



**Facultad de Ciencias
Programa de Maestría en Bioquímica**

**FACTORES ASOCIADOS A LA RADIO Y
QUIMIORRESISTENCIA EN CÁNCER DE CUELLO UTERINO**

**Monografía final presentada como requisito parcial para optar al título de
Magíster en Bioquímica**

por:

NELSY ALEXANDRA RAMÍREZ BELTRÁN

**Directora de Tesis: Dra. Ruth Garzón Fernández
Profesora Universidad Nacional de Colombia
Directora de Tesis: Dra. Vaneza Lorett
Profesora Universidad Antonio Nariño**

**Bogotá – Colombia
Mayo 2021**

DEDICATORIA

A mis abuelitos, quienes mientras caminaron junto a mí fueron guía y soporte de mi vida.

A mi madre, por ser mi más grande motivo de lucha.

A mis hermanos por su apoyo durante todo este proceso.

A Dios, por ser mi luz y guía siempre, por permitirme estar acá y cumplir mis sueños.

AGRADECIMIENTOS

- A la **Universidad Antonio Nariño** por permitir mi formación como Magister en Bioquímica y generar los espacios académicos de alta exigencia que siempre tomaron lo mejor de mí.
- A la **Dra. Ruth Garzón** quien con su conocimiento y experiencia siempre guio y apoyó mi proceso académico y desarrollo de este trabajo. Por su soporte constante, sabiduría y palabras de alivio en momentos de desesperación. Por la confianza depositada en mi proceso y permitirme tomar parte de su conocimiento para mi crecimiento académico y personal.
- A la **Dra. Vaneza Lorett** quien siempre tuvo la mejor disposición para apoyar mis procesos académicos y el desarrollo de este trabajo. Por sus sonrisas y excelentes consejos.
- A mi **Mamá** por ser siempre mi apoyo e inspiración para conseguir todo lo que me propongo, para trabajar duro por alcanzar el título como Magister en Bioquímica.
- A mi **Familia** por su apoyo y comprensión durante todo este proceso, por sus palabras de ánimo en cada momento.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN EJECUTIVO	1
PALABRAS CLAVE.....	1
ABSTRACT	2
KEY WORDS.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
ANTECEDENTES	6
OBJETIVOS.....	11
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
MARCO TEÓRICO.....	12
1. CÁNCER	12
1.1. <i>Lesiones preneoplásicas en cáncer de cuello uterino</i>	13
1.1.1. Virus del papiloma humano (VPH)	15
1.2. <i>Cáncer de cuello uterino</i>	17
1.2.1. Etapas del cáncer de cuello uterino	17
1.2.2. Tratamiento.....	19
1.2.3. Resistencia al tratamiento.....	24
DISEÑO METODOLÓGICO.....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
1. ASOCIACIÓN DE LOS MICROARN CON EL AUMENTO O DISMINUCIÓN DE LA RESISTENCIA FRENTE A LOS TRATAMIENTOS DE QUIMIO Y RADIOTERAPIA.	28

1.1.	<i>La transición epitelial-mesenquimal como objetivo de la sobre e infra regulación de los microARNs</i>	30
1.2.	<i>Modulación de genes mediada por la sobre o infra regulación de los microARNs</i>	32
1.2.1.	<i>Gen Sem4C</i>	33
1.2.2.	<i>Gen PTEN</i>	35
1.3.	<i>Modulación de la expresión proteica por la sobre o infra regulación de los miARNs</i>	36
2.	ASOCIACIÓN DE LOS ARNs DE CADENA LARGA NO CODIFICANTE CON EL AUMENTO O DISMINUCIÓN DE LA RESISTENCIA FRENTE A LOS TRATAMIENTOS DE QUIMIO Y RADIOTERAPIA.	40
2.1.	<i>Radio resistencia asociada a la sobre o infra regulación de ARNs de cadena larga no codificante</i>	41
2.2.	<i>Quimio resistencia asociada a la sobre o infra regulación de ARNs de cadena larga no codificante</i>	45
3.	VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS CON LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA A LAS TERAPIAS	49
3.1.	<i>Respuesta a las terapias contra cáncer de cuello uterino asociada con la desregulación de los componentes de la vía de las quinasas regulada por señales extracelulares (ERK)</i>	49
3.2.	<i>Desregulación de los componentes de la vía del fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) asociada con la resistencia a quimio y radioterapia en cáncer de cuello uterino</i>	55
3.3.	<i>Desregulación de los componentes de la vía de la Wnt/β-catenina asociada con la resistencia a quimioterapia en cáncer de cuello uterino</i>	58
4.	ASOCIACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) CON LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA A QUIMIO Y RADIOTERAPIA.	63
	CONCLUSIONES	67
	PERSPECTIVAS	69
	LITERATURA CITADA	71
	ANEXOS	87

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Correlación entre la expresión de Sem4C, la expresión del miARN-31-3p y las características clínico patológicas en pacientes con cáncer de cuello uterino.....	34
Tabla 2 Complejos CDK-ciclina y su actividad en puntos específicos del ciclo celular. CAK quinasa activadora de CDK.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Historia natural de la infección por VPH y desarrollo del cáncer cervical.....	13
Figura 2 Estructura de la cepa 16 de VPH (VPH16).....	16
Figura 3 Estadios del cáncer cervicouterino.....	18
Figura 4 Vía de señalización RAS/RAF/MEK/ERK.....	50
Figura 5 Vía apoptótica mitocondrial.....	52
Figura 6 Vía de señalización fosfatidil inositol 3 quinasa.....	55
Figura 7 Vía de señalización Wnt.....	60
Figura 8 Oncogénesis por VPH.....	64

RESUMEN EJECUTIVO

El cáncer de cuello uterino continúa siendo uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial. No obstante de encontrarse en cuarta línea de incidencia, con respecto al cáncer de seno, tiroides y colorrectal, es considerado como la mayor causa de muerte por cáncer. En Colombia el alto número de casos lo sitúa como una causa importante de muerte en mujeres a pesar de las estrategias utilizadas para su prevención y tratamiento.

Por esta razón es fundamental reconocer los estadios de la enfermedad, sus causas y tratamientos, para poder así identificar los posibles factores que generan resistencia a los tratamientos y que justifican que la cifra de muertes por este cáncer continúe aumentando.

De esta manera, se sintetizó la información proveniente de investigaciones con enfoque cuantitativo, de las cuáles se extrajeron los datos estadísticos y experimentales que permitieron identificar los factores que generan radio y quimio resistencia en pacientes con cáncer de cuello uterino, destacándose los microARN y su relación con la transición epitelial-mesenquimal, y la modulación negativa de la expresión de genes y proteínas que regulan directamente la resistencia, los ARN de cadena larga no codificante, la desregulación de algunos componentes de vías de señalización como la ERK, PI3K y Wnt/ β -catenina y por último, pero no menos importante, la infección por una cepa de alto riesgo de VPH.

PALABRAS CLAVE

Cáncer de cuello uterino, resistencia, quimioterapia, radioterapia, CISPLATINO, micoARNs, ARNcn, VPH, vías de señalización.

ABSTRACT

Cervical cancer continuous being one of the biggest health issues worldwide. Despite being in the fourth line of incidence, respect to breast, thyroid and colorrectal cancer, it is considered the leading cause of death from cancer. In Colombia the high number of cases placed it as an important cause of women death despite the strategies of prevention and treatment. For this reason, it is essential to recognize the stages of this disease, its causes and treatments, in order to identify the possible factors which generate resistance to treatments, and what justify the number of deaths from this cancer which continue increasing. In this way, information from research with quantitative focus was synthesized, from which the statistical and experimental data were extracted allowing us to identify the factors that generate radio and chemoresistance in patients with cervical cancer, highlighting the miARNs and their relationship with the epithelial-mesenchymal transition, and the negative modulation of the expression of genes and proteins which directly regulates the resistance, the non-coding long chain ARNs, the deregulation of some components of signaling pathways as ERK, PI3K and Wnt/ β -catenin, and last but not least the infection of a high risk strain of HPV.

KEY WORDS

Cervical cancer, resistance, chemotherapy, radiotherapy, miARNs, lcnARNs, HPV, signaling pathway.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con los datos reportados por el Ministerio de Salud y protección social de Colombia, a diario 12 mujeres son diagnosticadas con cáncer de cuello uterino y 5 de ellas mueren por la misma razón, convirtiéndose así en la primera causa de muerte por cáncer en mujeres con edades entre los 39 y 50 años. A diferencia de otros tipos de cáncer, el cervical presenta como antecesor el virus del papiloma humano (VPH), el cual se encuentra categorizado en más de 200 cepas, de ellas la 16 y 18 son las responsables del 70% de los casos confirmados con cáncer invasivo.

Se han evidenciado diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad, tales como el estado pre – canceroso en el que se puede hacer la detección y tratamiento temprano, con lo que se evita el avance de la enfermedad y por lo tanto disminuir la mortalidad y el estado canceroso, en el cual los tratamientos tienen como objetivo curar el cáncer o en momentos más avanzados, optimizar la calidad de vida de la paciente. Sin embargo, genera mucho interés revisar el por qué, a pesar de tener tantas probabilidades de tratamiento en sus diferentes etapas, sigue siendo el cáncer asociado a la mayor cantidad de muertes en mujeres colombianas y a nivel mundial.

Por lo anterior, se desarrolló una revisión bibliográfica, con el fin de identificar en diversas publicaciones, cuáles son los factores que pueden estar involucrados en la generación de resistencia a los tratamientos con quimioterapia en carcinoma cervical, que no permiten una acción efectiva sobre la enfermedad y, por lo tanto, que ocasionan la alta tasa de mortalidad registrada.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

De acuerdo con el observatorio global del cáncer (Globocan), el cáncer de cuello uterino es el cuarto en incidencia a nivel mundial; sin embargo, se ha reportado que de los cerca de 6 millones de casos detectados de cáncer de cuello uterino en el 2018, 311.000 fueron fatales (Arbyn et al., 2019). En 2018 se registró una incidencia de 18.4 casos nuevos por cada 100000 mujeres, sin embargo, se considera más mortal que el cáncer de mama puesto que este presenta el 9,41% de muertes en mujeres que lo padecen, mientras que el cáncer de cuello uterino registra el 16,8% de muertes (Jiménez, M 2018) Jiménez, P., 2018). Como precursores del cáncer, se reconocen varios factores, el más prevalente es la infección por una cepa cancerosa del VPH como la cepa 16, la cual es responsable del 50% de los casos de muerte. El VPH actualmente es la infección de transmisión sexual más común (Muñoz, N. et al., 2012), pues, en principio su contagio se da por medio de contacto piel a piel, aunque también se ve influenciado por la actividad sexual (Broutet, N. et al., 2014) . Otros cofactores como el consumo de tabaco, infecciones previas como herpes genital y clamidia y uso prolongado de anticonceptivos orales acompañan al VPH, incrementando el riesgo de progresión hacia cáncer de cuello uterino (Harry, J. et al., 2007).

Dentro de las diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad, se ha evidenciado que el período precanceroso (asintomático), puede ser de varios años lo cual genera el desconocimiento de su portabilidad y por ende el avance hacia el cáncer invasivo. Claramente en esta etapa se podría adelantar la detección y tratamiento temprano, evitando así que llegue a convertirse en cáncer invasivo (Burd, E. 2003); sin embargo, muchos factores incluyendo el desconocimiento y la falta de acceso a un servicio de salud que implique el diagnóstico y tratamiento oportuno, producen la muerte en gran parte de la población de mujeres que padecen este tipo de cáncer.

La quimioterapia, es una estrategia ampliamente utilizada en el tratamiento del cáncer, pero la resistencia a estos tratamientos más conocida como quimiorresistencia, sigue siendo uno de los factores causales de la muerte por esta enfermedad. Infortunadamente, el cáncer de cuello uterino es uno de los menos sensibles a la quimioterapia (Shen, Y. et al., 2013), por consiguiente, a pesar de ser detectado y tratado con cirugías tales como la histerectomía y posterior aplicación de Radio y/o Quimioterapia, se presenta gran resistencia a los tratamientos y como consecuencia un elevado porcentaje de muertes.

Por tal razón, es posible que existan factores biológicos, moleculares y bioquímicos que determinan que la célula cancerosa se defiende del ataque ocasionado por los diferentes estresores terapéuticos y desencadene una respuesta metabólica adaptativa que incluya mecanismos de resistencia a los tratamientos.

De acuerdo con los antecedentes mencionados, se hace importante preguntarse ¿Qué factores están involucrados en la resistencia ante los tratamientos con radio y quimioterapia, realizados en pacientes con cáncer de cuello uterino?

ANTECEDENTES

En el 2004, Saxena A y colaboradores, publicaron un estudio enfocado en identificar la asociación entre la presencia de una cepa oncogénica de VPH en las células cancerosas del cuello del útero y su sensibilidad a los efectos quimioterapéuticos; para ello, utilizaron diferentes líneas de células CaSki (VPH -16 y 18), C33A (VPH negativo), SiHa (VPH – 18) y ME180 (VPH – 39). Las células, fueron expuestas a diferentes concentraciones de 5 - fluorouracil (5 – Fu), PACLITAXELO CISPLATINO (CDDP) y en algunos de los ensayos acompañado de irradiación. Los resultados demostraron que las células que contienen VPH – 16 o 18, fueron las más resistentes al CDDP y 5 – Fu, mientras que las células VPH negativas, fueron las más sensibles. La inactivación dependiente de VPH del regulador apoptótico p53 podría resultar en la supervivencia celular proporcionada por las cepas de alto riesgo del VPH, de hecho, se demostró que la expresión del regulador apoptótico p53 fue menor en las líneas celulares que contenían cepas de VPH consideradas como de alto riesgo (cepa 16 y 18), mientras que en las líneas celulares VPH 39 (+), ME180 y C33A VPH (-) la expresión de p53 fue mayor. Por otra parte, al combinar los tratamientos CDDP y 5 – Fu, se evidenció una mejora en el efecto citotóxico de ambas modalidades en las líneas CaSki, SiHa y ME180. Por lo tanto, concluyeron que la efectividad del tratamiento quimioterapéutico depende de la presencia de las cepas de alto riesgo de VPH en el tumor canceroso (Saxena, A. et al., 2005).

Yuanming Shen y colaboradores publicaron en 2014 un estudio sobre dos líneas de células SiHa y CaSki, tomadas de 23 pacientes con carcinoma escamoso en etapas IB2, IIA2, pre y post quimioterapia con PACLITAXEL y CISPLATINO. De los micro ARNs (miARN) que se extrajeron, llamó la atención particularmente el miARN-375 identificado por su papel oncogénico

en pacientes con carcinoma de pulmón, posterior a ello, se sometieron a tratamiento con los dos medicamentos mencionados y, por medio de electroforesis en gel, se separaron aproximadamente 50mg de proteína. Para observar la sobreexpresión de las proteínas E-cadherina y N-cadherina en las células cancerosas se transfectaron con vectores de expresión lentivirales. De lo anterior se observó que las células cancerosas sin tratamiento con PACLITAXEL crecían de forma adoquinada, mientras que aquellas que fueron expuestas al medicamento se veían aplanadas y perdieron gran parte de su contacto célula-célula, evidenciando un cambio en su morfología. Por otra parte, la expresión de la proteína E-cadherina disminuyó bajo tratamiento, mientras que la de las proteínas N-cadherina y fibronectina aumentó. Después de someter el cultivo de SiHa y CaSki a PACLITAXEL durante diferentes tiempos, la velocidad de proliferación de las líneas celulares se redujo significativamente, mostrando que el PACLITAXEL inhibe la proliferación e induce la transición epitelio mesénquima (EMT, por sus siglas en inglés). Adicionalmente, bajo el efecto del medicamento se exploró el comportamiento del miARN - 375, revelando que, al retirar el fármaco, se invierte la expresión del miARN – 375 y la inhibición de la proliferación de células cancerosas cervicales, mostrando así una correlación negativa entre los dos aspectos mencionados. Así pues, la sobreexpresión del miARN – 375 promueve la EMT inducida parcialmente por PACLITAXELPACLITAXEL, al atacar directamente la E-cadherina en células cancerosas cervicales. Después de la inducción de la EMT por TGF- β 1 o EGF – β , la sensibilidad al fármaco se vio altamente reducida en SiHa y CaSki, indicando que, a pesar de inducir la EMT, no altera la expresión del miARN – 375. Adicionalmente, se encontró que las células cancerosas cervicales que son similares morfológicamente a las células de la mesénquima, son resistentes al medicamento. En cuanto al efecto de la proteína E-cadherina y después de analizar los clones, se elucidó que su sobreexpresión mejoró significativamente la sensibilidad al medicamento en las

células cancerosas cervicales, con o sin sobreexpresión del miARN – 375, y que además revierte en menor proporción el fenotipo EMT y la resistencia al fármaco mediada por miARN – 375. De los 23 pacientes, 19 eran quimiosensibles y 4 quimiorresistentes, se evidenció que la sobre regulación de la expresión del miARN-375 fue más significativa en pacientes resistentes al comparar los tejidos cervicales post quimioterapia con los parentales pre quimioterapia (Shen, Y. et al., 2014).

De lo anterior se concluyó que el PACLITAXELPACLITAXEL, actúa aumentando la expresión de miARN – 375 que a su vez, induce el proceso de EMT al incrementar directamente la expresión de la proteína E-cadherina, la inhibición de la proliferación celular, y en consecuencia, generando resistencia a la quimioterapia en el cáncer de cuello uterino (Shen, Y. et al., 2014).

En 2010, Laia Bruni y col., publicaron los resultados de un metaanálisis desarrollado con publicaciones hechas entre 1995 y 2009, en el que se incluyeron 194 estudios llevados a cabo en 59 países y cuyo objetivo era detectar el VPH, mediante reacción de cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en mujeres con resultados citológicos normales. Los resultados mostraron que la mayor prevalencia del virus, se encontró en regiones del África subsahariana con un 16.1%, Este de Europa 14.2%, Latino América y el Caribe 16% y el Sudeste de Asia 14% (Bruni et al., 2010). En cuanto a las cepas, las más frecuentes fueron la 16, 18, 52, 31, 58, 39, 51 y 56. En América, las cepas de bajo riesgo fue la 6, en Europa la 31, en Norteamérica la 52 igual que en África y Asia, todas las anteriores después de la cepa número 16 que a nivel global se encuentra en el 22.5% de las infecciones. De lo anterior, se concluyó que la prevalencia de las cepas analizadas depende de la ubicación geográfica de las pacientes, además que la mayor prevalencia de las cepas de VPH encontradas, son consideradas como de alto riesgo para la formación de carcinoma en cuello uterino (Bruni, L. et al., 2010).

Muñoz N y colaboradores, en 2014, analizaron muestras obtenidas por biopsias cervicales, tomadas de pacientes con cáncer de cuello uterino en diferentes países, utilizando el sistema cebador MY09/ MY11 y GP5+/6+ de PCR para el gen L1. Para la detección de tipos específicos de VPH en las muestras analizadas, utilizaron métodos de oligohibridación y sándwich, para detectar evidencia de cáncer, posteriormente realizar la PCR usando el cebador E7 (Herrero et al., 2003). Con lo anterior, se pudo concluir que además de los tipos 16 y 18, también las cepas de tipo 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82, pueden ser consideradas como carcinogénicas, los tipos 26, 53 y 66 como probablemente carcinogénicas, mientras que las cepas de tipo 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 y 81, fueron categorizadas como de bajo riesgo (Herrero et al., 2003). Las cepas de tipo 16, causan aproximadamente el 50% del cáncer de cuello uterino a nivel mundial y junto con la cepa de tipo 18 aproximadamente el 70% (Zigui, C. et al., 2013).

