Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina
Departamento de Estudios Avanzados
Maestría en Ciencias de la Salud

“Inducción de apoptosis en células de cáncer de mama por foto-activación UV de vitamina K5”

TESIS

para obtener el grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Presenta:
Q.F.B. Lorena Caracheo Uría

Comité de Tutores
Director: Dr. José Antonio Estrada Guadarrama
Co-directora: Dra. Irazú Contreras García
Asesor: Dr. Luis Ángel Zapi Colín

Toluca, Estado de México 2026

Tabla de contenido

Resumen ... 3

Abstract ... 4

1. Marco teórico ... 5

1.1 Introducción ... 5

1.2 Cáncer ... 5

1.2.1 Cáncer de mama ... 7

1.2.2 Líneas celulares de cáncer ... 10

1.2.2.1 Línea celular T47D ... 11

1.3 Terapia fotodinámica ... 11

1.3.1 Mecanismos de muerte celular asociados a terapia fotodinámica ... 14

1.3.2 Terapia fotodinámica con radiación UV ... 19

1.3.3 Terapia fotodinámica para el tratamiento del cáncer ... 21

1.4 Vitaminas y PDT en cáncer ... 24

1.5 Grupo vitamina K ... 24

1.6 Vitamina K5 ... 27

2. Planteamiento del problema ... 29

3. Justificación ... 30

4. Hipótesis ... 31

5. Metodología ... 1

5.1 Diseño del estudio ... 1

5.2 Universo de trabajo y muestra ... 1

5.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación: ... 1

5.4 Procedimientos ... 2

6. Variables de estudio ... 10

6.1 Implicaciones bioéticas ... 13

6.2 Recolección de datos ... 14

6.3 Análisis estadístico ... 14

7. Resultados ... 15

8. Discusión ... 17

9. Conclusiones ... 21

10. Referencias bibliográficas ... 22

11. Anexos ... 28

Resumen

El cáncer de mama representa un importante problema de salud, por lo que continúa siendo necesaria la búsqueda de alternativas terapéuticas más selectivas. Este estudio evaluó si la vitamina K5 potencia el efecto citotóxico de la radiación ultravioleta (UV) en células de cáncer de mama T47D, considerando su posible aplicación como compuesto foto-activable en terapia fotodinámica. Las células fueron tratadas con vitamina K5 a concentraciones de 5 y 10 µM durante 24, 48 y 72 h, sola o combinada con 30 min de luz UV. La viabilidad celular se evaluó mediante cristal violeta, la muerte celular mediante tinción con anexina V/yoduro de propidio y citometría de flujo, y la activación de caspasa-3 mediante Western blot. Para el análisis de viabilidad, los resultados de cada experimento se normalizaron con respecto a las células no tratadas, cuya viabilidad se estableció como 100 %. La vitamina K5 sola produjo reducciones moderadas y variables en la viabilidad, con una media global de 75.1 %, mientras que la radiación UV sola la redujo a 43.4 %. El tratamiento combinado produjo el mayor efecto citotóxico, con una viabilidad media de 25.9 % respecto al control y valores inferiores a 35 % en las concentraciones y tiempos evaluados. La citometría de flujo mostró una disminución de las células viables y un aumento de las poblaciones en apoptosis tardía y necrosis después del tratamiento combinado; sin embargo, las diferencias entre las categorías de muerte celular no fueron estadísticamente significativas. El análisis por Western blot mostró que la combinación de vitamina K5 a 10 µM con UV incrementó la caspasa-3 activa 2.61, 3.04 y 3.84 veces a las 24, 48 y 72 h, respectivamente. Al analizar conjuntamente los tiempos de incubación, este grupo presentó un incremento medio de 3.16 ± 0.9 veces y fue el único tratamiento con una diferencia estadísticamente significativa respecto al control. En conclusión, la foto-activación UV de la vitamina K5 potenció la citotoxicidad en células T47D y favoreció una respuesta apoptótica asociada con la activación de caspasa-3, aunque también participan otros mecanismos de muerte celular.

Abstract

Breast cancer represents a major health problem; therefore, the search for more selective therapeutic alternatives remains necessary. This study evaluated whether vitamin K5 enhances the cytotoxic effect of ultraviolet (UV) radiation in T47D breast cancer cells, considering its potential application as a photoactivatable compound in photodynamic therapy. Cells were treated with vitamin K5 at concentrations of 5 and 10 μM for 24, 48, and 72 h, either alone or in combination with 30 min of UV irradiation. Cell viability was evaluated using crystal violet staining, cell death was assessed by Annexin V/propidium iodide staining and flow cytometry, and caspase-3 activation was analyzed by Western blot. For viability analysis, the results of each experiment were normalized to untreated cells, whose viability was set at 100%. Vitamin K5 alone produced moderate and variable reductions in viability, with an overall mean of 75.1%, whereas UV irradiation alone reduced viability to 43.4%. The combined treatment produced the greatest cytotoxic effect, with a mean viability of 25.9% relative to the control and values below 35% across the concentrations and time points evaluated. Flow cytometry showed a decrease in viable cells and an increase in late apoptotic and necrotic populations after the combined treatment; however, the differences among cell-death categories were not statistically significant. Western blot analysis showed that the combination of 10 μM vitamin K5 with UV increased active caspase-3 by 2.61-, 3.04-, and 3.84-fold at 24, 48, and 72 h, respectively. When incubation times were analyzed together, this group showed a mean increase of 3.16 ± 0.9-fold and was the only treatment with a statistically significant difference compared with the control. In conclusion, UV photoactivation of vitamin K5 enhanced cytotoxicity in T47D cells and promoted an apoptotic response associated with caspase-3 activation, although other cell-death mechanisms also contributed.

1. Marco teórico

1.1 Introducción

El cáncer es un grupo de enfermedades causadas por mutaciones en el ADN, las cuales llevan a un crecimiento celular anormal. Es una de las principales causas de muerte mundial y afecta gravemente la salud global. Su tratamiento incluye radioterapia, quimioterapia y cirugía; sin embargo, cada una de estas terapias tiene sus propias limitantes, como fallas terapéuticas, supresión del sistema inmunológico y efectos secundarios (1).

El cáncer de mama es un desafío para la salud global, siendo el tipo de cáncer más comúnmente diagnosticado en todo el mundo. En 2020, se reportaron aproximadamente 2.26 millones de casos, y es la principal causa de muerte por cáncer en mujeres. Las terapias convencionales, a pesar de ser agresivas, suelen fallar y las recurrencias suelen ser comunes. En este contexto, la progresión hacia estadios avanzados limita de manera considerable la eficacia de las intervenciones disponibles, dando lugar a un escenario de estancamiento terapéutico en el que las alternativas restantes ofrecen beneficios más limitados o se asocian con un mayor riesgo de daño (2).

La PDT es una terapia alternativa emergente que consiste en administrar un agente fotosensibilizador (FS) y luego exponer el área afectada a luz con una longitud de onda específica, para que la combinación genere radicales libres, que destruyan las células (3).

El presente proyecto pretende examinar los cambios sobre la viabilidad celular y la inducción de apoptosis en la línea celular de cáncer de mama T47D por fotosensibilización con vitamina K5, empleando métodos de espectrofotometría, citometría de flujo y western blot.

1.2 Cáncer

El cáncer no puede ser definido como una sola enfermedad, ya que es un conjunto de padecimientos caracterizados por el crecimiento descontrolado de células anormales, además de una falta de reconocimiento de estas células por parte del

sistema inmunológico. Debido a que tenemos células en todo nuestro cuerpo, el cáncer puede desarrollarse básicamente en cualquier parte de nuestro organismo (4–6).

De manera general, podemos clasificar los tipos de cáncer de la siguiente manera:

- **Hematológicos:** Tienen su origen en las células sanguíneas.
- **Tumores sólidos:** Tienen su origen en cualquier tejido u órgano sólido del cuerpo (4,5).

Existen sistemas de clasificación más específicos, los criterios más compartidos entre estos sistemas son:

- Tipo de célula de origen.
- Localización y estadio.
- Grado del tumor (4,5).

El cáncer es una enfermedad compleja que aún no se comprende en su totalidad. Se ha llegado al consenso de que el componente primario de su origen es el genético; cuando hay cambios en los genes, que de manera normal ayudan a controlar el ciclo celular, se pierde la regulación en la célula y empieza a haber una proliferación desordenada e ineficiente (4,5). La carcinogénesis es un proceso de varias etapas que implican la aparición de mutaciones en los genes encargados de regular el equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis, lo que conduce a un crecimiento celular descontrolado y a la invasión de células cancerosas en tejidos adyacentes (7).

El informe más reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS), publicado en 2026, señala que el cáncer continúa representando una de las principales causas de morbimortalidad a nivel mundial. En 2024 se estimaron 20.6 millones de nuevos casos y aproximadamente 9.7 millones de muertes atribuibles al cáncer. Asimismo, esta enfermedad representa alrededor del 16.5 % de las muertes globales y constituye la segunda causa de muerte a nivel mundial, después de las enfermedades cardiovasculares. En cuanto a su incidencia, el cáncer de pulmón fue el más frecuente en hombres, seguido del cáncer de próstata, mientras que en mujeres el cáncer de mama presentó la mayor incidencia, seguido del cáncer de pulmón; el cáncer colorrectal ocupó el tercer lugar en ambos sexos (8).

1.2.1 Cáncer de mama

En el 2025 el cáncer de mama fue la principal causa de muerte por cáncer en mujeres de 60 años o más (9). En México en 2023, se registraron 8,034 defunciones por cáncer de mama en población de 20 años y más; de estas 99.5 % fueron mujeres. La tasa de mortalidad en mujeres de 20 años y más fue de 17.9 por cada 100 mil (10).

El cáncer de mama se clasifica en diferentes etapas, para determinar la extensión y definir el tratamiento. Las etapas dependen de varios factores, siendo algunos de los más importantes: el tamaño del tumor y si hay o no diseminación o de diversos marcadores moleculares. En la figura 1 se muestran las etapas del cáncer de mama, representando el progreso de la enfermedad, en donde cada punto de la línea corresponde a una etapa clínica.

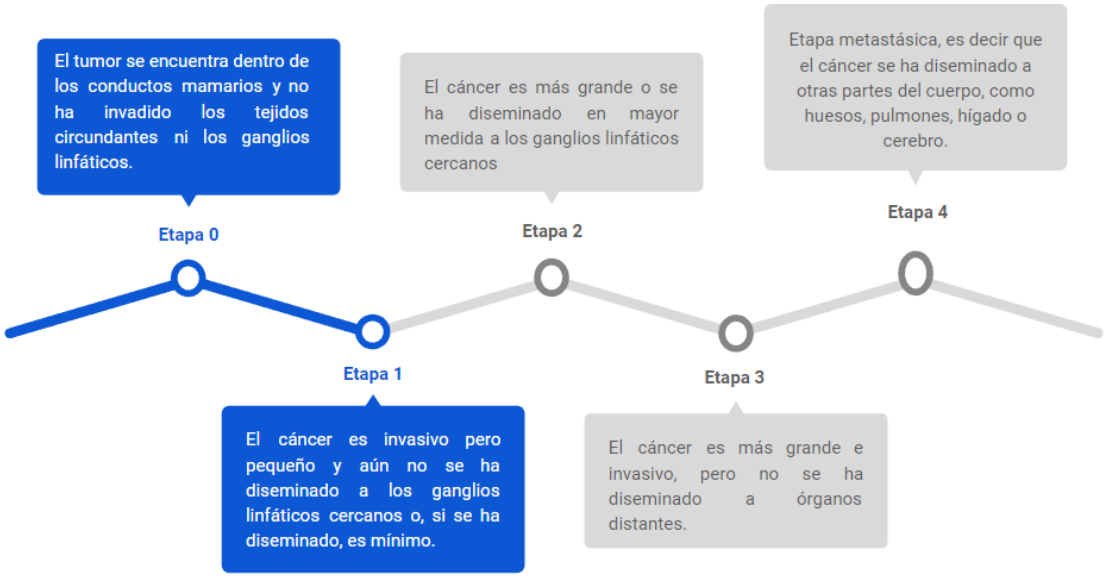


Figura 1. Etapas del cáncer de mama. En color azul se representan las etapas tempranas o iniciales del cáncer de mama, donde el tumor está localizado (no ha invadido tejidos cercanos ni ganglios linfáticos) y tiene un tamaño pequeño o mínima diseminación. En estas fases, el pronóstico es mejor y el tratamiento suele ser más efectivo. Mientras que en color gris se representan las etapas avanzadas o metastásicas, donde el cáncer aumenta de tamaño, se disemina a ganglios linfáticos o a órganos distantes (metástasis). Estas fases implican mayor gravedad. Elaboración del autor a partir de información de la referencia (4).

Tradicionalmente, la OMS ha basado la clasificación en criterios morfológicos e histopatológicos, considerando el tipo de célula de origen y el patrón de crecimiento del tumor. Según el sistema de la OMS 2019, los carcinomas invasivos de mama se dividen en dos categorías principales:

1. Carcinoma de tipo no especial (NST, por sus siglas en inglés), que representa aproximadamente el 75% de los casos. Este grupo incluye principalmente los tumores ductales invasivos, caracterizados por una morfología variable y un comportamiento clínico heterogéneo (11).
2. Carcinomas de tipos especiales, que abarcan alrededor del 25% restante de los casos e incluyen 19 subtipos histológicos bien definidos, como los carcinomas lobulillares, tubulares, mucinosos, medulares, papilares y metaplásicos, entre otros. Estos subtipos suelen presentar características morfológicas distintivas y, en muchos casos, un pronóstico más favorable (11).

