



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE MEDICINA

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“ACTIVIDAD PRO-APOPTÓTICA *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE
AMARANTHUS HYPOCHONDIACUS EN CÉLULAS CANCERÍGENAS”**

Requisito previo para optar el Título de Médico:

Autor: Real Jaramillo, Alex Mateo.

Tutora: Dra. Carrero Castillo, Yenddy Nayghit PhD.

Ambato-Ecuador

Julio 2020

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutora del Proyecto de Investigación sobre el tema: “**ACTIVIDAD PRO-APOPTÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE *AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS* EN CÉLULAS CANCERÍGENAS**” de Alex Mateo Real Jaramillo, estudiante de la Carrera de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud; considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador, designado por el H. Consejo de la Facultad Ciencias de la Salud.

Ambato, abril 2020

LA TUTORA



Dra. Carrero Castillo, Yenddy Nayghit PhD.

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el presente trabajo de investigación sobre: “**ACTIVIDAD PRO-APOPTÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE *AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS* EN CÉLULAS CANCERÍGENAS**” como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de responsabilidad de mi persona, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, abril 2020

EL AUTOR



Real Jaramillo, Alex Mateo

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato para que haga de este proyecto de investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de Proyecto de Investigación, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta producción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, abril 2020

EL AUTOR



Real Jaramillo, Alex Mateo

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación, sobre el tema: **“ACTIVIDAD PRO-APOPTÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE *AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS* EN CÉLULAS CANCERÍGENAS”**; de Real Jaramillo Alex Mateo, estudiante de la Carrera de Medicina.

Ambato, julio 2020

Para su constancia firma

Presidente

1er vocal

2do vocal

DEDICATORIA

A toda mi familia, en especial a mi madre Katherine, a mi padre Alex, a mi hermana Emily y a mi querido sobrino Juan David, por todo el apoyo, sacrificio y cariño brindado a lo largo de este camino.

REAL JARAMILLO, ALEX MATEO

AGRADECIMIENTO

A las autoridades de mi facultad, a mi tutora y a mis maestros, que influyeron de manera positiva en mi formación personal y académica.

REAL JARAMILLO, ALEX MATEO

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICES.....	viii
ÍNDICE GENERAL	viii
INDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	2
MARCO TEÓRICO	2
1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	2
1.1.1 CONTEXTUALIZACIÓN	2
1.1.2 JUSTIFICACIÓN.....	3
1.1.3 ESTADO DEL ARTE.....	4
1.1.4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA	6
1.1.5. VARIABLE DEPENDIENTE	23
1.1.6. VARIABLE INDEPENDIENTE.....	23
1.2 OBJETIVOS.....	23
1.2.1 Objetivo general	23
1.2.2 Objetivos específicos.	23
CAPÍTULO II.....	24
METODOLOGÍA	24
2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	24
2.2 FINANCIAMIENTO.....	24
2.3 RECURSOS Y MATERIALES.....	24

2.4 MÉTODOS.....	26
2.4.1 Preparación del extracto	26
2.4.2 Descongelación celular	27
2.4.3 Cultivo celular.....	27
2.4.4 Cuantificación de proteínas.....	27
2.4.5 Conteo celular y ensayo MTT	28
2.4.6 Inmunocitoquímica	29
2.5 HIPÓTESIS.....	31
CAPÍTULO III.....	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1. RESULTADOS	32
3.1.1 Determinación de Proteínas.....	32
3.1.2 Ensayo de Citotoxicidad	32
3.1.3 Concentración optima de tratamiento con extracto de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> para Inmunocitoquímica.....	33
3.1.4 Inmunocitoquímica tratamiento Vs Controles	34
3.2 DISCUSIÓN	40
CAPÍTULO IV.....	42
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	42
4.1 CONCLUSIONES	42
4.2 RECOMENDACIONES	42
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tipos de cáncer más frecuentes en hombres y mujeres	8
Tabla 2 Clasificación del cáncer según el tejido	9
Tabla 3 Prefijos de la terminología de los tejidos	10
Tabla 4 Grado de un tumor	10
Tabla 5 Estadificación del tamaño de un tumor	11
Tabla 6 Estadificación de los ganglios de un tumor	12
Tabla 7 Estadificación de la metástasis de un tumor	12
Tabla 8: Especies cultivadas de amaranto y su origen	19
Tabla 9 Taxonomía del amaranto	20
Tabla 10 Composición del amaranto	22

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Figura 1. Cámara de Neubauer	28
Figura 2. Placa de 96 pozos	29
Figura 3. Placas de 6 pozos.....	30
Figura 4. Curva patrón BSA (Método de Bradford)	32
Figura 5 Ensayo de Citotoxicidad	33
Figura 6 Expresión de Bax, en modelo celular Hela con tratamiento de amaranto	34
Figura 7 Expresión de Bax, en modelo celular Hela sin tratamiento de amaranto	35
Figura 8 Expresión de Bcl2, en modelo celular Hela con tratamiento de amaranto	36
Figura 9 Expresión de Bcl2, en modelo celular Hela sin tratamiento de amaranto	37
Figura 10 Expresión de P53, en modelo celular Hela control Vs tratamiento.....	38
Figura 11 Expresión de Caspasa 8, en modelo celular Hela Control Vs tratamiento.....	39

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE MEDICINA

**ACTIVIDAD PRO-APOPTÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE
AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS EN CÉLULAS CANCERÍGENAS**

Autor: Real Jaramillo, Alex Mateo

Tutor: Dra. Carrero Castillo, Yenddy Nayghit Phd.

Fecha: Abril, 2020

RESUMEN

Introducción: El cáncer es un conjunto de patologías que comparten un proceso descontrolado de crecimiento y división de células anormales, las cuales tienen la capacidad de diseminarse a cualquier tejido del cuerpo humano. El organismo está conformado por millones de células que cumplen un ciclo de vida, es decir nacen, se reproducen y mueren, sin embargo, las células cancerosas carecen de esta propiedad de morir, lo que provoca el aumento del tejido, tumores y neoplasias.

El cáncer de cuello uterino se define como la aparición de células anormales en el tejido del cuello uterino, aumentando de tamaño y reproduciéndose sin detención, es el cuarto tipo de cáncer más frecuente en mujeres y en diversos países de Latinoamérica como Ecuador, Colombia y Perú es el cáncer que más se detecta diariamente según la Organización Panamericana de la Salud. El Virus del Papiloma Humano (VPH) en conjunto con factores de riesgo como la edad mayor de 45 años, inicio de vida sexual menor a 20 años y varias parejas sexuales se asocia en un 99% a mujeres que han desarrollado cáncer de cuello uterino, por otra parte, este virus tiene un número extenso

de subtipos, 15 presentan un potencial peligro para desarrollar cáncer y específicamente son 2 subtipos el 16 y el 18 los que elevan el riesgo.

Objetivo: Evaluar la actividad pro-apoptótica *in vitro* del extracto de *Amaranthus hypochondriacus* en células cancerígenas

Metodología: En el presente estudio se investigó la acción y el efecto que tiene el extracto de amaranto sobre las células de cuello uterino cancerosas, se emplearon 2 grupos de células HeLa, a un grupo se le añadió el extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y otro grupo, control sin tratamiento, en ambos grupos se evaluó la apoptosis.

Resultados: La expresión de Bax, Bcl2 y Caspasa 8 fue superior en las células HeLa tratadas con *Amaranthus hypochondriacus*, mientras que la expresión de p53 fue similar en las células HeLa con tratamiento y sin tratamiento.

Conclusión: El *Amaranthus hypochondriacus* en dosis óptima puede favorecer a la apoptosis de células cancerígenas del cuello uterino.

Recomendación: Incrementar el número de casos que continúen con el análisis del efecto *Amaranthus hypochondriacus* en células cancerígenas, además realizar un estudio cuantitativo el cual tendría gran valor científico.

PALABRAS CLAVES: *AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS*, APOPTOSIS, ANTIPROLIFERATIVO, ACTIVIDAD PRO-APOPTÓTICA, CÁNCER DE CUELLO UTERINO, CÉLULAS HELA, *IN VITRO*, CÉLULAS CANCERÍGENAS, EXTRACTO.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO

FACULTY OF HEALTH SCIENCES

MEDICAL CAREER

**PRO-APOPTÓTICA ACTIVITY IN VITRO OF THE EXTRACT OF
AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS IN CANCERIGENOUS CELLS**

Author: Real Jaramillo, Alex Mateo

Tutor: Dra. Carrero Castillo, Yenddy Nayghit Phd.

Date: April, 2020

ABSTRACT

Introduction: Cancer is a group of pathologies that share an uncontrolled process of growth and division of abnormal cells, which have the ability to spread to any tissue in the human body. The organism is made up of millions of cells that complete a life cycle, that is, they are born, reproduce and die, however, cancer cells lack this property of dying, which causes an increase in tissue, tumors and neoplasms.

Cervical cancer is defined as the appearance of abnormal cells in the tissue of the cervix, increasing in size and reproducing without stopping, it is the fourth most common type of cancer in women and in various Latin American countries such as Ecuador, Colombia and Peru It is the cancer that is most frequently detected daily according to the Pan American Health Organization. The Human Papilloma Virus (HPV) together with risk factors such as age over 45 years, start of sexual life under 20 years and several sexual partners is associated in 99% with women who have developed cervical cancer, on the other hand, this virus has an extensive number of subtypes, 15 present a potential danger for developing cancer and specifically, there are 2 subtypes, 16 and 18, that increase the risk.

Objective: To evaluate the pro-apoptotic activity in vitro of Amaranthus hypochondriacus extract in cancer cells.

Methodology: In the present study, the action and effect of amaranth extract on cancerous cervical cells was investigated, 2 groups of HeLa cells were used, one group added Amaranthus hypochondriacus extract and another group, control without treatment, apoptosis was evaluated in both groups.

Results: Bax, Bcl2 and caspase 8 expression was higher in HeLa cells treated with Amaranthus hypochondriacus, while p53 expression was similar in HeLa cells with treatment and without treatment.

Conclusion: Amaranthus hypochondriacus in an optimal dose can favor the apoptosis of cancer cells of the cervix.

Recommendation: Increase the number of cases that continue with the analysis of the Amaranthus hypochondriacus effect on cancer cells, also carry out a quantitative study which would have great scientific value.

KEY WORDS: AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS, APOPTOSIS, ANTIPROLIFERATIVE, PRO-APOPTOTIC ACTIVITY, CERVICAL CANCER, HELA CELLS, IN VITRO, CANCER CELLS, EXTRACT.

INTRODUCCIÓN

El cáncer engloba un extenso número de patologías que afectan diferentes tejidos del organismo, estas tienen características similares como: (1)

La veloz multiplicación de células anormales

Su capacidad de producir metástasis en otras localizaciones del organismo

El cáncer representa un problema de salud pública debido a su alta tasa de incidencia y morbi-mortalidad. (2)

Dentro de este grupo de patologías mencionado, encontramos en cáncer de cuello uterino, un tipo de cáncer que como su nombre lo indica tiene su origen en las células del tejido cervical, representa un problema importante para la población femenina, debido a que el cáncer de cuello uterino es uno de los más frecuentes en mujeres, a nivel mundial ocupa el cuarto lugar según el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos y en varios países latinoamericanos como Perú, Colombia y Ecuador. (3)

Cada año son miles los nuevos casos de mujeres con diagnóstico de cáncer de cuello uterino, la mayoría de estos se podrían prevenir modificando los factores de riesgo como: tabaquismo, inicio de vida sexual a temprana edad, múltiples parejas sexuales, para poder prevenir un contagio del Virus del Papiloma Humano, ya que este virus es el principal factor de riesgo para desarrollar cáncer de cuello uterino. (4,5)

Generalmente se utiliza un tratamiento multifocal, combinando el tratamiento quirúrgicos y quimioterapia, este último tratamiento presenta varios efectos adversos debido a que atacan tanto a las células cancerígenas como a las células sanas. (6)

La fitoterapia es un campo de salud en el cual buscamos obtener buenos resultados en los tratamientos disminuyendo los efectos adversos, tomando en cuenta que la mayor parte de los fármacos usados en la quimioterapia están elaborados a base de plantas. (7)

El amaranto es un pseudocereal que posee un alto valor nutricional, proteico y además ha demostrado tener propiedades antioxidantes y pro-apoptóticas. (8,9)

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

1.1.1 CONTEXTUALIZACIÓN

El cáncer es uno de los problemas de salud más alarmantes para la sociedad, es catalogado como la segunda causa de muerte a nivel mundial, sin embargo, la expectativa de vida ha mejorado en algunos tipos de cáncer, debido a los métodos innovadores en detección y tratamiento del mismo. (1,2)

El desarrollo del cáncer es ocasionado por mutaciones en el ADN de las células lo que provocan un rápido crecimiento celular, estas mutaciones pueden tener diversos factores asociados, por ejemplo, hereditario, consumo de tabaco, exposición a radiación ultravioleta, radiación ionizante, obesidad, agentes cancerígenos (arsénico, aflatoxinas) (1,2)