En 2006 Aungsumart S. y colaboradores, utilizaron la línea celular SiHaR (resistente a múltiples fármacos) y SiHa (parentales) para identificar la influencia ejercida sobre los genes reguladores de la apoptosis en células de cáncer de cuello uterino por la sobreexpresión de proteínas oncogénicas (E6 y E7) del VPH. Mediante el ensayo de protección RNasa y RT-PCR, se reveló el aumento en la expresión del ARNm y niveles proteicos de Bcl – X_L (proteína anti apoptótica) en las células resistentes, SiHaR. Igualmente se observó un incremento en la expresión de E6 y E7 en SiHaR que contenían algunas copias del genoma de la cepa 16 de VPH. Bajo el ensayo de formación de colonias SiHaR, mostró mayor resistencia a diferentes inductores de apoptosis como el CISPLATINO y la radiación γ . De la transfección de células de cáncer de cuello uterino C33a VPH negativas con E7 o mezcla de E6/7 se observó el aumento en la expresión de Bcl – X_L, lo cual evidencia, la relación de las proteínas oncogénicas con la sobreexpresión del gen

antiapoptótico, además de ello, E7 mostró mayor relación cuando el ensayo se realizó separando las proteínas E6/7. De lo anterior se concluyó que, a pesar de la eficacia de la quimioterapia como tratamiento en pacientes con cáncer en cuello uterino, la sobre regulación de la proteína E7, perteneciente al VPH, puede promover la quimiorresistencia gracias a la activación del gen Bcl – X_L anti apoptótico (Aungsumart, S. et al., 2007).

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar los posibles factores que generan resistencia a la quimio y radioterapia en mujeres con cáncer de cuello uterino.

Objetivos Específicos

1. Clasificar la información disponible, en los datos publicados sobre los posibles factores que generan resistencia a la radio y quimioterapia en mujeres con cáncer de cuello uterino.
2. Identificar los tratamientos más utilizados en radio y quimioterapia en el cáncer de cuello uterino.
3. Analizar los resultados obtenidos, en la identificación de los factores más relevantes asociados en la generación de la resistencia a los tratamientos.

MARCO TEÓRICO

1. Cáncer

El término cáncer es utilizado para describir el crecimiento maligno, autónomo e incontrolado de células y tejidos. Dicho crecimiento genera tumores, que a su vez pueden invadir más tejidos alrededor del cáncer, a esto se le conoce como metástasis, lo que provoca el daño de los tejidos normales, compitiendo por los nutrientes y el oxígeno (Broutet, N. et al., 2014).

De acuerdo con Globocan, durante el 2018 el cáncer de cuello uterino ocupó el cuarto lugar en incidencia a nivel mundial, precedido por el cáncer de seno, colorrectal y de tiroides, sin embargo, después del cáncer de seno es la causa predominante de muerte, a pesar de ser una enfermedad altamente prevenible (Muñoz N. et al., 2012).

Según la Organización Mundial de la Salud, la enfermedad se divide en dos fases fundamentales: La etapa de infección transitoria y la de cáncer invasivo o infección persistente (ver figura 1).

Historia natural de la infección por VPH y desarrollo del cáncer cervical

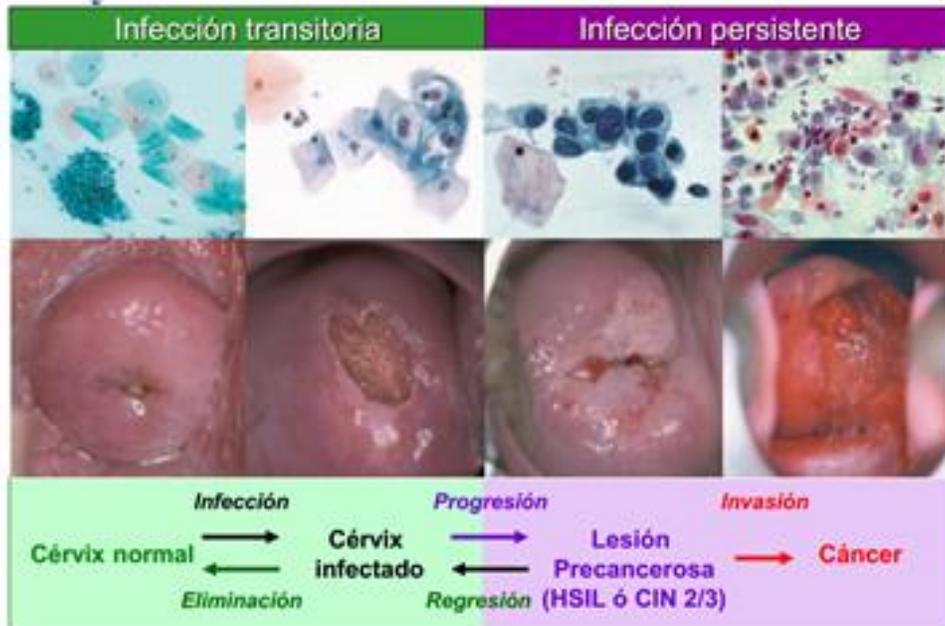


Figura 1: Historia natural de la infección por VPH y desarrollo del cáncer cervical. A la izquierda se encuentra la infección transitoria (fase pre-cancerosa), fase inicial de infección por VPH. A la derecha se encuentra la infección persistente (fase de cáncer invasivo) observándose el estado pre-canceroso y su avance a cáncer invasivo. Adaptado de <https://mahlegha9shirani.blogspot.com/>

1.1. Lesiones preneoplásicas en cáncer de cuello uterino

Las lesiones preneoplásicas en cáncer de cuello uterino son cambio diferenciado en las células epiteliales de la zona de transformación del cuello uterino, en donde las células se empiezan a desarrollar de forma anormal en presencia de una infección persistente y prolongada de una cepa

del virus del papiloma humano (VPH) (Broutet, N. et al., 2014). El cáncer de cuello uterino es uno de los pocos tipos de cáncer en el cual, su etapa precursora puede durar varios años antes de convertirse en cáncer invasivo. La causa principal de las lesiones precancerosas de cuello uterino y el cáncer escamoso cervical es la infección persistente con una o más de las cepas de VPH consideradas como de alto riesgo (Plunkett, M. et al., 2003). De las más de 200 cepas encontradas, la mayoría no está asociada con el cáncer de cuello uterino, pero el 70% de los casos reportados a nivel mundial, son causados por la cepa 16 y 18. Otras cepas consideradas de alto riesgo (31, 33, 45 a 58) son menos comunes (Broutet, N. et al., 2014).

Las neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC) son lesiones premalignas, son los cambios del epitelio de la zona de transformación y se clasifican como:

a. Lesiones intraepiteliales de bajo grado (LEIBG)

NIC: Cambio en las células de las capas más superficiales del cuello uterino, generalmente desaparecen por si solas, sin necesidad de tratamiento. Pocas de ellas progresan a cáncer.

b. Lesiones intraepiteliales de alto grado (LEIAG)

NIC2: Cambio en las células de la capa intermedia del cuello uterino. Cerca de un cuarto de estas lesiones progresan a cáncer.

NIC3 Cambio en las células de las capas más profundas del cuello uterino. Gran proporción de estas lesiones progresan a cáncer (GOMEZ, M. et al., 2006)

La detección de anomalías morfológicas en las células epiteliales de cuello uterino se realiza a través del estudio conocido como citología. Esta estudia las células exfoliadas de la unión escamo

columnar del cuello uterino y es el examen comúnmente recomendado en mujeres posterior al inicio de la actividad sexual (Martínez, S. 2005).

Por otra parte, el teste de tipificación de VPH se está introduciendo como sustituto o complemento de la citología cervicovaginal. La sensibilidad de esta prueba es superior a la de la citología al igual que lo homogeneidad de los resultados, sin embargo, la especificidad de la citología es superior en un 7% (Tejeda, M. et al., 2007).

1.1.1. Virus del papiloma humano (VPH)

El VPH es un virus relativamente pequeño, de cadena doble de Ácido desoxirribonucleico (ADN) (Zigui, C. et al., 2013). Está compuesto aproximadamente por 8000 pares de bases nitrogenadas y contiene un promedio de 8 proteínas, distribuidas en 3 regiones (Beltrán, L et al., 2014), la primera, es una región codificante que contiene los genes E1, E2, E4, E5, E6, y E7, los cuales están involucrados en la replicación viral y en la oncogénesis, la segunda es aquella que contiene los genes tardíos que codifican las mayores proteínas contenidas en la cápside viral L1 y L2, finalmente una región no codificante denominada región de largo control (LCR , por sus siglas en inglés) localizada entre los marcos de lectura abiertos L1 y E6, contiene la mayoría de los elementos reguladores implicados en la replicación y transcripción del ADN (Ghittoni, R. et al., 2010) (ver figura 2). La acción de estas proteínas es generar el ambiente propicio para la replicación viral y la neutralización de mecanismos clave de control celular (Beltrán , L. et al. 2014).

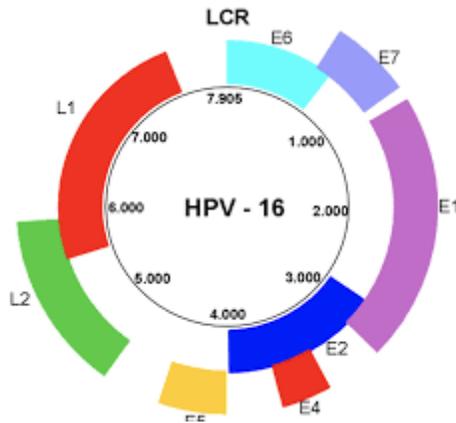


Figura 2: Estructura de la cepa 16 de VPH (VPH16)

Tomada de (Alaguero, 2017)

Cada proteína viral tiene una función específica: E1 se encarga de la replicación viral, E2 replicación y transcripción viral, E4 de la desestabilización de la red de citoqueratina, E5 de la mediación de la señalización mitogénica de factores de crecimiento, E6 y E7 de la oncogenicidad viral, finalmente L1 y L2 son las mayores proteínas que componen la cápside viral (Ghittoni, R. et al., 2010).

Más de 200 cepas de VPH han sido reconocidas, sobre la base de ADN que muestran diferencias genómicas, 85 genotipos de VPH han sido bien caracterizados, 120 genotipos han sido aislados y parcialmente caracterizados (Burd, E. 2003).

Debido a su asociación con cáncer de cuello uterino y lesiones precursoras, VPH también puede ser agrupado en cepas de alto y bajo riesgo. En las cepas de bajo riesgo se encuentran la 6, 11, 42, 43 y 44, asociadas con verrugas genitales, las cepas de alto riesgo incluyen la 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y 70 (Baseman, J. et al., 2005), estas se encuentran asociadas con cáncer de cuello uterino, vaginal y anal (Kari P Braaten, MD, MPH, Marc R Laufer, 2008). Dentro de las cepas de alto riesgo, se incluyen algunas que son menos frecuentemente encontradas

en cáncer, pero si son encontradas en lesiones escamosas intraepiteliales (LEI), identificadas como sepas de riesgo intermedio. La mayoría de las infecciones por VPH son benignas, estas son reconocidas como la primera causa de verrugas (plantares y comunes) en manos y pies (Burd, E. 2003).

1.2.Cáncer de cuello uterino

El 90% de los cáncer cervicales son células escamosas que inician en el exocervix, el otro 10% son adenocarcinomas que crecen en la capa glandular del endocervix (Broutet, N. et al., 2014).

Hay 4 vías, por las que el cáncer invasivo puede avanzar

i. Dentro del cérvix (Cuello uterino). ii. Hacia estructuras adyacentes, es decir, hacia abajo (vagina), hacia arriba (dentro del útero), hacia los lados (en los tejidos que soportan el útero), hacia atrás (recto o ano) y hacia adelante (vejiga). iii. Nódulos linfáticos pélvicos. iv. Metástasis por vía hematológica o por vía de los canales linfáticos (Broutet, N. et al., 2014).

1.2.1. Etapas del cáncer de cuello uterino

De acuerdo con la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, se establecen cuatro etapas para el cáncer de cuello uterino (Ver figura 3) (Harry, J. et al., 2007)

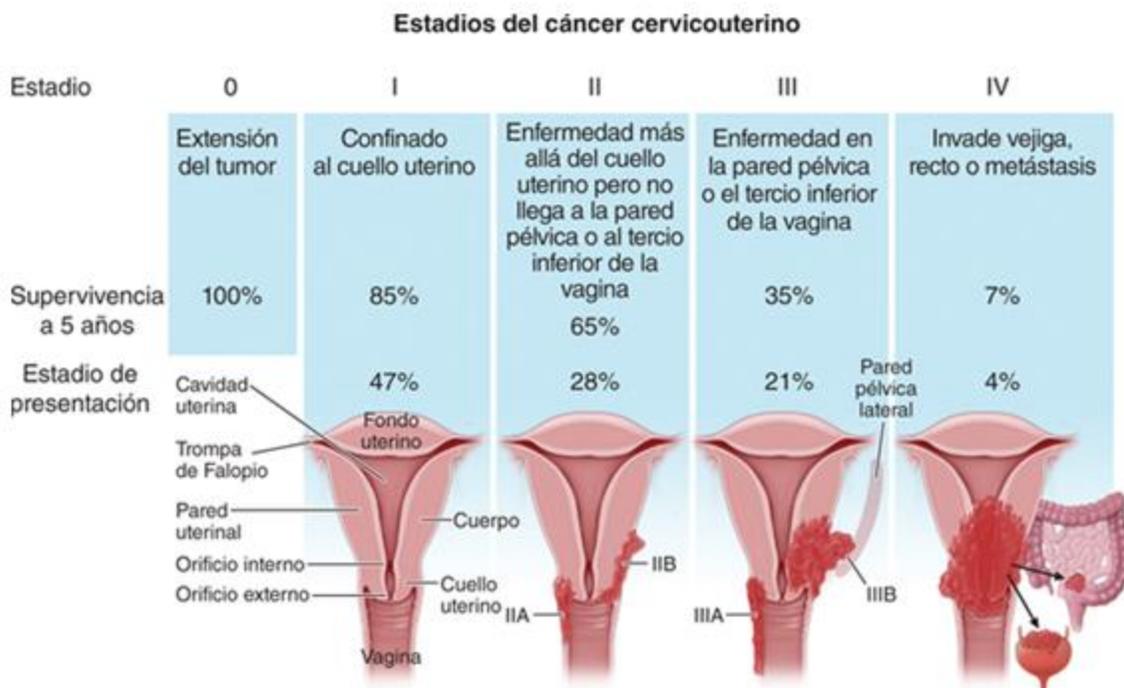


Figura 3: Estadios del cáncer cervicouterino. I, está confinado al cuello uterino, se divide en: IA Carcinoma diagnosticado sólo por microscopía; **IA1** Invasión del estroma 3mm – 7mm de diámetro; **IA2** Invasión del estroma mayor a 3mm y 7mm de diámetro; **IB** Lesiones clínicamente visibles confinadas al cérvix; **IB1** Lesiones clínicamente visibles de 4cm o menores; **IB2** Lesiones clínicamente visibles ≥ 4 cm. **II, avanza hacia la parte superior de la vagina y tejidos cercanos al cérvix, pero no en las paredes de la pelvis, se divide en: IIA** Tumor sin invasión parametrial; **IIB** Tumor con invasión parametrial. **III, avanza a la parte baja de la vagina y tejidos de la pared pélvica, se encuentra dividida en: IIIA** Tumor que involucra tercio bajo de la vagina, no hay extensión a la pared pélvica; **IIIB** Tumor se extiende a la pared pélvica y produce hidronefrosis disfuncionalidad renal. **IV, avanza hacia los órganos alrededor del cérvix, haciendo metástasis incluso en pulmones y nódulos linfático** (Harry J. Long III, Nadia N. I. Laack, MD, Bobbie S. Gostout, 2007).

1.2.2. Tratamiento

El objetivo de los tratamientos en la primera etapa es destruir o remover las áreas cervicales con lesiones precancerosas. Dichos métodos pueden ser de destrucción a los tejidos anormales por conizaciones o crioterapia, o remoción quirúrgica.

Por otra parte, según el estadio del cáncer, la terapia primaria puede incluir tratamiento quirúrgico o radioterapia, cuyo objetivo es curar la enfermedad. La terapia secundaria consiste en los tratamientos que, de ser requeridos, se podrán aplicar posterior al uso de la terapia primaria (Broutet, N. et al., 2014).

El régimen considerado como estándar, implica la administración de CISPLATINO semanalmente (en dosis $40\text{mg}/\text{m}^2$), asociado con radioterapia (5 veces a la semana durante 6 semanas), este debe tener una duración entre 50 y 55 días aproximadamente. Esta combinación permite un beneficio en la tasa general de supervivencia de 8% aproximadamente (Sadalla, J. et al., 2015).

1.2.2.1. Cirugía

Se encarga de remover el tejido canceroso y el tejido adyacente. El abordaje quirúrgico puede ser vía vaginal o abdominal, y va desde la remoción localizada, hasta una cirugía de histerectomía simple o radical. En la simple se remueven por completo el útero incluyendo el cérvix y es indicada para los cáncer micro invasivos en etapa inicial, por lo que se considera como tratamiento primario. En la radical, se remueven los tejidos que rodean al útero e incluso los nódulos linfáticos en la pelvis y alrededor de la aorta (Broutet, N. et al., 2014). En pacientes que se encuentran en las etapas IA1, IA2 y IB1 de la enfermedad, la histerectomía (simple o radical, dependiendo de las

características del tumor) tiene una alta probabilidad de curación de la enfermedad (Harry, J. et al., 2007).

1.2.2.2. Radioterapia

Este tratamiento consiste en aplicar altas dosis de radiación ionizante dentro del área afectada por el cáncer y los tejidos circundantes. Puede ser utilizada como terapia primaria en mujeres con carcinomas más grandes de 4 cm y confinado en el cérvix o para aquellos casos en donde ha avanzado más allá del cérvix. Como terapia adjunta a la cirugía, en caso de que durante la cirugía se detecte el avance del cáncer fuera del cérvix, o en los nódulos linfáticos e incluso si después de la histerectomía se evidencia la presencia de tejido canceroso menor a 5 mm en tejidos que rodean al tumor. Como terapia secundaria, para aquellas mujeres que después de someterse a cirugía primaria, evidencian presencia de la enfermedad en pelvis. Como tratamiento paliativo, en mujeres con cáncer en etapa avanzada, para controlar sangrados y dolores excesivos, como tratamiento para aislar la metástasis (Broutet, N. et al., 2014). Se han evidenciado excelentes resultados en pacientes que se encuentran en etapas IB2, IIA, IIB, IIIA, IIIB y IV de la enfermedad. Los mejores resultados se han obtenido con radioterapia de haz externo en toda la pelvis con radiación intracavitaria adicional, reforzada con una dosis de quimioterapia (Harry, J. et al., 2007).

Actualmente la radioterapia 3D conformada, es la técnica prevalente. Esta involucra planificación virtual. Se incorporan al planificador cortes tomográficos cada 3 a 5 mm que reproducen una imagen tridimensional del tumor en el computador, con esto se consigue una reconstrucción espacial de los órganos vecinos de interés de tal manera que la irradiación conforme el contorno

del área de tratamiento, asegurando la cobertura óptima del blanco, permite concentrar altas dosis terapéuticas en el tumor con mínimo compromiso del tejido sano (Velásquez, A. 2016).

El equipo recomendado es telecobalto isocéntrico con distancia a la fuente de piel por lo menos de 80cm. Altas dosis de fotones generadas por aceleradores lineales son ampliamente utilizadas, particularmente en pacientes cuyo diámetro pelviano anteroposterior es mayor de 20cm y en pacientes con campos extendidos (Velásquez, A. 2016)

1.2.2.3. Quimioterapia

La quimioterapia, es una de las estrategias fundamentales en el tratamiento del cáncer. Se basa en la administración de medicamentos endovenosos, que tienen como objetivo detener la división de las células cancerosas. Es utilizada en mujeres con tumores grandes y voluminosos, para reducir su tamaño, en esta etapa se combina con radioterapia, ya que, al reducir el tamaño del tumor, es muy posible que su respuesta sea mucho más positiva cuando se aplique la radioterapia. Fundamentalmente se utiliza con mujeres clasificadas como de alto riesgo, es decir, aquellas que en el momento de la cirugía presentan un avance del tumor hacia la parte baja de la vagina, pared cervical o nódulos linfáticos (Harry, J. et al., 2007). Infortunadamente, la quimioterapia, no sólo afecta la división de las células cancerosas, sino cualquier tipo de célula por lo que puede generar cuadros de anemia, hemorragias por la disminución en el conteo de plaquetas, síntomas gastrointestinales y reacciones alérgicas a algunos medicamentos (Broutet, N. et al., 2014).

