



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Facultad de Medicina
Licenciatura en Biomedicina
Instituto de Fisiología
Laboratorio de Neuroendocrinología

**“Efecto de la dexametasona sobre la capacidad proliferativa
y migratoria de células provenientes de cáncer de pulmón,
línea celular A549”**

Tesis que para obtener el grado de:
Licenciado en Biomedicina

Presenta:

Jaime Daniel Hernández Arrieta

Director de tesis:

D. C. Eduardo Monjaraz Guzmán

Junio 2025

Tabla de contenido

I. ABREVIATURAS	2
II. RESUMEN	3
III. INTRODUCCIÓN	4
1. CÁNCER	4
1.1. Generalidades	4
1.2. Características del cáncer	4
1.3. Epidemiología	6
2. CÁNCER DE PULMÓN	8
2.1. Clasificación	8
2.2. Factores de riesgo	11
2.3. Diagnóstico y tratamiento	11
3. MICROAMBIENTE TUMORAL Y PROGRESIÓN DEL CÁNCER	11
4. METÁSTASIS	15
5. INFLAMACIÓN	18
6. GLUCOCORTICOIDES	24
IV. JUSTIFICACIÓN	29
V. HIPÓTESIS	30
VI. OBJETIVOS	30
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
VII. METODOLOGÍA	31
LÍNEA CELULAR A549	31
TAMAÑO DE LA MUESTRA	31
CULTIVO CELULAR	32
TRATAMIENTO CON DEXAMETASONA	32
ENSAYO DE EXPRESIÓN GÉNICA	33
Extracción de ácido ribonucleico total	33
Cuantificación de ARN total	34
Síntesis de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc)	34
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	35
Separación electroforética a partir de los productos de PCR	36
Densitometría	37
CONTEO CELULAR	37
ENSAYO DE MIGRACIÓN CELULAR	38
ANÁLISIS DE DATOS	39
VIII. RESULTADOS	40
1. LA DEXAMETASONA REDUCE LA CAPACIDAD MIGRATORIA DE LAS CÉLULAS A549	40
2. EFECTO DE LA DEXAMETASONA SOBRE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DEL ARNM QUE CODIFICA PARA DIFERENTES MARCADORES MOLECULARES RELACIONADOS CON LA TRANSICIÓN EPITELIO-MESÉNQUIMA (TEM)	41
3. EFECTO DE LA DEXAMETASONA SOBRE EL NIVEL DE EXPRESIÓN DEL ARNM QUE CODIFICA PARA LA CITOCINA PROINFLAMATORIA IL-6	43
4. LA DEXAMETASONA REDUCE LA PROLIFERACIÓN EN LA LÍNEA CELULAR A549	45
IX. DISCUSIÓN	47
X. CONCLUSIONES	53

I. ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	ARN mensajero
CAF'S	Fibroblastos asociados a cáncer
CpG	Citocina, fosfato, guanina
CSF-1	Factor estimulante de colonias 1
ECM	Matriz extracelular
dNTPS	Desoxi-nucleótido trifosfato
EGFR	Receptor del factor epidérmico
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GLOBOCAN	Global Observatory of Cancer
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulócitos y neutrófilos
GR	Receptor de glucocorticoides
IL-6	Interleucina 6
HGF	Fator de crecimiento de hepatocitos
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
JAK2	Janus quinasa 2
MT	Microambiente tumoral
NK	Natural Killer
NSCLC	Cáncer de pulmón de células no pequeñas
OMS	Organización Mundial de la Salud
PBS	Tampón fosfato salino
PET	Tomografía por emisión de positrones
PI3K	Fostadilinositol quinasa 3
RPM	Revoluciones por minuto
RT-PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa
SFB	Suero fetal bovino
STAT3	Transductor de señal y activador de la transcripción 3
TAE	Tampón de Tris, acetato y EDTA
TAM'S	Macrófagos asociados a tumores
TAN'S	Neutrófilos asociados a tumores
TEM	Transición epitelio mesénquima
TP53	Proteína p53
TGFβ	Factor de crecimiento transformante β
TME	Microambiente tumoral
Treg	Celulas T reguladoras
VEGF	Factor de crecimiento epitelial vascular
Zeb	Zinc E-box-binding homeobox 1
α-SMA	Actina de músculo liso

II. Resumen

El cáncer de pulmón es una enfermedad heterogénea que se origina en el tejido pulmonar, presenta una alta tasa de mutaciones y resistencia a tratamientos. La dexametasona, comúnmente utilizada para mitigar los efectos secundarios de la quimioterapia, también ha demostrado efectos antitumorales en diversos modelos de cáncer. Sin embargo, su impacto directo sobre la proliferación y migración de células de NSCLC no ha sido completamente comprendido. Este trabajo busca abrir nuevas perspectivas, partiendo de la hipótesis de que la dexametasona tiene un efecto sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células de cáncer de pulmón de células no pequeñas.

Para ello, se utilizó la línea celular A549, cultivada en condiciones estándar y tratada con dexametasona a una concentración de 10 μ M durante 48 horas. Se realizaron ensayos de migración celular mediante cámaras Transwell, cuantificación de ARN total, síntesis de ADN complementario (ADNc), y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para evaluar la expresión de marcadores moleculares asociados a la transición epitelio-mesénquima (TEM), como E-cadherina, vimentina, α -SMA, Snail-1 y Zeb-1, además de medir la expresión de IL-6.

Los resultados mostraron que la dexametasona reduce la capacidad migratoria de las células A549. Además, el tratamiento disminuyó la expresión de marcadores mesenquimales como α -SMA y Snail-1, mientras que no afectó la expresión de E-cadherina. Asimismo, la dexametasona redujo la expresión de ARNm que codifica para IL-6. Finalmente, se observó una disminución en la proliferación de las células A549 tratadas con dexametasona.

Estos resultados indican que la dexametasona ejerce un efecto antitumoral en las células A549, inhibiendo tanto la proliferación como la migración celular, y modulando procesos importantes en la progresión tumoral, como la transición epitelio-mesénquima y la inflamación. Sin embargo, es importante destacar que los efectos de la dexametasona pueden variar según el tipo de cáncer y el microambiente tumoral.

III.Introducción

1. Cáncer

1.1. Generalidades

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido al cáncer como un grupo amplio de enfermedades que pueden afectar a cualquier órgano o tejido del cuerpo, clasificándose en función del tejido o célula del cual se originó (OMS, 2022). Las células tumorales se caracterizan por presentar una rápida e incontrolada proliferación, pudiendo desarrollarse más allá de sus límites habituales de origen, y que tienen la capacidad de invadir tejidos adyacentes y propagarse a órganos más distantes, a este último proceso se le denomina metástasis, la cual es la principal causa de muerte por cáncer (Gerstberger et al., 2023).

La carcinogénesis es el resultado de una acumulación de errores en las funciones celulares, iniciando con un daño o alteración en el ADN, y mutaciones como pueden ser deleciones, amplificaciones o translocaciones cromosómicas, generando inestabilidad genética (Lewandowska et al., 2019). En las células tumorales existen varios procesos fisiológicos que se encuentran alterados, algunos de los cuales son el mantenimiento de una señal proliferativa, la evasión a la acción de los supresores tumorales, y la reducción de la muerte celular (apoptosis) (Hanahan, 2022). Evaluar individualmente los factores etiológicos podría resultar complejo, sin embargo, podemos inferir que la interacción de múltiples factores de riesgo, como lo son los factores exógenos y endógenos, del ambiente y la predisposición genética, desencadenan el desarrollo y la progresión del cáncer (Lewandowska et al., 2019).

1.2. Características del cáncer

A pesar de que existen diversos tipos de células tumorales, éstas comienzan a adquirir características y capacidades comunes que desencadenan una transición de un estado normal a un estado de crecimiento neoplásico (Hanahan, 2022).

Los tumores representan sistemas biológicos complejos integrados por diversos tipos celulares que establecen interacciones heterotípicas, las cuales son fundamentales en el proceso de tumorigénesis. Estas interacciones facilitan la adquisición y expresión de características funcionales clave para el desarrollo tumoral. El microambiente tumoral, un componente esencial en este proceso, incluye no sólo las células cancerosas y las células madre tumorales, sino también células endoteliales, del estroma, pericitos, poblaciones inmunitarias inflamatorias, fibroblastos asociados al cáncer y, más recientemente, se ha destacado el papel potencial de las células senescentes en la dinámica tumoral (Hanahan, 2022).



Figura 1. Características de las células cancerígenas (Modificado de Hanahan, 2022).

Los rasgos distintivos del cáncer son capacidades biológicas fundamentales que permiten el desarrollo y progresión de los tumores. Estos incluyen la señalización proliferativa sostenida, la evasión de los supresores de crecimiento, la resistencia a la apoptosis, el potencial replicativo ilimitado, la angiogénesis

sostenida, la invasión tisular y metástasis, la reprogramación del metabolismo energético y la evasión de la destrucción inmunitaria. Estos rasgos, propuestos originalmente por Hanahan y Weinberg, explican como las células cancerosas adquieren ventajas competitivas para crecer, sobrevivir y diseminarse. Además, reflejan la capacidad de los tumores para adaptarse a ambientes hostiles y resistir los mecanismos de control celular (Hanahan, 2022).

1.3. Epidemiología

El cáncer es uno de los principales problemas de salud a nivel global, los datos más actuales del *Global Observatory of Cancer* (GLOBOCAN) reportan que en 2022 hubo alrededor de 19.9 millones de nuevos casos y cerca de 10 millones de defunciones derivadas de algún tipo de cáncer, lo cual lo posiciona como la mayor causa de muerte en el mundo (OMS, 2022). De seguir con esta tendencia, se infiere que el número de nuevos casos aumentará en aproximadamente 60% en las próximas dos décadas, debido principalmente al envejecimiento de la población y al incremento de factores de riesgo asociados al estilo de vida, como la mala alimentación, el tabaquismo y el consumo de alcohol (OMS, 2022).

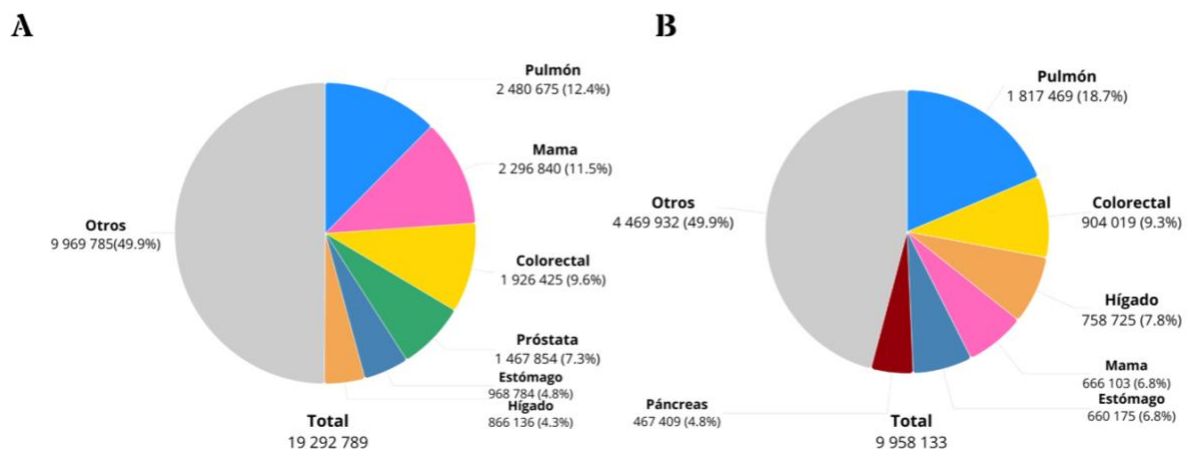


Figura 2. Datos estadísticos del cáncer. A) Incidencia, y B) Mortalidad reportadas a nivel mundial, datos absolutos (Modificado de International Agency for Research on Cancer, 2022).

En México, se ha reportado que cada año se diagnostican alrededor de 196 mil nuevos casos de cáncer, donde el 46% de los pacientes fallece (INEGI, 2024). De acuerdo con cifras del 2022 del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) se registraron alrededor de 847 mil defunciones, donde el 10.6% fue debido a tumores malignos. Esto ha generado que la tasa de mortalidad aumente constantemente, pasando de 62.04 muertes por cada 100 mil personas en 2012 a 68.92 en 2022 (INEGI, 2024). En la figura 3 se muestra cuál ha sido la tendencia de defunciones en México por tumores malignos.

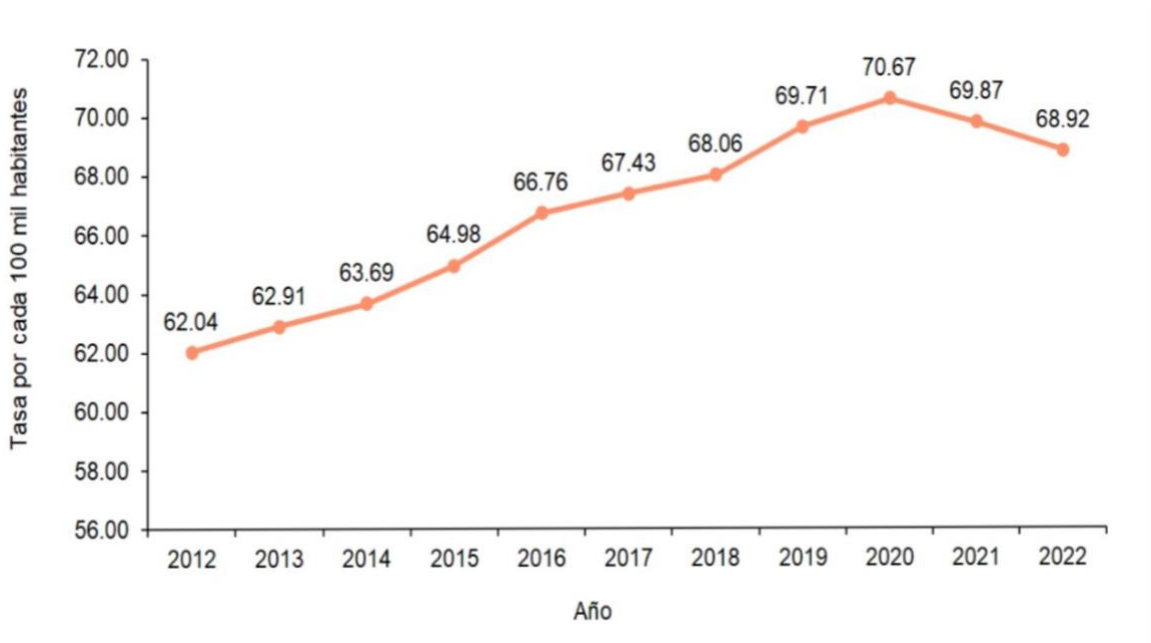


Figura 3. Tasa de defunción por tumores malignos del 2012 a 2022 (muertes por cada 100 mil habitantes) (Tomado de INEGI, 2024).

El cáncer de pulmón encabeza las estadísticas de incidencia con aproximadamente 2.4 millones, lo que equivale al 12.4% de la incidencia total a nivel mundial, en cuanto a mortalidad también ocupa el primer lugar con aproximadamente 1.8 millones de defunciones en el mundo que representa el 18.7% (OMS, 2022). Mientras que en México ocupa el tercer lugar en decesos por tumores malignos con un 8.1% de los casos (INEGI, 2024).

La tasa de mortalidad asociada al cáncer de pulmón se debe, en gran medida a su diagnóstico tardío, ya que la mayoría de los pacientes presentan síntomas cuando la enfermedad ya se encuentra en etapas avanzadas. Además, factores como el tabaquismo, la exposición a agentes carcinógenos ambientales (como el radón, asbesto y partículas finas del aire), así como predisposición genética, contribuyen significativamente al desarrollo de esta enfermedad (Thai et al., 2021).

2. Cáncer de pulmón

El pulmón, como órgano esencial del sistema respiratorio, está constituido por una diversidad de tipos celulares altamente especializados, cuyas funciones coordinadas facilitan el intercambio gaseoso, permitiendo la transferencia de oxígeno (O₂) y dióxido de carbono (CO₂), proceso que se lleva a cabo en los alveolos pulmonares, donde el tejido epitelial pulmonar (neumocitos tipo I y II) y el tejido endotelial de los capilares facilitan la oxigenación de la sangre y la eliminación del CO₂, este proceso se desarrolla en un contexto donde puede existir exposición constante a gases tóxicos, partículas contaminantes y agentes infecciosos (Gridelli et al., 2015).

