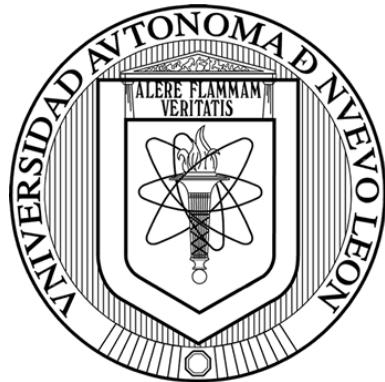


UNIVERSIDAD AUTÓNOMAS DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



PAPEL DE LA CURCUMINA EN LA PROTECCIÓN CONTRA DAÑO  
HEPÁTICO Y RENAL INDUCIDO POR DOXORRUBICINA Y SU  
IMPLICACIÓN EN LA REGULACIÓN DE *WT1* EN UN MODELO

MURINO

POR

**LBG JUAN PABLO MOLINA MORALES**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INMUNOBIOLOGÍA

2025

PAPEL DE LA CURCUMINA EN LA PROTECCIÓN CONTRA DAÑO HEPÁTICO Y RENAL  
INDUCIDO POR DOXORRUBICINA Y SU IMPLICACIÓN EN LA REGULACIÓN DE *WT1*  
EN UN MODELO MURINO

---



**Dr. Pablo Zapata Benavides**

Presidente



**Dra. Cristina Rodríguez Padilla**

Secretario



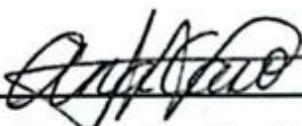
**Dra. Diana Ginette Zárate Triviño**

Vocal



**Dra. Diana Reséndez Pérez**

Vocal



**Dra. Ana Carolina Martínez Torres**

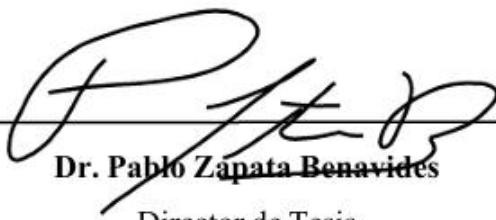
Vocal



**Dra. Katlusha Arévalo Mendoza**  
Subdirectora de Posgrado

PAPEL DE LA CURCUMINA EN LA PROTECCIÓN CONTRA DAÑO HEPÁTICO Y RENAL  
INDUCIDO POR DOXORRUBICINA Y SU IMPLICACIÓN EN LA REGULACIÓN DE *WT1*  
EN UN MODELO MURINO

**Dirección de tesis**



---

Dr. Pablo Zapata Benavides  
Director de Tesis



---

Dr. Felipe Torres del Muro

Asesor externo

## **AVISO DE DERECHOS DE AUTOR**

DERECHOS RESERVADOS© PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

## **Agradecimientos.**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por haberme brindado la oportunidad de cursar el programa de Maestría en Ciencias con Orientación en Inmunobiología, así como al Laboratorio de Inmunología y Virología, y a su jefa, la Dra. María Cristina Rodríguez Padilla, por su respaldo institucional.

Extiendo también un profundo agradecimiento a la Secretaría de Ciencia, Humanidades y Tecnología, por haberme otorgado la beca que hizo posible mi formación durante este periodo de posgrado. Su apoyo fue fundamental para la realización de este proyecto.

Mi gratitud infinita al Dr. Pablo Zapata Benavides, por abrirme las puertas de su laboratorio sin reservas, por su guía generosa, sus conocimientos compartidos, su tiempo y su constante acompañamiento a lo largo de este proceso. ¡Gracias por todo, Doctor!

Agradezco de manera muy especial a la organización social Jóvenes Adelante A.C., cuyo respaldo desde el inicio fue crucial para mi desarrollo como estudiante de posgrado. Gracias por su apoyo incondicional y por la gestión de recursos necesarios para el desarrollo de este proyecto. A Casandra Espinoza, por su liderazgo y compromiso con este programa, mi admiración y gratitud.