Las cifras de cáncer son importantes, según la Organización Mundial de la Salud, 1 de cada 6 muertes se le atribuyen a este grupo de enfermedades, en el 2015 causó 8,8 millones de muertes alrededor del mundo, 70% de las personas fallecidas son procedentes de países de medianos y bajos recursos. (2)

Dentro de los factores de riesgo se debe hacer mención a 5 en particular, debido a que un tercio de los fallecidos se vinculan con: tabaquismo siendo este el más importante, encontrándose en el 22% de los fallecidos con cáncer, índice de masa corporal elevado, ingesta reducida de frutas y verduras, falta de actividad física, consumo de alcohol. (3)

Algunos tipos de cáncer son ocasionados por infecciones víricas, este es el caso del cáncer de cuello uterino el cual se encuentra ligado a 2 subtipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) el subtipo 16 y el subtipo 18, en países de medianos y bajos recursos la aparición de cáncer debido a una infección vírica representa aproximadamente el 25% de los nuevos casos de estas enfermedades. (1,3)

Según la OMS durante el año 2018 cerca de 72000 mujeres fueron diagnosticadas con cáncer de cuello uterino, y solo en América alrededor de 34000 pacientes fallecieron, la tasa de mortalidad se triplica entre América latina y Norteamérica, a pesar de que existe una vacuna para este virus, en la región de América latina y el Caribe no hay disponibilidad para cubrir la vacunación a toda la población femenina, sin alcanzar el 80% de cobertura. (2)

Se estimó un total de 570000 nuevos casos de cáncer de cuello uterino en el año 2018. (4)

La mayoría de los casos pueden ser prevenidos, debido a que se puede disminuir los factores de riesgo de esta patología, como: el consumo de tabaco, el inicio temprano de la vida sexual, las múltiples parejas sexuales, que son factores que aumentan la probabilidad de adquirir VPH. (4)

Si se mantiene la tendencia actual se estima que para el 2030 la tasa de mortalidad por cáncer de cuello uterino aumente a 45% a nivel mundial. (4)

1.1.2 JUSTIFICACIÓN

En las lesiones pre invasivas de cérvix , lesiones intraepiteliales y adenocarcinoma *in situ* existen varias alternativas de tratamientos como cauterización, crioterapia, escisión electroquirúrgica por asa (LEEP), tratamientos quirúrgicos e histerectomía, radioterapia y quimioterapia, este último resulta muy controversial debido a los efectos perjudiciales sobre las células tanto dañadas como sanas: náuseas, vómitos, ulceraciones, astenia, pérdida del apetito, bajos niveles de leucocitos (aumentan las probabilidades de infecciones), disminución de plaquetas (aumentan hematomas y sangrados), escasez de eritrocitos (dificultad respiratoria), esto debido a que las sustancias usadas en la quimioterapia (Cisplatino, 5-Fluoracilo, Carboplatino, Topotecán, entre otras) tienen alta toxicidad, además de esto la supervivencia relativa a 5 años en países como Australia y Estados Unidos es baja, de 2,3% y 2,1% respectivamente, por lo que la quimioterapia no hace un gran aporte al tratamiento para el adenocarcinoma. (5,6)

Por tal motivo por el cual en los últimos años se ha incrementado el interés por la investigación de tratamientos alternativos contra el cáncer, en base a esto se decidió

realizar esta propuesta de investigación, con el propósito de comprobar el efecto inductivo del extracto de *Amaranthus hypochondriacus* sobre los mecanismos apoptóticos como alternativa terapéutica. (7)

Numerosos estudios han demostrado que las plantas poseen efectos como: actividad antimicrobiana, antimicótica, analgésica, antioxidativa y efecto apoptótico.

La fitoterapia en el mundo del cáncer se encuentra en auge, teniendo en cuenta que los fármacos quimioterápicos se extraen de plantas, y el uso natural eliminan varios de los efectos adversos con el mismo potencial terapéutico. (7)

El amaranto es una planta consumida por los seres humanos desde la prehistoria, usada a gran escala, se encontraba en abundancia en el sur de Asia y América, se conocen 69 tipos y más de 800 especies que sirven para la alimentación humana y del ganado, una de ellas es el *Amaranthus hypochondriacus*. (8)

Existe evidencia científica de la acción del amaranto en el cáncer, un estudio reciente publicado en el 2019 comprueba el efecto anti-proliferativo de esta planta sobre el cáncer de colon, los péptidos liberados del amaranto durante el modelo de digestión gastrointestinal lograron inhibir la proliferación y además favorecieron la apoptosis de las células HT-29 correspondientes al cáncer de colon. (9)

Por lo antes expuesto y tomando en consideración la búsqueda de tratamientos alternativos para el cáncer se plantea el presente trabajo de investigación.

1.1.3 ESTADO DEL ARTE

Después de revisar la bibliografía en diferentes artículos de revistas científicas y repositorios médicos se han encontrado diversas publicaciones que sirven de apoyo en esta investigación:

Rajasekaran y col establecieron la importancia del cáncer y la relevancia de buscar nuevos tratamientos a base de productos naturales, actualmente el 50% del tratamiento para el cáncer se basan en estos productos, debido a las propiedades: antiproliferativa y antioxidante lo que favorece el control del crecimiento por efecto de flavonoides y antioxidantes. (10)

El amaranto ha demostrado tener propiedades beneficiosas para el cáncer al inhibir la mutación del ADN celular, además tiene propiedades antioxidantes, elimina radicales libres y posee efecto sobre la proliferación celular y tumoral. (10)

El estudio evaluó la capacidad antitumoral y quimioprotectora del amaranto, su extracto se probó en diferentes tipos celulares como: tejido mamario, tejido colorrectal, tejido hepático, expresando resultados favorables, causó disminución significativa del desarrollo tumoral, estabilidad de la membrana celular, propiedad relacionada con mejor respuesta antiinflamatoria. (10)

Algara y col, explica las múltiples propiedades que posee el amaranto, además lo factible de conseguirlo ya que esta es una planta ampliamente distribuida a lo largo de América. (11)

A partir de los años 70 se empezó a estudiar al amaranto y todas sus funciones, por ejemplo, la semilla del amaranto es rica en proteínas que tienen una alta actividad nutracéutica potencial, pero no se ha estudiado el efecto de estas proteínas en el humano; además se encontró un efecto directo sobre los niveles de colesterol en el organismo debido a que el amaranto inhibe a la enzima HMG-CoA reductasa que es encargada en gran parte de la velocidad de producción de colesterol; también se refiere al efecto del amaranto sobre la presión arterial ya que una preparación proteica de albúmina con globulina de la semilla del amaranto demostró tener actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina; por último y más importante para el presente estudio, existen hallazgos de péptidos obtenidos de la semilla de amaranto que muestran actividad anticancerígena.

La planta de *Amaranthus hypochondriacus* posee una proteína parecida a la lunasina (soya), muy investigada por su propiedad para inhibir el crecimiento tumoral, que demostró un efecto apoptótico en células HeLa. (11)

Abdulla Al-Mamun hace alusión de la seriedad del cáncer, comparten cifras que datan del año 2012 en donde se diagnosticaron 14.1 millones de nuevos casos de cáncer y 8.2 millones de defunciones por estas patologías, menciona la importancia del uso de plantas debido a que estas son las bases de los medicamentos en especial de los utilizados en las

diversas terapias contra el cáncer alcanzando valores del 60%, se realizó un estudio en laboratorio con ratones albinos a los cuales se les inyectó células de carcinoma y se dividieron en grupos de trabajo y control, se observó una actividad que inhibe el crecimiento tumoral y además un efecto pro-apoptótico con el uso de la planta. (12)

Se demostró que la fuerte actividad anticancerígena del amaranto es por la presencia de la glucoproteína lectina, que es de origen no inmune, aglutinan células y son capaces de reconocimiento de carbohidratos que se unen reversiblemente sin alterar los ligandos glucosídicos que fueron reconocidos. (12)

Mengoni y col investigaron acerca del amaranto, en especial del *Amaranthus hypochondriacus*, especie precolombina estudiada en los últimos años debido a sus múltiples beneficios como la actividad antimicrobiana, antioxidante, antitrombótica y antihipertensiva. (13)

En este estudio se encontró a la lectina del amaranto como la responsable directa de la actividad antiproliferativa, sin embargo, el extracto demostró tener menor actividad antitumoral y antiproliferativa, esto se puede atribuir a que alguna proteína o compuesto del amaranto actúa sinérgicamente con la lectina para potenciar su efecto. (13)

Si bien existe evidencia suficiente para determinar a la lectina del amaranto como la responsable de la actividad antiproliferativa y antitumoral se debería estudiar a profundidad los procesos de purificación y las características estructurales para obtener extractos eficaces. (13)

1.1.4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA

1.1.4.1 Cáncer

1.1.4.1.1 Historia

El cáncer es un problema de salud que nos ha acompañado desde el mismo origen de la humanidad, y cabe destacar que no es un problema único de la especie humana ya que existen plantas que desarrollan tumoraciones. (14)

El papiro de Ebers, descubierto por el doctor Smith en el año de 1872 describe acontecimientos de hace 5000 años, reporta 8 casos de mujeres que presentaban abultamientos en las mamas. (14)

Otros grandes personajes de la medicina como Hipócrates y Galeno en el año 400 a.C y 200 d.C continuaron reportando casos, que hoy se sabe pueden ser cáncer. Debido a las limitaciones de la época no se lograba tener acceso al tumor primario y se mantenía la teoría de los 4 humores, dentro de los cuales se encontraba la bilis negra como la causante de los tumores, teoría creada por Hipócrates y continuada por Galeno. (14)

Virchow en el siglo XIX con uno de los primeros microscopios logra identificar células en los tumores, dejando a un lado la teoría de Hipócrates y habla que el cáncer se puede eliminar, si se destruyen todas las células que lo componen. (14)

A finales del siglo XIX el doctor Halsted realiza el primer gran avance en el tratamiento para el cáncer, extirpa completamente la mama, procedimiento hoy llamado mastectomía. (14)

En 1899 Marie y Piere Curie, identifican al radio, el cual será la base del segundo tratamiento conocido para el cáncer, la radioterapia. (14)

En el año de 1920 se realiza el descubrimiento más grande para la Oncología, el doctor Papanicolaou, descubre e introduce al mundo un análisis de la secreción vaginal, que puede identificar aparición de carcinoma in situ en mujeres que no tienen sintomatología, es decir puede detectarlo en fase temprana y así poder tener un tratamiento con resultados exitosos. (14)

En 1940 los doctores Goodman y Gimán descubren un efecto antitumoral en productos bélicos usado en la primera guerra mundial, dando paso a la quimioterapia. (14)

1.1.4.1.2 Generalidades

El cáncer es un conjunto de patologías las cuales comparten ciertos criterios en los que resaltan:

- Proliferación celular no controlada.

- Déficit de diferenciación celular.
- Invadir tejido circundante.
- Capacidad de producir metástasis a través del torrente sanguíneo o linfático.

Juega un papel muy importante en el cáncer, el tiempo en el que es detectado esto debido a que actualmente la mayoría de los tipos de cáncer pueden ser tratados exitosamente si se realiza un diagnóstico oportuno. (1,2)

Según la Sociedad Americana del Cáncer, estas patologías implican la segunda causa de muerte en los Estados Unidos de América y son un problema de salud pública a nivel mundial por el impacto que tiene sobre la sociedad y su salud. (3)

A lo largo de la vida las personas de sexo masculino tienen el 40.1% de probabilidad de desarrollar algún tipo de cáncer estadística que tan solo disminuye un poco en el sexo femenino, siendo de 38.7%. (15)

Para el 2020 los 5 tipos de cáncer más frecuentes en hombres y mujeres son:

Tabla 1: Tipos de cáncer más frecuentes en hombres y mujeres

	<i>Hombres</i>	<i>Mujeres</i>
1	Próstata (20%)	Mama (30%)
2	Pulmón (13%)	Pulmón (13%)
3	Colorrectal (9%)	Colorrectal (8%)
4	Vejiga (7%)	Útero (7%)
5	Piel (7%)	Piel (4%)

Fuente: Siegel, R. Miller, K. 2019

1.1.4.1.3. Etiología

La bibliografía reporta 2 grupos de factores en el origen del cáncer: la primera representa el 90-95% y son los factores ambientales y el 5-10% representan los factores hereditarios. (15)

Dentro de los factores ambientales se considera todo factor de riesgo que no sea genético, como:

- El estilo de vida: el sedentarismo está presente en un tercio a las muertes por cáncer, esto debido a que está ligado al aumento de peso corporal y este tiene efecto sobre el sistema inmunológico y endócrino. (15)
- Tabaquismo: el consumo de tabaco está ligado en un 90% a la aparición de cáncer de pulmón. (15)
- Infecciones: tiene una incidencia más alta en países de medianos y escasos recursos que en países desarrollados, por ejemplo, cáncer de cuello uterino cuyo factor de riesgo principal la infección con ciertos subtipos del Virus del Papiloma Humano. (15)
- Exposición a radiación: la radiación ionizante (como la emitida al momento de realizar exámenes de imagenología médica) no constituye mayor peligro de desarrollar cáncer por sí solos, pero al combinarse con otros factores de riesgo pueden ser causa de desarrollo de cáncer, además está la radiación no ionizante (luz solar) está muy relacionada con melanoma y demás tumores malignos de piel. (15)

El factor hereditario o genético: la mutación de ciertos genes, por 2 mecanismos:

- Inactivación de genes encargados de limitar la división celular
- Potenciación de genes encargados de movimiento y multiplicación celular.

