



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO  
DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Evaluación citotóxica y análisis del  
efecto quimiosensibilizante del ácido  
tánico, ácido gálico, galato de etilo y  
ácido elágico sobre la reversión del  
fenotipo de resistencia en células  
PC-3/PTX de cáncer de próstata

P R E S E N T A:  
Biól. Blanca Elizabeth Hernández Solano

CO-DIRECCIÓN  
Dra. Leticia González Maya  
Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza

Cuernavaca; Morelos

Enero 2022

**BIÓL. BLANCA ELIZABETH HERNÁNDEZ SOLANO**  
**ALUMNA DE MAESTRIA EN FARMACIA**

## **P R E S E N T E**

Por este medio le informo que sesión ordinaria del Consejo Interno de Posgrado (CIP) celebrada el día 13 de octubre de 2021 se analizó su solicitud para asignación de Comisión Revisora y Jurado revisor para la tesis titulada **“Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata”**, y tomando en cuenta su propuesta de posibles sinodales, el CIP designó a los siguientes investigadores como integrantes de la Comisión Revisora:

- |    |   |            |
|----|---|------------|
| 1. | Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez      | Presidente |
| 2. | Dra. María de Lourdes Rodríguez Fragoso | Secretaria |
| 3. | Dra. Patricia Mussali Galante           | Vocal 1    |
| 4. | Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez           | Suplente 1 |
| 5. | Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza   | Suplente 2 |

Se le solicita entregar las tesis al jurado revisor y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Esperando que esta resolución sea en beneficio de su desempeño académico, y sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente  
**Por una humanidad culta**  
*Una universidad de excelencia*

**Dr. Sergio Alcalá Alcalá**  
Jefe del Posgrado en Farmacia

ccp: archivo:

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez; Dra. María de Lourdes Rodríguez Fragoso; Dra. Patricia Mussali Galante; Dr. Alejandro Zamilpa Alvarez; Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza

*No te rindas, aun estas a tiempo  
de alcanzar y comenzar de nuevo,  
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,  
liberar el lastre, retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,  
continuar el viaje,  
perseguir tus sueños,  
destrabar el tiempo,  
correr los escombros y destapar el cielo.*

*No te rindas, por favor no cedas,  
aunque el frio queme,  
aunque el miedo muerda,  
aunque el sol se esconda y se calle el viento,  
aún hay fuego en tu alma,  
aún hay vida en tus sueños,  
porque la vida es tuya y tuyo también el deseo,  
porque lo has querido y porque te quiero.*

*Porque existe el vino y el amor, es cierto,  
porque no hay heridas que no cure el tiempo,  
abrir las puertas quitar los cerrojos,  
abandonar las murallas que te protegieron.*

*Vivir la vida y aceptar el reto,  
recuperar la risa, ensayar el canto,  
bajar la guardia y extender las manos,  
desplegar las alas e intentar de nuevo,  
celebrar la vida y retomar los cielos,*

*No te rindas por favor no cedas,  
aunque el frio queme,  
aunque el miedo muerda,  
aunque el sol se ponga y se calle el viento,  
aún hay fuego en tu alma,  
aún hay vida en tus sueños,  
porque cada día es un comienzo,  
porque esta es la hora y el mejor momento,  
porque no estás sola,  
porque yo te quiero.*

*Mario Benedetti*

Agradezco a la facultad de farmacia de la  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos y  
al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología  
(CONACyT) por la beca 766089 para realizar mis  
estudios de maestría.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A Dios, gracias infinitas por todas las bendiciones que me das.

A mi madre. Mi guerrera, por ser tan valiente, luchona, trabajadora, fuerte, mi mejor y mayor ejemplo de lucha y constancia, por ser mi todo.

A mi padre. Por todo el apoyo y amor que me das incondicionalmente.

A mis princesas mágicas, Yaz, Gara y Ani. Gracias por compartir conmigo este lapso corto de tiempo al que llamamos vida.

A Jessy Sánchez Carranza. Gracias infinitas por creer y confiar en mí.

A Dani, por tu apoyo incondicional, cariño, comprensión y paciencia, gracias infinitas.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Doctora Jessy Sánchez Carranza, jamás será suficiente agradecerle, por tanto. Gracias infinitas por su compromiso con mi desarrollo académico. Gracias infinitas por sus palabras de aliento en los momentos difíciles, por su apoyo, por enseñarme, por su paciencia, por guiarme, sobre todo gracias infinitas por creer y confiar en mí en todo momento, no sabe lo importante que fue, ¡Gracias infinitas ¡.

A la Doctora Leticia González Maya por abrirme las puertas de su laboratorio, por su paciencia y apoyo. ¡Muchas gracias ¡.

A la Doctora Patty Mussali Galante, por acompañarme a lo largo de mi corta vida académica, gracias infinitas por sus correcciones, comentarios y preguntas, pero sobre todo gracias infinitas por creer y confiar en mí, no sabe lo valioso que ha sido contar con su experiencia, presencia y apoyo. ¡Gracias infinitas Doctora ¡.

Al Doctor Enrique Salas por abrirme las puertas de su laboratorio, por sus comentarios, apoyo y paciencia. ¡Gracias infinitas ¡.

Al Doctor Erick Ayala Calvillo por sus correcciones, comentarios y preguntas. Muchas Gracias.

A los miembros del comité revisor de tesis Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez, Dr. Gabriel Navarrete, Dra. Lourdes, Dra. Mussali y Dra. Jessy por sus valiosos comentarios, revisiones y preguntas.

A mis compañeros en la facultad de farmacia, Abdallah Sánchez, Michelle, Cony, Rubí, Janeth, Mirna, Viviana, Leslie y Debora. Por todo su apoyo, comprensión y paciencia. ¡Muchas gracias ¡.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1 CÁNCER.....	4
1.1.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER.....	4
1.1.2 TRATAMIENTO PARA EL CÁNCER.....	6
1.1.3 CÁNCER DE PRÓSTATA.....	8
1.1.4 FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON EL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	8
1.1.5 TRATAMIENTO AL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	10
1.1.6 MECANISMO DE RESISTENCIA A MÚLTIPLES FÁRMACOS .....	10
1.1.7 MECANISMO DE RESISTENCIA A DOCETAXEL EN CÁNCER DE PRÓSTATA.....	13
1.1.8 MECANISMO DE QUIMIOSENSIBILIZACIÓN DE CÉLULAS MDR.....	18
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>20</b>
2.1 PRODUCTOS NATURALES.....	21
2.1.1 POLIFENOLES CON ACTIVIDAD ANTICANCEROSA Y SENSIBILIZANTE.....	21
2.2 MOLÉCULAS CON ACTIVIDAD FRENTE A P-GP.....	24
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>30</b>
<b>4. HIPÓTESIS .....</b>	<b>30</b>
<b>5. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>30</b>
5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
<b>6. METODOLOGÍA .....</b>	<b>32</b>
6.1 CULTIVO CELULAR.....	33
6.2 CONTEO CELULAR.....	33
6.3 GENERACIÓN DE LÍNEA CELULAR PC-3 RESISTENTE A PACLITAXEL.....	33
6.4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE RESISTENCIA DE LAS CÉLULAS PC-3/PTX.....	33
6.5 VALIDACIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA DE CÉLULAS PC-3/PTX POR INMUNOFLUORESCENCIA DE P-gp	34
6.6 CITOTOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN CELULAS PC-3 /PTX.....	35
6.7 EFECTO SENSIBILIZANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN CÉLULAS PC-3/PTX.....	35
6.8 INMUNOFLUORESCENCIA P-gp Y $\beta$ -TUBULIN.....	36
<b>7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>36</b>
<b>8. RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
8.1 GENERACIÓN DE CÉLULAS RESISTENTES PC-3/PTX.....	38
8.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA DE PACLITAXEL SOBRE LA LÍNEA PC-3 Y PC-3/PTX.....	38
8.3 VALIDACIÓN DE RESISTENTES PC-3/PTX.....	40
<b>EFFECTO CITOTÓXICO.....</b>	<b>43</b>
8.4 CURVA DOSIS-RESPUESTA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS SOBRE LA LÍNEA CELULAR PC-	44

3/PTX.....	
<b>EFFECTO SENSIBILIZANTE.....</b>	<b>47</b>
8.5 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS ENTRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y PACLITAXEL SOBRE LA LÍNEA CELULAR PC-3/PTX.....	48
8.6 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS ENTRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y PACLITAXEL SOBRE $\beta$ -TUBULINA EN LA LÍNEA CELULAR PC-3/PTX.....	50
8.7 EFECTO DE ÁCIDO GÁLICO, GALATO DE ETILO, ÁCIDO TÁNICO SOBRE P-GP EN LA LÍNEA CELULAR PC- 3/PTX.....	54
<b>9. DISCUSIÓN.....</b>	<b>57</b>
<b>10. CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>11. CONCLUSIONES PARCIALES.....</b>	<b>68</b>
<b>12. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>69</b>
<b>13. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>71</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA.1. NÚMERO ESTIMADO DE MUERTES Y NUEVOS CASOS EN MÉXICO, 2020, AMBOS SEXOS, TODAS LAS EDADES	5
FIGURA.2. NÚMERO ESTIMADO DE MUERTES Y NUEVOS CASOS EN MÉXICO, 2020, HOMBRES, TODAS LAS EDADES	5
FIGURA.3. MECANISMOS Y SITIOS DE ACCIÓN DE ALGUNOS AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS CONTRA ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS	8
FIGURA.4. CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA DE PACLITAXEL EN CÉLULAS PC-3 PARENTALES(A) Y PC-3/PTX (B). LOS VALORES REPRESENTAN MEDIAS $\pm$ DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3 EXPERIMENTOS INDEPENDIENTES POR TRIPLICADO)	39
FIGURA.5. EXPRESIÓN Y LOCALIZACIÓN DE P-GP EN CÉLULAS PC-3 PARENTALES Y PC-3/PTX RESISTENTES A PACLITAXEL POR MICROSCOPIA DE INMUNOFLUORESCENCIA. CONTRASTE DE FASE, P-GP (VERDE) Y TINCIÓN NUCLEAR DAPI (AZUL).	41
FIGURA.6. FLUORESCENCIA TOTAL DE P-GP EN CÉLULAS PC-3 PARENTALES Y PC-3/PTX. T-STUDENT (* $P<0.05$ ).	42
FIGURA.7. EFECTO DE A) ÁCIDO GÁLICO, B) GALATO DE ETILO, C) ÁCIDO TÁNICO Y D) ÁCIDO ELÁGICO SOBRE LA VIABILIDAD CELULAR EN LA LÍNEA PC-3/PTX. LOS VALORES REPRESENTAN MEDIAS $\pm$ DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3 EXPERIMENTOS INDEPENDIENTES POR TRIPLICADO).	45
FIGURA.8. A) EFECTO DE ÁCIDO GÁLICO, GALATO DE ETILO, ÁCIDO TÁNICO Y ÁCIDO ELÁGICO EN COMBINACIÓN CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PACLITAXEL SOBRE LA VIABILIDAD CELULAR EN LA LÍNEA PC-3/PTX. B) GRÁFICA COMPARATIVA ENTRE $CI_{50}$ DE TODOS LOS TRATAMIENTOS. SE UTILIZÓ PACLITAXEL COMO CONTROL NEGATIVO, LOS VALORES REPRESENTAN LA MEDIA $\pm$ DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3 EXPERIMENTOS INDEPENDIENTES POR TRIPLICADO), *** $P\leq 0.001$ RESPECTO AL CONTROL.	49
FIGURA.9. EFECTO DEL TRATAMIENTO COMBINADO DE ÁCIDO GÁLICO $50\mu\text{M}$ MÁS PACLITAXEL $50\text{NM}$ SOBRE LOS MICROTÚBULOS. CONTRASTE DE FASE, B-TUBULINA (VERDE) Y TINCIÓN NUCLEAR HOECHST (AZUL).	51
FIGURA.10. EFECTO DEL TRATAMIENTO COMBINADO DE GALATO DE ETILO $50\mu\text{M}$ MÁS PACLITAXEL $50\text{NM}$ SOBRE LOS MICROTÚBULOS. CONTRASTE DE FASE, B-TUBULINA (VERDE) Y TINCIÓN NUCLEAR HOECHST (AZUL).	52
FIGURA.11. EFECTO DEL TRATAMIENTO COMBINADO DE ÁCIDO TÁNICO $25\mu\text{M}$ MÁS PACLITAXEL $50\text{NM}$ SOBRE LOS MICROTÚBULOS. CONTRASTE DE FASE, B-TUBULINA (VERDE) Y TINCIÓN NUCLEAR HOECHST (AZUL).	53
FIGURA.12. EFECTO DE ÁCIDO GÁLICO, GALATO DE ETILO Y ÁCIDO TÁNICO SOBRE LA EXPRESIÓN DE P-GP EN CÉLULAS PC-3/PTX POR MICROSCOPIA DE INMUNOFLUORESCENCIA. CONTRASTE DE FASE, P-GP (VERDE) Y TINCIÓN NUCLEAR HOECHST (AZUL).	55
FIGURA.13. FLUORESCENCIA TOTAL DE P-GP CON ÁCIDO TÁNICO, GALATO DE ETILO, ACHILLINA Y ÁCIDO GÁLICO. SE ANALIZÓ ANOVA CON EL MÉTODO DE DUNNET PARA EL ANÁLISIS DE LA FLUORESCENCIA DE CONTROL VS CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS (AT, GE, ACHILLINA, AG).	56

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA.1. CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA DE PACLITAXEL EN CÉLULAS PC-3 Y PC-3/PTX	40
TABLA.2. CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA DE ÁCIDO GÁLICO (AG), GALATO DE ETILO (EG) Y ÁCIDO TÁNICO (AT) EN LA LÍNEA PC-3/PTX.	46
TABLA.3. CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS	49

## RESUMEN

El cáncer es un problema de salud mundial tan solo en 2020 se reportaron 19.3 millones de nuevos casos y 10 millones de decesos y se espera que las cifras de incidencia aumenten a 28.4 millones para el año 2040, particularmente en nuestro país, el cáncer de próstata se posiciona en primer lugar respecto a incidencias pero también en decesos, para su tratamiento se han hecho uso de diversas terapias entre éstas la más comunes son a base de cirugía, radioterapia y quimioterapia, incluso el uso combinado de éstas. Sin embargo, las células cancerosas adquieren resistencia a los fármacos utilizados en la quimioterapia, ya se han documentado diversos mecanismos de resistencia a múltiples fármacos, el más estudiado es la expresión de bombas de eflujo de la súperfamilia de transportadores ABC, entre éstos la glicoproteína P, la cual se ha asociado a mecanismos de resistencia a múltiples fármacos, la glicoproteína lleva a cabo la expulsión del fármaco quimioterapéutico causando bajos niveles intracelulares de éstos fármacos evitando lleven a cabo su efecto. El objetivo del presente trabajo de investigación fue generar un modelo de resistencia a paclitaxel (PC-3/PTX) para posteriormente evaluar el efecto quimiosensibilizante de tres compuestos fenólicos, ácido gálico (AG), galato de etilo (EG), ácido tánico (AT) y ácido elágico (AE) sobre el fenotipo de resistencia en la línea PC-3/PTX. Para lograr con el objetivo primero se cultivó y generó el modelo de resistencia y se validó. Los resultados muestran que en la línea PC-3/PTX requirió de 26 veces más de paclitaxel para inhibir el 50% de la viabilidad celular ( $CI_{50}=392.3\pm 12$  nM) respecto a la línea parental ( $CI_{50}=14.89\pm 1.2$  nM).

Se observó que la resistencia adquirida en línea PC-3/PTX estaba asociada a la sobre expresión de P-gp, como se muestra en la inmunofluorescencia para P-gp. Una vez validado el modelo resistente se determinó la concentración a utilizar en los tratamientos combinados entre los compuestos fenólicos y paclitaxel para evaluar el efecto quimiosensibilizante. Para AG y EG se determinó utilizar 50 $\mu$ M, para AT se utilizó 25 $\mu$ M y para AE 100 $\mu$ M debido a que a estas concentraciones la viabilidad celular era cercana al 80%. Todos los tratamientos combinados a excepción de del tratamiento combinado de AE100 $\mu$ M más paclitaxel ( $CI_{50}=386\pm 10$ nM), el cual mostro un efecto muy similar al tiramiento único con paclitaxel, causaron disminución de la viabilidad celular e incremento

en la sensibilidad al paclitaxel en la línea PC-3/PTX en el siguiente orden: AG50 $\mu$ M más paclitaxel ( $CI_{50}=50.2\pm 5nM$ ; casi 8 veces más sensible), AT25 $\mu$ M más paclitaxel ( $CI_{50}=54.88\pm 7nM$ ; siete veces más sensible), EG50 $\mu$ M más paclitaxel ( $CI_{50}=60.71\pm 7nM$ ; casi siete veces más sensible), respecto al tratamiento único de paclitaxel ( $CI_{50}=392.3\pm 12nM$ ), es decir, AG, AT y EG potencializaron el efecto de paclitaxel en la línea resistente. Posteriormente se analizó si el efecto observado se debió al paclitaxel a través de inmunofluorescencia para  $\beta$ -tubulina, en donde se observó la estabilización de los microtúbulos en todos los tratamientos combinados, a su vez, se observó que el compuesto fenólico AG disminuyó la expresión de P-gp a través de inmunofluorescencia para P-gp, sin embargo, no se observó que AT y EG causaron efecto sobre la expresión de P-gp. Por lo que AG podría estar causando el efecto quimiosensibilizante por disminución en la expresión de P-gp.

Respecto a AT ya se ha reportado en la literatura su actividad sobre la funcionalidad de P-gp, por lo que podría ejercer el efecto quimiosensibilizante por este mecanismo. Por su parte, EG podría estar modulando alguna vía de señalización implicada en la resistencia como la vía ERK.

# 1.INTRODUCCIÓN

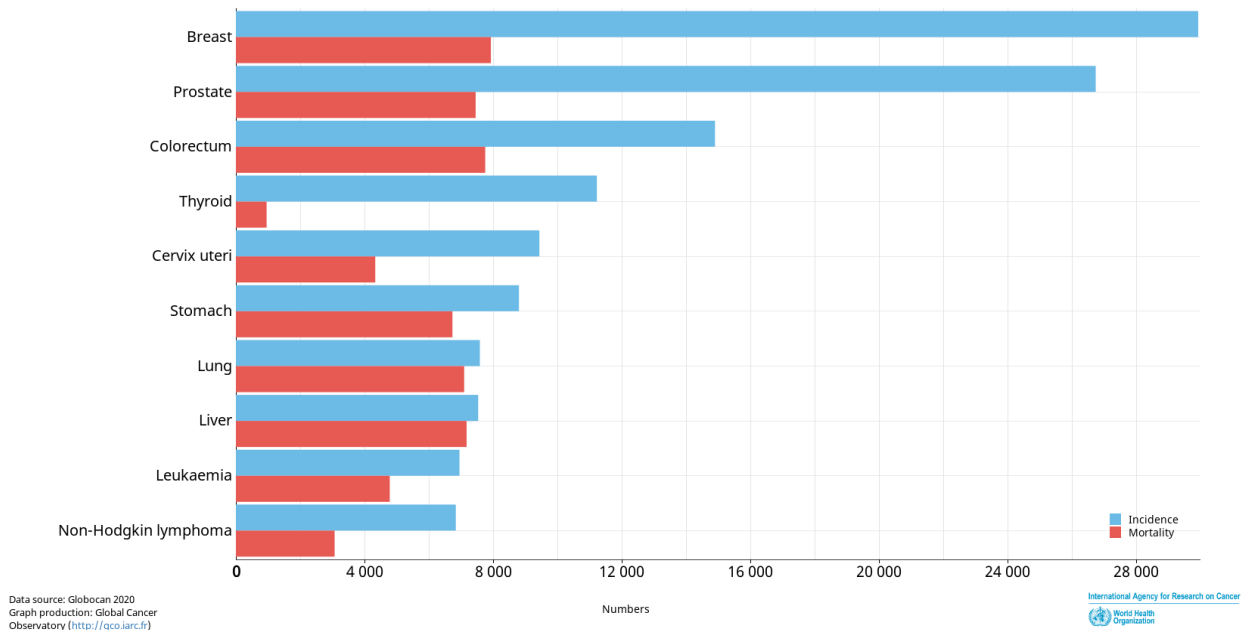
## **1.1 CÁNCER**

El cáncer es un conjunto de enfermedades multifactoriales que comienza a partir de pequeñas masas de células, las cuales inician su formación a partir de una célula precursora proliferante, que ha escapado de los mecanismos de control celular. Las células malignas tienen características particulares como hiper mutaciones provocadas por el daño irreparable del material genético, cambio en el fenotipo celular e invasión a otros órganos (metástasis). Además, las células se caracterizan por ser autosuficientes, son menos propensas a apoptosis e insensibles a los mecanismos de regulación proliferativa (Hanahan & Weinberg, 2011).

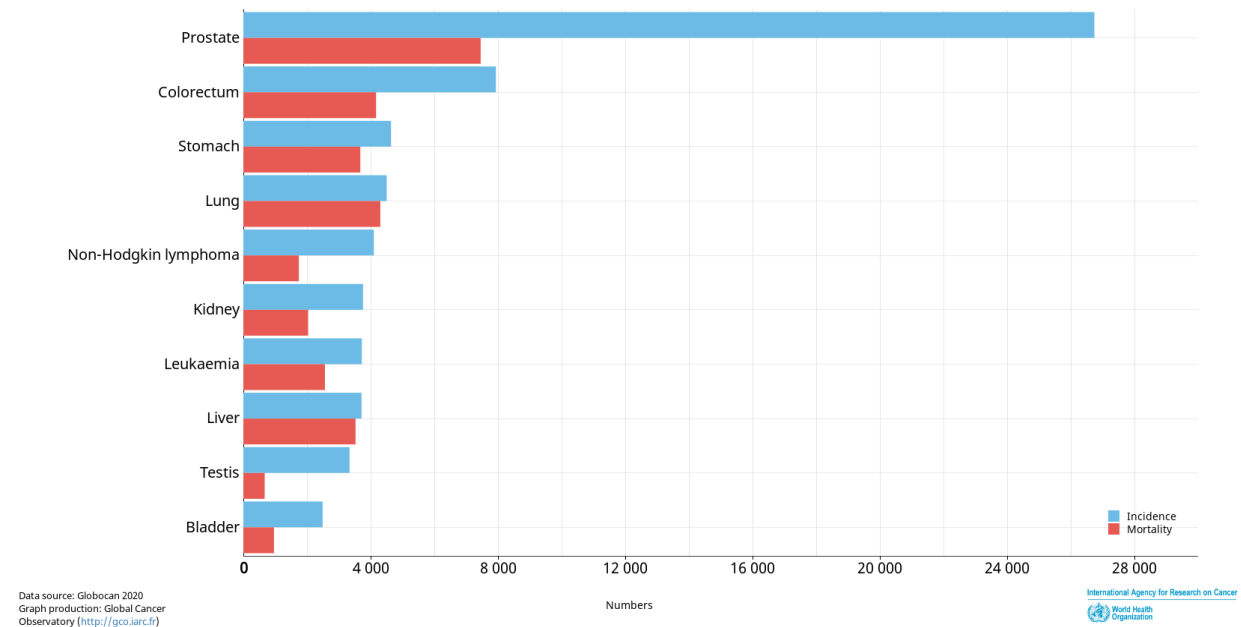
### **1.1.1 Epidemiología del cáncer**

El cáncer es un problema de salud mundial, se reportan 19.3 millones de nuevos casos y 10 millones de muertes en 2020. Se estima incrementa la cifra de nuevos casos a 28.4 millones para el año 2040 (Globocan 2020). Siendo el cáncer de mama el más común (2.3 millones;11.7%), seguido de pulmón (11.4%), colorrectal (10%), próstata (7.3%) y estómago (5.6%). Respecto a la mortalidad, el cáncer de pulmón ocupa el primer lugar (1.8 millones;18%) seguido del cáncer colorrectal (9.4%), hepático (8.3%), estómago (7.7%) y mama (6.9%; Globocan 2020).