A mi familia, por ser siempre mi base y mi fortaleza. A mis padres, por sus oraciones, consejos y por creer en mí desde el comienzo de mi formación académica. A mis hermanos, por su constante apoyo y presencia a lo largo de este camino.

A todo el equipo de la Unidad de Biología Molecular del Cáncer: Mara, Adriana, Vianey, Wendy, Leo, Rubén, Jesús, Valeria y Paola, gracias por su compañerismo, ayuda y amistad. ¡Siempre los llevaré conmigo!

Y, finalmente, a mi querida gata Venus, cuya presencia silenciosa y compañía constante fueron un consuelo y un impulso durante los momentos más difíciles. Gracias por estar siempre conmigo.

## **Dedicatoria**

A mis padres, Mónica Morales y Felipe Molina, por su amor incondicional y su apoyo en cada paso de mi camino.

A mis hermanos, por estar siempre presentes.

A mi tío Juan Carlos Molina Rodríguez, que ya no está con nosotros, pero siempre impulsó mi carrera como científico. ¡Te echamos de menos!

A mi yo de la licenciatura, que soñó con llegar hasta aquí.

Y a mi querida amiga Carol, por su amistad sincera y constante.

## Índice

Sección	Página
Introducción.....	1
Antecedentes.....	3
Agentes quimioterapéuticos.....	3
Antraciclinas.....	4
Efectos secundarios y tóxicos provocados por las antraciclinas.....	5
Doxorrubicina.....	6
Efectos tóxicos de la doxorrubicina en diferentes órganos.....	8
Curcumina.....	14
Mecanismos antioxidantes de la curcumina.....	14
Mecanismos antitumorales de la curcumina.....	16
Curcumina modula la expresión de <i>WT1</i> .....	17
El gen del tumor de Wilms I ( <i>WT1</i> ) .....	18
<i>WT1</i> en podocitos.....	21
Justificación.....	24
Hipótesis.....	25
Objetivo General.....	25
Objetivos Específicos.....	25
Material y métodos.....	26
Resultados.....	33
La doxorrubicina induce pérdida de masa corporal en ratones <i>Balb/c</i> .....	33
La curcumina previene la mortalidad inducida por doxorrubicina en ratones.....	37

La curcumina mejora la función renal y hepática en ratones tratados con doxorrubicina.....	38
La curcumina protege la estructura del glomérulo ante el daño causado por la doxorrubicina.....	45
Discusión.....	48
Conclusión.....	53
Perspectivas.....	54
Bibliografía.....	55

## Índice de Figuras

Figura 1. Clasificación, mecanismo de acción, toxicidad y ejemplos de agentes quimioterapéuticos .....	3
Figura 2. Estructura química de las antraciclinas .....	4
Figura 3. Mecanismo molecular de la doxorrubicina (DOX) sobre el ADN .....	7
Figura 4. Vías implicadas en la toxicidad de la doxorrubicina (DOX) en las células .....	8
Figura 5. Mecanismo de hepatotoxicidad inducida por doxorrubicina .....	10
Figura 6. Mecanismo de nefrotoxicidad inducida por doxorrubicina .....	12
Figura 7. Mecanismo antioxidante de la curcumina .....	15
Figura 8. Mecanismo antitumoral de la curcumina en diferentes tipos de cáncer .....	17
Figura 9. Ordenamiento del gen WT1 .....	19
Figura 10. Representación esquemática de las interacciones de los dedos de zinc con el ADN .....	20
Figura 11. Estructura glomerular de riñón murino teñida con hematoxilina .....	21
Figura 12. Imagen de microscopía electrónica de barrido de un podocito en el glomérulo renal ..	22
Figura 13. Gráfica de masa corporal de ratones modelo daño agudo .....	34
Figura 14. Diferencia de masa corporal en ratones del modelo de daño agudo .....	35
Figura 15. Gráfica de masa corporal de ratones modelo daño crónico .....	36
Figura 16. Diferencia de masa corporal en ratones del modelo de daño crónico .....	36
Figura 17. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier .....	36
Figura 18. Análisis del metabolismo lipídico en el modelo agudo .....	37
Figura 19. Análisis del metabolismo lipídico en el modelo crónico .....	38
Figura 20. Análisis del metabolismo de proteínas en el modelo agudo .....	39
Figura 21. Análisis del metabolismo de proteínas en el modelo crónico .....	40
Figura 22. Análisis de la función hepática y pancreática en modelo agudo .....	41
Figura 23. Análisis de la función hepática y pancreática en modelo crónico .....	42