De ambas formas se favorece el aumento de células ocasionando tumores o neoplasias. (15)

1.1.4.1.4. Tipos

Se le otorga el nombre del tejido u órgano en donde apareció, si realiza metástasis en algún órgano o tejido adyacente el nombre continúa siendo el del lugar de origen. (16)

Además, se los puede definir por el tejido en donde se formaron:

Tabla 2 Clasificación del cáncer según el tejido.

<i>Tejido de origen</i>	<i>Nombre</i>
<i>Células epiteliales</i>	Carcinoma

Tejido conectivo

Médula ósea

Tejido linfático

Sarcoma

Leucemia

Linfoma

Fuente: Mandal, A. 2019

Los más comunes son los carcinomas, aquí se encuentran el 80% de los tipos de cáncer y son los más frecuentes como el de pulmón, mama, próstata, colorrectal, entre otros. A estos nombres se les añade un prefijo el cual nos indicará el tipo de célula que lo ocasionó:
(1)

Tabla 3 Prefijos de la terminología de los tejidos

<i>Célula</i>	<i>Prefijo</i>
<i>Adeno</i>	Glándula
<i>Condro</i>	Cartílago
<i>Eritro</i>	Glóbulo rojo
<i>Hemangio</i>	Vaso sanguíneo
<i>Lipo</i>	Grasa
<i>Melano</i>	Célula Pigmentada
<i>Mio</i>	Célula muscular
<i>Osteo</i>	Hueso

Fuente: Puente, J. Velasco, G. 2019.

1.1.4.1.5. Gradación

Es un sistema que se usa para describir el grado del tumor mediante la forma del tejido bajo un microscopio. (1,15)

Esta gradación será un indicativo para aproximar la velocidad de crecimiento de un tumor.
(1,15)

Tabla 4 Grado de un tumor

<i>Grado</i>	<i>Diferenciación</i>
<i>GX</i>	Indeterminado
<i>G1</i>	Bien diferenciado
<i>G2</i>	Moderadamente diferenciado
<i>G3</i>	Poco diferenciado
<i>G4</i>	Indiferenciado

Fuente Instituto Nacional del Cáncer. 2013

1.1.4.1.6. Estadificación

Se utiliza para ver la extensión del cáncer y a que lugares está afectando. (1,15)

La estadificación del cáncer nos ayuda a:

- Localizar el tumor primario.
- Identificar el tamaño del tumor.
- Propagación a ganglios linfáticos.
- Número de tumores causados por el cáncer diseminado.
- El grado del tumor

El sistema utilizado para la estadificación es el TNM, nos permite determinar un pronóstico y establecer un tratamiento: (1,15)

- T: Tumor primario
- N: Nódulo o ganglio linfático
- M: Metástasis

Tumor primario T

Tabla 5 Estadificación del tamaño de un tumor

	<i>Tamaño del tumor</i>
<i>TX</i>	No puede ser evaluado
<i>T0</i>	No hay evidencia de tumor primario

Tis
T1-T2-T3-T4

Carcinoma in situ
Tamaño y extensión del tumor

Fuente: Instituto Nacional del Cáncer. 2013

Ganglios linfáticos.

Tabla 6 Estadificación de los ganglios de un tumor

<i>Ganglio linfático</i>	
<i>NX</i>	No es posible evaluar ganglios linfáticos
<i>N0</i>	Ganglios linfáticos sin complicaciones
<i>N1-N2-N3</i>	Ganglios linfáticos con complicaciones

Fuente: Instituto Nacional del Cáncer. 2013

Metástasis.

Tabla 7 Estadificación de la metástasis de un tumor

<i>Metástasis</i>	
<i>MX</i>	No es posible evaluar metástasis
<i>M0</i>	No hay presencia de metástasis
<i>M1</i>	Metástasis distante

Fuente: Instituto Nacional del Cáncer. 2013

La interpretación de este sistema se realiza una vez analizados los 3 aspectos y se crea un código como por ejemplo TisN0M0 el cual se trataría de un carcinoma in situ sin compromiso de los ganglio o nódulos linfáticos y en el cual no se observa metástasis en otros tejidos u órganos. (1,15)

1.1.4.1.7. Tratamiento

En la actualidad existen diversas terapéuticas contra estas patologías, pero son 4 los pilares principales del tratamiento para el cáncer: cirugía, radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia. Sin embargo, también se utilizan: terapia hormonal, terapia genética. (17)

Tratamiento quirúrgico: Es el pilar fundamental del tratamiento para el cáncer, consiste en remover el tumor o la neoplasia y parte de los tejidos adyacentes, en algunas ocasiones puede ser un tratamiento paliativo para evitar complicaciones, dentro de los tratamientos quirúrgicos convencionales hay que destacar algunos procedimientos que caben en esta categoría como, la crioterapia (utilización de gas extremadamente frío lo cual congela y elimina células cancerígenas), terapia laser. (17)

Quimioterapia: Este tratamiento se basa en la aplicación de medicamentos llamados citostáticos o citotóxicos, los cuales poseen ciertas propiedades que resultan de ayuda para combatir el cáncer, como, restringen varios mecanismos de división celular, esto conlleva a una disminución en la multiplicación de células y con esto se inhibe la proliferación de tumores malignos. (17)

Radioterapia: Consiste en la utilización de partículas radioactivas las cuales van a ocasionar daño en las células cancerígenas y así causar la muerte de las mismas. (17)

Existen 2 maneras de realizar radioterapia: externa e interna.

- Externa: Se envían partículas radioactivas desde fuera del cuerpo
- Interna: A través de líquidos, pastillas o soluciones intravenosas se envían partículas radioactivas las cuales se ubicarán cerca o en el tumor

Terapia inmunológica: Se trata de la utilización de medicamentos creados mediante ingeniería genética los cuales tienen como base el fortalecimiento y potenciación del sistema inmunitario del organismo: (17)

- Limita el crecimiento de células cancerígenas.
- Previene que el cáncer se propague.
- Fortalece el sistema inmunitario y lo enfoca a eliminar células cancerígenas.

1.1.4.2. Cáncer de cuello uterino

1.1.4.2.1. Generalidades

Tipo de cáncer que se origina en el cuello uterino, representa un gran interés en el mundo de la medicina debido a su alta incidencia, es el cuarto tipo de cáncer más frecuente en las mujeres. (18)

Según Harald zur Hausen, científico alemán, este cáncer suele originarse por medio de un contagio con el Virus del Papiloma Humano, en 1983 se descubre que son algunos subtipos los que presentan un potencial peligro para desarrollar cáncer de cuello uterino, primero se descubre el subtipo 16 y luego el subtipo 18. Estos descubrimientos permitieron formar posteriormente una vacuna, que ha disminuido la incidencia de este cáncer. (19)

1.1.4.2.2. Epidemiología

El Virus del Papiloma Humano es la infección de transmisión sexual que más prevalece a nivel mundial tanto en varones como en mujeres, cerca al 90% de la población adulta presentan infección por este virus. (18-20)

Es un virus de más de 100 subtipos, pero como se ha citado previamente a lo largo de esta investigación, son 2 subtipos los que representan mayor potencial peligro para desarrollar cáncer de cuello uterino: los subtipos 16 y 18. (18-20)

El cáncer de cuello uterino representa un verdadero problema de salud pública a nivel mundial ya que es el responsable de 250.000 muertes aproximadamente al año. (18,20)

Es mucho más frecuente en países de medianos y bajos recursos que en países desarrollados, esto se debe a las campañas de detección temprana con lo que los países desarrollados han logrado disminuir la incidencia de muerte por cáncer de cuello uterino en un 80% llegando a ser responsable en estos países de tan solo el 3% de las muertes por cáncer en mujeres. (18,20)

La edad promedio de aparición de este cáncer es a los 50 años de edad, y en mujeres mayores de 75 años solo se observa en un 10%. (18-20)

1.1.4.2.3. Factores de riesgo

Presencia de Virus del Papiloma Humano (VPH) (21,22)

Edad: Alrededor de los 45 años las mujeres tienen un riesgo más elevado de desarrollar cáncer de cuello uterino. (21,22)

Anticonceptivos orales: Existe evidencia científica que el consumo prolongado de anticonceptivos por vía oral está más asociado a mujeres las cuales han desarrollado cáncer de cuello uterino. (21,22)

Tabaquismo: El tabaco contiene muchas sustancias las cuales son cancerígenas, estas sustancias alteran el ADN de las células del cuello uterino, motivo por el cual puede ser predecesor al desarrollo de cáncer. (23)

Sistema inmunitario debilitado: Existen varias causas para que el sistema inmunitario se vea afectado dentro de las que se encuentran enfermedades como la diabetes, consumo de medicamentos como los corticoesteroides, trasplantes de órganos, otros tipos de cáncer, Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). (21,22)

Herpes: En varios estudios se asocia la presencia de herpes al desarrollo de cáncer de cuello uterino. (21,22)

Antecedentes sexuales: Inicio de vida sexual a corta edad, múltiples parejas sexuales, tener una pareja de alto riesgo, son factores los cuales están ligados a la aparición de cáncer de cuello uterino. (21,22)

Antecedentes familiares de cáncer de cuello uterino. (21,22)

Mala alimentación: La pobre o nula ingesta de frutas y verduras se asocia al desarrollo de cáncer de cuello uterino. (21,22)

Primer embarazo a término antes de los 20 años de edad. (21,22)

Situación socioeconómica: Un bajo estatus socioeconómico ha demostrado influir en el acceso a pruebas de cribado de cáncer de cuello uterino, con lo cual se podría identificar anomalías en la histología que pueden ser precursoras al cáncer de cuello uterino. (21,22)

Virus del Papiloma Humano.

La presencia de este virus es sin duda el factor de riesgo principal en el desarrollo de cáncer de cuello uterino, por lo que es necesario la revisión del mismo. (24)

Es la Enfermedad de Transmisión Sexual más frecuente alrededor del mundo, existe más de 200 subtipos de VPH, de estos 40 pueden afectar a la zona genital, este virus generalmente no causa sintomatología y con el paso del tiempo puede desaparecer, sin embargo, existen subtipos los cuales pueden ser predecesores de cáncer de cuello uterino y de verrugas genitales. (24,25)

En cuanto a las verrugas genitales son causadas por 2 subtipos el 6 y el 11, son inofensivos y considerados VPH de bajo riesgo por lo que es improbable que estos subtipos desarrollen cáncer de cuello uterino. (24,25)

En cuanto al cáncer se conoce que existen 2 subtipos conocidos como VPH de alto riesgo, los subtipos 16 y 18, estos son considerados predecesores de cáncer de cuello uterino principalmente, pero pueden ser un factor de riesgo para otros tipos de cáncer, por ejemplo: (24,25)

- Cáncer de ano
- Cáncer de boca y garganta
- Cáncer de vulva
- Cáncer de vagina
- Cáncer de pene

Esta enfermedad no tiene cura, pero la mayoría de los pacientes con VPH son asintomáticos y el virus suele desaparecer por sí mismo, existe riesgo de desarrollar cáncer, cuando el VPH causa una infección prolongada. (24-26)

Existe una vacuna llamada Gardasil 9 que está enfocada hacia los 2 subtipos más comunes de VPH que pueden desarrollar cáncer el 16 y 18, 5 subtipos más que a pesar de no ser los más frecuentes se han visto relacionados con cáncer y los 2 subtipos que pueden desarrollar verrugas genitales (6 y 11). (24,25,27)

1.1.4.2.4. Diagnóstico

En la mayoría de los tipos de cáncer se utiliza una biopsia para identificación de anomalías en las células de los tejidos, el cáncer de cuello uterino es uno de estos tipos de cáncer, a pesar de esto, se pueden realizar otros exámenes que pueden indicar cáncer o un posible desarrollo del mismo, a continuación, detallaremos las opciones de detección y cribado de cáncer de cuello uterino. (28)

Examen ginecológico bimanual: Este examen consiste en la revisión de una mujer a través de un artefacto llamado espéculo, el cual se introduce en la vagina separando las paredes vaginales para tener acceso visual al interior de la cavidad vaginal, en donde se puede observar si existe algún tipo de irregularidad en el cuello uterino, además se realiza un tacto vaginal introduciendo 2 dedos de una mano en la vagina para complementar el examen. (28)