Los agentes citotóxicos empleados en quimioterapia han sido motivo de estudio durante mucho tiempo, pues, su objetivo es atacar células con alto nivel de proliferación, como las que se presentan en los tumores cancerosos, que, adicionalmente, tienen muy baja eficiencia en la reparación de su ADN; sin embargo, se ha evidenciado que junto a las células cancerosas, también se ataca otro tipo de células de rápida división. La administración de CICLOFOSFAMIDA (CTX), 6-MERCAPTOPURINA o METOTREXATO en pacientes con cáncer, se ha asociado con respuestas alteradas a una variedad de antígenos, disminución de la secreción de anticuerpos y reacciones de hipersensibilidad retardada (Ghiringhelli, F. et al., 2014).

Desde los años 70, se ha venido estudiando a profundidad los efectos de la quimioterapia sobre el sistema inmune, en los cuales se ha encontrado que las células inmunes nativas y adaptivas, pueden ejercer inmunovigilancia tumoral, lo que dirigió las miradas hacia la revisión profunda del hecho que, el tratamiento del cáncer se basa en medicamentos que inhiben a las células inmunes, las cuales son fundamentales en la protección del desarrollo del tumor. Ahora bien, se ha identificado que la quimioterapia, no sólo inhibe el crecimiento tumoral, sino también alivia concomitantemente la inmunosupresión generada por el tumor. Además, algunos agentes quimioterapéuticos pueden activar directamente la función de las células natural killer (Ghiringhelli, F. et al., 2014).

La terapia antineoplásica involucra diferentes tipos de fármacos que utilizan diversos mecanismos por medio de los cuales actúan sobre las células tumorales e inhiben su proliferación. El tratamiento debe incluir dosis suficientemente elevadas para producir el mayor porcentaje de

muerte celular, incluso bajo la combinación de dos fármacos que no involucren toxicidades cruzadas (Benedi, J. et al., 2006)

Los antineoplásicos se clasifican de acuerdo con su mecanismo de acción como los que actúan sobre el ADN (antineoplásicos alquilantes, antibióticos citotóxicos, antimetabolitos y los derivados del platino), los de origen vegetal (alcaloides de vinca y taxanos) los que actúan sobre factores extracelulares de división celular (antagonistas de estrógenos, de andrógenos, progestágenos, interferones y análogos de la hormona liberadora de la hormona luteinizante), los que actúan sobre el sistema inmunitario (factor de necrosis tumoral, interleucinas y anticuerpos monoclonales) (Benedi, J. et al., 2006).

El CISPLATINO es uno de los fármacos más utilizados para el tratamiento de cáncer de cuello uterino, se clasifica dentro de los derivados del platino los cuales, al ingresar a la célula se activan liberando un ion platino bivalente, que puede formar enlaces estables con las purinas del ADN genómico o mitocondrial de las células tumorales, lo que produce errores de transcripción, generando imposibilidad en la producción de ADN, ARNm, proteínas y, detención en la replicación celular, activando diferentes vías de señalización que finalmente desencadenan necrosis o apoptosis. Los efectos adversos generados por la terapia con CISPLATINO son nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, neurotoxicidad y toxicidad gastrointestinal (Ghosh, S. 2019).

El PACLITAXEL mejora la polimerización de la tubulina en microtúbulos estables, y también interactúa directamente con los microtúbulos estabilizándolos contra la despolimerización por frío y calcio. Cuando el PACLITAXEL y la proteína de los microtúbulos se irradian con luz

ultravioleta, el fármaco se une de forma muy estable con a la subunidad beta de la tubulina. Este fármaco bloquea las células en fase G2/M del ciclo celular, tales células no pueden formar un aparato mitótico normal (Horwitz, S. 1994)

1.2.3. Resistencia al tratamiento

Los agentes quimioterapéuticos pueden facilitar la transformación fenotípica en células cancerosas sobrevivientes residuales en un fenotipo altamente móvil y resistente. Se ha identificado que el cáncer de cuello uterino es uno de los más resistentes a este tratamiento y por lo mismo una de las causas más comunes de muerte. La comprensión del mecanismo molecular mediante el cual los tumores superan la toxicidad de los medicamentos es un paso crítico para prevenir o revertir la quimio resistencia (Shen, Y et al., 2013).

Por otra parte, la quimioterapia puede ser asociada a tratamiento con radioterapia, la primera puede aumentar la sensibilidad del tumor a la radiación, también la radioterapia es utilizada para el tratamiento de enfermedades locales, mientras que la quimioterapia para el tratamiento de enfermedades sistémicas (Rose, P. et al., 1999). Lo anterior genera que sean complementarias y por ende que la resistencia generada a la quimioterapia, repercuta en la resistencia a la radioterapia.

En el caso del CISPLATINO la resistencia depende de múltiples factores, como la acumulación del fármaco al unirse con una amplia gama de proteínas, alteración de diferentes proteínas que señalan la apoptosis y aumento en la reparación del ADN de las células tumorales (Ghosh, S. 2019). Algunos de los factores que se han asociado con la resistencia al tratamiento con

CISPLATINO son la modulación de la expresión génica y proteica por la expresión de diversos microARNs, la modulación de la apoptosis por la expresión de ARNs de cadena larga no codificante, desregulación en algún componente de vías de señalización como la PI3K, Wnt- β catenina y ERK, y la asociación con la infección por una cepa de alto riesgo de VPH.

DISEÑO METODOLÓGICO

Clasificación de la información disponible, en los datos publicados sobre los posibles factores que generan resistencia a la radio y quimioterapia en mujeres con cáncer de cuello uterino.

Para clasificar la información, durante el proceso de selección de los artículos se utilizaron bases de datos científicas tales como PubMed, Science direct, Elsevier, motores de búsqueda de libre acceso, que permiten consultar millones de publicaciones en diferentes libros y revistas científicas relacionadas con el tema de interés. La búsqueda fue direccionada hacia artículos de investigación con enfoque cuantitativo. Utilizando las palabras clave quimio y radiorresistencia en cáncer cervical fueron encontrados 84 resultados, bajo las palabras clave quimiorresistencia en cáncer cervical fueron encontrados 87 resultados y utilizando las palabras clave radiorresistencia en cáncer cervical fueron encontrados 66 resultados. Posterior a hacer la recolección de los artículos se llevó a cabo la clasificación por fecha de publicación teniendo en cuenta solamente los artículos publicados en años posteriores a 2010. Adicionalmente se clasificaron los artículos teniendo en cuenta el tipo de cáncer en el que se evidencia la resistencia, es decir carcinoma cervical o de cabeza y cuello por su relación cercana, debido a la infección de VPH.

Durante este proceso se encontraron diversos factores, sin embargo se tuvieron en cuenta los que presentaban mayor incidencia en la generación de la resistencia, tales como la modulación negativa de la expresión de algunos genes, proteínas y marcadores epiteliales y mesenquimales por los microARN y ARNs de cadena larga no codificante, la desregulación de algunas vías de señalización como la ERK, PI3K y Wnt- β catenina y la asociación de la resistencia con la infección de VPH16/18.

Identificación de los tratamientos más utilizados en radio y quimioterapia en el cáncer de cuello uterino.

Los artículos se agruparon de acuerdo con el factor encontrado de la siguiente manera: modulación de la expresión génica y proteica por expresión de miARNs y por expresión de ARNnci, desregulación de componentes en vías de señalización involucradas en la regulación de la respuesta a quimio y radioterapia e incidencia de la infección por una cepa de alto riesgo de VPH en la misma. Adicionalmente, con la lectura se avanzó en la identificación de los tratamientos más utilizados y con mejor respuesta en pacientes con cáncer de cuello uterino, encontrándose que dependiendo del estadio del cáncer se utiliza la histerectomía parcial o total, acompañada de radio y quimioterapia, individualmente o combinadas.

Posteriormente, se extrajeron los datos y se registraron en un matriz teniendo en cuenta los diferentes factores previamente clasificados, el tipo de carcinoma en el que se presenta la resistencia y la fecha de publicación de los artículos.

Análisis de los resultados obtenidos, en la identificación de los factores más relevantes asociados en la generación de la resistencia a los tratamientos.

Se analizaron y discutieron los resultados obtenidos, para dar respuesta a la pregunta problema de investigación, relacionada con la existencia de factores que pueden estar influyendo en la quimio y radorresistencia en pacientes con cáncer de cuello uterino y con el incremento de la mortalidad por causa de este cáncer. Se inició con la agrupación de características comunes entre los factores encontrados, luego se buscó la relación y explicación de la expresión las proteínas o genes modulados con el cáncer de cuello uterino y con la resistencia a las terapias que pudiesen estar afectados, por el factor estudiado y finalmente, dar una conclusión frente a los hallazgos realizados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La resistencia a la quimio y radioterapia se encontró asociada a diferentes factores tales como: la modulación de la transición epitelial-mesenquimal y la regulación de la expresión génica y proteica por diferentes microARNs, la expresión de ARNs de cadena larga no codificante, la desregulación de algunos componentes en las vías de señalización ERK, PI3K y Wnt/ β -catenina y finalmente la asociación con la infección por una cepa de alto riesgo de VPH. Además de estos, la disminución de la sensibilidad frente a los tratamientos se ha encontrado relacionada con la hipoxia y anemia, la metilación de SEPT9 como biomarcador de las resistencias, la asociación del inhibidores de la fosfatasa 2A con la expresión de la p-glicoproteína y la activación de múltiples resistencias en adenocarcinoma de cuello uterino, Sin embargo en esta tesis abordaremos aquellos que presentan mayor evidencia investigativa.

1. Asociación de los microARN con el aumento o disminución de la resistencia frente a los tratamientos de quimio y radioterapia.

Los microARNs son regiones pequeñas no codificantes en el ARN, contienen entre 20 y 22 nucleótidos (Reddy, K. 2015). Después de la transcripción controlan la expresión génica a través de la degradación de ARNm, juegan un papel importante como reguladores génicos en genomas humanos, promoviendo la diferenciación celular, proliferación y apoptosis, su expresión aberrante puede promover tumorigénesis y agresividad tumoral (Cai, Y. et al., 2009). Los microARNs maduros reconocen su ARNm objetivo por interacciones de emparejamiento entre los nucleótidos 2-8 de miARN y la sección complementaria en la región 3' no traducida (3'-UTR) de los ARNm (Kuhn, D. et al., 2007).

Los miARNs se encuentran asociados con la regulación de la radio y quimio sensibilidad en pacientes con cáncer de cuello uterino, por ejemplo, se han evidenciado niveles muy bajos o incluso cero del miARN-218 en líneas celulares que presentan resistencia a quimio y radioterapia provenientes de pacientes con cáncer de cuello uterino (HeLa, SiHa, C33A, CaSki), mientras que su sobreexpresión ha sido asociada con el aumento en la sensibilidad a los mismos (Yuan, W. et al., 2014). Además, en líneas celulares positivas para VPH, la sobreexpresión de este microARN redujo la capacidad de invasión y migración celular, mientras que su baja regulación fue relacionada con pronóstico pobre de supervivencia, progresión hacia nódulos linfáticos y recurrencia (Kogo, R. et al., 2015).

En líneas celulares que mostraron menor respuesta frente al tratamiento con diferentes concentraciones de CISPLATINO (IC_{50} muy elevado) el miARN-218 se encontró infra expresado. Además, la inducción del miARN-218 incrementa notablemente la sensibilidad al fármaco, mientras que su inhibición disminuye la misma, pues la sobre regulación de este microARN induce significativamente la apoptosis celular, mientras que su infra regulación disminuye la muerte celular (Yu, M. et al., 2019) lo cual indica que el miARN-218 modula la sensibilidad a la quimioterapia a través de la regulación de la apoptosis celular.

Diferentes miARNs se han encontrado asociados con la resistencia que presentan las células cancerosas de cuello uterino a los tratamientos de quimio y radioterapia a través de diversos mecanismos que modulan de forma inversa o directa de genes y proteínas, y de esta forma modulan la sensibilidad frente al tratamiento y por supuesto los resultados exitosos o no frente a los mismos.

1.1.La transición epitelial-mesenquimal como objetivo de la sobre e infra regulación de los microARNs

La transición epitelial-mesenquimal, es un proceso biológico, que involucra la polarización de las células epiteliales, la cual induce diversos cambios bioquímicos que le permiten a la célula adquirir el fenotipo mesenquimal y con esto genera impacto en diferentes procesos celulares como la capacidad migratoria, invasividad, resistencia a la muerte celular y formación de componentes extracelulares (Qureshi, R. et al., 2015). Esta transición se caracteriza por cambios morfológicos de células epiteliales a células similares a fibroblastos, desensamble de las uniones intercelulares e incremento en la motilidad celular, involucra pérdida de marcadores epiteliales, como E-cadherina, claudina, occludina, citoqueratina y desmoplaquinas, también la ganancia de marcadores mesenquimales, como vimentina (Vim1), SNAIL, N-cadherina, ZEB1 y ZEB2 (Lee, M. et al., 2008). La EMT ha sido clasificada en tres tipos: la de tipo 1, involucrada en la implantación, formación embrionaria y el desarrollo de órganos, está organizada para generar diferentes tipos de células, que comparten fenotipos mesenquimales comunes, no causa fibrosis ni induce un fenotipo invasivo, además pueden generar células mesenquimales que pueden sufrir el proceso inverso para generar epitelio secundario. Por otro lado, la de tipo 2 se encuentra involucrada en la cicatrización de heridas, en la regeneración de tejidos y fibrosis de órganos. En principio este proceso se encuentra dirigido hacia la reparación, en la que normalmente se generan fibroblastos y otras células utilizadas para reconstruir tejidos después de sufrir traumatismos y lesiones inflamatorias, sin embargo, los EMT de tipo dos pueden seguir respondiendo a la inflamación continua, lo que eventualmente conduce a la destrucción de órganos. Finalmente, la de tipo 3 se presenta en células neoplásicas que han sufrido previamente cambios genéticos y epigenéticos específicamente en los genes que favorecen el crecimiento clonal y el desarrollo

tumoral. Estas células expuestas a la EMT tipo 3 tienen mayor capacidad invasiva y pueden hacer metástasis con mayor facilidad, generando manifestaciones finales de progresión del cáncer (Weinberg, R. et al., 2009). En dos líneas celulares resistentes al tratamiento con CISPLATINO se observó la disminución significativa del marcador epitelial E-cadherina y los niveles de expresión del miARN-25-3p (asociado con la regulación de la carcinogénesis en diferentes tipos de cáncer), mientras que los marcadores mesenquimales SNAIL y vimentina se evidenciaron ampliamente sobre regulados (Song, J. et al., 2017). Además, después de realizar la transfección mimética de las líneas celulares resistentes al tratamiento con CISPLATINO en miARN-25-3p, la expresión de los marcadores mesenquimales SNAIL y vimentina, se observaron significativamente reducidos, mientras que el marcador epitelial E-cadherina se encontró ampliamente incrementado (Song, J. et al. & Li, 2017). Lo anterior indica que la reducción en la expresión del miARN-25-3p podría inducir la quimio resistencia en células de cáncer de cuello uterino modulando negativamente la transición epitelial-mesenquimal.

Por otra parte, toda la familia de los miARNs-200 tienen como objetivo directo y represivo la expresión de ZEB1/2, los cuales suprimen notablemente el marcador epitelial E-cadherina y así generan la transformación de las células epiteliales a su estado mesenquimal, seguido de la iniciación del proceso de metástasis. La pérdida del miARN-200c se ha encontrado asociada con el aumento en la expresión de los marcadores mesenquimales ZEB1/2 y la pérdida del marcador epitelial E-cadherina, promoviendo así la transición epitelial-mesenquimal. Por otra parte el aumento en los niveles de expresión del factor transcripcional supresor tumoral p53, induce la activación transcripcional del miARN-200c y así modula negativamente la expresión de los marcadores mesenquimales ZEB1/2 y por ende, suprime EMT (Mutlu, M. et al., 2016). Adicionalmente, se ha evidenciado que en células altamente resistentes al CISPLATINO el

miARN-200c se pierde gracias a la promoción de su hipermetilación, aumentando así la expresión de los marcadores mesenquimales y por consiguiente la proliferación celular, evidenciando así disminución en la sensibilidad frente al tratamiento, convirtiéndose así en un objetivo de estudio para mejorar la supervivencia de pacientes post quimio y radioterapia (Mutlu, M. et al., 2016).

El miARN-375 también se encuentra involucrado con la modulación de la transición epitelial-mesenquimal, debido a que la E-cadherina contiene un sitio de unión complementario a la terminal 3'UTR del miARN-375 se convierte en objetivo de este, para su degradación. Su relación es inversa, pues con la sobreexpresión del miARN-375, se encuentra una disminución significativa en la expresión del marcador epitelial E-cadherina, mientras que la expresión de los marcadores mesenquimales N-cadherina, vimentina y fibronectina se observó aumentada, posterior al tratamiento de las células con diferentes dosis de PACLITAXELPACLITAXEL, lo cual nos permite inferir que la sobreexpresión del miARN-375 modula positivamente la transición epitelial-mesenquimal inducida por el PACLITAXELPACLITAXEL, por medio del enfoque directo en la regulación negativa de la expresión del marcador epitelial E-cadherina (Shen, Y. et al., 2014).

1.2. Modulación de genes mediada por la sobre o infra regulación de los microARNs

Los microARNs modulan la regulación de la expresión génica a través de la unión con el sitio complementario al extremo no codificante 3'-UTR, pueden dirigirse a diversos ARNm que contengan el sitio complementario, sin embargo, varias de esas interacciones dependen del tipo y el contexto celular. Comúnmente, los miARNs desestabilizan y degradan el ARNm diana, por lo que es de esperarse que su relación de expresión sea inversa (Jacobsen, A. et al., 2013).

Son objetivo de los miARNs diversos genes como el Sem4C y PTEN en cáncer de cuello uterino, al igual que algunas proteínas como la poli (ADP ribosa) polimerasa1, survivina, mTOR y

osteopontina, que presentan un sitio de unión complementario un miARN específico y posterior a su unión, son modulados de forma inversa, generando incremento o disminución de la sensibilidad de las células cancerosas en las que se presenta esta interacción a los diferentes tratamientos de quimio y radioterapia.

1.2.1. Gen Sem4C

El gen Sem4C es un miembro de la familia de las semaforinas, cumple un rol importante en el crecimiento de los axones y en el desarrollo de los miotubos. Se encuentra altamente expresado en tejidos de cáncer de cuello uterino, además regula la transición epitelial-mesenquimal, pues se encuentra correlacionado con la expresión del marcador epitelial E-cadherina (Song, J et al., 2017). En líneas celulares resistentes al CISPLATINO se evidenció una reducción prominente en la expresión de Sem4C a nivel del ARNm y la proteína, bajo la sobreexpresión del miARN-25-3p, teniendo en cuenta que los microARNs cumplen su función a través de la unión con su extremo 3'-UTR, y relacionando el descenso de la expresión de Sem4C por la sobreexpresión del miARN-25-3p, se evidencia que este microARN tiene como uno de sus objetivos de unión el Sem4C para producir así la inhibición en su expresión (Song, J. et al., 2017). Adicionalmente, en líneas celulares resistentes al CISPLATINO, se observó que la sobre regulación del miARN-25-3p y la infra regulación de Sem4C, inhiben el crecimiento celular y tumoral posterior al tratamiento con CISPLATINO, por lo que se puede evidenciar que el miARN-25-3p, se encuentra asociado con la modulación de la quimio resistencia en células de cáncer de cuello uterino, a través de la inducción reversa de la transición epitelial-mesenquimal (Song, J. et al., 2017).

Sem4C es el objetivo de diversos miARN tales como el miARN-125b, miARN-138, miARN-31-3p, miARN-205 y como ya lo indicamos previamente el miARN-25-3p, involucrados en la

resistencia a la quimioterapia inducida por la transición epitelial-mesenquimal en diferentes tumores malignos incluyendo el cáncer de pulmón, de seno y cervical (Jing, L. et al., 2019). Adicionalmente, la expresión de Sem4C se encontró directamente relacionada con los estadios del cáncer de acuerdo con la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) e inversamente relacionada con la expresión del miARN-31-3p en células de cáncer de cuello uterino como se observa en la tabla 1.

Tabla 1: Correlación entre la expresión de Sem4C, la expresión del miARN-31-3p y las características clínico patológicas en pacientes con cáncer de cuello uterino (Jing, L. et al., 2019).