El cáncer de pulmón es una enfermedad heterogénea que puede originarse en diferentes regiones del árbol bronquial y ocurre cuando existe un crecimiento anormal e incontrolable de células del tejido pulmonar, lo que da lugar a la formación de masas o tumores que pueden desencadenar una amplia variabilidad en los síntomas clínicos que presentan los pacientes (Mithoowani & Febbraro, 2022).

2.1. Clasificación

Desde el punto de vista histológico, se clasifican en dos subtipos principales: el carcinoma de células no pequeñas (CPCNP), que representa aproximadamente el 80% de los casos y el carcinoma de células pequeñas (CCP), que constituye el 20% restante (Thai et al., 2021).

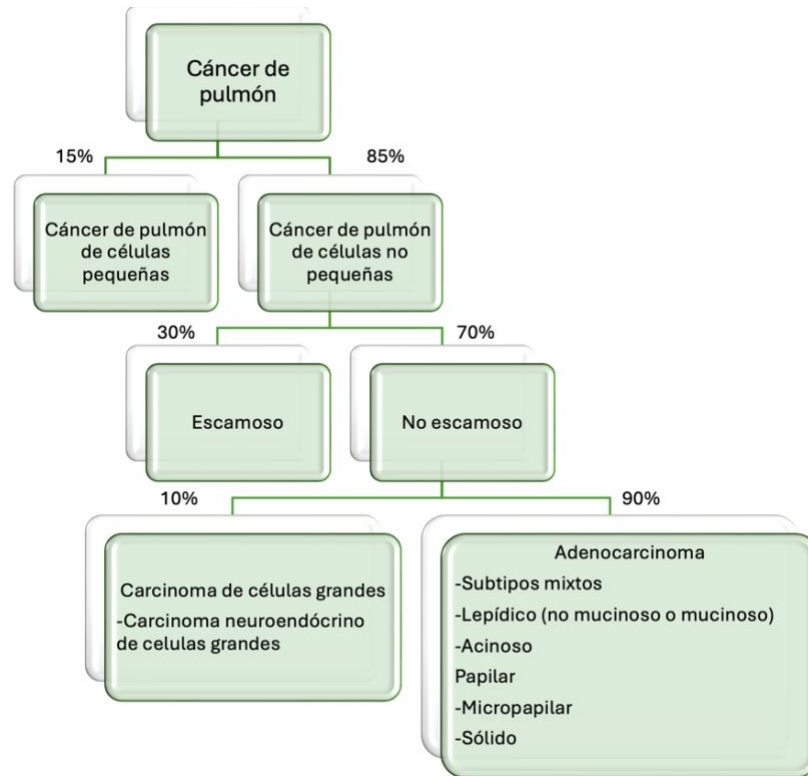


Figura 4. Clasificación del cáncer de pulmón (modificado de Gridelli et. al., 2015).

Cáncer de pulmón de células pequeñas

Este tipo de neoplasia se origina principalmente en las células neuroendocrinas del tejido pulmonar, se caracteriza por su rápido crecimiento y alta capacidad metastásica en etapas tempranas (Dingemans et al., 2021).

Cáncer de pulmón de células no pequeñas

Es el tipo más común de cáncer de pulmón, presenta una buena respuesta inicial al tratamiento dependiendo la fase en la que es diagnosticado, sin embargo, en diagnósticos tardíos el pronóstico es desfavorable. Se origina en células especializadas en el recubrimiento del árbol bronquial, y se divide principalmente en tres subtipos (Gridelli et al., 2015):

- Adenocarcinoma, es el más común y suele desarrollarse en las regiones periféricas del pulmón.
- Carcinoma de células escamosas, se localiza en la zona de los bronquios centrales.

- Carcinoma de células grandes, es el menos frecuente y presenta características histológicas poco diferenciadas, tiende a ser más agresivo y puede aparecer tanto en regiones periféricas como en regiones centrales del pulmón.

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) presenta una alta tasa de mutaciones somáticas y reordenamiento genómico. Los oncogenes implicados incluyen mutaciones activadoras en el gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y translocaciones en el gen ALK (Gridelli et al., 2015).

Las mutaciones más comunes en el EGFR son la delección del exón 19 (E746 – A750) y las sustituciones en el exón 21 (L858R) y el exón 18 (G719C, G719S, G719A). También se han identificado anomalías menos comunes como dianas terapéuticas, incluyendo translocaciones de RET, ROS1 y receptores tirosina cinasas, mutaciones en BRAF, MET (que codifica el receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)) y HER2 (también conocido como ERBB2), así como amplificaciones de MET, HER2 y el receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR1) (Harrison et al., 2020).

Aunque las mutaciones en los genes supresores de tumores TP53 y RB1 son frecuentes en todos los subtipos de cáncer de pulmón, aún no pueden aprovecharse terapéuticamente. Tanto TP53 como RB1 se pierden universalmente en todos los cánceres de pulmón de células pequeñas (CPCP) y con frecuencia en los CPCNP. Las mutaciones en el oncogén KRAS son comunes en adenocarcinomas pulmonares, poco frecuentes en tumores escamosos y ausentes en CPMC; datos recientes sugieren que es posible dirigirse a KRAS mediante compuestos nuevos. En análisis genéticos se identifican recurrentemente docenas de otras mutaciones, como en la vía AKT, la vía MAPK (MEK), ciclinas y entre otras. Actualmente, se realizan estudios para determinar cómo aprovechar terapéuticamente estas alteraciones (Harrison et al., 2020).

2.2. Factores de riesgo

Se han identificado múltiples factores de riesgo asociados al cáncer de pulmón, como son el tabaquismo, la exposición a agentes carcinógenos ambientales (como el radón, asbesto, y partículas finas del aire), así como predisposiciones genéticas, contribuyen significativamente al desarrollo de esta enfermedad (Couraud et al., 2012). Se manifiesta principalmente en personas mayores, la mayoría de los diagnósticos ocurre en personas que superan los 65 años debido a una acumulación de carcinógenos o por enfermedades pulmonares crónicas, los diagnósticos en personas de menor edad a menudo son en pacientes fumadores (Alduais et al., 2023).

2.3. Diagnóstico y tratamiento

El diagnóstico incluye técnicas de imagen como radiografías, tomografías computarizadas y tomografías por emisión de positrones (PET), se suele complementar con estudios de laboratorio, como biopsias y análisis histológico para confirmar el diagnóstico y determinar el subtipo de CPCNP (Herbst et al., 2018).

Los tratamientos más utilizados para el CPCNP incluyen, cirugía, quimioterapia, radioterapia y la terapia molecular dirigida, dependiendo la etapa en la cual se encuentre la enfermedad (Alduais et al., 2023). Sin embargo, existe una búsqueda continua de tratamientos más eficaces y seguros para una identificación y destrucción de células cancerígenas, impulsando nuevos ensayos clínicos y terapias combinadas que se adecúen a cada paciente (Ku et al., 2017).

3. Microambiente tumoral y progresión del cáncer

El cáncer va más allá de sólo células neoplásicas, las alteraciones genéticas son necesarias, pero no suficientes para la iniciación del cáncer y de la progresión tumoral, se necesita todo un ecosistema en el cual interactúan diversos tipos celulares, incluyendo células no carcinogénicas (de Visser & Joyce, 2023). El microambiente tumoral (TME, por sus siglas en inglés) incluye, además de las células tumorales, células del sistema inmune, tanto del sistema adaptativo (T-CD8⁺, T-CD4⁺, T-reguladoras, Células B), como células mieloides (macrófagos, neutrófilos,

monocitos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos), fibroblastos asociados a cáncer, células endoteliales, pericitos (células que rodean los vasos sanguíneos, contribuyen a su estabilidad), adipocitos, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento (Wang et al., 2018).

En lugar de crecer de forma aislada, las células tumorales comienzan a interactuar con otros componentes del cuerpo, formando así un ambiente que las beneficie, esto hace que se modifique el comportamiento de las células no carcinogénicas, generando así la formación de una matriz extracelular (ECM, por sus siglas en inglés) que favorezca la tumorigénesis, la supresión de la respuesta inmune, la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis), el reordenamiento de la matriz extracelular para favorecer la invasión del tumor y derogar en la metástasis. La matriz extracelular juega un papel clave en la comunicación entre células, ya que almacena moléculas secretadas y sirve como base para que las células se adhieran y muevan, tanto las células cancerosas como las del microambiente tumoral interactúan directamente con la ECM mediante receptores como las integrinas y el CD44 (Winkler et al., 2020).

La creación del microambiente tumoral no es estática, se adapta en respuesta a las necesidades tumorales (Wong-Rolle et al., 2021). La comunicación célula-célula se lleva a cabo mediante moléculas de adhesión, como integrinas, cadherinas, selectinas y miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas, así como a través de estructuras especializadas como las uniones comunicantes (gap junctions) (de Visser & Joyce, 2023). Otra parte importante de la comunicación intracelular dentro del microambiente tumoral es la señalización paracrina, a través de la liberación de citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y proteasas, estas moléculas se secretan en respuesta a características intrínsecas del cáncer y al estrés celular, y pueden derivarse de múltiples tipos de células dentro del TME (de Visser & Joyce, 2023).

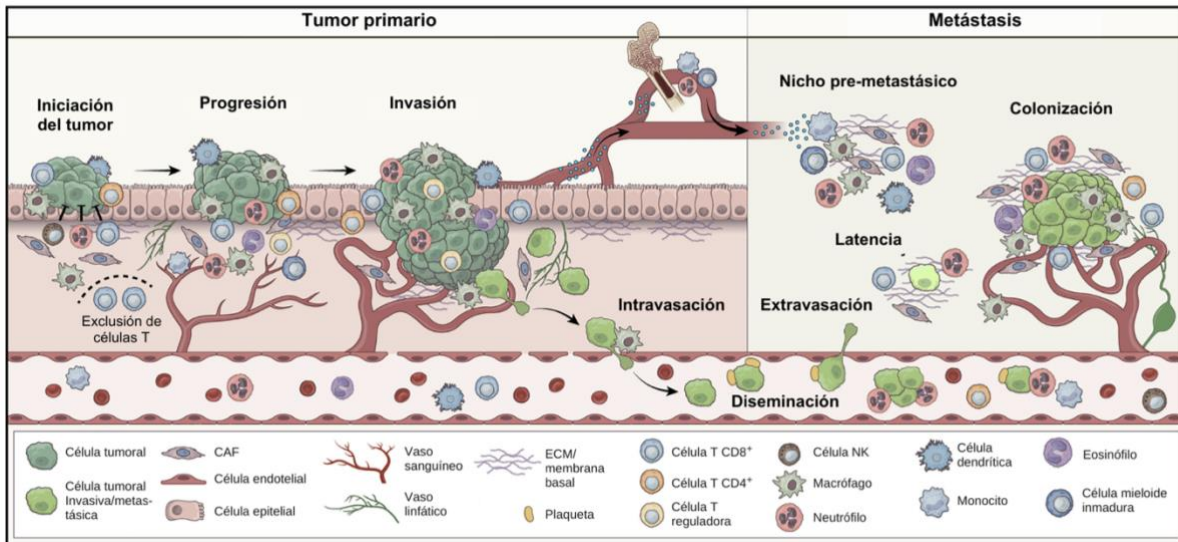


Figura 5. Regulación del microambiente en la progresión del tumor primario y la metástasis, (modificado de de Visser & Joyce, 2023).

Los factores de crecimiento celular, tales como las integrinas, a su vez, se localizan en la matriz cercana a las membranas celulares y desempeñan un papel clave en la comunicación entre las células y el microambiente tumoral. De igual forma, la matriz extracelular está involucrada en la migración de las células tumorales, debido a que puede modificar sus propiedades físicas, composición y topografía (Arneth, 2019).

El TME representa un entorno complejo y dinámico, compuesto por componentes celulares y acelulares, con respuestas y funciones sinérgicas en la progresión del cáncer. Los tumores suelen interactuar de manera estrecha y continua con el microambiente circundante y los órganos a través del sistema linfático o circulatorio. Además, las células tumorales pueden influir en el microambiente mediante la liberación de señales paracrinas extracelulares que inducen la tolerancia inmunológica periférica y apoyan la angiogénesis tumoral. De manera similar, las células inmunes en el TME pueden afectar la evolución, el crecimiento y la progresión de las células cancerosas en pacientes que padecen diferentes tipos de cáncer (Arneth, 2019; Bussard et al., 2016).

En otros casos, el TME se considera un componente heterogéneo, complejo y dominante de un tumor sólido. Por lo tanto, es importante comprender los procesos e interacciones que ocurren en el TME para el manejo del cáncer y la interpretación y análisis de los datos de imágenes (Arneth, 2019).

El estroma, por su parte, regula la homeostasis fisiológica al controlar procesos como la tumorigénesis, el crecimiento tumoral, la metástasis y la invasión. Además, favorece la progresión y el crecimiento independiente de anclaje de las células mesenquimales. Esto refuerza la idea de que los componentes heterogéneos y complejos del microambiente tumoral son fundamentales para el desarrollo del cáncer. Asimismo, se ha estudiado cómo la infiltración celular y la angiogénesis influyen en la progresión de tumores en órganos y tejidos específicos (Walker et al., 2018). La angiogénesis y la presencia de células inmunes en el TME conducen a la generación de células madre cancerosas, al mismo tiempo que proporcionan un entorno celular de señalización complejo (Walker et al., 2018). Además, las células madre cancerosas actúan como células iniciadoras de tumores que apoyan la propagación de células tumorales y conducen a la resistencia terapéutica a través de varios mecanismos intrínsecos, incluidos cambios epigenéticos y genéticos. También, las células madre cancerosas han sido implicadas en procesos de señalización mediados por el TME, como la modulación inmunológica y la formación de nichos inflamatorios (Bussard et al., 2016).

Por otro lado, el TME alberga proteínas secretadas, vasos sanguíneos y células no malignas que apoyan e influyen en el crecimiento tumoral. El TME contiene una población heterogénea de células cancerosas y células estromales endógenas cercanas que han sido reclutadas para facilitar la progresión tumoral. Sin embargo, la composición real del microambiente, así como la forma en que este moldea el desarrollo y la progresión del cáncer puede variar entre pacientes y tipos de cáncer (Arneth, 2019).

La angiogénesis y la presencia de células inmunes en el microambiente tumoral no solo promueven la generación de células madre cancerosas, sino que también crean un entorno de señalización celular altamente complejo (Arneth, 2019).

Para que las células cancerosas progresen hacia una enfermedad potencialmente letal y clínicamente relevante, deben adquirir la capacidad de modificar los fenotipos epiteliales e invadir sistemáticamente otros espacios celulares. Este escape requiere que las células tumorales degraden la membrana basal y separen el parénquima tisular del compartimento epitelial. Además, durante el proceso de invasión, el crecimiento tumoral está parcialmente influenciado y controlado por el microambiente tumoral a través de interacciones paracrinas y juxtacrinas (Bussard et al., 2016).

4. Metástasis

Podríamos definir a la metástasis como el desarrollo de tumores secundarios en órganos y tejidos distintos del cuál se originó el tumor primario. Dentro del proceso de metástasis existe un proceso importante, denominado transición epitelio-mesénquima (EMT), y es un mecanismo de transdiferenciación mediante el cual células epiteliales desarrollan la capacidad de invadir (Figura 6), resistir el estrés y diseminarse (Fares et al., 2020).

Las células epiteliales son inmóviles y están fuertemente unidas entre sí y a la matriz extracelular que las rodea, sin embargo, en la EMT existen alteraciones bioquímicas que permiten a las células epiteliales adquirir fenotipos mesenquimales (Ye & Weinberg, 2015). Las distinciones biológicas entre las células epiteliales y las células mesenquimales están determinadas por diferencias fenotípicas, incluidas aquellas involucradas en el mantenimiento del citoesqueleto y en la formación de la adhesión célula-célula. De esta forma, las células epiteliales expresan varios tipos de citoqueratinas que forman sus filamentos intermedios, mientras que las células mesenquimales expresan la proteína de filamento intermedio vimentina (Ye & Weinberg, 2015). La expresión de moléculas de adhesión célula-célula y complejos de polarización está generalmente reprimida en las células mesenquimales. Una característica distintiva de la EMT es el reemplazo de la E-cadherina por la N-cadherina, lo que resulta en la formación de adhesiones célula-célula mucho más débiles entre células adyacentes (Fares et al., 2020).