En México, el cáncer es la tercera causa de muerte por enfermedad (Reynoso Noverón *et al.*, 2018). El cáncer de mama es el más común, seguido de próstata, colorrectal, tiroides y cervicouterino (Figura 1). Por sexo, en mujeres, el cáncer de mama, cervicouterino y tiroides son los más comunes, respecto a la mortalidad el cáncer de mama ocupa el primer lugar, seguido de cáncer cervicouterino e hígado. En hombres, el cáncer de próstata, colorrectal y estomago son lo más frecuentes y el cáncer de próstata, pulmón y colorrectal presentan mayores defunciones (Figura 2; Globocan 2020).



**Figura.1.** Número estimado de muertes y nuevos casos en México, 2020, ambos sexos, todas las edades. Fuente: Globocan 2020



**Figura.2.** Número estimado de muertes y nuevos casos en México, 2020, hombres, todas las edades. Fuente: Globocan 2020

El cáncer de próstata, pulmón y colorrectal representan el 42% de todos los casos en los hombres, representando el cáncer de próstata 1 de cada 5 nuevos diagnósticos (Siegel, 2018). Se estima que habrá 1.3 millones de casos nuevos y 359,000 muertes en el mundo, siendo el segundo cáncer más frecuente y la quinta causa principal de muerte en hombres (Bray *et al.*, 2018). Desde 2005, el cáncer de próstata ha sido la principal causa de muerte en México (Reynoso Noverón *et al.*, 2018).

### **1.1.2 Tratamientos para el cáncer**

Los tratamientos para el cáncer son diversos, éstos dependerán del tipo de cáncer y lo avanzado de éste. Éstos tratamientos van desde cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal, inmunoterapia y terapia dirigida (INC, 2020).

La radiación ionizante es un tipo de radiación de alta energía que provoca la ionización de un átomo o molécula, forma partículas cargadas eléctricamente que se depositan en las células de los tejidos por los que pasa, la cual puede causar la muerte de células cancerosas o causar cambios genéticos que inducen muerte celular (Baskar *et al.*, 2012).

La quimioterapia tiene como finalidad inhibir la proliferación tumoral evitando la invasión y metástasis, los fármacos utilizados en este tipo de tratamiento se pueden clasificar según su mecanismo de acción (Figura 3).

De acuerdo con Bhosle & Hall, 2009 se clasifican en agentes alquilantes, antimetabolitos, inhibidores mitóticos, antibióticos e inhibidores de la topoisomerasa.

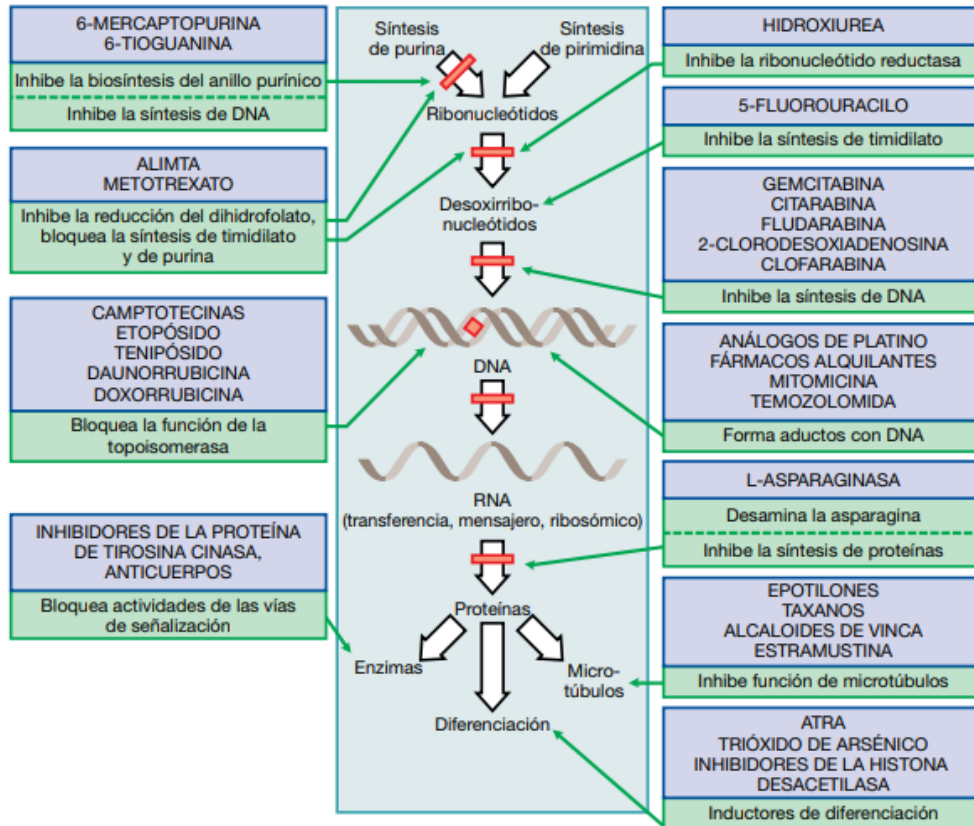
Agentes alquilantes como mostazas nitrogenadas, ciclofosfamida, ifosfamida y agentes derivados del platino (cisplatino, carboplatino y oxaliplatino). Este tipo de agentes poseen tres mecanismos de acción, pueden transferir un grupo alquilo a los residuos de guanina del ADN ( $N^7$  de guanina), también forman enlaces entre átomos en el ADN, crean enlaces cruzados entre cadenas o intracadenas e inducen el mal emparejamiento de nucleótidos (A=T por G=T). Se utilizan para el tratamiento de leucemia linfocítica aguda y crónica, cáncer de mama, ovario, pulmón, cervicouterino y de testículos (Goodman & Gilman, 2010).

Agentes antimetabolitos. Son agentes como 5-FU, gemcitabina, capecitabina, 6-mercaptopurina y metotrexato los cuales imitan a moléculas presentes en la célula e interfieren con la replicación de ADN, estas moléculas son análogos de purina y pirimidina que se incorporan en el ADN durante fase S del ciclo celular. El metotrexato por su parte es un análogo del ácido fólico el cual es un factor de la dieta importante para la síntesis de timidilato y purinas, este fármaco inhibe a la reductasa de hidrofolato y el 5-FU simula al uracilo bloqueando la sintasa de timidilato evitando la síntesis de timidilato (Cheung-Ong *et al.*, 2013).

Agentes antimitóticos. Los alcaloides de la vinca son fármacos que se unen a la subunidad  $\beta$ -tubulina y bloquean la capacidad de polimerización con  $\alpha$ -tubulina en los microtúbulos, de igual manera los taxanos se unen a la subunidad  $\beta$  de la tubulina evitando el ensamblaje de los microtúbulos y por lo tanto evitan así la replicación celular (Goodman & Gilman, 2010).

Sin embargo, las células tumorales resisten a los fármacos quiterapéuticos a través de diversos mecanismos que incluyen la reducción en la absorción de fármacos, aumento del flujo de éstos, activación de los sistemas de desintoxicación, respuesta de reparación de ADN y la prevención de apoptosis inducida por los fármacos, la resistencia a múltiples drogas es la causa principal de la eficacia limitada de la quimioterapia (Lui *et al.*, 2021).





**Fig.3.** Mecanismos y sitios de acción de algunos agentes quimioterapéuticos contra enfermedades neoplásicas (Goodman & Gilman, 2010).

### 1.1.3 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es un tumor de crecimiento relativamente lento, con un tiempo de progresión del orden de 10 a 20 años; sin embargo, la progresión a enfermedad metastásica puede ocurrir en tan solo unos pocos meses para algunos pacientes. Se espera que la carga mundial de cáncer de próstata aumente a casi 2,3 millones de casos nuevos y 740 000 muertes para 2040. La edad avanzada, predisposición étnica, genética, la obesidad y dieta poco saludable son factores de riesgo para el cáncer de próstata. La Secretaría de Salud en México continúa recomendando la detección de cáncer de próstata entre hombres de 50 años o más (Culp *et al.*, 2020).

### 1.1.4 Factores de riesgo asociados con el cáncer de próstata

Se han descubierto varios factores de riesgo (todo aquello que aumente el riesgo de padecer una enfermedad) que pueden inducir cáncer de próstata. Existen factores de riesgo

no modificables como la edad, raza y antecedentes familiares positivos de cáncer de próstata y los factores modificables o de comportamiento como la dieta y actividad física (Leitzmann & Rohrmann, 2012).

Edad. La probabilidad de padecer cáncer de próstata aumenta después de los 50 años, 6 de cada 10 casos de cáncer de próstata se detecta en hombres mayores de 65 años (Sociedad Americana contra el Cáncer, 2019).

Etnia/raza. El riesgo a padecer cáncer de próstata aumenta en los hombres negros africanos y estadounidenses en comparación con los hombres caucásicos, lo que sugiere un papel importante de etnia/raza en el desarrollo de cáncer (Kgatle *et al.*, 2016).

Geografía. Las tasas de incidencia son altas en países del norte y centro de Europa, Australia, Norteamérica e islas del Caribe, aunque no es claro la razón de esta diferencia es probable que deba a diversos factores como el uso de pruebas de detección para el cáncer de próstata, estilo de vida y etnia/raza (Sociedad Americana contra el Cáncer, 2019).

Dieta. Es un factor débilmente relacionado con el riesgo de cáncer, sin embargo, se ha reportado que una dieta con alimentos que contengan antioxidantes como la genisteína, resveratrol, epigallocatequina-3-galato, isotiocinatos, curcumina, ácidos grasos mono o poliinsaturados son factores protectores para el cáncer de próstata. En contraste, el consumo de carnes rojas asadas/fritas o productos lácteos se asocian positivamente a mayor riesgo de cáncer, la enzima  $\alpha$ -metilacil-CoA racemasa participa en la oxidación de ácido grasos *trans* de cadena ramificada de la carne roja, así como de productos lácteos, la cual se encontró sobre expresada en muestras clínicas de cáncer de próstata en comparación con muestras normales (Kgatle *et al.*, 2016).

Fumar. El tabaquismo se asocia de manera positiva con la mortalidad por cáncer de próstata y promueve un comportamiento más agresivo del tumor (Leitzmann & Rohrmann, 2012).

Alcohol. El alcohol genera un metabolito carcinógeno, acetaldehído. El consumo de alcohol es considerado como un factor de riesgo para varios tipos de cáncer, el consumo de 6 bebidas alcohólicas por día está relacionado con mayor riesgo de cáncer de próstata no

avanzado y mayor riesgo en hombres con consumo excesivo de alcohol (Leitzmann & Rohrmann, 2012).

### **1.1.5 Tratamiento al cáncer de próstata**

Los tratamientos para el cáncer de próstata son la cirugía (castración) y terapia asociada a hormonas como tratamiento inicial, sin embargo, el cáncer metastásico adquiere resistencia a esta terapia. Para el cáncer de próstata resistente a la castración se trata con quimioterapia donde se utilizan fármacos como docetaxel, mitoxantrona y carbazitaxel (American Cancer Society, 2020), sin embargo, uno de los principales obstáculos en el tratamiento es la generación de resistencia a múltiples fármacos (MDR), fenómeno asociado con una disminución en la acumulación intracelular del fármaco antineoplásico.

La sobreexpresión de transportadores dependientes de ATP o transportadores ABC (del inglés ATP-binding cassette) implicados en mediar el flujo de salida o la captación de sustratos específicos a través de membranas celulares están generalmente asociadas en la MDR en el cáncer de próstata, dentro de la familia de transportadores, la glicoproteína P (P-gp) se ha identificado sobre expresada en varios tipos tumorales incluido el cáncer de próstata (Famuyiwa *et al.*, 2020).

### **1.1.6 Mecanismos de Resistencia a Múltiples Fármacos**

La resistencia se produce cuando las células se vuelven tolerantes a los tratamientos farmacéuticos, ésta resistencia puede adquirirse mediante la alteración de la diana del fármaco, expresión de bombas de eflujo, cambios en el metabolismo celular, respuesta al estrés del retículo endoplasmático, alteración en la homeostasis del lisosoma e inactivación del fármaco (Cree & Charlton, 2017).

#### **Alteración en la diana del fármaco**

Las células cancerosas pueden desarrollar resistencia a través de una mutación en la diana del fármaco quimioterápico lo que bloquea la capacidad del fármaco para unirse e inhibir a la oncoproteína de interés de manera que la señalización continúa y promueva la supervivencia del tumor (Neel & Bivona, 2017). Otro mecanismo de resistencia que influye en la interacción del fármaco con su diana es la fosforilación. De acuerdo con Yu y colaboradores *et al.*, 2015 la alteración en la fosforilación de tubulina  $\alpha$  y  $\beta$  por la tirosina

quinasa SYK aumenta en el cáncer de ovario después del tratamiento con Paclitaxel (PTX), la inhibición de SYK en combinación con PTX como tratamiento estabiliza los microtúbulos. Por otro lado, en el cáncer de próstata se encontró que la agrupación de microtúbulos en células en interfase se correlaciona con la respuesta clínica, en biopsias obtenidas después de 3 días de la administración de leuprolida con docetaxel se observó la acumulación de microtúbulos, aunque no se esclarece el mecanismo, podría deberse a mecanismos que provoquen la incapacidad de los taxanos para estabilizar los microtúbulos (Gjyrezi *et al.*, 2020).

### **Expresión de bombas de eflujo**

La familia de transportadores ABC está compuesta por 48 miembros dividido en 7 subfamilias (ABC-A hasta ABC-G), tiene un dominio transmembrana (TMD) con seis  $\alpha$ -hélice, sitio donde el sustrato se une al transportador y un dominio de unión a nucleótidos (NBD) con actividad de ATPasa mediante la cual se obtiene la energía para el eflujo de diversos sustratos. A ésta familia también pertenece la proteína asociada a la resistencia a múltiples fármacos (MRP2/ABCC2) la cual tiene tres dominios transmembrana y la proteína de resistencia al cáncer de mama (BRCP/ABCG2) la cual tiene un dominio transmembrana (Offermanns *et al.*, 2008). Sin embargo, esta familia no es la única implicada en la resistencia a múltiples fármacos.

La súperfamilia de acarreadores de solutos (SLC) son esenciales para la absorción de nutrientes, el transporte de iones y la eliminación de residuos. Se clasifican en 52 familias que contienen 395 transportadores que se expresan en el tejido epitelial. La expresión diferenciada de SLC en células cancerosas afecta la eficacia del tratamiento.

Dentro de estas 52 familias se encuentra la familia SLCO que comprende péptidos transportadores de aniones orgánicos (OATP), la familia SLC22A que comprende transportadores aniónicos orgánicos (OAT), catiónicos orgánicos (OCT) y carnitina (OCTN), de las cuales se investiga su papel en la carcinogénesis y resistencia. El acarreador de solutos 1A2 (SLCO1A2) tiene como sustrato a la prostaglandina y hormonas como esteroides y algunos fármacos quimioterapéuticos como metotrexato, PTX, docetaxel y doxorubicina, se encuentra en el cáncer de mama, próstata, colon, páncreas y gliomas (Sutherland & Lowers, 2020). En la próstata, SLCO1A2 puede desempeñar un papel en el

crecimiento de las células cancerosas de la próstata y la inhibición de este SLCO1A2 podría ayudar a atenuar crecimiento del tumor (Arakawa *et al.*, 2012). Por otro lado, se ha identificado el acarreador de solutos SLC1B3, en particular, la disminución en su expresión como un mecanismo de resistencia a taxanos, el silenciamiento de SLCO1B3 ocasiona la disminución de la absorción de docetaxel y carbazitaxel en xenoinjertos PC-3 46C-DOC, por el contrario, la sobre expresión del acarreador ocasiono mayor sensibilidad al docetaxel y carbazitaxel (De Morrée *et al.*, 2016).

### **Cambios en el metabolismo celular**

Las células no cancerosas utilizan el ciclo de glucólisis y del ácido tricarbóxico para fabricar ATP, no así en células cancerosas, las cuales tienen la capacidad de hacer cambios en el metabolismo entre glucólisis y la fosforilación oxidativa para realizar sus funciones en condiciones normóxicas e hipóxicas. En células PANC-1 de carcinoma pancreático se observó mayor expresión del factor inducible por hipoxia  $1\alpha$  en condición hipóxica respecto a la normóxica, así como aumento de la proteína P-gp bajo condición hipóxica (Zhu *et al.*, 2012).

Bajo condiciones estresante como la quimioterapia, falta de nutrientes o hipóxia, la célula cancerosa activa transductores de señales intracelulares de pro-supervivencia como la vía de fosfatilinositol 3-quinasa/proteína quinasa B (PI3K/AKT), vía de quinasas activadas por mitógenos y factores de transcripción como el factor nuclear Kappa B (NFkB), proteína reguladora génica c-myc, quinasa c-Jun N-terminal (c-Jun), factor inducible por hipoxia  $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ), factor nuclear 2 derivado de eritroides (NRF-2) quienes regulan al alza la expresión de ABCB1. La activación de señales celulares ocasiona la reprogramación de las funciones energéticas/metabólicas. En particular PI3K/AKT, c-myc, HIF- $1\alpha$  son inductores del ciclo de glucólisis, principalmente de la hexoquinasa y piruvato quinasa. La glucosa puede ser captada por transportadores GLUT y ser catabolizada por glucolisis o ciclo de Krebs y fosforilación oxidativa. Sí prevalece glucolisis, el ATP se produce en menor medida, pero a un ritmo rápido, aunado a la alcalinización celular promovida por la exportación de iones hidronio ( $H^+$ ) contribuyendo a la actividad catalítica de ABCB1 (Alexa-Stratulat *et al.*, 2019).

## **Respuesta al estrés del retículo endoplasmático (RE)**

En condiciones ambientales desfavorables como hipoxia, el uso de radioterapia y quimioterapia se induce en la célula estrés del retículo endoplasmático ocasionando se active la respuesta a proteínas mal plegadas, esto es un aumento de carga de proteínas mal plegadas o desplegadas dentro del lumen del RE. El estrés es detectado por la proteína regulada por glucosa GRP78 y sensores específicos como la proteína  $1\alpha$  que requiere de inositol ( $IRE1\alpha$ ), proteína quinasa del RE activada por ARN (PERK) y el factor  $\beta$ activador de la transcripción (ATF6), éstos sensores alteran la traducción de polipéptidos limitando la formación de proteínas desplegadas, así mismo PERK activa a transductores de señales HIF- $1\alpha$ , c-Jun y NRF-2 de manera que inducen y regulan la sobreexpresión de ABCB1 (Storm *et al.*, 2016; Alexa-Stratulat *et al.*, 2019).

## **Alteración en la homeostasis del lisosoma**

La hipoxia y exposición a fármacos quimioterápicos como antraciclinas inducen quimioresistencia dependiente de los lisosomas. La hipoxia promueve la expulsión de iones hidrógeno y lactato aumentando el pH intracelular y reduciendo el extracelular, además de aumentar la eficiencia catalítica de ABCB1 y el secuestro de bases débiles dentro de los lisosomas. HIF- $1\alpha$  ocasiona la expresión de ABCB1 y su reciclaje a la membrana lisosomal y el factor transcripcional TFEB permite la biogénesis de los lisosomas por lo que aumenta el secuestro del fármaco acoplado a un aumento de la extrusión del fármaco (Äänismaa & Seelig, 2007; Al-Akra *et al.*, 2018).

En el cáncer de próstata, el docetaxel fue el primer tratamiento que mostro mejorar la supervivencia en hombres con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, sin embargo, la respuesta al docetaxel es de corta duración y la recaída ocurre debido al desarrollo de resistencia (Lima *et al.*, 2021), ocasionada por diversos mecanismos, a continuación, se mencionan algunos.

### **1.1.7 Mecanismos de resistencia de docetaxel en cáncer de próstata**

#### **Transportadores ABC**

En un trabajo realizado por Sánchez y colaboradores en 2009, muestran la expresión de tres transportadores de eflujo (P-gp, MRP1, LRP) sobre diferentes líneas de cáncer de

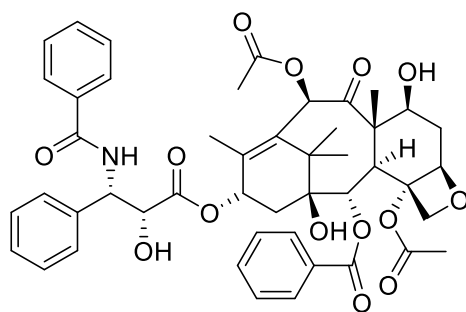
próstata antes y después del tratamiento a 72 horas con diferentes fármacos quimioterapéuticos. Particularmente, encontraron un incremento los niveles de ARNm de P-gp y MRP1 en células tratadas con docetaxel y LRP solo en células tratadas con mitoxantrona. En las células PC-3 de cáncer de próstata tratadas con docetaxel ocasiona se exprese P-gp como una estrategia de supervivencia celular (Sanchez *et al.*, 2009). Por otro lado, en una línea resistente a docetaxel (TaxR) que sobre expresa ABCB1 que fueron tratadas por 24 horas con Elacridar, un inhibidor del transportador, mostro sensibilizar a la línea TaxR e inducir apoptosis, de manera que la disminución de la expresión de ABCB1 incrementa la sensibilidad a docetaxel (Zhu *et al.*, 2013).

MDR1 (P-gp/ABCB1) es la proteína encargada del transporte de los taxanos (PTX, docetaxel; Mimeault & Batra, 2008) la cual se encontró sobre expresada en la línea de cáncer de próstata PC-3 resistente a PTX con una concentración inhibitoria media de 217  $\mu$ M y la línea parental de 5  $\mu$ M (PTX; Takeda *et al.*, 2007). Por otro lado, Da Fonseca *et al.*, 2020 establecieron y validaron tres líneas de cáncer de próstata resistentes a PTX con tres diferentes concentraciones finales de tratamiento nombradas PAC (PAC120, 180 y 240) y analizaron los niveles de proteína y la expresión de ARNm de ABCB1, ABCG2 y ABCC1 donde encontraron que la expresión de ARNm de ABCB1 y ABCG2 en PAC240 aumento 200 veces mientras que ABCC1 aumento seis veces respecto a la línea parental, así mismo los niveles de ARNm de Bcl-xL y Bcl-2 (proteínas anti apoptóticas) fueron mayores respecto a la línea parental, no así para la proteína pro apoptótica Bax. En células CWR-R1 resistentes a PTX y resistente a mitoxantrona encontraron mayormente sobre expresado al transportador ABCG2 comprado con la expresión de ABCB1 (Xie *et al.*, 2008). En las células TaxR resistentes a docetaxel derivada de la línea C4-2B de cáncer de próstata analizaron la expresión génica observando la alteración de un total de 1604 genes de los cuales el 52% estaban sobre expresados y el 18% disminuida su expresión, entre los genes sobre expresados identificaron que el trasportador ABCB1 se sobre expresaba de manera superior en TaxR. Para valuar el papel del transportador en la resistencia trataron a las células con un shRNA, donde las células TaxR mostraron sensibilidad al tratamiento, efecto similar observaron al tratar las células resistentes de cáncer próstata con apigenina (Zhu *et al.*, 2013). Además, la resistencia a PTX en la línea de cáncer de próstata DU-145-TxR se ha asocia con el aumento de agresividad tumoral y la transición epitelial-

mesénquimal (Kim *et al.*, 2013). Los transportadores ABC participan en la resistencia a múltiples fármacos, han sido los más estudiados, sin embargo, existen otros transportadores que participan en la resistencia a múltiples fármacos, como los acarreadores de solutos que se mencionaron anteriormente.