Factores	N	Expresión de Sem4C		miR-31-3p	
		Baja (n= 26)	Alto (n=26)	Bajo (n=26)	Alto (n=26)
Tamaño del tumor					
<4cm	31	15	16	18	13
>4cm	21	11	10	9	12
Estadio (FIGO)					
I/II	36	22	14	15	21
III/IV	16	4	12	11	5

La sobreexpresión del miARN-31-3p indujo la reducción significativa en la expresión de los niveles proteicos de Sem4C, gracias a esto se observaron significativamente elevados los niveles proteicos y de ARNm del marcador epitelial E-cadherina, mientras que los niveles proteicos y de ARNm de los marcadores mesenquimales SNAIL y vimentina se vieron marcadamente reducidos, lo cual nos indica que el miARN-31-3p se encuentra directamente relacionado con la reversión de la transición epitelial-mesenquimal. Adicionalmente, posterior al tratamiento con diferentes

concentraciones de CISPLATINO, aquellas líneas celulares que sobreexpresaron miARN-31-3p e infra expresaron Sem4C, evidenciaron mayor sensibilidad frente al fármaco (Jing, L. et al., 2019). De acuerdo con los datos anteriores, la modulación de Sem4c por miARN-31-3p, tiene incidencia directa sobre la transición epitelial-mesenquimal y a su vez en la sensibilidad frente a la quimioterapia en pacientes con cáncer de cuello uterino.

1.2.2. Gen PTEN

PTEN es un gen supresor tumoral que puede regular la invasión tumoral y metástasis, localizado en el cromosoma 10q23, cataliza la desfosforilación de fosfatidilinositol 3-fosfato (PIP3) a fosfatidilinositol 2-fosfato (PIP2) y controla diversos procesos celulares. Se encuentra mutado en una gran variedad de cáncer humanos como el glioblastoma, melanoma, carcinoma de próstata, seno y colon, y frecuentemente se encuentra mutado en cáncer ginecológicos como el endometrial y de ovario, pero con menor frecuencia en cáncer de cuello uterino (Harima, Y. et al., 2001). Por su parte, el cáncer de cabeza y cuello se encuentra estrechamente relacionado con el cáncer de cuello uterino, mediante su predecesor común, la infección por una cepa de alto riesgo del VPH y particularmente por la relación que se ha evidenciado frente a la alteración en la expresión de los microARNs por la expresión de la oncoproteína E7 proveniente del virus (Lajer, C. et al., 2012). El miARN-96-5p se encontró sobreexpresado en tejidos tumorales de cabeza y cuello, además se encontró asociado con el aumento significativo de la migración celular. Por otra parte, después de someter a las líneas celulares Cal27 y FaDu, provenientes de pacientes con cáncer de cabeza y cuello a radiación con 2GY y tratamiento con CISPLATINO, se observó que la infra regulación del miARN-96-5p aumenta la sensibilidad a radio y quimioterapia, por la disminución en la viabilidad y formación de colonias celulares, por el contrario, la sobreexpresión del miARN-96-5p aumenta la resistencia a los tratamientos. Por otra parte, el miARN-96-5p encontró como

objetivo de unión la región 3'-UTR del gen PTEN, y por la reducción de la expresión del miARN-96-5p, se observó el incremento de los niveles proteicos de PTEN, disminución en la expresión de AKT fosforilada (pAKT) y ningún cambio en los niveles de AKT, por lo que se deduce que el miARN-96-5p modula negativamente la expresión de PTEN y afecta la vía de señalización PI3K/AKT (Vahabi, M. et al., 2019). Los resultados anteriores, permiten evidenciar la regulación de la quimio y radio sensibilidad en células de cáncer de cabeza y cuello a través de la inhibición de la expresión de PTEN.

1.3. Modulación de la expresión proteica por la sobre o infra regulación de los miARNs

La Poli (ADP ribosa) polimerasa 1 (PARP1) es una proteína nuclear multifuncional conservada en eucariotas, excepto en levaduras. Puede modificar las proteínas objetivo por la unión esencialmente a la cadena de poli (ADP ribosa) (pADPr) y a ella misma, a través de los residuos de Glu/Asp y/o de lisina en su dominio de auto modificación (Ji, Y. et al., 2010). Las auto modificaciones, contribuyen a la mayoría de las funciones conocidas de PARP1 en la reparación del daño en ADN, por ejemplo, reparación de las roturas en la hebra sencilla y doble, estabilización de las horquillas de replicación del ADN y en la modificación de la estructura de la cromatina (Chaudhuri, R. et al., 2017). En líneas celulares de cáncer de cuello uterino (HeLa y SiHa) resistentes a tratamiento con CISPLATINO, los niveles de miARN-7-5p se evidenciaron incrementados, en comparación con líneas celulares provenientes de tejido no canceroso. Adicionalmente, al bloquear el miARN endógeno, la apoptosis de las líneas celulares resistentes aumentó significativamente, después de su exposición a diferentes concentraciones de CISPLATINO (Yang, F. et al., 2018). La sobreexpresión del miARN-7-5p indujo la reducción de los niveles de la proteína PARP1, mientras que el bloqueo del miARN-7-5p endógeno, dirige el

incremento en los niveles de la proteína PARP1. La expresión de la proteína PARP1 en las líneas celulares resistentes al tratamiento quimioterapéutico, aumentó significativamente las tasas de apoptosis, posterior a la exposición a diferentes concentraciones de CISPLATINO (Yang, F. et al., 2018). Los datos anteriores dan cuenta de la relación inversa entre la expresión del miARN-7-5p y la expresión de la proteína PARP1 en células de cáncer de cuello uterino resistentes al CISPLATINO, evidenciando que el bloqueo del miARN-7-5p incrementa los niveles de la proteína PARP1 y así la apoptosis celular, tras el tratamiento con CISPLATINO, incrementando la sensibilidad a la quimioterapia.

La survivina es el miembro más pequeño de la familia de proteínas inhibidoras de la apoptosis. Es fuerte y difusamente expresada en órganos embrionarios y fetales, pero es indetectable en la mayoría de tejidos normales. Se ha encontrado sobreexpresada en diversos tipos de cáncer como pulmón, seno, colon, estómago y útero, entre otros. Los tejidos normales (no cancerosos) provenientes de los mismos órganos, no han expresado survivina. Ha sido asociada con la inhibición de la muerte celular (apoptosis) en la vía intrínseca y extrínseca (Altieri, D. 2003). En líneas celulares resistentes al tratamiento con CISPLATINO se evidenció la expresión del miARN-218 regulada a la baja, además la sobre regulación del miARN-218 disminuyó la expresión de survivina a nivel de ARNm y proteína, mientras que la infra regulación del miARN-218 incrementó su expresión. Por otra parte, al silenciar la survivina por transfección y con esto disminuir significativamente la expresión de ésta en las líneas celulares resistentes, se genera un incremento en la sensibilidad al tratamiento, lo cual sugiere que el miARN-218 modula la quimio sensibilidad al tratamiento con CISPLATINO en células de cáncer de cuello uterino a través de la focalización de la survivina (Yu, M. et al., 2019).

mTOR es una proteína quinasa de gran tamaño, perteneciente a la familia del fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K, por sus siglas en inglés) y que a través de la formación de un complejo por interacción con las proteínas raptor, rictor y GβL, es el objetivo de la rapamicina (bloque inmunosupresor de 20 aminoácidos) (Sarbasov, D. et al., 2004). mTOR integra las señales intracelulares y extracelulares, juega un rol fundamental como regulador del metabolismo celular, crecimiento, proliferación y supervivencia. Esta vía se activa durante diversos procesos celulares, tales como: formación de tumores, angiogénesis, adipogénesis, y activación de linfocitos T entre otros, se encuentra desregulada en enfermedades como el cáncer y la diabetes mellitus tipo 2 (Laplante, M. et al., 2009). Se han identificado dos complejos multiproteicos de mTOR (mTORC1 y mTORC2) en humanos, con diferentes roles durante los procesos fisiológicos y patológicos (Li, J. et al., 2015) mTORC1 regula positivamente el crecimiento celular y la proliferación, como consecuencia de la promoción de diversos procesos anabólicos como la biosíntesis de proteínas y lípidos para la formación de organelos, y a través de la limitación de procesos catabólicos como la autofagia (Laplante, M. et al., 2009). mTORC2 usualmente interactúa con Rictor y regula la actina en el cito esqueleto y metabolismo celular. Se ha observado que la rapamicina puede activar mTORC2 y fosforilar la Ser473 de AKT. Inhibidores de mTOR como la rapamicina, apuntan principalmente a mTORC1 y suprimen la progresión del ciclo celular, apoptosis, proliferación, migración e invasión (Li, J. et al., 2015). En líneas celulares provenientes de pacientes con cáncer de cuello uterino (HeLa, SiHa, Caski y C33) se evidenció negativamente relacionado el nivel del ARNm del rictor con la expresión del miARN-218, además aquellas células con mayor expresión de del miARN-218 evidenciaron mayor sensibilidad a la rapamicina. Adicionalmente, la rapamicina induce notablemente la apoptosis celular y sobre regula las proteínas asociadas a la apoptosis, tales como la caspasa-3 y PRAP. La sobreexpresión del miARN-218 combinada con la

administración de rapamicina suprime el crecimiento tumoral significativamente (Li, J. et al., 2015).

La osteopontina (OPN) es una glicoproteína fosforilada que puede interactuar con una amplia variedad de receptores de superficie celular (Mazariegos, J. et al., 2015). Es secretada a nivel extracelular y juega un rol fundamental en la promoción de la quimiotaxis, adhesión y migración celular, lo que puede promover el desarrollo del cáncer y la metástasis, a través de la activación de un rango amplio de señales que desencadenan en la síntesis de enzimas proteolíticas, aumentando la velocidad de degradación de la fibronectina y laminina. En este proceso se ha evidenciado sobreexpresada en células de cáncer de cuello uterino (Xiao, S. et al., 2016). OPN tiene un sitio de unión 3'-UTR complementario en el miARN-181a, lo cual indica que es un objetivo de unión de este microARN para su modulación (Xu, X. et al., 2019). En líneas celulares provenientes de cáncer de cuello uterino y resistentes al CISPLATINO (Caski/DDP y HeLa/DDP), la expresión del miARN-181a se observó significativamente reducida, mientras que los niveles de OPN se evidenciaron marcadamente incrementados. La sobreexpresión del miARN-181a mejora la apoptosis celular, a la vez que inhibe la proliferación celular en Caski/DDP o HeLa/DDP (Xu, X. et al., 2019) Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se evidencia que la apoptosis en líneas celulares de cáncer de cuello uterino resistentes al CISPLATINO, se encuentra mediada por la inhibición en la expresión de la osteopontina, gracias a su interacción indirecta con el miARN-181a.

Si bien es cierto que muchos de los microARNs no han sido plenamente caracterizados y relacionados con el desarrollo de quimio y radio resistencia en cáncer de cuello uterino, se han convertido en el objetivo de muchos estudios en la búsqueda de disminuir las tasas de mortalidad en pacientes que sufren de este cáncer.

2. Asociación de los ARNs de cadena larga no codificante con el aumento o disminución de la resistencia frente a los tratamientos de quimio y radioterapia.

Los ARNs de cadena larga no codificante (ARNncl) son ARNs que contienen más de 200 nucleótidos y no tienen función codificante para proteínas. Actúan como moduladores en diversos procesos biológicos tales como la impresión genómica, inactivación del cromosoma X, modificación de la cromatina, interferencia de la transcripción y transporte nuclear, además son importantes en la regulación del desarrollo y progresión tumoral, pues se ha identificado relación directa entre los niveles de expresión de los ARNncl y los diferentes estadios del cáncer. Son una de las clases de ARNs no codificantes con mayor expresión en tejidos de cáncer de cuello uterino humano (Huang, J. et al., 2018). ARNncl como el HOTAIR promueve la proliferación, migración y progresión celular mediante la inhibición de p21 (regulador negativo del ciclo celular) en cáncer de cuello uterino y así promueve la oncogénesis, el ARNncl-LET, funciona como supresor tumoral bajo regulación positiva (Huang, J. et al., 2018).

Los ARN de cadena larga no codificante han evidenciado tener influencia en la regulación de la resistencia a los tratamientos de quimio y radioterapia gracias a la alteración de la respuesta a través de la detención del ciclo celular, inhibición de la apoptosis y aumento en la reparación del ADN dañado (Huang, J. et al., 2018).

En cáncer de cuello uterino se ha evidenciado la interacción de los ARNncl y ARNm, miARNs y proteínas, generando la modulación de su expresión y por lo mismo, respuestas como las anteriormente mencionadas. Por ejemplo la sobreexpresión del ARNncl-EBIC fue relacionado con la inhibición del marcador epitelial E-cadherina, el ARNncl-CCHE1 promueve la proliferación

celular, uniéndose directamente con el ARNm del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA, por sus siglas en inglés), aumentando así su expresión (Peng, L. et al., 2016).

2.1. Radio resistencia asociada a la sobre o infra regulación de ARNs de cadena larga no codificante.

La división celular consta de dos fases o procesos consecutivos en los que se lleva a cabo, la replicación del ADN y la segregación de cromosomas replicados en dos células separadas. La replicación del ADN se da específicamente en la etapa de la inter fase conocida como fase S, a la cual la antecede la fase G1, en la que la célula se está preparando para la síntesis de ADN. Luego de la fase S, encontramos la fase G2, es en esta en la que la célula se prepara para la mitosis (M). Antes de G1, las células pueden entrar en un estado de reposo conocido como G0, allí se pueden localizar la mayoría de las células humanas que no presentan crecimiento ni proliferación (Vermeulen, K. et al., 2003).

El paso ordenado de una fase a otra del ciclo celular se encuentra mediado por proteínas quinasa dependientes de ciclina (CDK, por sus siglas en inglés), estas son activadas en puntos específicos del ciclo celular, generando la fosforilación de enzimas seleccionadas por ejemplo en la fase G1: CDK2, CDK4 y CDK6, en la fase S: CDK2 y en las fases G2 y M: CDK1 (ver tabla 2). Durante el ciclo celular, los niveles de las ciclinas aumentan y disminuyen constantemente, activando o desactivando las proteínas CDK, mientras que los niveles de estas últimas, permanecen estables durante el ciclo (Vermeulen, K. et al., 2003).

Tabla 2: Complejos CDK-ciclina y su actividad en puntos específicos del ciclo celular. CAK quinasa activadora de CDK (Vermeulen, K. et al., 2003)

CDK	CICLINA	FASE DE ACTIVIDAD EN EL CICLO CELULAR
CDK4	Ciclina D1, D2, D3	Fase G1
CDK6	Ciclina D1, D2, D3	Fase G1
CDK2	Ciclina E	Fase G1/S
CDK2	Ciclina A	Fase S
CDK1	Ciclina A	Fase G2/M
CDK1	Ciclina B	Mitosis
CDK7	Ciclina H	CAK, todas las fases del ciclo celular

La actividad de las proteínas CDK puede ser contrarrestada por la acción de proteínas inhibidoras, que son clasificadas en dos familias: la familia INK4 que contiene las proteínas inhibidoras p15, p16, p18 y p19, y la familia Cip/Kip que incluye p21, p27 y p57, que inactivan particularmente la fase G1 del ciclo, evitando la asociación entre la proteína CDK con su ciclina activadora. P21 también inhibe la síntesis del ADN al unirse e inhibir PCNA. La expresión de p21 se encuentra mediada por el gen supresor tumoral p53, pues el p21 contiene un sitio de unión a p53, lo que permite que este último active transcripcionalmente el gen p21 (Vermeulen, K. et al., 2003).

El ARNnc1-NEAT1 es un regulador tumoral que juega un papel importante en el crecimiento y proliferación celular, puede promover neovascularización, invasión tumoral y metástasis. Se ha observado sobreexpresado en líneas celulares de cáncer de cuello uterino y relacionado negativamente con la expresión de la caspasa-3 (proteína inductora de la apoptosis celular) y la activación de la vía de señalización AKT/PI3K (Guo, H. et al., 2018).

En líneas celulares resistentes a radioterapia, se evidenciaron elevados los niveles de ARNnc1-NEAT1. Por otra parte, se observó que bajo la infra regulación del ARNnc1-NEAT1 el número de

células resistentes a radioterapia en fase G0 y G1 aumentó significativamente, mientras que el número de células en fase S disminuyó, congruentemente, se observó disminución en los niveles de la proteína CDK2 e incremento en los niveles de p21 (Han, D. et al., 2018). Los datos anteriores, permiten establecer que la disminución en los niveles del ARNnc1-NEAT1 disminuye la resistencia a la radioterapia, por medio de la modulación en la expresión del gen p21, induciendo positivamente la apoptosis.

La ciclina D1 (CCND1, por sus siglas en inglés) es una proteína perteneciente a la familia de las ciclinas D, que regula el punto de restricción temprana en las fases G1/S del ciclo celular (Ni, J. et al., 2011). Sus niveles de expresión en células de cáncer de cuello uterino se observó incrementado con respecto a células provenientes de tejidos sanos. CCND1 fue identificada como blanco del miARN-193b-3p, el cual a su vez resulta ser modulado en sus niveles de expresión por el ARNnc1-NEAT1, lo cual implica que al sobreexpresar el ARNnc1, los niveles del miARN disminuyen y viceversa, en líneas celulares resistentes a la radioterapia. Además, debemos recordar que los miARN modulan de forma indirecta los niveles de expresión de la proteína al degradar su ARNm, por lo mismo al disminuir la expresión del miARN-193b-3p, los niveles de expresión de CCND1 incrementan significativamente en células resistentes a radioterapia, provenientes de tejido de cáncer de cuello uterino (Han, D. et al., 2018). Adicionalmente, la disminución en los niveles de CCND1 en combinación con aumento de la radiación ionizante produjo disminución en la fracción de células sobrevivientes al tratamiento, inhibición de la capacidad proliferativa en líneas celulares de cáncer de cuello uterino, detención en las fases G0/G1 del ciclo celular y aumento en la apoptosis (Han, D. et al., 2018). De acuerdo con los datos anteriores, se puede decir que el ARNnc1-NEAT1 promueve la radio resistencia en células de cáncer de cuello uterino, por medio

de la supresión en la expresión del miARN-193b-3p y el incremento en los niveles de expresión de CCND1.

El gen de respuesta temprana inmediata (IER3) es un gen evolutivamente conservado en mamíferos. Se expresa ampliamente en diversos tejidos humanos, especialmente en tejido epitelial. Regula varios procesos celulares como apoptosis, proliferación, diferenciación y reparación del ADN (Hanyong Jin et al., 2015). A nivel de proteína induce la apoptosis y normalmente su expresión se encuentra infra regulada en pacientes con cáncer de cuello uterino (H. Jin et al., 2016).

El ARNncl de detención del crecimiento especial 5 (ARNncl-GAS5) es un supresor tumoral cuando se encuentra sobreexpresado, juega un papel fundamental en el crecimiento celular y la inducción de la apoptosis, en cáncer de cuello uterino se han evidenciado niveles muy bajos de este ARNncl, además se ha encontrado inversamente relacionado con el estadio del cáncer. El bloqueo de ARNncl-GAS5 está asociado con el incremento en la proliferación, migración e invasión celular, a su vez incrementa la resistencia a la radioterapia mediante la regulación de la fosforilación de Akt (Cao, S. et al., 2014). Se ha observado la interacción simultánea del ARNncl-GAS5 y el miARN-106b en la línea celular SiHa de cáncer de cuello uterino. En líneas celulares resistentes a radioterapia (SiHa y ME180), los niveles del ARNncl-GAS5 se observaron muy bajos, mientras que los niveles del miARN-106b incrementados, también los niveles de expresión de IER3 se evidenciaron reducidos y los niveles de expresión de la proteína Akt aumentados (Gao, J. et al., 2019). El miARN-106b regula la expresión de la proteína IER3 de forma negativa, lo cual significa que al sobreexpresar este miARN, los niveles de expresión de la proteína se reducen significativamente y así los niveles de apoptosis disminuyen también. Por otra parte el ARNncl-GAS5 induce el incremento en la sensibilidad a la radioterapia, a través de la modulación negativa de los niveles de expresión del miARN-106b, al sobreexpresar los niveles del ARNncl los niveles

del miARN-106b se observaron disminuidos y la proteína IER3 sobreexpresada, lo cual indica que aumenta también la apoptosis al combinarse con radioterapia (Gao, J. et al., 2019).