Figura 24. Tiras reactivas de orina y análisis densitométrico de proteínas urinarias mediante tiras reactivas.....	44
Figura 25. Análisis histopatológico de riñones tratados con curcumina y doxorrubicina.....	45
Figura 26. Expresión de <i>WT1</i> determinada por qPCR en podocitos .....	47

## Abreviaturas

**%** Porciento

**°C** Grados Celsius

**CURC** Curcumina

**μg** Microgramo

**μL** Microlitro

**cDNA** DNA Complementario

**DEPC** Dietilpiro carbonato

**DMSO** Dimetilsulfóxido

**DXO** Doxorrubicina

**DNA** Ácido desoxirribonucleico

**dNTP** Nucleósido Trifosfato

**EDTA** Ácido etilendiaminotetraacético

**g** Gramo

**G3PDH** Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa

**H2O** Agua

**T2B** Topoisomerasa II B

**TNF-α** Factor de necrosis tumoral- $\alpha$

**Kb** Kilobases

**KTS** Lisina-Treonina-Serina

**mg** Miligramo

**min** Minuto

**mL** Mililitro

**mM** Milimolar

**mRNA** Ácido ribonucléico mensajero

**NaCl** Cloruro de sodio

**NF-κβ** Factor nuclear – κβ

**ng** Nanogramo

**O2** Oxígeno

**PBS** Amortiguador fosfato salino

**PCR** Reacción en cadena de polimerasa

**pg** Picogramo

**pH** Potencial de hidrógeno

**PkA** Proteína cinasa A

**PkC** Proteína cinasa C

**RNA** Ácido ribonucleico

**rpm** Revoluciones por minuto

**RT-qPCR** Retro transcripción – Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa

**SDS** Dodecil sulfato de sodio

**V** Volt

**WT1** Tumor de Wilms 1

## Resumen

Las toxicidades renales y hepáticas inducidas por agentes quimioterapéuticos representan un reto crítico en pacientes con cáncer, ya que, además de combatir la enfermedad primaria, enfrentan complicaciones como insuficiencia renal, síndrome nefrótico, colestasis y fibrosis hepática. La curcumina (*Curcuma longa L.*), reconocida por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales, neutraliza radicales libres, inhibe la peroxidación lipídica y modula la expresión del gen *WT1*, regulador esencial de la homeostasis glomerular. Planteamos la hipótesis de que la curcumina atenúa la nefro- y hepatotoxicidad inducida por doxorrubicina sin comprometer la función podocitaria ni su eficacia antitumoral. El objetivo fue evaluar, en un modelo murino, los efectos protectores de la curcumina mediante análisis funcional, histológico y molecular, y determinar si este compuesto modula la expresión de *WT1* en podocitos, dado que en modelos de cáncer se ha descrito su regulación a la baja.

Se utilizaron ratones Balb/C tratados con doxorrubicina, curcumina o la combinación DOX+CURC. Se midieron parámetros séricos renales y hepáticos, se evaluó la arquitectura glomerular mediante histología y se analizó la expresión de *WT1* en podocitos. Los animales tratados con curcumina mostraron prevención de la caquexia inducida por doxorrubicina. A nivel molecular, la curcumina moduló a la baja la sobreexpresión de *WT1* inducida por doxorrubicina sin alterar la integridad y/o la función podocitaria. Estos resultados concuerdan con reportes previos donde la curcumina protege frente a la toxicidad generada por otros quimioterapéuticos como el cisplatino.