Con el desarrollo de la biología molecular y las tecnologías de análisis génico, el cáncer de mama comenzó a clasificarse en subtipos basados en perfiles de expresión génica y marcadores inmunohistoquímicos. Este enfoque molecular ha permitido correlacionar la biología del tumor con el pronóstico y la respuesta terapéutica (11).

Se reconocen cuatro subtipos moleculares principales: Luminal A, Luminal B, HER2-enriquecido y Basal-like o triple negativo (TNBC). Estos subtipos se determinan mediante técnicas de microarreglos de ADN o, en la práctica clínica, mediante paneles inmunohistoquímicos que evalúan los receptores hormonales (ER y PR), HER2 y el marcador proliferativo Ki-67 (11,12).

Estos subtipos muestran diferencias en términos de supervivencia y patrones de metástasis. Por ejemplo, los subtipos luminales tienden a metastatizar al hueso, mientras que los HER2+ lo hacen con mayor frecuencia al hígado y los TNBC al pulmón y cerebro (12).

No obstante, aunque la clasificación morfológica ofrece información valiosa sobre el tipo histológico y el grado tumoral, su utilidad pronóstica y predictiva es limitada, ya que los tumores de apariencia similar pueden mostrar comportamientos biológicos distintos. Por ello, la clasificación anatómica se complementa con el análisis de marcadores moleculares, que permite establecer subtipos intrínsecos más precisos y orientar estrategias terapéuticas personalizadas (11).

El cáncer de mama presenta alteraciones profundas en diversas vías moleculares que regulan la proliferación, la apoptosis y la progresión tumoral. Una de las rutas más frecuentemente alteradas es PI3K/AKT/mTOR, afectada por mutaciones en PIK3CA, pérdida de PTEN y activación de AKT, cambios que favorecen la supervivencia celular, la resistencia a la hormonoterapia y la activación de mecanismos metabólicos que sostienen el crecimiento tumoral (12).

Las mutaciones somáticas y las variaciones en el número de copias de genes también alteran la regulación entre proliferación y apoptosis, facilitando la evasión de puntos de control del ciclo celular (13). En general, las alteraciones en PI3K/AKT/mTOR, MAPK, HER2-ERBB2, p53 y los mecanismos de reparación del ADN constituyen ejes centrales de la biología del cáncer de mama y explican gran parte de su comportamiento clínico y su respuesta diferencial a los tratamientos (11–13).

Los tratamientos para cáncer de mama se clasifican de manera general en dos categorías, estos tratamientos pueden ser utilizados de manera individual o combinados (14).

- **Tratamientos locales:** Cirugía y radioterapia.
- **Tratamientos sistémicos:** Quimioterapia, terapia endocrina y terapia biológica (14).

Dentro de los tratamientos locales, tanto la cirugía conservadora de mama como la mastectomía han demostrado ofrecer supervivencias equivalentes en cáncer de mama temprano siempre que la cirugía conservadora vaya acompañada de radioterapia. La cirugía conservadora presenta beneficios como mejores resultados estéticos y menor impacto físico, aunque requiere radioterapia y no es adecuada para tumores extensos o multifocales. La mastectomía, por otro lado, puede evitar la necesidad de radioterapia en algunos casos y ofrece un menor riesgo de recurrencia local en ciertos subgrupos, pero implica una alteración corporal mayor y frecuentemente la necesidad de reconstrucción. En el caso de la radioterapia, su beneficio radica en la reducción sustancial de la recurrencia local y la mejora de la supervivencia específica; sin embargo, puede generar toxicidad cutánea, fibrosis y complicaciones en pacientes con reconstrucción mamaria (15).

Los tratamientos sistémicos son utilizados en varias etapas, los cuales resultan efectivos en terapias de cáncer de mama en etapas primarias entre un 69-95%, y en

etapas metastásicas, en un 50%; la disminución se debe a que las células pueden adquirir resistencia a la quimioterapia (16).

La quimioterapia basada en antraciclinas y taxanos es fundamental en pacientes de alto riesgo y en subtipos biológicamente agresivos. Sus beneficios incluyen una reducción significativa de recurrencia y mortalidad, así como la posibilidad de emplearse en el contexto neoadyuvante para disminuir el tamaño del tumor y facilitar la cirugía conservadora. No obstante, sus desventajas incluyen efectos adversos como cardiotoxicidad (especialmente con antraciclinas), neuropatía, mielosupresión y pérdida de calidad de vida. Asimismo, la terapia endocrina, base del tratamiento en tumores con receptores hormonales positivos, reduce de manera importante la recurrencia a largo plazo, aunque puede asociarse con trombosis (tamoxifeno), síntomas osteomusculares y pérdida de masa ósea (inhibidores de aromatasa) (15).

La mayoría de los pacientes tienen manifestaciones localizadas al momento de su diagnóstico y pueden entrar en remisión después del tratamiento, pero muchos desarrollan metástasis, lo que se asocia con un pronóstico negativo. Aunque las opciones de tratamiento han avanzado enormemente, muchos pacientes no logran la remisión (3). El tratamiento indicado para estos pacientes puede ser cirugía, radiación, quimioterapia o terapia hormonal; pero a pesar de la agresividad de estas terapias, la reincidencia es común (3), particularmente cuando se emplea radioterapia y quimioterapia, en donde una reprogramación metabólica en las células puede llevarlas a presentar resistencia al tratamiento (14). Para estos casos fallidos son necesarias alternativas nuevas, siendo una opción la PDT (3).

Actualmente ya ha sido evaluado el uso del fotosensibilizador Photofrin para el tratamiento del carcinoma de mama progresivo en pared torácica, obteniendo buenos resultados clínicos y estéticos (17). Lo cual sienta un precedente para el potencial de la PDT en el manejo de los pacientes con cáncer de mama.

1.2.2 Líneas celulares de cáncer

Las líneas celulares de cáncer son modelos *in vitro* utilizados para la investigación y descubrimiento de nuevas terapias, esto debido a su capacidad para proporcionar un suministro indefinido de material biológico. Si su identificación y mantenimiento se encuentran en condiciones adecuadas, estas líneas conservan muchas de las

características del tipo de cáncer del que fueron extraídas originalmente, lo que las vuelve muy útiles para el estudio de mecanismos celulares de cáncer y sus interacciones con nuevos fármacos o tratamientos. Varios ensayos *in vitro* en laboratorios de investigación alrededor del mundo usan estas líneas celulares para lograr avances en terapias y encontrar nuevas herramientas de diagnóstico (18).

1.2.2.1 Línea celular T47D

Dentro de las líneas celulares más estudiadas en cáncer de mama tenemos la MDA-MB 231, que es negativa a receptores de estrógenos (ER), y las líneas T47D y MCF-7, que son ER positivas (16). La relevancia de estudiar líneas ER positivas reside en el hecho de que, en pacientes positivos a receptores hormonales, el riesgo de recurrencia de la patología es mayor (19).

La línea celular T47D se aisló en 1979 de un tumor mamario metastásico, secundario de un carcinoma mamario ductal infiltrante proveniente de una donante de 54 años. Las células son epiteliales adherentes, positivas para receptores de estrógeno y progesterona, lo que las hace útiles en estudios de cáncer de mama dependientes de hormonas. Tienen mutaciones en la proteína p53, lo cual es relevante para estudios sobre vías de señalización relacionadas a esta proteína en cáncer; además, expresan bajos niveles de E-cadherina y tienen alteraciones en la vía PI3K/Akt, lo cual es útil para estudios de metástasis y señalización celular (20). Son muy utilizadas en investigación sobre cáncer de mama, especialmente en estudios relacionados con regulación hormonal, proliferación celular, quimioterapia, terapias endocrinas y como modelo estándar para evaluar el efecto de fármacos hormonales (20).

1.3 Terapia fotodinámica

En la PDT se utiliza un tipo particular de molécula, que sólo se activa ante la exposición a una longitud de onda específica y en presencia de oxígeno molecular (O_2). La longitud de onda seleccionada normalmente coincide con la absorción de longitud de onda más larga con respecto a la banda de absorción de la molécula, idealmente entre 650 y 850 nm, ya que este rango de longitud de onda corresponde a la mayor penetración en el tejido, así como la suficiente energía para generar estados excitados capaces de reaccionar con el oxígeno molecular en sistemas

biológicos (21). Sin iluminación, la molécula no es tóxica para las células. A estas moléculas se las llama fotosensibilizadores (FS), para las que se busca su acumulación selectiva en células cancerosas, en comparación con las normales (1).

En un ambiente con oxígeno, el fotosensibilizador promueve la formación de radicales libres, que pueden generar compuestos ROS, tales como peróxido de hidrógeno o radicales hidroxilos. Estos productos tienen la capacidad de destruir las células cancerígenas (21). Se ha propuesto que estas especies se forman a partir de dos tipos de reacciones, como se observan en la figura 2 y se describen más adelante.

Reacciones tipo I: El FS transfiere electrones o átomos de hidrógeno a un sustrato, generando radicales libres que reaccionan con el oxígeno molecular para formar ROS, que oxidan diversas biomoléculas.

Reacciones tipo II: El FS en estado triplete excitado transfiere energía al oxígeno molecular en su estado fundamental, convirtiéndolo en oxígeno singlete, una especie altamente reactiva que oxida moléculas biológicas (22).

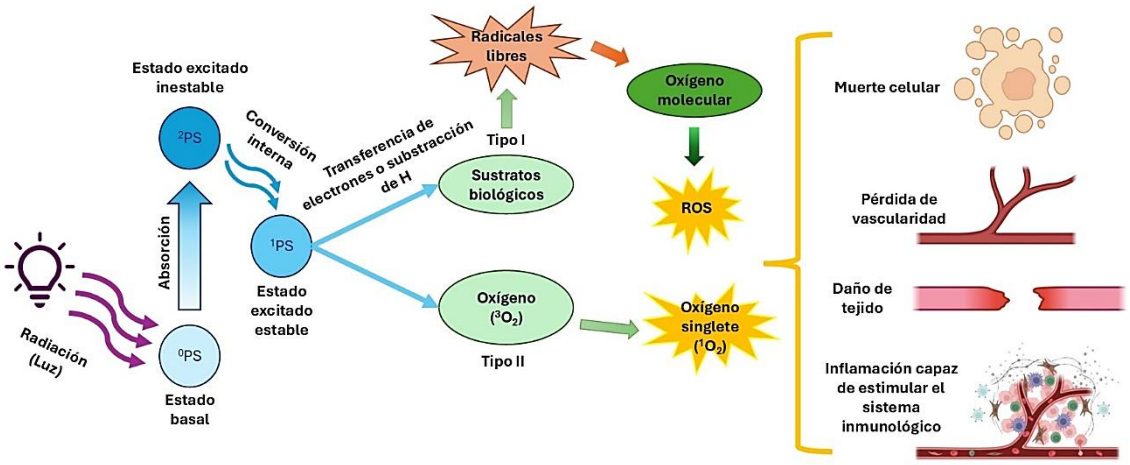


Figura 2. Mecanismo de acción de la terapia fotodinámica. La figura ejemplifica como la luz (radiación) activa una molécula llamada fotosensibilizador, que pasa de un estado basal a un estado excitado. En este estado, el fotosensibilizador reacciona con el oxígeno celular o con moléculas cercanas, generando ROS. Estas especies provocan varios efectos en las células y tejidos, como: Muerte celular, pérdida de vascularidad, daño en tejidos e inflamación que estimula al sistema inmune. Figura de elaboración propia del autor con el mecanismo general sobre la generación de

radicales libres a partir de la foto-activación, creada con base a la información de (1,22) y con imágenes de Biorender.

El desarrollo de estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la efectividad y seguridad de este tipo de moléculas (15), lo cual ha llevado a la utilización de la PDT para tratar diversas enfermedades, incluyendo ciertos tipos de cáncer y enfermedades de la piel. Los resultados de la PDT dependen de algunos parámetros específicos:

- Longitud de onda.
- Potencia de la radiación electromagnética (irradiancia).
- Cantidad total de energía radiante (fluencia).
- Tiempo de exposición (1).

En los últimos años, las investigaciones que persiguen la búsqueda del FS ideal han definido que este debe de cumplir con las siguientes características:

- Baja toxicidad en ausencia de luz.
- Alta afinidad con las células enfermas.
- Sensibilidad no prolongada.
- Alta solubilidad en medios acuosos y biológicos.
- Potencial para generar radicales libres y formas reactivas de oxígeno.
- Rápida eliminación corporal (22).

Los FS de primera generación que fueron clínicamente aprobados fueron los derivados de porfirinas; estos compuestos mostraron buena eficacia, pero tenían absorción en el rango visible corto (~630 nm), lo que limitaba la penetración lumínica en los tejidos y causaba fotosensibilidad prolongada en la piel. Ejemplos: Photofrin, foscan (Temoporfin) y Verteporfin (Visudyne) (23).