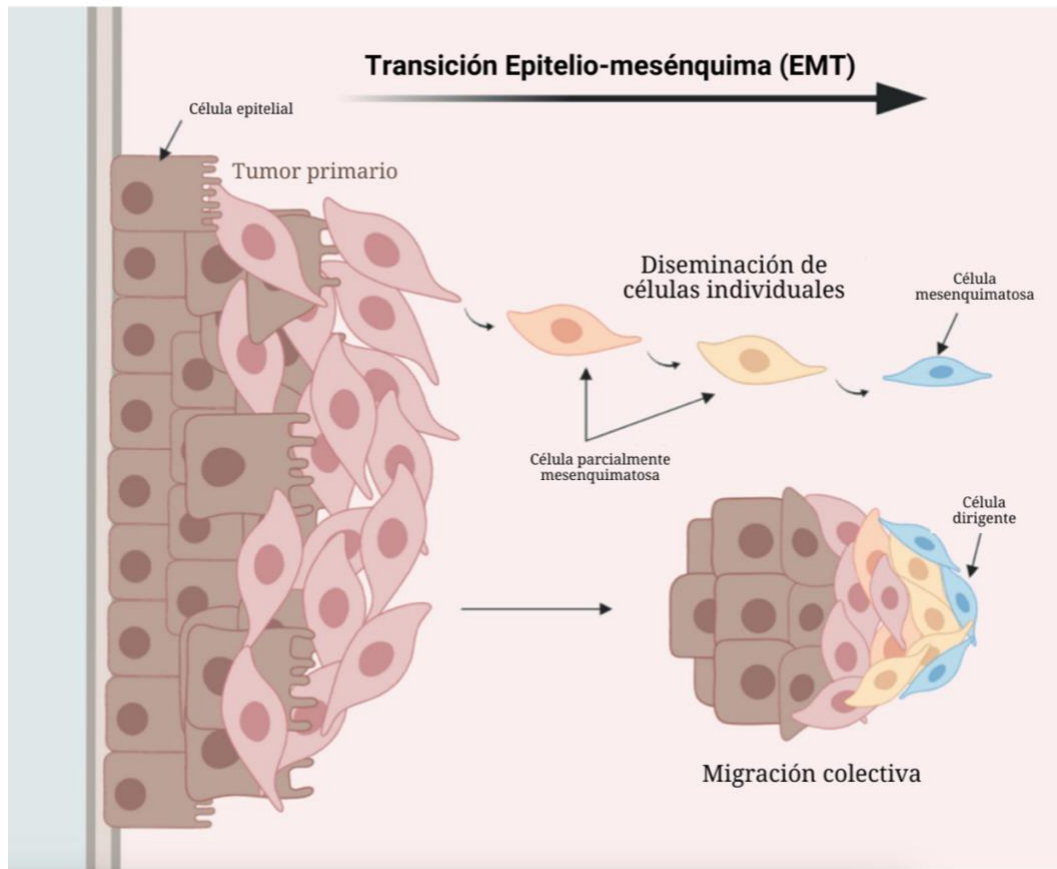


Figura 6. Proceso de la transición epitelio-mesénquima (modificado de Fares et al., 2020).

Podemos dividir a la metástasis en 3 fases, diseminación, latencia y colonización, durante las cuales las células tumorales experimentan una serie de cambios para invadir tejidos, sobrevivir y colonizar nuevos órganos (Fares et al., 2020).

Durante la fase de diseminación, las células tumorales que integran mutaciones conductoras oncogénicas atraviesan la membrana basal e invaden capas más profundas del tejido, adquiriendo la capacidad de sobrevivir sin la presencia de factores de crecimiento específicos, posterior a esto sigue la intravasación hacia vasos sanguíneos o linfáticos cercanos y, finalmente, la extravasación hacia órganos distantes a través de la migración transendotelial y la disrupción capilar, la diseminación local directa hacia espacios adyacentes, como las cavidades peritoneal o pleural (Gerstberger et al., 2023). Las células tumorales

circulan como células individuales o en microgrupos enriquecidos con células cancerosas similares a células madre, recubiertas con plaquetas, neutrófilos o células estromales derivadas del tumor, esto puede protegerlas de la vigilancia inmunológica y dotar a los grupos de éstas células de un mayor potencial metastásico que el de las células individuales (Fares et al., 2020).

Las células tumorales diseminadas que logran sobrevivir entran en un período de latencia variable, durante el cual detienen su ciclo celular o entran en un equilibrio dinámico con brotes de proliferación contrarrestados por la eliminación inmunológica u otra contención estromal de clones proliferativos por parte del microambiente tumoral, de modo que hay poco crecimiento metastásico (Gerstberger et al., 2023).

La cascada metastásica representa una reprogramación celular y microambiental continua, selección clonal de subpoblaciones de células cancerosas capaces de resistir las presiones selectivas del microambiente. Esto deriva en un crecimiento tumoral descontrolado, lo que lleva a la disfunción orgánica, el colapso de la función sistémica del organismo y, finalmente, la muerte. Estas características pueden entenderse como principios o bases de la metástasis (Figura 7) (Fares et al., 2020; Gerstberger et al., 2023).

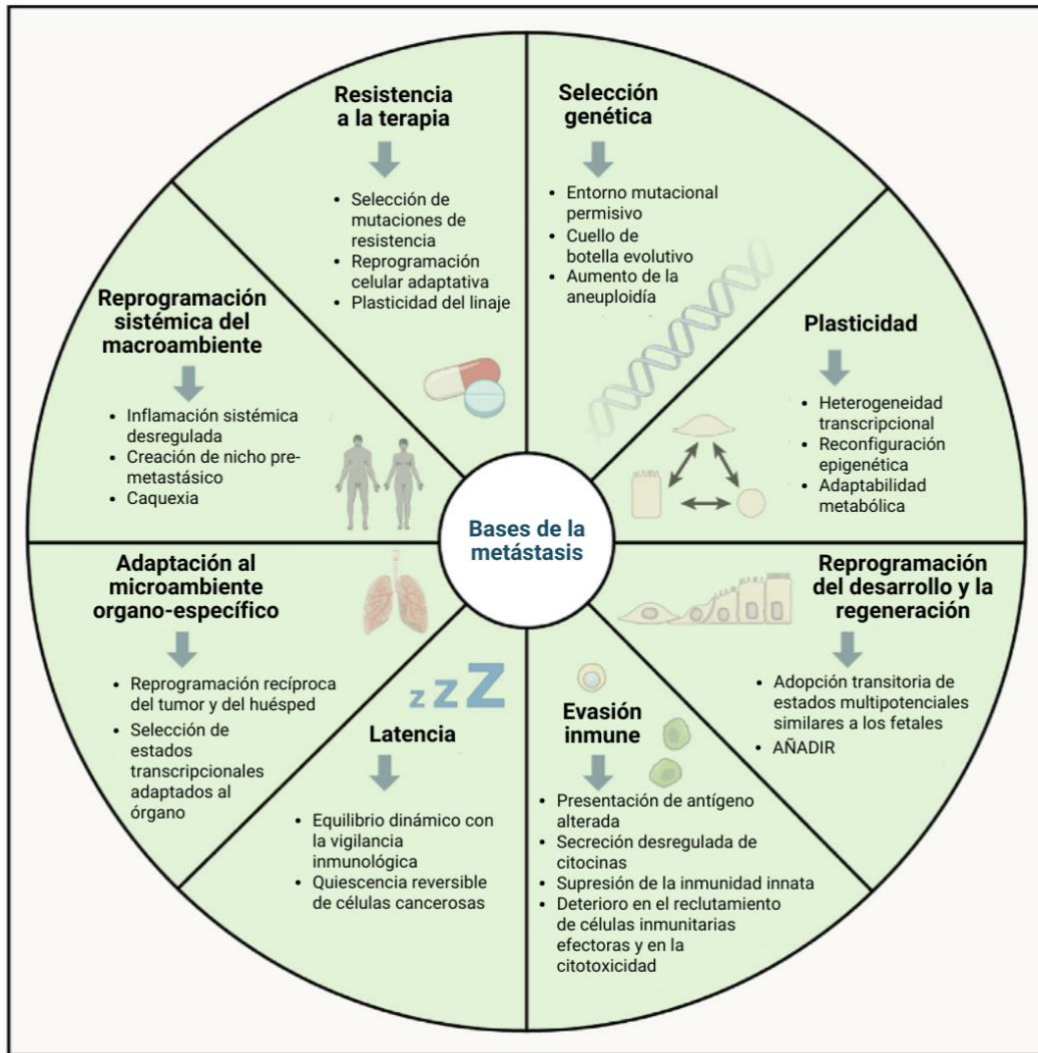


Figura 7. Bases de la metástasis (modificado de Gerstberger et al., 2023)

5. Inflamación

En la progresión tumoral, la inflamación se caracteriza por una interacción desregulada entre las células inmunitarias innatas y adaptativas. Bajo la influencia de un estado inflamatorio prolongado, y las condiciones de hipoxia, pH bajo y niveles alterados de metabolitos resultan en una inflamación que se vuelve crónica y patológica (Singh et al., 2019). La inflamación crónica se ha asociado a diversos procesos en la tumorigénesis, incluyendo la transformación celular, supervivencia, proliferación, invasión, angiogénesis y metástasis (Singh et al., 2019).

A medida que el tumor se desarrolla, el entorno inmunológico que los rodea sufre cambios importantes. Estos cambios incluyen una disminución de las células que combaten el cáncer, como las células T CD8+ y las células Natural Killer (NK) y un aumento de las células inmunitarias disfuncionales que suprimen la respuesta inmunológica, como las células T reguladoras (Tregs) CD4+FoxP3+ y las células B reguladoras (de Visser & Joyce, 2023). Al mismo tiempo, las células mieloides, como los macrófagos y los neutrófilos, son reclutados por el microambiente tumoral, cambiando su comportamiento en respuesta a las señales inflamatorias del entorno (de Visser & Joyce, 2023). Los macrófagos asociados a tumores (TAM's) y los neutrófilos asociados a tumores (TAN's) son los más comunes de las células mieloides en este ambiente (Tan et al., 2021). Para dicho reclutamiento son liberados mediadores que promueven la movilización y activación de estas células mieloides, en el caso de los macrófagos se liberan CSF-1 (factor estimulante de colonias 1), CCL2, VEGF-A y TNF- α , y para los neutrófilos son liberados G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos), GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y neutrófilos), IL-6, CXCL1, CXCL2, IL-1 β e IL-8 (de Visser & Joyce, 2023).

Las células mieloides asociadas a tumores muestran una alta plasticidad funcional, pueden influir en muchos procesos tumorales, incluyendo la regulación del destino y comportamiento de las células cancerosas directamente a través de su proliferación, supervivencia y capacidad invasiva; la creación de un microambiente tumoral inmunosuprimido, la activación de la angiogénesis tumoral y el reordenamiento de la matriz extracelular (de Visser & Joyce, 2023). Así mismo, secretan factores de crecimiento y citocinas que modifican el destino y comportamiento de las células tumorales, incluyendo el factor de crecimiento epidérmico (EGF), que mantienen la proliferación y migración de las células cancerosas; entre los que destacan el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), que aumenta el potencial metastásico de las células cancerosas y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), IL-6 e IL-10 que favorecen la capacidad pluripotencial de las células tumorales (Zheng et al., 2024).

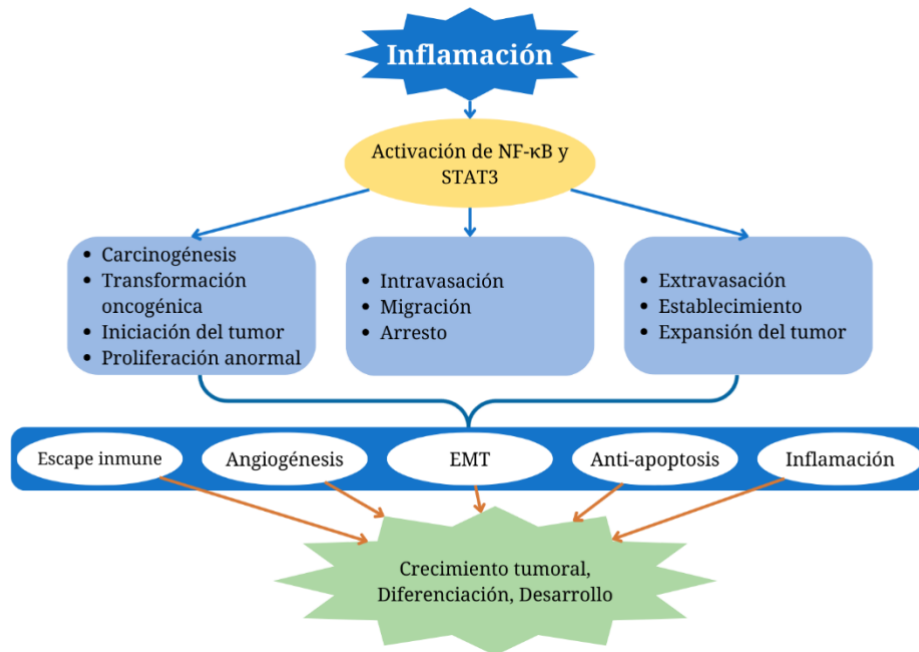


Figura 8. El papel de NF-κB y STAT3 en el tumor, (modificado de Tan et. al., 2021)

La interleucina-6 (IL-6) es una citocina proinflamatoria multifuncional que desempeña un papel en la respuesta inmune contra patógenos y en la respuesta al estrés agudo y su implicación en la tumorigénesis ha sido ampliamente documentada. La vía de señalización IL-6 - Janus quinasa 2 (JAK2) activador de la transcripción (STAT3), se encarga de transmitir señales que vienen de fuera de la célula y es importante en diversos tipos de cáncer, como el de pulmón, mama, colon, ovario, próstata y mieloma múltiple, ya que está asociada a diversas funciones, como la proliferación, diferenciación, respuesta inmune y apoptosis (Kumari et al., 2016). En el cáncer de pulmón, por ejemplo, los fibroblastos asociados al cáncer (CAFs) secretan IL-6, lo que activa la señalización de JAK2/STAT3 en las células tumorales, promoviendo la metástasis (Briukhovetska et al., 2021).

Además de su papel en la inflamación y la inmunidad, la IL-6 influye en múltiples aspectos del comportamiento tumoral, como la proliferación celular, la apoptosis, la migración, la invasión, la angiogénesis y la metástasis. Su expresión no se limita a células inmunitarias, como monocitos y macrófagos, sino que también se encuentra

en tejidos tumorales de cáncer de mama, próstata, colorrectal y ovario. Esta citocina pleiotrópica contribuye así a crear un microambiente propicio para la progresión del cáncer (Tan et al., 2021).

Las células tumorales tienen la capacidad de evadir algunas señales que regulan negativamente la proliferación celular (Figura 9). Estas vías dependen de la acción de genes supresores de tumores, como el gen p53 y RB (gen del retinoblastoma). Las proteínas Rb y TP53 actúan como puntos de control en dos circuitos celulares interconectados, asociados a la proliferación o a la activación de vías de senescencia o apoptosis (Kumari et al., 2016). La IL-6 aumenta la expresión y actividad de la enzima DNMT-1 (ADN metiltransferasa 1) y promueve su traslocación al núcleo mediante la activación de la vía de señalización PI3K/AKT, esto resulta en la metilación de islas CpG en la región promotora del gen p53, lo que silencia su expresión, generando así un mecanismo para evadir la senescencia y la apoptosis (Kumari et al., 2016).

Las mutaciones en el gen RB influyen en la transformación celular en diversos tipos de neoplasias. La proteína Rb suprime la transición de la fase G1 a la fase S en el ciclo celular, lo cual está regulado por la fosforilación de dicha proteína. La forma activa de Rb, que está hipo o desfosforilada, se une a E2F y detiene el crecimiento en la fase G1. En cambio, la forma fosforilada de Rb, que está inactiva, pierde la capacidad de unirse a E2F y activa CDK, permitiendo que las células avancen a la fase S (Kumari et al., 2016).