Concluimos que la curcumina es un adyuvante prometedor en terapias con antraciclinas, capaz de reducir el daño renal y hepático sin comprometer la acción antitumoral. Esta tesis sienta las bases para el desarrollo de formulaciones estandarizadas de curcumina orientadas a mejorar la tolerancia a la quimioterapia y la calidad de vida de los pacientes oncológico

## Abstract

Renal and hepatic toxicities induced by chemotherapeutic agents represent a critical challenge in cancer patients, who, in addition to fighting the primary disease, face complications such as renal failure, nephrotic syndrome, cholestasis, and hepatic fibrosis. Curcumin (*Curcuma longa L.*), recognized for its antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties, scavenges free radicals, inhibits lipid peroxidation, and modulates the expression of the *WT1* gene, an essential regulator of glomerular homeostasis. We hypothesized that curcumin attenuates doxorubicin-induced nephro- and hepatotoxicity without compromising podocyte function or its antitumor efficacy. The aim of this study was to evaluate, in a murine model, the protective effects of curcumin through functional, histological, and molecular analyses, and to determine whether this compound modulates *WT1* expression in podocytes, as it has been reported to be downregulated in cancer models.

Balb/C mice were treated with doxorubicin, curcumin, or the DOX+CURC combination. Renal and hepatic serum parameters were assessed, glomerular architecture was examined histologically, and *WT1* expression in podocytes was analyzed. Curcumin-treated animals showed prevention of doxorubicin-induced cachexia. At the molecular level, curcumin down-modulated the doxorubicin-induced overexpression of *WT1* without altering podocyte integrity or function. These findings are consistent with previous reports describing curcumin-mediated protection against toxicity from other chemotherapeutic agents such as cisplatin.

We conclude that curcumin is a promising adjuvant in anthracycline-based therapies, capable of reducing renal and hepatic injury without compromising antitumor activity. This thesis lays the groundwork for the development of standardized curcumin formulations aimed at improving chemotherapy tolerance and the quality of life of cancer patients.

## 1. Introducción

Las nefropatías y hepatopatías inducidas por quimioterapia son complicaciones graves en pacientes oncológicos, derivadas de los efectos secundarios y la toxicidad de los tratamientos. De acuerdo con Rosero et al. (2020) y Herman et al. (2021), aproximadamente el 50% de los pacientes sometidos a quimioterapia desarrollan hepatotoxicidad, mientras que un 30% presenta nefrotoxicidad aguda. Estas cifras reflejan un problema significativo, ya que la toxicidad orgánica secundaria no solo deteriora la calidad de vida, sino que también puede comprometer la continuidad del tratamiento contra el cáncer.

Entre las afecciones más frecuentes, el síndrome nefrótico se caracteriza por cinco signos clínicos principales: proteinuria, hipoalbuminemia, edema, hipercolesterolemia y lipiduria (Hernández, 2008). Aunque la función renal puede mantenerse estable en las etapas iniciales, el deterioro varía dependiendo de la dosis y duración del tratamiento con agentes antineoplásicos. De manera similar, la hepatitis tóxica medicamentosa representa al menos el 10% de las enfermedades hepáticas, evidenciada por niveles elevados de enzimas hepáticas y bilirrubina en sangre (Gargantilla et al., 2017).

Uno de los fármacos más utilizados, es la doxorrubicina es un agente antineoplásico de primera línea, ampliamente administrado debido a su eficacia contra múltiples tipos de cáncer. Sin embargo, su mecanismo de acción, basado en la generación de estrés oxidativo, provoca toxicidad multiorgánica y afecta tejidos como riñón, hígado y corazón (QuanJun et al., 2017). Ante este panorama, resulta importante desarrollar estrategias para mitigar los efectos adversos de la quimioterapia sin comprometer su eficacia antitumoral.