Los fotosensibiliadores de segunda generación surgieron como una respuesta a las limitaciones observadas en los compuestos de primera generación, particularmente en relación con su baja absorción lumínica, lenta eliminación del organismo y prolongada fotosensibilidad cutánea. El desarrollo de esta nueva familia de moléculas se centró en optimizar tanto la selectividad tumoral como la penetración tisular, incorporando modificaciones estructurales que desplazaran la absorción hacia longitudes de onda más largas dentro del espectro rojo e infrarrojo cercano (650–800 nm), lo que permite una mayor profundidad de acción. En este grupo destacan las

clorinas, bacterioclorinas, ftalocianinas y derivados purpurínicos, que exhiben un alto rendimiento cuántico en la generación de oxígeno singlete y una menor toxicidad sistémica. Asimismo, las ftalocianinas metálicas, como las de zinc o silicio, han mostrado una notable estabilidad química y una capacidad sobresaliente para producir especies reactivas de oxígeno bajo irradiación controlada (23,24).

Por otra parte, los fotosensibilizadores naturales o de origen vegetal han cobrado gran relevancia en los últimos años debido a su baja toxicidad, amplia disponibilidad y potencial sustentable. Estos compuestos derivan principalmente de metabolitos secundarios de plantas; tales como furanocumarinas, alcaloides, curcumina, flavonoides y antraquinonas (1).

Estos compuestos vegetales con propiedades fotoactivables son capaces de generar especies reactivas de oxígeno y promover apoptosis tras irradiación. Activados por luz ultravioleta o azul, han mostrado efectos antitumorales y antimicrobianos. Además, extractos completos de plantas como *Rubus fairholmianus* y *Albizia procera* potencian la citotoxicidad bajo luz visible, evidenciando el potencial de los fitoquímicos como fotosensibilizadores naturales en terapia fotodinámica (1)

Actualmente se busca el avance hacia nanofotosensibilizadores y sistemas híbridos, que combinan FS clásicos con nanomateriales (liposomas, sílica, polímeros, nanopartículas metálicas). Estos sistemas mejoran la biodistribución, la solubilidad y la selectividad tumoral, permitiendo tratamientos combinados con quimioterapia o inmunoterapia (23,24).

Durante la PDT el fotosensibilizador absorbido por las células es activado por luz, lo que promueve la transferencia de energía al oxígeno molecular, generando oxígeno singlete y otras ROS, que inducen apoptosis o necrosis celular. Este mecanismo permite que la PDT tenga un efecto citotóxico localizado y selectivo, ya que la generación de ROS ocurre exclusivamente donde se encuentra el fotosensibilizador y se aplica la luz (25).

1.3.1 Mecanismos de muerte celular asociados a terapia fotodinámica

El efecto terapéutico en la PDT depende de los mecanismos moleculares inducidos por el daño oxidativo. La muerte celular ocurre cuando se pierde el equilibrio entre la

generación de ROS y la capacidad de la célula para desintoxicarse o reparar los daños. Los mecanismos son complejos, porque en ciertos procesos se dificulta su clasificación (21). Originalmente, la muerte celular se estudiaba en las vías de necrosis, apoptosis o autofagia (autofagia no necesariamente lleva a muerte celular) (21), pero años de investigación han descubierto diversos mecanismos para la señalización y eliminación de células ya no útiles, dañadas irreversible o potencialmente peligrosas. Los mecanismos actualmente conocidos son (26):

- Apoptosis intrínseca.
- Apoptosis extrínseca.
- Necrosis derivada por transición de permeabilidad mitocondrial (MPT).
- Necroptosis.
- Ferroptosis.
- Piroptosis.
- Parthanatos.
- Muerte celular entótica.
- Muerte celular dependiente de NET´s (trampas de neutrófilos extracelulares).
- Muerte celular dependiente de lisosomas.
- Muerte celular dependiente de autofagia.
- Muerte por células inmunogénicas.
- Senescencia celular.
- Catástrofe mitótica (26).

La identificación de estas formas es complicada, debido a su complejidad y dificultad para diferenciarlas. Un fotosensibilizador puede inducir cualquiera de estos mecanismos, dependiendo de su estructura y foto activación. Un daño elevado generalmente provoca muertes asociadas a necrosis, mientras que un daño moderado puede inducir mecanismos apoptóticos, y daños menores suelen llevar a mecanismos derivados de la autofagia (21).

Estrés oxidativo y apoptosis

Durante la PDT, la activación de un FS mediante luz a una longitud de onda específica lleva a la producción de ROS, como oxígeno singlete, superóxido y radicales

hidroxilos. Estas especies, altamente reactivas y de vida corta, causan daños severos a proteínas, lípidos y ADN, desencadenando respuestas de estrés celular (esto ya lo has mencionado antes. No tiene caso repetirlo múltiples veces) (21). Cuando el daño oxidativo excede la capacidad de las células para reparar y recuperar su homeostasis, se activa la vía intrínseca de la apoptosis. Esta respuesta apoptótica está principalmente regulada por la familia de proteínas BCL-2, que equilibra señales pro-apoptóticas (como BAX, BAK, BIM y NOXA) y anti-apoptóticas (como BCL-2, BCL-XL y MCL-1) (21).

El estrés en organelos como el RE o las mitocondrias promueve la activación de las proteínas pro-apoptóticas, lo que lleva a la permeabilización de la membrana mitocondrial externa y la liberación de proteínas como el citocromo C y SMAC al citosol. Estas proteínas son las que activan las caspasas, particularmente la caspasa-9 y posteriormente la caspasa-3, iniciando así el proceso apoptótico (21). El estrés oxidativo en el RE, especialmente cuando el FS se localiza en este organelo, activas vías específicas de respuesta al estrés como el eje PERK-eIF2α-ATF4-CHOP. Cuando estas respuestas adaptativas no logran restablecer el equilibrio, se activa la expresión de CHOP, un factor de transcripción pro-apoptótico que suprime genes de supervivencia y estimula la expresión de proteínas proapoptóticas como BIM y NOXA (21).

En adición, el estrés del RE también induce un aumento en los niveles de calcio intracelular, que es captado por las mitocondrias, acentuando su disfunción y favoreciendo aún más la activación apoptótica. En algunos casos, este flujo de calcio puede activar proteasas como las calpaínas, que contribuyen a la activación de la caspasa-12, también implicada en la apoptosis asociada al RE (21). El estrés oxidativo generado durante la PDT actúa como desencadenante de la apoptosis celular, tanto por daño directo a mitocondrias como por la disrupción del equilibrio del RE. La intensidad y duración del estrés determinan si las respuestas celulares serán de carácter adaptativo y pro-supervivencia o terminarán en muerte celular programada.

En este contexto, la activación de las vías apoptóticas inducidas por estrés oxidativo se traduce finalmente en una serie de modificaciones estructurales y bioquímicas dentro de la célula, las cuales terminan con el proceso de muerte celular programada.

Estos cambios incluyen la externalización de fosfolípidos específicos en la membrana plasmática, la activación de enzimas proteolíticas y la fragmentación controlada de componentes celulares. Dichas alteraciones pueden ser detectadas mediante distintos marcadores moleculares, entre los que destacan la anexina y las caspasas, como indicadores funcionales de la ejecución apoptótica.

Las anexinas son un grupo de proteínas que participan en procesos de unión, acoplamiento y/o fusión de membranas. Los estudios que se han realizado sobre este grupo de proteínas han identificado repeticiones altamente homólogas de ciertas secuencias de aminoácidos: la estructura terciaria común específica, el llamado “núcleo” Anx, el cual está formado por motivos de unión membrana/Ca2+(31). Este arreglo en las anexinas genera especificidad de unión hacia lípidos a través de puentes de Ca2+. Estos se unen a fosfolípidos cargados negativamente; por ejemplo, fosfatidilserina (PS), ácido fosfatídico y fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (31).

En condiciones normales, la PS está mayoritariamente en la capa interna de la membrana plasmática, pero al inicio de la apoptosis, la PS pierde su distribución asimétrica y se desplaza hacia la membrana externa, marcando a la célula para su eliminación por fagocitosis. Ya en la superficie externa de la membrana, la PS puede detectarse de manera específica con anexina V marcada con fluorescencia, en una reacción dependiente de calcio (32).

En las primeras etapas de la apoptosis, la membrana plasmática mantiene su integridad y excluye colorantes de viabilidad, como el yoduro de propidio (PI) y el 7-AAD; sin embargo, estas células sí se tiñen con anexina V. Esto permite identificar las células en apoptosis temprana. En etapas avanzadas de apoptosis, la pérdida de integridad de la membrana permite que la anexina V y los colorantes de viabilidad penetren en la célula, lo que ayuda a diferenciar entre células en apoptosis tardía y temprana. La anexina V también tiñe las células necróticas, ya que sus membranas rotas permiten que la proteína acceda a la membrana plasmática (32).

Por otro, las caspasas son una familia de enzimas proteasas que son mediadores cruciales de la muerte celular programada o apoptosis; todas comienzan como pro-caspasas inactivas, que luego son activadas por dimerización, proximidad inducida o asociación con socios de unión específicos (3,33). Se dividen en dos grupos:

- Caspasas iniciadoras: Activan a las ejecutoras; incluyen las caspasas 8 y 9.

- Caspasas ejecutoras: Incluyen las caspasas 3 y 7, funcionan rompiendo proteínas estructurales y activando otras enzimas.

Las caspasas ejecutoras son posteriormente activadas por las caspasas iniciadoras u otras caspasas ejecutoras activadas. Estas caspasas ejecutoras escinden proteínas específicas para iniciar la cascada de eventos involucrados en la muerte celular (3,33).

Las caspasas no sólo participan en la apoptosis, sino que se ha demostrado que participan en procesos, como la inflamación, el recorte de dendritas y la diferenciación celular (34). Se ha demostrado que la desregulación de las caspasas contribuye a diversas afecciones patológicas y enfermedades humanas, como la tumorigénesis, la autoinmunidad y la autoinflamación, el cáncer y los trastornos neurodegenerativos (33)

La pro-caspasa 3 es una proteína formada por 277 aminoácidos, su estructura consiste en un pro-dominio en el extremo N-terminal y dos subunidades, una de 12 y 17 kDa, las cuales contienen tres y cinco grupos funcionales de tiol, respectivamente. Estas dos subunidades al combinarse forman un bolsillo catalíticamente activo en la proteasa madura (33,35). La caspasa-3, también es conocida como apopain/CPP-32 y AYOM, interactúa con la caspasa-8 y 9; tiene un papel muy importante en el proceso de apoptosis a través de la degradación de polimerasa nuclear. La caspasa-3 escinde proteínas estructurales y enzimas de reparación de ADN (35).

La caspasa-3 normalmente es activada por apoptosis mediada por la activación de caspasa-8 o a través de la vía apoptótica mitocondrial mediante la activación de caspasa-9 (36). Una vez activada, sus actividades principales son la escisión de proteínas estructurales claves y la activación de enzimas (35). La activación de la caspasa 3 genera cambios morfológicos en las células apoptóticas, que incluyen la reducción del tamaño celular, la formación de ampollas citoplasmáticas, la liberación de cuerpos apoptóticos y la contracción de actomiosina. La escisión de proteínas diana específicas, como ROCK1, es lo que provoca estos cambios morfológicos (33). Las caspasas contienen una cisteína nucleófilica en su sitio activo, que ataca a una proteína objetivo en un residuo de ácido aspártico, este ataque resulta en la escisión de la proteína objetivo (35).

La caspasa-3 es la caspasa ejecutora principal, necesaria para la fragmentación inducida por citocromo c/trifosfato de desoxiadenosina (dATP) de fodrina, gelsolina, el factor de fragmentación del ADN 45 (DFF45), el inhibidor de la DNasa activada por caspasa (ICAD) y la poli (ADP ribosa) sintasa (PARP). De igual manera para la apoptosis asociada con marginación de cromatina, la fragmentación de ADN y el colapso nuclear. Debido a esto, la caspasa-3 se utiliza como marcador específico de apoptosis, porque es la caspasa ejecutora principal en la vía apoptótica (35).

1.3.2 Terapia fotodinámica con radiación UV

La energía electromagnética comprende un amplio espectro de frecuencias que van desde 1 Hz hasta 10^{25} Hz. El cuerpo humano puede interactuar con estas radiaciones de múltiples maneras, influyendo tanto en funciones fisiológicas como en procesos patológicos. La naturaleza de esta interacción depende de la longitud de onda y de las características del tejido biológico involucrado (27).

Dentro de este espectro, la luz ultravioleta (UV), la visible y la infrarroja (IR) presentan distintos grados de penetración tisular: la radiación UV es absorbida principalmente por moléculas orgánicas, la visible por pigmentos y proteínas, y la infrarroja por el agua (27). La radiación ultravioleta es una forma de energía electromagnética con una longitud de onda más corta que la luz visible y se divide en tres categorías principales: UV-A (320–400 nm), UV-B (280–320 nm) y UV-C (100–280 nm (28). Desde la antigüedad, la luz solar y posteriormente la luz artificial se han empleado con fines terapéuticos para tratar afecciones cutáneas como la psoriasis o el vitíligo, y hoy en día continúa investigándose su potencial aplicación en oncología (27).

A nivel biológico, la radiación UV puede inducir una variedad de efectos, que van desde la modulación inmunitaria hasta la generación de daño oxidativo y genético. Su capacidad de inducir muerte celular de forma controlada la convierte en una herramienta de interés para la PDT, donde la exposición a luz específica, combinada con un fotosensibilizador, promueve la producción de ROS y la destrucción selectiva de células tumorales (25).

La radiación UV-A posee una longitud de onda más larga y una mayor capacidad de penetración en los tejidos. Su acción biológica se relaciona principalmente con la

generación de ROS, tales como oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno y aniones superóxido, los cuales provocan daño oxidativo sobre lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. La exposición prolongada a UV-A puede superar las defensas antioxidantes endógenas, desencadenando peroxidación lipídica, disfunción mitocondrial y apoptosis cuando el daño celular se vuelve irreversible (25).