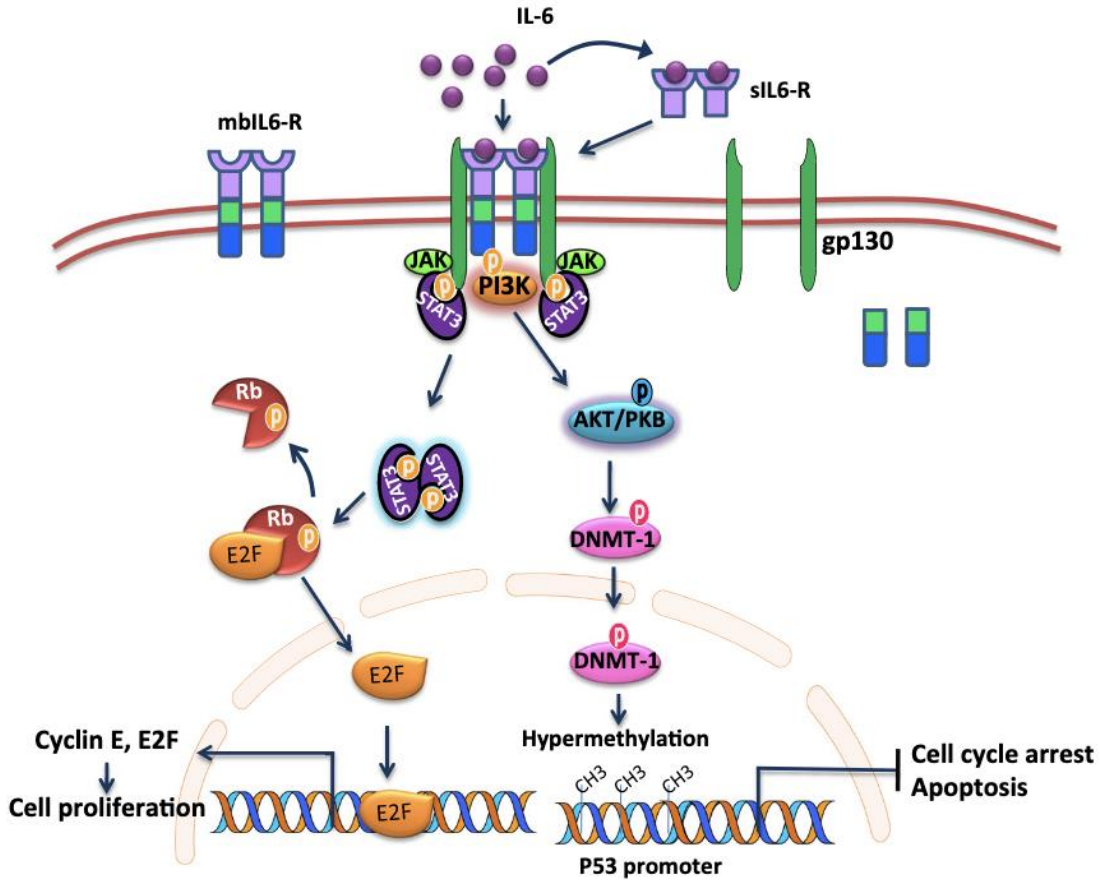


Figura 9. Participación de la interleucina 6 en la evasión de los supresores de crecimiento (tomado de Kumari et al., 2016).

Además de la evasión de las señales de supresión del crecimiento debido a la pérdida de la función de TP53, los tumores también están asociados con un aumento en la expresión de reguladores antiapoptóticos (Bcl-2 Bcl-xL y Mcl-1), así como señales de supervivencia (Igf1/2) y con la regulación negativa de factores proapoptóticos (Bax, Bim y Puma) (Figura 10). Mediante la activación de las vías STAT3 y NFκB, la IL-6 modula el proceso de apoptosis, induciendo la expresión de diversas proteínas antiapoptóticas (Kumari et al., 2016).

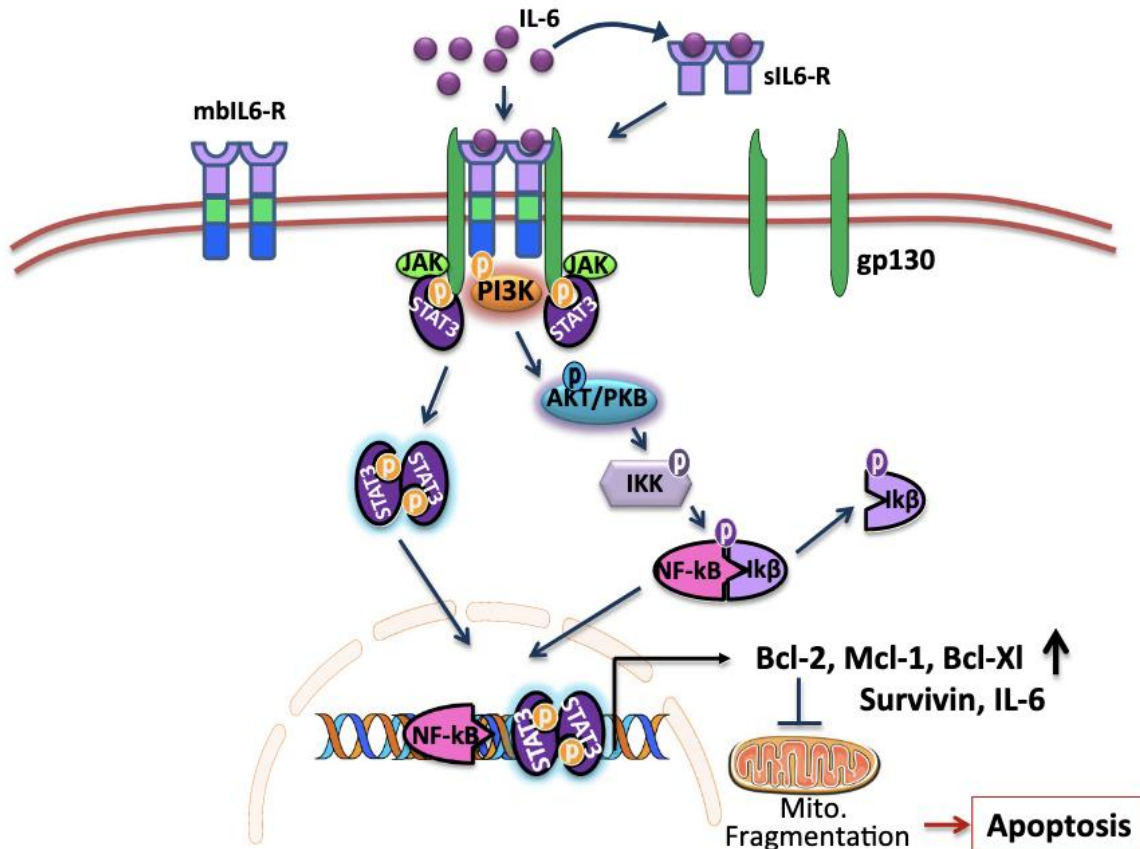


Figura 10. Efecto de la IL-6 en la resistencia a la apoptosis (tomado de Kumari et al., 2016).

La IL-6 también induce la expresión de survivina mediante la unión directa de STAT3 al promotor de survivina, favoreciendo también la supervivencia de las células tumorales. En células de cáncer de próstata la IL-6 activa las vías de señalización de PI3K/AKT, NF-kB y MAPK/ERK, lo que resulta en la regulación positiva de la expresión de ciclina A1. La activación de la señalización de PI3K/AKT inducida por IL-6 también activa la quinasa I κ B (IKK), que inicia la señalización de NF-kB, llevando a la transactivación de proteínas pro-supervivencia y que inducen proliferación (Nakahara et al., 2023).

Las células tumorales emplean la IL-6 para promover su crecimiento y para evadir las vías de muerte celular inducidas por terapias anticancerígenas. Un efecto de ello es la forma en la que IL-6 protege a las células de mieloma múltiple de la

apoptosis causada por dexametasona, mediante la activación de PI3K/AKT y la inactivación de la caspasa-9 (Nakahara et al., 2023).

6. Glucocorticoides

Los glucocorticoides son hormonas esteroideas que se generan principalmente en la corteza de las glándulas suprarrenales, localizadas en la parte superior de los riñones. La producción de glucocorticoides, como el cortisol, es regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (Khadka et al., 2023). En el hipotálamo comienza el proceso de secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH). Esta hormona estimula la hipófisis anterior para que secrete la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), esta a su vez, actúa sobre la corteza suprarrenal (Khadka et al., 2023). Estas hormonas desempeñan diversas funciones en el metabolismo, la respuesta al estrés, la regulación del sistema inmunológico y la inflamación. Su producción está sujeta a un mecanismo de retroalimentación negativa, donde los niveles elevados de glucocorticoides inhiben la liberación de CRH y ACTH, manteniendo así un equilibrio hormonal adecuado (Papavassiliou et al., 2023).

Se ha reportado que los glucocorticoides regulan hasta el 20% del transcriptoma total. Sin embargo, la respuesta a los glucocorticoides varía entre diferentes células y tejidos. En algunos casos, la señalización de glucocorticoides puede suprimir la inflamación dañina, protegiendo así del desarrollo de neoplasias, pero estos roles protectores se reducen o pueden invertirse durante la inflamación crónica. Estas hormonas se utilizan comúnmente como coadyuvantes terapéuticos contra el cáncer para aliviar efectos secundarios adversos como el dolor, náuseas y para la mejora del apetito. (Khadka et al., 2023).

Los glucocorticoides ejercen su acción a través del receptor de glucocorticoides (GR), el cual pertenece a la superfamilia de factores de transcripción dependientes de ligandos. La proteína GR se constituye por tres dominios funcionales: un dominio de transactivación en la región N-terminal, un dominio central de unión al ADN y un dominio C-terminal de unión a ligandos

(Khadka et al., 2023). Además, la proteína GR presenta diversos sitios susceptibles a modificaciones postraduccionales, tales como fosforilación, acetilación y ubiquitinación, las cuales regulan tanto la actividad del receptor como su recambio (Perez Kerkvliet et al., 2020).

Cuando los glucocorticoides se administran a dosis terapéuticas, manifiestan efectos antiinflamatorios potentes, siendo uno de los fármacos más prescritos a nivel mundial (Khadka et al., 2023). Estos compuestos inhiben el reclutamiento de leucocitos hacia los sitios de inflamación mediante la supresión de la producción de quimiocinas, histamina y prostaglandinas, así como mediante la reducción de la expresión de moléculas de adhesión, como integrinas y selectinas, asimismo, los glucocorticoides restringen la expresión de citocinas proinflamatorias, entre las que se incluyen IL-1 β , TNF, INF γ e IL-6, al tiempo que favorecen la expresión de citocinas antiinflamatorias, como IL-10 y TGF β (Khadka et al., 2023; Perez Kerkvliet et al., 2020).

La dexametasona, es un glucocorticoide sintético ampliamente utilizado, ya que, ha demostrado una eficacia prometedora contra diversos tipos de cáncer, principalmente en tumores sólidos (Wang et al., 2016). Atenúa la citotoxicidad inducida por la quimioterapia, especialmente en casos de cáncer de mama y próstata. En el contexto de los tumores cerebrales, la dexametasona se utiliza para reducir la presión intracraneal y el edema asociado (Srivastava et al., 2023). Sin embargo, los efectos beneficiosos del tratamiento con dexametasona están limitados por sus efectos secundarios, que incluyen la supresión del sistema inmunológico, hiperglucemia, psicosis, necrosis avascular y, el efecto secundario más importante, la osteoporosis. Esta limitante acentúa la importancia de realizar ensayos preclínicos o clínicos que minimicen los efectos secundarios y permitan estandarizar posibles dosis terapéuticas (Gong et al., 2020).

En los siguientes trabajos se refleja el uso de dexametasona en diferentes modelos experimentales de cáncer:

La dexametasona ha presentado una inhibición efectiva del crecimiento tumoral, lo cual se asoció con la regulación negativa de JAK3/STAT, el factor 1 α inducible por hipoxia, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la IL-6. Además, se ha reportado que la dexametasona bloquea el efecto estimulante del estrógeno sobre la proliferación de células MCF-7 e inhibió el crecimiento del cáncer de mama dependiente de estrógeno en un modelo de xenoinjerto de ratones desnudos con células MCF-7 (Wang et al., 2016).

En otros estudios, se ha reportado que la dexametasona induce la apoptosis en células osteocíticas MLO-Y4, esto al bloquear la supervivencia mediada por la quinasa de adhesión focal (FAK). También se ha señalado que las especies reactivas de oxígeno y el estrés del retículo endoplásmico (ROS/ER) están involucrados en la apoptosis inducida por dexametasona en osteoblastos y osteocitos. De igual forma, se demostró que la dexametasona promueve la apoptosis de osteocitos y osteoblastos mediante la activación la quinasa-1 activada por TAK-1 (Ding et al., 2015; Plotkin et al., 2007; Sato et al., 2015).

En células de NSCLC, la mayoría de los datos reportados refieren que este glucocorticoide presenta un papel supresor de tumores. Se ha demostrado que la dexametasona se une al GR (figura 11) y suprime la proliferación en células de adenocarcinoma de pulmón A549, esto al inducir la detención del ciclo celular. (Papavassiliou et al., 2023). Este efecto fue el resultado de la hipofosforilación de la proteína Rb, la disminución de la actividad de las quinasas dependientes de ciclina 2 y 4 (CDK2/4), la reducción en los niveles de la proteína ciclina D, el factor de transcripción E2F y Myc, y el aumento de los niveles de la proteína inhibidora de CDK p21. También reguló a la baja la actividad de la vía de señalización de la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK)/quinasa activada por mitógenos (MAPK), y datos adicionales sugirieron que esto podría ser responsable de la detención del ciclo celular y la inhibición del crecimiento observada en las células de adenocarcinoma de pulmón. Todos estos efectos demostraron estar mediados por el GR (Papavassiliou et al., 2023).

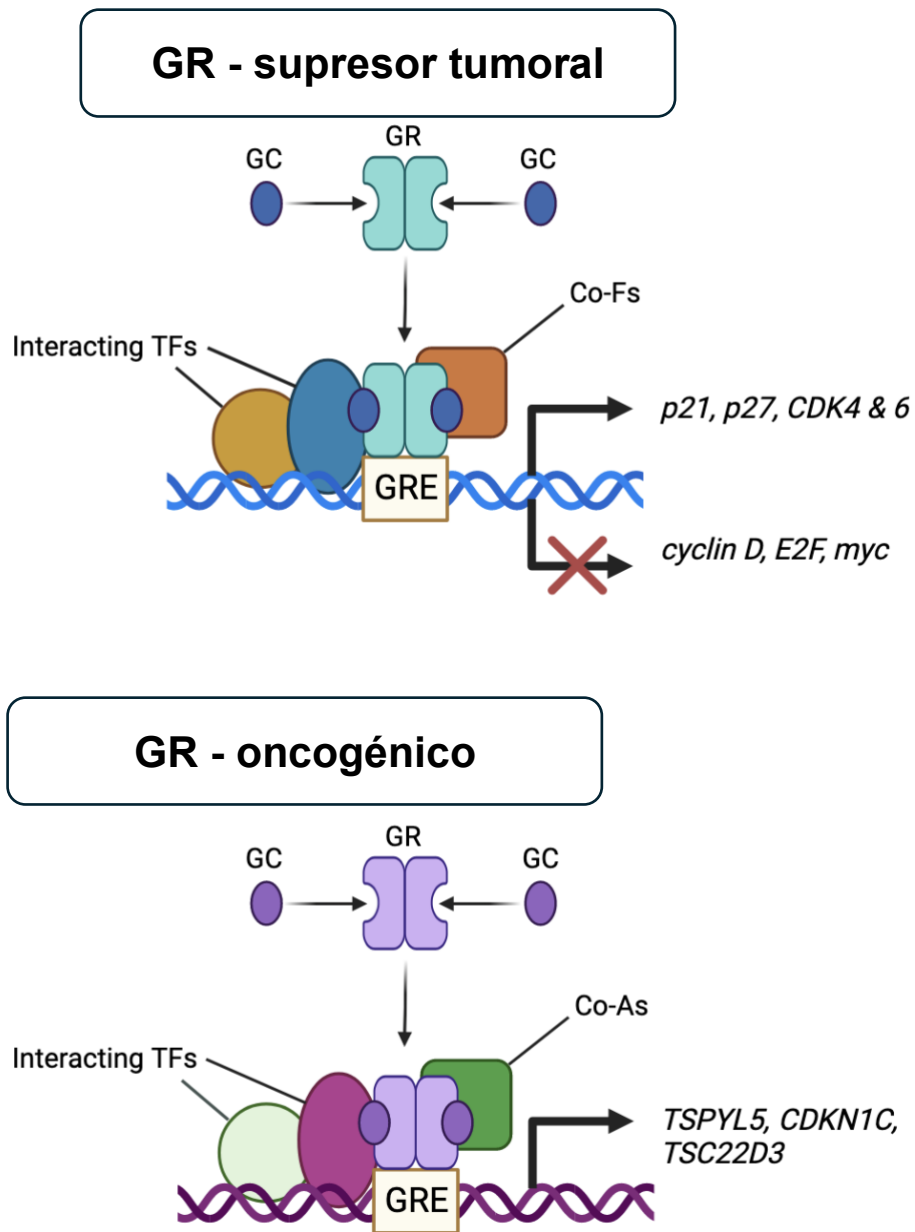


Figura 11. Papel del receptor de glucocorticoides (GR) en células de cáncer de pulmón de células no pequeñas. A) Efecto supresor tumoral: El GR inhibe el crecimiento celular al sobreexpresar genes relacionados con la regulación del ciclo celular (como son p21 y p27). B) Efecto oncogénico: el GR promueve el crecimiento y la migración de las células cancerosas al activar genes protumorales. (Papavassiliou et al., 2023).