Una alternativa prometedora para reducir la toxicidad inducida por la doxorrubicina es la curcumina, un compuesto fenólico derivado de *Curcuma longa L.* que se emplea tradicionalmente como especia y colorante alimentario. Además de su uso en la industria alimentaria, ha sido ampliamente estudiada por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Su capacidad para neutralizar especies reactivas de oxígeno y prevenir la peroxidación lipídica ha demostrado efectos protectores en diversos modelos experimentales

(Menon y Sudheer, 2007). A pesar de la creciente evidencia sobre los beneficios de la curcumina en la reducción del daño renal y hepático inducido por cisplatino, existen pocas investigaciones que evalúen su impacto frente a la toxicidad por doxorrubicina. Además, el gen del Tumor de Wilms 1 (*WT1*) ha sido identificado como un factor de transcripción clave en la homeostasis de los podocitos glomerulares. Su expresión anómala en distintos tipos de cáncer se asocia con pronósticos desfavorables, mientras que mutaciones en su estructura pueden desencadenar patologías renales (Morrison, 2008). Sin embargo, aún no se ha explorado en profundidad si la curcumina puede influir en la expresión de *WT1* en el contexto de la nefrotoxicidad inducida por quimioterapia.

En este estudio, evaluamos el papel protector de la curcumina en el daño renal y hepático inducido por doxorrubicina en un modelo murino en ratones *Balb/C*. Además, analizamos simultáneamente los marcadores funcionales, histopatológicos y la expresión del gen *WT1* en podocitos glomerulares, lo que representa un enfoque innovador en este campo.

Los resultados de esta podrían posicionar a la curcumina como un adyuvante prometedor en terapias basadas en antraciclinas, con el potencial de reducir la nefro/hepatotoxicidad sin comprometer la eficacia del tratamiento oncológico. Esta tesis, también sienta las bases para futuros ensayos con la curcumina, con el fin de mejorar la calidad de vida de los pacientes sometidos a quimioterapia.

## 2. Antecedentes

### 2.1 Agentes quimioterapéuticos

La primera alternativa de tratamiento contra el cáncer, son las quimioterapias. Dada la naturaleza del tumor y el estadio en el que se encuentra el paciente puede ser candidato a otro tipo de terapias con el propósito de tener mejores resultados (Chidharla, 2023). El principal objetivo de la quimioterapia es disminuir la proliferación de las células tumorales para que estas no invadan otros tejidos. Sea su inespecificidad, la que produce efectos tóxicos a las células sanas.

Los mecanismos moleculares de estos agentes antineoplásicos se basan en la interferencia de la síntesis de DNA, RNA o proteínas a partir de precursores truncados o inservibles que detienen estos procesos biológicos llevando a muerte celular. La toxicidad de estos fármacos aumenta cuando las células se encuentran en la fase S debido que en esta etapa del ciclo celular se sintetiza el DNA, otros medicamentos tienen mayor efecto en la etapa M como la vincristina (Muhammad et al., 2023).

Los agentes quimioterapéuticos se clasifican según su mecanismo de acción. En la tabla I se muestran los más representativos de cada grupo.

	Mecanismo de Acción	Toxicidad	Ejemplos
01 <b>Agentes Alquilantes</b>	Producen un grupo alquilo inestable, $R-CH_2^+$ , que reacciona con centros nucleofílicos de proteínas y ácidos nucleicos. Inhiben la replicación y la transcripción del ADN.	Mielosupresión, mucositis, náuseas y vómitos, neurotoxicidad, alopecia. Toxicidades a largo plazo: fibrosis pulmonar, infertilidad, neoplasias malignas secundarias	Bendamustina, ciclofosfamida, ifostamida, carmustina, lomustina, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, etc.
02 <b>Antimetabolitos</b>	Incorporar directamente al ADN e inhibir la ADN metiltransferasa (azacitidina, decitabina) o la ADN polimerasa	Mielosupresión en general, neurotoxicidad y conjuntivitis, elevación de las enzimas hepáticas y neumonitis intersticial.	Azacitidina, decitabina, citarabina, gemcitabina
03 <b>Antagonistas de folato</b>	Reduce el folato, que es esencial en la síntesis de nucleótidos de purina y timidilato.	Mielosupresión, mucositis, hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, reacciones cutáneas.	Metotrexato, pemetrexed
04 <b>Antimicrotubulares</b>	Inhiben la síntesis de ARN y ADN. Además, inhiben la topoisomerasa II, lo que inhibe la reparación del ADN y, como resultado, bloquen la síntesis de ADN y ARN.	Mielosupresión, cardiotoxicidad (acumulativa), mucositis.	Doxorrubicina, daunorrubicina, idarubicina y mitoxantrona