### Alteraciones en la tubulina

Los taxanos derivados del género *Taxus* (paclitaxel;1) son diterpenos que actúan estabilizando los microtúbulos al unirse a  $\beta$ -tubulina, los microtúbulos están implicados en procesos celulares como la mitosis, el mantenimiento de la forma de la célula, transporte celular y señalización celular, la alteración en estos procesos puede ocasionar la detención del ciclo celular en fase G2/M (Kroon *et al.*, 2016). La alta expresión  $\beta$ -tubulina de clase III se ha asociado con tasas de supervivencia pobres en pacientes que se tratan con taxanos, ya que la expresión de esta proteína se incrementó en el cáncer de próstata resistente a la castración. En ensayos de viabilidad celular, células LNCaP transfectadas con  $\beta$ -tubulina de clase III fueron más resistentes al tratamiento con docetaxel que aquellas células transfectadas con vectores control con un aumento en la concentración inhibitoria media de seis veces. Además, el silenciamiento de esta clase de tubulina aumento la sensibilidad de las células de cáncer de próstata al docetaxel (Ploussard *et al.*, 2010).



Paclitaxel (1)

### Variantes del Receptor de andrógenos (AR)

El cáncer de próstata sensible a andrógenos depende de la actividad del receptor de andrógenos (AR). El tratamiento de primera línea para el cáncer de próstata ha sido la castración, sin embargo, a pesar del uso de terapia de privación hormonal el cáncer



reaparece como un cáncer más agresivo, el cáncer resistente a la castración (Feng *et al.*, 2019).

El gen AR está constituido de ocho exones y codifica una proteína que consta de múltiples dominios, un dominio N-terminal de transactivación (NTD), un dominio de unión al ADN (DBD), una región bisagra y un dominio C-terminal de unión al ligando (LBD), la delección de éste último dominio provoca la activación constitutiva de la transcripción de AR. Existen más de 20 variantes de corte y empalme de AR independientes del ligando, entre estas variantes AR-V7 es la variante más conocida, se sabe que AR-V7 se encuentra sobre expresada en el cáncer de próstata resistente a la castración en comparación con el cáncer de próstata sensible a hormonas, además se asocia con una supervivencia corta (Qu *et al.*, 2015). Por otro lado, en las líneas LNCaP y LAPC4 de cáncer de próstata sensibles a hormonas, donde LAPC4 no expresa al supresor de tumores KDM5D mostraron resistencia a docetaxel y al inhibir la señalización de AR con enzalutamida estas células mostraron ser sensibles a docetaxel, respecto a la línea LNCaP que si expresa KDM5D no mostro cambio en la sensibilidad a docetaxel. De manera que KDM5D tiene un efecto sobre la señalización de AR y tiene un efecto en la sensibilidad a docetaxel (Komura *et al.*, 2016). Sin embargo, aún es claro el papel de AR en la resistencia a docetaxel. Por otro lado, el secuestro citoplasmático de AR en células tumorales circulantes aisladas de pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración se correlacionó significativamente con la respuesta clínica a la quimioterapia con taxanos (Darshn *et al.*, 2011).

### **Células madre cancerosas**

Las células madre cancerosas son pequeñas poblaciones de células dentro del tumor y se cree que están involucradas en el proceso de metástasis, recaída y resistencia a la terapia. Este tipo de células están presentes en el cáncer de próstata, una de sus principales características es la formación de tumor esferas en condiciones de cultivo no adherentes. En un estudio evaluaron la sensibilidad a fármacos quimioterapéuticos de prostatosferas y cultivos control, encontraron que las prostatosferas tenían mayor supervivencia celular que las células adherentes cuando se trataron con topotecán (20 y 9.27  $\mu\text{M}$ , respectivamente) o daunorrubicina (3.06 y 2.13  $\mu\text{M}$ , respectivamente). Además, fueron tratadas con

fumitremorgin a 5  $\mu$ M (un inhibidor de ABCG2) y observaron que ambas líneas fueron sensibles al tratamiento con topotecán y daunorrubicina (Castillo *et al.*, 2014).

### **Agrupamiento del centrosoma**

Las quinesinas son proteínas motoras que llevan a cabo hidrólisis de ATP y se desplazan a través de los filamentos de los microtúbulos (Rath & Kozielski, 2012), están involucrados en el proceso de mitosis celular y se han asociado con la resistencia al tratamiento con docetaxel en tumores sólidos, en las líneas de cáncer de mamá MDA-MB231 y MDA-MB468 que sobre expresaban a la quinesina KIF5A mostraron ser resistentes a docetaxel (De S & Stark, 2009). Por otro lado, en líneas de cáncer de próstata resistentes a docetaxel tratadas con ispinesib y S-trityl-L-cisteína, moléculas inhibitoras de KIF5A mostraron tener actividad antitumoral (Wiltshire *et al.*, 2010).

### **Señalización PI3K/AKT**

La vía de señalización de fosfatidilinositol-3-quinasa/proteína quinasa B (PI3K/AKT) es una vía que regula el crecimiento celular, supervivencia y angiogénesis también se ha encontrado desregulada en cáncer de mama y colorrectal. La vía se activa por diversas señales extracelulares, como factores de crecimiento (IGF-1, PDGF, IRS-1), que ejercen su acción a través de receptores con actividad de tirosina quinasa (RTKs) y otros, como PKC, SHP1, Rac, Rho y Src. PI3K consta de dos subunidades; la subunidad regulatoria p85, y la subunidad catalítica p110. Cuando p85 es reclutada en la membrana, se une a p110 y cataliza la síntesis de PIP3, que se une al sitio de homología a plectrina (PH) de proteínas como AKT. Una vez en la membrana, AKT sufre un cambio conformacional que facilita la fosforilación en Thr308 por PDK1 y en Ser473 por mTORC2, para su completa activación. Una vez activada, AKT se transloca al citoplasma y núcleo, donde ejerce sus funciones a través de numerosos efectores como GSK3 $\beta$  y mTOR (mammalian Target of Rapamycin). Bajo condiciones normales, esta señalización es regulada por la fosfatasa homóloga a tensina PTEN, la cual lleva a cabo la conversión de PIP3 a PIP2, sin embargo, la pérdida de éste supresor de tumores ocasiona que la vía este sobre activada (Yang *et al.*, 2019), la pérdida de PTEN se ha reportado en el cáncer de próstata (Lee & McCubrey, 2004). En células C4-2AT6 de cáncer de próstata, bajo

condiciones de privación de andrógenos durante seis meses mostraron tener resistencia a docetaxel y la sobreexpresión de AKT fosforilado (Kosaka *et al.*, 2011).

### **1.1.8 Mecanismo de quimiosensibilización de células MDR**

Avedaño & Menéndez, 2015, resumieron seis posibles mecanismos de acción de los quimiosensibilizadores ABCB1/P-gp.

1. El quimiosensibilizador (p. Ej., Verapamilo) puede reconocerse como sustrato transportador y bloquear el transporte de un ciclo de transporte e hidrólisis de ATP, que a su vez aumenta la concentración intracelular del fármaco.
2. Inhibición competitiva por algunos quimiosensibilizadores como zosuquidar con una afinidad mayor y más prolongada por el sitio de unión del fármaco en el TMD del transportador. Dichos compuestos compiten con el medicamento contra el cáncer en el sitio de unión de la P-gp y bloquea su transporte.
3. Inhibición no competitiva del transportador por algunos quimiosensibilizantes como Cis-flupentixol que se unen a importantes residuos de aminoácidos en sitios de P-gp distintos del sitio de unión al fármaco (inhibición alostérica) y probablemente interfiera con la conformación responsable de la salida del fármaco.
4. Algunos tensoactivos, analgésico y fluidificantes perturban de forma no específica los lípidos de la membrana y, por lo tanto, aumentan las tasas de absorción del fármaco (Ferté, 2000; Eytan, 2005).
5. Algunos quimiosensibilizantes interfieren con el dominio de unión al ATP del transportador. Un ejemplo de este mecanismo es la captura de ADP por vanadato en el sitio de unión de ATP (Urbatsch *et al.*, 1995).
6. Algunos quimiosensibilizadores pueden interferir con el secuestro intracelular del fármaco mediado por ABCB1 en la membrana vesicular (p. Ej., secuestro lisosómico; Yamagishi *et al.*, 2012) haciendo que el fármaco este mas disponible para sus objetivos celulares.

Se ha realizado un extenso trabajo de investigación para inhibir la función y expresión del transportador ABC para volver a sensibilizar las células cancerosas a la

quimioterapia. Por lo tanto, los inhibidores (quimiosensibilizadores) bloquean el transportador para aumentar la acumulación de fármaco en las células cancerosas MDR, lo que resulta en un mejor efecto citotóxico del fármaco quimioterapéutico correspondiente (Wu *et al.*, 2011).

# 2. ANTECEDENTES

## 2.1 Productos Naturales

Se estima que más del 60% de los fármacos utilizados en el tratamiento de cáncer se han originado de productos naturales (Gordaliza, 2007). Los polifenoles comprenden al menos 10,000 compuestos, este grupo se divide en varias clases: flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos. Además, poseen actividad antioxidante y se caracterizan por la presencia de uno o varios grupos fenólicos con capacidad de reducir las especies reactivas de oxígeno debido a esta actividad son de interés para la prevención de diversas enfermedades (Pérez-Jiménez *et al.*, 2010; Abbaszadeh *et al.*, 2019).

Los flavonoides y taninos poseen amplia gama de propiedades farmacológicas, son reconocidos como antioxidantes, antitumorales (Hadi *et al.*, 2000) y quimiopreventivos debido a la capacidad para inhibir diferentes etapas del desarrollo del cáncer (iniciación, promoción y progresión del tumor) lo que podría lograrse mediante la detención del ciclo celular, inducción de apoptosis, inhibición de angiogénesis y antioxidación o combinación de estos efectos (Abubakar *et al.*, 2012). Los compuestos fenólicos son consumidos en la dieta a través de frutas, verduras y bebidas, los cuales pueden modificar eventos celulares y moleculares relevantes para la carcinogénesis (Roy *et al.*, 2002).

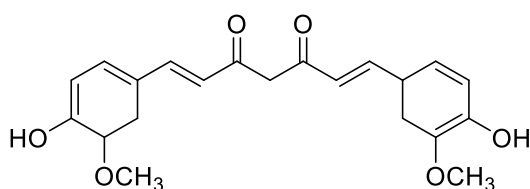
### 2.1.1 Polifenoles con actividad anticancerosa y sensibilizante

Compuestos con actividad antioxidante podrían suprimir el proceso de carcinogénesis durante la fase de inicio por ser moléculas captadoras de radicales libres, inductores o inhibidores de enzimas de fase I y II del metabolismo de xenobióticos (El-Ansari *et al.*, 2019). A continuación, se mencionan algunos ejemplos de compuestos actividad citotóxica.

Curcumina (**2**) es un compuesto fenólico que indujo apoptosis en células de leucemia HL-6 e inhibió el crecimiento de la línea de cáncer de colon HCT-116. Además, en tres líneas de cáncer de colon se analizó su efecto, se utilizó la línea HEY (p53 endógeno), OVCAR429 (p53 endógeno), OCC1 (p53 mutado) y SKOV3 (sin p53). Se observó que el efecto citotóxico es independiente de p53, éste compuesto fenólico suprime la vía de señalización fosfatidilinositol 3-quinasa/proteína quinasa B (PIK/Akt) y activa a la proteína quinasa activada por mitógenos p38 también se reportan cambios en la morfología

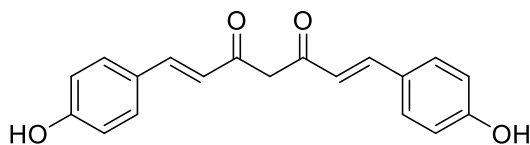
de las células de cáncer de colon como la condensación y fragmentación nuclear, redondeo y encogimiento celular además de la activación de caspasa 3, 8 y 9, liberación del citocromo C en células HEY, procesos asociados con la apoptosis vía intrínseca (Watson *et al.*, 2010).

En el artículo reportado por Dhandapani & Brann. 2007 se evaluó el efecto de curcumina en tres líneas celulares de glioma humano (T98G, U87MG, T67) y una de rata (C6), donde la curcumina causó muerte celular independiente de p53 y caspasa y redujo la actividad de NFκB y de la proteína activadora 1 (AP-1).



Curcumina (2)

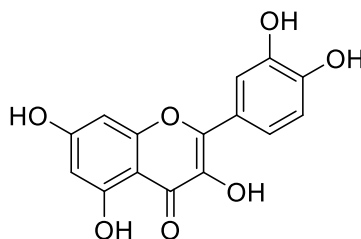
Por otro lado, se evaluó el compuesto activo de los cucuminoides, la *bis*-demetoxi cumarina (3) en células de cáncer de ovario SKOV-3, en donde éste compuesto (15μM) redujo los niveles de fosforilación de IκB-α (Ser32, Ser 36) inhibidor del factor de necrosis tumoral κB (NFκB). La activación de NFκB depende de la fosforilación de su inhibidor IκB para liberar p65 y translocarse al núcleo. También disminuyó la actividad de la metaloproteasa 9 y 2 (MMP 9/2), molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), así como el aumento del inhibidor de metaloproteasa 1 (TIMP-1) dependiente de la dosis (Pei *et al.*, 2016).



*Bis*-demetoxi cumarina (3)

Curcumina (17.40%) y quercetina (4) (28.63%) aumentaron los niveles de apoptosis en células Hep-2 de carcinoma laríngeo. Curcumina en combinación con cisplatino indujeron el 43.46% y la combinación de quercetina con cisplatino el 52.66%, además de presentar un efecto sobre la permeabilidad de la membrana mitocondrial, por ende, se analizó los niveles de Bcl-2 y Bcl-XL, los niveles de Bcl-2 se redujeron en un 14% con curcumina, 19% con quercetina y 33% con cisplatino, en combinación quercetina con cisplatino 56%, con curcumina 44%, respecto a Bcl-XL, los niveles disminuyeron también (curcumina 19%, en combinación 49%; quercetina 25%, en combinación 52%) respecto al control, efecto contrario se mostró sobre caspasa 3, donde la actividad de caspasa aumento cuando se usó como tratamiento la combinación de quercetina (2.39 versus 7.54 veces) y curcumina (2.24 versus 6.42 veces) con cisplatino (Kuhar & Singh, 2007).

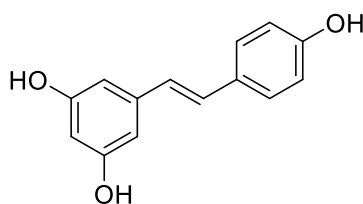
Por otro lado, quercetina activo factores apoptóticos como BAD y BIM e inhibió la transición epitelial-mesénquimal en la línea de cáncer de próstata PC-3 (Saffari-Chaleshtori *et al.*, 2017). En ratones BALB con cáncer de mama suprimió el crecimiento tumoral y prolongo la supervivencia de los ratones (ratones no tratados 38 días; ratones tratados con quercetina 55 días; en combinación quercetina y doxorubicina 65 días) y en células de ratón 4T1 presento efecto antiproliferativo (CI<sub>50</sub> 51.42 μM), en combinación con doxorubicina, quercetina promovió la apoptosis inducida por Doxorubicina (CI<sub>50</sub> 0.40 μM) en condiciones hipóxicas, además de regular a la baja al factor inducible por hipoxia 1α bajo la misma condición, no así en condiciones normóxicas (Du *et al.*, 2010).



Quercetina (4)



El resveratrol (**5**) es otro metabolito secundario presente en la uva, el tratamiento con resveratrol (25µM; 50%; 6 hrs) en combinación con 5-Fluorouracilo (5-FU; 20µM; 60%) mostró inhibir la proliferación celular en melanoma murino B16 además de cambios de expresión de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), ciclooxigenasa-2 (COX-2), fosfoproteína estimulada por vasodilatadores (VASP) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), en éste trabajo también se evaluó el efecto de la combinación 5-FU (10 mg/kg/día) y resveratrol (10 mg/kg/día) en modelo de xenoinjerto B16 durante diez días en donde disminuyó el crecimiento tumoral respecto al control, el incremento de MAPK fosforilada y una disminución de VASP y VEGF (Lee *et al.*, 2015).



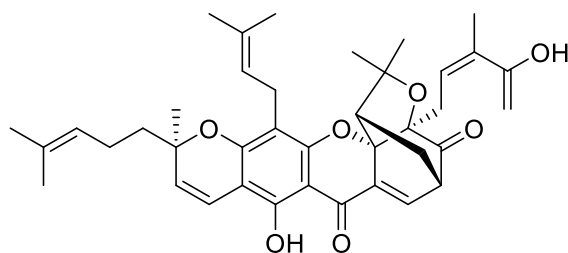
Resveratrol (**5**)

## 2.2 Moléculas con actividad frente a P-gp

El fenómeno de resistencia a múltiples fármacos es un obstáculo para el tratamiento clínico exitoso de diversos fármacos quimioterapéuticos. MDR1 o ABCB1 se ha identificado como causa principal de resistencia y puede actuar de tres diferentes maneras: restringiendo la entrada a fármacos después de la administración oral debido la presencia de la glicoproteína P en la membrana apical de enterocitos del intestino, que los fármacos en la circulación sistémica sean eliminados a través de la orina y bilis por la presencia de P-g en la membrana de los hepatocitos y superficie apical de las células del túbulo proximal del riñón, así como la reducción de la entrada de fármacos a la barrera hematoencefálica (Dewanjee *et al.*, 2017).

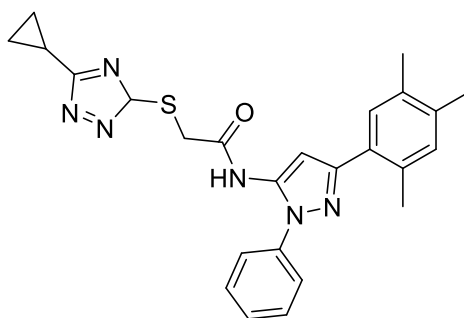
Ácido gambógico (**6**) es un compuesto natural que se encuentra en ensayo clínico de fase II e inhibe la actividad de P-gp, así como los niveles de proteína y posee un efecto

sinérgico con protopanaxadiol en la línea celular resistente MCF-7/ADM (Wang *et al.*, 2013).



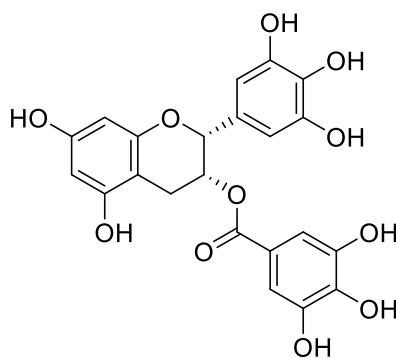
Ácido gambógico (6)

En otro trabajo, analizaron el efecto del compuesto 29 (7) sobre P-gp en células de cáncer de próstata DU145 resistentes a PTX (DU145/TXR), esta molécula es un inhibidor de P-gp que durante periodos prolongados de tiempo mejora la retención de fármacos quimioterápicos dentro de las células cancerosas y disminuye la viabilidad celular y migración (Nanayakkara *et al.*, 2019).



Compuesto 29 (7)

Por su parte, epigallocatequina-3-galato (8) mostró inhibir la expresión del factor inducible por hipoxia  $1\alpha$  y disminuyó los niveles de P-gp dependiente de la dosis bajo condiciones hipóxicas respecto a condiciones normóxicas (Zhu *et al.*, 2012).



Epigallocatequina-3-galato (**8**)

Otro compuesto con capacidad de inhibir a la glicoproteína P es el cannabidiol, donde se reporta la disminución de ARNm de P-gp dependiente de la concentración después del tratamiento con este compuesto en células MCF7 de cáncer de mama (Feinshtein *et al.*, 2013).

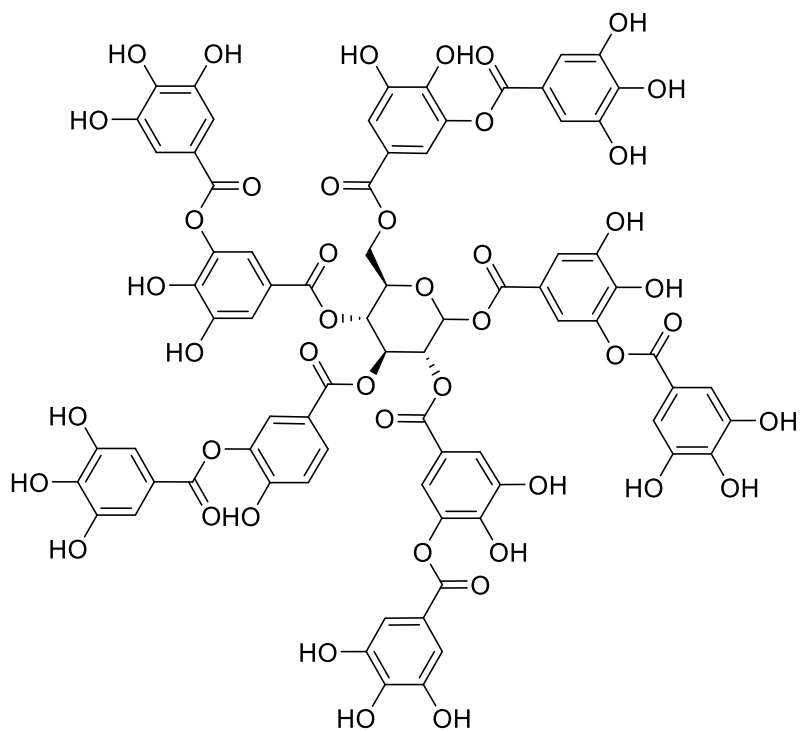
El resveratrol (**5**), compuesto presente en las uvas redujo la expresión del gen ABCB1 cuando se utilizó una concentración de 50  $\mu\text{M}$  en la línea de cáncer gástrico EPG85-257 resistente a daunorrubicina (RDB) en comparación con las células no tratadas (Mieszala *et al.*, 2018). Además, posee afinidad de unión con la glicoproteína a través de la formación de enlaces de hidrogeno con residuos Tyr113 y Tyr949 que se encuentran en el dominio transmembranal de P-gp, por lo que tiene un efecto inhibitorio significativo sobre la proteína en células NCI-H460 de pulmón resistente a múltiples fármacos (Karthikeyan *et al.*, 2014).

Por otro lado, en la línea de cáncer de pulmón A549 resistente a PTX se observó que el compuesto antofina regulo de manera negativa la expresión de la proteína P-gp, así como el ARNm a 10 y 20 nM (Kim *et al.*, 2012).

Por su parte, curcumina (**2**) disminuyó la función y expresión de P-gp de manera dependiente de la concentración en la línea celular KB-V1 de carcinoma cervical humano resistente a múltiples fármacos (Anuchapreeda *et al.*, 2002).

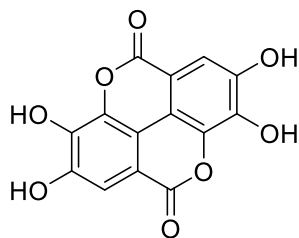
En los últimos años el laboratorio 7 de diagnóstico molecular de la Facultad Farmacia de la UAEM se ha centrado en el estudio de los compuestos presentes en la especie *Caesalpinia coraria* que ha mostrado gran contenido de compuestos fenólicos entre estos destacan ácido tánico (AT; **9**), galato de etilo (GE;**11**) y ácido gálico (AG; **12**). Estos compuestos mostraron un efecto citotóxico en varias líneas celulares incluida la línea celular PC-3 de cáncer de próstata. AG por ejemplo mostró actividad antiproliferativa en la línea de hepatocarcinoma (Hep3B  $CI_{50}=35.8\mu\text{g/mL}$ ), cáncer cervical (HeLa  $CI_{50}=58\mu\text{g/mL}$ ; CaSki  $CI_{50}=51.72\mu\text{g/mL}$ ) y cáncer próstata (PC-3;  $CI_{50}=58.7\mu\text{g/mL}$ ) en las que causo arresto en la fase S del ciclo celular a excepción de la línea CaSki, ya que arresto en fase G2/M y en hepatocitos inmortalizados humanos IHH ( $CI_{50}=146\mu\text{g/mL}$ ), en células Hep3B disminuyó la expresión de BCL2 y aumento el de BAX así como la actividad de caspasas 3/7 (Sánchez-Carranza *et al.*, 2017).