Citología cervical: También llamada Papanicolaou por su creador Georgios Papanicolaou médico griego quien descubrió este método, el mismo que consiste en obtener una muestra de células del cuello uterino (porción que conecta el útero con la vagina), para así poder examinarla bajo un microscopio y determinar si existen anomalías en las células de este tejido, este examen se debe realizar a partir de los 21 años y: (28,29,30)

- Cada 3 años hasta los 30 años
- Cada 5 años a partir de los 30 años si exámenes previos tienen resultados sin patologías
- Se puede suspender a partir de los 65 años si en los 3 últimos exámenes presenta resultados normales

Tipificación de Virus del Papiloma Humano: Consiste de igual manera que la citología cervical, en la recolección de células de cuello uterino, pero en este examen se analiza presencia de Virus del Papiloma Humano a través de análisis molecular, hay que tomar en cuenta que la presencia de este virus no siempre está en conjunto con la existencia de cáncer, pero si puede ser un factor de riesgo por lo que se debe mantener a la paciente realizándose controles para descartar la presencia de cáncer de cuello uterino o para confirmar el mismo diagnóstico. (28)

Colposcopia: Este método consiste en la utilización de un artefacto especial llamado colposcopio, con el cual se puede amplificar a las células de la vagina y cuello uterino simulando la acción de un microscopio, para así analizar anomalías. (31)

1.1.4.2.5. Tratamiento

El tratamiento para el cáncer de cuello uterino posee 3 pilares fundamentales (quirúrgico, quimioterapia y radioterapia), se pueden utilizar por separado o en conjunto, dependiendo del estadio y evolución del cáncer. (18,20,21,28)

Quirúrgico: Es el tratamiento con mayor porcentaje de efectividad, y de acuerdo a la evolución del cáncer se puede utilizar las siguientes opciones: (18,20,28)

- Extirpar únicamente el cáncer, procedimiento llamado conización el cual consiste en extirpar a manera de biopsia una parte del tejido del cuello del útero en forma de cono, cuando se usa este procedimiento la mujer tiene la posibilidad de quedar embarazada, debido a que el resto del útero se deja intacto.
- Traquelectomía, procedimiento en el cual se remueve todo el cuello uterino además se extirpa parte de los tejidos adyacentes, el cuerpo del útero permanece intacto por lo que existe la posibilidad de que la paciente pueda quedarse embarazada.
- Histerectomía, en esta opción quirúrgica se extirpa el útero en su totalidad acompañado de los anexos, por lo que no existe la posibilidad de que la paciente presente un embarazo a futuro.

Quimioterapia: Es una modalidad terapéutica en la cual se administran medicamentos por vía oral o venosa para favorecer la eliminación del cáncer, en el cáncer de cuello uterino el medicamento que ha demostrado tener mayor efectividad es el cisplatino, sin embargo, cuando no se puede administrar este medicamento se utiliza carboplatino, paclitaxel, topotecán, entre otros. (6,18,20,28)

Radioterapia: Consiste en la utilización de partículas radioactivas como los rayos X o los protones para favorecer la eliminación del cáncer, generalmente se usa en conjunto con la quimioterapia para obtener mejores resultados. (18,20,28)

1.1.4.3. Amaranto

1.1.4.3.1. Generalidades

La palabra amaranto tiene una definición similar a inmortal, debido a que no se marchita incluso en momentos de sequía, su origen se remonta del griego a: negación y maraíno: marchitarse. (11,32,33)

El amaranto existe en la humanidad desde hace aproximadamente 10 mil años según varios estudios, ha sido la principal fuente de proteínas de los principales grupos ancestrales de América, así, por ejemplo, mayas, incas y aztecas, obtenían principalmente su aporte proteico de esta planta. (11,32,33)

En el amaranto se observa alrededor de 80 especies (55 especies de amaranto son de origen americano y 15 especies de amaranto tienen su origen en Europa, Asia, África y Australia), de estas 3 son cultivables. (11)

Tabla 8: Especies cultivadas de amaranto y su origen

AMARANTHUS	ORIGEN
<i>Hypochondriacus</i>	México
<i>Cruentus</i>	Guatemala
<i>Caudatus</i>	América del sur, África, China, India.

Fuente Algara, P. 2016

A pesar de ser un alimento que tiene muchas propiedades en beneficio de la salud y nutrición de una persona, este vegetal casi desaparece de la humanidad por la conquista europea en América, debido a que además de alimento, se utilizaba en rituales propios de las diversas culturas americanas y los españoles quisieron eliminar estas plantaciones por fines religiosos. (11,12,32)

El amaranto logró persistir en la humanidad gracias a 2 factores:

- Los cultivos de este pseudocereal en lugares alejados de la supervisión de la conquista española.

- Su capacidad de sobrevivir en lugares que presentan condiciones climáticas adversas para la mayor parte de cultivos, por ejemplo, temperaturas extremadamente altas, falta de agua, y suelos salinos.

Por su alto valor nutricional diferentes entidades mundiales han catalogado en la actualidad al amaranto como un alimento excepcional para el ser humano, así la Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que consumir amaranto en compañía de otros cereales y vitaminas sería un alimento perfecto para una dieta equilibra, dentro de estas entidades también se encuentra la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) que coloca al amaranto dentro de una lista de 23 plantas que pueden colaborar con una mejora del estado nutricional de las personas, esto debido a que este alimento posee alto valor nutricional. (13)

Un estudio realizado en 2015 agregó más valor al amaranto, ya que se descubrió que aparte del excelente valor nutricional posee otras propiedades que pueden ser de gran valor medicinal, entre ellas tenemos: (11)

- Disminuye niveles de colesterol en el plasma
- Estimula el sistema inmunológico
- Disminuye la glucosa plasmática
- Tiene efectos hipotensores
- Disminuye índices anémicos
- Presenta actividad antitumoral

Para el presente proyecto tiene importancia el estudio realizado en 2015 debido a que se demostró la actividad antitumoral, así como un efecto pro-apoptótico, que se puede probar en las células cancerígenas del cuello uterino. (11)

1.1.4.3.2. Taxonomía

Tabla 9 Taxonomía del amaranto

Reino	Vegetal
División	Fenarógama

Tipo	<i>Embryophyta siphonogama</i>
Subtipo	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Subclase	<i>Archyclamidae</i>
Orden	Centropermales
Familia	<i>Amaranthaceae</i>
Género	<i>Amaranthus</i>
Sección	<i>Amaranthus</i>
Especies	<i>Caudatus, cruentus e hypochondriacus</i>

Fuente: Jimenez, Z. López, T. 2019

1.1.4.3.3. Valor nutricional

El amaranto posee valor nutricional en la dieta equilibrada, por sus aminoácidos, lípidos y almidones, que en combinación con otros cereales y leguminosas puede convertirse en un nutriente para el organismo. (11,32)

El *Amaranthus hypochondriacus* que posee todos los aminoácidos esenciales, es decir aquellos aminoácidos que son básicos para el organismo y únicamente se pueden obtener mediante la dieta, estos aminoácidos esenciales son: (11,32)

- Leucina
- Lisina
- Valina
- Metionina
- Fenilalanina
- Treonina
- Isoleucina

El valor de proteínas del amaranto es superior a todos los cereales, en una comparación por cada 100 gramos de alimento, el amaranto tiene entre 13.6 y 18 gramos de proteína, la cebada tiene entre 9.5 y 17 gramos de proteína, el maíz entre 9.4 y 14.2 gramos de

proteína, el arroz 7.5 gramos de proteína, el trigo entre 14 y 17 gramos de proteína y el centeno entre 9.4 y 14 gramos de proteína. (11)

1.1.4.3.4. Composición

Tabla 10 Composición del amaranto

COMPONENTE	POR CADA 100 GRAMOS
Almidón	60 gramos
Amilosa	1 gramo
Proteína total	13-19 gramos
Histidina	0.38 gramos
Isoleucina	0.58 gramos
Leucina	0.87 gramos
Metionina	0.22 gramos
Fenilalanina	0.54 gramos
Treonina	0.55 gramos
Valina	0.67 gramos
Lisina	0.74 gramos
Grasa	2-10 gramos
Ácido linoleico	45 gramos
Ácido oleico	29 gramos
Ácido palmítico	22 gramos
Ácido esteárico	3 gramos
Escualeno	1-7.3 gramos

Fuente: Algara, P. 2016

1.1.4.3.5. Actividad antitumoral

En la fracción glutelina del *Amaranthus hypochondriacus* se ha encontrado un péptido que tiene características similares a la lunasina, estos son componentes bioactivos, que

han demostrado tener una actividad antitumoral, debido al efecto que impide el crecimiento de las células tumorales. (33)

1.1.5. VARIABLE DEPENDIENTE

Apoptosis

1.1.6. VARIABLE INDEPENDIENTE

Amaranto

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Evaluar la actividad pro-apoptótica *in vitro* del extracto de *Amaranthus hypochondriacus* en células cancerígenas del cuello uterino.

1.2.2 Objetivos específicos.

- Determinar la capacidad citotóxica del extracto de *Amaranthus hypochondriacus*
- Detectar la expresión de las proteínas Bax y Bcl2 en células Hela tratadas con un extracto de *Amaranthus hypochondriacus*.
- Detectar la expresión de las proteínas efectoras P53 y Caspasa 8 en células Hela tratadas con un extracto de *Amaranthus hypochondriacus*.
- Relacionar los patrones de expresión encontrados en el proceso de apoptosis de células cancerígenas del cuello uterino.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio no experimental, para comprobar la acción apoptótica del *Amaranthus hypochondriacus* en las células Hela.

Según María Estela Reffino el estudio no experimental consiste en un tipo de estudio en el que se realiza una pesquisa que no obtiene sus resultados mediante series de acciones y reacciones controladas para interpretar resultados, es decir no se manipula deliberadamente las variables. (34)

En este tipo de estudio se observan los fenómenos reproducirse en un ambiente natural, y estos datos se analizan y se describen sin la necesidad de mantener un ambiente controlado. (34)

2.2 FINANCIAMIENTO

Este estudio forma parte del proyecto de investigación **Estudio etnobotánico y bioensayos de plantas medicinales relacionadas con el tratamiento de cáncer de cérvix en la ciudad de Ambato, provincia de Tungurahua, Ecuador, aprobado con resolución: 0904-CU-P-2018**, dirigido por la Dra. Yenddy Carrero

2.3 RECURSOS Y MATERIALES

Humano

- Tutora de proyecto de investigación.
- Personal del laboratorio de investigación de la Universidad Técnica de Ambato.

Infraestructura

- Laboratorio de investigación de la Universidad Técnica de Ambato campus Querochaca.

Elementos de Bioseguridad

- Zapatones
- Cofia
- Mandil
- Guantes
- Mascarilla
- Bata estéril

Materiales y Equipos

- Células HeLa
- Medio de cultivo DMEM
- PBS (Buffer fosfato salino)
- Estreptomicina
- Piruvato de sodio
- Extracto de *Amaranthus hypochondriacus*
- Buffer de permeabilización
- Anticuerpos (Bax, Bcl2, P53, Caspasa 8)
- Liofilizador VirTisBench Top (SPScientific)
- Rotavapor
- PE (Ficoeritrina por sus siglas en inglés)
- FIT (Isoticianato de fluoresceína)
- Medio de montaje DAPI (Diamidino Fenilindol)
- Botellas de cultivo celular 75 cms³
- Placas estériles de 6 pozos de cultivo
- Placas estériles 96 pozos
- Portaobjetos
- Cubreobjetos

- Pipetas
- Gradillas
- Tubos eppendorf
- vasos de precipitación
- Congelador de -4 grados centígrados
- Congelador de -20 grados centígrados
- Congelador de -80 grados centígrados
- Incubadora
- Centrifuga
- Microscopio
- Jeringuilla 1 mililito
- Baño maría
- Microscopio de fluorescencia Leica Dmi8
- Tripsina 0,25%
- PFA (Paraformaldeído) 4%
- MTT (Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol)
- Solución SDS + HCl (0,01M).

2.4 MÉTODOS

2.4.1 Preparación del extracto

Se recolectaron tallos y hojas de *Amaranthus hypochondriacus*, se secaron a 41 grados centígrados durante 24 horas, posterior a esto se trituró y se pesaron para obtener 60 gramos de la planta que se mezcló en una solución de 200 ml de etanol al 20%. La mezcla se sometió a 80 grados centígrados durante una hora, con un rotavapor se eliminó el etanol de la solución, luego de esto, se liofilizó durante 24 horas en un Liofilizador VirTisBench Top (SPScientific) y se re-suspendió en un buffer fosfato salino (PBS) 1X. Para la esterilización del extracto se emplearon filtros de 0.22 μ m.

2.4.2 Descongelación celular

Se descongelaron células HeLa (ATCC®CCL-2™) almacenadas en medio DMEN enriquecido con 10 por ciento de FBS y 10% de DMSO en atmósfera de nitrógeno líquido a menos 196 grados centígrados. Se descongelaron mediante el método indirecto.