Por otro lado, la radiación UV-B, con longitudes de onda entre 280 y 320 nm, tiene menor penetración que la UV-A, pero mayor energía fotónica. Su uso terapéutico se basa en la fototerapia de banda ancha (BB-UVB, 270–350 nm) y de banda estrecha (NB-UVB, 311–313 nm). Esta radiación actúa principalmente sobre las capas superficiales de la piel, donde induce efectos antiinflamatorios, inmunosupresores y citotóxicos. Los mecanismos propuestos incluyen la inducción de ácido cis-urocánico, la disminución de células de Langerhans, la alteración en la presentación de antígenos y la reducción de la actividad de células NK, así como la inducción de apoptosis en células alteradas (28). Sin embargo, una exposición no controlada puede causar daño genético y mutaciones, por lo que su aplicación terapéutica requiere un control preciso (25).

En cambio, la radiación UV-C se encuentra en el rango de 100–280 nm, con un pico máximo alrededor de 254 nm. Debido a su alta energía y escasa penetración, se utiliza principalmente en contextos experimentales. La irradiación con UV-C ha mostrado efectos fototóxicos directos sobre el ADN de células tumorales, provocando rupturas de cadena simple (SSB) y la formación de dímeros de ciclobutano pirimidina (CPD), fotoproductos 6-4 y dímeros de timina (29,30). Estas lesiones generan inestabilidad genómica, detención del ciclo celular y activación de vías apoptóticas al interferir con los mecanismos de reparación por escisión de nucleótidos y reparación acoplada a la transcripción (30).

A pesar de su limitada penetración, la UV-C ha mostrado potencial en modelos experimentales de cáncer como herramienta para inducir apoptosis y reducir la viabilidad celular de forma focalizada (29).

Tanto la radiación UV como la PDT destacan por su carácter no invasivo, su relativa selectividad hacia las células tumorales y su potencial para combinarse con terapias convencionales como la quimioterapia o los tratamientos dirigidos. No obstante, su eficacia puede verse limitada por factores como la biodisponibilidad del

fotosensibilizador y la concentración de oxígeno en el tejido tratado, de la cual depende la generación de ROS (25).

1.3.3 Terapia fotodinámica para el tratamiento del cáncer

La PDT se ha empleado con resultados clínicos y estéticos favorables en diversas neoplasias malignas, especialmente cutáneas, y en los últimos años su aplicación se ha extendido a diferentes tipos de cáncer (17). Una de las ventajas más grandes de esta modalidad terapéutica es que preserva en gran medida el tejido sano adyacente (23,31).

Entre los compuestos más utilizados se encuentran Photofrin® (porfímero de sodio), Verteporfin, Foscan® (mTHPC), Talaporfin sódico, ácido 5-aminolevulínico (ALA) y derivados de hematoporfirina, todos ellos aprobados o evaluados clínicamente en distintos tipos de cáncer, incluyendo esófago, pulmón, vejiga, piel y mama(17,31,32). En general, estos agentes han mostrado reducción significativa del volumen tumoral, control local de la recurrencia y buenos resultados cosméticos, además de presentar baja toxicidad sistémica y adecuada tolerancia por parte de los pacientes (17,31,32).

Existen varios FS que ya han sido aprobados para su uso clínico, en la tabla 1 se muestran algunos de estos FS y en qué tipo de enfermedad han sido utilizados.

Fotosensibilizador	Uso	Efecto observado	Mecanismo de acción del FS	Referencia
Photofrin® (Porfimer sodio)	Cáncer de esófago, pulmón, vejiga, y displasias del tracto gastrointestinal	Induce necrosis tumoral y reducción del volumen de lesión; permite preservación de tejidos sanos	Genera especies reactivas de oxígeno (ROS) y oxígeno singlete ($^1O_2$); promueve daño oxidativo a mitocondrias y activación de caspasas	(23,31)
Verteporfin (Benzoporfirina derivada, anillo A)	Neovascularización coroidea (degeneración macular	Reducción de neovasos y destrucción	Genera oxígeno singlete; causa estrés oxidativo, daño mitocondrial y	(23,31)

	relacionada con la edad); ensayos en cáncer de pulmón, páncreas y piel	selectiva del tejido afectado	apoptosis controlada	
Foscan® (m-THPC, meta-tetra-hidroxifenil clorina)	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello; ensayos en pulmón, páncreas y próstata	Alta eficacia local con mínima invasión; regresión tumoral significativa	Induce generación de oxígeno singlete; promueve peroxidación lipídica, daño mitocondrial y liberación de citocromo c	(23,31)
Talaporfin sódico (N-aspartil clorina e6, NPe6)	Aprobado en Japón para cáncer de pulmón en etapa temprana; en estudio para hígado, cerebro y oral	Reducción de masa tumoral y control de recurrencia	Genera $^1O_2$; provoca disfunción mitocondrial, daño al ADN y apoptosis dependiente de caspasa-3	(23,31)
Ácido 5-aminolevulínico (ALA)	Queratosis actínica, cáncer de piel no melanoma, cáncer de vejiga	Inducción de apoptosis y buena respuesta cosmética; alta selectividad por tejido neoplásico	Precursor de protoporfirina IX que genera ROS, las cuales dañan lípidos y proteínas de membrana	(31,32)
Methyl-aminolevulinato (MAL)	Carcinoma basocelular superficial y nodular, queratosis actínica	Alta tasa de remisión con bajo índice de recurrencia; excelente resultado estético	Conversión en protoporfirina IX generando oxígeno singlete que induce apoptosis y necrosis selectiva	(32)

Derivados de hematoporfirina (Photogem®, Photosan-3®)	Cáncer de pulmón, vejiga y esófago	Alta tasa de respuesta tumoral y buena selectividad tisular	Produce oxígeno singlete y radicales hidroxilo, induciendo estrés oxidativo y muerte celular programada	(23,31)
Aluminum phthalocyanine tetrasulfonate ($AlPcS_4$, Photosens®)	Cáncer gástrico, oral, de mama y piel	Destrucción tumoral localizada sin daño profundo, FS con buena penetración tisular	Genera ROS y oxígeno singlete, causando daño oxidativo mitocondrial y peroxidación lipídica	(31)
Hypericin	Ensayos preclínicos en cáncer de piel y cervicouterino	Induce apoptosis y daño oxidativo dependiente de dosis	Genera ROS y activa vías de estrés oxidativo mitocondrial	(1)
Curcumina y derivados	Evaluada experimentalmente como fotosensibilizador natural en diversos tumores epiteliales	Inducción de apoptosis y disminución de proliferación celular	Genera ROS y radicales libres, activando caspasas y generando fragmentación de ADN	(1)

Tabla 1. Fotosensibilizadores aprobados para usos clínicos

En estudios experimentales, la PDT ha demostrado eficacia en líneas celulares de cáncer de mama, donde el uso de ácido 5-ALA promovió una disminución significativa en la proliferación celular e inducción de apoptosis, dependiente de la dosis de luz aplicada (33). De forma similar, el empleo de azul de metileno como fotosensibilizador ha mostrado alta sensibilidad en células MDA-MB-231 y una mayor tasa de muerte celular bajo irradiaciones prolongadas en células MCF-7 (34). Además, investigaciones recientes han explorado nanoplataformas híbridas que combinan la PDT con la terapia fototérmica, logrando efectos sinérgicos en la citotoxicidad tumoral y una mayor generación intracelular de ROS (35).

En conjunto, la terapia fotodinámica representa una estrategia prometedora en oncología por su precisión, mínima invasión y potencial de combinación con otros tratamientos antineoplásicos, favoreciendo no solo la regresión tumoral sino también la mejora en la calidad de vida de los pacientes (17,23,31–35).

1.4 Vitaminas y PDT en cáncer

Una de las vitaminas más estudiadas en tratamientos contra el cáncer es la riboflavina (vitamina B2) y sus derivados, como fotosensibilizadores en la PDT para el tratamiento de cáncer de piel. La riboflavina es un fotosensibilizador que al ser irradiado genera ROS que pueden dañar células cancerosas. El uso de derivados de riboflavina, como el 3MeTARF, ha sido analizado por ser más estable y menos susceptible a la degradación lumínica, lo cual mejora su eficacia en la PDT. La riboflavina y sus derivados inducen la apoptosis a través de la activación de proteínas de estrés oxidativo, que a su vez activan a las caspasas en células de cáncer, llevando a la muerte celular sin dañar tejidos sanos cercanos (36).

Se sabe que los derivados de riboflavina generan ROS al ser expuestos a luz azul, lo que desencadena estrés oxidativo dentro de las células cancerosas. El estrés oxidativo activa las vías de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), específicamente las cinasas p38 y JNK. Esto lleva a la activación de caspasa-3 y 7 y a la escisión de la proteína PARP, promoviendo la apoptosis. Este proceso ayuda a la eliminación controlada de células cancerosas, sin afectar las células vecinas y sin inducir inflamación. En general, es difícil definir con exactitud los mecanismos de acción precisos de las vitaminas, por lo que se ha propuesto su investigación, al igual que su metabolismo y sus posibles efectos en modelos in vivo (36).

1.5 Grupo vitamina K

La vitamina K es un grupo de vitaminas liposolubles esenciales en múltiples procesos fisiológicos. Su función más reconocida es la carboxilación del glutamato a ácido γ-carboxiglutámico (Gla), necesaria para la activación de las proteínas dependientes de vitamina K como la protrombina (factor II), los factores VII y IX, y otras proteínas implicadas en la coagulación sanguínea (37,38). Además, participa

en la regulación del metabolismo óseo y en la prevención de la calcificación arterial, demostrando un papel relevante más allá de la hemostasia (39).

Desde el punto de vista estructural, todas las formas de vitamina K comparten un anillo de naftoquinona, pero difieren en la longitud y composición de su cadena lateral, lo que determina su biodisponibilidad, localización tisular y propiedades bioquímicas (38,39). La figura 3 muestra las estructuras moleculares representativas de las distintas formas de vitamina K: filoquinona (K_1), menaquinona (K_2), menadiona (K_3), menadiol diacetato (K_4) y vitamina K_5.

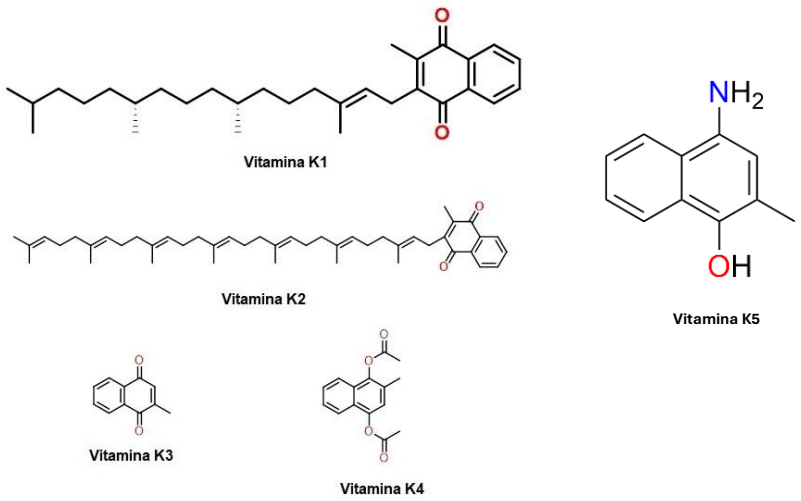


Figura 3. Modelos moleculares de las vitaminas K. Las vitaminas K_1 y K_2 presentan largas cadenas laterales isoprenoides que confieren propiedades lipofílicas, mientras que la vitamina K_3 carece de dicha cadena, lo que la hace más hidrosoluble. La vitamina K_4 corresponde a una forma acetilada derivada de la menadiona, y la vitamina K_5 presenta un grupo amino ($–NH_2$) y un grupo hidroxilo (–OH) que le otorgan características redox particulares. Elaboración del autor a partir de la información de (40).

La vitamina K_1 (filoquinona o fitonadiona) se encuentra principalmente en vegetales de hoja verde como espinaca, repollo y col rizada. Es la forma predominante en la dieta y se absorbe en el intestino delgado con ayuda de los lípidos alimentarios. Se almacena en el hígado, donde actúa como cofactor en la carboxilación de los factores de coagulación. Su uso clínico está bien establecido en la prevención y tratamiento de trastornos hemorrágicos, incluyendo la enfermedad hemorrágica del recién nacido (39,41).

Por su parte, la vitamina K_2 (menaquinona) comprende una familia de compuestos con diferentes longitudes de cadena isoprenoide (MK-4, MK-7, entre otros). Se obtiene a partir de alimentos fermentados, productos de origen animal y, en menor grado, por síntesis bacteriana intestinal endógena. A diferencia de la K_1, la menaquinona presenta mayor biodisponibilidad y redistribución hacia tejidos extrahepáticos, donde participa en la activación de proteínas como la osteocalcina y la matriz Gla, vinculadas a la mineralización ósea y a la inhibición de la calcificación vascular (42–44). Además, diversos estudios sugieren que la K_2 puede modular procesos de inflamación, apoptosis y proliferación celular, lo que la convierte en un potencial agente protector frente al desarrollo tumoral (42–44).