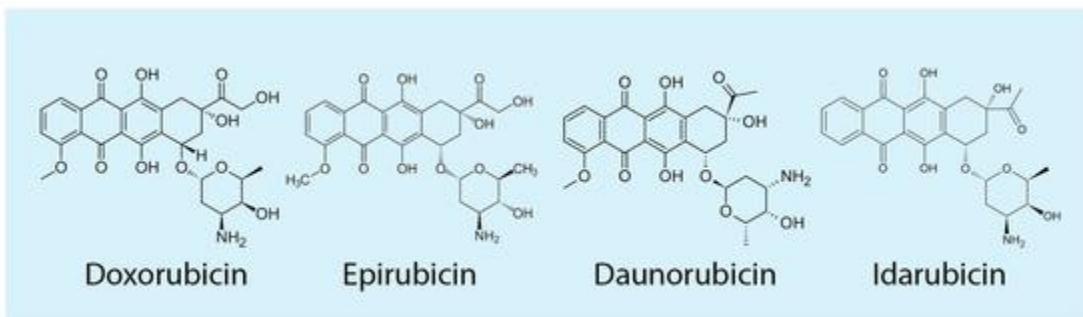
**Figura 1. Clasificación, mecanismo de acción, toxicidad y ejemplos de agentes quimioterapéuticos.** Se destacan los principales grupos como agentes alquilantes, antimetabolitos, antagonistas de folato y antimicrotubulares, junto con sus efectos adversos comunes y representantes farmacológicos Muhammad et al. 2023).

## 2.2 Antraciclinas.

Las antraciclinas son antibióticos que previenen de cierto tipo de bacterias como del género *streptomyces*. En el cáncer, se utilizan como terapia antitumoral debido a su amplio espectro en diferentes neoplasias malignas sólidas como: cáncer gástrico, carcinoma de ovario, de pulmón, de vejiga, neuroblastoma, etc, y hematológicas como: linfoma maligno y leucemias (Romero y Sierra 2018). Su mecanismo molecular consiste en interferir con el crecimiento tumoral por medio de la unión y el bloqueo de la Topoisomerasa II (TOP2). Las enzimas topoisomerasa se encargan de alterar la tensión de la doble hélice del DNA en el momento que se está replicando o transcribiendo, de manera que rompen, tuercen y cierran el esqueleto del fosfato del DNA (Pommier, 2016).

Especificamente la actividad de la topoisomerasa II se basa en un mecanismo unidireccional en el que un segmento de ADN es transportado a través de un corte en la doble hélice, generando diversos efectos como: relajación del ADN, introducción de superenrollamiento negativo, así como actividades de anudado/desanudado y concatenación/decatenación, según las características de la enzima involucrada. (Pommier, 2015).

Las antraciclinas bloquean la actividad enzimática catalítica de un intermediario que escinde el DNA y se une covalentemente a la enzima, formando un complejo de escisión DNA-TOPII provocando a la célula apoptosis debido a que los cortes del DNA son irreparables en las regiones genómicas de síntesis activa de DNA preferente en células cancerosas ya que se replican de manera descontrolada. (Pommier, 2015). Existen cuatro principales antraciclinas que se usan con mayor frecuencia clínicamente y su estructura química se muestra en la figura 2.