(Darbin *et al.*, 2015), reporto la actividad anti proliferativa del ácido tánico; células de cáncer gingival YD-38 tratadas con AT causaron arresto celular en la fase G1 del ciclo celular, apoptosis e inhibición de la vía Jak2/STAT3 al prevenir su expresión y la fosforilación, también se observó la inhibición de Bcl-2 y el aumento en la localización mitocondrial de Bax que condujo a la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, lo que resulta en la liberación del citocromo C al citosol, además éste compuesto induce apoptosis en la línea celular de cáncer de mama MCF-7 (Soyocak *et al.*, 2012). Por otro lado, Nagesh *et al.*, 2018 reportó que el AT induce estrés del retículo endoplasmático, apoptosis y disminuye la expresión de la metaloproteinas 2 y 9 en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata.



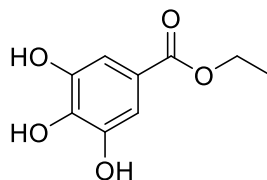
Ácido tánico (9)

Por su parte ácido elágico (AE;10) a 50 $\mu$ M redujo la viabilidad células en células HCT116 Y HT29 de cáncer de colorrectal en un 24.1% y 30.1% respectivamente (Fang *et al.*, 2015). En células DU145 de cáncer de próstata inhibió la proliferación celular (Carota *et al.*, 2019).



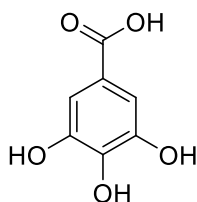
Ácido elágico (10)

El GE es un derivado del AG que ha mostrado tener efecto sobre la expresión de proteína Bcl-2 (antiapoptótica), disminuyendo su expresión y un aumento en la expresión de la proteína Bax (pro-apoptótica; Mohan *et al.*, 2017).



Galato de etilo (11)

Por otro lado, el compuesto fenólico, AG ha mostrado actividad inhibitoria de la metaloproteinasa 9 y 2 a concentraciones de entre 20-40μM, además de inhibir la señalización de AKT y NFκB (Lui *et al.*, 2011). Yeh *et al.*, 2011 reportó que AG indujo arresto celular en la fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> y apoptosis en las células HL60 mediante la inhibición de la ciclina D y E, también inhibió la concentración de las proteínas ICAM-1 y VCAM-1 responsables de los mecanismos de migración e invasión (Subramanian *et al.*, 2015). De acuerdo con Saffari-Chaleshtori *et al.*, 2017, el AG causa la inestabilidad estructural en la proteína BAD debido a la creación de enlaces de hidrógeno con esta proteína induciendo apoptosis en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata, además, indujo la condensación y fragmentación de ADN mediado por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS; Lui *et al.*, 2011). También mostró sensibilizar a las células de cáncer de ovario A2780 resistentes a fármacos debido a que causó la disminución de la fosforilación de ERK y aumento la producción de especies reactivas de oxígeno (Sánchez-Carranza *et al.*, 2018).



Ácido gálico (12)

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En varones, el cáncer de próstata es la segunda causa de muerte en el mundo y la principal causa de mortalidad e incidencia en México. La resistencia a múltiples fármacos es uno de los principales obstáculos en la eficacia de la quimioterapia, son diversos los factores que pueden contribuir al desarrollo del fenotipo MDR, sin embargo, la actividad de la glicoproteína P se ha identificado como el principal factor, esta proteína ocasiona la disminución en la acumulación intracelular de fármaco quimioterapéutico contra el cáncer.

En los últimos años la investigación de moléculas que inhiban la expresión y/o función del transportador ABC para sensibilizar las células cancerosas a la quimioterapia ha cobrado gran auge. Los productos naturales como flavonoides y compuestos fenólicos han mostrado efectos prometedores para inhibir la salida del fármaco quimioterapéutico mediado por P-gp. Compuestos fenólicos como AG, AT, y GE han mostrado efecto antiproliferativo en células PC-3 de cáncer de próstata. AG ha mostrado efecto quimiosensibilizante en células de cáncer de ovario A2780AD resistentes a PTX, por lo anterior estas moléculas se convierten en interesantes blancos de estudios en la búsqueda de moléculas moduladoras de P-gp capaces de revertir la resistencia.

### **4. HIPÓTESIS**

Ácido gálico, galato de etilo, ácido tánico y ácido elágico revertirán el fenotipo de resistencia a múltiples fármacos y modularán la expresión de P-gp en células PC-3/PTX.

### **5. OBJETIVO GENERAL**

Analizar el efecto de ácido gálico, galato de etilo, ácido tánico y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia y expresión de P-gp en células PC-3/PTX de cáncer de próstata resistentes a PTX.

#### **5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1.** Generar la línea celular PC-3 resistente a PTX.
- 2.** Validar el fenotipo de resistencia de las células PC-3/PTX por inmunofluorescencia de P-gp.

3. Determinar el índice de resistencia a PTX en las células PC-3 /PTX.
4. Evaluar el efecto citotóxico de AG, GE, AT y AE sobre la viabilidad celular de PC-3/PTX.
5. Evaluar el efecto sensibilizante de los compuestos sobre la reversión del fenotipo de resistencia de PC-3/PTX por inmunofluorescencia de P-gp y  $\beta$ -tubulina en las células PC-3/PTX.



# 6.METODOLOGÍA

## 6.1 CULTIVO CELULAR

Las células PC-3 fueron obtenidas de ATCC (American Type Culture Collection USA) y se cultivaron en Medio RPMI-1640 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), suplementado con suero fetal bovino al 10% (SFB, Invitrogen) y glutamina 2 Mm en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y 37°C.

## 6.2 CONTEO CELULAR

Previamente a realizar los experimentos se realizó el conteo celular para determinar el número de células por mililitro.

$$\text{No. de células} = \left( \frac{\text{No. de células}}{\text{No. de cuadrantes}} * 1x10^4 \right) x \text{Factor de dilución}$$

Acabado el conteo celular, se realizaron los cálculos adecuados para determinar la densidad de células por pozo a utilizar en cada experimento.

## 6.3 GENERACIÓN DE LINEA CELULAR PC-3/PTX RESISTENTE A PACLITAXEL

La línea celular PC-3/PTX se desarrolló a partir de las células parentales PC-3 mediante selección gradual para resistencia con una concentración creciente de PTX. Brevemente, las células se incubaron con PTX justo debajo de su CI<sub>50</sub> respectiva y la concentración se incrementó y mantuvo gradualmente de 10 hasta 100 nM. Las células se cultivaron continuamente en presencia de PTX para mantener la resistencia adquirida.

## 6.4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE RESISTENCIA DE LAS CÉLULAS PC-3/PTX

El índice de resistencia al fármaco (DRI por sus siglas en ingles) de las células PC-3/PTX se determinó mediante la siguiente razón:

$$DRI = \frac{CI_{50} \text{ Células resistentes PC3/PTX}}{CI_{50} \text{ Células parentales PC3}}$$

Para el cálculo de la  $CI_{50}$ , se sembraron 4000 células por pozo en una placa de cultivo celular de 96 pozos y se trataron durante 48 h con concentraciones desde 5nM hasta 300nM de PTX. Para determinar el número de células viables utilizamos el kit de ensayo de proliferación celular CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega, Madison, WI, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La viabilidad celular se determinó mediante absorbancia a 450 nm usando un lector ELISA automático (Promega, Madison, WI, EE. UU.). Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes. Los datos se analizaron en el programa estadístico Prisma 5.0 (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, EE. UU.) y la  $CI_{50}$  se determinó mediante análisis de regresión lineal.

## **6.5 VALIDACIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA DE CÉLULAS PC-3/PTX POR INMUNOFLUORESCENCIA DE PG-P**

Para validar el fenotipo de resistencia de las células PC-3/PTX generadas se analizó los niveles de expresión de P-gp para lo cual se sembraron  $2 \times 10^4$  células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contienen cubreobjetos redondos, las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de  $CO_2$ . Posteriormente las células se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM (PIPES 100 mM pH 6.9, EGTA 5 mM,  $MgCl_2$  2 mM). Después de 15 minutos, se añadió PFA/ $NaHCO_3$  y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Seguido, las placas se enjuagaron con PBS y se trataron con Triton X-100 al 0.1% (Sigma Aldrich) en PBS 1X durante 10 minutos para permeabilizar las células, posterior se incubaron con el anticuerpo primario de ratón anti P-gp (1:100, sc-55510 Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), durante la noche a 4°C. Posteriormente se añadió el anticuerpo secundario (anti-ratón Alexa 647 1:100, A-21235, Molecular Probes, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE.UU.) y se incubaron durante una hora a 37°C. Las células se tiñeron con Sytox Green (1:5000, S7020, Molecular Probes) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizarán por triplicado en tres experimentos independientes.

## **6.6 CITOTOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN CÉLULAS PC-3/PTX**

Para determinar el efecto sobre la viabilidad del AG, AT, GE y AE, estos fueron sometidos a ensayos antiproliferativos en la línea celular PC-3/PTX generada, para lo cual se sembraron 4000 células/pozo en una placa de cultivo celular de 96 pozos y se trataron durante 48 h con concentraciones de 80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.2, 0.6, 0.3  $\mu\text{g/mL}$  para obtener una curva dosis respuesta y se incubaron a 37 °C en una atmósfera de 5%  $\text{CO}_2$  durante 48 h. A continuación, se determinó el número de células viables utilizando el kit de ensayo de proliferación celular CellTiter 96® Aqueous One Solution (Promega, Madison, WI, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La viabilidad celular se determinó por absorbancia a 450 nm usando un lector ELISA automático. Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes. Los datos se analizaron en el programa estadístico Prisma 5.0 y los valores de  $\text{CI}_{50}$  se determinaron mediante análisis de regresión lineal.

## **6.7 EFECTO SENSIBILIZANTE DE LOS COMPUESTOS EN CÉLULAS PC-3/PTX**

Para determinar el efecto modulador de los compuestos AG, AT, GE, AE para revertir el fenotipo de resistencia en la línea celular PC-3/PTX, se determinó la  $\text{CI}_{50}$  de PTX en combinación con AG, AT, GE, AE, según sea el caso.

Para el cálculo de la  $\text{CI}_{50}$ , se sembraron 4000 células/pozo en una placa de cultivo celular de 96 pozos y se trataron durante 48 h con concentraciones desde 5nM hasta 300nM de PTX en combinación con la concentración previamente determinada para cada compuesto. Para determinar el número de células viables utilizamos el kit de ensayo de proliferación celular CellTiter 96® Aqueous One Solution (Promega, Madison, WI, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La viabilidad celular se determinó mediante absorbancia a 450 nm usando un lector ELISA automático (Promega, Madison, WI, EE. UU.). Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes. Los datos se analizaron en el programa estadístico Prisma 5.0 (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, EE. UU.) y la  $\text{CI}_{50}$  se determinó mediante análisis de regresión lineal.

## 6.8 INMUNOFLUORESCENCIA P-GP Y $\beta$ -TUBULINA

Una vez seleccionados los compuestos que mostraron modular el fenotipo de resistencia se procedió a evaluar su efecto sobre la expresión de P-gp y  $\beta$ -tubulina, para lo cual se sembraron  $2 \times 10^4$  células PC-3/PTX en placas de cultivo de 24 pozos que contenían cubreobjetos redondos de vidrio y se realizó el tratamiento previamente determinado de PTX en combinación con el compuesto seleccionado, las células tratadas se mantuvieron 48 h a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Posteriormente las células se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4% en buffer PEM. Después de 15 minutos, se añadió PFA/NaHCO<sub>3</sub> y se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Seguido, las placas fueron enjuagadas con PBS y tratadas con Triton X-100 al 0.1% (Sigma Aldrich), las células se incubaron con el anticuerpo primario anti P-gp de ratón (1:100, sc-55510 Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA) o anti- $\beta$ -tubulina (1:300, T9026, Sigma Aldrich) según sea el caso, durante la noche a 4°C. Posteriormente se añadió el anticuerpo secundario (anti-ratón Alexa 647 1:100, A-21235, Molecular Probes) y se incubó durante una hora a 37°C. Las células fueron teñidas con Sytox Green (1:5000, S7020, Molecular Probes) durante 10 minutos, se montaron y se tomaron imágenes mediante microscopia focal. Los experimentos se realizaron por triplicado en tres experimentos independientes.

## 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se analizaron en el programa Graph Prism 5.0 (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, EE. UU.) y se expresaron como  $\pm$  desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando para la comparación el método de Dunnet para analizar si había diferencia significativa entre los tratamientos de cada uno de compuestos de interés combinados con PTX vs el tratamiento de PTX sobre la viabilidad celular. Para analizar el efecto la fluorescencia total en células PC-3 vs PC-3/PTX se realizó una prueba t-student. Para analizar si había diferencia significativa entre los tratamientos de cada uno de compuestos de interés sobre los niveles de fluorescencia de P-gp se realizó ANOVA y el método Dunnet. (n=3 experimentos por triplicado). \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$  respecto al control.

# 8.RESULTADOS

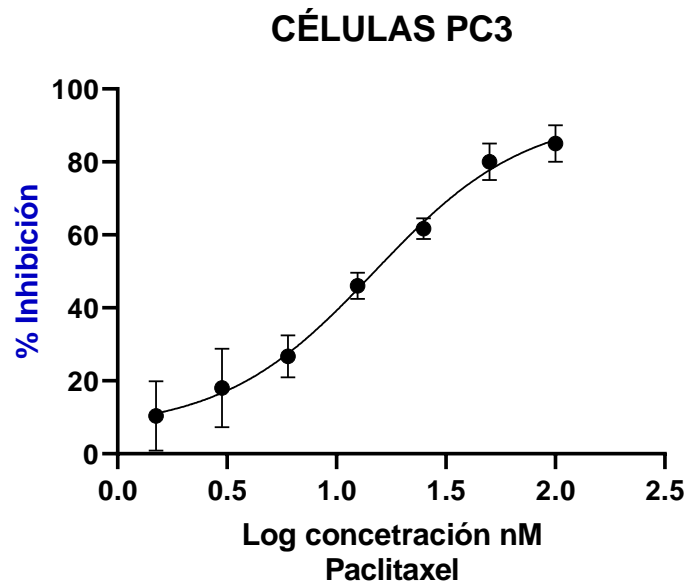
## **8.1 GENERACIÓN DE CÉLULAS RESISTENTES PC-3/PTX**

Se generó la línea celular PC-3/PTX como modelo para estudiar los mecanismos moleculares de resistencia adquirida a fármacos, como previamente se mencionó en métodos las células PC-3/PTX fueron generadas a partir de las células parentales PC-3 mediante selección gradual para resistencia con una concentración creciente de PTX. Las células se cultivaron continuamente en presencia de PTX para mantener la resistencia adquirida.

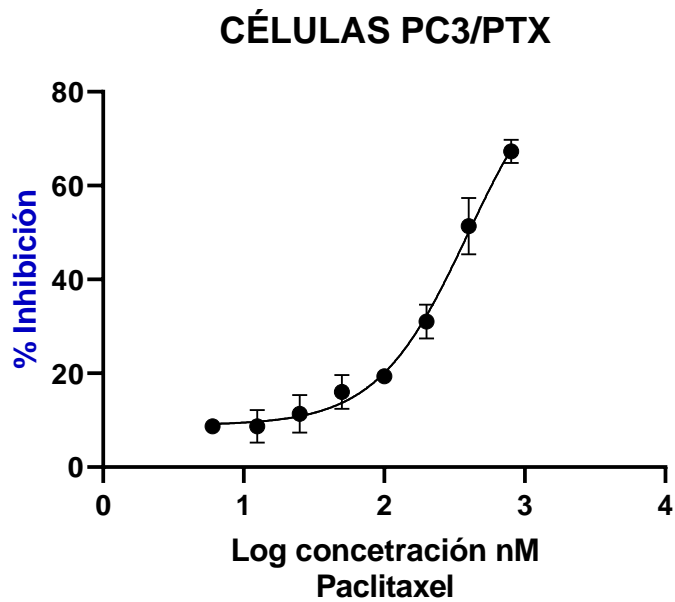
## **8.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA DE PACLITAXEL SOBRE LA LÍNEA PC-3 Y PC-3/PTX**

Posteriormente se determinó la concentración inhibitoria media para paclitaxel en la línea PC-3 parental y PC-3/PTX (Fig. 4A y B). En el inciso A se observa que el porcentaje de inhibición al 50% para las células PC-3 parentales corresponde a 14.89nM y en el inciso B se observa que el porcentaje de inhibición al 50% para la línea PC-3/PTX corresponde a 392.3nM, esto es 26 veces más respecto a la línea parental (Tabla 1), es decir para la línea PC-3/PTX se requiere una mayor concentración del fármaco para causar el mismo efecto. Esto demuestra que la línea PC-3/PTX efectivamente es resistente a paclitaxel respecto a la línea parental. Una vez comprobado la resistencia adquirida de nuestro modelo proseguimos a validarlo, para investigar si la resistencia adquirida de la línea celular en cuestión se pudiera asociar con la sobreexpresión de P-gp se realizó inmunofluorescencia, esta metodología nos permite observar la expresión y localización de la proteína en cuestión.

A)



B)



**Fig.4. Concentración Inhibitoria media de paclitaxel en células PC-3 parentales (A) y PC-3/PTX (B).** Los valores representan medias  $\pm$  desviación estándar (n=3 experimentos independientes por triplicado).



**Tabla.1. Concentración Inhibitoria media de Paclitaxel en células PC-3 y PC-3/PTX**

Línea Celular	CI <sub>50</sub> nM	R <sup>2</sup>	*Índice de Resistencia
PC-3	14.89±1.2	0.96	
PC-3/PTX	392.3±12	0.97	26.34

\*El índice de resistencia del fármaco (DRI por sus siglas en ingles)

$$DRI = \frac{CI_{50} \text{ Células resistentes PC3/PTX}}{CI_{50} \text{ Células parentales PC3}}$$

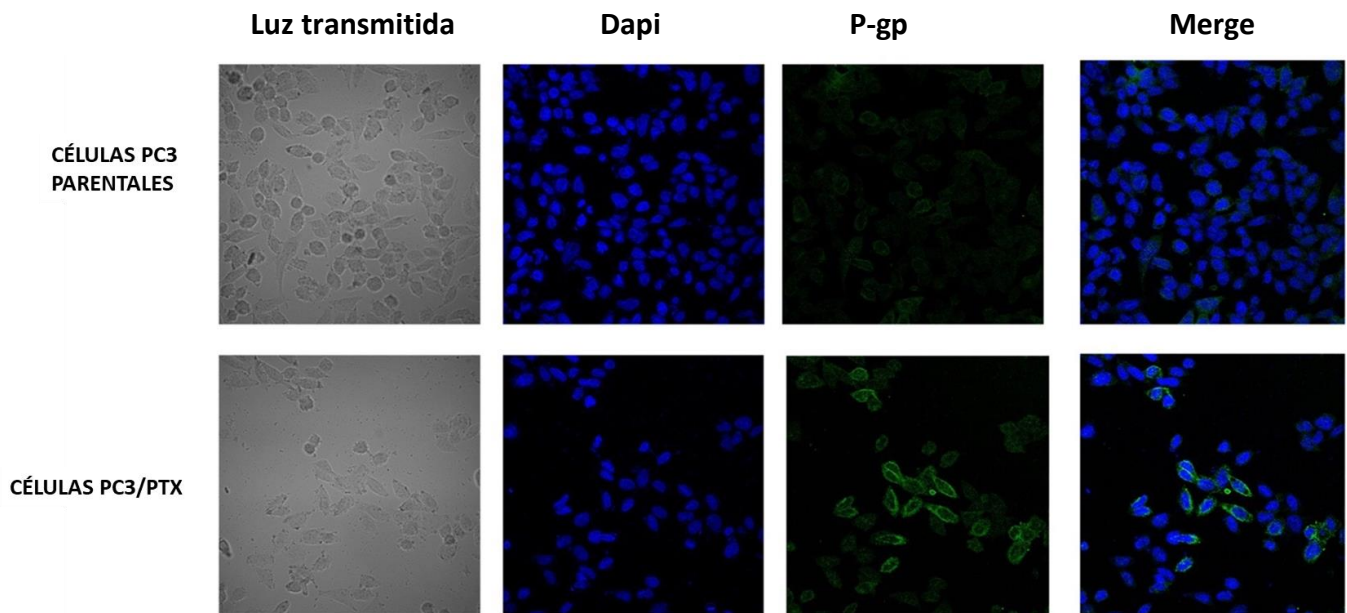
### 8.3 VALIDACIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA DE PC-3/PTX

El fenotipo de resistencia se asocia con la sobreexpresión de transportadores de tipo ABC y entre los que destaca la proteína P-gp por lo que el análisis de los niveles de P-gp es un buen indicador para validar el fenotipo de resistencia, por lo anterior fue de nuestro interés analizar mediante la técnica de inmunofluorescencia la expresión y localización de esta proteína P-gp tanto en las células PC-3 parentales y PC-3/PTX resistentes y realizar una comparación entre los niveles de expresión de P-gp.

La Figura 5 muestra los resultados de la inmunofluorescencia, como observamos la columna 1 muestra el campo claro donde se pueden visualizar las células presentes, columna 2 observamos Hoechst el cual es un colorante que tiñe los núcleos mostrándose de color azul, en la columna 3 observamos la fluorescencia asociada a P-gp observándose de color verde y en la última columna se observa el merge que es el empalme de Hoechst y P-gp.

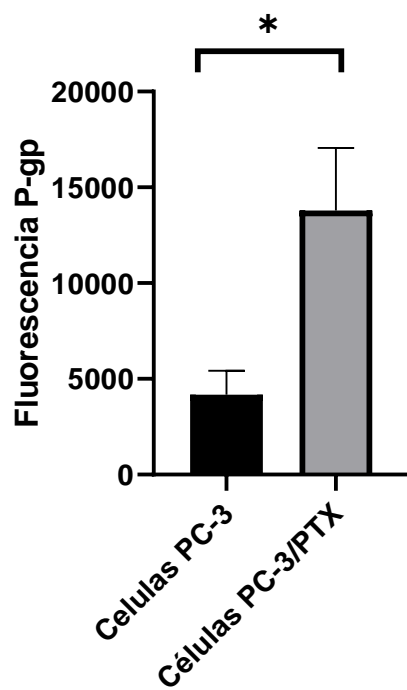
Observamos que en la primera fila correspondiente a las células PC-3 parentales hay poca fluorescencia en color verde asociada a P-gp lo que indica que en estas células hay niveles basales de expresión de P-gp (figura 6). Sin embargo, en la fila 2 correspondiente a las células PC-3/PTX observamos un incremento en fluorescencia color verde asociada a P-

gp lo cual es indicativo que en esta línea celular la expresión de P-gp esta sobre expresada comparada con las células parentales. Además, se realizó una prueba t de student para verificar si el incremento era estadísticamente significativo, el análisis indica el valor de  $P < 0.05$ . También observamos en la figura 5 que la localización de P-gp se encuentra particularmente en membrana, citoplasma y núcleo.



**Figura.5. Expresión y localización de P-gp en células PC-3 parentales y PC-3/PTX resistentes a paclitaxel por microscopia de inmunofluorescencia.** Contraste de fase, P-gp (verde) y tinción nuclear DAPI (azul).