2.2. Quimio resistencia asociada a la sobre o infra regulación de ARNs de cadena larga no codificante.

La proteína de alta motilidad del grupo 1 (HMGB1, por sus siglas en inglés) pertenece al grupo de las proteínas asociadas a la cromatina, contiene gran cantidad de aminoácidos ácidos y básicos. Se encuentra presente en la mayoría de las células a nivel nuclear y citoplasmático. El HMGB1 intracelular participa en procesos nucleares, tales como recombinación, replicación, remodelación y reparación del ADN, por otro lado el HMGB1 extracelular puede activar leucocitos polimorfonucleares, macrófagos mononucleares y células asesinas naturales, promover la liberación de mediadores inflamatorios, inducir maduración y migración de células dendríticas inmaduras y la polarización de linfocitos T, además HMGB1 es uno de los objetivos de unión del miARN-186 (Li, P. et al., 2019).

El ARN antisentido de cadena larga nicotinamida nucleótido transhidrogenasa 1 (NNT-AS1) se ha encontrado relacionado con la proliferación y migración celular por medio de la regulación de la vía de señalización MAPK/Erk y la modulación de la transición epitelial-mesenquimal. En tejido tumoral cervical sus niveles de expresión son altos, adicionalmente su expresión se relaciona directamente con el estadio del cáncer, pero no con la edad ni el tamaño tumoral (Hua, F. et al., 2017). En líneas celulares y tejidos de cáncer de cuello uterino, resistentes al tratamiento con CISPLATINO se evidenciaron mucho más elevados los niveles del ARNnc1-NNT-AS1 en comparación con los tejidos y células de cáncer de cuello uterino sensibles al tratamiento. Además,

el bloqueo de la expresión de este ARNnci induce la apoptosis al promover la expresión de la caspasa-3 escindida, reduce la proliferación y migración en líneas celulares resistentes después del tratamiento con concentraciones ascendentes de CISPLATINO al inhibir la transición epitelial mesenquimal, en donde se observa un incremento en la expresión del marcador epitelial E-cadherina y disminución en la expresión de los niveles de los marcadores mesenquimales N-cadherina y Vimentina (Liu, Y. Et al., 2020).

La expresión del miARN-186 se ha evidenciado reducida en líneas celulares de cáncer de cuello uterino, así mismo es objetivo de unión del ARNnci-NNT-AS1 modulando así de forma inversa la expresión del miARN, esto quiere decir que la sobreexpresión el ARNnci-NNT-AS1 promueve la disminución en la expresión de los niveles del miARN-186. Por otra parte, la expresión de la proteína HMGB1 se encuentra negativamente relacionada con la expresión del miARN-186, mientras que con la expresión del ARNnci-NNT-AS1 su relación en la expresión es directa en líneas celulares resistentes al tratamiento con CISPLATINO. Adicionalmente la delección del ARNnci-NNT-AS1 antagoniza la resistencia al CISPLATINO a través de la regulación de la expresión de HMGB, por medio de la interacción competitiva con el miARN-186 (Liu, Y. et al., 2020).

La proteína homóloga Muts 2 (MSH2, por sus siglas en inglés) tiene un papel clave en la reparación del ADN celular y la estabilidad genómica, pues sirve como sensor para detectar errores en la replicación del ADN que se dan por la unión de análogos de las bases nitrogenadas que se unen a diferentes conductos inducidos por daños en el ADN y detonan la apoptosis. La delección o agotamiento de MSH2 genera resistencia a ciertos agentes que dañan el ADN, tales como los

fármacos quimioterapéuticos, por lo que su nivel de expresión se encuentra asociada a la sensibilidad celular frente a estos fármacos (Zhang, M. et al., 2016). MSH2 es objetivo de unión del miARN-134-5p, el cual ha sido asociado con la detención de la proliferación celular tras su sobreexpresión (Pan, J. et al., 2017). Teniendo en cuenta que los miARN degradan el ARNm del gen o proteína objetivo, se espera que la sobreexpresión de este, reduzca los niveles de expresión de MSH2.

El ARNncl de transcripción divergente (ARNncl-NCK1-AS1) es oncogénico y recientemente se ha encontrado sobreexpresado en el citoplasma de células de cáncer de cuello uterino. Promueve la proliferación celular y se encuentra involucrado en diferentes vías de señalización, tales como CDK y TGF- β 1 (Qiao, Z. et al., 2020). Se identificó la co-expresión del ARNncl-NCK1-AS1 y MSH2 en células de cáncer de cuello uterino, además la sobre regulación del ARNncl y la proteína tras la reducción en la expresión del miARN-134-5p. Lo anterior gracias a que el ARNncl y MSH2 contienen sitios complementarios de unión con el extremo 3'UTR del miARN, lo cual implica que el ARNncl-NCK1-AS1 y el miARN-134-5p modulan la expresión del MSH2 de forma competitiva (Zhang, W. et al., 2019). Finalmente al inhibir la expresión del miARN y sobreexpresar el ARNncl-NCK1-AS1 y MSH2 tras el tratamiento con CISPLATINO en células de cáncer de cuello uterino, la concentración inhibidora media (IC₅₀, por sus siglas en inglés) aumentó notablemente y la tasa de apoptosis se redujo, evidenciando incremento de la quimio resistencia en células de cáncer de cuello uterino (Zhang, W. et al., 2019).

De acuerdo con lo anterior se puede concluir que los ARN de cadena larga no codificante actúan de manera competitiva con miARN específicos, con los que tienen un sitio de unión

complementario. Además, su regulación es negativa, lo cual indica que la modulación de la proteína objetivo será negativa y la unión se da con el miARN, mientras que será positiva si la unión se presenta con el ARNncl, generando impacto directo en el desarrollo del ciclo celular y por ende en la apoptosis; lo anterior evidencia el aumento o disminución de la sensibilidad frente a los tratamientos de quimio y radioterapia en células de cáncer de cuello uterino en dependencia de la unión del ARN cadena larga no codificante con la proteína objetivo.

El ARN antisentido dedos de zinc 1 (, por sus siglas en inglés ZFAS1) es un miembro de la familia de los ARNncl cuya sobreexpresión puede suprimir la proliferación celular e inducir la apoptosis bloqueando el proceso de transición epitelial-mesenquimal. Se ha evidenciado su papel tumorigénico en cáncer estomacal, glioma, carcinoma nasofaríngeo y en cáncer colorrectal (Pan, J. et al., 2020). En líneas celulares (CaSki, HeLa y C33A) de cáncer de cuello uterino, se evidenciaron niveles elevados del ARNncl-ZFAS1, incluso en líneas celulares positivas para infección con VPH (CaSki y HeLa) sus niveles de expresión fueron mucho más altos, en comparación con la línea celular negativa para infección por VPH (C33A). También, se observó directamente relacionado con el estadio del cáncer, grado histológico y metástasis en nódulos linfáticos (Feng, L. et al., 2019). Al silenciar el ARNncl-ZFAS1 los niveles de proliferación, invasión y metástasis de las células CaSki y HeLa disminuyeron significativamente. Adicionalmente el IC50 del CISPLATINO en las mismas líneas celulares se redujo bajo el silenciamiento del ARNncl, mientras que la tasa de apoptosis aumentó (Feng, L. et al., 2019). De acuerdo con los resultados anteriores, el silenciamiento del ARNncl-ZFAS1 incrementa la sensibilidad al tratamiento con CISPLATINO en líneas celulares radiorresistentes de cáncer de cuello uterino por medio del bloqueo del ciclo celular y la inducción de la apoptosis.

3. Vías de señalización asociadas con la modulación de la respuesta a las terapias

3.1. Respuesta a las terapias contra cáncer de cuello uterino asociada con la desregulación de los componentes de la vía de las quinasas regulada por señales extracelulares (ERK).

La vía de las quinasas regulada por señales extracelulares (ERK, por sus siglas en inglés), también llamada vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK, por sus siglas en inglés), es activada en una amplia variedad de células por diversos estímulos extracelulares (Kohno, M et al., 2009). Usualmente es activada en algunos tumores, por translocación cromosomal, mutaciones en receptores de citoquinas o sobreexpresión de receptores de tipos salvajes o mutados. También tiene efectos importantes sobre la regulación de la apoptosis, a través de la fosforilación post-traducciona l de moléculas reguladoras de la apoptosis, que incluyen Bad, BIM, caspasa-9 y Bcl-2. Adicionalmente, por medio de esta vía se puede inducir la transcripción de ciertos genes Raf, por medio de la cascada de MEK y ERK, o independiente de estas puede inducir la fosforilación de proteínas que controlan la apoptosis (ver figura 4). La activación anormal de esta vía, se encuentra asociada con cáncer en humanos, debido a las mutaciones en los receptores de membrana cascada arriba de los segundos mensajeros Ras y B-Raf, así como genes de otras vías, que ayudan para la regulación de Raf. Además, la activación ectópica de Raf induce la resistencia a fármacos quimioterapéuticos como PACLITAXEL y doxorubicina (McCubrey, J. et al., 2007).

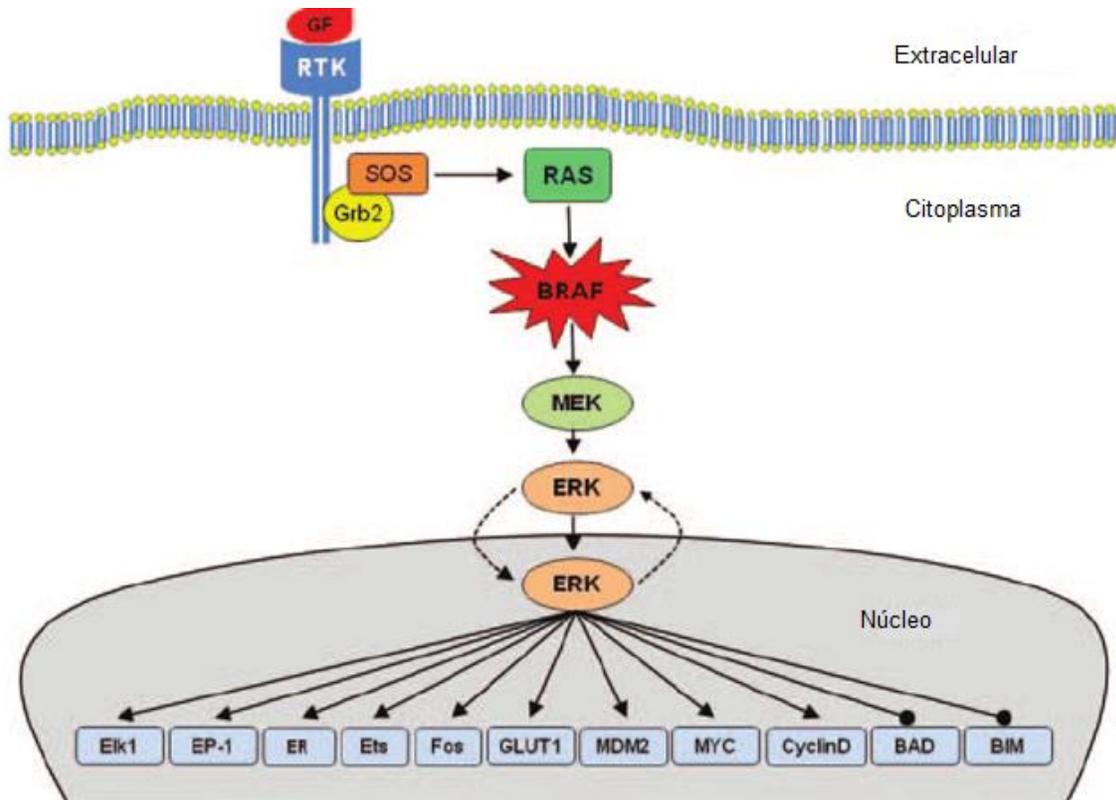
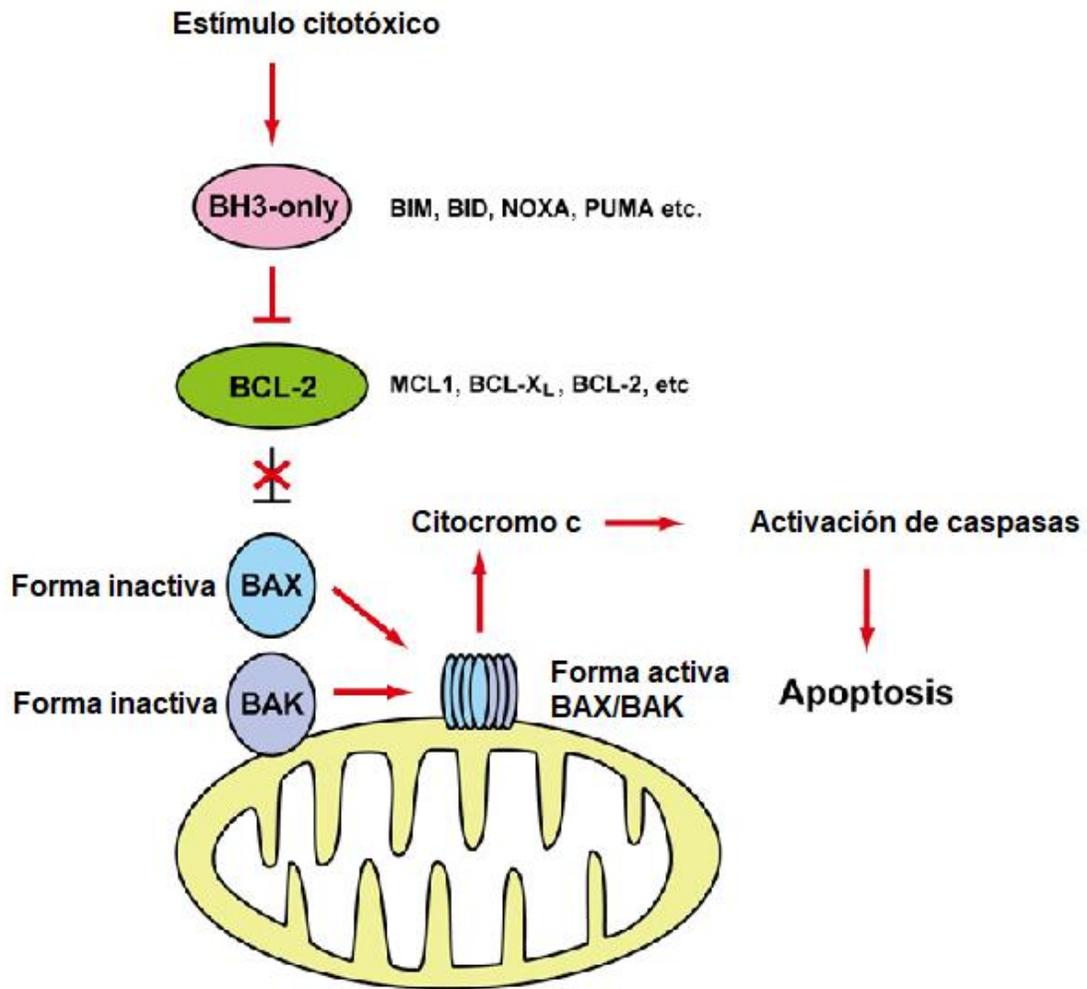


Figura 4: Vía de señalización RAS/RAF/MEK/ERK. Línea con punta en flecha, activación por interacciones celulares; línea intermitente con punto, bloqueo por interacciones celulares. GF, Factor de crecimiento, Grb2, receptor del factor de crecimiento unido – 2, MEK, quinasa regulada por señal extracelular de proteína quinasa activada por mitógenos, RTK, receptor tirosina quinasa. Adaptada de The RAS/RAF/MEK/ERK pathway: cellular interactions. Activate, line with -arrow-head_fig1_230790243

La activación frecuente de las vías de señalización Ras durante la tumorigénesis puede reflejar su capacidad de inhibir la vía H-ras/MAPK que suprime la inducción de BIM, mediante su fosforilación y su orientación para la degradación en pro de la apoptosis. En la vía MAPK, se traduce una señal de supervivencia de Ras a través de la serina/treonina quinasa Raf, que a su vez

actúa como supresor de tumores y la deficiencia de BIM genera tumores resistentes al PACLITAXEL(Tan, T. et al., 2005).

La proteína similar a Bcl-2 11 (BIM), es una proteína que contiene sólo BH3 (proteínas proapoptóticas y sólo comparten el dominio BH3 con sus homólogas) perteneciente a la familia de la proteína Bcl-2, participa en la iniciación de la apoptosis. Actúa antagonizando el papel antiapoptótico de Bcl-2 y activando directamente la función de BAX y BAK, requeridos para la apoptosis, asociada a la oligomerización en la membrana externa mitocondrial y su permeabilidad a proteínas mitocondriales proapoptóticas como el citocromo c. La pérdida de BAK y BAX resulta en una profunda resistencia a diferentes estímulos apoptóticos incluyendo agentes genotóxicos. La proteína BIM, es liberada en el citoesqueleto posterior a la activación por la señalización citotóxica. Se encuentra sobre regulada en células de cáncer de cuello uterino y su expresión se encuentra directamente relacionada con el estadio del cáncer. (Kim, B. et al., 2017).



*Figura 5: Vía apoptótica mitocondrial. En respuesta a un estímulo citotóxico las proteínas pro apoptóticas solo BH₃ como BIM, inactivan a los miembros multi-dominio antiapoptóticos como Bcl-2 a través de la interacción directa con su dominio BH₃, cambiando de la forma inactiva a su forma activa a BAX y BAK en la membrana externa mitocondrial. La oligomerización de BAX/BAK resulta en la segregación del citocromo c mitocondrial al citoplasma, generando la activación de caspasas y así induciendo la apoptosis. Adaptada de *The anti-apoptotic protein MCL1, a novel target of lung cancer therapy* (cancertreatmentjournal.com)*

El inhibidor 5 de la apoptosis (API5, por sus siglas en inglés) ha sido identificado como una proteína inhibitoria de la apoptosis, cuya expresión previene la fragmentación del ADN mediada por la caspasa-3 mediante la regulación negativa de la apoptosis, inducida por el factor de transcripción E2F1. Se encuentra involucrado con la regulación de la vía relacionada en la propiedad antiapoptótica dependiente de la secreción de FGF2 y de la señalización aguas abajo de FGFR1, generando la degradación específica de la molécula pro-apoptótica BIM, mediante la activación de ERK dependiente de PKC γ 18. Adicionalmente, API5 se encuentra sobre regulado en diversos tipos de cáncer y se ha encontrado asociado con el potencial invasivo de las células cancerosas de cuello uterino a través de la asociación con pERK1/2 (Song, K. et al., 2017).

La línea celular de cáncer de cuello uterino CaSki fue expuesta a tratamiento con CISPLATINO y las células que sobrevivieron a este fueron utilizadas para identificar los niveles de API5 y su relación con la resistencia al CISPLATINO. En células resistentes se observó un incremento de los niveles de expresión de API5, incluso cuanto más repetitivo fuera el tratamiento este nivel de expresión aumentaba, lo cual indica que la expresión de API5 está directamente relacionado con la resistencia al CISPLATINO en células de cáncer de cuello uterino (Jang, H. et al., 2017). Por otra parte, se encontró relacionada negativamente la expresión de la proteína pro-apoptótica BIM con la expresión de API5 posterior al tratamiento repetido con CISPLATINO. Adicionalmente los niveles de fosforilación de ERK mediada por FGFR1 se encontraron notablemente elevados tras el tratamiento repetido con CISPLATINO en células de cáncer de cuello uterino, sin embargo, la disminución de los niveles de expresión de API5 disminuyó drásticamente la fosforilación de FGFR1 y ERK mientras que incrementó notablemente los niveles de expresión de BIM (Jang, H. et al., 2017). De acuerdo con los resultados observados, se puede establecer que la fosforilación

de FGFR1 y ERK mediada por la expresión de API5 que tiene como objetivo directo promover o inhibir la apoptosis en células de cáncer de cuello uterino a través de la modulación negativa de la proteína anti apoptótica BIM tras el tratamiento repetido con CISPLATINO, por lo mismo se puede concluir que modula la resistencia frente al tratamiento en pacientes con cáncer de cuello uterino.