Las formas K_3 (menadiona) y K_4 (menadiol diacetato) son compuestos de origen sintético. La vitamina K_3, a diferencia de las naturales, es hidrosoluble y ha mostrado efectos citotóxicos y antiproliferativos en líneas celulares tumorales, inhibiendo la piruvato quinasa y promoviendo la apoptosis en células de leucemia (45,46). Asimismo, ha sido utilizada como coadyuvante en terapias quimiofotodinámicas, potenciando la actividad antitumoral de los tratamientos convencionales (39). La vitamina K_4, por su parte, corresponde a un éster sintético de menadiona, menos estudiado, aunque se ha reportado que presenta propiedades antioxidantes y posibles efectos anticancerígenos, aunque su uso clínico todavía no está claramente establecido (42–44,47).

Finalmente, la vitamina K_5 (4-amino-2-metilnaftalen-1-ol) es un derivado más hidrofílico, lo que facilita su disolución en medios acuosos. Su fotoactivación con luz UV-A induce la producción de ROS, como oxígeno singlete y radicales libres, con actividad antimicrobiana, antiviral y antitumoral (37). Experimentalmente, la vitamina K_5 ha mostrado eficacia en la reducción de la carga viral en sangre total mediante daño oxidativo a ácidos nucleicos, así como en la inactivación bacteriana, donde actúa como aceptor de electrones y genera peróxido de hidrógeno y radicales superóxidos (48). En modelos oncológico, se ha demostrado que la combinación de vitamina K_3 con irradiación UV-B inhibió la proliferación y promovió la apoptosis en células de carcinoma escamoso cutáneo A431, evidenciando el potencial de estas moléculas en estrategias fotodinámicas combinadas (49).

1.6 Vitamina K5

La vitamina K5 (4-amino-2-methylnaphthalen-1-ol) es un compuesto naftoquinónico, lo que significa que contiene un anillo de naftoquinona, similar a otras formas de vitamina K; sin embargo, se diferencia en la naturaleza de sus sustituyentes. A diferencia de la vitamina K1 y K2, que son lipofílicas, la vitamina K5 es más hidrofílica, lo que facilita su uso en soluciones acuosas. Cuando se expone a luz UV-A (320-400 nm), la vitamina K5 se activa y produce especies reactivas de oxígeno, como el oxígeno singlete y radicales libres, lo que le confiere propiedades antimicrobianas y antivirales. Además, Su estructura le permite interaccionar con biomoléculas, induciendo daño oxidativo en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (37).

Los efectos de la vitamina K5 en cáncer casi no han sido estudiados. Una de las pocas investigaciones realizada por Nakaoka y colaboradores evaluó los efectos de la vitamina K5 en células de leucemia linfoblastoide T humana resistentes a la daunorrubicina (Jurkat/DR). Los resultados mostraron que la vitamina K5 tiene una potente actividad citotóxica contra estas células cancerígenas. Se observó que la vitamina K5 indujo apoptosis a través de la activación de la vía mitocondrial, lo que se evidenció por la fragmentación del ADN y la liberación del citocromo C al citoplasma (46).

Además, la vitamina K5 inhibió el crecimiento celular mediante la detención del ciclo celular en la fase G1, lo que impidió la proliferación de las células de leucemia. También se encontró que la vitamina K5 redujo la expresión de proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2 y aumentó la expresión de proteínas pro-apoptóticas como Bax, lo que favoreció la muerte celular (46).

Por otro lado, Chen y colaboradores examinaron los efectos de la vitamina K5 sobre las células HeLa, un tipo de célula cancerosa derivada de cáncer cervical. Se encontró que la vitamina K5 redujo la proliferación de las células de manera dependiente de la dosis y del tiempo de exposición, además de que promovió vías apoptóticas. El estudio concluyó que el tratamiento con vitamina K5 indujo una detención en fases específicas del ciclo celular, impidiendo la división y propagación de las células HeLa. En adición, la vitamina K5 incrementó los niveles de ROS dentro de las células cancerosas, lo que probablemente es lo que contribuyó a su daño y muerte (45).

En otra investigación por Ogawa y colaboradores se realizaron diversas pruebas para analizar los efectos de la vitamina K5 en células de cáncer de colon. Para las pruebas *in vitro* se evaluó la viabilidad celular tras el tratamiento con la vitamina, observándose una disminución significativa de la proliferación de las células de cáncer de colon en función de la dosis y el tiempo de exposición (50). La tinción con anexina V/PI permitió detectar la inducción de apoptosis, confirmando que la vitamina K5 promovía la muerte celular programada. Se realizaron análisis de citometría de flujo para evaluar la distribución del ciclo celular, encontrando una detención en la fase G1, lo que sugiere un arresto en la proliferación celular (50). Mediante electroforesis en gel de ADN (ensayo de fragmentación de ADN) y Western blot, se identificó la activación de la vía apoptótica mitocondrial, con la liberación del citocromo c y la activación de caspasa-3, lo que confirmó la inducción de apoptosis mediada por mitocondrias (50). Para las pruebas *in vivo* se utilizó un modelo murino con implantación de células de cáncer de colon para evaluar el efecto de la vitamina K5 en el crecimiento tumoral; en donde se mostró una reducción significativa en el tamaño de los tumores en los ratones tratados con vitamina K5 en comparación con el grupo control; además el análisis histológico reveló un aumento en la apoptosis dentro de los tumores tratados (50).

La vitamina K5 tiene potencial antineoplásico sustentado en su capacidad para inducir apoptosis y detener el ciclo celular en distintas líneas de cáncer. A diferencia de otras formas de vitamina K, su mayor hidrofilia relativa y capacidad de generar ROS bajo ciertas condiciones, confieren a la vitamina K5 de dos mecanismos principales. Por un lado, la inducción del estrés oxidativo en células tumorales, y por otro, la activación de la vía apoptótica mitocondrial, evidenciada por la liberación de citocromo c y la activación de caspasa-3. Sin embargo, la evidencia disponible sigue siendo limitada y mayormente preclínica, por lo que se requiere ampliar la investigación para comprender su perfil farmacológico, biodisponibilidad, seguridad y posibles sinergias con terapias convencionales.

2. Planteamiento del problema

Recientes revisiones epidemiológicas del cáncer han observado que este conjunto de enfermedades, y sobre todo el cáncer de mama, son un problema mundial de salud, lo cual se extiende a México, en donde este tipo de cáncer es uno de los más comunes en la población.

La recurrencia en los casos de cáncer de mama tratados con terapias tradicionales es relativamente común, lo cual por sí mismo representa un pronóstico no favorable. Las opciones de tratamiento en estos casos suelen ser más agresivas y menos efectivas, por lo que la búsqueda de opciones terapéuticas resulta de suma importancia.

Una posible opción es la PDT, la cual se presenta como una alternativa menos invasiva y más selectiva, siendo una de sus variantes el uso de luz UV para foto-activar distintas moléculas. Su efectividad se ha probado clínicamente y esta variante ya es utilizada para tratar algunos tipos de cáncer, como el cáncer de células escamosas.

El uso combinado de vitaminas con PDT ha demostrado tener resultados positivos para inducir la muerte celular en cáncer de células escamosas, cáncer de mama y cáncer de próstata. Lo que vuelve a las vitaminas una familia de moléculas de interés para su estudio como fotosensibilizadores en la PDT enfocada a cáncer.

La vitamina K ha sido estudiada como fotosensibilizador en algunas líneas celulares de leucemia y cáncer de células escamosas. Sin embargo, sus efectos no han sido muy investigados en líneas celulares de cáncer de mama. Específicamente, el uso de PDT y vitamina K5 como inductora de apoptosis en cáncer de mama no ha sido estudiado aún, por lo que su estudio resulta importante para evaluar su potencial terapéutico, sobre todo por la necesidad de encontrar nuevas opciones de tratamiento.

Pregunta de investigación:

¿La foto-activación ultravioleta de la vitamina K5 favorece la apoptosis en células de cáncer de mama de la línea celular T47D?

3. Justificación

El cáncer de mama es una de las principales causas de muerte en mujeres, y su incidencia continúa aumentando globalmente. En México, esta enfermedad es un problema de salud pública significativo debido a la alta prevalencia y la recurrencia en pacientes que han sido tratados con terapias convencionales, como la cirugía, quimioterapia y radioterapia. Estas opciones, aunque eficaces, en ciertos estadios presentan limitaciones, especialmente en pacientes con metástasis o con resistencia adquirida a los tratamientos. Así, el cáncer de mama avanzado requiere alternativas menos invasivas, más efectivas y con menos efectos adversos, para mejorar la calidad de vida de los pacientes.

La PDT, terapia basada en el empleo de luz a una longitud de onda específica para activar un fotosensibilizador en presencia de oxígeno molecular, provoca la generación de ROS, las cuales inducen la muerte de células cancerígenas de forma localizada y selectiva, con un menor impacto en los tejidos sanos. La PDT ha demostrado resultados positivos en diferentes tipos de cáncer, incluyendo carcinoma escamoso y cáncer de próstata. Sin embargo, en el cáncer de mama, el uso de PDT no ha sido ampliamente adoptado debido a la falta de estudios específicos sobre fotosensibilizadores efectivos y seguros para este tipo de células.

Dentro de la familia de las vitaminas K, la vitamina K5 es un compuesto sintético que ha demostrado tener propiedades antimicrobianas y antitumorales. El uso de la vitamina K5 como fotosensibilizador en cáncer de mama aún no ha sido investigado y dado que el cáncer de mama sigue siendo una enfermedad compleja y resistente a los tratamientos tradicionales, es esencial explorar nuevas opciones terapéuticas.

En adición, el hecho de que la PDT puede administrarse de manera repetida, es relativamente segura y permite combinar de forma sinérgica otros tratamientos, incrementa la importancia de continuar investigando y optimizando su uso, con el propósito de desarrollar estrategias terapéuticas más selectivas que permitan aumentar la destrucción de células tumorales, reducir el daño sobre los tejidos sanos y, potencialmente, mejorar la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer.

4. Hipótesis

Hipótesis alterna:

La foto-activación ultravioleta de la vitamina K5 inducirá apoptosis en células T47D.

Hipótesis nula:

La foto-activación ultravioleta de la vitamina K5 no inducirá apoptosis en células T47D.

Objetivos

Objetivo general:

Determinar el efecto de la foto-activación ultravioleta UV de la vitamina K5 sobre la inducción de apoptosis en células T47D.

Objetivos particulares:

1. Evaluar la viabilidad de las células T47D tratadas con diversas concentraciones de vitamina K5 y distintos tiempos de exposición a luz ultravioleta, mediante el ensayo de tinción con cristal violeta.
2. Determinar la inducción de muerte celular en las células T47D tratadas con diferentes concentraciones de vitamina K5 y tiempos variables de exposición a luz ultravioleta, utilizando la tinción con anexina V y yoduro de propidio, analizada por citometría de flujo.
3. Analizar la expresión de la proteína caspasa-3 en su forma activa en células T47D tratadas con diversas concentraciones de vitamina K5 y distintos tiempos de exposición a luz ultravioleta, mediante la técnica de Western blot.

5. Metodología

5.1 Diseño del estudio

Prospectivo, experimental, longitudinal, comparativo.

5.2 Universo de trabajo y muestra

Universo: Cultivos celulares de la línea T47D mantenidos en condiciones estándar de laboratorio.

Muestra: Número de pozos, placas o cultivos necesarios para cada tratamiento experimental y análisis.

Grupos experimentales	
Control	Sin ningún tipo de tratamiento
Tratados con vitamina K5	Con dos concentraciones (5 y 10 µM) y tres tiempos de incubación con la vitamina (24,48 y 72 h)
Tratados con luz UV	Cajas de cultivo destapadas a 49 cm de la lámpara de luz UV (LS Light source G36T5L, de 39 W), en condiciones de esterilidad en una campana de bioseguridad de Industrias Alder S.A. de C.V.
Tratados con vitamina K5 fotoactivada con luz UV	Grupos tratados con vitamina K5 y luz UV.

Tabla 2. Grupos experimentales y condiciones de tratamiento empleadas en células T47D.

5.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación:

Inclusión: Cultivos de la línea celular T47D con una confluencia superior al 80%.

Eliminación: Cultivos con contaminación microbiana o con alteraciones macroscópicas evidentes (turbidez o cambio de color en el medio).

5.4 Procedimientos

Cultivo de la línea celular

La línea celular T47D es una línea de *Homo sapiens* aislada en el año 1979 de un derrame pleural en una paciente de 54 años con carcinoma ductal de mama. Es una línea de células epiteliales adherentes de conducto de glándula mamaria. Sus condiciones de cultivo fueron una temperatura de 37 °C, una atmósfera de 95% aire y 5% CO_2, y un medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (el cual se renovó cada 2–3 días). La concentración recomendada de células fue de 3×10^4 a 2×10^5 células/cm².

El cultivo celular de la línea T47D (ATCC NoHTB-133) se llevó a cabo en cajas de cultivo dentro del área de cultivo del laboratorio, diseñada para células adherentes bajo condiciones estériles. Las células fueron descongeladas y sembradas en cajas de cultivo. Estas se mantuvieron en un medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, 1003327514, Sigma-Aldrich), suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (Sigma-Aldrich, F2442) y 1% de penicilina-estreptomicina (Sigma-Aldrich, P4458).

Las células se incubaron a 37 °C, en un ambiente húmedo con 5% de CO_2, utilizando una incubadora pHcbi CO_2 incubator MCO-170A1CUUL. El medio se reemplazó dos veces por semana. El proceso de cambio de medio consistió en la remoción del medio y su reemplazo con medio fresco; cuando la concentración celular estuvo cercana al límite de la caja, se realizó un pase celular.