2.4.3 Cultivo celular

Se efectuó un cultivo celular en una incubadora, que tiene una atmósfera húmeda de CO₂ al 5% y 37 grados centígrados, generando un ambiente adecuado para que las células puedan crecer, se utilizó medio de cultivo DMEN suplementado con 10 por ciento (v/v) de FBS, 1 por ciento de antibiótico (penicilina 100 U/ml, estreptomicina 10 ug/ml) y 2mM de L-glutamina, después de un intervalo entre 24 a 48 horas las células crecieron, se procedió a retirar el medio previamente mencionado de las frascas y se añadió 5 mililitros de tripsina a 37 grados centígrados, se colocaron las células más tripsina durante 5 minutos en la incubadora con el propósito de despegar las células para su recolección en tubos falcón, se procedió a centrifugar el compuesto obteniéndose un sobrenadante de tripsina y un pellet de células, se retiró el sobrenadante de tripsina y se colocó PBS en el pellet, se repitió el proceso de centrifugado y eliminación de sobrenadante con PBS por 3 ocasiones para obtener un pellet libre de tripsina debido a que esta enzima es tóxica para las células, una vez que se obtuvo el concentrado de células se resuspendió en 3 a 5 mililitros de medio dependiendo la cantidad de células obtenidas.

2.4.4 Cuantificación de proteínas

Para realizar la cuantificación de proteínas que se encuentran presentes en el *Amaranthus hypochondriacus* se utilizó el método Bradford que consiste en un ensayo colorímetro, además se utilizó albúmina de suero bovino (BSA) a 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 miligramos/mililitro como patrón para la curva de calibración.

Se colocó en una placa de 96 pozos, 5 microlitros de muestra y del patrón por triplicado, posteriormente se colocó 150 microlitros del reactivo colorante Bradford, a temperatura ambiente se dejó reposar la mezcla durante 5 minutos.

Por último, se realizó la lectura de las absorbancias mediante espectrofotometría a 595 nm en el PerkinElmer Victor X3.

2.4.5 conteo celular y ensayo MTT

Luego se realizó un conteo celular, con una proporción 50-50 de tripan blue y la suspensión celular, se observó en una cámara de Neubauer fig. 1, aquí identificamos la cantidad de células presentes por ml en la suspensión, posterior se realizó una regla de 3 para calcular la cantidad exacta de suspensión necesaria para realizar el ensayo MTT debido a que se requería sembrar 10000 células por cada pozo.

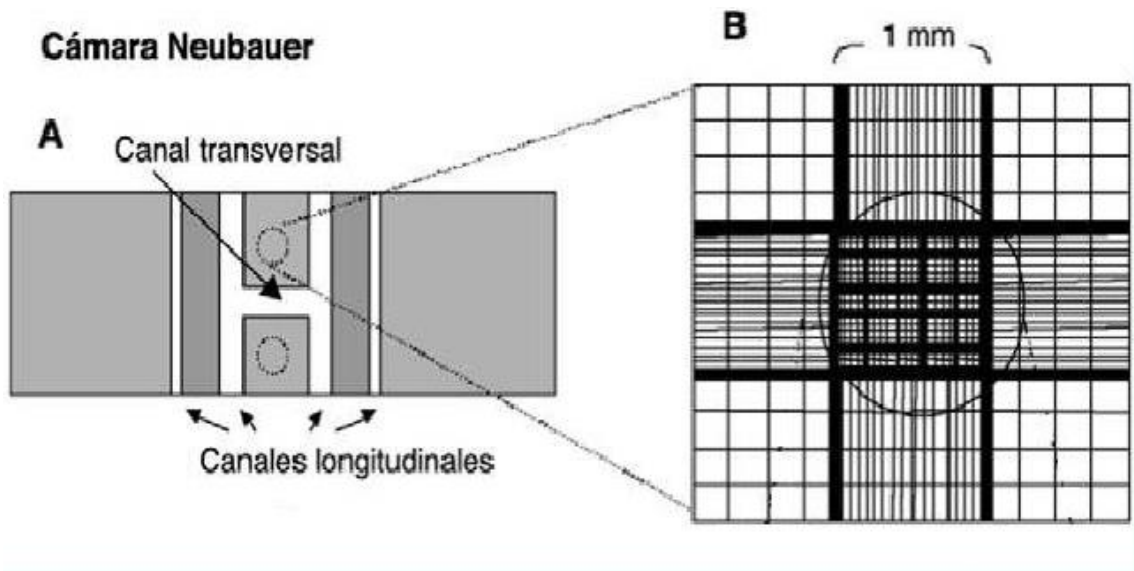


Figura 1. Cámara de Neubauer.

Para el cálculo de células totales por mililitro de suspensión se empleó la siguiente fórmula: $N \times 2 \times 10000$, donde N representa en total de células contadas en los 4 cuadrantes de la cámara de Neubauer.

Se obtuvo 6.720.000 células en 3 ml de suspensión, realizando la proporción necesaria para el ensayo MTT se necesitó 4.5 ul de suspensión que corresponden a 10.000 células necesarias por cada pozo.

Posteriormente se sembró 4.5 ul de suspensión en cada pozo + 150 ul de medio de cultivo (fig 2). y se incubó durante 24 horas a 37 grados centígrados al 5% de CO₂ en una atmósfera húmeda, se colocó el tratamiento en diluciones de 10⁻¹ a 10⁻¹¹ y se dejó incubar 24 horas más, luego se lavó con 100 ul de PBS los pocillos por 2 ocasiones y posterior a

esto se colocó 10 ul de usando Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) lo cual se dejó incubar durante 4 horas, luego se añadió 100 ul SDS al 10% + HCl 0,01 M lo cual se dejó nuevamente incubar por 4 horas más y se leyó por espectrofotometría en un Victor X, con lo cual obtuvimos la dosis óptima y el IC-50 (concentración inhibitoria media máxima) para cada una de las muestras empleadas en los ensayos de MTT, mediante la utilización del programa GraphPad Prism V7.0.

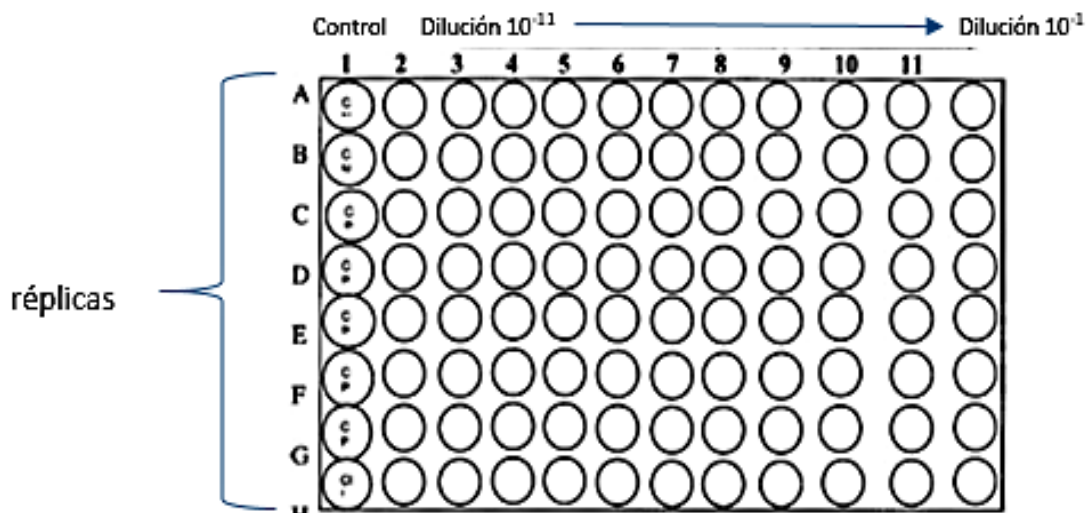


Figura 2. Diseño experimental MTT placa de 96 pozos.

2.4.6 Inmunocitoquímica

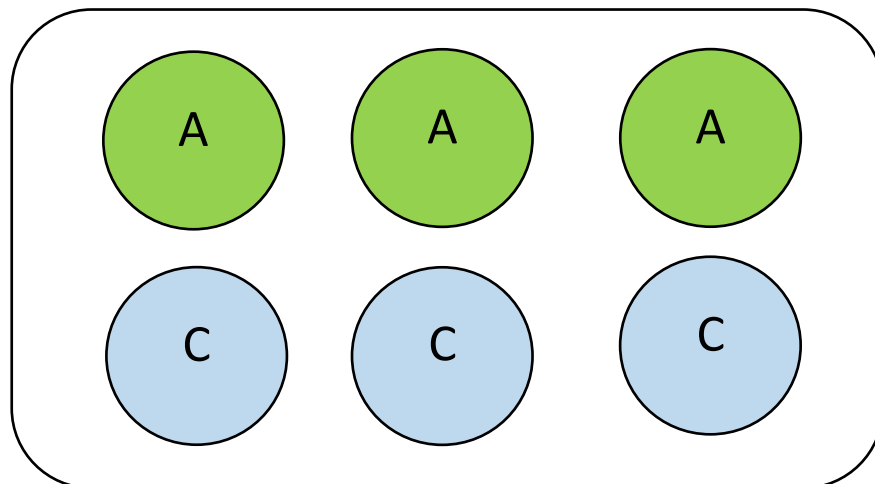
Se realizó nuevamente el procedimiento de conteo celular pero esta vez se calculó la cantidad de suspensión necesaria correspondiente a una densidad de 250.000 células, se obtuvo un total de 1960.000 células en 5 mililitros de suspensión, por lo que se requirió 0,63 ul por cada pozo.

Se emplearon tinciones Inmunocitoquímicas, en donde se sembraron placas de 6 pozos con células Hela cultivadas sobre un cubreobjetos fig. 3, se incubó hasta lograr una confluencia de 70-80% a 37 grados centígrados con 5% de CO₂, se procedió a lavar con PBS 1x a temperatura ambiente, luego se le añadió tratamiento a base de *Amaranthus hypochondriacus* de acuerdo al valor del IC50 encontrado, las cuales se fijaron con paraformaldehido (PFA) al 4% durante 20 minutos a temperatura ambiente, se lavó por 2

ocasiones con PBS 1x y se le colocó un tampón de permeabilización (1X PBS 20mM Glicina 0,5% Tritón 100X) por 10 minutos y se bloqueó con 1,5 ml de BSA al 2% durante 1 hora, se agregó anticuerpos monoclonales primarios (Bax, Bcl2, P53 y Caspasa 8) dilución 1/500 con los que se enlazaron a los antígenos de las células, se lavó por 3 ocasiones con PBS 1X durante 5 minutos y se realizó una contratinción con anticuerpos monoclonales secundarios conjugados con Isotiocianato de fluoresceína (FITC) y ficoeritrina (PE), posterior se repitió el procedimiento de lavado durante 5 minutos por 3 ocasiones con PBS 1X que permitió evidenciar la expresión de las proteínas, se secaron y se efectuó un montaje de láminas con Aqueous Mountaing UltraCruz®, se sellaron los bordes con esmalte de uñas y se dejó por 20 minutos a 4 grados centígrados, finalmente se observó en el microscopio de fluorescencia Leica Dmi8 . Todas las muestras fueron analizadas con el microscopio de inmersión empleando una magnificación de 630X con filtros DAPI (489-513 nm), GFP (475-405 nm) y TXR (640-665 nm) y se conservaron las placas a una temperatura de -4 grados centígrados.

Figura 3. Diseño experimental en placas de 6 pozos.

Todos los pozos contenían 2 ml de medio de cultivo, 0.63 ul de suspensión celular



(250.000 células), y a los pozos asignados con la letra A se les agregó tratamiento con amaranto, y los pozos con la letra C son controles sin tratamiento. El ensayo se realizó por triplicado

2.5 HIPÓTESIS

El *Amaranthus hypochondriacus* posee un efecto pro-apoptótico en las células cancerígenas del cuello uterino.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS

3.1.1 Determinación de Proteínas

Mediante el estudio Bradford se obtuvo una concentración de 0,689 miligramos/mililitro de proteínas. La figura 4 muestra la curva patrón realizada con BSA a partir de la que se obtuvo la concentración de proteínas presentes en el extracto de *Amaranthus hypochondriacus*.