Además, el tratamiento con dexametasona provocó la detención del ciclo celular en las células A549, mediada por la regulación al alza de la expresión de las proteínas inhibitoras de p21 y p27, junto con la de las CDK 4 y 6. La dexametasona

también indujo la hiperfosforilación de la proteína Rb, lo que resultó en la senescencia irreversible de las células A549. En datos clínicos, se encontró que la expresión del GR estaba disminuida en pacientes con NSCLC, mientras que una mayor expresión se asoció con una mejor supervivencia global (Srivastava et al., 2023). Se utilizó inmunohistoquímica para respaldar que altos niveles de proteína del GR están presentes en aproximadamente la mitad de los pacientes con NSCLC avanzado y que esta mayor expresión del GR está relacionada con un mejor pronóstico. De manera similar se analizaron datos clínicos y se observó que un aumento en la expresión tanto del GR como de la quinasa N-terminal de c-Jun (c-JNK) se asoció con un pronóstico favorable. Los autores también proporcionaron datos sobre la base molecular de esta correlación, revelando que el tratamiento de las células de CPCNP con dexametasona desencadena la fosforilación de c-JNK, que interactúa con el GR y dificulta su degradación mediada por ubiquitina en el proteasoma (Liu et al., 2017; Papavassiliou et al., 2023; Srivastava et al., 2023).

Sin embargo, existen algunos estudios que atribuyen un rol oncogénico al GR (figura 11). Un estudio reciente de Sasaki et al. (2023) identificó la vía GR/proteína quinasa 1 inducida por glucocorticoides y suero (SGK-1) / gen 1 regulado por N-myc (NDRG-1) como un predictor positivo de recurrencia y un factor de mal pronóstico en el adenocarcinoma de pulmón. En un estudio diferente, Lakshmanan et al (2017). presentaron hallazgos que indican que el eje de señalización mucina 16 (MUC16) / Janus quinasa 2 (JAK2) / transductor de señales y activador de la transcripción 3 (STAT3) / GR promueve el CPCNP. En concreto, los autores demostraron que la fosforilación de JAK2 y STAT3 mediada por MUC16 resulta en la translocación nuclear de STAT3, donde se une al GR. A su vez, el complejo STAT3-GR se une al promotor del gen TSPYL5, que contiene un elemento de respuesta a glucocorticoides, aumentando su expresión y, en consecuencia, promoviendo el crecimiento y la migración de las células de CPCNP (Papavassiliou et al., 2023).

IV. Justificación

El cáncer de pulmón representa un problema de salud de gran importancia, ya que ocupa la tercera causa de mortalidad por cáncer en México. El cáncer de pulmón de células no pequeñas representa aproximadamente el 75% de los casos de tumores pulmonares y se caracteriza por un pronóstico desfavorable debido a su limitada respuesta a los tratamientos convencionales, como son la quimioterapia y la radioterapia. Esta situación resalta la importancia de investigar y desarrollar nuevos enfoques terapéuticos dirigidos a la mejora de las opciones de tratamiento y, en consecuencia, el pronóstico de los pacientes.

En este contexto, la dexametasona, un glucocorticoide de amplio uso clínico se emplea comúnmente como coadyuvante en el tratamiento del cáncer, principalmente por su capacidad para reducir los efectos secundarios de la quimioterapia, como las náuseas y la inflamación. Además, al ser un agente inmunosupresor, la dexametasona influye en el microambiente tumoral al suprimir respuestas inflamatorias crónicas, las cuales están estrechamente relacionadas con la progresión tumoral. Sin embargo, su uso directo sobre el crecimiento, la proliferación y la capacidad migratoria de las células tumorales de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) no ha sido ampliamente estudiado.

Por lo tanto, el presente estudio propone investigar el efecto de la dexametasona en la capacidad proliferativa y migratoria de las células de cáncer de pulmón de células no pequeñas A549.

V. Hipótesis

La dexametasona reduce la capacidad proliferativa y migratoria de la línea tumoral A549, correspondiente a cáncer de pulmón de células no pequeñas.

VI. Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto que ejerce la dexametasona sobre la capacidad proliferativa y migratoria, así como el nivel de expresión de IL-6 en la línea tumoral A549.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la dexametasona sobre la capacidad migratoria en la línea tumoral A549.
- Investigar si la presencia de la dexametasona altera el nivel de expresión de IL-6 en las células A549.
- Evaluar la capacidad proliferativa de las células A549 en presencia de dexametasona.

VII. Metodología

Línea celular A549

La línea celular tumoral A549 se deriva de un carcinoma de pulmón de células no pequeñas (adenocarcinoma pulmonar humano) (Mithoowani & Febbraro, 2022), fue establecida en 1972 aislada de un tejido pulmonar humano carcinomatoso de un paciente adulto con cáncer de pulmón. Son células basales alveolares con morfología epitelial, crecen formando una monocapa (figura 12) y presentan una alta tasa proliferativa en cultivos *in vitro* (Gridelli et al., 2015). Esta línea celular es ampliamente utilizada en investigaciones biomédicas para la investigación del cáncer y estudios toxicológicos (ATTC, 2025).

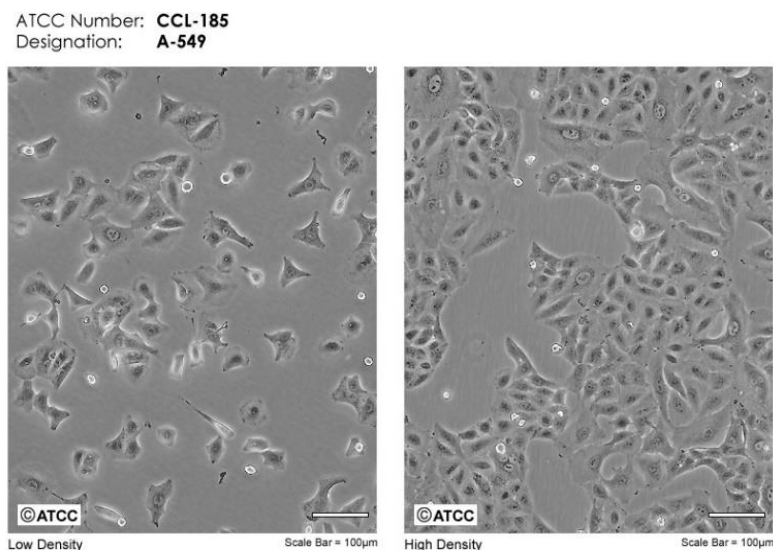


Figura 12 Morfología de la línea celular A549. La micrografía muestra la morfología de las células A549 a baja confluencia (izquierda) y a alta confluencia (derecha), (tomado de ATTC, 2025).

Tamaño de la muestra

Se utilizaron un mínimo de 3 series de muestras experimentales independientes por cada tratamiento utilizado para poder realizar un análisis estadístico en cada uno de los casos.

Cultivo celular

Las células A549 fueron sembradas en matraces de cultivo de poliestireno de 25cm² de superficie, con medio de cultivo Advance-DMEM (Gibco®, EUA) suplementado al 4% de suero fetal bovino (SFB), 1% de L-Glutamina y 1% de una mezcla de antibiótico-antimicótico (25µg/mL de anfotericina B, 10,000µg/mL de estreptomina y 10,000 unidades/mL de penicilina). Se mantuvieron dentro de una incubadora a 27°C con una atmósfera húmeda del 5% de CO₂ y 95% de aire.

El medio de cultivo se renovó cada 48 horas y cada 3 días las células fueron sometidas a un proceso de tripsinización. La tripsinización consiste en los siguientes pasos: retirar el medio de cultivo y lavar 2 veces con 5mL de PBS estéril a una concentración de 1X, adicionar 2mL de tripsina y dejar reposar 3min. Resuspender el contenido celular con 4mL de medio de cultivo, transferir la suspensión celular obtenida a un tubo cónico y centrifugar a 1500rpm por 5min. Decantar el sobrenadante y mantener la pastilla celular en el tubo, resuspender con medio de cultivo fresco, a partir del cual, se toman las alícuotas para regenerar el cultivo madre y se siembran las células que se utilizan para los experimentos posteriores, Esto en condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar.

Tratamiento con dexametasona

Las células A549 se sembraron en dos cajas Petri de 35mm de diámetro: una correspondiente a la condición control y otra destinada al tratamiento con dexametasona. Inicialmente, las células fueron cultivadas hasta alcanzar un 60% de confluencia. Posteriormente, se reemplazó el medio de cultivo y se inició el tratamiento. Este consistió en adicionar 100µL de dexametasona (150µM) a un volumen final de 1.5mL de medio de cultivo, obteniendo una concentración final de dexametasona de 10µM, renovando el medio de cultivo y el tratamiento 24 horas después para un total de 48 horas.

Ensayo de expresión génica

Extracción de ácido ribonucleico total

Una vez finalizado el tratamiento, se procedió a realizar la extracción de ARN total por medio de un kit comercial FavorPrep™, Tissue Total RNA Mini (Favorgene, Biotech Corp., China), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Primero se retiró el medio de cultivo de las placas, se realizaron 2 lavados con 1mL de PBS 1X no estéril. Posteriormente, se añadieron 500µL de tripsina no estéril y se dejaron reposar las placas por 5 minutos. Transcurrido este tiempo, la tripsina fue inactivada mediante la adición de 750µL de medio de cultivo fresco y no estéril. Con la ayuda de una micropipeta las células fueron desprendidas y transferidas a un tubo Eppendorf de 1.5mL, los tubos fueron centrifugados durante 5 minutos a 1500rpm.

El contenido de los tubos Eppendorf fue desechado, conservando únicamente la pastilla celular a la cual se le añadieron 350µL de buffer de lisis previamente suplementado con un 1% de β-mercapto-etanol. Las muestras se vortexearon varias veces con la finalidad de deshacer la pastilla celular y provocar la ruptura de la membrana celular.

El contenido homogeneizado fue transferido a un tubo colector con un filtro blanco y se centrifugó a 12000rpm durante 2 minutos. La columna blanca fue desechada, y el contenido de los tubos colectores se transfirió a tubos Eppendorf de 2mL. Se agregaron 350µL de etanol al 70% (grado molecular y frío) a cada tubo y se vortexearon 3 veces hasta observar la formación de unas hebras. Posteriormente, el contenido de cada tubo fue transferido a un filtro rojo y centrifugado a 12000rpm durante 2 minutos. El líquido de cada tubo colector fue desechado.

Se realizó un lavado con buffer de lavado 1 y dos lavados con buffer de lavado 2, centrifugando los tubos a 12000rpm durante 2 minutos en cada paso. Finalmente, el filtro rojo fue transferido a un tubo estéril de 1.5mL y se agregaron

30µL de agua libre de ARNasas lo más cerca del filtro sin llegar a tocarlo; la muestra se dejó reposar por 3 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 12000rpm por 3min para obtener el ARN total.

Cuantificación de ARN total

Posterior a la extracción, se cuantificó la concentración y la cantidad total de ARN extraído mediante espectrofotometría. Para ello, se empleó una dilución con 4µL de la muestra de ARN y 196µL de agua inyectable, para obtener un volumen final de 200µL y un blanco de 200µL de agua inyectable; la concentración fue evaluada a una longitud de onda de 260nm y la integridad del ARN se evaluó como el cociente obtenido entre las longitudes de onda 260nm y 280nm (A260/A280). El valor del cociente obtenido debió ubicarse en un rango de 1.8-2.0 para considerarse como una muestra de ARN de buena calidad y poder ser empleado en los ensayos de RT-PCR.

Síntesis de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc)

Para la síntesis de la primera cadena de Ácido Desoxirribonucleico complementario (ADNc), se empleó el kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystem, EUA), siguiendo las indicaciones del fabricante. Se realizó un “master mix” (mezcla de componentes) como se muestra en la tabla de abajo, del cual se añadieron 6µL de forma común a todas las muestras.

Reactivo	Volumen
Buffer RT (thermoscientific)	4µl
dNTPs (Applied Biosistem)	1µl
Ramdoms (Applied Biosistem)	0.5µl
Mull, retrotranscriptasa	0.5µl

Para cada tubo de reacción se empleó un volumen final de 20µL, por lo que el volumen restante (14µL) fue completado con la muestra de ARN y agua libre

de ARNasas. Los cálculos para conocer el volumen de muestra requerido fueron realizados mediante una “regla de tres”, de modo que haya 2µg de ARN por cada microlitro.

Condición	Concentración de ARN
x	Xµg — 1000µl
	2µg — Y
	Volumen de la muestra requerido

Se empleó un termociclador Mastercycler S50 (Eppendorf) para realizar el siguiente protocolo: 10 minutos a 25°C, 2 horas a 37°C, 5 minutos a 85°C y finalmente la temperatura de los tubos fue llevada a 4°C, para finalmente ser almacenados en congelación hasta su empleo.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

A partir del ADN complementario obtenido en la retro-transcripción se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el Kit comercial Dream Tac PCR Master Mix (Thermo Scientific, EUA), siguiendo las indicaciones del proveedor, con un volumen total de reacción mínimo de 20µL. Los reactivos que se ocuparon en la reacción se muestran en la siguiente tabla.

Reactivo	Volumen
Green Dream Taq	10µl
Primer Forward	1µl
Primer Reverse	1µl
Agua	6µl
DNA complementario	2µl

En la siguiente tabla se muestran los oligonucleótidos utilizados.

OLIGONUCLEOTIDO	DIRECCIÓN	SECUENCIA	TAMAÑO DEL AMPLICÓN	TEMPERATURA MEDIA
IL-6	FW	AAGAGGCACTGGCAGAAAA	258 pb	64.2°C
	RV	CAGGGGTGGTTATTGCATCT		64.2°C
B-Actina	FW	CAAGAGATGGCCACGGCTGCT	275 pb	73.1°C
	RV	TCCTTCTGCATCCTGTCCGGCA		72.7°C
E-Cadherina	FW	TTCCCTCGACACATTCAAAGT	362 pb	63.8°C
	RV	AGCTGTTGCTGTTGTGCTTAACCC		69.4°C
Vimentina	FW	AGAACCTGCAGGAGGCAGAAGAAT	201 pb	69.4°C
	RV	CTTCCATTTACGCATCTGGCGTT		73.6°C
α -SMA	FW	CTCAGCAGTAGTAACGAAGGAATAG	421 pb	61.6°C
	RV	GACCCTGAAGTACCCGATAGA		62.3°C
Snail 1	FW	CCTTCGTCCTTCTCCTCTACTT	388 pb	61.7°C
	RV	GGCACTGGTACTTCTTGACATC		62.5°C
Zeb 1	FW	GTGGCATACACTACTCAACTAC	458 pb	59.1°C
	RV	CGTTCTTCCGCTTCTCTCTTAC		63.2°C

Se empleó un termociclador Mastercycler S50 (Eppendorf) para realizar el siguiente protocolo: 5 minutos a 94°C, 30 segundos a 94°C, 30 segundos en la temperatura media del oligonucleótido a utilizar, 1 minuto a 72°C, 10 minutos a 72°C y finalmente la temperatura de los tubos se llevó a 4°C para ser almacenados en congelación hasta su empleo.