Recolección de células

Cuando las células alcanzaron un 80–90% de confluencia, lo cual se determinó por observación microscópica, se lavaron con buffer de fosfatos (PBS). Posteriormente, se les añadió tripsina con EDTA al 0.25% (SIGMA) para levantar la suspensión celular y, enseguida, se recogieron con ayuda de una pipeta con el medio previamente mencionado en las placas o cajas de cultivo.

Estas se sembraron a la densidad necesaria dependiendo del tipo de placa o caja de cultivo, ajustándose mediante un conteo celular para determinar la concentración de

células por mL. Todos los procesos relacionados con el cultivo celular y los tratamientos con vitamina K5 se realizaron dentro de una cabina de bioseguridad clase II, tipo A2 (LABCONCO Logic +A2).

Ensayo de viabilidad celular con cristal violeta

El método semicuantitativo utilizado para evaluar la viabilidad fue la tinción con cristal violeta. Este colorante se une a proteínas y ADN; debido a que esta capacidad de adherencia se presenta en células viables, cuando las células mueren pierden su adherencia. El principio del estudio se basó en los cambios en la cantidad de colorante retenido en la superficie de la placa, lo cual constituyó una medición indirecta de la viabilidad celular.

En una placa de 12 pozos se sembraron 5×10^3 células. Se permitió que se adhirieran a la placa mediante incubación de 24 horas. Posteriormente, se suplementaron las células con las diferentes concentraciones de vitamina K5 y se expusieron a luz UV, dejándose incubar durante 24 horas adicionales.

Al finalizar el tiempo de estimulación, se retiró el medio y se realizaron dos lavados con agua destilada, evitando que el agua despegara la capa de células adheridas. Se invirtió la placa para retirar la mayor cantidad de agua posible.

A cada pozo se le colocaron 333 µL de cristal violeta al 0.5% preparado en una solución 1:5 metanol-agua, y se incubó con agitación durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo, se realizaron nuevamente lavados con agua por duplicado y se dejó secar sin tapa durante al menos 2 horas a temperatura ambiente.

Posteriormente, el sobrenadante se transfirió a una placa de 96 pozos y la absorbancia se determinó a 580 nm. Cada condición experimental se evaluó en tres experimentos independientes. Los datos obtenidos se procesaron para determinar el porcentaje de viabilidad celular, comparando las absorbancias de los grupos tratados con respecto al grupo control.

Detección de anexina V y yoduro de propidio por citometría de flujo

Se colocan placas de 6 pozos y se agregan $1x10^6$ células en cada uno, se procede con los tratamientos con vitamina K5 y exposición con luz UV, posteriormente las células se dejaron incubando durante 24 horas. Después, se lavaron con PBS las veces necesarias para retirar el medio de cultivo, agitándolas suavemente o pipeteándolas de abajo hacia arriba.

Luego, se resuspendieron en 200 µL de buffer de unión (incluido en el kit comercial Thermo Fisher Scientific eBioscience™ Annexin V-FITC Apop Kit, FITC-labeled recombinant human Annexin V con número de catálogo BMS500FI-100), se cuentan las células y se ajustan a $2–5 \times 10^5$ células/mL.

Se prepararon las células con 195 µL de buffer de unión, después se añadieron 5 µL de anexina V-FITC a la suspensión, se mezclaron e incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se centrifugaron, se decantó el sobrenadante y se resuspendieron nuevamente en 190 µL del buffer de unión. Se agregaron 10 µL de yoduro de propidio (20 µg/mL), se mezcló suavemente y las muestras se colocaron en hielo para conservarlas para su análisis.

Finalmente, las células teñidas se analizaron mediante citometría de flujo (equipo BD Accuri C6) utilizando detectores a 494 y 518 nm (FLA-1 y FLA-2). Los datos obtenidos se analizaron utilizando el software BD Accuri™ C6 Plus. Se establecieron cuadrantes en los diagramas de dispersión de fluorescencia, empleando los canales FL1 (FITC) para anexina V y FL2 (PI) para yoduro de propidio; cada cuadrante permitió distinguir las poblaciones celulares según su estado.

Detección de proteínas por western blot

Extracción de proteínas

Para la extracción de proteínas fue necesaria la preparación de varias soluciones, de las cuáles a continuación se enlista su preparación:

Buffer de lisis

- 10 mL de Tris 0.5 M pH 6.8

- 50 µL de EDTA 0.2 M pH 8.0
- 200 µL de EGTA 50 mM pH 7.9
- 102 µL de β-mercaptoetanol
- 1 mL de IGEPAL

Se completó a 100 mL con agua destilada, guardó la solución en un frasco ámbar o envuelto en papel aluminio a 4 °C. La solución fue estable por aproximadamente un mes si se mantuvo en condiciones adecuadas.

Se completó con inhibidores de proteasas antes de usar:

- 5 µL/mL de leupeptina (5 mg/mL).
- 5 µL/mL de aproptinina (10 mg/mL).
- 20 µL/mL de PMSF (10 mg/mL).
- *20 µL de Na_3VO_4 (100 mM). Opcional, este inhibidor desactiva fosfatasas de tirosina.
- *100 µL/mL de NaF (500 mM). Opcional, este inhibidor desactiva fosfatasas de serina.

Se agregó buffer de lisis a la capa de células dependiendo del tamaño del pozo y la confluencia; una vez agregado el buffer, se rasparon las células con un émbolo de una jeringa de 1 mL o con un raspador de células (algunas células requirieron despegarse con EDTA-tripsina). Se recuperaron las células en un tubo de 1.5 mL y se incubaron en hielo durante 45 min, realizando vórtex cada 15 min. Transcurridos los 45 min en hielo, se centrifugaron a 13,000 rpm durante 25 min. Se recuperó el sobrenadante en un tubo limpio y etiquetado. Se dosificaron las proteínas por el método de Bradford.

Cuantificación de proteínas por el método de Bradford

Para la cuantificación son necesarios estándares de albúmina, los cuales se preparan de la siguiente manera:

Estándares de albúmina

Solución de trabajo: albumina bovina 2 mg/mL

Se preparan los estándares como se indica en la siguiente tabla.

Concentración (mg/ml)	Albúmina (2 mg/mL)	Agua destilada
0.1	50 µL	950 µL
0.2	100 µL	900 µL
0.4	200 µL	800 µL
0.6	300 µL	700 µL
0.8	400 µL	600 µL
1.0	500 µL	500 µL
1.2	600 µL	400 µL

Los tubos se guardaron a 4°C.

Se preparó el reactivo de Bradford con agua destilada a una dilución de 1:4. Se preparó el volumen correspondiente a 200 µL/pozo, considerando un excedente para 4-6 pozos adicionales. En una placa de 96 pozos, se agregaron 5 µL de los estándares por duplicado, dejando los dos primeros pozos como blanco (solo mezcla Bradford). Se mezcló la muestra con vórtex y se agregó 1 µL de muestra por duplicado. Se utilizó el buffer de lisis como control negativo, para verificar que el buffer por sí solo no reaccionara con el Bradford. Se agregaron 200 µL por pozo, se agitó ligeramente, se removieron las burbujas con una punta y se leyó la absorbancia a 595 nm. Se calculó la concentración de proteína en las muestras en relación con la concentración de los estándares empleando regresión lineal.

Se prepararon las muestras a una concentración de 1 µg/µL, considerando la adición de “sample loading buffer” (SLB) 4X, de manera que la concentración final del buffer de carga fuera 1X. Las muestras se calentaron durante 5 min a 95 °C y posteriormente se incubaron 5 min en hielo antes de cargarlas. De ser necesario, las muestras se centrifugaron durante 1 min a 13,000 rpm para bajar el agua de evaporación.

Buffer de carga muestra (SLB) 4x

- 3.8 mL de agua destilada
- 1 mL de Tris 0.5M pH 6.8
- 0.8 mL de Glicerol
- 0.4 mL de azul de bromofenol al 1%
- 1.6 mL de SDS 10%

Se alicuotaron 950 µL de la mezcla en tubos de 1.5 mL y se guardaron a -20 °C. Antes de su uso, se completaron con 50 µL por tubo de 2-β-mercaptoetanol. El tubo que ya contenía mercaptoetanol se guardó a 4 °C.

Para la preparación de geles de acrilamida se prepararon las siguientes soluciones:

Acrilamida/Bis 30%, 2.67%

- 146 g de acrilamida (altamente neurotóxica, utilizar guantes, bata y cubrebocas)
- 4 g de N'N metileno-bis acrilamida

Se disolvieron en 300 mL de agua. Cuando estuvo disuelta, se completó a 500 mL y se filtró con gasa. Se guardó a 4 °C en un frasco ámbar o en un frasco envuelto en papel aluminio.

Preparación del gel de corrida (running gel) 30%

	6%	7.5%	10%	12%
Agua destilada	5.3 mL	4.8 mL	4.1 mL	3.3 mL
Tris 1.5M pH 8.8	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
SDS 10%	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Acrilamida/Bis 30%, 2.67	2.0 mL	2.5 mL	3.3 mL	4.0 mL
APS 10%	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
TEMED	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL
Volumen total	**10 mL**	**10 mL**	**10 mL**	**10 mL**

Preparación del gel de apilamiento (stacking gel) 4%

	4%
Agua destilada	6.1 mL
Tris 1.5M pH 8.8	2.5 mL
SDS 10%	100 µL
Acrilamida/Bis 30%, 2.67	1.33 mL
APS 10%	100 µL
TEMED	25 µL
Volumen total	10 mL

Se prepararon los geles al porcentaje deseado, limpiando previamente los platos con etanol al 70 %. Se preparó el buffer de corrida a partir del concentrado 5X de la siguiente manera: 15 g de Tris base y 72 g de Glicina. Se disolvieron en 700 mL de agua destilada y se completaron a 1 L; posteriormente, se filtraron con gasa. Se almacenaron a temperatura ambiente.

Preparación del buffer de corrida 1x:

Running buffer 5X	200 mL
SDS 10%	10 mL
Agua destilada	790 mL

Una vez ensamblada la cámara de electroforesis, se llenó con buffer de corrida y se removieron los peines cuidadosamente para no dañar los pozos. En el primer pozo, se agregaron 1-2 µL del marcador de peso molecular. En los pozos subsecuentes, se

cargaron ~40-60 µg de proteína por muestra (previamente calentadas y centrifugadas). Se corrió a 100 V hasta que el frente de corrida llegó al fondo del gel.

Transferencia de proteínas en membrana PVDF

Transferencia semiseca

5.82 g de Tris
2.93 g de Glicina
3.75 mL de SDS 10%
200 mL de metanol
Ajustar con agua destilada a 1 L

Ensamble de trasferencia semiseca

La transferencia no debió superar los 25 V durante un tiempo de 30 minutos. La base de la cámara (ánodo), el papel filtro extra grueso, la membrana hidratada, el gel (enjuagado con buffer), el papel filtro extra grueso, la tapa con cátodo y la tapa de seguridad de la cámara se colocaron en el orden indicado.

TBS 10X

- 80 g NaCl
- 24.2 g Tris base

Se disolvió en 800 ml de agua destilada, se ajustó pH a 7.6 con HCl y se ajustó el volumen final a 1 L.

TBS 1X-Tween 20

- 100 mL de TBS 10X
- 1 mL de Tween 20 (concentración final 0.01%)
- 899 mL de agua destilada

Incubación de las membranas con los anticuerpos

Se bloqueó la membrana durante 1 h a temperatura ambiente con BSA al 1% disuelta en TBS-Tween o durante toda la noche a 4 °C en agitación.

Los anticuerpos primarios para actina (1:1000, BioLegend 643801) y caspasa 3 (1:750, Bioss BS-2593R) se incubaron con la membrana durante 1 h a temperatura ambiente

o toda la noche a 4 °C en agitación. Se lavó 3 veces durante 5 min con TBS-Tween. Se incubó la membrana con el anticuerpo secundario durante 1 h a temperatura ambiente. Se lavó 3 veces durante 5 min con TBS-Tween. La membrana se desarrolló con el método disponible en el laboratorio (diaminobenzidina).

Solución de DAB

10 mL de PBS 1X 30 µL de H_2O_2 100 µL de DAB.

Otras soluciones:

Persulfato de amonio 10% (APS 10%)

1 g de persulfato de amonio en 10 ml de agua destilada. Se guardo a 4°C.

Tris 1.5 M pH 8.8

18 g de Tris base, se disolvió en 70 mL de agua destilada, se ajustó pH a 8.8 con HCl y se completó a 100 mL con agua.

Tris 0.5 M pH 6.8

6 g de Tris base, se disolvió en 70 mL de agua destilada, se ajustó pH a 6.8 con HCl y se completó a 100 mL con agua.

Lauril sulfato de sodio 10% (SDS 10%)

10 g de SDS, se disolvió en 70 mL de agua destilada, se evitó hacer espuma, se completó a 100 mL con agua.

6. Variables de estudio

- **Dependientes:** Cambios en viabilidad, inducción de muerte celular, activación de caspasa 3.
- **Independientes:** Suplementación con vitamina K5 y terapia fotodinámica con luz UV.