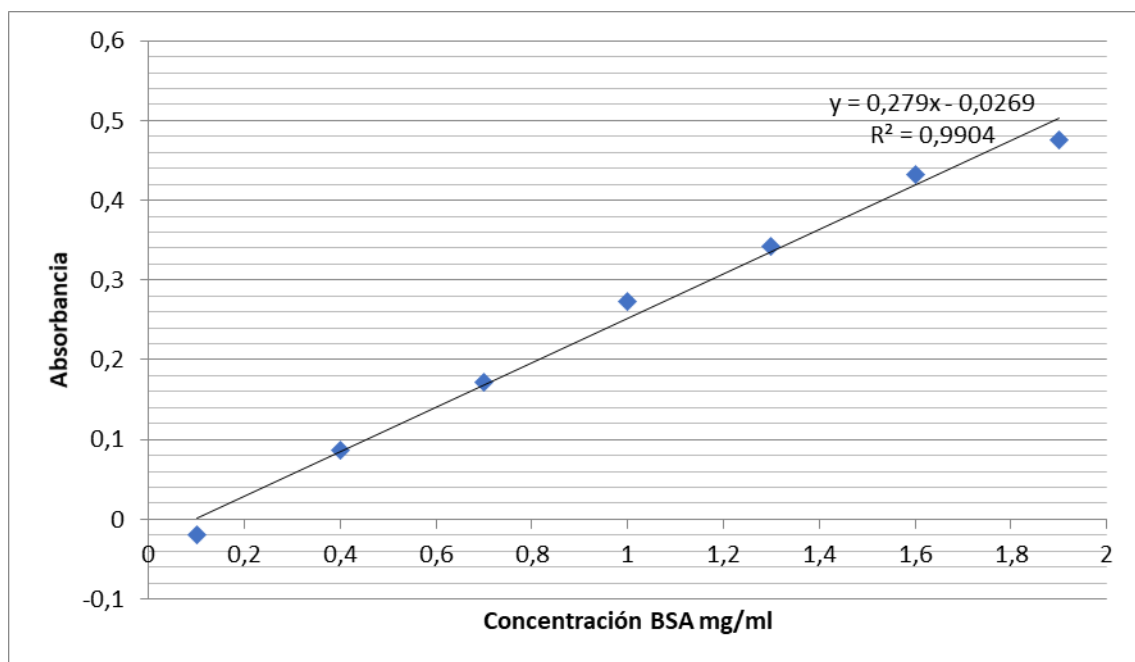


Figura 4 Curva patrón BSA para obtener concentración de proteínas por el Método de Bradford

3.1.2 Ensayo de Citotoxicidad

Para el ensayo de citotoxicidad celular se trabajó con extracto a una concentración de 0.689 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de proteínas, diluido seriadamente en una escala logarítmica de base 10 hasta el orden 10^{-11} . Se obtuvo un IC_{50} de 12.32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, por lo que se tomó como dosis óptima la concentración equivalente a 10^{-3} (0.001)

MTT Amaranto

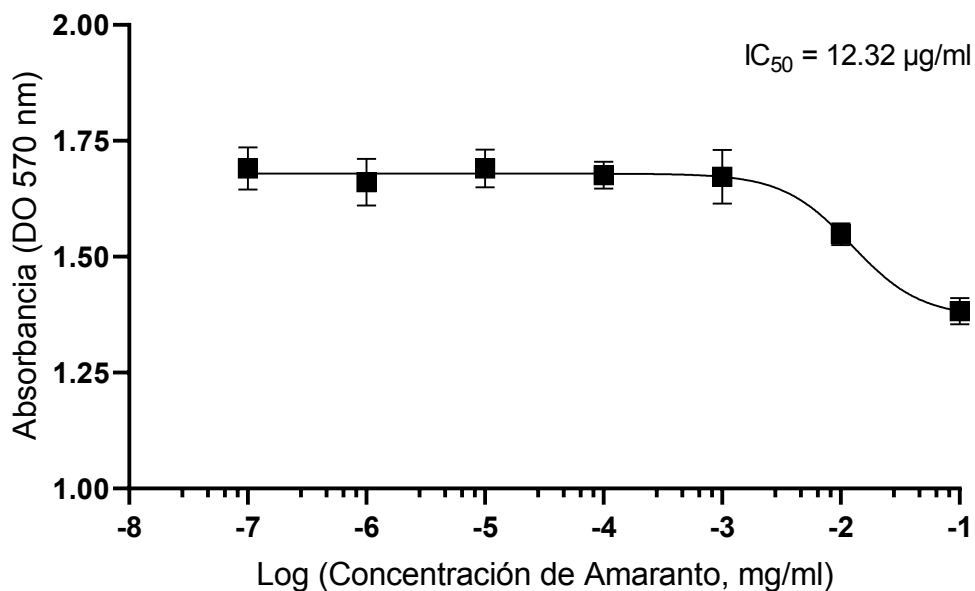


Figura 5 Ensayo de Citotoxicidad

3.1.3 Concentración óptima de tratamiento con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* para Inmunocitoquímica

Para la obtención de la dosis óptima de tratamiento de las células con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* para la Inmunocitoquímica, se aplicó la siguiente fórmula

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 = C2 \times V2 / C1$$

Dónde: V1: Extracto (µl), C1: concentración proteínas, V2: 2ml de medio en cada pozo (placa de 6 pozos), C2: 0.001 obtenido a través del ensayo de citotoxicidad

$$0.001 \times 2\text{ml} / 0.689 = 3\mu\text{l}$$

3.1.4 Inmunocitoquímica tratamiento Vs Controles

3.1.4.1 Expresión de Bax en células Hela tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y controles

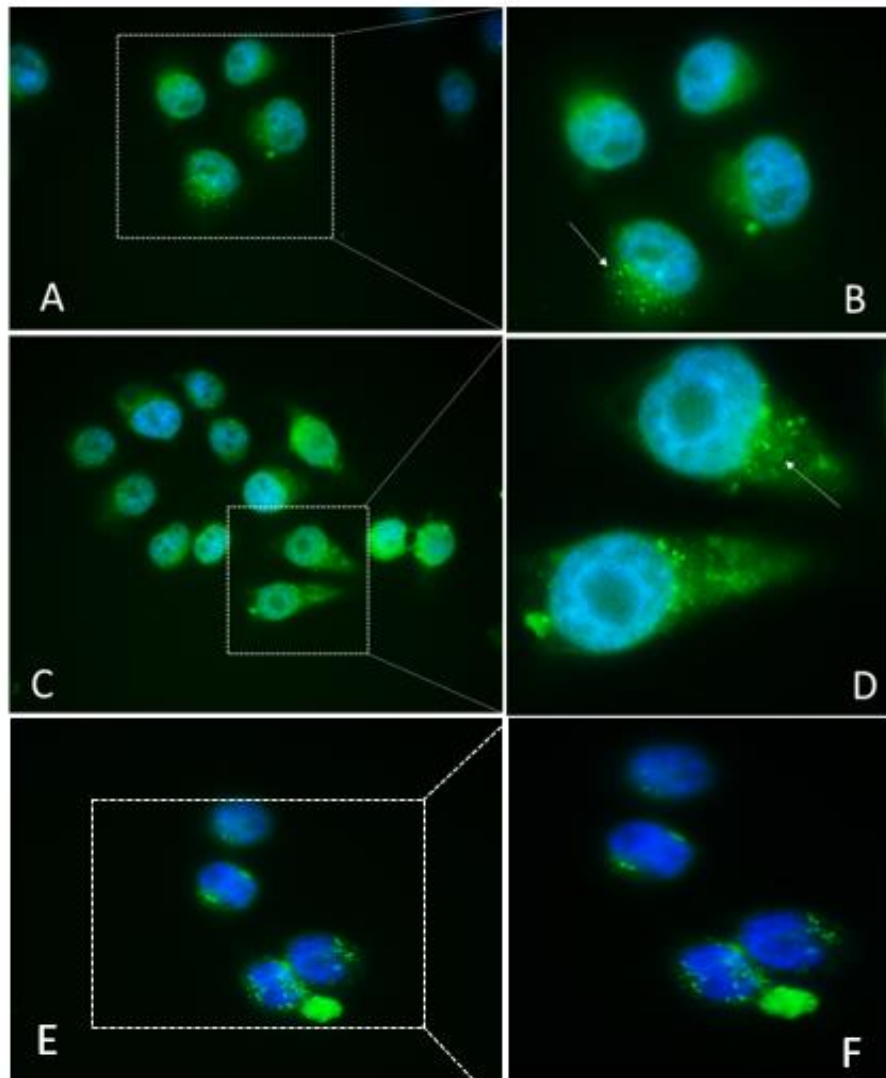


Figura 6 Expresión de Bax, en modelo celular Hela. Las imágenes (A,C,E) muestran la expresión de Bax en células tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus*. (B,D,F) Muestra la magnificación de la imagen y la flecha blanca indica la expresión de la proteína Bax.

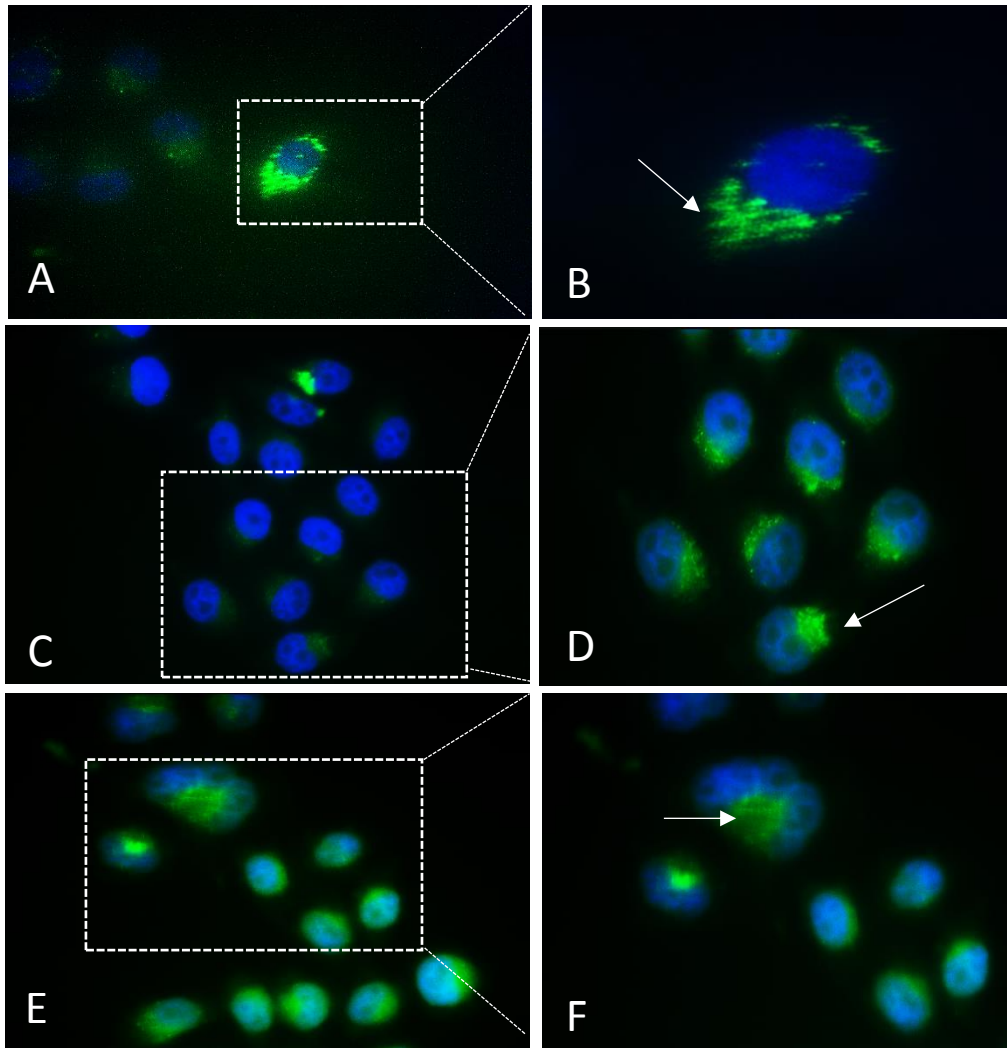


Figura 7 Expresión de Bax, en modelo celular HeLa. Las imágenes (A,C,E) muestran la expresión de Bax en células control no tratadas con el extracto, (B,D,F) Muestra la magnificación de la imagen y la flecha blanca indica la expresión de la proteína Bax.

Observamos la expresión de Bax en las células HeLa cuando se someten a tratamiento a base extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y sin tratamiento (control), en células con tratamiento aproximadamente se encuentra expresión de la proteína Bax en 70% figura 6, mientras que en las células no tratadas se encuentra una expresión de la proteína Bax en aproximadamente 50%.