### Fluorescencia P-gp en células PC-3/PTX



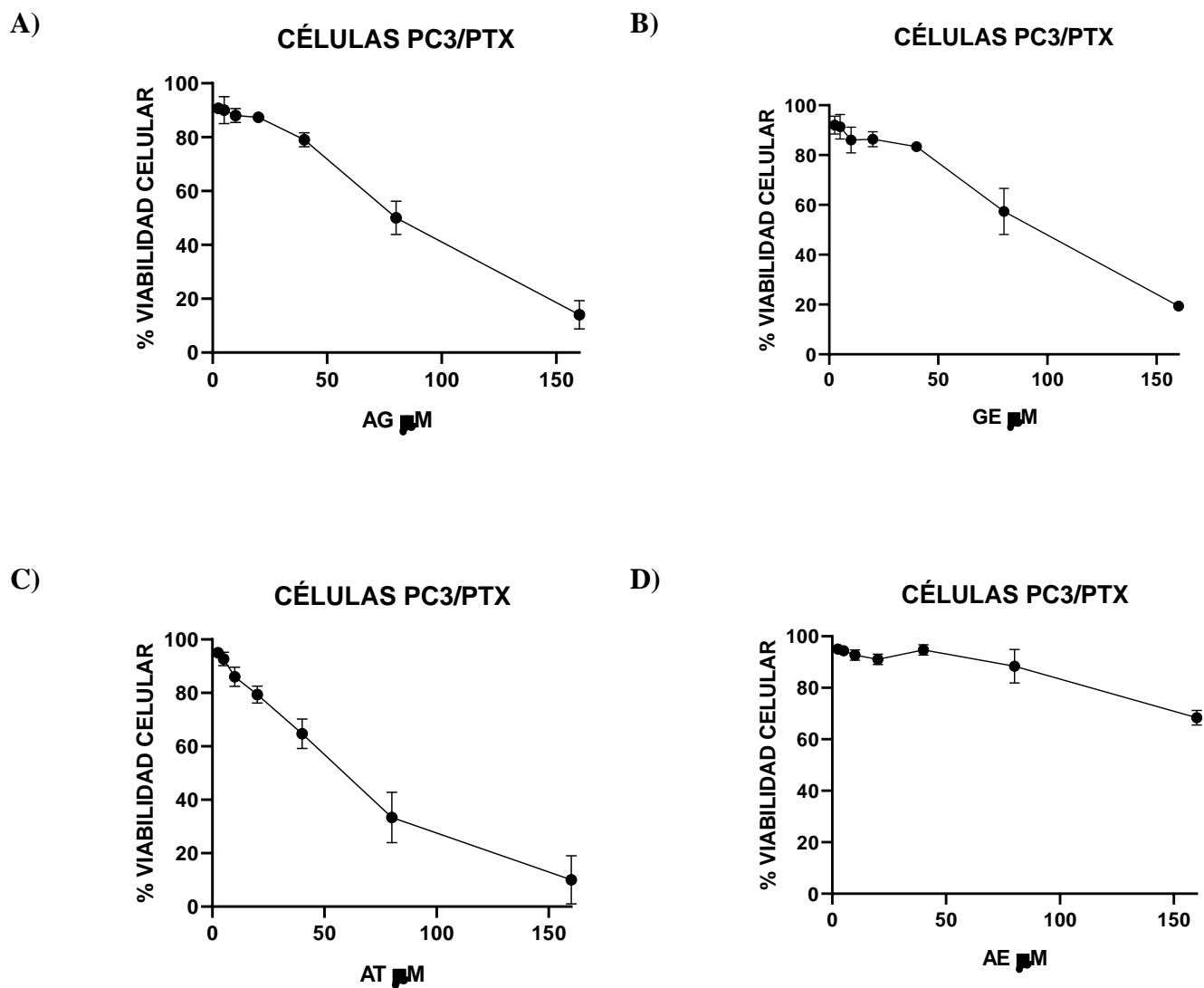
Línea celular	Media $\pm$ D.E.
PC-3	4169 $\pm$ 885
PC-3/PTX	13796 $\pm$ 2302

**Figura.6.** Fluorescencia total de P-gp en células PC-3 parentales y PC-3/PTX. *t*-student (\* $P < 0.05$ ).

# **EFEECTO CITOTÓXICO**

#### **8.4 CURVA DOSIS-RESPUESTA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS SOBRE LA LÍNEA CELULAR PC-3/PTX**

Una vez validado el modelo de resistencia se analizó la concentración de los compuestos fenólicos a utilizar en los tratamientos combinados con paclitaxel, a continuación en la Figura 7 se muestran las curvas dosis-respuesta de los compuestos fenólicos, para los cuales se utilizó la concentración inhibitoria 20 debido a que a esa concentración el porcentaje de viabilidad celular está cercano al 80%, de manera que para AG y GE la concentración a utilizar fue 50 $\mu$ M, para AT 25 $\mu$ M y para AE 100 $\mu$ M (Fig. 7). No se utilizó la concentración inhibitoria media para los tratamientos combinados porque el objetivo fue evaluar el efecto quimiosensibilizante de los compuestos. En la Tabla 2 se muestra la CI<sub>50</sub> de los compuestos fenólicos en la línea parental, ácido gálico con una concentración de 91.71 $\pm$ 8 inhibió el 50% de la viabilidad celular en la línea PC-3/PTX. El compuesto fenólico que causó la disminución del 50% de la viabilidad a una menor concentración fue AT tanto en línea parental como la línea resistente, seguido por AG, EG y por último AE, el cual presentó un efecto muy similar a paclitaxel (392.3 $\pm$ 12nM) en la línea PC-3/PTX. Una vez determinadas las concentraciones a utilizar en los tratamientos combinados se evaluó el efecto de los tratamientos combinados de los compuestos fenólicos con paclitaxel.



**Fig.7. Efecto de A) ácido gálico, B) galato de etilo, C) ácido tánico y D) ácido elágico sobre la viabilidad celular en la línea PC-3/PTX. Los valores representan medias  $\pm$  desviación estándar (n=3 experimentos independientes por triplicado).**

<b>Tabla 2. Concentración inhibitoria media de ácido gálico (AG), galato de etilo (EG) y ácido tánico (AT) en la línea PC-3/PTX</b>				
<b>Línea celular</b>	<b>Tratamiento (<math>\mu\text{M}</math>)</b>			
	<b>AG</b>	<b>EG</b>	<b>AT</b>	<b>AE</b>
<b>PC-3/PTX</b>	91.71 $\pm$ 8	100.6 $\pm$ 11	74 $\pm$ 7	386 $\pm$ 10
<b>R<sup>2</sup></b>	0.98	0.96	0.97	0.90

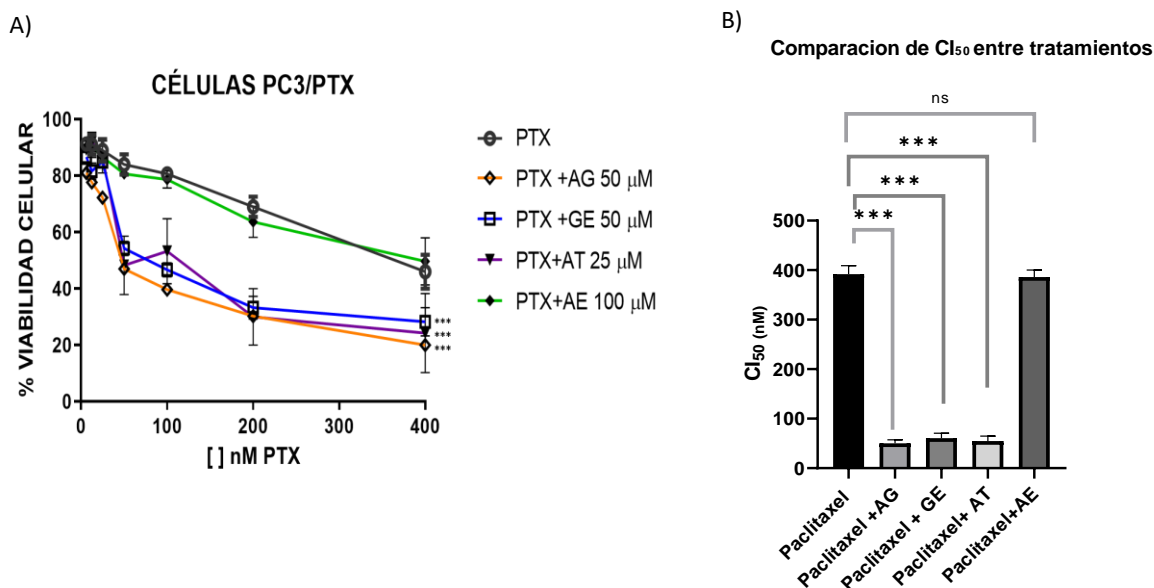
# **EFEECTO SENSIBILIZANTE**



## 8.5 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS ENTRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y PACLITAXEL SOBRE LA LÍNEA CELULAR PC-3/PTX.

Se evaluó el efecto sensibilizante de los compuestos fenólicos en combinación con paclitaxel sobre la viabilidad de línea celular PC-3/PTX. En la Figura 8A se observa el efecto de paclitaxel (línea gris oscuro) sobre la viabilidad celular, en donde a una concentración de 50nM la viabilidad celular disminuyó 20% aproximadamente. Además, se observa disminución de la viabilidad celular con los tratamientos combinados, el tratamiento combinado de paclitaxel (50nM) más ácido gálico (50 $\mu$ M; línea color naranja) causó la inhibición del 40% de la viabilidad, el tratamiento combinado de paclitaxel (50nM) más galato de etilo (50 $\mu$ M; línea color azul) disminuyó en un 30% la viabilidad celular, por su parte el tratamiento combinado de paclitaxel (50nM) más ácido tánico (25 $\mu$ M; línea color morado) causó la disminución del 36% de la viabilidad celular, sin embargo, el tratamiento combinado de paclitaxel (50nM) más ácido elágico (50 $\mu$ M; línea color verde) no tuvo efecto similar a los tratamientos antes mencionados, ya que disminuyó la viabilidad celular en un 20% aproximadamente presentando un efecto similar a paclitaxel. Se realizó un análisis entre las  $CI_{50}$  obtenidas de cada tratamiento Figura 8B, se realizó ANOVA con el método de Dunnet y se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre la  $CI_{50}$  del tratamiento de PTX vs los tratamientos combinados de PTX-AG, PTX-EG, PTX-AT, con una  $p \leq 0.001$ . No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre PTX en comparación con PTX-AE. En la tabla 3 se muestran los valores de  $CI_{50}$  de los tratamientos combinados en la línea PC-3/PTX. Observamos que el tratamiento combinado AG50 $\mu$ M+PTX la línea PC-3/PTX fue casi 8 veces más sensible respecto al tratamiento único con paclitaxel (392.3nM), efecto similar mostro el tratamiento combinado AT25 $\mu$ M+PTX con el cual las células resistentes fueron 7 veces más sensibles, con el tratamiento combinado de EG50 $\mu$ M+PTX las células fueron 6 veces más sensibles y con el tratamiento de AE100 $\mu$ M+PTX fueron poco sensibles, cabe mencionar que el valor de  $CI_{50}$  del tratamiento combinado (386nM) fue muy similar al paclitaxel (392.3nM).

Posteriormente, se evaluó el efecto de los tratamientos combinados sobre  $\beta$ -tubulina con la finalidad de analizar si el efecto observado en las combinaciones se debiera al efecto de paclitaxel.



**Fig.8. A) Efecto de ácido gálico, galato de etilo, ácido tánico y ácido elágico en combinación con diferentes concentraciones de paclitaxel sobre la viabilidad celular en la línea PC-3/PTX. B) Gráfica comparativa entre CI<sub>50</sub> de todos los tratamientos. Se utilizó paclitaxel como control negativo, los valores representan la media  $\pm$  desviación estándar (n=3 experimentos independientes por triplicado), \*\*\*p $\leq$ 0.001 respecto al control.**

**Tabla 3. Concentración inhibitoria media de los tratamientos combinados**

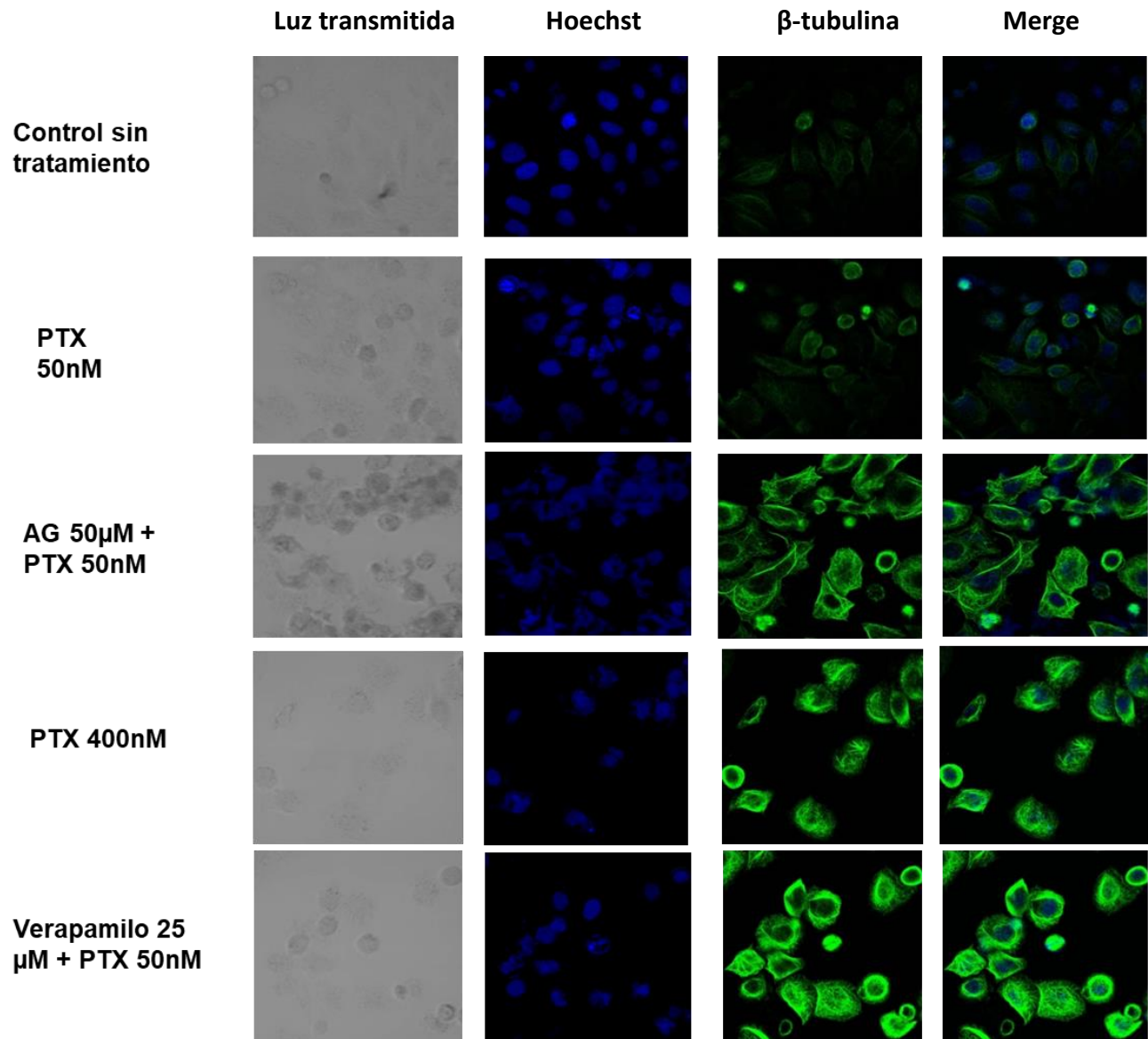
Tratamiento	R <sup>2</sup>	CI <sub>50</sub>	DRI*
PTX	0.96	392.3 $\pm$ 12	NA
AG50 $\mu$ M+PTX	0.95	50.2 $\pm$ 5	7.8
EG50 $\mu$ M+PTX	0.87	60.71 $\pm$ 7	6.46
AT25 $\mu$ M+PTX	0.87	54.88 $\pm$ 7	7.1
AE100 $\mu$ M+PTX	0.95	386 $\pm$ 10	1.01

Índice de resistencia al fármaco (DRI por sus siglas en ingles)

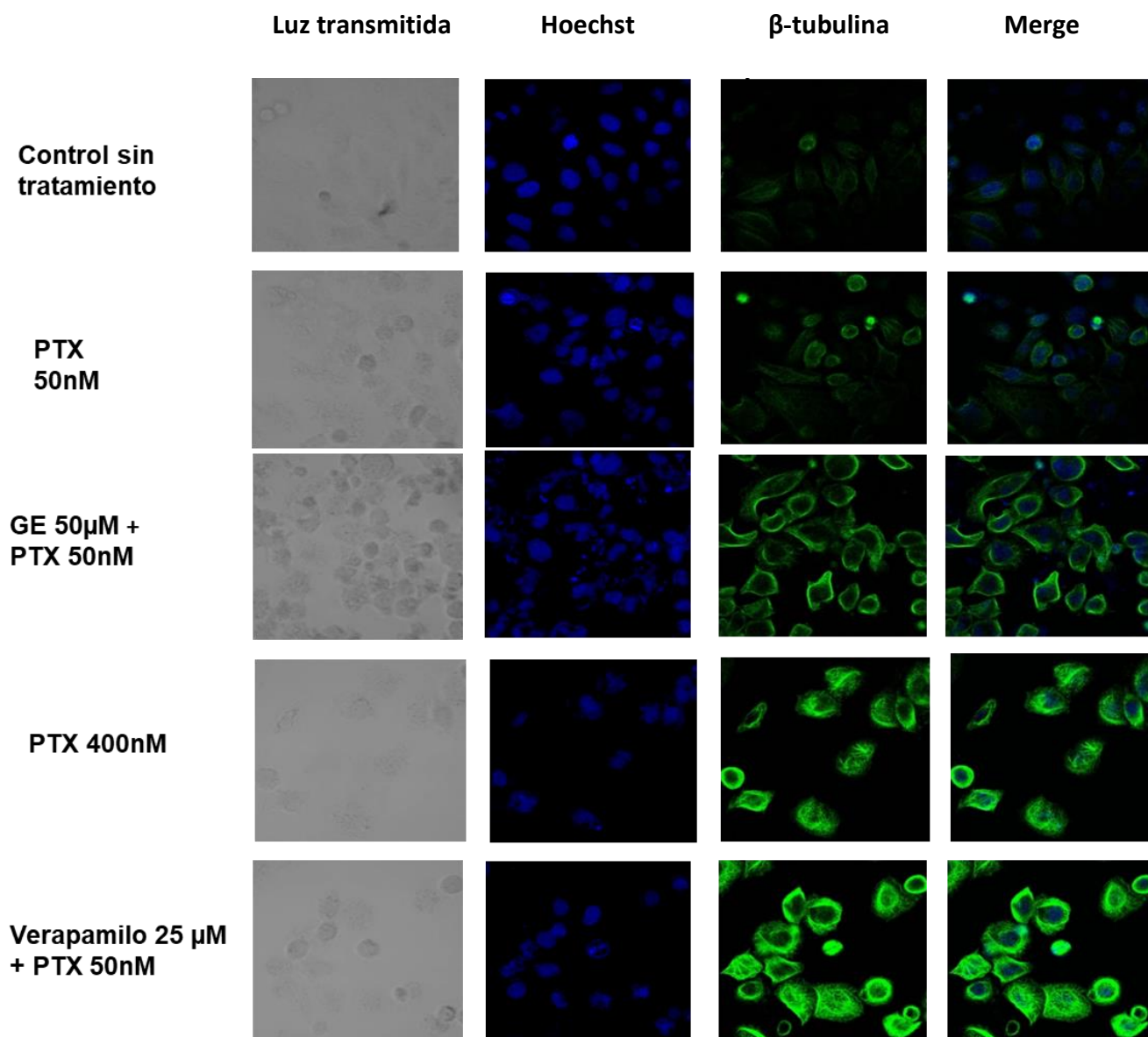
## **8.6 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS ENTRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y PACLITAXEL SOBRE $\beta$ -TUBULINA EN LA LÍNEA CELULAR PC-3/PTX.**

Se analizó el efecto de los tratamientos combinados sobre  $\beta$ -tubulina para descartar que el efecto observado se deba a los compuestos fenólicos a través de inmunofluorescencia para  $\beta$ -tubulina (Figura 7, 8, 9), ya que la diana molecular de paclitaxel es esta proteína. En general, se muestra en el primer carril de la inmunofluorescencia la luz transmitida, en el segundo carril la tinción de los núcleos (fluorescencia azul) con Hoeschst, en el tercer carril la fluorescencia de color verde correspondiente a  $\beta$ -tubulina y en el cuarto carril merge que corresponde a Hoechst y  $\beta$ -tubulina. En la Figura 9, 10 y 11 se muestra el efecto del control sin tratamiento donde observamos la fluorescencia en color verde correspondiente a  $\beta$ -tubulina. Con los tres tratamientos combinados (ácido gálico, ácido tánico y galato de etilo más paclitaxel) observamos haces de tubulina formados al igual que el control positivo (verapamilo más paclitaxel) no así en el control, lo cual podría corroborar que efectivamente en presencia de los compuestos fenólicos el paclitaxel causa la formación de haces de tubulina.

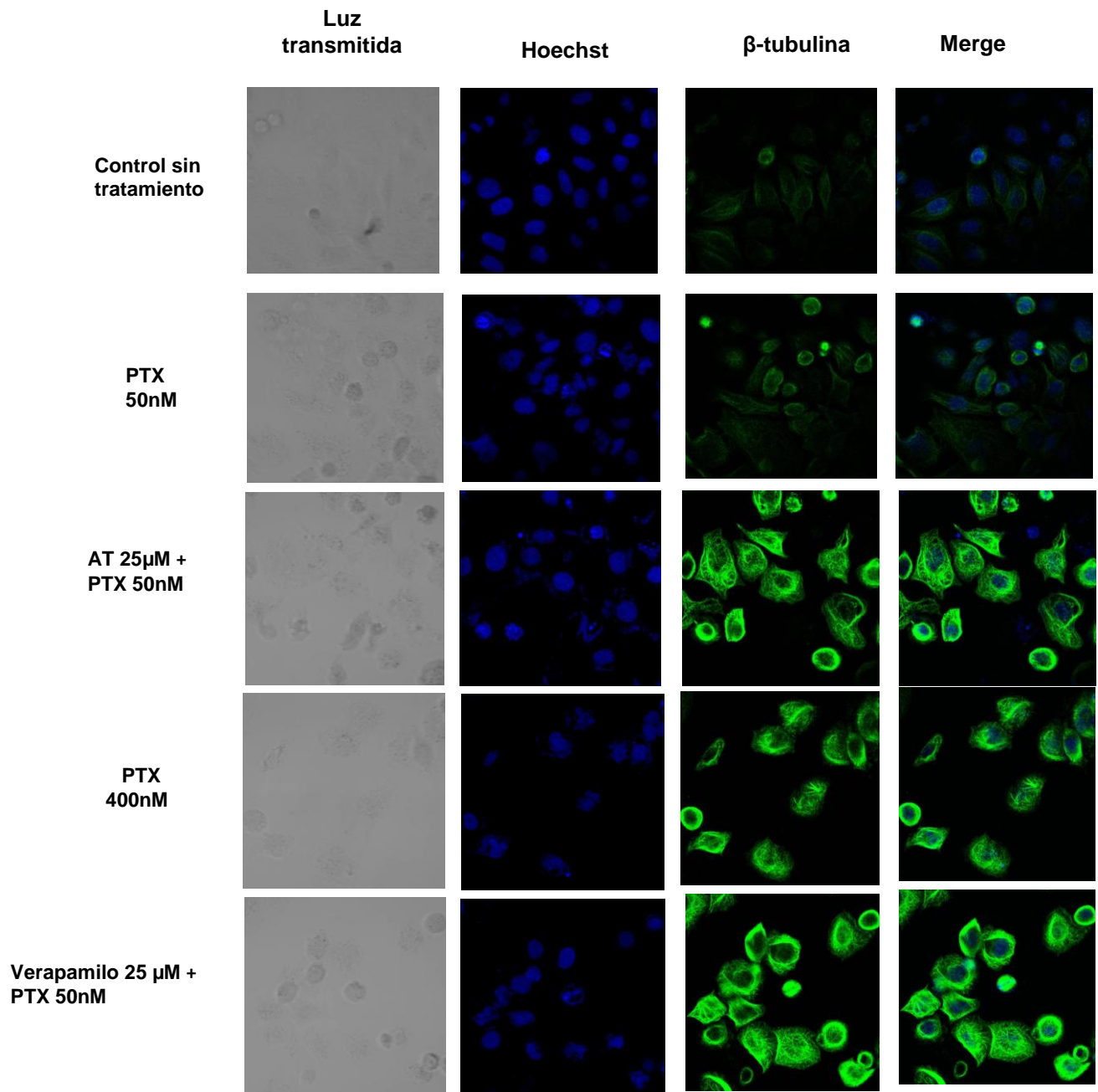
Finalmente, se analizó el efecto de los compuestos fenólicos sobre la expresión de P-gp en la línea resistente con la finalidad de comprobar si estos compuestos pudieran tener efecto sobre la glicoproteína y el efecto sensibilizante que observamos pudiera deberse en parte a que estos compuestos tengan un efecto sobre la expresión de la glicoproteína



**Fig.9. Efecto del tratamiento combinado de ácido gálico 50 $\mu$ M más paclitaxel 50nM sobre los microtúbulos.** Contraste de fase,  $\beta$ -tubulina (verde) y tinción nuclear Hoechst (azul).