Tabla de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
Viabilidad celular	Grado en que una población de células mantiene su	Porcentaje de biomasa adherente medida como	Cuantitativa continua	Porcentaje (%)	ANOVA de dos vías

	integridad y funciones compatibles con la vida, reflejado en la cantidad de biomasa celular adherida tras el tratamiento.	absorbancia a 580 nm después de teñir con cristal violeta 0.5%			
Activación de caspasa 3	La activación de la caspasa 3 es un paso en el proceso de muerte celular programada. La caspasa 3 activa actúa como un ejecutor final en las vías de apoptosis.	Determinación de la densidad óptica con ayuda de ImageJ, de la banda de proteína de la caspasa 3 en su forma activa, detectada en el extracto de proteínas obtenidas de las células en cultivo, por el método de western blot.	Semicuantitativa continua	Densidad óptica relativa (unidades arbitrarias, normalizadas al control)	ANOVA de dos vías.
Número total de células analizadas	Variable metodológica que representa el total de eventos celulares analizados por muestra y que sirve como base para el cálculo de la frecuencia de	Cantidad total de células contabilizadas en cada muestra antes de la clasificación por marcadores apoptóticos.	Cuantitativa discreta	Número total de células	No aplica (variable de control metodológico)

	células apoptóticas.				
Inducción de apoptosis	Porcentaje de células que se encuentran en un proceso mediante el cual se activan las vías que llevan a la muerte celular programada, dentro del cultivo celular bajo estudio.	Cuantificación del porcentaje de células apoptóticas mediante citometría de flujo, utilizando marcadores de anexina V y yoduro de propidio (PI). Las células positivas para anexina V y negativas para PI se considerarán en apoptosis temprana, mientras que las positivas para ambos marcadores se considerarán en apoptosis tardía o necrosis. El resultado se expresará como el porcentaje total de células en apoptosis respecto al número total de células analizadas.	Cuantitativa continua	Porcentaje de células positivas a marcadores de apoptosis.	ANOVA de dos vías

Suplementación con vitamina K5	Agregado de vitamina K5 al medio de cultivo para evaluar su efecto sobre la inducción de apoptosis y activación de caspasa 3.	Concentración de vitamina K5 agregada en el medio de cultivo (5,10 y 25 µM), así como el tiempo de incubación junto con la vitamina (24h, 48h y 72 h).	Cuantitativa continua	Concentración (µM) y tiempo de incubación con la vitamina K5 (h)	ANOVA de dos vías
Terapia fotodinámica con luz UV	Exposición de los cultivos celulares a radiación UV para evaluar su efecto sobre los procesos de apoptosis y activación de caspasa 3.	30 minutos a 49 cm de la lámpara de luz UV (LS Light source G36T5L, de 39 W), en condiciones de esterilidad en una campana de bioseguridad de Industrias Alder S.A. de C.V.	Cuantitativa discreta	Minutos	No aplica (variable de control metodológico)

6.1 Implicaciones bioéticas

La presente investigación, al utilizar líneas celulares, se apegó al “REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE INVESTIGACIÓN PARA LA SALUD”, en especial a lo establecido en los artículos 55 y 74. El artículo 55 garantizó el uso ético de materiales de origen humano (como líneas celulares), con trazabilidad y justificación científica. El artículo 74 aseguró que la investigación básica se realizara de manera ética, con riesgos mínimos y respetando principios bioéticos, aun sin intervención directa en humanos. Además, los resultados y conclusiones se contextualizaron, haciendo énfasis en las limitaciones de los estudios realizados con líneas celulares y en la precaución con la que debieron evaluarse.

6.2 Recolección de datos

La recolección de datos se realizó en una bitácora física y en una base de datos electrónica. También se incluyeron las imágenes obtenidas del análisis celular.

6.3 Análisis estadístico

Se utilizaron medidas repetidas para la comparación entre grupos y se analizaron a través de un ANOVA, para comparar los efectos de la concentración y el tiempo de exposición sobre las variables dependientes. Se consideraron valores de $p < 0.05$ como estadísticamente significativos. El análisis estadístico se realizó con el programa IBM SPSS Statistics versión 25.0. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

7. Resultados

7.1 Carta de envío del artículo

Lorena Caracheo Uria

De: José Antonio Estrada Guadarrama
Enviado el: martes, 25 de agosto de 2026 11:51 a. m.
Para: Lorena Caracheo Uria
Asunto: Fw: Submission received for Nutrition and Cancer (Submission ID: 265632782)

From: HNUC-peerreview@journals.tandf.co.uk <HNUC-peerreview@journals.tandf.co.uk>
Sent: Tuesday, August 25, 2026 12:47
To: José Antonio Estrada Guadarrama <jaestradag@uaemex.mx>
Subject: Submission received for Nutrition and Cancer (Submission ID: 265632782)



Dear José Estrada,

Thank you for your submission.

Submission ID	**265632782**
Manuscript Title	**Vitamins as adjuvants in photodynamic therapy for cancer: Mechanisms and therapeutic potential**
Journal	**Nutrition and Cancer**

If you made the submission, you can check its progress and make any requested revisions on the Author Portal
Thank you for submitting your work to our journal.
If you have any queries, please get in touch with HNUC-peerreview@journals.tandf.co.uk.

Kind Regards,
Nutrition and Cancer Editorial Office

7.2 Resumen del artículo

La terapia fotodinámica (PDT) es una estrategia terapéutica novedosa para el tratamiento del cáncer. Se basa en el uso de fotosensibilizadores, moléculas activadas por la luz capaces de generar especies reactivas de oxígeno dentro de la célula, promoviendo la muerte celular mediante estrés oxidativo, alteración vascular y activación del sistema inmunológico. Las vitaminas han sido utilizadas en la prevención y el tratamiento del cáncer debido a su capacidad para modular el estrés oxidativo, la reparación del ADN

y el metabolismo celular, y algunas de ellas pueden ejercer efectos prooxidantes selectivos sobre las células tumorales. La investigación actual sugiere que la combinación de vitaminas con PDT ofrece un potencial significativo para el desarrollo de nuevas intervenciones terapéuticas que permitan alcanzar una mayor eficacia, reducir los efectos adversos no deseados y mejorar los resultados en los pacientes.

Esta revisión tiene como objetivo resumir la evidencia disponible sobre el uso de vitaminas como fotosensibilizadores o adyuvantes de la PDT. La evidencia existente muestra que las vitaminas pueden potenciar la acción de los fotosensibilizadores, aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno y el estrés oxidativo en las células diana, así como mejorar los resultados terapéuticos en modelos preclínicos.

8. Discusión

El presente estudio evaluó los efectos citotóxicos y pro-apoptóticos de la vitamina K5, la radiación UV y su combinación en células T47D de cáncer de mama. El uso conjunto de la vitamina K5 con radiación UV produjo una disminución de la viabilidad celular más marcada que la observada con cada tratamiento por separado. La vitamina K5 administrada sin radiación ocasionó un efecto citotóxico moderado y variable, mientras que la radiación UV mostró una mayor capacidad para afectar la supervivencia celular. Estos hallazgos indican que la radiación potencia la actividad biológica de la vitamina K5 en las células T47D y respaldan su posible utilización como compuesto foto-activable.

La recuperación de la viabilidad aparente observada después del tratamiento con vitamina K5 sin radiación podría indicar que su efecto fue transitorio en las condiciones evaluadas. Es posible que las células sobrevivientes recuperaran su capacidad proliferativa o de adhesión, o que se adaptaran al estrés inducido por el compuesto. No obstante, es importante resaltar que el ensayo de cristal violeta estima principalmente la biomasa celular adherida y no distingue entre muerte celular y alteraciones en la adhesión.

La baja citotoxicidad de la vitamina K5 en ausencia de radiación y el incremento de su actividad después de la exposición a radiación constituyen características favorables para un potencial fotosensibilizador. Una posible explicación para este comportamiento es la capacidad de la vitamina K5 para participar en reacciones de oxidación-reducción y favorecer la generación de especies reactivas de oxígeno. Se ha descrito que su exposición a radiación UVA promueve la producción de estas especies y ocasiona daño oxidativo (37,48). Aunque la producción de especies reactivas de oxígeno no fue evaluada directamente en el presente trabajo, este mecanismo podría explicar la mayor citotoxicidad del tratamiento combinado.

Los resultados concuerdan con lo descrito por Shi y colaboradores, quienes encontraron que la combinación de vitamina K3 con radiación UVB inhibió la proliferación y favoreció la apoptosis en células A431 de carcinoma escamoso cutáneo (49). Si bien las vitaminas K3 y K5 no son equivalentes, ambas poseen un núcleo naftoquinónico capaz de participar en procesos de transferencia de

electrones y generación de estrés oxidativo (38,39). La coincidencia entre ambos estudios apoya la posibilidad de que la irradiación incremente la actividad citotóxica de estos derivados. Sin embargo, las diferencias entre los compuestos, las fuentes de radiación y los modelos celulares impiden asumir que sus mecanismos de acción sean idénticos.

Los hallazgos también pueden contrastarse con los de Nakaoka y colaboradores, quienes demostraron que las vitaminas K3 y K5 inhibieron la proliferación de células de leucemia linfoblastoide MOLT-4 y de su variante resistente a daunorrubicina MOLT-4/DNR. La respuesta semejante de ambas líneas llevó a los autores a proponer que estos derivados no son eliminados eficientemente por la glicoproteína P y que podrían conservar su actividad en células con resistencia a múltiples fármacos. Además, observaron que la vitamina K5 inhibió la proliferación de células MCF-7 de cáncer de mama, aunque estas presentaron una menor sensibilidad que las células leucémicas (46). En conjunto, estos antecedentes muestran que la actividad de la vitamina K5 depende del contexto celular y respaldan su efecto antitumoral en distintos modelos.

El análisis mediante citometría de flujo indicó que la pérdida de viabilidad asociada con el tratamiento combinado no correspondió exclusivamente a un solo mecanismo de muerte celular. Se observó un desplazamiento de la población viable hacia poblaciones con exposición de fosfatidilserina y pérdida de la integridad de la membrana, compatible con la participación de apoptosis tardía y necrosis. Este perfil puede originarse porque algunas células avanzan desde una fase apoptótica temprana hasta una etapa en la que la membrana pierde su integridad, mientras que otras experimentan un daño suficientemente intenso para desarrollar una muerte predominantemente necrótica. La coexistencia de estos mecanismos ha sido descrita en la terapia fotodinámica y puede depender de la intensidad, duración y localización subcelular del daño oxidativo (51).

El patrón mixto observado presenta similitudes con los resultados de Nakaoka y colaboradores. En su estudio, la vitamina K5 incrementó la población

apoptótica en células MOLT-4 y MOLT-4/DNR, pero también mostró una tendencia a producir una mayor proporción de células con marcaje simultáneo para anexina V y yoduro de propidio, las cuales fueron clasificadas como necróticas. En contraste, la vitamina K3 produjo una respuesta apoptótica más definida (46). Estos resultados apoyan que la vitamina K5 puede activar más de una modalidad de muerte celular y que su efecto no debe interpretarse como exclusivamente apoptótico. No obstante, la comparación debe considerar que Nakaoka et al. clasificaron las células con doble marcaje como necróticas, mientras que en el presente estudio esta población fue considerada como apoptosis tardía.

Los resultados difieren parcialmente de los descritos por Ogawa y colaboradores, quienes observaron una inducción apoptótica más directa en células murinas de cáncer colorrectal tratadas con vitamina K5 sin foto-activación (50). En las células T47D, por el contrario, la vitamina K5 sin irradiación ocasionó cambios más discretos y variables, mientras que el tratamiento combinado produjo una alteración más evidente de la distribución celular. Estas diferencias podrían deberse al origen tumoral, la especie, las características metabólicas y la sensibilidad intrínseca de cada modelo.

Aunque la citometría mostró tendencias compatibles con un aumento de las poblaciones apoptóticas y necróticas, las diferencias entre estas categorías no alcanzaron significancia estadística. Por ello, los resultados no permiten establecer el predominio de un mecanismo específico. Además, la tinción con anexina V y yoduro de propidio representa una evaluación puntual de un proceso dinámico: las células pueden desplazarse de la apoptosis temprana a la tardía y, posteriormente, desarrollar pérdida completa de la integridad de la membrana. En consecuencia, la distribución obtenida depende del momento en que se realiza la medición y no necesariamente refleja de manera definitiva el mecanismo inicial de muerte.

La determinación de caspasa-3 activa mediante Western blot aportó evidencia bioquímica adicional de la participación de la apoptosis. La combinación de la concentración más alta de vitamina K5 con radiación UV produjo la activación más consistente de esta caspasa y fue la única condición que mostró una diferencia significativa frente al control. En cambio, la vitamina K5 y la radiación administradas por separado ocasionaron respuestas más discretas. Aunque

no se identificó una influencia significativa del tiempo de incubación, la activación observada bajo el tratamiento combinado respalda la intervención de la fase ejecutora de la apoptosis.

Este resultado coincide con el trabajo de Ogawa y colaboradores, quienes relacionaron el efecto antitumoral de la vitamina K5 con la vía apoptótica y la activación de caspasa-3 (50). Por su parte, Nakaoka y colaboradores demostraron mediante citometría que la vitamina K5 puede inducir tanto apoptosis como muerte asociada con pérdida de la integridad de la membrana, pero no evaluaron directamente la activación de caspasas (46). Por lo tanto, los resultados del presente estudio complementan esos antecedentes al mostrar que la foto-activación de la vitamina K5 en células T47D se asocia con activación de caspasa-3, aunque esta respuesta coexiste con otros mecanismos de muerte. La detección de la caspasa activa demuestra su participación, pero no permite afirmar que la muerte sea estrictamente dependiente de ella, ya que no se realizaron ensayos de inhibición de esta proteína.