3.1.4.2 Expresión de Bcl2 en células Hela tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y controles.

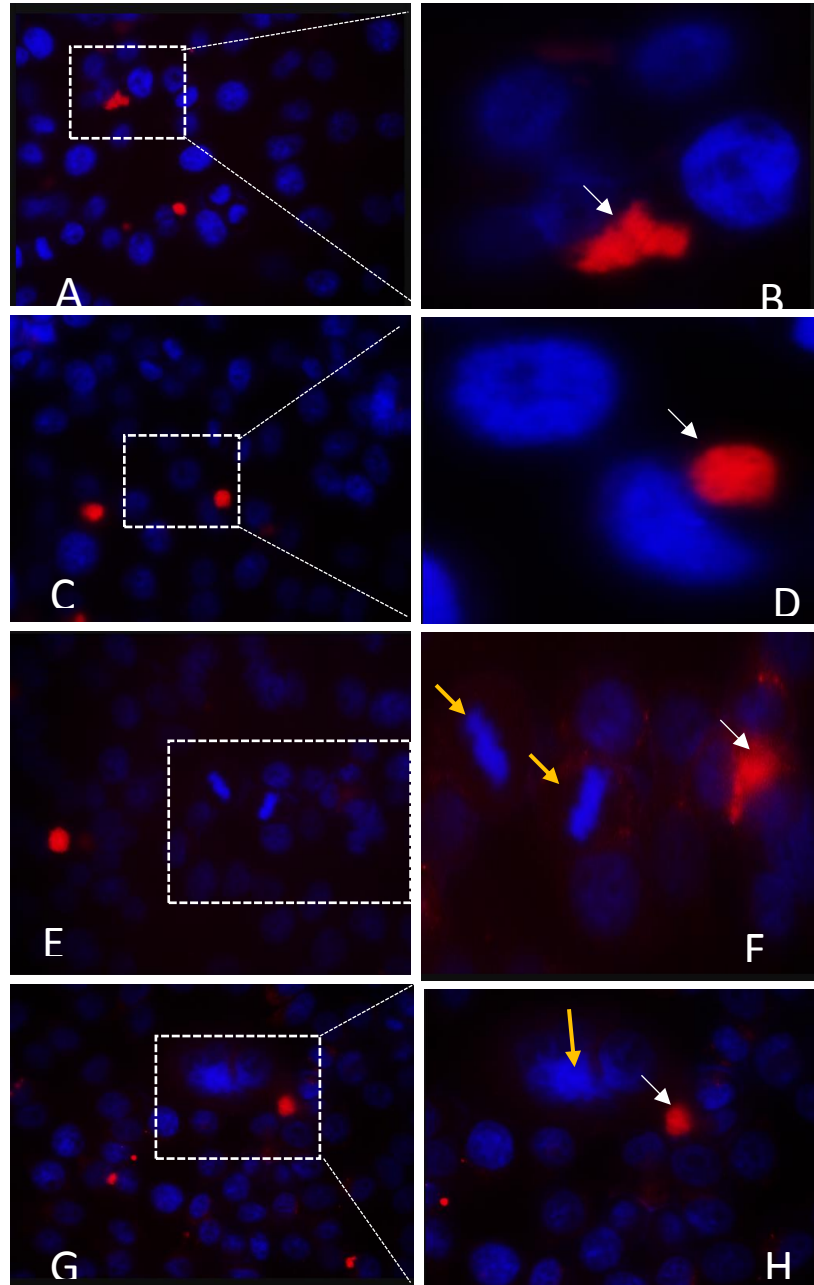


Figura 8 Expresión de Bcl2, en modelo celular Hela. Las imágenes (A,C,E,G) muestran la expresión de Bcl2 en células tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus*. (B,D,F,H) Muestra la magnificación de la imagen, la flecha blanca indica la expresión de la proteína Bcl2. La flecha amarilla indica la presencia de células apoptóticas.

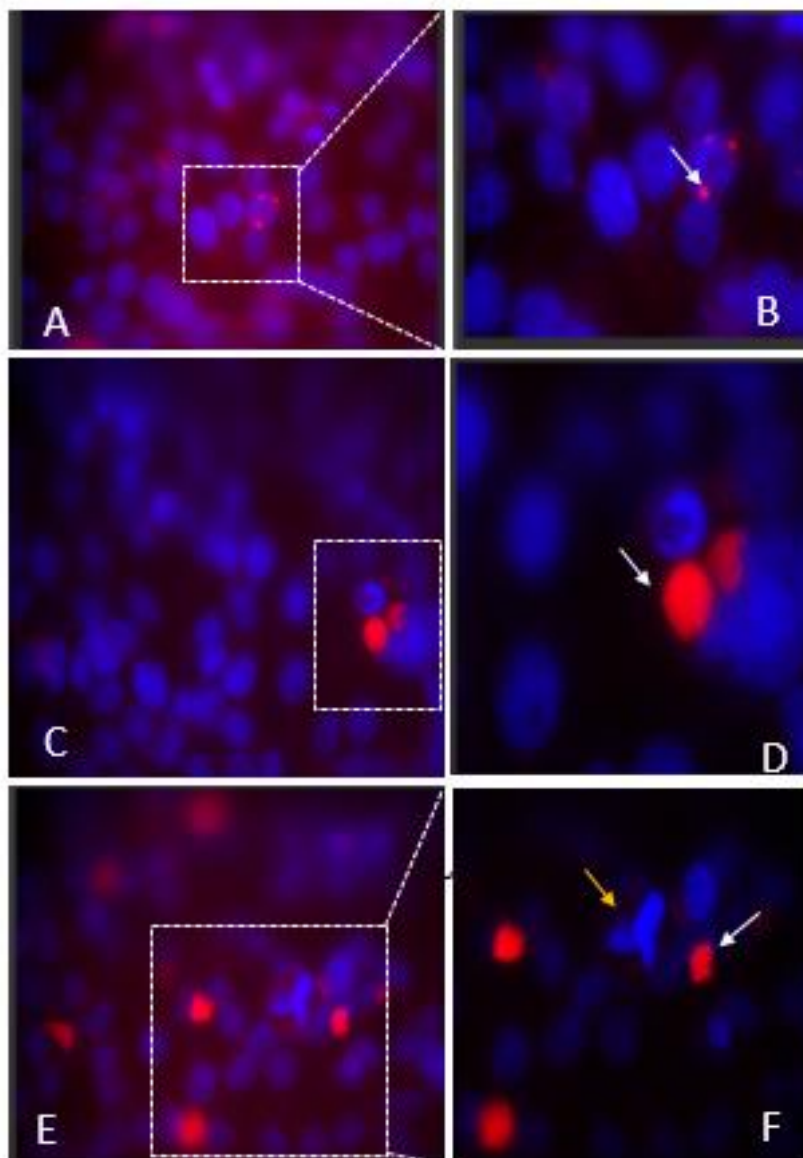


Figura 9 Expresión de Bcl2, en modelo celular HeLa. Las imágenes (A,C,E) muestran la expresión de Bcl2 en células control no tratadas con el extracto, (B,D,F) Muestra la magnificación de la imagen y la flecha blanca indica la expresión de la proteína Bcl2. La flecha amarilla indica una célula apoptótica.

En cuanto a la proteína Bcl2 se observa que en las células HeLa sometidas a tratamiento con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* se expresa aproximadamente en 50% figura 8, mientras que en la figura 9 observamos que en las células sin tratamiento la expresión es similar aproximadamente 50%, sin embargo, se observaron un mayor número de

células con características propias de la apoptosis en aquellas que fueron sometidas al tratamiento.

3.1.4.3 Expresión de p53 en células Hela tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y controles.

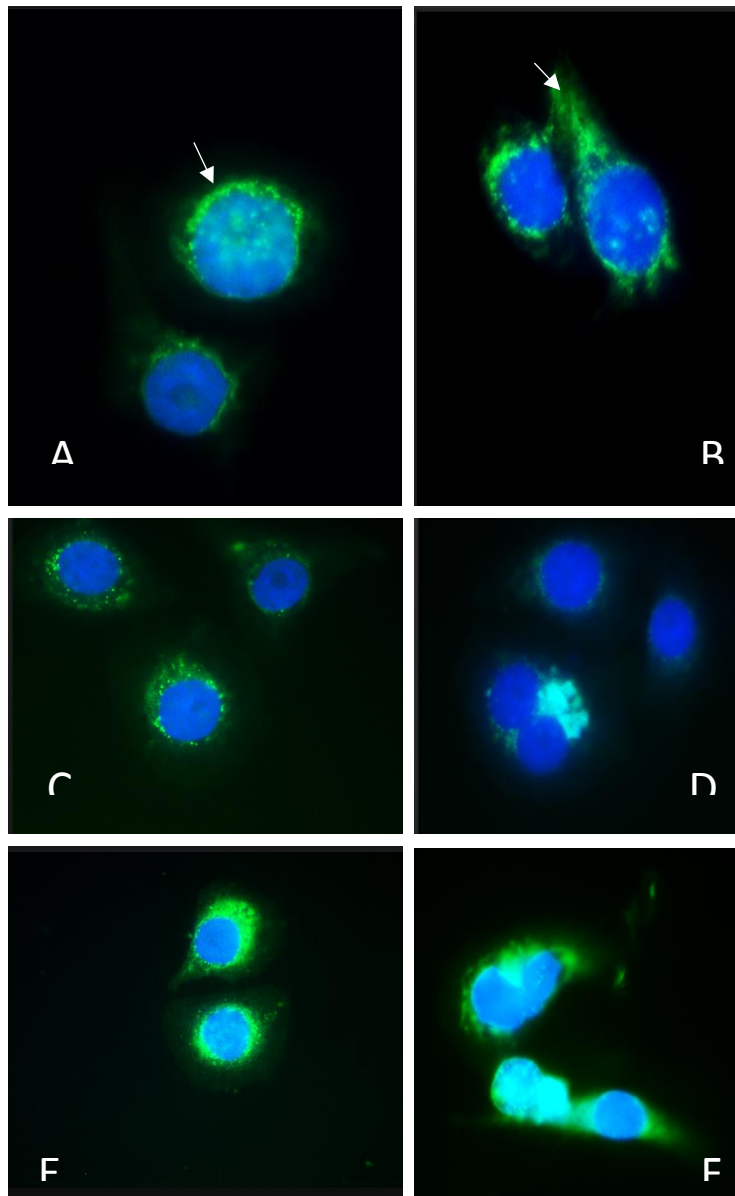


Figura 10 Expresión de p53, en modelo celular Hela. Las imágenes (A,C,E) muestran la expresión de p53 en células control no tratadas con el extracto, (B,D,F) Muestra la expresión de p53 en células tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus*, la flecha blanca indica la expresión de la proteína

Se observó que en las células HeLa a las que se administró tratamiento con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* la expresión de p53 es superior a la expresión obtenida en células HeLa en donde no se aplicó tratamiento, aproximadamente 60% de expresión de p53 se encontró en células HeLa con tratamiento y 50% de expresión de p53 en células HeLa sin tratamiento figura 10.

3.1.4.4 Expresión de Caspasa 8 en células Hela tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y controles

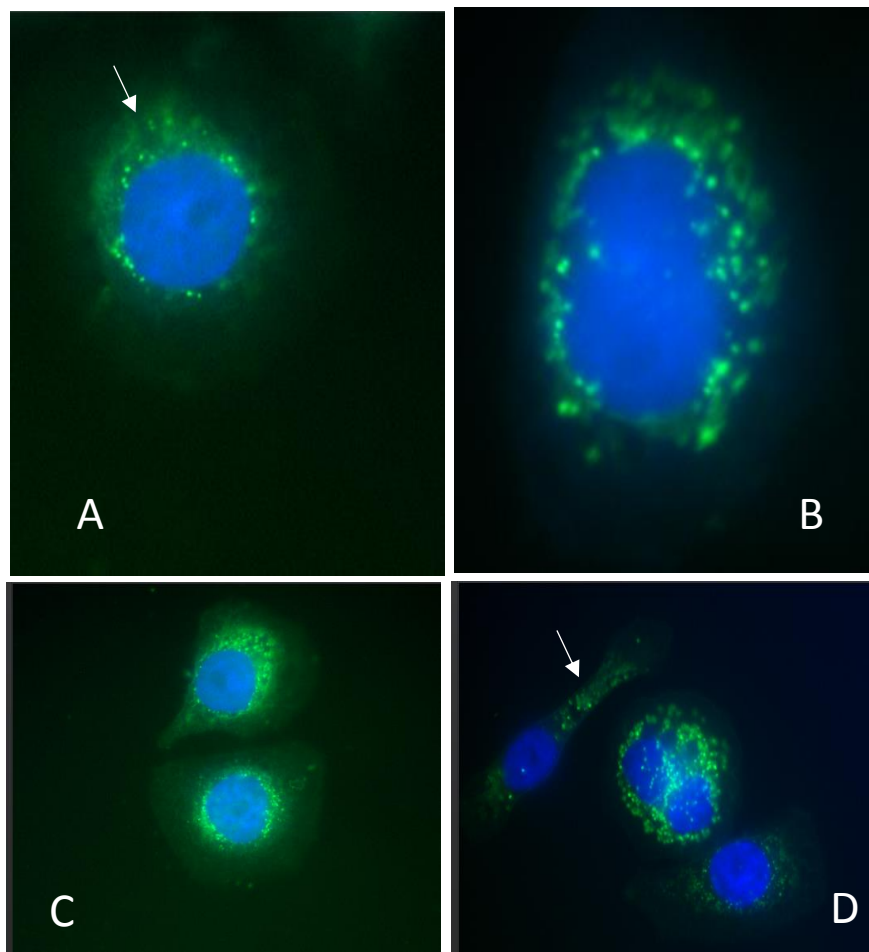


Figura 11 Expresión de Caspasa 8, en modelo celular Hela. Las imágenes (A,C) muestran la expresión de Caspasa 8 en células control no tratadas con el extracto, (B,D) Muestra la expresión de Caspasa 8 en células tratadas con extracto de *Amaranthus hypochondriacus*, la flecha blanca indica la expresión de la proteína

Observamos la expresión de Caspasa 8 en células HeLa cuando son sometidas a tratamiento a base de extracto de *Amaranthus hypochondriacus* y sin tratamiento (control), como resultado se obtuvo que las células que se sometieron a tratamiento tienen una mayor expresión de Caspasa 8 aproximadamente 80%, mientras que las células control tienen aproximadamente una expresión de Caspasa 8 de 60%.