Separación electroforética a partir de los productos de PCR

A partir de los productos de PCR se procedió a la separación electroforética, utilizando geles de agarosa al 1.2% teñidos con bromuro de etidio (Bret). Para la preparación del gel se disolvieron 600 miligramos de agarosa en 50mL de buffer TAE 1X, la solución será calentada por 1:30 minutos, se añadieron 4 μ L de bromuro de etidio, asegurándose de disolverlo adecuadamente. Después se vertió en la cámara de electroforesis y se colocó el peine para marcar los pozos, dejando gelificar por 25 minutos a temperatura ambiente.

El gel se cargó con 9 μ L de cada muestra en cada pozo y se utilizó como marcador de peso molecular el patrón de ADN comercial Gene Ruler 100pb DNA Laddery (Thermo Scientific, EUA).

La separación electroforética se llevó a cabo en buffer TAE 1X a 65V durante 80 minutos; finalmente, se obtuvieron tres fotografías de cada uno de los geles en el fotodocumentador de geles AXYGEN, bajo luz ultravioleta y auto exposición proporcionada por el mismo programa.

Densitometría

El análisis densitométrico fue realizado con las bandas presentes en las imágenes obtenidas del fotodocumentador, utilizando el software ImageJ que es proporcionado gratuitamente por el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América (NIH, por sus siglas en inglés).

Conteo celular

Las células se sembraron en dos cajas Petri de 35mm con medio Advance DMEM, suplementados con 10% de SFB, 1% de L-glutamina y 1% de una mezcla de antibiótico-antimicótico (25 μ g/mL de anfotericina B, 10,000 μ g/mL de estreptomina y 10,000 unidades/mL de penicilina), una vez se alcanzó una confluencia del 60% de la superficie de la caja Petri, se cambió el medio de cultivo y se dio inicio al tratamiento de las células. Una vez finalizado el tratamiento de 48 horas, se procedió a obtener la suspensión celular para realizar el conteo empleando una cámara de Neubauer. El procedimiento fue el siguiente: a) se retiró el medio de cultivo de ambas placas; b) las células se lavaron 2 veces con 1mL de PBS al 1X; c) se agregaron 500 μ L de tripsina-EDTA 0.25% y se incubaron por 5 min; d) fueron añadidos 750 μ L de medio de cultivo; e) la suspensión celular fue transferida a un tubo tipo Eppendorf y se centrifugó a 3,000 rpm durante 5 minutos; f) se descartó el sobrenadante y la pastilla celular se resuspendió en 1mL de medio de cultivo; g) se transfirieron 20 μ L de la suspensión celular a un tubo Eppendorf y se añadieron 80 μ L de azul de tripano (colorante vital); h) la mezcla se resuspendió varias veces y se tomaron 10 μ L de la misma para cada uno de los lados de la cámara de Neubauer,

posteriormente se procedió a realizar el conteo celular no teñidas de azul (células vivas) en un microscopio de campo claro, el conteo celular se expresó en células/mL.

Ensayo de migración celular

Para evaluar la capacidad migratoria de las células A549 se utilizaron soportes permeables Transwell® con poros de 8µm de diámetro (Corning Incorporated, EUA). Se sembraron células bajo las condiciones anteriormente descritas y se esperó a que alcanzaran una confluencia del 60%, se aplicó el tratamiento y, una vez finalizado se obtuvo una suspensión celular con un número conocido de células realizando un conteo en la cámara de Neubauer. Se sembraron la misma cantidad de células (25,000 células) en el inserto superior de la cámara en medio Advance-DMEM libre de SFB, mientras que en el compartimento inferior de la cámara se colocó el tratamiento con dexametasona disuelto en medio de cultivo Advance-DMEM suplementado con SFB como agente quimioatrayente y se dejó incubar durante 16 horas.

Al concluir el periodo de incubación se retiró el medio de cultivo de los dos compartimentos y las células que lograron migrar a través de los poros de la membrana fueron fijadas con una solución de metanol-acetona 1:1 durante 20 minutos en refrigeración, posterior a eso se retira el metanol-acetona y tiñen con cristal violeta durante 10 minutos, finalmente se retiró el cristal violeta y se realizaron 2 lavados con PBS 1X.

Una vez concluido los pasos anteriores, se obtuvieron 4 micrografías de 4 campos aleatorios de cada una de las condiciones mediante un microscopio de campo claro Leica DM1000 utilizando un objetivo 4X, una cámara Jenoplík Jena modelo ProgRes 10 plus y el programa ProgRes Capture Pro2.1.

Se realizó un conteo celular utilizando el software ImageJ, los datos obtenidos fueron normalizados con respecto al valor control.

Análisis de datos

Una vez finalizó la fase experimental del proyecto, se realizó un análisis e interpretación de los resultados obtenidos, utilizando el programa SigmaPlot 13.0 (Jandel Corporation, EUA).

Se realizó una prueba t de Student para evaluar la diferencia entre los grupos tratados respecto al control, para considerar la diferencia estadísticamente significativa p debe ser menor a 0.05 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

VIII. Resultados

1. La dexametasona reduce la capacidad migratoria de las células A549

En primera instancia, nos planteamos investigar si la dexametasona influye en la capacidad migratoria de las células A549. Para ello las células fueron tratadas con dexametasona $10\mu\text{M}$ durante 48 horas, posteriormente, fueron cultivadas y se realizó un ensayo en cámaras Transwell para evaluar su capacidad migratoria. Como se observa en la figura 13, el tratamiento con dexametasona redujo aproximadamente en un 50% el número de células con capacidad migratoria de manera estadísticamente significativa en comparación con el grupo control ($***p<0.001$). Las células tumorales que tienen un origen epitelial experimentan una transformación durante el crecimiento y progresión tumoral, generando una transición del fenotipo epitelial al fenotipo mesenquimal.

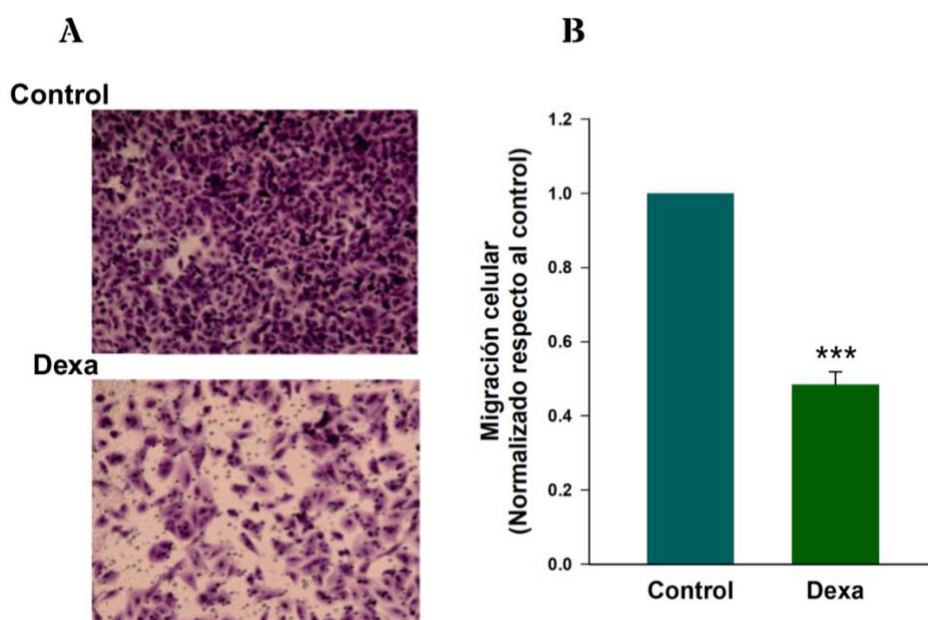


Figura 13 Efecto de la dexametasona sobre la capacidad migratoria de las células A549. Las células A549 fueron tratadas con $10\mu\text{M}$ de dexametasona por 48 horas. **A)** Las imágenes fueron tomadas con una cámara de la marca Jenolík Jena modelo ProgRes 10 plus y el programa ProgRes CapturePro 2.1 en un microscopio de campo claro Leica DM1000 utilizando el objetivo 4X. **B)** Los valores graficados

de la migración celular son el promedio de tres experimentos independientes, normalizados respecto al valor promedio del control.

2. Efecto de la dexametasona sobre los niveles de expresión del ARNm que codifica para diferentes marcadores moleculares relacionados con la transición epitelio-mesénquima (TEM)

Las células tumorales con alta capacidad migratoria, como lo son las células A549, expresan marcadores característicos del fenotipo mesenquimal, entre los que se incluyen la vimentina y la alfa actina de músculo liso (α -SMA). Por el contrario, las células con baja capacidad migratoria suelen presentar un fenotipo epitelial, marcado por la expresión de E-cadherina. Tras observar una disminución en la capacidad migratoria de las células tratadas con dexametasona (10 μ M durante 48 horas), nos propusimos determinar si esta reducción estaba asociada a un aumento en la expresión de marcadores del fenotipo epitelial o a una reducción en marcadores del fenotipo mesenquimal. Mediante ensayos de RT-PCR, se observó que las células tratadas con dexametasona no presentaron cambios en el nivel de expresión de ARNm que codifica para E-cadherina en comparación con el control. Por otro lado, se detectó una reducción del 10% en el nivel de expresión de ARNm que codifica para vimentina en las células tratadas, mientras que los niveles de ARNm que codifica para α -SMA mostraron una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.01$) mayor al 60% en las células tratadas con respecto a la condición control (Figura 14).

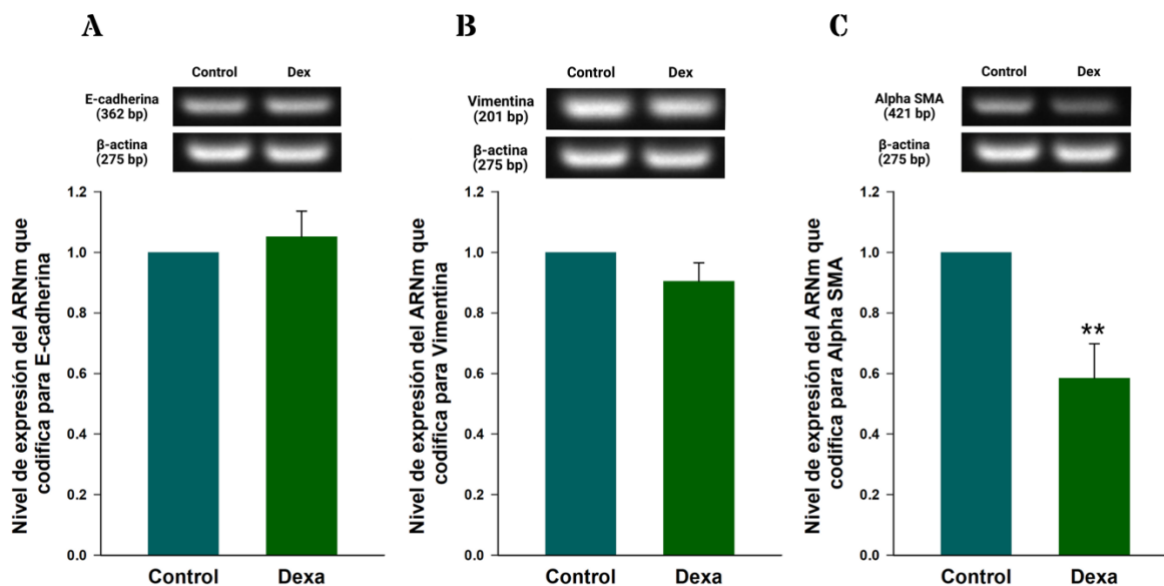


Figura 14 El tratamiento con dexametasona disminuye el fenotipo mesenquimal. Las células A549 fueron tratadas por 48 horas con 10 μ M de dexametasona. Los valores graficados representan el promedio de tres experimentos independientes, normalizados con respecto al valor promedio de la condición control. A su vez, la condición control fue normalizada respecto a β -actina, utilizada como control interno. **A)** Fotografía de los productos de PCR separados mediante electroforesis para el marcador de fenotipo epitelial, E-cadherina, junto con su valor graficado en relación al control. **B) y C)** Fotografías de los productos de PCR separados mediante electroforesis para los marcadores del fenotipo mesenquimal, vimentina y α -SMA, respectivamente, junto con sus valores graficados en relación al control.

Continuando con nuestra serie experimental, evaluamos otros marcadores asociados a la TEM (Figura 15). Para ello analizamos los niveles de expresión del ARNm que codifica para Snail-1 y Zeb-1. Observamos una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.01$) de casi el 40% en los niveles de Snail-1 en comparación con la condición control. Esta reducción sugiere que el tratamiento con dexametasona podría estar inhibiendo la actividad de Snail-1, lo que contribuiría a la reversión parcial del fenotipo mesenquimal. Por otro lado, los niveles de ARNm que codifica para Zeb-1 mostraron una reducción de aproximadamente el 20% respecto al control.

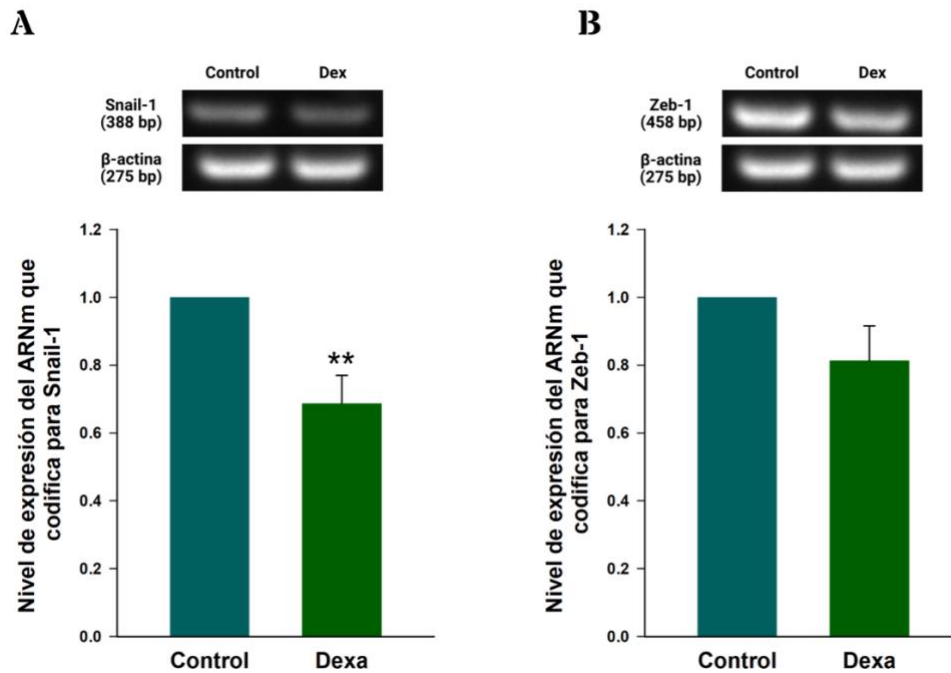


Figura 15 El tratamiento con dexametasona disminuye la expresión de marcadores asociados a la transición epitelio-mesénquima. Bajo las mismas condiciones anteriormente descritas, se midieron los niveles de expresión del ARNm que codifica para dos marcadores asociados a la TEM. **A)** Fotografía de los productos de PCR separados mediante electroforesis para el marcador Snail-1, junto con su valor graficado en relación al control. **B)** Fotografía de los productos de PCR separados mediante electroforesis para el marcador Zeb-1, junto con su valor graficado en relación al control.

3. Efecto de la dexametasona sobre el nivel de expresión del ARNm que codifica para la citocina proinflamatoria IL-6

La dexametasona, un glucocorticoide sintético con propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras, también se ha reportado que presenta efectos antitumorales. La inflamación supone un papel importante en el desarrollo del microambiente tumoral y la eventual progresión del cáncer. La inflamación crónica, en particular, puede inducir daño en el ADN, mutaciones y alteraciones epigenéticas, lo que contribuye a la transformación de células normales en células cancerosas.

En el microambiente tumoral, las células cancerosas reclutan y activan células del sistema inmune, como macrófagos, neutrófilos y células Treg, que

liberan citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento que favorecen la progresión tumoral; citocinas proinflamatorias como la IL-6 desempeña un papel importante en este proceso debido a que estimula la proliferación celular, la supervivencia de las células tumorales y la resistencia a la apoptosis, la IL-6 también se ha asociado con la transición epitelio-mesénquima al activar diversas vías asociadas con la misma.