Las técnicas empleadas evaluaron aspectos complementarios de la respuesta celular. El cristal violeta permitió estimar la permanencia de biomasa adherida; la citometría de flujo distinguió poblaciones según la exposición de fosfatidilserina y la integridad de la membrana; y el Western blot detectó un marcador bioquímico de la fase ejecutora de la apoptosis. La integración de estos resultados indica que la foto-activación aumentó la actividad citotóxica de la vitamina K5 y desencadenó una respuesta heterogénea, caracterizada por apoptosis asociada con activación de caspasa-3 y por muerte celular acompañada de pérdida de la integridad de la membrana.

9. Conclusiones

La foto-activación ultravioleta de la vitamina K5 aumentó la citotoxicidad en células T47D. Mientras que la vitamina K5 sin radiación produjo reducciones moderadas y variables de la viabilidad, las combinaciones de vitamina K5 5 y 10 µM con luz UV mantuvieron valores inferiores a 35 % durante los tiempos evaluados y fueron más citotóxicas que cualquiera de los tratamientos aplicados por separado. La combinación de 10 µM de vitamina K5 + UV produjo la mayor activación de caspasa-3 y fue la única condición con un incremento estadísticamente significativo respecto al control. Este resultado demuestra la participación de la apoptosis en la respuesta al tratamiento combinado. No obstante, la citometría de flujo mostró aumentos tanto en apoptosis tardía como en necrosis, sin diferencias estadísticamente significativas entre las categorías de muerte celular; por lo tanto, la apoptosis contribuyó al efecto observado, pero no puede considerarse su mecanismo exclusivo.

Los resultados del Western blot complementaron los hallazgos de viabilidad y citometría, al evidenciar que la combinación de vitamina K5 a 10 µM con radiación UV indujo la respuesta más consistente de caspasa-3 activa. Por consiguiente, la activación de caspasa-3 respalda la participación de la vía apoptótica, pero no permite establecer que toda la citotoxicidad inducida por el tratamiento combinado dependa exclusivamente de este mecanismo.

En conjunto, los hallazgos respaldan la hipótesis alterna de que la vitamina K5 foto-activada favoreció una respuesta apoptótica dentro de un patrón mixto de muerte celular. Podemos concluir que la vitamina K5 es un compuesto foto-activable que puede ser utilizado para terapia fotodinámica en este modelo *in vitro* de cáncer de mama; sin embargo, antes de plantear una aplicación terapéutica será necesario ampliar el número de réplicas e incluir otras líneas de cáncer de mama con perfiles moleculares distintos, además de células mamarias no malignas, cuantificar la generación de ROS y daño oxidativo, evaluar otros marcadores o utilizar inhibidores de caspasas para confirmar la participación funcional de la apoptosis.

10. Referencias bibliográficas

1. Aziz B, Aziz I, Khurshid A, Raoufi E, Esfahani FN, Jalilian Z, et al. An overview of potential natural photosensitizers in cancer photodynamic therapy. Biomedicines. 2023;11(1):224.

2. Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. Br J Radiol. 2022;95(1130):20211033.

3. Montazerabadi AR, Sazgarnia A, Bahreyni-Toosi MH, Ahmadi A, Shakeri-Zadeh A, Aledavood A. Mitoxantrone as a prospective photosensitizer for photodynamic therapy of breast cancer. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2012;9(1):46-51.

4. American Cancer Society. The history of cancer [Internet]. Atlanta (GA): American Cancer Society; 2024 [cited 2026 Aug 18]. Available from: https://www.cancer.org/cancer/understanding-cancer/history-of-cancer.html

5. National Cancer Institute. What is cancer? [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2024 [cited 2026 Aug 18]. Available from: https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer

6. Mattiuzzi C, Lippi G. Current cancer epidemiology. J Epidemiol Glob Health. 2019;9(4):217-222.

7. Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Kalagasidou S, Pagkalos A, et al. Basic principles of molecular biology of cancer cell-molecular cancer indicators. J BUON. 2021;26(5):1723-1734.

8. World Health Organization. Cancer [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022 [cited 2024 Nov 6]. Available from: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer

9. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas a propósito del Día Mundial contra el Cáncer [Internet]. Aguascalientes: INEGI; 2025 [cited 2025 Sep 29]. Available from: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2025/EAP_DMvsCancer25.pdf

10. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas a propósito del Día Internacional de la Lucha contra el Cáncer de Mama [Internet]. Aguascalientes: INEGI; 2024 [cited 2025 Sep 29]. Available from: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2024/EAP_LuchaCMama24.pdf

11. Zhang X. Molecular classification of breast cancer: relevance and challenges. Arch Pathol Lab Med. 2023;147(1):46-51.

12. Miricescu D, Totan A, Stanescu-Spinu II, Badoiu SC, Stefani C, Greabu M. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer: from molecular landscape to clinical aspects. Int J Mol Sci. 2021;22(1):173.

13. Santillán-Benítez JG, Quiroz-Ordóñez A, Mendieta-Zerón H, Gómez-Oliván LM. Expresión génica y receptores hormonales en cáncer mamario: el camino hacia la búsqueda de terapias preventivas. Rev Med Investig. 2013;1(1):17-24.

14. Shakibaie M, Vaezjalali M, Rafii-Tabar H, Sasanpour P. Phototherapy alters the oncogenic metabolic activity of breast cancer cells. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020;30:101695.

15. Moo TA, Sanford R, Dang C, Morrow M. Overview of breast cancer therapy. PET Clin. 2018;13(3):339-354.

16. Lee HJ, Choi CH. Characterization of SN38-resistant T47D breast cancer cell sublines overexpressing BCRP, MRP1, MRP2, MRP3, and MRP4. BMC Cancer. 2022;22(1):446.

17. Allison R, Mang T, Hewson G, Snider W, Dougherty D. Photodynamic therapy for chest wall progression from breast carcinoma is an underutilized treatment modality. Cancer. 2001;91(1):1-8.

18. Mirabelli P, Coppola L, Salvatore M. Cancer cell lines are useful model systems for medical research. Cancers (Basel). 2019;11(8):1098.

19. De Rose F, Meduri B, De Santis MC, Ferro A, Marino L, Colciago RR, et al. Rethinking breast cancer follow-up based on individual risk and recurrence management. Cancer Treat Rev. 2022;109:102434.

20. American Type Culture Collection. T-47D (ATCC HTB-133) [Internet]. Manassas (VA): ATCC; [cited 2025 Mar 14]. Available from: https://www.atcc.org/products/htb-133

21. Donohoe C, Senge MO, Arnaut LG, Gomes-da-Silva LC. Cell death in photodynamic therapy: from oxidative stress to anti-tumor immunity. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2019;1872(2):188308.

22. Bergmann EV, Capeloto OA, Catanio ATS, Flizikowski GAS, Kimura NM, Freitas CF, et al. Photoactivation of erythrosine in simulated body fluids. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2021;259:119867.

23. Hamblin MR. Photodynamic therapy for cancer: what's past is prologue. Photochem Photobiol. 2020;96(3):506-516.

24. Gao YH, Zhu XX, Zhu W, Wu D, Chen DY, Yan YJ, et al. Synthesis and evaluation of novel chlorophyll a derivatives as potent photosensitizers for photodynamic therapy. Eur J Med Chem. 2020;187:111959.

25. Mudambi S, Fitzgerald M, Pera P, Washington D, Chamberlain S, Fidrus E, et al. KDM1A inhibition increases UVA toxicity and enhances photodynamic therapy efficacy. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2023;39(3):226-234.

26. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. Cell Death Differ. 2018;25(3):486-541.

27. Ay EN, Acar DH, Kaleağasıoğlu F. Potential applications of photobiomodulation in combinatorial cancer therapy: developments in diagnosis and treatment. J Oncol Sci. 2024;10(1):47-59.

28. Rathod DG, Muneer H, Masood S. Phototherapy. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 [cited 2026 Aug 18]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563140/

29. Hübinger L, Runge R, Rosenberg T, Freudenberg R, Kotzerke J, Brogsitter C. Psoralen as a photosensitizer for photodynamic therapy by means of in vitro Cherenkov light. Int J Mol Sci. 2022;23(23):15233.

30. Kiefer J. Effects of ultraviolet radiation on DNA. In: Obe G, Vijayalaxmi, editors. Chromosomal alterations: methods, results and importance in human health. Berlin: Springer; 2007. p. 39-53.

31. Ormond A, Freeman H. Dye sensitizers for photodynamic therapy. Materials (Basel). 2013;6(3):817-840.

32. Fargnoli MC, Peris K. Photodynamic therapy for basal cell carcinoma. Future Oncol. 2015;11(22):2991-2996.

33. Guney Eskiler G, Deveci Ozkan A, Sozen Kucukkara E, Kamanlı AF, Gunoğlu B, Yıldız MZ. Optimization of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy protocol for breast cancer cells. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020;31:101854.

34. Dos Santos AF, de Almeida DRQ, Terra LF, Wailemann RAM, Gomes VM, Arini GS, et al. Fluence rate determines PDT efficiency in breast cancer cells displaying different GSH levels. Photochem Photobiol. 2020;96(3):658-667.

35. Xu W, Qian J, Hou G, Wang Y, Wang J, Sun T, et al. A dual-targeted hyaluronic acid-gold nanorod platform with triple-stimuli responsiveness for photodynamic/photothermal therapy of breast cancer. Acta Biomater. 2019;83:400-413.

36. Insińska-Rak M, Sikorski M, Wolnicka-Glubisz A. Riboflavin and its derivatives as potential photosensitizers in the photodynamic treatment of skin cancers. Cells. 2023;12(18):2304.

37. He Y, Xu F, Ibrahim Z, Feyissa Q, Reed JL, Vostal JG. Viral reduction of human blood by ultraviolet A-photosensitized vitamin K5. J Med Virol. 2021;93(8):5134-5140.

38. Welsh J, Bak MJ, Narvaez CJ. New insights into vitamin K biology with relevance to cancer. Trends Mol Med. 2022;28(10):864-881.

39. Rodríguez-Olleros Rodríguez C, Díaz Curiel M. Vitamin K and bone health: a review on the effects of vitamin K deficiency and supplementation and the effect of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants on different bone parameters. J Osteoporos. 2019;2019:2069176.

40. National Center for Biotechnology Information. PubChem compound summary for CID 6754, vitamin K5 [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); [cited 2026 Aug 18]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitamin-K5

41. Halder M, Petsophonsakul P, Akbulut AC, Pavlic A, Bohan F, Anderson E, et al. Vitamin K: double bonds beyond coagulation-insights into differences between vitamin K1 and K2 in health and disease. Int J Mol Sci. 2019;20(4):896.

42. Bus K, Szterk A. Relationship between structure and biological activity of various vitamin K forms. Foods. 2021;10(12):3136.

43. Marles RJ, Roe AL, Oketch-Rabah HA. US Pharmacopeial Convention safety evaluation of menaquinone-7, a form of vitamin K. Nutr Rev. 2017;75(7):553-578.

44. Kozioł-Kozakowska A, Maresz K. The impact of vitamin K2 (menaquinones) in children's health and diseases: a review of the literature. Children (Basel). 2022;9(1):78.

45. Chen J, Jiang Z, Wang B, Wang Y, Hu X. Vitamin K3 and K5 are inhibitors of tumor pyruvate kinase M2. Cancer Lett. 2012;316(2):204-210.

46. Nakaoka E, Tanaka S, Onda K, Sugiyama K, Hirano T. Effects of vitamin K3 and K5 on daunorubicin-resistant human T lymphoblastoid leukemia cells. Anticancer Res. 2015;35(11):6041-6048.

47. Turck D, Bresson JL, Burlingame B, Dean T, Fairweather-Tait S, Heinonen M, et al. Dietary reference values for vitamin K. EFSA J. 2017;15(5):e04780.

48. Xu F, Li Y, Ahmad J, Wang Y, Scott DE, Vostal JG. Vitamin K5 is an efficient photosensitizer for ultraviolet A light inactivation of bacteria. FEMS Microbiol Lett. 2018;365(4):fny008.

49. Shi S, Zheng G, Yang C, Chen X, Yan Q, Jiang F, et al. Effects of vitamin K3 combined with UVB on the proliferation and apoptosis of cutaneous squamous cell carcinoma A431 cells. Onco Targets Ther. 2019;12:11715-11727.

50. Ogawa M, Nakai S, Deguchi A, Nonomura T, Masaki T, Uchida N, et al. Vitamins K2, K3 and K5 exert antitumor effects on established colorectal cancer in mice by inducing apoptotic death of tumor cells. Int J Oncol. 2007;31(2):323-331.

11. Anexos

Caracheo_Uría_Lorena.docx

Universidad Autónoma del Estado de México

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::3117:622684624

Fecha de entrega
10 sep 2026, 10:47 a.m. GMT-6

Fecha de descarga
10 sep 2026, 11:00 a.m. GMT-6

Nombre del archivo
Caracheo_Uría_Lorena.docx

Tamaño del archivo
1.3 MB

61 páginas

15.397 palabras

85.771 caracteres

iThenticate Página 1 de 70 - Portada Identificador de la entrega trn:oid:::3117:622684624

20% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)
- Methods and Materials

Exclusiones

- N.° de coincidencias excluidas

Fuentes principales

20% Fuentes de Internet
4% Publicaciones
0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.° de alerta de integridad para revisión

Texto oculto
137 caracteres sospechosos en N.° de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.