3.2 DISCUSIÓN

A lo largo del presente estudio analizamos las ventajas que tiene investigar ciertos extractos de plantas para el uso alternativo en el tratamiento contra el cáncer, teniendo en cuenta que la mayor parte de los fármacos usados contra estas patologías son elaborados a base de plantas, además se tomó en cuenta la agresividad de la quimioterapia y el listado extenso de reacciones adversas que pueden ocasionar los tratamientos con estos fármacos, es por esto que cada vez llama más la atención en el campo científico los productos naturales para combatir enfermedades. (7,35-39)

En el año 2016 se publicó una investigación propuso que el amaranto posee varias propiedades beneficiosas para la salud, sin embargo, una de esas propiedades es de interés para el presente estudio, el efecto pro-apoptótico sobre células cancerígenas, con lo cual pudimos guiarnos para realizar el presente estudio. (12)

En la presente investigación se observó de manera cualitativa la forma en que interviene el tratamiento a base de extracto de *Amaranthus hypochondriacus* en células HeLa (células de cáncer de cuello uterino), mediante el análisis de la expresión de diferentes proteínas Bax, Bcl2, P53, Caspasa 8, que se encuentran en la cascada apoptótica a través de ensayo inmunocitoquímico en cultivo celular con el empleo de anticuerpos monoclonales específicos.

En la mayoría de las proteínas estudiadas se aprecia un incremento en la expresión de las mismas, cuando se somete a las células HeLa al tratamiento a base de *Amaranthus hypochondriacus*, especialmente en la expresión de las proteínas Bax, P53 Y Caspasa 8.

Respecto a la proteína P53 no se aprecia diferencia significativa en la expresión de la proteína cuando las células HeLa son sometidas a tratamiento a base de extracto de *Amaranthus hypochondriacus*, lo que no descarta que el tratamiento a base de amaranto tenga efecto sobre las células cancerígenas del cuello uterino, debido a que el presente estudio es cualitativo, de ahí la importancia de realizar un estudio cuantitativo que nos permitirá comprobar o descartar el efecto del amaranto sobre las células cancerígenas del cuello uterino.

Según lo observado a lo largo del presente estudio el *Amaranthus hypochondriacus* puede tener un efecto pro-apoptótico sobre las células cancerígenas del cuello uterino, esto debido a que las proteínas previamente mencionadas pertenecen a la cascada apoptótica, es decir su presencia está ligada a la muerte celular programada, y como pudimos observar cuando las células HeLa son sometidas a la dosis óptima del tratamiento existe un incremento en la expresión de Bax, P53 y Caspasa 8.

La investigación realizada comprueba estudios previamente elaborados en donde se demostró que el *Amaranthus hypochondriacus* tiene propiedades pro-apoptóticas, mediante una investigación en células HT-29 correspondientes al cáncer de colon donde se aplicó tratamiento a base de *Amaranthus hypochondriacus* y se observó la expresión de las Caspasa 3, además se realizó una citometría de flujo en donde se observó un incremento de células apoptóticas tempranas en aquellas que se aplicó tratamiento en comparación de aquellas células donde no se aplicó tratamiento, en ambos estudios existe incremento en la expresión de proteínas que pertenecen a la cascada apoptótica. (40)

Los resultados obtenidos muestran la relevancia de la investigación, sentarán las bases de estudios cuantitativos a futuro que permitirán verificar los resultados obtenidos a nivel numérico y probar otros posibles efectos terapéuticos del extracto de *Amaranthus hypochondriacus*, además de la inclusión de los estudiantes de medicina en el proceso de investigación, lo que fortalece su perfil académico.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Este estudio infiere un potencial efecto pro-apoptótico del extracto de *Amaranthus hypochondriacus*.
- Las proteínas apoptóticas Bax, P53 y Caspasa 8 presentan una expresión variable, sin modificación aparente de Bcl2 cuando son sometidas a tratamiento a base de *Amaranthus hypochondriacus*.
- Se evidenció la dosis óptima de *Amaranthus hypochondriacus* para el tratamiento a fin de garantizar que la muerte celular no sea inducida por toxicidad

4.2 RECOMENDACIONES

- Elaborar análisis cuantitativos acerca de la expresión de las proteínas bajo el efecto de *Amaranthus hypochondriacus* y en los casos de controles, esto nos permitirá afirmar el efecto pro-apoptótico del *Amaranthus hypochondriacus*
- Realizar estudios de apoptosis tardía, con lo que podemos evaluar el efecto directo del *Amaranthus hypochondriacus* sobre las células cancerígenas
- Usar otras proteínas presentes en la cascada apoptótica las cuales pueden tener valor científico como las Caspasa 3/7.
- Realizar más estudios que continúen la misma línea de investigación.
- Investigar otras plantas o productos naturales los cuales puedan ser de utilidad científica para buscar alternativas para el tratamiento contra el cáncer.
- Estudiar los efectos del *Amaranthus hypochondriacus* en células cancerígenas pertenecientes a otras líneas celulares

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

LINKOGRAFÍA

1. Abdulla M, Masuda K, Husna J. Assessment of antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of two vegetable species of *Amaranthus* in Bangladesh. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2016; 16 (12)
2. Algara P. El amaranto y sus efectos terapéuticos. *Tlatemoani Revista Académica de Investigación*. España. 2016 (21). (11)
3. Arévalo, A. El cáncer de cuello uterino. *Rev Med La Paz* 2017; 23(2):45-56. (20)
4. Bou, Y. Gámez, Y. Caras, L. Quiala, E. Sánchez, Y. Factores de riesgo del cáncer cérvico-uterino. Capacitación en adolescentes de un policlínico universitario. *Rev Inf Cient*. 2015; 92(4):787-98. (21)
5. Cabrera, I. Ortiz, Y. Suárez, Y. Socarrás, R. Vázquez, N. Factores de riesgo asociados al cáncer cérvico-uterino en el área de salud de Santa Rita. *Mul Med*. 2016; 20 (22)
6. Calderón, D. Diagnóstico y tratamiento de las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado del cuello uterino. *Cambios Rev. Méd* 2019; 18(1):76-84. (28)
7. Cáncer [Organización Mundial de la Salud]. 2018 [Realizado el 12 septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cancer> (2)
8. Cáncer de cuello uterino. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. 2017 (24)
9. Estadísticas del Cáncer [Instituto Nacional del Cáncer]. Estados Unidos. 2018 [Actualizado el 8 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas> (15)
10. Gordon BN, Potosí CM, Villacorte ML. Conocimientos y prácticas del test de papanicolaou para la detección precoz del cáncer cérvico uterino. Carchi: Universidad Politécnica Estatal del Carchi. 2017. (29)
11. Graña A. Breve evolución histórica del cáncer. *Carcinos*. 2015; 5(1): 26-31 (14)
12. Guía Clínica Cáncer Cérvico Uterino. Ministerio de Salud de Chile. 2015. (18)

13. Guía Programática Abreviada para el tamizaje de Cáncer Cervicouterino. Ministerio de Salud Argentina. 2014 (30)
14. Jimenez Z, López T. Desarrollo de una formulación en polvo a base de amaranto y canela sabor a chocolate. Universidad Autónoma de Buenos Aires. 2019. (8)
15. Jimenez Z, López T. Desarrollo de una formulación en polvo a base de amaranto y canela sabor a chocolate. Universidad Autónoma de Buenos Aires. 2019. (32)
16. Mandal, A. Clasificación del cáncer. AprilCashin-Garbutt. 2019. Disponible en: [https://www.news-medical.net/health/Cancer-Classification-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Cancer-Classification-(Spanish).aspx) (16)
17. Mengoni A, Quiroga A, Añón M. Purificación y caracterización de una lectina de *Amaranthus hypochondriacus*, un compuesto antiproliferativo. Revista del Laboratorio Tecnológico de Uruguay. 2016: 11(27-35) (13)
18. Montero, Y. Principales factores de riesgo en la aparición del cáncer cervicouterino. MEDISAN 2018; 22(5):531 (25)
19. Nuñez J. Cigarrillo y cáncer de cuello uterino. Rev Chil Obstet Ginecol 2017; 82(2):232-240. (23)
20. Nuñez M, Gutierrez D, Rivero M, López R, González A. Factores de riesgo de lesiones precursoras del cuello de útero. Revista Cubana de Enfermería. 2018: 24(3). (5)
21. Ochoa F. Virus del papiloma humano. Desde su descubrimiento hasta el desarrollo de una vacuna. Parte I/III. México. Gaceta médica de oncología. 2014: 13(5): 308-315. (19)
22. Puente, J. Velasco, G. ¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla?. Sociedad Española de Oncología Médica. 2019. Disponible en: <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla> (1)
23. Quimioterapia para cáncer de cuello uterino [Sociedad Americana del Cáncer]. 2016 [Actualizado 16 noviembre 2016]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-cuello-uterino/tratamiento/quimioterapia.html> (6)
24. Raffina E. Estudio no experimental. 2020. [Actualizado el 12 febrero 2020]. Disponible en: <https://concepto.de/investigacion-no-experimental/> (34)

25. Rajasekaran S, Dinesh M, Kansrajh C, Ahmed F. Amaranthus spinosus leaf extracts and its anti-inflammatory effects on cancer. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*. 2014; 2(1) 1058-1064 (10)
26. Revé, I. Velázquez, D. Rojas, K. Pineda, R. Ramírez, N. Estrategia de intervención en féminas para la prevención de cáncer cervicouterino. *Rev Inf Cient*. 2015; 90(2): 229-38. (26)
27. Sabbione A, Oniango F, Scilingo A, Zhang M, Añon M, Mu T. Antiproliferative Effect of Amaranth Proteins and Peptides on HT-29 Human Colon Tumor Cell Line. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2019. (9)
28. Sabbione A. Efecto antiproliferativo de proteínas y péptidos de amaranto en la línea celular de tumor de colon humano HT-29. *Plant Foods Hum Nutr*. 2019; 74: 107–114. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0708-8> (40)
29. Salvant A, Romero K. Correlación cito-colpo-histológica en lesiones premalignas del cuello uterino en el Hospital Básico Píllaro en Ecuador. *Revista Cubana de Ginecología y Obstetricia*. 2017;43 (31)
30. Sarker U, Oba S. Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of Amaranthus leafy vegetable. *BMC Plant Biology*. 2018: 18 (33)
31. Saz P, Tejero MC. Fitoterapia en la prevención y tratamiento del cáncer. *Medicina Naturista*. 2016: 10(2): 88-99 (7)
32. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016; 66:7–30. (3)
33. Solano, A. Actualización de prevención y detección de cáncer de cérvix. *Revista Médica Sinergia* 2020; 5(3): 395 (4)
34. Tipos de Tratamiento [Instituto Nacional del Cáncer]. Estados Unidos. 2018 [Actualizado el 8 marzo 2018]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos> (17)
35. Yazigi R, Selman A, Puga O, Contreras L. Utilidad de la detección de virus papiloma de alto riesgo en pacientes con citología atípica y de neoplasia intraepitelial de bajo grado de cuello uterino. *Rev chil obstet ginecol*. 2016; 81(1): 28 – 31 (27)

CITAS BIBLIOGRÁFICAS – BASE DE DATOS UTA

36. **DIGITALIA:** Aguilera M. Los alimentos en México y su relación con la salud. Plaza y Valdez. 2014 (35)
37. **DIGITALIA:** Rugeles L, Ortiz J, Guaitero B, Huertas A. La cadena de valor de los ingredientes naturales del Biocomercio para las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética. Editorial Jorge Tadeo Lozano. 2011. (36)
38. **SPRINGER:** Tabatabaei O, Atlasi R, Larijani B, Abdollahi M. Tendencias en la publicación de medicamentos herbales antioxidantes basados en evidencia en el manejo de la nefropatía diabética. Revista de diabetes y trastornos metabólicos. 2015; 1 (39)
39. **SPRINGER:** Turreira N, Theilade I, Meilby H. Conocimiento, distribución y transmisión de plantas comestibles silvestres: un estudio de caso de los mayas Achí de Guatemala. Revista de Etnobiología y Etnomedicina. 2015; 52 (38)
40. **SPRINGER:** Zhang-Jin Z. Resúmenes del 2º Simposio Internacional sobre Fitoquímicos en Medicina y Alimentación (2-ISPMF). Journal of Chinese Medicine 2018; 13(1): 1 (37)