



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

INSTITUTO DE NEUROETOLOGÍA

POSGRADO EN NEUROETOLOGÍA

Efecto de los extractos etanólico/acuoso de *Moussonia
deppeana* y *Justicia spicigera* sobre la proliferación y la
viabilidad de la línea celular de carcinoma prostático LNCaP

TESIS

Que presenta:

M. en C. Cynthia Fernández Pomares

Para obtener el grado de

Doctora en Neuroetología

Dra. María Elena Hernández Aguilar.

Directora de Tesis

Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortiz

Dr. Enrique Juárez Aguilar.

Asesores.

RESUMEN

Justicia spicigera y *Moussonia deppeana* son dos plantas mexicanas ampliamente utilizadas desde tiempos prehispánicos en el tratamiento de varias enfermedades, incluyendo procesos inflamatorios y cáncer. Estudios recientes han reportado la actividad citotóxica de los extractos de *J. spicigera* en varias líneas celulares de cáncer y su efecto antitumoral en un modelo *in vivo*. Asimismo, no existe información científica acerca del potencial de *M. deppeana* en esta enfermedad. En el presente trabajo, se evaluó la capacidad antiproliferativa y citotóxica de los extractos etanólico/acuoso de *J. spicigera* (EtOH/H₂O *Js*) y *M. deppeana* (EtOH/H₂O *Md*) en la línea celular de carcinoma prostático, LNCaP. Adicionalmente, se determinó el efecto del extracto de *J. spicigera* sobre la expresión de la proteína Ki-67, un marcador de la proliferación celular utilizado en la clínica en el pronóstico de la progresión del cáncer próstata. La actividad antiproliferativa y citotóxica de ambos extractos sobre las células LNCaP fueron evaluadas por el método de MTT; mientras que la determinación de la densidad celular se realizó de manera directa utilizando el método de Neubauer y el ensayo de exclusión con azul de tripano. La expresión de la proteína Ki-67 y su distribución a lo largo del ciclo celular fueron determinados mediante inmunotinción. Los resultados muestran que el extracto de *J. spicigera* redujo significativamente la proliferación de las células LNCaP en forma dosis dependiente sin afectar la viabilidad celular; disminuyendo la expresión de la proteína Ki-67, e incrementando el porcentaje de células en G₀ y en interfase (G₁ tardía/S/G₂), reduciendo el porcentaje de células en fase G₁ temprana y en mitosis. Interesantemente, el ensayo de citotoxicidad mostró que el extracto EtOH/H₂O *Js* no afecta la viabilidad celular en la misma proporción en la que afecta su proliferación. Contrario a lo anteriormente descrito, el extracto de *M. deppeana* disminuyó la proliferación y la viabilidad celular principalmente a través de un efecto citotóxico. Nuestros resultados sugieren que el extracto EtOH/H₂O *Js* afecta la proliferación de las células LNCaP por un mecanismo citostático y no citotóxico, disminuyendo la expresión del marcador de pronóstico de cáncer prostático Ki-67 previniendo así la progresión del ciclo celular hacia la mitosis. Por el contrario, el extracto de *M. deppeana* ejerció una actividad antiproliferativa en las células LNCaP mediante un mecanismo citotóxico.

ABSTRACT

Justicia spicigera and *Moussonia deppeana* are two Mexican plants widely used since prehispanic times in folk medicine to treat several illnesses, including inflammatory process and cancer. Recent studies have reported a cytotoxic activity of extracts of *J. spicigera* on several cancer cell lines and an *in vivo* antitumor effect. Likewise, *M. deppeana* has no scientific information about its potential in this disease. In the present study, we evaluated the potential antiproliferative and cytotoxic activity of the ethanol/aqueous extract from *J. spicigera* (EtOH/H₂O *J*s) and *M. deppeana* (EtOH/H₂O *Md*) on prostate cancer cell line LNCaP. In addition, we assessed the effect of the extract of *J. spicigera* on the expression of Ki-67 protein, a marker of cell proliferation used in clinical prognosis of the progression of prostate cancer. The antiproliferative and cytotoxic activity of both extracts over LNCaP cells were measured by the MTT; while cell density determination was performed directly using the Neubauer method and trypan blue exclusion assay. The expression of the Ki-67 protein and its distribution throughout the cell cycle were determined by immunostaining. Results showed that the extract of *J. spicigera* reduced significantly the proliferation of LNCaP cells in a dose dependent manner without affecting the cell viability; decreasing the expression of Ki-67 protein and increasing the percentage of cells in G₀ and in interphase (late G₁ / S / G₂), reducing the percentage of cells in early G₁ phase and mitosis. Interestingly, cytotoxicity assays showed that EtOH/H₂O *J*s failed to affect cell viability at the same proportion. Contrary to the previously described, the extract of *M. deppeana* decreased cell proliferation and viability primarily through a cytotoxic effect. Our results showed that EtOH/H₂O *J*s extract affects proliferation of LNCaP cells by a cytostatic instead of cytotoxic mechanism, decreasing the expression of the prostate cancer marker Ki-67 and preventing cell cycle progression to mitosis. Contrary, the extract of *M. deppeana* exerted an antiproliferative activity on LNCaP cells through a cytotoxic mechanism.