.376	SPINK1	-0.301	TSSC4	-0.234	FOXM1	-0.178	CDK2	-0.103	MMP11	-0.027
BLM	-0.376	CHST6	-0.295	ITPR2	-0.233	KIF2	-0.177	HLA-DRA	-0.100	MBD2	-0.026
ICSBP1	-0.375	AKAP13	-0.293	CSF2	-0.232	SURF1	-0.176	CD6	-0.100	ADRB2	-0.025
SP100	-0.374	COL7A1	-0.293	PRKCSH	-0.232	CDC25B	-0.175	TOP3A	-0.099	ABCC2	-0.023
MGAT4A	-0.374	NCOA6	-0.291	CLC	-0.231	NOTCH4	-0.175	UBQLN1	-0.097	IL21R	-0.022
SH3GL1	-0.373	UNG	-0.291	SERPINA	-0.229	SIRT1	-0.173	ABCB10	-0.096	MYH2	-0.020
TDE1	-0.370	PLP1	-0.291	PSTPIP2	-0.227	WISP1	-0.173	HRG	-0.093	MF12	-0.019
FCGR1A	-0.366	TACC2	-0.288	LMOD1	-0.227	IRF1	-0.172	MLLT6	-0.093	BAG4	-0.019
ITGB4	-0.364	GOLGA3	-0.288	CDK4	-0.227	TIMP2	-0.172	CITED1	-0.093	CXCL14	-0.018
ABCB8	-0.362	MAT1A	-0.287	MHC2TA	-0.226	RNASE4	-0.170	SET	-0.089	HOXC6	-0.018
B4GALT7	-0.361	ENG	-0.286	AAMP	-0.226	PSG3	-0.168	ZNF202	-0.089	PDE4A	-0.016
BIRC5	-0.359	CHEK2	-0.286	TNFSF7	-0.225	DLG3	-0.167	TNFRSF1	-0.088	VAV3	-0.016
IL1RN	-0.358	HIST1H3	-0.284	PTPRC	-0.223	HGF	-0.167	MSH2	-0.084	MT3	-0.016
SACS	-0.355	USP25	-0.277	MLLT3	-0.219	IMPG1	-0.167	EVI2B	-0.083	CTAG2	-0.015
TCF4	-0.353	COL1A2	-0.275	TNFSF4	-0.218	KLK8	-0.165	MLF2	-0.081	MBP	-0.015
C1QL1	-0.349	MAX	-0.275	1-Dec	-0.217	AGPS	-0.163	SLC37A4	-0.079	PTK7	-0.014
WNT1	-0.349	ATF1	-0.273	CAMK2A	-0.216	SERPINB	-0.162	PCOLN3	-0.078	SS18	-0.012
PLAC8	-0.346	BIRC6	-0.272	XRCC5	-0.215	RPL26	-0.162	RAD51L1	-0.076	TFR2	-0.009
CTAG1B	-0.346	ISG20	-0.270	EP300	-0.213	CYR61	-0.160	MAP3K7	-0.076	CHIC2	-0.008
NAT1	-0.346	RAB5C	-0.270	MAFK	-0.212	PXN	-0.158	TDG	-0.073	LECT2	-0.008
REG1A	-0.341	CLK1	-0.270	ASCL1	-0.212	BCL9	-0.156	RTN1	-0.071	SLC26A2	-0.003
CCM1	-0.341	FKSG2	-0.270	SERPINC	-0.211	ICT1	-0.155	USP4	-0.070	PPARBP	-0.002
ACVRL1	-0.340	SART3	-0.270	CD14	-0.211	SLC35E3	-0.155	GNA12	-0.069	DPF2	-0.001
PTCH	-0.340	MITF	-0.265	MLL2	-0.209	NOVA2	-0.152	OGG1	-0.067	MAGE-0.000029	
SRY	-0.334	PSG5	-0.265	NEU2	-0.209	IL24	-0.152	CDH6	-0.065		

Anexo. 15.6 Justificación

En el año 2018, el cáncer a nivel mundial presentó 18 millones de casos nuevos y 9.6 millones de defunciones. En México, durante el periodo de 2011 a 2016, se registró una alta mortalidad en la población con una edad entre 30 y 59 años por causa de tumores malignos, con el cáncer de mama como primer motivo de muerte por tumoración maligna en la mujer, con el 20 a 25 % de todos los casos de cáncer en la mujer. Actualmente, se cuenta con terapias para el cáncer de mama, como la quimioterapia, radioterapia, terapia estrogénica o quirúrgicas, sin embargo, el alto costo de algunas y efectos secundarios, llevan a la población a buscar otro tipo de tratamientos complementos en la Medicina Herbolaria. El empleo de principios activos de plantas ha sido importante, en el desarrollo de tratamientos antineoplásicos, apoyando así los tratamientos en diversas áreas de la medicina, principalmente en oncología.

Nuestro país cuenta con una gran biodiversidad de plantas, así como una gran tradición en el empleo de las mismas, sin embargo, pocos estudios científicos se han realizado para identificar y aprovechar cada uno de sus biocomponentes. En la medicina herbolaria mexicana *Opuntia joconostle*, planta endémica de nuestro país, se utiliza para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas, así como contra el cáncer; sin embargo, no se cuenta con estudios científicos que avalen su efectividad como tratamiento antineoplásico, por lo que se propicia a un consumo injustificado y sin dosificación o normativa establecida.

A través de este estudio se obtuvieron conocimientos relacionados a la validación de la aplicación de *Opuntia joconostle* por la medicina tradicional como anticancerígeno específicamente para el cáncer de mama. Buscando a través de resultados obtenidos por modelos *in silico* e *in vitro*, al evaluar el efecto de *Opuntia joconostle* sobre la proliferación celular y la expresión génica en líneas celulares de cáncer de mama. Dichos hallazgos servirán como base para proponer y evaluar futuros tratamientos complementarios para el cáncer de mama.