Al haber confirmado que el tratamiento con dexametasona regula negativamente el nivel de expresión de ARNm que codifica para algunos marcadores mesenquimales asociados a la TEM (α -SMA, Snail-1 y Zeb-1) nos interesó investigar el nivel de expresión del ARNm que codifica para IL-6 como una posible asociación entre el tratamiento con dexametasona y la reducción de la capacidad migratoria en las células A549, observando una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.001$) de aproximadamente el 40% en comparación con la condición control (figura 16).

Estos resultados podrían sugerir que el tratamiento con dexametasona modula negativamente la señalización inflamatoria en las células A549, esto podría tener impacto en el microambiente tumoral, así como en el proceso de transición epitelio-mesénquima, pues se ha reportado que la presencia de IL-6 favorece estos procesos.

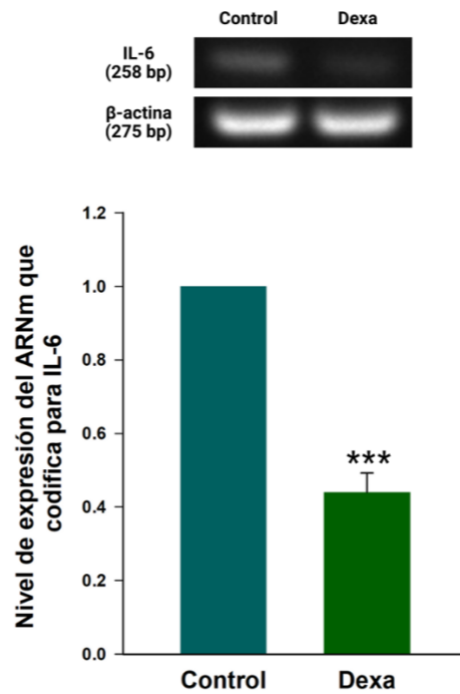


Figura 16 La dexametasona reduce la expresión de IL-6 endógena. Las células A549 fueron tratadas con dexametasona $10\mu\text{M}$ durante 48 horas. Los valores graficados representan el promedio de 3 experimentos independientes, normalizados con respecto al valor promedio de la condición control. A su vez, la condición control fue normalizada respecto a β -actina, utilizada como control interno.

4. La dexametasona reduce la proliferación en la línea celular A549

En diversos trabajos se ha reportado que la dexametasona reduce la capacidad migratoria de diversas líneas celulares, entre las que se encuentra la línea celular A549 a través del arresto del ciclo celular, generando senescencia, sin embargo, la IL-6 está asociada a la activación de diversas vías que activan varios genes antiapoptóticos y proliferativos, promoviendo así la proliferación y supervivencia de las células tumorales.

Basados en esta información y con la finalidad de evaluar el efecto que tiene el tratamiento de dexametasona $10\mu\text{M}$ en la capacidad proliferativa de las células tumorales A549 se realizó una nueva serie experimental en la cual las células fueron tratadas por 48 horas, al finalizar este periodo de tiempo se realizó el conteo celular

en una cámara de Neubauer y utilizando el colorante vital azul de tripano, observando una disminución estadísticamente significativa (figura 17) de aproximadamente el 30% en comparación con la condición control.

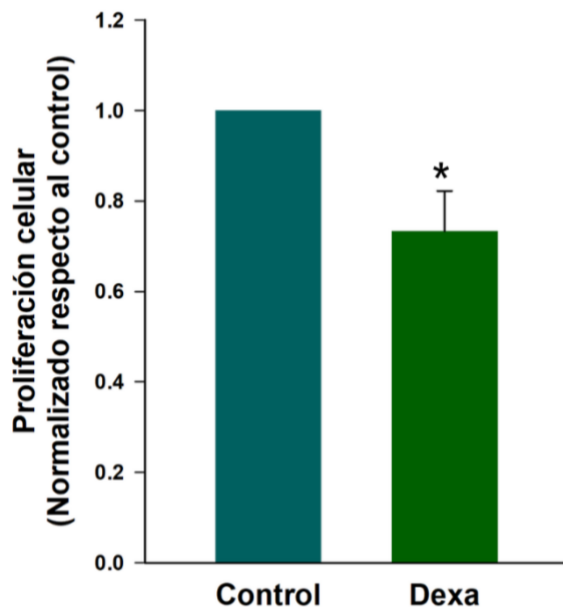


Figura 17 Efecto de la dexametasona sobre el número de células viables A549. Las células A549 fueron tratadas durante 48 horas con dexametasona 10 μ M. Al finalizar el tratamiento se realizó el conteo de las células viables empleando el colorante vital azul de tripano. Los resultados obtenidos se representan en la gráfica y son el promedio de 3 experimentos independientes normalizados con respecto a la condición control. $p < 0.05$.

IX. Discusión

El cáncer de pulmón es el tipo de tumor maligno con mayor incidencia y la principal causa de muerte relacionada con cáncer a nivel mundial, según los datos más recientes del GLOBOCAN (OMS, 2022). Se prevé que esta tendencia se mantenga en el futuro, lo que convierte al descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas en uno de los principales objetivos de la investigación oncológica (Vaghari-Tabari et al., 2021).

La migración e invasión de las células tumorales, que derivan en metástasis, son los procesos responsables de la mayoría de las muertes asociadas a tumores malignos. Por ello, es fundamental estudiar los mecanismos moleculares y celulares implicados en esta fisiopatología, con el fin de desarrollar tratamientos más efectivos que inhiban dichos procesos. Este enfoque es especialmente relevante en neoplasias altamente proliferativas, como el cáncer de pulmón de células no pequeñas (Popper, 2016; Zhang et al., 2019).

Actualmente, los tratamientos anticancerígenos presentan limitaciones significativas, como la toxicidad potencial sobre los tejidos sanos y el desarrollo de resistencia a los fármacos por parte de las células tumorales (Gong et al., 2020). Por esta razón, se suele ocupar una combinación de fármacos, para mejorar los resultados en el tratamiento oncológico. La dexametasona, un glucocorticoide sintético con propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras, se utiliza frecuentemente como coadyuvante en diversos tratamientos contra el cáncer para mitigar los efectos secundarios de la quimioterapia y la radioterapia. Sin embargo, también se ha descrito que este fármaco posee efectos antitumorales, aunque los mecanismos moleculares responsables de dichos efectos aún no han sido completamente elucidados (Gong et al., 2020).

Se ha reportado que, al interactuar con los receptores de glucocorticoides (GR), la dexametasona puede activar o inhibir diversas vías de señalización, lo que resulta en efectos antitumorales que inhiben la progresión del cáncer. No obstante, estos efectos varían dependiendo del modelo de cáncer estudiado (Liu et al., 2017).

En este estudio, observamos que, a una concentración de 10 μ M, la dexametasona reduce no solo la actividad proliferativa de las células A549, sino también su capacidad para migrar. Además, disminuyó la expresión de marcadores asociados con un fenotipo mesenquimal, como α -SMA y Snail-1. Además, la disminución en los niveles de ARNm que codifica para IL-6 en las células tratadas sugiere que la dexametasona podría estar modulando la respuesta inflamatoria, lo que a su vez influye en la progresión tumoral. Estos resultados no son aislados; de hecho, se alinean con lo que otros investigadores han reportado en diversos modelos de cáncer, lo que sugiere que este fármaco podría desempeñar un papel importante en la modulación de procesos para la progresión tumoral, así como la sinergia con otro tipo de fármacos antitumorales (Smith et al., 1998; Zhang et al., 2019).

Investigaciones previas han señalado que la dexametasona presenta efectos antitumorales en distintos tipos de cáncer, sin embargo, su eficacia varía según el tipo de células y las condiciones en las que se aplica. En el contexto del cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), tanto nuestros resultados como en estudios anteriores se sugiere que este fármaco podría ser una alternativa eficaz para inhibir el crecimiento de las células tumorales y limitar su capacidad de diseminarse.

De acuerdo con los resultados de Zhang et al. (2019) con las líneas celulares H1975 y H358 de CPCNP, se reportó que la dexametasona reduce la capacidad migratoria e invasiva de las células, reduciendo así su capacidad para diseminarse a otros tejidos. Observaron que, aplicando un tratamiento de dexametasona con una concentración de 20 mg/ml durante 12 horas, la migración celular disminuyó, mientras que con un tratamiento de 40 mg/ml redujo la invasión en un 60%. Además, en modelos *in vivo*, se encontró que el tratamiento con dexametasona redujo el tamaño de los tumores y la cantidad de células que se extendían a otros órganos. Estos resultados son consistentes con lo que vimos en nuestras pruebas con la línea celular A549, donde la dexametasona no solo redujo el crecimiento de las células, sino que también interfirió en la expresión de elementos moleculares

asociados a la transición epitelio-mesenchima (TEM) que es un proceso importante para el desarrollo de metástasis. Esto se confirmó al observar una disminución en los niveles de expresión del ARNm que codifica para las proteínas mesenquimales como α -SMA y Snail-1, que están relacionadas con la capacidad de las células para moverse e invadir.

La reducción en la proliferación celular que observamos en las células A549 también se ha reportado en otras líneas celulares. De hecho, L. Wang et al. (2016) ya habían reportado que la dexametasona, a la misma concentración de 10 μ M, inhibe la proliferación en líneas celulares de cáncer de pulmón como las A549 y H1299. En mieloma (Chen et al., 1996) y el cáncer de pulmón de Lewis (Sun et al., 2017), han confirmado que la dexametasona puede frenar el crecimiento tumoral, ya sea bloqueando la proliferación celular o induciendo senescencia, generando un arresto en la fase G1 – S del ciclo celular. Estos efectos parecen estar mediados, al menos en parte, por la capacidad de la dexametasona para regular vías de señalización clave, como la supresión de citocinas proinflamatorias como la IL-6, cuya expresión también se reduce en presencia de este fármaco (Chen et al., 1996).

En línea con estos resultados, en estudios realizados con otros modelos celulares de cáncer, como HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) y AsPC1 (adenocarcinoma de páncreas), Gong et al. (2020) demostraron que en ratones atímicos inoculados con estas células y tratados con una dosis de 2 mg/kg, la dexametasona redujo el tamaño de los tumores en animales después de tres semanas de tratamiento. Además, observaron una disminución en los niveles de expresión de Ki-67 (un marcador de proliferación celular) mediante inmunohistoquímica. Estos hallazgos concuerdan con evidencia previa que vincula a la dexametasona con la inhibición de vías proproliferativas, como JAK/STAT y MAPK/ERK, las cuales regulan positivamente la expresión de Ki-67 (Wang et al., 2016; Papavassiliou et al., 2023). Estos resultados se alinean con lo que observamos en nuestras pruebas con las células A549, donde la dexametasona mostró un claro efecto antiproliferativo. Aunque en este trabajo no se evaluaron los

niveles de Ki-67, la disminución en la proliferación celular observada mediante conteo celular sugiere un posible efecto antiproliferativo.

En cuanto a la migración celular, nuestros resultados muestran que la dexametasona reduce significativamente la capacidad de las células A549 para moverse, lo que coincide con lo reportado por Han et al. (2016) en células de cáncer colorrectal HCT116. En ese estudio, la dexametasona inhibió la migración inducida por TGF- β 1, un factor importante en la promoción de la invasión tumoral. Este efecto podría estar relacionado con la modulación de marcadores de la TEM, ya que, en nuestro caso, observamos una disminución en la expresión de los marcadores Alfa-SMA y Snail-1, asociados con un fenotipo mesenquimal más agresivo. De manera similar, Zheng et al. (2012) reportaron que la dexametasona induce la transición de mesenquimal a epitelial en células de cáncer de vejiga, lo que sugiere que la dexametasona podría estar revirtiendo procesos que favorecen la invasión y la metástasis.

Además de estos efectos, la dexametasona parece actuar sobre vías angiogénicas y proinflamatorias, lo que podría explicar parte de su eficacia antitumoral. Estudios como los de Martin et al. (2019) han demostrado que este fármaco reduce la expresión de el factor de crecimiento epitelial vascular (VEGF), el cual es esencial para la formación de nuevos vasos sanguíneos que alimentan al tumor, así como de otras citocinas proinflamatorias como IL-6 e IL-8.

En este contexto, es interesante comparar nuestros hallazgos con los de H. Wang et al. (2007), quienes investigaron los efectos de la dexametasona en un modelo de cáncer de mama 4T1. En su estudio, el pretratamiento con dexametasona potenció significativamente la actividad antitumoral de la adriamicina (ADR), logrando una inhibición casi completa del crecimiento del tumor. Este efecto se atribuyó, en parte, a un aumento en la concentración de ADR que llegaba al tumor, así como a la capacidad de la dexametasona para modular la producción de citocinas. Estos efectos podrían estar mediados por la inhibición de la actividad de NF- κ B, un factor de transcripción que juega un papel central en la regulación de la inflamación y la supervivencia celular, como lo sugieren investigaciones de Zheng

et al. (2012). La capacidad de la dexametasona para modular estas vías podría ser importante para entender su eficacia en la reducción del crecimiento tumoral y la progresión metastásica.

De manera similar, Arai et al. (2008) demostraron que el tratamiento con dexametasona inhibió el crecimiento tumoral en xenoinjertos de OUR-10, un modelo de cáncer de próstata. En este caso, la dexametasona activó el receptor de glucocorticoides (GR), promoviendo su translocación al núcleo, y reduciendo los niveles de citocinas proinflamatorias y proangiogénicas, como IL-6, IL-8 y VEGF. Además, la dexametasona inhibió la actividad de NF- κ B, lo que podría explicar, al menos en parte, sus efectos antitumorales. Estos hallazgos son consistentes con nuestros resultados, donde observamos una disminución en la expresión del ARNm de IL-6, lo que sugiere que la dexametasona podría estar ejerciendo sus efectos a través de la regulación de citocinas y la inhibición de vías de señalización proinflamatorias.

En conjunto, estos estudios respaldan la idea de que la dexametasona tiene un efecto antitumoral multifacético. No solo inhibiendo la proliferación y la migración celular, sino que también modula la respuesta inflamatoria y suprime vías de señalización clave, como NF- κ B. Esto sugiere que la dexametasona podría ser un coadyuvante valioso en el tratamiento del cáncer, especialmente cuando se combina con otros agentes quimioterapéuticos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la dexametasona ejerce un efecto diferencial sobre la capacidad proliferativa y migratoria en función del tipo de cáncer y el contexto del microambiente tumoral.

Por ejemplo, en el estudio de Zheng et al. (2012), la dexametasona aumentó la proliferación celular en cáncer de vejiga, lo que contrasta con los efectos observados en otros modelos tumorales. De manera similar, Liu et al. (2017) reportaron que, en células de cáncer de páncreas (AsPC-1, BxPc-3 y MIA-PaCa-2), la dexametasona aumentó el tamaño de los tumores en modelos *in vivo*. Esta dualidad en los efectos de la dexametasona subraya la importancia de considerar

las particularidades de cada tipo de cáncer al interpretar los resultados y diseñar estrategias terapéuticas.

Los resultados del presente estudio, en conjunto con lo reportado en estudios anteriores, respaldan el papel de la dexametasona como un modulador importante en procesos fundamentales de la actividad tumoral, tales como la proliferación, la migración y la expresión de marcadores asociados al fenotipo mesenquimal. Estos efectos parecen estar regulados, en gran medida, por la capacidad de la dexametasona para alterar vías de señalización relacionadas con la inflamación, la angiogénesis y la transición epitelio-mesenquima (TEM). Sin embargo, a pesar de estos avances, aún existen mecanismos que son poco comprendidos. Es necesario investigar más los procesos moleculares específicos que subyacen a estos efectos, así como explorar su posible aplicación como auxiliar en terapias antitumorales.

La dexametasona, sin duda, representa un fármaco de gran interés en el campo de la investigación del cáncer debido a su versatilidad y a su efecto en múltiples procesos celulares. No obstante, su uso debe ser evaluado y contextualizado, ya que su eficacia y seguridad pueden variar significativamente dependiendo del tipo de tumor y del microambiente tumoral específico. En este sentido, futuras investigaciones deberían centrarse en identificar biomarcadores predictivos que permitan optimizar su uso clínico, así como en diseñar estrategias terapéuticas combinadas que potencialicen sus efectos favorables en el tratamiento del cáncer, mientras minimizan posibles efectos adversos.