La metadherina (MTDH, por sus siglas en inglés), también es conocida como Gen-1 elevado en astrocitos (AEG-1, por sus siglas en inglés), ha sido identificado con altos niveles de expresión en diferentes tipos de neoplasias malignas, incluyendo el cáncer de mama, próstata, glioma, hepatocelular y esófago, se asocia con la progresión de la enfermedad y con los resultados después de la exposición a tratamientos. También, se ha encontrado relacionada con la promoción de la metástasis, invasión, quimiorresistencia y angiogénesis (Zhao, Y. et al., 2012). En la línea celular HeLa se observaron reducidos los niveles de la caspasa-3 y un incremento en la acumulación del marcador de la autofagia LC3II, bajo el bloqueo de MTDH, además los niveles de p-ERK y NF- κ B p65 se evidenciaron elevados con la sobreexpresión de MTDH, pero reducidos con el bloqueo de esta. Estos resultados sugieren que MTDH promueven la autofagia e inhiben la apoptosis por medio de la activación de la vía pERK/NF- κ B en la línea celular de cáncer de cuello uterino HeLa. Adicionalmente, después del tratamiento con CISPLATINO se observó sobreexpresada MTDH y la proliferación celular significativamente aumentada (Zhang, J. et al., 2013). Los resultados anteriores, permiten establecer que la sobreexpresión de MTDH promueve la resistencia al CISPLATINO por medio de la inducción de la autofagia y reducción de la apoptosis mediada por la activación de la vía pERK/NF- κ B.

3.2.Desregulación de los componentes de la vía del fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) asociada con la resistencia a quimio y radioterapia en cáncer de cuello uterino.

La vía de señalización del fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) es estimulada, a través de la activación de los receptores membranales de insulina (IRS), que a la vez fosforilan a la subunidad p58 de la PI3K, conduciendo a un cambio conformacional que permite la unión de la proteína con la subunidad catalítica p110. En esta vía se fosforila el fosfatidil inositol 3,4-difosfato (PIP₂), convirtiéndolo en el segundo mensajero fosfatidil inositol 3,4,5-trifosfato (PIP₃) el cual conduce a la activación de Akt (Ver figura 6). La activación anormal de esta vía se encuentra asociada a la formación de diferentes tipos de cáncer debido a la respuesta proliferativa y antiapoptótica (Pinzón, C. et al., 2009).

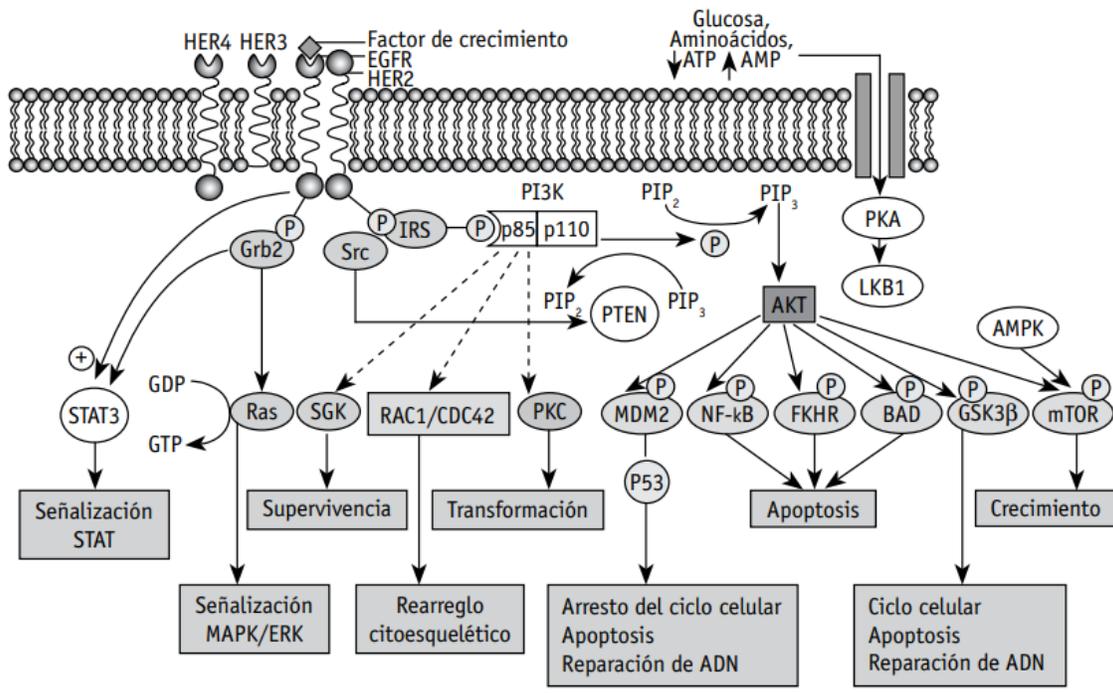


Figura 6: Vía de señalización fosfatidil inositol 3 quinasa. ERK, quinasa regulada por señales extracelulares, GDP, Guanosin difosfato, IRS, receptor de insulina, GSK3, Quinasa sintasa de

glicógeno, MAPK, proteína quinasa mitógeno activado. NFκβ, factor nuclear κβ, PIP2, fosfatidil inositol 3,4 difosfato, PIP3; fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato, PKC, proteína quinasa C, STAT; transductor de señal y activador de la transcripción. Tomada de (Pinzón, C. et al., 2009).

Akt es un homólogo del oncogén viral v-Akt y se encuentra relacionado con las proteínas quinasas A y C en humanos. Tiene tres isoformas derivadas de distintos genes: Akt1/PKBα, Akt2/PKBβ y Akt3/PKBγ, las cuales se han visto involucradas en procesos cancerosos específicos, por ejemplo Akt2 se ha encontrado asociada con la motilidad e invasión de células cancerosas y Akt3 con la independencia hormonal. Akt es activada en respuesta a diferentes factores de crecimiento como IGF2, el factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento básico de fibroblastos, insulina, IL3, IL6 y el factor de crecimiento vascular endotelial. La inhibición de algunos componentes de la vía PI3K/Akt pueden generar resistencia al tratamiento con fármacos quimioterapéuticos, radioterapia, terapia hormonal y a los agentes dirigidos en cáncer, oponiéndose a la apoptosis (Pinzón, C. et al., 2009).

El gen PIK3CA se encuentra amplificado en diferentes tipos de cáncer incluyendo el de cabeza y cuello, pulmón y cervical. La mayoría de los pacientes con cáncer de cuello uterino que presentan mutaciones en PI3KCA resultó ser positiva para E545K (mutación que resulta en la sustitución de carga opuesta en un aminoácido). En líneas celulares de cáncer de cuello uterino que expresan la mutación PI3KCA-E545K luego del tratamiento con diferentes concentraciones de CISPLATINO, se observó que los niveles de supervivencia de estas células eran mayores a los de aquellas células que solo expresaban el tipo salvaje de PI3KCA. Además al reducir los niveles endógenos de PI3KCA se observó mayor resistencia al CISPLATINO por sí solo y al tratamiento combinado

con radiación en líneas celulares que expresaron la mutación E454K, lo cual permite establecer que la expresión de PI3KCA-E454K confiere resistencia a la terapia con CISPLATINO y combinada con radiación en células de cáncer de cuello uterino (Arjumand, W. et al., 2016)

La quinasa activada p21 (PAK, por sus siglas en inglés) controla procesos celulares fundamentales como control de la morfología celular, adhesión, migración, proliferación y supervivencia celular. Se han identificado 6 tipos de PAK y se clasifican en grupo I (PAK1-3) y grupo II (PAK4-6) con base en su estructura y funciones. El grupo I contiene un dominio de unión a p21 (PDB) y un dominio autoinhibidor (AID) en el extremo N, por su parte el grupo II contiene un PDB y un AID o un dominio de pseudosustrato (PSD), según la proteína. En el estado inactivo las PAK del grupo I son homodímeros y las del grupo II son monodímeros. Particularmente PAK4 controla la proliferación celular, supervivencia, invasión, metástasis, la transición epitelial-mesenquimal y la resistencia a fármacos. PAK4 puede actuar corriente arriba de PI3K promoviendo la resistencia al CISPLATINO en células de cáncer de cuello uterino (Won, S. et al., 2019).

En pacientes con cáncer de cuello uterino se identificó que los niveles altos en la expresión de PAK4 se encontraban directamente relacionados con el estadio del cáncer, metástasis en nódulos linfáticos y grado histológico de los pacientes, pero no guardaban ninguna relación con la edad, infección por VPH o el tamaño tumoral. Por otra parte se observó que los tiempos de supervivencia celular fueron menores en líneas celulares provenientes de pacientes que expresaron altos niveles de PAK4 y viceversa, posterior al tratamiento con diferentes concentraciones de CISPLATINO, además el bloqueo de PAK4 evidenció un incremento notable de la sensibilidad al CISPLATINO mediada por la inhibición de la fosforilación de Akt (Shu, X. et al., 2015). Los resultados anteriores

permiten establecer que altos niveles de expresión de PAK4 en pacientes con cáncer de cuello uterino, promueven la resistencia al tratamiento con CISPLATINO.

La fosfoproteína secretada 1 (SPP1, por sus siglas en inglés) también conocida como osteopontina (OPN, por sus siglas en inglés) controla el crecimiento celular, proliferación, migración y apoptosis. Se ha evidenciado que en cáncer de cuello uterino está involucrado en la sobre regulación del crecimiento celular e inhibición de la apoptosis por la activación de la vía de señalización PI3K/Akt (Chen, X. et al., 2019). Los niveles de OPN se observaron ampliamente incrementados tanto en tejidos como en líneas celulares de cáncer de cuello uterino. Adicionalmente, la OPN se evidenció sobreexpresada en líneas celulares resistentes al CISPLATINO, favoreciendo la formación de colonias posterior al tratamiento con diferentes concentraciones del fármaco e inhibiendo la apoptosis celular. Además la vía de señalización PI3K/Akt fue suprimida bajo la combinación del silenciamiento de OPN y el tratamiento con CISPLATINO (Chen, X. et al., 2019). Lo anterior permite establecer que la expresión de OPN aumenta significativamente la resistencia al tratamiento, mientras que mejora la sensibilidad al mismo por medio de la inactivación de la vía de señalización PI3K/Akt.

3.3.Desregulación de los componentes de la vía de la Wnt/ β -catenina asociada con la resistencia a quimioterapia en cáncer de cuello uterino.

Miembros de la familia Wnt de factores de crecimiento secretados, juegan un papel fundamental durante la embriogénesis regulando el crecimiento celular, proliferación, migración, polaridad tisular y oncogénesis, además contribuyen al desarrollo del sistema urogenital. En la vía canónica

Wnt, la β -catenina actúa como componente central. La unión de Wnt con su receptor (frizzled) y correceptor (LRP5/6) induce la acumulación citoplasmática y nuclear de la β -catenina, la cual a nivel nuclear se une a los miembros de la familia de factores transcripcionales del factor de células T (TCF, por sus siglas en inglés) resultando en la transcripción de los genes diana de Wnt. La desregulación de los componentes de la vía Wnt se encuentra asociado con el desarrollo de neoplasias malignas, incluyendo cáncer de colon, carcinoma hepatocelular, de ovario, endometrio, melanoma y carcinoma cervical (Bulut et al., 2011). Adicionalmente la expresión de la β -catenina nuclear se ha encontrado relacionada con mal pronóstico en líneas celulares de cáncer de cuello uterino en estadios avanzados que han sido expuestas a quimio y radioterapia, al evidenciar un promedio de supervivencia bastante alto post tratamiento. Por otra parte, la activación de Wnt/ β -catenina induce la quimio y radiorresistencia en células de cáncer de cuello uterino a través de la unión a la familia del receptor frizzled 1, induciendo la sobreexpresión del gen resistente a múltiples fármacos (Zhang, Y. et al., 2014)

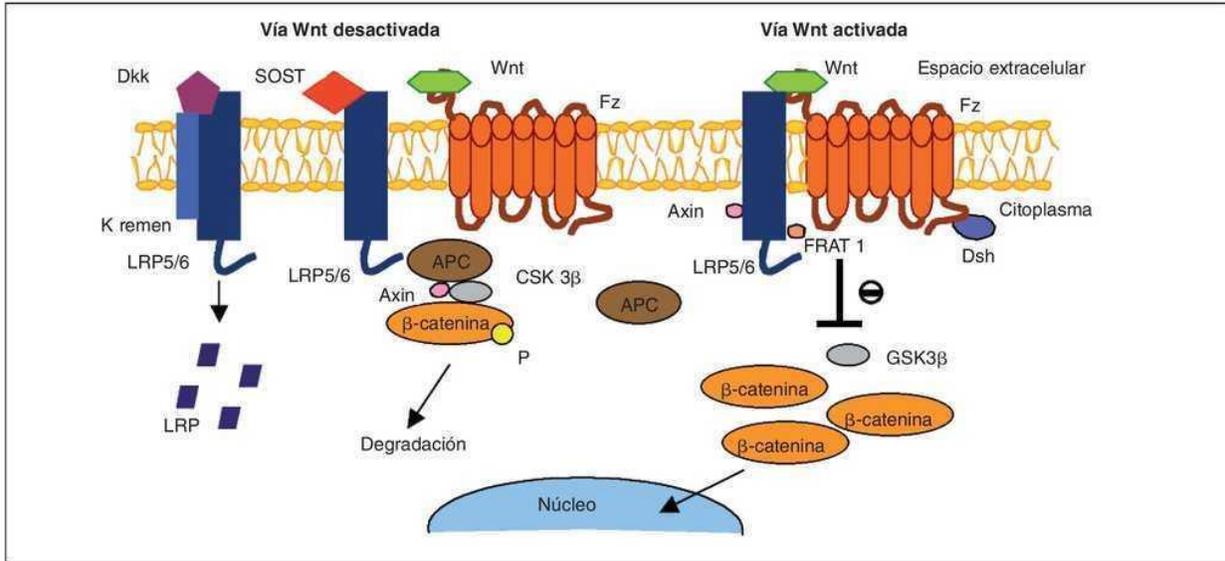


Figura 7: Vía de señalización Wnt. Cuando la vía está activada, Wnt forma un complejo con el receptor frizzled (Fz) y LRP5/6; beta-catenina se disocia de una serie de cofactores (APC, Axin y GSK3β), impidiendo así su fosforilación. Tomada de *Receptor Wnt: Fisiología, fisiopatología y potenciales nuevas dianas terapéuticas* / REEMO (elsevier.es)

La metiladenosina-N⁶ (m⁶A) es la modificación más abundante del ARNm eucariota. La disfunción de los reguladores de m⁶A se ha identificado relacionados con procesos biológicos y patológicos, particularmente en la iniciación y progresión del cáncer. Recientemente la proteína asociada a la masa grasa y la obesidad (FTO, por sus siglas en inglés) fue identificada como demetilasa, por lo que es posible establecer que m⁶A es reversible igual que los procesos que pueden regular la estabilidad del mRNA, empalme, transporte, localización y traducción, como también el procesamiento de la interacción microARN y proteína-ARN. Se ha descubierto que FTO controla diferentes aspectos del proceso biológico, como la señalización dopaminérgica y la adipogénesis, además su disfunción se encuentra implicada en el desarrollo de diferentes cáncer, incluso en el control de la progresión del cáncer de cuello uterino (Zou, D. et al., 2019).

En líneas celulares de cáncer de cuello uterino (C33A y SiHa) que sobreexpresaron FTO la viabilidad de las células se evidenció aumentada después del tratamiento con diferentes concentraciones de CISPLATINO y radiación γ , en comparación con las células que no sobreexpresaron FTO. Además, la formación de colonias mostró un aumento dramático en el crecimiento clonogénico después de varias dosis de radiación y exposición a CISPLATINO, mientras que bajo el silenciamiento de FTO se evidenció mayor respuesta a la irradiación en la línea celular SiHa. Por otra parte, la sobre regulación de FTO aumentó los niveles de expresión de la β -catenina en la línea celular SiHa, y junto con el bloqueo de la β -catenina se mejoró la sensibilidad a los tratamientos en líneas celulares que sobreexpresan FTO. Al revisar los niveles de m⁶A del mensajero de β -catenina, se observan disminuidos con la sobreexpresión de FTO (Zhou, S. et al., 2018). A partir de los resultados anteriores se puede establecer que la expresión de FTO aumenta la resistencia a la quimio y radioterapia a través de la regulación positiva de la expresión de la β -catenina disminuyendo la metilación de m⁶A del ARNm de la β -catenina.

La poli isomerías 1 (Pin1) cataliza los cambios conformacionales en ciertas claves dirigidas por sitios de fosforilación prolina y funciona como catalizador para múltiples vías oncogénicas. Se sobreexpresa en diferentes cáncer humanos, y desempeña un papel fundamental en la proliferación celular y la señalización oncogénica a través de la regulación de la expresión del gen ciclina D1. En cáncer de cuello uterino se ha encontrado Pin1 sobreexpresada a nivel celular y tisular. Por otra parte, es una enzima fundamental en la activación del factor de transcripción FOXM1 y se encuentra estrechamente asociado con la expresión del mismo, puede activar la vía de señalización

Wnt/ β -catenina, cuya actividad transcripcional también puede ser mejorada por la acción de FOXM1 (Li, H. et al., 2006).

FOXM1 es un factor de transcripción esencial en la proliferación y apoptosis, también en el desarrollo y función de muchos órganos. Regula un número importante de factores clave en el ciclo celular que regulan la transición de la fase G1 a la S, y la progresión de la fase G2 a la M, así como la mitosis celular. La pérdida de la expresión de FOXM1 causa muerte celular gracias a defectos del huso mitótico, retrasa las células en la mitosis e induce una catástrofe mitótica. La expresión aberrante de FOXM1 se encuentra asociada con neoplasias humanas como el carcinoma hepatocelular, cáncer de mama y pulmón. En particular se ha encontrado sobreexpresado en cáncer de cuello uterino (Chan, D. et al., 2008).

En líneas celulares resistentes al tratamiento con diferentes concentraciones de CISPLATINO, los niveles de expresión de Pin 1 se encontraron fuertemente aumentados, incluso se evidenciaron niveles mayores cuando las células mostraban mayor resistencia al fármaco. Por otra parte, la expresión de FOXM1 mostró el mismo patrón de expresión de Pin1, además el silenciamiento de Pin1 redujo los niveles de expresión de FOXM1, permitiendo establecer que Pin1 regula la expresión de FOXM1 en líneas celulares quimio resistentes. También, la sobreexpresión de Pin 1 incrementó la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina y los niveles de expresión de la ciclina D1, mientras que su silenciamiento redujo la actividad de esta vía y la ciclina (Wang, T. et al., 2016). De acuerdo con los resultados anteriores, se puede afirmar que la expresión de Pin 1 modula la quimio resistencia en líneas celulares de cáncer de cuello uterino por medio de la

regulación en la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina y la expresión del factor de transcripción FOXM1.

4. Asociación de la infección por Virus del papiloma humano (VPH) con la modulación de la respuesta a quimio y radioterapia.

El virus del papiloma humano (VPH) infecta las capas basales del epitelio estratificado, seguido de la abrasión tisular y durante la división celular. En células que contienen VPH el ciclo celular progresa con la respuesta al daño en el ADN activada y la replicación del ADN viral continúa, por lo que es evidente que el virus ha desarrollado mecanismos que encienden la respuesta al daño en el ADN pero a la vez permiten la progresión del ciclo celular junto con la replicación del ADN del hospedero y del virus (Bristol, M. et al., 2017). Durante la infección por una cepa de alto riesgo de VPH de las células diana, los virus se unen a los receptores en la superficie celular, lo que promueve la internalización del virus, finalmente el ADN viral se libera y transporta a través de los endosomas y lisosomas al núcleo celular para dar paso a la síntesis de las oncoproteínas virales E6 y E7 (Organista, J. et al., 2019). las cuales una vez expresadas se dirigen hacia p53 y a la proteína supresora tumoral asociada al retinoblastoma (pRb) respectivamente, lo que causa su degradación e inactivación y la promoción de la proliferación celular (Ver figura 8) (Bristol, M. et al., 2017). El gen supresor tumoral p53 es el gen mutado más frecuente en pacientes con cáncer. El p53 mutado es usualmente disfuncional y su capacidad de inducir apoptosis es inhabilitada, permitiendo la progresión incontrolada de la proliferación celular y el desarrollo tumoral (Hoffmann, T. et al., 2008).