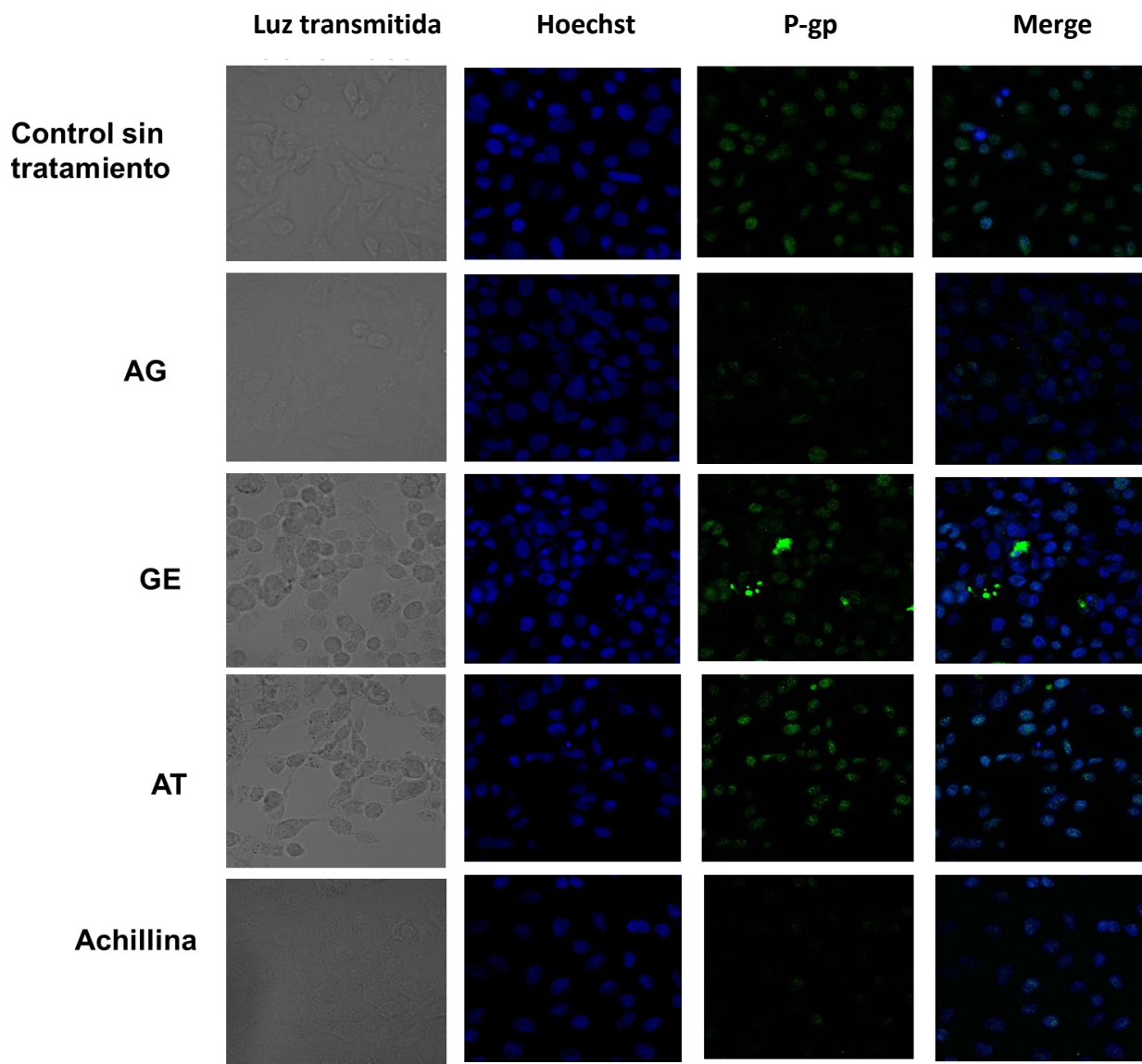
**Fig.10. Efecto del tratamiento combinado de galato de etilo 50 $\mu$ M más paclitaxel 50nM sobre los microtúbulos.** Contraste de fase,  $\beta$ -tubulina (verde) y tinción nuclear Hoechst (azul).



**Fig.11. Efecto del tratamiento combinado de ácido tánico 25 $\mu$ M más paclitaxel 50nM sobre los microtúbulos. Contraste de fase,  $\beta$ -tubulina (verde) y tinción nuclear Hoechst (azul).**

## **8.7 EFECTO DE ÁCIDO GÁLICO, GALATO DE ETILO Y ÁCIDO TÁNICO SOBRE P-GP EN LA LÍNEA CELULAR PC-3/PTX.**

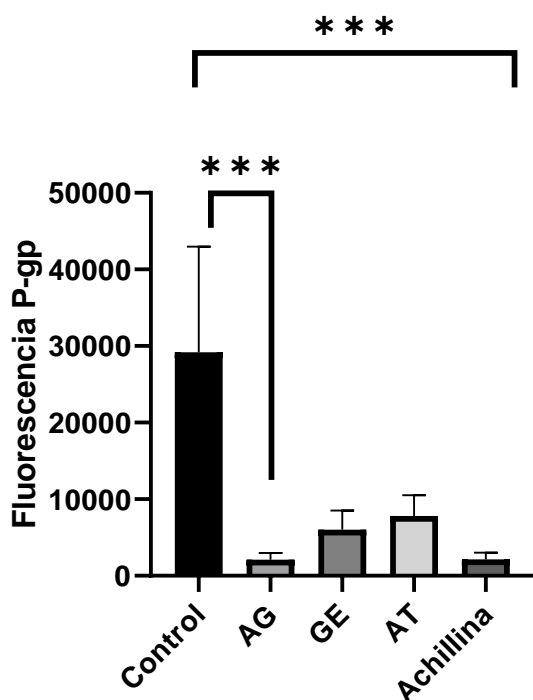
Se analizó el efecto de los compuestos sobre la expresión de P-gp para analizar si el efecto sensibilizante de los compuestos pudiera estar asociado a la expresión de P-gp, se realizó inmunofluorescencia para P-gp obteniendo el siguiente resultado, en el primer carril se muestra la luz transmitida, en el segundo carril Hoechst, en el tercer carril P-gp y en el cuarto carril merge, se observa en el control sin tratamiento la fluorescencia en color verde correspondiente a P-gp, lo que nos indica la expresión de la proteína, en el tratamiento con AG50 $\mu$ M la fluorescencia en color verde se encuentra disminuida (figura 13), es decir, que AG causa la disminución en la expresión de la glicoproteína, efecto similar se observa con Achillina, el cual se utilizó como un control positivo, ya está documentado que este compuesto disminuye la expresión de P-gp en una línea de hepatocarcinoma resistente a paclitaxel. Por otro lado, se observa con el tratamiento de EG50 $\mu$ M y AT25 $\mu$ M que las medias son iguales al igual que achillina y ácido gálico. Sin embargo, se muestra en la figura 13 que todos los tratamientos disminuyen la expresión de P-gp respecto al control y son estadísticamente significativos respecto al control.



**Fig.12. Efecto de ácido gálico, galato de etilo y ácido tánico sobre la expresión de P-gp en células PC-3/PTX por microscopia de inmunofluorescencia. Contraste de fase, P-gp (verde) y tinción nuclear Hoechst (azul).**



### Fluorescencia P-gp en células PC-3/PTX



Tratamientos	Media ± D. E.
Control sin tratamiento	29208 ± 9741
AT	7827 ± 1913
GE	6015 ± 1774
Achillina	2139 ± 622
AG	2088 ± 635

**Figura.13. Fluorescencia total de P-gp con ácido tánico, galato de etilo, achillina y ácido gálico.** Se realizó ANOVA con el método de Dunnet para el análisis de la fluorescencia de control vs cada uno de los tratamientos (AT, GE, Achillina, AG). \*\*\* $p \leq 0.001$  respecto al control.

# 9. DISCUSIÓN

El mecanismo de resistencia a los fármacos contra el cáncer más estudiado implica la reducción de la concentración intracelular del fármaco aumentando la salida del fármaco fuera de la célula, las proteínas encargadas de realizar esta función son los transportadores ABC, entre los que destaca P-gp la cual es codificada por el gen MDR1/ABCB1. Nuestros resultados muestran que la línea celular PC-3/PTX presenta una alta expresión de P-gp comparada con las células Hep3B donde la expresión es nula, esto sugiere que fenotipo de resistencia está asociada a la sobreexpresión de P-gp.

Es sabido que la resistencia a medicamentos contra el cáncer, como el paclitaxel implica alta expresión de la glicoproteína P, por ejemplo, en el trabajo hecho por Takeda *et al.*, 2007, se observa mayor expresión de P-gp en la línea de cáncer de próstata PC-3 resistente a paclitaxel respecto a la línea parental, también reportan una  $CI_{50} = 217.1$  nM y en la línea PC-3 parental de 5.0 nM. A su vez analizan los genes que se encuentran sobre expresados en la línea PC-3/PTX donde el gen ABCB1 se encuentra sobre expresado. Lo que coincide con Kato *et al.*, 2012, donde ABCB1 también se encuentra sobre expresado. En otros trabajos reportan la sobre expresión de la glicoproteína P en la línea PC-3 y DU145 resistentes a docetaxel (Lui et al., 2015; Lu *et al.*, 2020; Da Fonseca *et al.*, 2020).

En otro trabajo se reporta la sobre expresión de MRP4 y MRP5 en células PC-3/TxR resistentes a docetaxel y en la línea PC-3/TxR/CxR que recibió como tratamiento docetaxel y carbazitaxel observaron la sobreexpresión de MRP2, MRP3, MRP4 y 5. El silenciamiento de MDR1 en ambas líneas resistentes resulto en la sensibilidad de las células al tratamiento (Machioka *et al.*, 2018).

En este trabajo de investigación se cultivó y genero la línea celular resistente a paclitaxel a partir de la línea PC-3 de cáncer de próstata la cual fue 26 veces menos sensible al tratamiento con paclitaxel comparado con la línea PC-3 parental, la resistencia observada se asoció a la sobre expresión de la glicoproteína P en la membrana de las células resistentes a través de inmunofluorescencia, técnica que no solo permite analizar la expresión sino también la localización de la molécula de interés. Otros trabajos han documentado que la sobreexpresión de P-gp es característica del fenotipo de resistencia, por ejemplo, otros trabajos donde se obtuvieron líneas celulares resistentes muestran que hay una sobreexpresión en P-gp comparándola con la expresión en línea celular parental.

Weina Guo *et al.*, detecto la expresión de P-gp en la membrana, citoplasma y los núcleos de las células A2780T de cáncer de ovario resistentes, pero no en las células A2780 parentales. También en este trabajo se observó co-localización de P-gp en mitocondrias en la línea celular A2780T y tejidos de cáncer de ovario, pero no en las células A2780 parentales (Guo *et al.*, 2019).

Por otro lado, los compuestos fenólicos han cobrado auge debido a las actividades que se les atribuye como agentes antioxidantes, antiproliferativos, antiangiogénicos, proapoptóticos y quimiosensibilizantes (Abotaleb *et al.*, 2020). En este trabajo de investigación se analizó el efecto sensibilizante de cuatro compuestos fenólicos ácido gálico, ácido tánico, galato de etilo y ácido elágico, de los cuales los tres primeros mostraron revertir la resistencia en la línea celular PC-3 resistente a paclitaxel (PC-3/PTX) generada en este proyecto. Además, se analizó el efecto de combinaciones entre estos compuestos y paclitaxel, donde las combinaciones que causaron inhibición de la viabilidad celular fue AG seguido de AT, seguido de EG y por último AE. A su vez, se evaluó el efecto de estas combinaciones sobre la diana de paclitaxel,  $\beta$ -tubulina. Otros trabajos han reportado el efecto quimiosensibilizante de compuestos naturales en combinación con fármacos quimioterapéuticos, tal es el caso de Kaempferol, un compuesto fenólico que en combinación con 5-fluorouracilo (5-FU) sensibilizó a una línea de cáncer de colon resistente a este fármaco, la línea LS174-R, el tratamiento con el compuesto fenólico redujo el 50% de la viabilidad celular a una concentración de 75  $\mu$ M, y en combinación con 60  $\mu$ M de 5-FU redujo la viabilidad al 65% potenciando el efecto del fármaco, además se reporta que el efecto de Kaempferol se debe a la capacidad de regular a la quinasa ERK y p38 (Riahi-Chebbi *et al.*, 2019). Por su parte, curcumina en combinación con cisplatino disminuyó la viabilidad en una línea de cáncer de mama resistente a cisplatino (MCF-7DDP; Zou *et al.*, 2018). Efecto similar se observó con el tratamiento de curcumina (8  $\mu$ M) con gemcitabina (20 nM) donde la combinación causó arresto en fase G2/M e indujeron apoptosis en la línea de cáncer pancreático BxPC3-GemR resistente a gemcitabina (Yoshida *et al.*, 2017).

Estos compuestos naturales no solo han mostrado tener efecto sobre la viabilidad celular también sobre la expresión de la glicoproteína P que está asociada a la resistencia a múltiples fármacos, este es el caso de achillina que redujo la expresión de la glicoproteína respecto al control sin tratamiento, mejoró la inducción de apoptosis de paclitaxel, además de sensibilizar a la línea de hepatocarcinoma resistente a paclitaxel Hep3B/PTX con el uso del

tratamiento combinado de PTX 25nM más achillina 100µM efecto que fue muy similar a control positivo (PTX más Verapamilo 20µM; Sánchez-Carranza *et al.*, 2019). Algunos otros compuestos naturales que han disminuido la expresión de P-gp son teaflavina, quercetina, epicatequina-3-galato, tamarixetina y rutina (Mohana *et al.*, 2018).

Por su parte ácido gálico ha mostrado inhibir la migración e invasión en células PC-3 de cáncer de próstata al inhibir los niveles de proteína de la metaloproteasa 2 (MMP2) y 9 (MMP9) además del factor nuclear k-B (NFkB), ERK1/2 y p38 a una concentración de 50µM a 48h (Lui *et al.*, 2011), en la línea de cáncer de mama MCF-7 que se pre trato con el factor endotelial epidérmico (EGF; 10ng/ml) que indujo la activación de Akt, ERK, p65 y c-Jun, ácido gálico inhibió los niveles de MMP9, la fosforilación de ERK, Akt, p65 y c-Jun inducidas por EGF (Chen *et al.*, 2016).

Por otro lado, en la línea de cáncer de pulmón de células no pequeñas resistente a inhibidores tirosina quinasa (Gefitinib) AG disminuyó la viabilidad celular a una concentración de 50µM a través de la supresión de la fosforilación en la tirosina705 de Stat3 y la fosforilación de Src en la tirosina 416, así como la expresión de genes diana de Src como cMyc, COX2, IL6 y ciclina D, sin embargo, este efecto no se observó en las líneas sensibles a Gefitinib (Phan *et al.*, 2016).

Este compuesto fenólico también ha mostrado efecto quimiosensibilizante en una línea de cáncer de ovario multirresistente A2780AD, ácido gálico a una concentración de 100µM en combinación con 200nM de paclitaxel disminuyeron la viabilidad celular en un 60% aproximadamente en la línea A2780AD y en la línea parental a una concentración de 50µM de AG y 50nM de PTX se obtuvo el mismo resultado, además analizaron el contenido de ADN por citometría de flujo donde PTX causo arresto en fase G2/M efecto que potencio el tratamiento con AG, este compuesto aumento la producción de especies reactivas de oxígeno y causo la disminución de la fosforilación de ERK (Sánchez-Carranza *et al.*, 2018), y en combinación con paclitaxel y cisplatino disminuyó la viabilidad de la línea de cáncer de mama MCF-7, el tratamiento combinado de ambos fármacos con AG aumento la expresión de Bax, CASP3 y P53 en comparación del tratamiento único, efecto similar se observó con el tratamiento combinado de AG más paclitaxel (Aborehab *et al.*, 2021).

En un estudio de acoplamiento molecular utilizaron el software AtoDock v.4.2, para evaluar la afinidad de unión de tres compuestos con actividad antioxidante sobre el transportador ABCG2, entre estos, ácido gálico, en ese trabajo muestran que el compuesto fenólico en cuestión interactúa con 10 aminoácidos Ser420, Trp1463, Asn1165, Asp419, Tyr1462, Arg1403, Phe1262, Gly1264, Tyr1166 y Thr1465 en el sitio de unión del transportador con una energía libre de unión de -3.93 y una constante de inhibición estimada de 1.31nM, por lo que tiene una afinidad de unión baja con el transportador y según los autores podría tener una permanencia prolongada en las células y un mayor efecto frente a las células cancerosas (Saffari-Chaleshtori *et al.*, 2019). Por otro lado, en la línea Hep3B de hepatocarcinoma ácido gálico aumento los niveles de mRNA del gen APC, el cual es regulador de la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina, en células cancerosas esta vía se encuentra altamente activa, su coactivador  $\beta$ -catenina se transloca al núcleo para llevar a cabo la transcripción de los genes diana de la vía (Clevers & Nusse, 2012), uno de ellos es ABCB1, el gen que codifica para la glicoproteína P, compuestos como curcumina han mostrado disminuir la expresión de P-gp a través de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina (Mohana *et al.*, 2018). En células TaxR resistentes a docetaxel derivada de la línea C4-2B de cáncer de próstata analizaron la expresión génica observando la alteración de un total de 1604 genes de los cuales el 52% estaban sobre expresados y el 18% disminuida su expresión, entre los genes sobre expresados identificaron que el transportador ABCB1 se sobre expresaba de manera superior en TaxR. Para valuar el papel del transportador en la resistencia trataron a las células con un shRNA, donde las células TaxR mostraron sensibilidad al tratamiento, efecto similar observaron al tratar las células resistentes de cáncer próstata con apigenina (Zhu *et al.*, 2013). Otros estudios han mostrado que con la inhibición de P-gp se revierte la resistencia a múltiples fármacos (Hu *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2017; Lui *et al.*, 2018). En este trabajo se evidencia la disminución en la expresión de P-gp con el tratamiento de AG50 $\mu$ M efecto que fue similar al control positivo (Achillina), tal vez los compuestos fenólicos analizados podrían tener un efecto similar sobre P-gp a través de la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina, lo que justifica investigar si AG pudiera causar la disminución de la expresión del transportador al regular la vía Wnt/ $\beta$ -catenina y sus blancos moleculares, también podría estar implicado en la regulación de la vía AKT, ERK y NF $\kappa$ B.

Por su parte el galato de etilo que es un derivado de ácido gálico causo cambios morfológicos, fragmentación de ADN y disminución de viabilidad de células HL-60 además de

activar la vía de apoptosis por la expresión de caspasa 8, 9, 3 y Bid. En esta línea de cáncer a 48 horas con una concentración de 75µM EG indujo arresto en fase subG1 del ciclo celular (Kim *et al.*, 2012). Y en cáncer de mama, inhibió el 50% de la viabilidad celular a 12 y 24 horas a una concentración de 17.85 y 6.55µg/ml sobre MDA-MB-231 y de 32.53 y 16.88µg/ml sobre MCF-7, por lo que MDA-MB-231 fue más sensible al tratamiento con EG. También disminuyó los niveles de mRNA y de proteína Bcl-2 y aumento los de Bax a 10µg/ml. Así como disminuyó la expresión de MMP2 y MMP9 y la actividad de pAKT y NFκB (Cui *et al.*, 2015). NFκB ha mostrado inhibir la apoptosis e inducir resistencia a fármacos en células de cancerosas, en una línea de cáncer de colon HCT15 la inhibición de NFκB indujo apoptosis cuando se trataron con daunomicina además redujo los niveles de mRNA de mdrl, la inhibición de NFκB a través de un plásmido que codificaba para el inhibidor de éste, IκB, aumento la absorción de daunomicina en las células, es decir, NFκB tiene la capacidad de regular la expresión de mdrl (Bentires-Alj *et al.*, 2003). Por otro lado, Sandoval *et al.*, 2016, reporta que EG no tuvo efecto sobre la funcionalidad de P-gp. En otro trabajo, reportan el efecto inhibitorio de EG sobre Smad-3 mediada por TGFβ en la línea de cáncer de ovario ES-2, sin embargo, no tiene efecto sobre la actividad de quinasa de TGFβ, por lo que los autores proponen que EG podría ser poco susceptible de cruzar la membrana plasmática o que puede inhibir la fosforilación de Smad3 a través de un mecanismo independiente como al interferir con la heterodimerización de TGFβR2 (Sicard *et al.*, 2021). Por lo que el efecto sensibilizante de EG podría deberse a su efecto sobre AKT, NFκB y Smad.

Otro de los compuestos fenólicos analizados en este proyecto fue ácido tánico, el cual ha mostrado inhibir la viabilidad de línea PC-3 de cáncer de próstata, se reportó una CI<sub>50</sub> de 23.61±1.74µM a 48 horas y a 72 horas de 8.53±0.80µM, el efecto causado se debió a la activación de sensores del estrés que causaron la activación de la proteína CHOP inductora de apoptosis, así como disminución de la expresión de proteínas antiapoptóticas como Bcl-xL y Bcl-2 y aumento de la expresión de proteínas pro-apoptóticas como Bim y Bak así como de caspasa 3 escindida con el tratamiento de AT a 24 horas (Nagesh *et al.*, 2018). En la línea de cáncer de hígado HepG2 AT arrojó una CI<sub>50</sub> de 360µM y cisplatino de 1.8µg/mL, el efecto combinado de estos a una concentración de 180 µM y 0.9 µg/mL respectivamente causó la inhibición del 50% de viabilidad y fragmentación de los núcleos, formación de cuerpos apoptóticos, disminución en la expresión de Bcl-2 y aumento en la expresión de Bax y caspasa 3 escindida (Geng *et al.*, 2019).