X. Conclusiones

- El tratamiento con dexametasona 10uM reduce la capacidad proliferativa de las células A549.
- La dexametasona reduce la capacidad migratoria en las células A549 al disminuir la expresión de los factores de transcripción asociados a la TEM (Snail-1 y Zeb-1) y con ello, de los marcadores moleculares relacionados con el fenotipo mesenquimal (α -SMA y Vimentina).
- La dexametasona reduce el nivel de expresión del ARNm que codifica para IL-6 endógena.

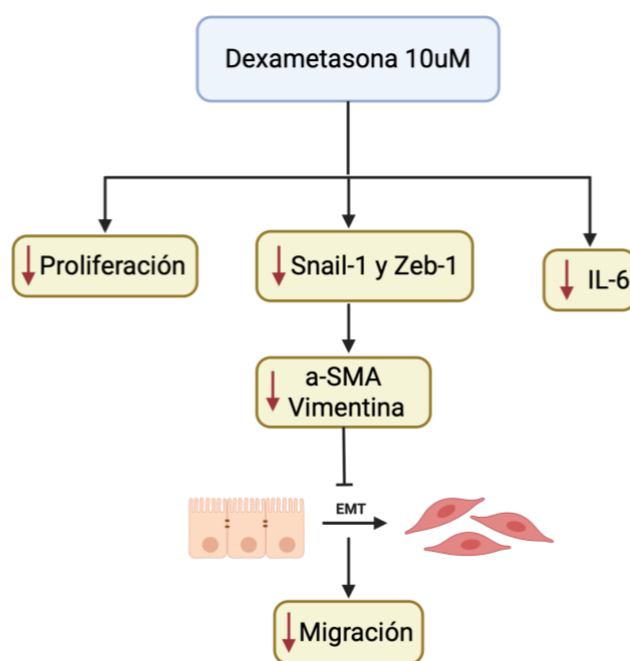


Figura 18 Esquema representativo de las conclusiones presentadas en este trabajo (imagen generada en biorender.com).

XI. Bibliografía

- Alduais, Y., Zhang, H., Fan, F., Chen, J., & Chen, B. (2023). Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment. *Medicine (United States)*, 102(8), E32899. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000032899>
- Arai, Y., Nonomura, N., Nakai, Y., Nishimura, K., Oka, D., Shiba, M., Nakayama, M., Takayama, H., Mizutani, Y., Miki, T., & Okuyama, A. (2008). The growth-inhibitory effects of dexamethasone on renal cell carcinoma in vivo and in vitro. *Cancer Investigation*, 26(1), 35-40. <https://doi.org/10.1080/07357900701638418>
- Arneth, B. (2019). Tumor Microenvironment. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(1), 15. <https://doi.org/10.3390/medicina56010015>
- Briukhovetska, D., Dörr, J., Endres, S., Libby, P., Dinarello, C. A., & Kobold, S. (2021). Interleukins in cancer: from biology to therapy. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 21, Issue 8, pp. 481–499). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00363-z>
- Bussard, K. M., Mutkus, L., Stumpf, K., Gomez-Manzano, C., & Marini, F. C. (2016). Tumor-associated stromal cells as key contributors to the tumor microenvironment. *Breast Cancer Research: BCR*, 18(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s13058-016-0740-2>
- Chen, Y. H., Desai, P., Shiao, R. T., Lavelle, D., Haleem, A., & Chen, J. (1996). Inhibition of myeloma cell growth by dexamethasone and all-trans retinoic acid: Synergy through modulation of interleukin-6 autocrine loop at multiple sites. *Blood*, 87(1), 314-323.
- Couraud, S., Zalcman, G., Milleron, B., Morin, F., & Souquet, P. J. (2012). Lung cancer in never smokers - A review. *European Journal of Cancer*, 48(9), 1299–1311. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.03.007>
- de Visser, K. E., & Joyce, J. A. (2023). The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. In *Cancer Cell* (Vol. 41, Issue 3, pp. 374–403). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.02.016>
- Ding, H., Wang, T., Xu, D., Cha, B., Liu, J., & Li, Y. (2015). Dexamethasone-induced apoptosis of osteocytic and osteoblastic cells is mediated by TAK1 activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 460(2), 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.161>
- Dingemans, A. M. C., Früh, M., Ardizzoni, A., Besse, B., Faivre-Finn, C., Hendriks, L. E., Lantuejoul, S., Peters, S., Reguart, N., Rudin, C. M., De Ruyscher, D., Van Schil, P. E., Vansteenkiste, J., & Reck, M. (2021). Small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Annals of Oncology*, 32(7), 839–853. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.03.207>
- Fares, J., Fares, M. Y., Khachfe, H. H., Salhab, H. A., & Fares, Y. (2020). Molecular principles of metastasis: A hallmark of cancer revisited. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 28. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0134-x>

- Gerstberger, S., Jiang, Q., & Ganesh, K. (2023). Metastasis. In *Cell* (Vol. 186, Issue 8, pp. 1564–1579). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.003>
- Giard, D. J., Aaronson, S. A., Todaro, G. J., Arnstein, P., Kersey, J. H., Dosik, H., & Parks, W. P. (1973). In vitro cultivation of human tumors: establishment of cell lines derived from a series of solid tumors. *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1417–1423. <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1417>
- Gong, J.-H., Zheng, Y.-B., Zhang, M.-R., Wang, Y.-X., Yang, S.-Q., Wang, R.-H., Miao, Q.-F., Liu, X.-J., & Zhen, Y.-S. (2020). Dexamethasone enhances the antitumor efficacy of Gemcitabine by glucocorticoid receptor signaling. *Cancer Biology & Therapy*, 21(4), 332-343. <https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1702399>
- Gridelli, C., Rossi, A., Carbone, D. P., Guarize, J., Karachaliou, N., Mok, T., Petrella, F., Spaggiari, L., & Rosell, R. (2015). Non-small-cell lung cancer. In *Nature Reviews Disease Primers* (Vol. 1). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.9>
- Han, S., Bui, N. T., Ho, M. T., Kim, Y. M., Cho, M., & Shin, D. B. (2016). Dexamethasone Inhibits TGF- β 1-Induced Cell Migration by Regulating the ERK and AKT Pathways in Human Colon Cancer Cells Via CYR61. *Cancer Research and Treatment*, 48(3), 1141-1153. <https://doi.org/10.4143/crt.2015.209>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. In *Cancer Discovery* (Vol. 12, Issue 1, pp. 31–46). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Harrison, P. T., Vyse, S., & Huang, P. H. (2020). Rare epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in non-small cell lung cancer. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 61, pp. 167–179). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.09.015>
- Herbst, R. S., Morgensztern, D., & Boshoff, C. (2018). The biology and management of non-small cell lung cancer. In *Nature* (Vol. 553, Issue 7689, pp. 446–454). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature25183>
- INEGI. (2024). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Recuperado de <https://en.www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia/8823>
- International Agency for Research on Cancer. (2020). GLOBOCAN 2020: Cancer incidence and mortality worldwide. Recuperado de <https://gco.iarc.fr/>
- Khadka, S., Druffner, S. R., Duncan, B. C., & Busada, J. T. (2023). Glucocorticoid regulation of cancer development and progression. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1161768>
- Ku, B. M., Sun, J. M., Lee, S. hoon, Ahn, J. S., Park, K., & Ahn, M. J. (2017). An update on biomarkers for kinase inhibitor response in non-small-cell lung cancer. In *Expert Review of Molecular Diagnostics* (Vol. 17, Issue 10, pp. 933–942). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14737159.2017.1372196>

- Kumari, N., Dwarakanath, B. S., Das, A., & Bhatt, A. N. (2016). Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. *Tumor Biology*, 37(9), 11553-11572. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5098-7>
- Lakshmanan, I.; Salfity, S.; Seshacharyulu, P.; Rachagani, S.; Thomas, A.; Das, S.; Majhi, P.D.; Nimmakayala, R.K.; Vengoji, R.; Lele, S.M.; et al. MUC16 Regulates TSPYL5 for Lung Cancer Cell Growth and Chemoresistance by Suppressing p53. *Clin. Cancer Res.* 2017, 23, 3906–3917.
- Lewandowska, A. M., Rudzki, M., Rudzki, S., Lewandowski, T., & Laskowska, B. (2019). Environmental risk factors for cancer - review paper. In *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (Vol. 26, Issue 1, pp. 1–7). Institute of Agricultural Medicine. <https://doi.org/10.26444/aaem/94299>
- Liu, L., Aleksandrowicz, E., Schönsiegel, F., Gröner, D., Bauer, N., Nwaeburu, C. C., Zhao, Z., Gladkich, J., Hoppe-Tichy, T., Yefenof, E., Hackert, T., Strobel, O., & Herr, I. (2017). Dexamethasone mediates pancreatic cancer progression by glucocorticoid receptor, TGF β and JNK/AP-1. *Cell Death & Disease*, 8(10), e3064. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.455>
- Liu, L., Aleksandrowicz, E., Schönsiegel, F., Gröner, D., Bauer, N., Nwaeburu, C. C., Zhao, Z., Gladkich, J., Hoppe-Tichy, T., Yefenof, E., Hackert, T., Strobel, O., & Herr, I. (2017). Dexamethasone mediates pancreatic cancer progression by glucocorticoid receptor, TGF β and JNK/AP-1. *Cell Death & Disease*, 8(10), e3064. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.455>
- Martin, J. D., Panagi, M., Wang, C., Khan, T. T., Martin, M. R., Voutouri, C., Toh, K., Papageorgis, P., Mpekris, F., Polydorou, C., Ishii, G., Takahashi, S., Gotohda, N., Suzuki, T., Wilhelm, M. E., Melo, V. A., Quader, S., Norimatsu, J., Lanning, R. M., ... Cabral, H. (2019). Dexamethasone Increases Cisplatin-Loaded Nanocarrier Delivery and Efficacy in Metastatic Breast Cancer by Normalizing the Tumor Microenvironment. *ACS Nano*, 13(6), 6396-6408. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b07865>
- Mithoowani, H., & Febbraro, M. (2022). Non-Small-Cell Lung Cancer in 2022: A Review for General Practitioners in Oncology. In *Current Oncology* (Vol. 29, Issue 3, pp. 1828–1839). MDPI. <https://doi.org/10.3390/curroncol29030150>
- Nakahara, Y., Kouro, T., Motoyama, S., Miura, M., Fujita, K., Igarashi, Y., Higashijima, N., Matsuo, N., Himuro, H., Wei, F., Horaguchi, S., Tsuji, K., Mano, Y., Komahashi, M., Saito, H., Azuma, K., & Sasada, T. (2023). Circulating IL-6 and not its circulating signaling components sIL-6R and sgp130 demonstrate clinical significance in NSCLC patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1324898. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1324898>
- Organización Mundial de la Salud. (2022). *Cáncer*. Recuperado el 08 de enero del 2025, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Papavassiliou, K. A., Anagnostopoulos, N., & Papavassiliou, A. G. (2023). Glucocorticoid Receptor Signaling in NSCLC: Mechanistic Aspects and Therapeutic Perspectives. *Biomolecules*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/biom13091286>

- Perez Kerkvliet, C., Dwyer, A. R., Diep, C. H., Oakley, R. H., Liddle, C., Cidlowski, J. A., & Lange, C. A. (2020). Glucocorticoid receptors are required effectors of TGF β 1-induced p38 MAPK signaling to advanced cancer phenotypes in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01277-8>
- Plotkin, L. I., Manolagas, S. C., & Bellido, T. (2007). Glucocorticoids Induce Osteocyte Apoptosis by Blocking Focal Adhesion Kinase-mediated Survival: EVIDENCE FOR INSIDE-OUT SIGNALING LEADING TO ANOIKIS*. *Journal of Biological Chemistry*, 282(33), 24120-24130. <https://doi.org/10.1074/jbc.M611435200>
- Popper, H. H. (2016). Progression and metastasis of lung cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 35(1), 75–91. <https://doi.org/10.1007/s10555-016-9618-0>
- Sasaki, T.; Nakamura, Y.; Hata, S.; Shimada, H. The GR-SGK1-NDRG1 Pathway as a Predictor of Recurrence and Prognosis in Lung Adenocarcinoma After Radical Surgery. *Anticancer Res.* 2023, 43, 2965–2974.
- Sato, A. Y., Tu, X., McAndrews, K. A., Plotkin, L. I., & Bellido, T. (2015). Prevention of glucocorticoid induced-apoptosis of osteoblasts and osteocytes by protecting against endoplasmic reticulum (ER) stress in vitro and in vivo in female mice. *Bone*, 73, 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.12.012>
- Singh, N., Baby, D., Rajguru, J., Patil, P., Thakkannavar, S., & Pujari, V. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African Medicine*, 18(3), 121–126. https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18
- Smith, M. R., Xie, T., Joshi, I., & Schilder, R. J. (1998). Dexamethasone plus retinoids decrease IL-6/IL-6 receptor and induce apoptosis in myeloma cells. *British Journal of Haematology*, 102(4), 1090-1097. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1998.00850.x>
- Srivastava, S., Siddiqui, S., Singh, S., Chowdhury, S., Upadhyay, V., Sethi, A., & Kumar Trivedi, A. (2023). Dexamethasone induces cancer mitigation and irreversible senescence in lung cancer cells via damaging cortical actin and sustained hyperphosphorylation of pRb. *Steroids*, 198, 109269. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109269>
- Sun, N., Ji, H., Wang, W., Zhu, Q., Cao, M., & Zang, Q. (2017). Inhibitory effect of dexamethasone on residual Lewis lung cancer cells in mice following palliative surgery. *Oncology Letters*, 13(1), 356-362. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5422>
- Tan, Z., Xue, H., Sun, Y., Zhang, C., Song, Y., & Qi, Y. (2021). The Role of Tumor Inflammatory Microenvironment in Lung Cancer. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 12). *Frontiers Media S.A.* <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.688625>
- Thai, A. A., Solomon, B. J., Sequist, L. V., Gainor, J. F., & Heist, R. S. (2021). Lung cancer. In *The Lancet* (Vol. 398, Issue 10299, pp. 535–554). Elsevier B.V. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00312-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00312-3)
- Vaghari-Tabari, M., Ferns, G. A., Qujeq, D., Andevvari, A. N., Sabahi, Z., & Moein, S. (2021). Signaling, metabolism, and cancer: An important relationship for therapeutic intervention. In *Journal of Cellular Physiology* (Vol. 236, Issue 8, pp. 5512–5532). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jcp.30276>

- Walker, C., Mojares, E., & Del Río Hernández, A. (2018). Role of Extracellular Matrix in Development and Cancer Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3028. <https://doi.org/10.3390/ijms19103028>
- Wang, H., Wang, Y., Rayburn, E. R., Hill, D. L., Rinehart, J. J., & Zhang, R. (2007). Dexamethasone as a chemosensitizer for breast cancer chemotherapy: Potentiation of the antitumor activity of adriamycin, modulation of cytokine expression, and pharmacokinetics. *International Journal of Oncology*, 30(4), 947-953.
- Wang, J.-J., Lei, K.-F., & Han, F. (n.d.). Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments.
- Wang, L., Li, J., Hao, F., Yuan, Y., Li, J., Lu, W., & Zhou, T. (2016). Dexamethasone suppresses the growth of human non-small cell lung cancer via inducing estrogen sulfotransferase and inactivating estrogen. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37(6), 845-856. <https://doi.org/10.1038/aps.2016.39>
- Winkler, J., Abisoye-Ogunniyan, A., Metcalf, K. J., & Werb, Z. (2020). Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis. In *Nature Communications* (Vol. 11, Issue 1). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18794-x>
- Wong-Rolle, A., Wei, H. K., Zhao, C., & Jin, C. (2021). Unexpected guests in the tumor microenvironment: microbiome in cancer. In *Protein and Cell* (Vol. 12, Issue 5, pp. 426–435). Higher Education Press Limited Company. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00813-8>
- Ye, X., & Weinberg, R. A. (2015). Epithelial-Mesenchymal Plasticity: A Central Regulator of Cancer Progression. *Trends in Cell Biology*, 25(11), 675-686. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.07.012>
- Zhang, D., Zhang, Y., Cai, Z., Tu, Y., & Hu, Z. (2019). Dexamethasone and lenvatinib inhibit migration and invasion of non-small cell lung cancer by regulating EKR/AKT and VEGF signal pathways. *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.8225>
- Zheng, Y., Izumi, K., Li, Y., Ishiguro, H., & Miyamoto, H. (2012). Contrary regulation of bladder cancer cell proliferation and invasion by dexamethasone-mediated glucocorticoid receptor signals. *Molecular Cancer Therapeutics*, 11(12), 2621-2632. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0621>