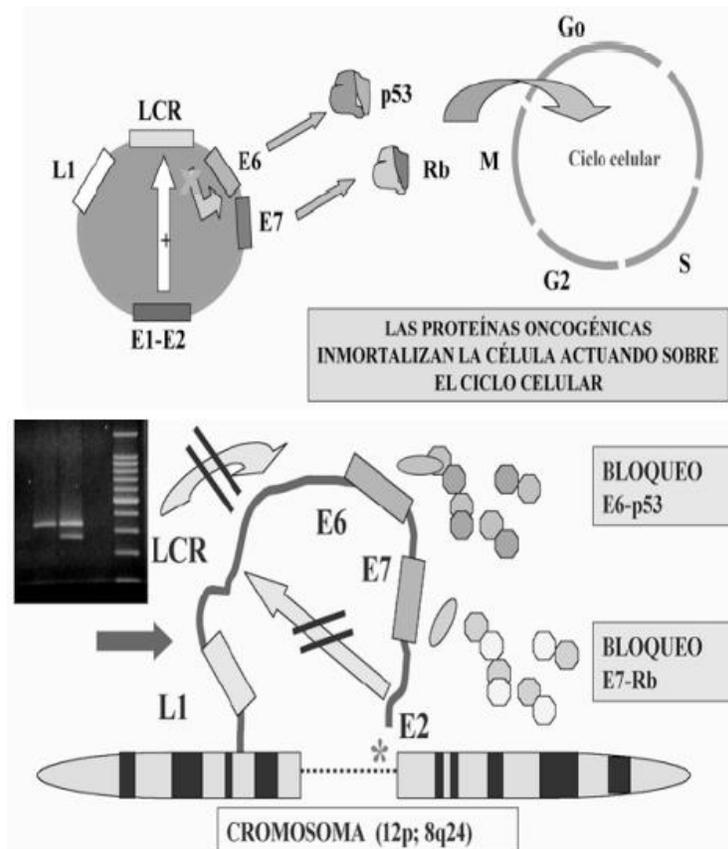


Figura 8: Oncogénesis por VPH. Tomada de (Alaguero, C. 2017)

En el epitelio cervical la zona de transformación es un nicho de células con perfil de expresión único y características embrionarias. Dentro de esta misma zona, se encuentran las células madre del epitelio cervical, que son blanco de las cepas de alto riesgo de VPH y están involucradas en la transformación maligna. Las células madre de cáncer son un tipo de células tumorales con la capacidad de autorrenovación, que mantienen el crecimiento tumoral y la proliferación celular, además de contribuir al potencial tumorigénico del cáncer que incluye la resistencia a la radiación y fármacos citotóxicos. Por medio de la sobreexpresión de las oncoproteína E6 y E7 las cepas de alto riesgo promueven el desarrollo del cáncer (Organista, J. et al., 2019).

Otro de los tratamientos utilizados en combinación con quimio y radioterapia en pacientes con tumores sólidos, es el uso de glucocorticoides gracias a sus efectos en la reducción de náuseas, protección del tejido sano de los efectos secundarios citotóxicos y reducción de reacciones tisulares como la inflamación en contra al crecimiento tumoral invasivo (Zhang, C. et al., 2006).

En tejidos de cáncer cervical los niveles de expresión del miARN-145, un supresor tumoral que se encuentra modulado por p53 de forma dependiente e independiente de la transcripción, se observaron significativamente disminuidos. Después del tratamiento con cortisol a la línea celular de cáncer de cuello uterino HeLa VPH-18+, CaSki y SiHa VPH-16+, se observó la disminución marcada de los niveles de expresión del miARN-145 y de p53, mientras que los niveles de expresión de la oncoproteína E6 se evidenciaron marcadamente elevados, lo que permite establecer que la modulación de los niveles de expresión del miARN-145 se puede llevar a cabo por medio de la inhibición en la expresión de p53 mediada por el cortisol. Adicionalmente, posterior al tratamiento con mitomicina en presencia y ausencia de cortisol, se observó reducida la citotoxicidad del fármaco en presencia del cortisol, evidenciando así el aumento en la resistencia al tratamiento lo que se relaciona directamente con la modulación negativa de la expresión del p53 y el miARN-145 y positiva de la oncoproteína E6 (Shi, M. et al., 2012).

Los miembros de la familia de las aldo-ceto reductasas 1C (AKR, por sus siglas en inglés) son hidroxisteriodes hidrogenasas dependientes de NADPH, se encuentran divididas en subfamilias AKR1C1-AKR1C4. Son altamente específicas para sustratos de compuestos carbonilo no esteroideos. A excepción de AKR1C4 que es específica para hígado, las otras AKR1C se expresan de forma ubicua en tejido normales y regulan de forma positiva la carcinogénesis. Recientemente

se evidenció que la expresión aberrante de AKR1C1-AKR1C3 induce el desarrollo de resistencia a fármacos quimioterapéuticos (Matsunaga, T. et al., 2013). En la línea celular de cáncer cervical SiHa, en la cual se ha evidenciado la adquisición de resistencia a múltiples fármacos luego de la exposición al epóxido, los niveles de transcripción de AKR1C1-AKR1C3 se observaron incrementados casi cuatro veces en comparación con la línea parental, adicionalmente los niveles de los oncogenes 16E6*I (proteína truncada de E6 producida por la transcripción viral de E6 mediada por la cepa 16 de VPH) y 16E7 (Wanichwatanadecha, P. et al., 2012). Los resultados anteriores permiten establecer que la expresión de los oncogenes del VPH16 se encuentra implicada en la regulación positiva de AKR1C1-AKR1C3 promoviendo la adquisición del gen resistente a múltiples fármacos y así reduciendo la sensibilidad a los tratamientos con fármacos quimioterapéuticos.

El factor de transcripción AP-1 juega un papel central en la regulación transcripcional de las cepas de alto riesgo de VPH, particularmente VPH16 y VPH18. La expresión constitutiva de las oncoproteínas E6 y E7 depende principalmente de la disponibilidad de AP-1 en la célula del huésped (Prusty, B. et al., 2005). Al analizar los niveles de expresión de AP-1 en esferas cervicales extraídas de células de cáncer cervical post irradiación UV, se observaron elevados los niveles de expresión de dos miembros de la familia de AP-1, c-Jun y c-Fos, además fueron localizadas en el núcleo de las esferas. Adicionalmente después del tratamiento continuo con irradiación UV durante 4 horas, los niveles de expresión de c-Jun y c-Fos aumentaron marcadamente, lo que promovió la proliferación celular e inhibió la apoptosis de las esferas (Tyagi, A. et al., 2017). Gracias a estos resultados, es posible establecer que la resistencia a la radioterapia se encuentra modulada por la expresión de miembros de la familia AP-1 en células de cáncer de cuello uterino.

CONCLUSIONES

1. Los tratamientos más utilizados para el cáncer de cuello uterino involucran la histerectomía parcial o total, combinada en la mayoría de los casos con quimio y radioterapia pre y post quirúrgica. Durante los estadios IB y IIA la remoción quirúrgica del área afectada puede realizarse sin asociación con radio o quimioterapia, adicionalmente en los mismos estadios, la radioterapia puede ser implementada sin combinación con fármacos quimioterapéuticos ni cirugía. En los estadios en los que se evidencia el avance del cáncer fuera del cuello uterino y posterior metástasis en órganos adyacentes, la histerectomía se combina con radio y quimioterapia, iniciando con la administración de fármacos endovenosos para reducir el tamaño tumoral y posterior irradiación γ . Después de la cirugía, estos tratamientos tienen como objetivo evitar la reaparición de las células cancerosas y su proliferación.
2. Diferentes fármacos son utilizados para el desarrollo de la quimioterapia, en el caso específico del cáncer de cuello uterino los más utilizados son el PACLITAXEL y el CISPLATINO; de los dos el que ha mostrado mejores resultado es el CISPLATINO, un derivado del platino que al liberar ión Pt^{2+} , permite la unión de este con las purinas del ADN genómico y mitocondrial, deteniendo su transcripción y por ende la proliferación celular. El PACLITAXEL no ha presentado la misma efectividad, sin embargo se emplea combinado con CISPLATINO, evidenciando mejores resultados.
3. La resistencia a la quimio y radioterapia se encontró asociada a diferentes factores tales como: la modulación de la transición epitelial-mesenquimal y la regulación de la expresión génica y proteica por diferentes microARNs, la expresión de ARNs de cadena larga no codificante, la desregulación de algunos componentes en las vías de señalización ERK,

PI3K y Wnt/ β -catenina y finalmente la asociación con la infección por una cepa de alto riesgo de VPH.

4. Diferentes miARNs se encuentran sobre o infra expresados en líneas celulares de cáncer de cuello uterino, estos modulan de forma negativa las proteínas que son complementarias con su extremos no codificante 3'-UTR, de esta forma inducen la transición epitelial-mesenquimal desde la modulación negativa del marcador epitelial E-cadherina y positiva de los marcadores mesenquimales N-cadherina, vimentina y ZEB1/2, además regulan la expresión de genes como PTEN y Sem4C, y de proteínas como la survivina, asociada con la inhibición de la apoptosis.
5. La expresión de los ARNs de cadena larga no codificante se encuentra asociada con diferentes funciones como la regulación tumoral, inducción de la apoptosis e inhibición de la proliferación y migración celular. Estos intervienen de forma directa en la modulación de la expresión de genes y proteínas posterior a los tratamientos, que desencadenan la disminución en la sensibilidad a los mismos.
6. La desregulación de algunos componentes en las vías de señalización ERK, PI3K y Wnt/ β -catenina, desencadenan la resistencia a los tratamientos gracias al incremento en la proliferación celular e inhibición de la apoptosis.
7. La resistencia se encontró asociada a la infección por una cepa de alto riesgo de VPH causada particularmente por la sobreexpresión de las oncoproteínas E6 y E7 que se encargan de la inhibición del gen antitumoral p53 y la proteína supresora tumoral pRb respectivamente, incrementando así la tumorigénesis y reduciendo la sensibilidad a los tratamientos.

PERSPECTIVAS

Durante la búsqueda y clasificación de las publicaciones, encontramos una dificultad en particular y fue la falta de información relacionada con el tema. Particularmente en Colombia, no existe evidencia de haber avanzado en la investigación de la resistencia que se genera a la quimio y radioterapia en pacientes con cáncer de cuello uterino, es más, no hay cifras relevantes en cuanto a la incidencia y muerte por esta causa. Sin embargo, el Ministerio de salud reporta que por cada 12 casos 5 culminan en muerte, pero no hay avances para intentar entender y frenar el incremento de esas muertes. Infortunadamente se ha restado mucha importancia a este tipo de cáncer, debido en parte a las variadas estrategias de prevención que se han generado desde entidades como la OMS y que se cree pueden erradicarlo; sin embargo, la enfermedad sigue avanzando posiblemente por desconocimiento y falta de acceso a los recursos de salud de la población femenina. A nivel mundial el panorama es muy similar, y las cifras de muerte, indican que no es suficiente detenernos en su prevención.

Por lo anterior, es fundamental tomar como base los hallazgos realizados en este trabajo de profundización que permitan iniciar la investigación de las causas específicas en Colombia que están generando la resistencia frente a los tratamientos y con ello, aumentando los casos de muerte por esta enfermedad.

Por otra parte, es fundamental dar inicio a los tratamientos para el cáncer de cuello uterino, desde el conocimiento del perfil génico de los pacientes, de esta forma conocer los niveles de expresión

de los genes, proteínas, miARNs y ARNncl analizados en este trabajo de profundización y así dar paso al bloqueo o sobreexpresión de estos para evitar la resistencia a los tratamientos.

LITERATURA CITADA

- Alaguero, C. C. (n.d.). GENOTIPADO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN CIN I. In S. L. 3 ciencias Editorial Área de Innovación y Desarrollo (Ed.), *Africa's potential for the ecological intensification of agriculture* (1st ed., Vol. 53). Alicante.
- Altieri, D. C. (2003). Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nature Reviews Cancer*, 3(1), 46–54. <https://doi.org/10.1038/nrc968>
- Arbyn, M., Weiderpass, E., Bruni, L., Sanjosé, S. De, Saraiya, M., Ferlay, J., ... Foundation, M. G. (2019). *Articles Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018 : a worldwide analysis*. (19), 1–13. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
- Arjumand, W., Merry, C. D., Wang, C., Saba, E., McIntyre, J. B., Fang, S., ... Lees-Miller, S. P. (2016). Phosphatidyl inositol-3 kinase (PIK3CA) E545K mutation confers cisplatin resistance and a migratory phenotype in cervical cancer cells. *Oncotarget*, 7(50), 82424–82439. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10955>
- Aungsumart, S., Vaeteewoottacharn, K., & Chamutpong, S. (2007). *Chemo-radio Resistance in Cervical Cancer Induced by HPV16 E7*. 33, 5–11. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2007.33.005>
- Baseman, J., & Koutsky, L. (2005). *The epidemiology of human papillomavirus infections*. 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.12.008>
- Beltrán, L., & Jorge, F. (2014). *Aspectos generales sobre la estructura y función de las proteínas codificadas por el virus del Papiloma Humano*. 45(2), 108–118.
- Benedi, J., & Gómez del Río, Á. (2006). *Fármacos antineoplásicos (I)*. 20(I).

- Bristol, M. L., Das, D., & Morgan, I. M. (2017). Why human papillomaviruses activate the DNA damage response (DDR) and how cellular and viral replication persists in the presence of DDR signaling. *Viruses*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/v9100268>
- Broutet, N., O'Neal, L., Ullrich, A., & Bloem, P. (2014). Comprehensive Cervical Cancer Control. In *World Health Organization*.
- Bruni, L., Diaz, M., Castellsague, X., Ferrer, E., Bosch, F. X., & Sanjose, S. De. (2010). *Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents : Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings*. 202. <https://doi.org/10.1086/657321>
- Bulut, G., Fallen, S., Beauchamp, E. M., Drebing, L. E., Sun, J., Berry, D. L., ... Üren, A. (2011). Beta-catenin accelerates human papilloma virus type-16 mediated cervical carcinogenesis in transgenic mice. *PLoS ONE*, 6(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027243>
- Burd, E. (2003). Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 16(1), 1–17. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.1.1>
- Cai, Y., Yu, X., Hu, S., & Yu, J. (2009). A Brief Review on the Mechanisms of miRNA Regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 7(4).
- Cao, S., Liu, W., Li, F., Zhao, W., & Qin, C. (2014). Decreased expression of lncRNA GAS5 predicts a poor prognosis in cervical cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(10), 6776–6783.
- Chan, D., Yu, S., Chiu, P., Yao, K., Liu, V., Cheung, A., & Ngan, H. (2008). Over-expression of FOXM1 transcription factor is associated with cervical cancer progression and

- pathogenesis. *Journal of Pathology*, (March), 231–241. <https://doi.org/10.1002/path>
- Chaudhuri, R., & Nussenzweig, A. A. (2017). The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 18(10), 610–621. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.53>
- Chen, X., Xiong, D., Ye, L., Yang, H., Mei, S., Wu, J., ... Mi, R. (2019). SPP1 inhibition improves the cisplatin chemo-sensitivity of cervical cancer cell lines. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 83(4), 603–613. <https://doi.org/10.1007/s00280-018-3759-5>
- Feng, L. L., Shen, F. R., Zhou, J. H., & Chen, Y. G. (2019). Expression of the lncRNA ZFAS1 in cervical cancer and its correlation with prognosis and chemosensitivity. *Gene*, 696(January), 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.01.025>
- Gao, J., Liu, L., Li, G., Cai, M., Tan, C., Han, X., & Han, L. (2019). LncRNA GAS5 confers the radio sensitivity of cervical cancer cells via regulating miR-106b/IER3 axis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 994–1001. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.176>
- Ghiringhelli, F., & Apetoh, L. (2014). *The interplay between the immune system and chemotherapy : emerging methods for optimizing therapy*. 19–30.
- Ghittoni, R., Accardi, R., Hasan, U., Gheit, T., Sylla, B., & Tommasino, M. (2010). The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. *Virus Genes*, 40(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11262-009-0412-8>
- Ghosh, S. (2019). Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*, 88(October 2018), 102925. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>

- GOMEZ, M. Q., VERA, C. T. V., & FIGUEROA, A. E. R. (2006). *FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON LESIONES PRECANCEROSAS DEL CUELLO UTERINO EN PACIENTES ATENDIDAS EN CONSULTORIO DE GINECOLOGIA HOSPITAL VICTOR RAMOS GUARDIA HUARAZ 2014- 2015.*
- Guo, H. M., Yang, S. H., Zhao, S. Z., Li, L., Yan, M. T., & Fan, M. C. (2018). LncRNA NEAT1 regulates cervical carcinoma proliferation and invasion by targeting AKT/PI3K. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(13), 4090–4097.
https://doi.org/10.26355/eurrev_201807_15400
- Han, D., Wang, J., & Cheng, G. (2018). *LncRNA NEAT1 enhances the radio-resistance of cervical cancer via miR-193b-3p / CCND1 axis.* 9(2), 2395–2409.
- Harima, Y., Sawada, S., Nagata, K., Sougawa, M., Ostapenko, V., & Ohnishi, T. (2001). Mutation of the PTEN gene in advanced cervical cancer correlated with tumor progression and poor outcome after radiotherapy. *International Journal of Oncology*, 18(3), 493–497.
<https://doi.org/10.3892/ijo.18.3.493>
- Harry, J., Nadia, N., & Bobbie, S. (2007). *Prevention, Diagnosis, and Treatment of Cervical Cancer.* 82(December), 1566–1574. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(11\)61104-X](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(11)61104-X)
- Herrero, R., Castellsagué, X., Shah, K. V, Ph, D., Snijders, P. J. F., Ph, D., & Meijer, C. J. L. M. (2003). *Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer.*
- Hoffmann, T. K., Sonkoly, E., Hauser, U., van Lierop, A., Whiteside, T. L., Klussmann, J. P., ... Balz, V. (2008). Alterations in the p53 pathway and their association with radio- and chemosensitivity in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, 44(12), 1100–

1109. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2008.02.006>

Hua, F., Liu, S., Zhu, L., Ma, N., Jiang, S., & Yang, J. (2017). Highly expressed long non-coding RNA NNT-AS1 promotes cell proliferation and invasion through Wnt/ β -catenin signaling pathway in cervical cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 92, 1128–1134.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.03.057>

Huang, J., Liu, T., Shang, C., Zhao, Y., Wang, W., Liang, Y., ... Yao, S. (2018). Identification of lncRNAs by microarray analysis reveals the potential role of lncRNAs in cervical cancer pathogenesis. *Oncology Letters*, 15(4), 5584–5592. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8037>

Jacobsen, A., Silber, J., Harinath, G., Huse, J. T. ., Schultz, N., & Sander, C. (2013). Analysis of microRNA-target interactions across diverse cancer types. *Nature Structural and Molecular Biology*, 20(11), 1325–1332. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2678>

Jang, H. S., Woo, S. R., Song, K. H., Cho, H., Chay, D. B., Hong, S. O., ... Kim, T. W. (2017). API5 induces cisplatin resistance through FGFR signaling in human cancer cells.

Experimental and Molecular Medicine, 49(9). <https://doi.org/10.1038/emm.2017.130>

Jesús, M. G., Freddy, CÁL de Sánchez González Roberto Alejandro, C. Á. L., Miguel, D. A. S., Marisol, E. R., Lugo, Ángel, T., & Carmen, T. M. K. del. (2015). FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO rs11730582 EN LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN OSTEOPONTINA EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA. *Congreso Internacional En Salud Pública y Desastres*, 2, 18–20.

Ji, Y., & Tulin, A. V. (2010). The roles of PARP1 in gene control and cell differentiation. *Current Opinion in Genetics and Development*, 20(5), 512–518.