Respecto al cáncer de mama, se reportó el efecto de AT en tres líneas celulares MDA-MB231, MCF-7 y SK-BR3, en MCF-7 a una concentración de 60 $\mu$ M AT inhibió el 50% de viabilidad celular y en las líneas MDA-MD231 y SK-BR3 fue 80 $\mu$ M, en las tres líneas indujo arresto en fase G1 e inducción de apoptosis, para investigar el posible mecanismo evaluaron el efecto de AT sobre la actividad del receptor del factor de crecimiento epidérmico a través del estudio de acoplamiento molecular donde AT se unió al receptor e inhibió también la autofosforilación de EGFR además la pre-inhibición del receptor con AT inhibió la proliferación celular inducida por EGF (Darvin *et al.*, 2017). Por otro lado, EGFR tiene un papel importante en la progresión del cáncer de próstata resistente a docetaxel la cual está asociada a una mayor activación de EGFR en células PC/DX25 a través de la expresión de ABCB1 inducida por EGFR a través de la vía AKT en esta línea celular resistente (Hour *et al.*, 2015). Por otro lado, en la línea de cáncer colorrectal SW-620 y HT-29 ácido tánico causó la inhibición de la viabilidad en un 50% a una concentración de 7.2 $\pm$ 0.8 $\mu$ molL<sup>-1</sup> y 37.6 $\pm$ 1.4  $\mu$ molL<sup>-1</sup> respectivamente y evaluaron el potencial invasivo de estas líneas observando que AT inhibió el 73% en la línea SW-620 y en la línea HT-29 fue de 55%, además AT causó el incremento de los niveles de proteína proapoptótica Bax y la expresión de PT53 en ambas líneas (Karakurt *et al.*, 2021). En el trabajo realizado por Kitagawa *et al.*, 2007 muestran que AT a 24 y 60 $\mu$ M disminuye en un 50 y 40% respectivamente la actividad de ATPasa de P-gp, además analizaron el efecto de AT sobre la funcionalidad de la glicoproteína observando aumento en la concentración intracelular de rodamina 123 a una concentración de 60 $\mu$ M de AT, a su vez sugieren que la presencia de grupos galofilo en los polifenoles refuerzan la interacción con las regiones reguladoras de P-gp. Nuestros resultados muestran que AT sensibilizó a las células PC-3/PTX en combinación con paclitaxel, tal efecto podría deberse al disminuir la actividad de ATPasa del transportador ABC permitiendo al fármaco quimioterapéutico ejerza su acción sobre  $\beta$ -tubulina por ello observamos la estabilización de los microtúbulos con el tratamiento combinado efecto que fue muy similar al tratamiento con 400nM de paclitaxel y al control positivo. Por otro lado, de acuerdo con lo reportado con Darvin *et al.*, 2017 y Kitagawa *et al.*, 2007 el efecto mostrado por AT sobre la línea PC-3/PTX de este trabajo se podría deberse en parte al efecto sobre la actividad de ATPasa y por otro lado al regular EGFR.

En este trabajo, ácido elágico no tuvo un efecto sensibilizante, de hecho, el efecto observado fue muy similar a PTX frente a PC-3/PTX. Sin embargo, AE ha mostrado sensibilizar



a células cancerosas de vejiga resistentes a gemcitabina (T24-GCB) reduciendo al 50% la viabilidad celular con el tratamiento combinado de AE10 $\mu$ M y GCB0.3 $\mu$ M, además esta combinación causo arresto en la fase sub-G1, indujo la escisión de caspasa 3 e inhibió la expresión de Smad2, Smad3, Slug, ZEB2 y con esto la transición epitelial mesénquimal (Wu *et al.*, 2021). Por otro lado, en la línea PC-3 de cáncer de próstata AE arrojó una CI<sub>50</sub> de 50 $\mu$ M, el tratamiento con este compuesto causó un aumento en la producción de IL-6 comparado con el control sin tratamiento e inhibió la expresión de pAKT y pERK1/2 (Eskandari *et al.*, 2016). Eskra *et al.*, 2019 evaluaron el efecto de AE sobre células de cáncer de próstata resistentes a la castración, el tratamiento combinado de AE 10 $\mu$ M con carbazitaxel 100nM redujo la polimerización de tubulina en un 20%, sin embargo, este fue un efecto no esperado, confirmaron este fenómeno analizando el efecto sobre células 22Rv1, la cual es una línea independiente de andrógenos, el tratamiento a 24 horas con AE causó un aumento dependiente de la dosis en  $\beta$ -tubulina mientras que el tratamiento combinado disminuyó moderadamente la polimerización de tubulina inducida por cabazitaxel solo, además encontraron que ácido gálico se une a la tubulina pero con menor afinidad que el docetaxel quien tuvo alta afinidad por tubulina, respecto a la viabilidad de las células 22Rv1 no hubo cambios significativos entre el tratamiento combinado de AE y carbazitaxel con el tratamiento solo con taxanos, sin embargo el tratamiento solo con AE disminuyó la viabilidad a una concentración de 10 $\mu$ M. Por último analizaron el efecto de AE sobre la funcionalidad de P-gp a través del ensayo con el colorante fluorescente calceína, donde observaron aumento en la acumulación de calceína intracelular por lo que AE disminuye la actividad del transportador, además mencionan que realizaron estudios preliminares que no se muestran en el artículo donde observaron que el tratamiento de AE aumento la expresión de la proteína MAP2 que está involucrada en el ensamblaje y estabilidad de los microtúbulos por lo que sugieren AE podría causar tal efecto por la regulación positiva de las proteínas involucradas en la dinámica de los microtúbulos, sin embargo no observaron el mismo efecto *in vivo* que *in vitro*, *in vivo* no hay efecto sobre la eficacia de docetaxel sin embargo, *in vitro* AE puede interferir con la polimerización de los microtúbulos inducida por taxanos reduciendo su efectividad (Eskra *et al.*, 2019), por esto es importante mayor investigación del efecto de AE sobre el cáncer de próstata resistente a la castración donde se utilizan como tratamiento los taxanos e investigación sobre las dianas de EA, particularmente sobre proteínas involucradas en la dinámica de los microtúbulos. Este trabajo coincide con un estudio de fase III donde a

pacientes con cáncer de próstata resistentes a hormonas fueron tratados con fosfato de estramustatina y vinorelbina en combinación con AE y con tratamiento único, observaron que AE redujo la toxicidad en particular la neutropenia además de reducir los niveles del antígeno prostático específico, a pesar de que observaron una tendencia positiva en la tasa de respuesta objetiva no se observaron diferencias significativas en la supervivencia global entre los dos grupos (Falsaperla *et al.*, 2005). Lo reportado por Eskra *et al.*, 2019 podría explicar en parte porque no observamos un efecto importante con la combinación de AE más paclitaxel sobre PC-3/PTX de este trabajo. Cabe mencionar la importancia de investigar las posibles dianas farmacológicas de EA ya que esta información permitía acercarnos a una vía de señalización activa por este compuesto y por qué sensibiliza a otros modelos de resistencia donde no este implicado los taxanos como tratamiento.

Las moléculas sensibilizantes actúan aumentando el tiempo de residencia de los quimioterapéuticos en las células tumorales induciendo la muerte celular mediante la regulación positiva de dianas proapoptóticas promoviendo el daño del ADN o regulando la expresión de dianas farmacológicas alteradas, cuando los mecanismos de acción se asocian mejoran el efecto sinérgico en células resistentes (De Oliveira Júnior *et al.*, 2018). Los principales objetivos a modular en la quimioresistencia son miembros de la familia EGFR, Bcl-2 e intermediarios de señalización como NFκB y AKT. Dado que la resistencia es inducida por la activación de vías de señalización de supervivencia y genes MDR además de la pérdida de función de moléculas proapoptóticas, aquellos compuestos que tengan la capacidad de reducir la activación de esas vías de señalización aumentarán la eficacia de la quimioterapia (Vinod *et al.*, 2013).

En base a la información obtenida de los resultados de los compuestos de estudio en combinación con PTX sobre la inhibición de viabilidad celular, ácido tánico mostró ser más potente y eficaz, seguido de ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico.

Por lo que respecta al efecto de los compuestos de estudio sobre la reversión del fenotipo de resistencia, ácido gálico mostro ser más eficaz, seguido de ácido tánico, seguido de galato de etilo, el ácido elágico fue el menos eficaz. Por su parte el ácido tánico mostro ser el más potente con una concentración de 25µM en comparación con las concentraciones de 50 µM utilizadas acido gálico y para galato de etilo.

Respecto a al efecto de los compuestos evaluados sobre la inhibición de la expresión de P-gp por inmunofluorescencia, el ácido gálico fue el único compuesto eficaz.

# 10. CONCLUSIÓN

## 10. CONCLUSIONES

Los resultados muestran que ácido gálico, galato de etilo y ácido tánico sensibilizaron a las células PC-3/PTX revirtiendo el fenotipo de resistencia a Paclitaxel.

## 11. CONCLUSIONES PARTICULARES

- ☼ El efecto quimiosensibilizante de AG, EG y AT potencializó el efecto de paclitaxel sobre su blanco,  $\beta$ -tubulina.
- ☼ AG disminuye la expresión de P-gp por lo que su efecto sensibilizante puede estar asociado con la modulación sobre este transportador.
- ☼ AT y EG no mostraron un efecto sobre la expresión de P-gp por lo que su efecto quimiosensibilizante se asocia con otros mecanismos de regulación.
- ☼ AE no mostró tener un efecto quimiosensibilizante en esta línea resistente PC-3/PTX.

# **12. PERSPECTIVAS**

## 12. Perspectivas

- ☼ Evaluar el efecto de los compuestos fenólicos sobre la funcionalidad de P-gp.
- ☼ Analizar el efecto de ácido gálico más paclitaxel, ácido tánico más paclitaxel y galato de etilo más paclitaxel sobre el ciclo celular.
- ☼ Acoplamiento molecular de los compuestos fenólicos sobre P-g.

### 13. LITERATURA CITADA

- Äänismaa, P., & Seelig, A. (2007).** P-Glycoprotein kinetics measured in plasma membrane vesicles and living cells. *Biochemistry*, 46(11), 3394-3404.
- Abbaszadeh, H., Keikhaei, B., Mottaghi, S. (2019).** A review of molecular mechanisms involved in anticancer and antiangiogenic effects of natural polyphenolic compounds. *Phytotherapy Research*, 33(8), 2002-2014.
- Aborehab, N. M., Elnagar, M. R., Waly, N. E. (2021).** Gallic acid potentiates the apoptotic effect of paclitaxel and carboplatin via overexpression of Bax and P53 on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35(2), e22638.
- Abotaleb, M., Liskova, A., Kubatka, P., Büsselberg, D. (2020).** Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer. *Biomolecules*, 10(2), 221.
- Abubakar, M. B., Abdullah, W. Z., Sulaiman, S. A., Suen, A. B. (2012).** A review of molecular mechanisms of the anti-leukemic effects of phenolic compounds in honey. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 15054-15073.
- Al-Akra, L., Bae, D. H., Sahni, S., Huang, M. L., Park, K. C., Lane, D. J., Richardson, D. R. (2018).** Tumor stressors induce two mechanisms of intracellular P-glycoprotein-mediated resistance that are overcome by lysosomal-targeted thiosemicarbazones. *Journal of Biological Chemistry*, 293(10), 3562-3587.
- Alexa-Stratulat, T., Pešić, M., Gašparović, A. Č., Trougakos, I. P., Riganti, C. (2019).** What sustains the multidrug resistance phenotype beyond ABC efflux transporters? Looking beyond the tip of the iceberg. *Drug Resistance Updates*, 46, 100643.
- American Cancer Society (2020).** Obtenido de: [Chemotherapy for Prostate Cancer](#)
- American Cancer Society. (2019).** Obtenido de: [Factores de riesgo para el cáncer de próstata \(cancer.org\)](#)
- Anuchapreeda, S., Leechanachai, P., Smith, M. M., Ambudkar, S. V., Limtrakul, P. N. (2002).** Modulation of P-glycoprotein expression and function by curcumin in multidrug-resistant human KB cells. *Biochemical Pharmacology*, 64(4), 573-582.
- Arakawa, H., Nakanishi, T., Yanagihara, C., Nishimoto, T., Wakayama, T., Mizokami, A., Tamai, I. (2012).** Enhanced expression of organic anion transporting polypeptides (OATPs) in androgen receptor-positive prostate cancer cells: possible role of OATP1A2



in adaptive cell growth under androgen-depleted conditions. *Biochemical Pharmacology*, 84(8), 1070-1077.

**Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (2008).** Drugs that modulate resistance to antitumor agents. *Med. Chem. Anticancer Drugs*, 387-416.

**Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., Yeoh, K. W. (2012).** Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193.

**Bentires-Alj, M., Barbu, V., Fillet, M., Chariot, A., Relic, B., Jacobs, N., Bours, V. (2003).** NF- $\kappa$  B transcription factor induces drug resistance through MDR1 expression in cancer cells. *Oncogene*, 22(1), 90-97.

**Bhosle, J., & Hall, G. (2009).** Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery (Oxford)*, 27(4), 173-177.

**Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., Jemal, A. (2018).** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424.

**Carota, G., Sferrazzo, G., Spampinato, M., Sorrenti, V., Vanella, L. (2019).** Antiproliferative Effects of Ellagic Acid on DU145 Cells. *The Open Biochemistry Journal*, 13(1).

**Castillo, V., Valenzuela, R., Huidobro, C., Contreras, H. R., Castellon, E. A. (2014).** Functional characteristics of cancer stem cells and their role in drug resistance of prostate cancer. *International Journal of Oncology*, 45(3), 985-994.

**Chen, Y. J., Lin, K. N., Jhang, L. M., Huang, C. H., Lee, Y. C., Chang, L. S. (2016).** Gallic acid abolishes the EGFR/Src/Akt/Erk-mediated expression of matrix metalloproteinase-9 in MCF-7 breast cancer cells. *Chemico-biological Interactions*, 252, 131-140.

**Cheung-Ong, K., Giaever, G., Nislow, C. (2013).** DNA-damaging agents in cancer chemotherapy: serendipity and chemical biology. *Chemistry & Biology*, 20(5), 648-659.

**Clevers, H., Nusse, R. (2012).** Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and disease. *Cell*, 149(6), 1192-1205.

**Cree, I. A., & Charlton, P. (2017).** Molecular chess? Hallmarks of anti-cancer drug resistance. *BMC Cancer*, 17(1), 1-8.

**Cui, H., Yuan, J., Du, X., Wang, M., Yue, L., Liu, J. (2015).** Ethyl gallate suppresses proliferation and invasion in human breast cancer cells via Akt-NF- $\kappa$ B signaling. *Oncology Reports*, 33(3), 1284-1290.

**Culp, M. B., Soerjomataram, I., Efstathiou, J. A., Bray, F., Jemal, A. (2020).** Recent global patterns in prostate cancer incidence and mortality rates. *European Urology*, 77(1), 38-52.

- Da Fonseca, L. M., Calvalhan, D. M., Previato, J. O., Mendonça Previato, L., Freire-de-Lima, L. (2020).** Resistance to paclitaxel induces glyco-phenotype changes and mesenchymal-to-epithelial transition activation in the human prostate cancer cell line PC-3. *Tumor Biology*, 42(9), 1010428320957506.
- Darshan MS, Loftus MS, Thadani-Mulero M, Levy BP, Escuin D, Zhou XK. (2011).** Taxane-induced blockade to nuclear accumulation of the androgen receptor predicts clinical responses in metastatic prostate cancer. *Cancer Res.*71:6019–29.
- Darvin, P., Baeg, S. J., Joung, Y. H., Sp, N., Kang, D. Y., Byun, H. J., Yang, Y. M. (2015).** Tannic acid inhibits the Jak2/STAT3 pathway and induces G1/S arrest and mitochondrial apoptosis in YD-38 gingival cancer cells. *International Journal of Oncology*, 47(3), 1111-1120.
- Darvin, P., Joung, Y. H., Kang, D. Y., Sp, N., Byun, H. J., Hwang, T. S., Yang, Y. M. (2017).** Tannic acid inhibits EGFR/STAT 1/3 and enhances p38/STAT 1 signalling axis in breast cancer cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 21(4), 720-734.
- De Morrée, E. S., Böttcher, R., van Soest, R. J., Aghai, A., de Ridder, C. M., Gibson, A. A., van Weerden, W. M. (2016).** Loss of SLC01B3 drives taxane resistance in prostate cancer. *British Journal of Cancer*, 115(6), 674-681.
- De Oliveira Júnior, R. G., Adrielly, A. F. C., da Silva Almeida, J. R. G., Grougnet, R., Thiery, V., Picot, L. (2018).** Sensitization of tumor cells to chemotherapy by natural products: A systematic review of preclinical data and molecular mechanisms. *Fitoterapia*, 129, 383-400.
- De, S., Cipriano, R., Jackson, M. W., & Stark, G. R. (2009).** Overexpression of kinesins mediates docetaxel resistance in breast cancer cells. *Cancer Research*, 69 (20), 8035-8042.
- Dewanjee, S., Dua, T. K., Bhattacharjee, N., Das, A., Gangopadhyay, M., Khanra, R., Zia-Ul-Haq, M. (2017).** Natural products as alternative choices for P-glycoprotein (P-gp) inhibition. *Molecules*, 22(6), 871.
- Dhandapani, K. M., Mahesh, V. B., & Brann, D. W. (2007).** Curcumin suppresses growth and chemoresistance of human glioblastoma cells via AP-1 and NFκB transcription factors. *Journal of Neurochemistry*, 102(2), 522-538.
- Du, G., Lin, H., Wang, M., Zhang, S., Wu, X., Lu, L., & Yu, L. (2010).** Quercetin greatly improved therapeutic index of doxorubicin against 4T1 breast cancer by its opposing effects on HIF-1α in tumor and normal cells. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 65(2), 277.
- El-Ansari, M. A., Ibrahim, L. F., & Sharaf, M. (2019).** Natural phenolics: a source of anticancer agents. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(1), 1.

- Eskandari, E., Heidarian, E., Amini, S., Saffari-Chaleshtori, J. (2016).** Evaluating the effects of ellagic acid on pSTAT3, pAKT, and pERK1/2 signaling pathways in prostate cancer PC3 cells. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(4), 1266-1271.
- Eskra, J. N., Schlicht, M. J., Bosland, M. C. (2019).** Effects of black raspberries and their ellagic acid and anthocyanin constituents on taxane chemotherapy of castration-resistant prostate cancer cells. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12.
- Eytan, G. D. (2005).** Mechanism of multidrug resistance in relation to passive membrane permeation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59(3), 90-97.
- Falsaperla, M., Morgia, G., Tartarone, A., Ardito, R., Romano, G. (2005).** Support ellagic acid therapy in patients with hormone refractory prostate cancer (HRPC) on standard chemotherapy using vinorelbine and estramustine phosphate. *European Urology*, 47(4), 449-455.
- Famuyiwa TO, Diaka JKK, Bowers Z. (2020).** Treatment-induced ABC-mediated multidrug resistance in PC-3 prostate cancer. *J Cancer Prev Curr Res*.11(5):106–119.
- Fang, Y., Zhou, H., Xia, J. F., Lin, J. J., Li, R. Z., Yang, D. Q., Li, X. Y. (2015).** Ellagic acid regulates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and CDK8 in HCT 116 and HT 29 colon cancer cells. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 10(1), 47-56.
- Feinshtein, V., Erez, O., Ben-Zvi, Z., Erez, N., Eshkoli, T., Sheizaf, B., Holcberg, G. (2013).** Cannabidiol changes P-gp and BCRP expression in trophoblast cell lines. *PeerJ*, 1, e153.
- Feng, Q., & He, B. (2019).** Androgen receptor signaling in the development of castration-resistant prostate cancer. *Frontiers in Oncology*, 9, 858.
- Ferté, J. (2000).** Analysis of the tangled relationships between P-glycoprotein-mediated multidrug resistance and the lipid phase of the cell membrane. *European Journal of Biochemistry*, 267(2), 277-294.
- Geng, N., Zheng, X., Wu, M., Yang, L., Li, X., Chen, J. (2019).** Tannic acid synergistically enhances the anticancer efficacy of cisplatin on liver cancer cells through mitochondria-mediated apoptosis. *Oncology Reports*, 42(5), 2108-2116.
- Gjyrezi, A., Xie, F., Voznesensky, O., Khanna, P., Calagua, C., Bai, Y., Mace, S. (2020).** Taxane resistance in prostate cancer is mediated by decreased drug-target engagement. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(6).
- Goodman, L., & Gilman, A. G. (2010).** Quimioterapia de enfermedades neoplásicas. Manual de farmacología y terapéutica (pp. 1077-1085). México. MacGraw-Hill.
- Gordaliza, M. (2007).** Natural products as leads to anticancer drugs. *Clinical and Translational Oncology*, 9(12), 767-776.

- Guo W, (2019).** Mitochondria P-glycoprotein confers paclitaxel resistance on ovarian cancer cells. *Onco Targets Ther.* 12:3881-3891.
- Hadi, S. M., Asad, S. F., Singh, S., Ahmad, A. (2000).** Putative mechanism for anticancer and apoptosis-inducing properties of plant-derived polyphenolic compounds. *IUBMB life*, 50(3), 167-171.
- Hanahan, D, & Weinberg, R. A. (2011).** Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Hour, T. C., Chung, S. D., Kang, W. Y., Lin, Y. C., Chuang, S. J., Huang, A. M., Pu, Y. S. (2015).** EGFR mediates docetaxel resistance in human castration-resistant prostate cancer through the Akt-dependent expression of ABCB1 (MDR1). *Archives of Toxicology*, 89(4), 591-605.
- Housman, G., Byler, S., Heerboth, S., Lapinska, K., Longacre, M., Snyder, N., Sarkar, S. (2014).** Drug resistance in cancer: an overview. *Cancers*, 6(3), 1769-1792
- Hu, Z., Zhou, Z., Hu, Y., Wu, J., Li, Y., Huang, W. (2015).** HZ08 reverse P-glycoprotein mediated multidrug resistance in vitro and in vivo. *Plos One*, 10(2), e0116886.
- Instituto Nacional del Cáncer (2020).** Obtenido de: [Tipos de tratamiento - Instituto Nacional del Cáncer \(cancer.gov\)](https://www.cancer.gov/espanol/querer-saber/que-es-el-cancer/que-es-el-cancer)
- Karakurt, S., Kandir, S., Gökçek-Saraç, Ç. (2021).** Upregulation of p53 by tannic acid treatment suppresses the proliferation of human colorectal carcinoma. *Acta Pharmaceutica*, 71(4), 587-602.
- Karthikeyan, S., Hoti, S. L., Prasad, N. R. (2014).** Resveratrol modulates expression of ABC transporters in non-small lung cancer cells: Molecular docking and gene expression studies. *J Cancer Sci Ther*, 6(12), 497-504.
- Kato, T., Fujita, Y., Nakane, K., Kojima, T., Nozawa, Y., Deguchi, T., Ito, M. (2012).** ETS1 promotes chemoresistance and invasion of paclitaxel-resistant, hormone-refractory PC3 prostate cancer cells by up-regulating MDR1 and MMP9 expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 417(3), 966-971.
- Kgatlle, M. M., Kalla, A. A., Islam, M. M., Sathekge, M., Moorad, R. (2016).** Prostate cancer: epigenetic alterations, risk factors, and therapy. *Prostate Cancer*.
- Kim, E. H., Min, H. Y., Chung, H. J., Song, J., Park, H. J., Kim, S., Lee, S. K. (2012).** Anti-proliferative activity and suppression of P-glycoprotein by (-)-antofine, a natural phenanthroindolizidine alkaloid, in paclitaxel-resistant human lung cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3-4), 1060-1065.
- Kim, John J.; Yin, Bo; Christudass, Christhunesa S.; Terada, Naoki; Rajagopalan, Krithika; Fabry, Ben; Lee, Danielle Y.; Shiraishi, Takumi; Getzenberg, Robert H.; Veltri, Robert**

- W.; An, Steven S.; Mooney, Steven M. (2013). Acquisition of paclitaxel resistance is associated with a more aggressive and invasive phenotype in prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 114(6), 1286–1293.
- Kim**, W. H., Song, H. O., Choi, H. J., Bang, H. I., Choi, D. Y., Park, H. (2012). Ethyl gallate induces apoptosis of HL-60 cells by promoting the expression of caspases-8, -9, -3, apoptosis-inducing factor and endonuclease G. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(9), 11912-11922.
- Kitagawa**, S., Nabekura, T., Nakamura, Y., Takahashi, T., Kashiwada, Y. (2007). Inhibition of P-glycoprotein function by tannic acid and pentagalloylglucose. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(7), 965-969.
- Komura**, K., Jeong, S. H., Hinohara, K., Qu, F., Wang, X., Hiraki, M., Sweeney, C. J. (2016). Resistance to docetaxel in prostate cancer is associated with androgen receptor activation and loss of KDM5D expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(22), 6259-6264.
- Kosaka**, T., Miyajima, A., Shirotake, S., Suzuki, E., Kikuchi, E., Oya, M. (2011). Long-term androgen ablation and docetaxel up-regulate phosphorylated Akt in castration resistant prostate cancer. *The Journal of Urology*, 185(6), 2376-2381.
- Kroon**, Jan; Kooijman, Sander; Cho, Nam-Joon; Storm, Gert; van der Pluijm, Gabri (2016). Improving Taxane-Based Chemotherapy in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Trends in Pharmacological Sciences*, S0165614716000572.
- Kuhar**, M., Imran, S., & Singh, N. (2007). Curcumin and quercetin combined with cisplatin to induce apoptosis in human laryngeal carcinoma Hep-2 cells through the mitochondrial pathway. *J Cancer Mol*, 3(4), 121-128.
- Lee**, J. T., Steelman, L. S., & McCubrey, J. A. (2004). Phosphatidylinositol 3'-kinase activation leads to multidrug resistance protein-1 expression and subsequent chemoresistance in advanced prostate cancer cells. *Cancer Research*, 64(22), 8397-8404.
- Lee**, S. H., Koo, B. S., Park, S. Y., & Kim, Y. M. (2015). Anti-angiogenic effects of resveratrol in combination with 5-fluorouracil on B16 murine melanoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 12(2), 2777-2783.
- Leitzmann**, M. F., & Rohrmann, S. (2012). Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. *Clinical Epidemiology*, 4, 1.
- Lima**, T. S., Iglesias-Gato, D., Souza, L., Stenvang, J., Lima, D. S., Røder, M. A., Moreira, J. (2021). Molecular Profiling of Docetaxel-Resistant Prostate Cancer Cells Identifies Multiple Mechanisms of Therapeutic Resistance. *Cancers*, 13(6), 1290.