<https://doi.org/10.1016/j.gde.2010.06.001>

- Jiménez, M. P. (2018). CANCER DE MAMA Y CUELLO UTERINO COLOMBIA, 2018. *VIGILANCIA Y ANÁLISIS DEL RIESGO EN SALUD PÚBLICA PROTOCOLO DE VIGILANCIA EN SALUD PÚBLICA CÁNCER DE MAMA Y CUELLO UTERINO*, 2, 15.
- Jin, H., Lee, K., Kim, Y. H., Oh, H. K., Maeng, Y. I., Kim, T. H., ... Bae, J. (2016). Scaffold protein FHL2 facilitates MDM2-mediated degradation of IER3 to regulate proliferation of cervical cancer cells. *Oncogene*, 35(39), 5106–5118. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.54>
- Jin, Hanyong, Suh, D. S., Kim, T. H., Yeom, J. H., Lee, K., & Bae, J. (2015). IER3 is a crucial mediator of TAp73 β -induced apoptosis in cervical cancer and confers etoposide sensitivity. *Scientific Reports*, 5, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep08367>
- Jing, L., Bo, W., Yourong, F., Tian, W., Shixuan, W., & Mingfu, W. (2019). Sema4C mediates EMT inducing chemotherapeutic resistance of miR-31-3p in cervical cancer cells. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54177-z>
- Kari P Braaten, MD, MPH, Marc R Laufer, M. (2008). Human Papillomavirus (HPV), HPV-Related Disease, and the HPV Vaccine. *Obstetrics and Gynecology*, 1(1), 2–10.
- Kim, B. W., Cho, H., Ylaya, K., Kitano, H., Chung, J. Y., Hewitt, S. M., & Kim, J. H. (2017). Bcl-2-like protein 11 (BIM) expression is associated with favorable prognosis for patients with cervical cancer. *Anticancer Research*, 37(9), 4873–4879. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11896>
- Kogo, R., How, C., Chaudary, N., Bruce, J., Shi, W., Hill, R. P., ... Liu, F. F. (2015). The microRNA-218~Survivin axis regulates migration, invasion, and lymph node metastasis in cervical cancer. *Oncotarget*, 6(2), 1090–1100. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2836>

- Kohno, M., & Pouyssegur, J. (2009). Annals of Medicine Targeting the ERK signaling pathway in cancer therapy. *Annals of Medicine*, 3890. <https://doi.org/10.1080/07853890600551037>
- Kuhn, D. E., Martin, M. M., Feldman, D. S., Jr., A. V. T., Nuovo, G. J., & Elton, T. S. (2007). Experimental validation of miRNA targets. *Methods*, 44, 47–54.
- Lajer, C. B., Garnæs, E., Friis-Hansen, L., Norrild, B., Therkildsen, M. H., Glud, M., ... Nielsen, F. C. (2012). The role of miRNAs in human papilloma virus (HPV)-associated cancers: Bridging between HPV-related head and neck cancer and cervical cancer. *British Journal of Cancer*, 106(9), 1526–1534. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.109>
- Laplante, M., & Sabatini, D. M. (2009). mTOR signaling at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(20), 3589–3594. <https://doi.org/10.1242/jcs.051011>
- Lee, M. Y., Chou, C. Y., Tang, M. J., & Shen, M. R. (2008). Epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer: Correlation with tumor progression, epidermal growth factor receptor overexpression, and snail up-regulation. *Clinical Cancer Research*, 14(15), 4743–4750. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0234>
- Li, H., Wang, S., Zhu, T., Zhou, J., Xu, Q., Lu, Y., & Ma, D. (2006). Pin1 contributes to cervical tumorigenesis by regulating cyclin D1 expression. *Oncology Reports*, 16(3), 491–496. <https://doi.org/10.3892/or.16.3.491>
- Li, J., Li, X., Wang, J., Wang, Y., & Qiu, H. (2015). MicroRNA-218 increases cellular sensitivity to Rapamycin via targeting Rictor in cervical cancer. *Apmis*, 123(7), 562–570. <https://doi.org/10.1111/apm.12387>
- Li, P., Xu, M., Cai, H., Thapa, N., He, C., & Song, Z. (2019). The effect of HMGB1 on the

- clinicopathological and prognostic features of cervical cancer. *Bioscience Reports*, 39(5), 1–11. <https://doi.org/10.1042/BSR20181016>
- Liu, Y., Guo, R., Qiao, Y., Han, L., & Liu, M. (2020). LncRNA NNT-AS1 contributes to the cisplatin resistance of cervical cancer through NNT-AS1/miR-186/HMGB1 axis. *Cancer Cell International*, 20(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01278-9>
- Martínez, S. V. (2005). Citología cervical. *Ginecología y Obstetricia de México*, 66(3), 351.
- Matsunaga, T., Hojo, A., Yamane, Y., Endo, S., El-Kabbani, O., & Hara, A. (2013). Pathophysiological roles of aldo-keto reductases (AKR1C1 and AKR1C3) in development of cisplatin resistance in human colon cancers. *Chemico-Biological Interactions*, 202(1–3), 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.09.024>
- Mccubrey, J. A., Steelman, L. S., Chappell, W. H., Abrams, S. L., Wong, E. W. T., Chang, F., ... Franklin, R. A. (2007). Roles of the Raf / MEK / ERK pathway in cell growth , malignant transformation and drug resistance. *1773*, 1263–1284. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.10.001>
- Muñoz, N., & Bravo, L. E. (2012). Epidemiology of cervical cancer in Colombia. *Colombia Médica*, 43.
- Mutlu, M., Raza, U., Saatci, Ö., Eyüpoğlu, E., Yurdusev, E., & Şahin, Ö. (2016). miR-200c: a versatile watchdog in cancer progression, EMT, and drug resistance. *Journal of Molecular Medicine*, 94(6), 629–644. <https://doi.org/10.1007/s00109-016-1420-5>
- Ni, J., Wang, M., Wang, M., Fu, S., Zhou, D., Zhang, Z., & Han, S. (2011). CCND1 G870A polymorphism and cervical cancer risk: A case-control study and meta-analysis. *Journal of*

Cancer Research and Clinical Oncology, 137(3), 489–494. <https://doi.org/10.1007/s00432-010-0904-x>

Organista Nava, J., Gómez Gómez, Y., GaribayCerdenares, Olga Lilia Antonio Marco, L. V., & Illades-Aguiar, B. (2019). Cervical cancer stem cell-associated genes: Prognostic implications in cervical cancer. *Oncology Letters*, 18(1), 7–14. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10307>

Pan, J., Xu, X., & Wang, G. (2020). lncRNA ZFAS1 is involved in the proliferation, invasion and metastasis of prostate cancer cells through competitively binding to miR-135a-5p. *Cancer Management and Research*, 12, 1135–1149. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S237439>

Pan, J. Y., Zhang, F., Sun, C. C., Li, S. J., Li, G., Gong, F. Y., ... Li, D. J. (2017). miR-134: A Human Cancer Suppressor? *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 6(115), 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2016.11.003>

Pedroza-Torres, A., López-Urrutia, E., García-Castillo, V., Jacobo-Herrera, N., Herrera, L. A., Peralta-Zaragoza, O., ... Pérez-Plasencia, C. (2014). MicroRNAs in cervical cancer: Evidences for a miRNA profile deregulated by HPV and its impact on radio-resistance. *Molecules*, 19(5), 6263–6281. <https://doi.org/10.3390/molecules19056263>

Peng, L., Yuan, X., Jiang, B., Tang, Z., & Li, G. C. (2016). lncRNAs: key players and novel insights into cervical cancer. *Tumor Biology*, 37(3), 2779–2788. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4663-9>

Pinzón, C. E., Serrano, M. L., & Sanabria, M. C. (2009). Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. *Revista Ciencias de La Salud*, 7(2), 47–66.

Plunkett, M., Brestovac, B., Thompson, J., Sterrett, G., Fillion, P., Smith, D., & Frost, F. (2003).

The value of HPV DNA typing in the distinction between adenocarcinoma of endocervical and endometrial origin. *Taylor and Francis Health Sciences*, 35(October), 397–401.

<https://doi.org/10.1080/00313020310001602611>

Prusty, B. K., & Das, B. C. (2005). Constitutive activation of transcription factor AP-1 in

cervical cancer and suppression of human papillomavirus (HPV) transcription and AP-1 activity in HeLa cells by curcumin. *International Journal of Cancer*, 113(6), 951–960.

<https://doi.org/10.1002/ijc.20668>

Qiao, Z., Dai, H., Zhang, Y., Li, Q., Zhao, M., & Yue, T. (2020). LncRNA NCK1-AS1 promotes

cancer cell proliferation and increase cell stemness in urinary bladder cancer patients by downregulating miR-143. *Cancer Management and Research*, 12, 1661–1668.

<https://doi.org/10.2147/CMAR.S223172>

Qureshi, R., Arora, H., & Rizvi, M. A. (2015). EMT in cervical cancer: Its role in tumour

progression and response to therapy. *Cancer Letters*, 356(2), 321–331.

<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.09.021>

Reddy, K. B. (2015). MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer Cell International*.

Rose, P. G., Bundy, B. N., Watkins, E. B., Thigpen, J. T., Deppe, G., Maiman, M. A., ...

Insalaco, S. (1999). Concurrent Cisplatin-Based Radiotherapy and Chemotherapy for Locally Advanced Cervical Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 1144–1153.

Sadalla, J. C., De Andrade, J. M., Genta, M. L. N. D., & Baracat, E. C. (2015). Cervical cancer:

Whats new? *Revista Da Associacao Medica Brasileira*, 61(6), 536–542.

<https://doi.org/10.1590/1806-9282.61.06.536>

- Sarbassov, D. D., Ali, S. M., Kim, D.-H., Guertin, D. A., Latek, R. R., Erdjument-Bromage, H., ... Sabatini, D. M. (2004). Rictor, a Novel Binding Partner of mTOR, Defines a Rapamycin-Insensitive and Raptor-Independent Pathway that Regulates the Cytoskeleton. *Current Biology*, *14*, 1296–1302. <https://doi.org/10.1016/j>
- Saxena, A., Yashar, C., Taylor, D. D., & Gercel-taylor, C. (2005). *Cellular response to chemotherapy and radiation in cervical cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.12.045>
- SB, H. (1994). Taxol (paclitaxel): mechanisms of action. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, *5*, 3–6.
- Shen, Y, Wang, P., Li, Y., Ye, F., Wang, F., Wan, X., ... Xie, X. (2013). *miR-375 is upregulated in acquired paclitaxel resistance in cervical cancer*. (April), 92–99. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.308>
- Shen, Yuanming;, Zhou, J., Li, Y., Ye, F., Wan, X., Lu, W., ... Cheng, X. (2014). MiR-375 mediated acquired chemo-resistance in cervical cancer by facilitating EMT. *PLoS ONE*, *9*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109299>
- Shen, Yuanming, Zhou, J., Li, Y., Ye, F., Wan, X., Lu, W., ... Cheng, X. (2014). *miR-375 Mediated Acquired Chemo-Resistance in Cervical Cancer by Facilitating EMT*. *9*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109299>
- Shi, M., Du, L., Liu, D., Qian, L., Hu, M., Yu, M., ... Guo, N. (2012). Glucocorticoid regulation of a novel HPV-E6-p53- MiR-145 pathway modulates invasion and therapy resistance of cervical cancer cells. *Journal of Pathology*, *228*(2), 148–157. <https://doi.org/10.1002/path.3997>

- Shu, X. R., Wu, J., Sun, H., Chi, L. Q., & Wang, J. H. (2015). PAK4 confers the malignance of cervical cancers and contributes to the cisplatin-resistance in cervical cancer cells via PI3K/AKT pathway. *Diagnostic Pathology*, *10*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13000-015-0404-z>
- Song, J., & Li, Y. (2017). miR-25-3p reverses epithelial-mesenchymal transition via targeting Sema4C in cisplatin-resistance cervical cancer cells. *Cancer Science*, *108*(1), 23–31. <https://doi.org/10.1111/cas.13104>
- Song, K. H., Cho, H., Kim, S., Lee, H. J., Oh, S. J., Woo, S. R., ... Kim, T. W. (2017). API5 confers cancer stem cell-like properties through the FGF2-NANOG axis. *Oncogenesis*, *6*(1). <https://doi.org/10.1038/oncsis.2016.87>
- Tan, T. T., Degenhardt, K., Nelson, D. A., Beaudoin, B., Nieves-Neira, W., Bouillet, P., ... White, E. (2005). Key roles of BIM-driven apoptosis in epithelial tumors and rational chemotherapy. *Cancer Cell*, *7*(3), 227–238. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.02.008>
- Tejeda, M., Velasco, M., & Gómez, F. (2007). Estado actual de las vacunas frente al virus del papiloma humano (VPH). *Oncología*, *30*(2), 42–59.
- Tyagi, A., Vishnoi, K., Kaur, H., Srivastava, Y., Roy, B. G., Das, B. C., & Bharti, A. C. (2017). Cervical cancer stem cells manifest radioresistance: Association with upregulated AP-1 activity. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05162-x>
- Vahabi, M., Pulito, C., Sacconi, A., Donzelli, S., D'Andrea, M., Manciooco, V., ... Blandino, G. (2019). MiR-96-5p targets PTEN expression affecting radio-chemosensitivity of HNSCC cells. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, *38*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1119-x>

- Velásquez, A. (2016). *Cáncer de cérvix; respuesta a la Radioterapia y Quimioterapia concomitante en pacientes atendidos en el Centro Nacional de Radioterapia*. 1–49.
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R., & Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: A review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation*, *36*(3), 131–149. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.2003.00266.x>
- Wang, T., Liu, Z., Shi, F., & Wang, J. (2016). Pin1 modulates chemo-resistance by up-regulating FoxM1 and the involvements of Wnt/ β -catenin signaling pathway in cervical cancer. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *413*(1–2), 179–187. <https://doi.org/10.1007/s11010-015-2651-4>
- Wanichwatanadecha, P., Sirsisrimangkorn, S., Kaewprag, J., & Ponglikitmongkol, M. (2012). Transactivation activity of human papillomavirus type 16 E6*I on aldo-keto reductase genes enhances chemoresistance in cervical cancer cells. *Journal of General Virology*, *93*(5), 1081–1092. <https://doi.org/10.1099/vir.0.038265-0>
- Weinberg, R. A., & Kalluri, R. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of Clinical Investigation*, *119*(6), 1420–1428. <https://doi.org/10.1172/JCI39104.1420>
- Won, S. Y., Park, J. J., Shin, E. Y., & Kim, E. G. (2019). PAK4 signaling in health and disease: defining the PAK4–CREB axis. *Experimental and Molecular Medicine*, *51*(2). <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0204-0>
- Xiao, S. H., Ying, J. W., Ying, T. W., Xue, W., Li, Y. W., & Wang, Y. J. (2016). Cervical Cancer HeLa Cell Osteopontin Gene Suppression Model and Detection Detección y modelo de supresión del gen de la osteopontina de las células HeLa del cáncer cervical. *West Indian*

Med J, 65(4), 608. <https://doi.org/10.7727/wimj.2016.254>

Xu, X., Jiang, X., Chen, L., Zhao, Y., Huang, Z., Zhou, H., & Shi, M. (2019). MIR-181a promotes apoptosis and reduces cisplatin resistance by inhibiting osteopontin in cervical cancer cells. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 34(9), 559–565.

<https://doi.org/10.1089/cbr.2019.2858>

Yang, F., Guo, L., Cao, Y., Li, S., Li, J., & Liu, M. (2018). MicroRNA-7-5p promotes cisplatin resistance of cervical cancer cells and modulation of cellular energy homeostasis by regulating the expression of the PARP-1 and BCL2 genes. *Medical Science Monitor*, 24,

6506–6516. <https://doi.org/10.12659/MSM.910969>

Yu, M., Xu, B., Yang, H., Xue, S., Zhang, R., Zhang, H., ... Dai, Z. (2019). MicroRNA-218 regulates the chemo-sensitivity of cervical cancer cells through targeting survivin. *Cancer Management and Research*, 11, 6511–6519. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S199659>

Yuan, W., Xiaoyun, H., Haifeng, Q., Jing, L., Weixu, H., Ruofan, D., ... Zongji, S. (2014). MicroRNA-218 enhances the radiosensitivity of human cervical cancer via promoting radiation induced apoptosis. *International Journal of Medical Sciences*, 11(7), 691–696.

<https://doi.org/10.7150/ijms.8880>

Zhang, C., Beckermann, B., Kallifatidis, G., Liu, Z., Rittgen, W., Edler, L., ... Herr, I. (2006). Corticosteroids induce chemotherapy resistance in the majority of tumour cells from bone, brain, breast, cervix, melanoma and neuroblastoma. *International Journal of Oncology*,

29(5), 1295–1301. <https://doi.org/10.3892/ijo.29.5.1295>

Zhang, J., Zhang, Y., Liu, S., Zhang, Q., Wang, Y., Tong, L., ... Wei, L. (2013). Metadherin confers chemoresistance of cervical cancer cells by inducing autophagy and activating

ERK/NF- κ B pathway. *Tumor Biology*, 34(4), 2433–2440. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-0794-z>

Zhang, M., Hu, C., Tong, D., Xiang, S., Williams, K., Bai, W., ... Zhang, X. (2016). Ubiquitin-specific peptidase 10 (USP10) deubiquitinates and stabilizes MutS homolog 2 (MSH2) to regulate cellular sensitivity to DNA damage. *Journal of Biological Chemistry*, 291(20), 10783–10791. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.700047>

Zhang, W., Liu, Y. J., He, Y., & Chen, P. (2019). Suppression of long noncoding RNA NCK1-AS1 increases chemosensitivity to cisplatin in cervical cancer. *Journal of Cellular Physiology*, 234(4), 4302–4313. <https://doi.org/10.1002/jcp.27198>

Zhang, Y., Liu, B., Zhao, Q., Hou, T., & Huang, X. (2014). Nuclear localization of β -catenin is associated with poor survival and chemo-/radioresistance in human cervical squamous cell cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(7), 3908–3917.

Zhao, Y., Moran, M. S., Yang, Q., Liu, Q., Yuan, C., Hong, S., & Kong, B. (2012). Metadherin regulates radioresistance in cervical cancer cells. *Oncology Reports*, 27(5), 1520–1526. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1692>

Zhou, S., Bai, Z. L., Xia, D., Zhao, Z. J., Zhao, R., Wang, Y. Y., & Zhe, H. (2018). FTO regulates the chemo-radiotherapy resistance of cervical squamous cell carcinoma (CSCC) by targeting β -catenin through mRNA demethylation. *Molecular Carcinogenesis*, 57(5), 590–597. <https://doi.org/10.1002/mc.22782>

Zigui, C., Ariana, H., & Robert, B. (2013). Human papillomavirus genome variants. *Virology*, 232–243.

Zou, D., Dong, L., Li, C., Yin, Z., Rao, S., & Zhou, Q. (2019). The m6A eraser FTO facilitates proliferation and migration of human cervical cancer cells. *Cancer Cell International*, *19*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-1045-1>

ANEXOS

Derivado del desarrollo de este trabajo de profundización se obtuvo lo siguiente:

1. Participación en el primer simposio universitario de investigación en química

The certificate is a rectangular document with a yellow header and a white body. The header contains the text "1^{er} SIMPOSIO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA" in bold blue letters, with a logo on the left that says "SUQUI 2020". The body contains the following text: "Certifica que el trabajo 'FACTORES ASOCIADOS A LA RADIO Y QUIMIORRESISTENCIA EN CANCER DE CUELLO UTERINO' fue presentado por las autoras Alexandra Ramírez, Vaneza Lorett y Ruth Garzón en modalidad de póster en el Primer Simposio Universitario de Investigación en Química, llevado a cabo el 3 y 4 de diciembre de 2020". Below this, it states "En constancia firman las integrantes del comité organizador" and lists three names with their signatures and university affiliations: Dra. Areli Flores Gaspar (Universidad Militar Nueva Granada), Dra. María Claudia Sandoval (Universidad Militar Nueva Granada), and Dra. Adriana Umaña Pérez (Universidad Nacional de Colombia).

1^{er} SIMPOSIO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA

SUQUI 2020

Certifica que el trabajo

"FACTORES ASOCIADOS A LA RADIO Y QUIMIORRESISTENCIA EN CANCER DE CUELLO UTERINO"

fue presentado por las autoras Alexandra Ramírez, Vaneza Lorett y Ruth Garzón en modalidad de póster en el Primer Simposio Universitario de Investigación en Química, llevado a cabo el 3 y 4 de diciembre de 2020

En constancia firman las integrantes del comité organizador

Arelí Flores Gaspar
Dra. Areli Flores Gaspar
UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA

María Claudia Sandoval
Dra. María Claudia Sandoval
UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA

Adriana Umaña Pérez
Dra. Adriana Umaña Pérez
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

2. Participación en el Research Day 2020 (Universidad Antonio Nariño) como ponente.

Pendiente por certificación

3. Postulación para participar como ponente en el Congreso Colombiano de Bioquímica y Biología Molecular (C2B2).