- Liu, K., Huang, A., Wu, P., Lin, H., Chueh, F., Yang, J., Chung, J. (2011).** Gallic acid suppresses the migration and invasion of PC-3 human prostate cancer cells via inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9 signaling pathways. *Oncology Reports*, 26, 177-184.
- Liu, W., Meng, Q., Sun, Y., Wang, C., Huo, X., Liu, Z., Liu, K. (2018).** Targeting P-glycoprotein: Nelfinavir reverses Adriamycin resistance in K562/ADR cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(4), 1616-1631.
- Liu, Y. P., Zheng, C. C., Huang, Y. N., He, M. L., Xu, W. W., Li, B. (2021).** Molecular mechanisms of chemo-and radiotherapy resistance and the potential implications for cancer treatment. *Med Comm*, 2(3), 315-340.
- Liu, Z., Zhu, G., Getzenberg, R. H., & Veltri, R. W. (2015).** The upregulation of PI3K/Akt and MAP kinase pathways is associated with resistance of microtubule-targeting drugs in prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 116(7), 1341-1349.
- Lu, X., Yang, F., Chen, D., Zhao, Q., Chen, D., Ping, H., Xing, N. (2020).** Quercetin reverses docetaxel resistance in prostate cancer via androgen receptor and PI3K/Akt signaling pathways. *International Journal of Biological Sciences*, 16(7), 1121.
- Machioka, K., Izumi, K., Kadono, Y., Iwamoto, H., Naito, R., Makino, T., Mizokami, A. (2018).** Establishment and characterization of two cabazitaxel-resistant prostate cancer cell lines. *Oncotarget*, 9(22), 16185.
- Mieszala, K., Rudewicz, M., Gomulkiewicz, A., Ratajczak-Wielgomas, K., Grzegorzolka, J., Dziegiel, P., Borska, S. (2018).** Expression of genes and proteins of multidrug resistance in gastric cancer cells treated with resveratrol. *Oncology Letters*, 15(4), 5825-5832.
- Mimeault, M., Hauke, R., & Batra, S. K. (2008).** Recent advances on the molecular mechanisms involved in the drug resistance of cancer cells and novel targeting therapies. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(5), 673-691.
- Mohan, S., Thiagarajan, K., & Chandrasekaran, R. (2017).** Evaluation of ethyl gallate for its antioxidant and anticancer property against chemical induced tongue carcinogenesis in mice. *Biochemical Journal*.
- Mohana, S., Ganesan, M., Prasad, N. R., Ananthakrishnan, D., Velmurugan, D. (2018).** Flavonoids modulate multidrug resistance through wnt signaling in P-glycoprotein overexpressing cell lines. *BMC Cancer*, 18(1), 1-11.
- Nagesh, P. K., Hatami, E., Chowdhury, P., Kashyap, V. K., Khan, S., Hafeez, B. B., & Yallapu, M. M. (2018).** Tannic Acid Induces Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis in Prostate Cancer. *Cancers*, 10(3), 68.

- Nanayakkara, A. K., Vogel, P. D., Wise, J. G. (2019).** Prolonged inhibition of P-glycoprotein after exposure to chemotherapeutics increases cell mortality in multidrug resistant cultured cancer cells. *Plos One*, 14(6), e0217940.
- Neel, D. S., & Bivona, T. G. (2017).** Resistance is futile: overcoming resistance to targeted therapies in lung adenocarcinoma. *NPJ Precision Oncology*, 1(1), 1-6.
- Offermanns, Stefan; Rosenthal, Walter (2008).** MDR-ABC Transporters. *Encyclopedia of Molecular Pharmacology*. 4-9.
- Pei, H., Yang, Y., Cui, L., Yang, J., Li, X., Yang, Y., Duan, H. (2016).** Bisdemethoxycurcumin inhibits ovarian cancer via reducing oxidative stress mediated MMPs expressions. *Scientific Reports*, 6, 28773.
- Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., Scalbert, A. (2010).** Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(3), S112-S120.
- Phan, A. N., Hua, T. N., Kim, M. K., Vo, V. T., Choi, J. W., Kim, H. W., Jeong, Y. (2016).** Gallic acid inhibition of Src-Stat3 signaling overcomes acquired resistance to EGF receptor tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Oncotarget*, 7(34), 54702.
- Ploussard, G., Terry, S., Maillé, P., Allory, Y., Sirab, N., Kheuang, L., De La Taille, A. (2010).** Class III  $\beta$ -tubulin expression predicts prostate tumor aggressiveness and patient response to docetaxel-based chemotherapy. *Cancer Research*, 70(22), 9253-9264.
- Qu, Y., Dai, B., Ye, D., Kong, Y., Chang, K., Jia, Z., Shi, G. (2015).** Constitutively active AR-V7 plays an essential role in the development and progression of castration-resistant prostate cancer. *Scientific Reports*, 5(1), 1-6.
- Rath, Oliver; Kozielski, Frank (2012).** Kinesinas y cáncer. *Nature Reviews Cancer*, 12(8), 527-539.
- Reynoso-Noverón, Nancy; Torres-Domínguez, Juan Alejandro** Epidemiología del cáncer en México: carga global y proyecciones 2000-2020. *Revista Latinoamericana de Medicina Conductual / Latin American Journal of Behavioral Medicine*, vol. 8, núm. 1, agosto-enero, 2017, pp. 9-15. Sociedad Mexicana de Medicina Conductual A. C. Distrito Federal, México.
- Riahi-Chebbi, I., Soud, S., Othman, H., Haoues, M., Karoui, H., Morel, A., Essafi-Benkhadir, K. (2019).** The Phenolic compound Kaempferol overcomes 5-fluorouracil resistance in human resistant LS174 colon cancer cells. *Scientific Reports*, 9(1), 1-20.
- Roy, M., Chakraborty, S., Siddiqi, M., Bhattacharya, R. K. (2002).** Induction of apoptosis in tumor cells by natural phenolic compounds. *Asian Pac J Cancer Prev*, 3(1), 61-67.

- Saffari-Chaleshtori, J., Heidari-Sureshjani, E., Moradi, F., Jazi, H. M., Heidarian, E. (2017).** The study of apoptosis-inducing effects of three pre-apoptotic factors by gallic acid, using simulation analysis and the comet assay technique on the prostatic cancer cell line PC3. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: Mjms*, 24(4), 18.
- Saffari-Chaleshtori, J., Shafiee, S. M., Ghatreh-Samani, K., Jalilian, N. (2019).** The study of drug resistance properties of ABCG2 (ATP-binding cassette G2) in contact with thymoquinone, gallic acid, and hesperetin antioxidants. *Journal of Herbmед Pharmacology*, 8(2), 108-113.
- Sánchez, C., Mendoza, P., Contreras, H. R., Vergara, J., McCubrey, J. A., Huidobro, C., Castellon, E. A. (2009).** Expression of multidrug resistance proteins in prostate cancer is related with cell sensitivity to chemotherapeutic drugs. *The Prostate*, 69(13), 1448-1459.
- Sanchez-Carranza Jessica Nayelli. (2017).** Caracterización del efecto sobre el ciclo celular y apoptosis, inducido por compuestos aislados de *Caesalpinia coraria*, en diferentes líneas celulares de cáncer. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Facultad de Farmacia.
- Sánchez-Carranza, J. N., Alvarez, L., Marquina-Bahena, S., Salas-Vidal, E., Cuevas, V., Jiménez, E. W., González-Maya, L. (2017).** Phenolic compounds isolated from *Caesalpinia coriaria* induce S and G2/M phase cell cycle arrest differentially and trigger cell death by interfering with microtubule dynamics in cancer cell lines. *Molecules*, 22(4), 666.
- Sánchez-Carranza, J. N., Díaz, J. F., Redondo-Horcajo, M., Barasoain, I., Alvarez, L., Lastres, P., González-Maya, L. (2018).** Gallic acid sensitizes paclitaxel-resistant human ovarian carcinoma cells through an increase in reactive oxygen species and subsequent downregulation of ERK activation. *Oncology Reports*, 39(6), 3007-3014.
- Sanchez-Carranza, J. N., González-Maya, L., Razo-Hernández, R. S., Salas-Vidal, E., Nolasco-Quintana, N. Y., Clemente-Soto, A. F., Alvarez, L. (2019).** Achillin increases chemosensitivity to paclitaxel, overcoming resistance and enhancing apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line resistant to paclitaxel (Hep3B/PTX). *Pharmaceutics*, 11(10), 512.
- Sandoval, T. A., Urueña, C. P., Llano, M., Gómez-Cadena, A., Hernández, J. F., Sequeda, L. G., Fiorentino, S. (2016).** Standardized extract from *Caesalpinia spinosa* is cytotoxic over cancer stem cells and enhance anticancer activity of doxorubicin. *The American Journal of Chinese Medicine*, 44(08), 1693-1717.
- Sicard, A. A., Suarez, N. G., Cappadocia, L., Annabi, B. (2021).** Functional targeting of the TGF- $\beta$ R1 kinase domain and downstream signaling: a role for the galloyl moiety of



green tea-derived catechins in ES-2 ovarian clear cell carcinoma. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 87, 108518.

**Siegel** Rebecca, Miller Kimberly D, Jemal Ahmedin (2018). Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018.

**Storm**, M., Sheng, X., Arnoldussen, Y. J., & Saatcioglu, F. (2016). Prostate cancer and the unfolded protein response. *Oncotarget*, 7(33), 54051.

**Subramanian**, A. P., John, A. A., Vellayappan, M. V., Balaji, A., Jaganathan, S. K., Supriyanto, E., & Yusof, M. (2015). Gallic acid: prospects and molecular mechanisms of its anticancer activity. *RSC Advances*, 5(45), 35608-35621.

**Sutherland**, R., Meeson, A., & Lowes, S. (2020). Solute transporters and malignancy: establishing the role of uptake transporters in breast cancer and breast cancer metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 1-14.

**Takeda**, M., Mizokami, A., Mamiya, K., Li, Y. Q., Zhang, J., Keller, E. T., Namiki, M. (2007). The establishment of two paclitaxel-resistant prostate cancer cell lines and the mechanisms of paclitaxel resistance with two cell lines. *The Prostate*, 67(9), 955-967.

**Townsend**, D. M., & Tew, K. D. (2003). The role of Glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, 22(47), 7369-7375.

**Urbatsch**, I. L., Sankaran, B., Weber, J., Senior, A. E. (1995). P-glycoprotein is stably inhibited by vanadate-induced trapping of nucleotide at a single catalytic site. *Journal of Biological Chemistry*, 270(33), 19383-19390.

**Vinod**, B. S., Maliekal, T. T., & Anto, R. J. (2013). Phytochemicals as chemosensitizers: from molecular mechanism to clinical significance. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(11), 1307-1348.

**Wang**, X., Deng, R., Lu, Y., Xu, Q., Yan, M., Ye, D., Chen, W. (2013). Gambogic Acid as a Non-Competitive Inhibitor of ATP-Binding Cassette Transporter B1 Reverses the Multidrug Resistance of Human Epithelial Cancers by Promoting ATP-Binding Cassette Transporter B1 Protein Degradation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 112(1), 25-33.

**Watson**, J. L., Greenshields, A., Hill, R., Hilchie, A., Lee, P. W., Giacomantonio, C. A., & Hoskin, D. W. (2010). Curcumin-induced apoptosis in ovarian carcinoma cells is p53-independent and involves p38 mitogen-activated protein kinase activation and downregulation of Bcl-2 and survivin expression and Akt signaling. *Molecular Carcinogenesis* 49(1), 13-24.

- Wiltshire, C., Singh, B. L., Stockley, J., Fleming, J., Doyle, B., Barnetson, R., Leung, H. Y. (2010).** Docetaxel-resistant prostate cancer cells remain sensitive to S-trityl-L-cysteine-mediated Eg5 inhibition. *Molecular cancer therapeutics*, 9(6), 1730-1739.
- Wu, C. P., Ohnuma, S., V Ambudkar, S. (2011).** Discovering natural product modulators to overcome multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 12(4), 609-620.
- Wu, Y. S., Ho, J. Y., Yu, C. P., Cho, C. J., Wu, C. L., Huang, C. S., Yu, D. S. (2021).** Ellagic Acid Resensitizes Gemcitabine-Resistant Bladder Cancer Cells by Inhibiting Epithelial-Mesenchymal Transition and Gemcitabine Transporters. *Cancers*, 13(9), 2032.
- Xie, Y., Xu, K., Linn, D. E., Yang, X., Guo, Z., Shimelis, H., Qiu, Y. (2008).** The 44-kDa Pim-1 kinase phosphorylates BCRP/ABCG2 and thereby promotes its multimerization and drug-resistant activity in human prostate cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*, 283(6), 3349-3356.
- Yamagishi, T., Sahni, S., Sharp, D. M., Arvind, A., Jansson, P. J., Richardson, D. R. (2013).** P-glycoprotein mediates drug resistance via a novel mechanism involving lysosomal sequestration. *Journal of Biological Chemistry*, 288(44), 31761-31771.
- Yang, J., Nie, J., Ma, X., Wei, Y., Peng, Y., Wei, X. (2019).** Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Molecular cancer*, 18(1), 1-28.
- Yeh R-D, Chen J-C, Lai T-Y, Yang J-S, Yu C-S, Chiang J-H. (2011).** Gallic acid induces G0/G1 phase arrest and apoptosis in human leukemia HL-60 cells through inhibiting cyclin D and E, and activating mitochondria-dependent pathway. *Anticancer Research*.;31(9):2821–2832.
- Yoshida, K., Toden, S., Ravindranathan, P., Han, H., Goel, A. (2017).** Curcumin sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine by attenuating PRC2 subunit EZH2, and the lncRNA PVT1 expression. *Carcinogenesis*, 38(10), 1036-1046.
- Yuan, Z., Shi, X., Qiu, Y., Jia, T., Yuan, X., Zou, Y., Yin, P. (2017).** Reversal of P-gp-mediated multidrug resistance in colon cancer by cinobufagin. *Oncology Reports*, 37(3), 1815-1825.
- Zhu, Y., Liu, C., Nadiminty, N., Lou, W., Tummala, R., Evans, C. P., Gao, A. C. (2013).** Inhibition of ABCB1 expression overcomes acquired docetaxel resistance in prostate cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 12(9), 1829-1836.
- Zhu, Z., Wang, Y., Liu, Z., Wang, F., & Zhao, Q. (2012).** Inhibitory effects of epigallocatechin-3-gallate on cell proliferation and the expression of HIF-1 $\alpha$  and P-gp in the human pancreatic carcinoma cell line PANC-1. *Oncology Reports*, 27(5), 1567-1572.

**Zou, J., Zhu, L., Jiang, X., Wang, Y., Wang, Y., Wang, X., Chen, B. (2018).** Curcumin increases breast cancer cell sensitivity to cisplatin by decreasing FEN1 expression. *Oncotarget*, 9(13), 11268.

**VOTO APROBATORIO**  
**PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Blanca Elizabeth Hernández Solano

---

**Título de la tesis:** Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata.

**Grado a obtener:**

**Maestría en Farmacia**

**Doctora en Farmacia**

---

**Miembro del jurado:** Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

---

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

**Dra. Jessica Nayelli  
Sánchez Carranza**

31-enero-2022

---

Fecha

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

**JESSICA NAYELLI SANCHEZ CARRANZA | Fecha:2022-01-31 14:45:52 | Firmante**

aD56nTmc6/+bPwy4mhxEjsDchRZLRVteET7QjLokniAswDL+ZZg9zLFBawmOe415HbSsWvlWe2NMclhrcLogpWD+rDMiqGWQg7NiqPqufiXjwRILDCWrT/01IMtbnKc/jhJmhxGV  
eBax7H19gmiB6Y/hQO/22/Q/Jdlw9rP1w67SMERcAQg+vRHw/Jo7U2j3ZBzyCXQqbVnrhBygOpSBmmBgA5+rWGaR39uqG9gOdUU6SjCTYh/Sw68B3r3jxpyBIMcChSwDFt7+49  
9w3cjqchBTG63pBDo/ek+ZLzUPicl1H9K4k.JvSjzF2SB1FZbNWGmopDXIHgnNStsYkkSOj0g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[TunPBGsX6](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/rnFbUtpxnFhmJEeRSc2wnewYzFjcpZv>

**VOTO APROBATORIO**  
**PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Blanca Elizabeth Hernández Solano

---

**Título de la tesis:** Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata.

**Grado a obtener:**

**Maestría en Farmacia**

**Doctora en Farmacia**

---

**Miembro del jurado:** Dra. Patricia Mussali Galante

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

---

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

**Dra. Patricia Mussali  
Galante**

31-enero-2022

---

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

**PATRICIA MUSSALI GALANTE | Fecha:2022-02-01 14:19:35 | Firmante**

Sb8qUDwen82hMB18g/Gd3wLi9h9VKvAF3vXH4FgM4ev+IWIDlynZ95SgNfslLVtuT6OIPZTeBP7PIMX8YaAELuUSYm5YllIge6og8flSi3FH4YgA6yiVxMlgUk1pnkcVc6z1P795OV  
aN/cFOHI5YIYpOuvyYjimrT5dXVUH4eZgdSh3E8N528lmmPqKXGDN3yDnOo4cZc2DxyVLE/4+Est6H75an/vd7D7uGCAbg8H+UlyqQ/mZD/WU4+GxezFluAFn8TKIS50WZx8tRh  
Ut+Y87me7rcahYBNNU0hFBpr7GaWvC9sx4YmlweQCavAhri7HWkUuewsf3r5dSqweG4g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[2cTbsgLq7](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/zC2lwbOh0KH8frKfW12HcFn8ivMKPXG>



**VOTO APROBATORIO**  
**PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Blanca Elizabeth Hernández Solano

---

**Título de la tesis:** Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata.

**Grado a obtener:**

**Maestría en Farmacia**

**Doctora en Farmacia**

---

**Miembro del jurado:** Dra. María de Lourdes Rodríguez Fragoso

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

---

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

31-enero-2022

---

**Dra. María de Lourdes  
Rodríguez Fragoso**

---

Fecha





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

MARIA DE LOURDES RODRIGUEZ FRAGOSO | Fecha:2022-02-01 08:54:10 | Firmante

k+blZzXH3RqZgaan+659hJdR1O88IS6ZQ7wk/MhLWgABFH0pU4BmFTujeW/3QkOZvZOKsQvu05umV1Co4NKIK0MAMYy7TebNT8heFWvFslamc9y1sTaYh2t3dWex6M0pjuS4  
9HqRjPweAgfMlBmwqEDdqsEBQBDNXK7dF9XAKm3SPivAacVIMnR8+gvZSb2pwQYpBILYh+o1JTofZU/ZfoE9RalFyviUrwUyd22L9uK+4h8YvmPfqEsQ2zTB4KgnmRZ5qCs5v  
TolKnQjAcAv1Jv/kedbfXTj03hxQjVhBkqgI5MKz2QsbqNWVDL7yXNhxQzdfAVJLTjGa7v80g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



59SGMPJO8

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/GrXSQDyOhmaWnb9gfTwUx73qfRObpFdJ>



**VOTO APROBATORIO**  
**PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Blanca Elizabeth Hernández Solano

---

**Título de la tesis:** Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata.

**Grado a obtener:**

**Maestría en Farmacia**

**Doctora en Farmacia**

---

**Miembro del jurado:** Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

---

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

**Dr. Juan Gabriel  
Navarrete Vázquez**

31-enero-2022

---

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ** | Fecha:2022-01-31 15:52:41 | Firmante

NTpRzZ6QPQS+G7Z8Mhzn84JW4WBNFNSc7ZGfjEmL3GJ8Ts2qkkAMWCh77PFpPUzM0yGMkjFKcLglA7p34EsHLjndt5yEc3POv+7euqZ97K3L1R4EFRI/pTtdLIENAYBUrR2rKcS8mKa1CFBo1dLB9dhAomStFYmgMMXBb6OLaXXgmKNGaAXLn5DnP1X+H77IWpUImh+R0h4BsUrBcQr2cDxexG210hQRFEyidxLF4iVCorePGQHYV+HDe+j6L+DLO8Uuj/irtAoR0jYWPMYH5Ywu8hraM4yIH9KFdyp80aEkymtKdbuOCjZywrpia26AxxukrbtzON/EzUYcAw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[DSUTjYu9w](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/GTCPQkphwm1Sjz435PyqwSkHUI3p0sM>



**VOTO APROBATORIO**  
**PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA**  
**FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Blanca Elizabeth Hernández Solano

---

**Título de la tesis:** Evaluación citotóxica y análisis del efecto quimiosensibilizante del ácido tánico, ácido gálico, galato de etilo y ácido elágico sobre la reversión del fenotipo de resistencia en células PC-3/PTX de cáncer de próstata.

**Grado a obtener:**

**Maestría en Farmacia**

**Doctora en Farmacia**

**Miembro del jurado:** Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

31-enero-2022

---

**Dr. Alejandro Zamilpa  
Álvarez**

---

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**ALEJANDRO ZAMILPA ÁLVAREZ | Fecha:2022-01-31 15:20:51 | Firmante**

YVYxdXmjMUyYma9xPTSEAFS4Afj6P+C82RPO0iGsjDtCtMdDtygdejbqvzUDSV6mmcYQAB9Q21gZWfLQLxTHsqOHbJZ0mHCS2Z5EPMY5zoBqmgOPV1BD7Wo00Osj4g+Y0g yaUx9TN5Cqa9/hvMAXoCCbPCPkfGgTI/JHGoVE0+jIBk5Nvztf4j5WG+saaUJmGGUYSG/2oY6F9I6AZQkru1LjzpgIbAEWuKcfEcstAGhCS7/Oe5Oqk+Kt9WsJRzmrNmYvU8MWqr RE6T4VpmW6dglw4/BJMkbi4G+ki/r7WnQ1qSBA9zWrPVzzKh9NGbOwOSZCYapmUv9297/5kM/7gw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



**AU2SxtFXa**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/1EJbucq8tgwpAOu9sRip1yZ0LuP9wkYC>