**Figura 2: Estructura química de las antraciclinas:** contienen un núcleo antracenodiona que es la fusión de cuatro anillos: tres aromáticos y uno quinónico. Además, posee Grupo hidroxiquinónico que participa en la redox ciclación y la generación de radicales libres. (Marinello 2018)

Las antraciclinas se administran exclusivamente por vía intravenosa debido a su elevado peso molecular y baja absorción por otras vías, metabolizándose principalmente en el hígado y eliminándose mayoritariamente por vía biliar (60-70% de la dosis), mientras que solo un 30% se excreta sin cambios por la orina. Estas moléculas generan un metabolito alcohólico activo con actividad farmacológica variable, pero de contribución limitada al efecto antitumoral, presentan una rápida distribución tisular, acumulándose en órganos altamente vascularizados como corazón, pulmones, hígado, riñones y bazo, aunque su estructura química les impide atravesar la barrera hematoencefálica, lo que las hace ineficaces contra tumores cerebrales primarios. Esta farmacocinética particular requiere ajustar las dosis en pacientes con disfunción hepática y limita su uso en metástasis del sistema nervioso central (Russo et al., 2021).

### 2.3 Efectos secundarios y tóxicos provocados por las antraciclinas.

Los efectos secundarios más comunes se presentan en los nichos de células que proliferan mayormente de manera natural ya que estas características la comparten con las células tumorales que de igual manera proliferan, pero de manera aberrante. Estas células afectadas son los neutrófilos y células que componen la mucosa gástrica por lo que los pacientes sufren de mareos, náuseas y vómito (Boogaard et al., 2023).

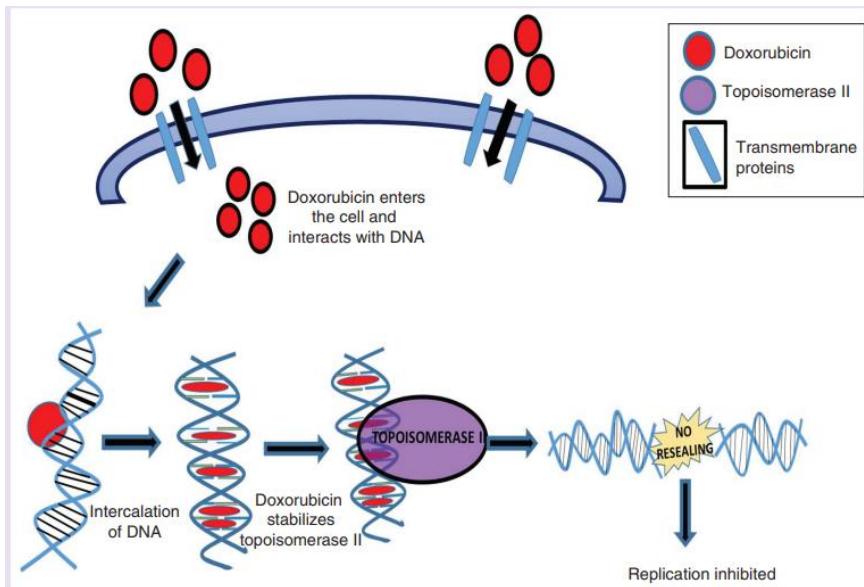
El corazón es otro de los órganos que más afectado resulta debido a los tratamientos con antraciclinas. Los pacientes presentan arritmias, miocardiopatías dilatadas, oclusión o espasmos de los vasos sanguíneos que puedan terminar en un infarto en miocardio (Vargas-Neri et al., 2016).

Se ha descrito que la principal fuente de toxicidad en las células sanas debido a la exposición de las antraciclinas es la presencia de especies reactivas de oxígeno en las mitocondrias (Ferreira 2009). La concentración de especies reactivas de oxígeno en sangre incrementa el estrés oxidativo ocasionando la peroxidación lipídica de las membranas celulares induciendo a una vacuolización, daño irreversible y el reemplazo de las células especializadas de los tejidos dañados, como hepatocitos, podocitos o miocitos por tejido fibroso (Soares E. 2018)

#### **2.4 Doxorrubicina.**

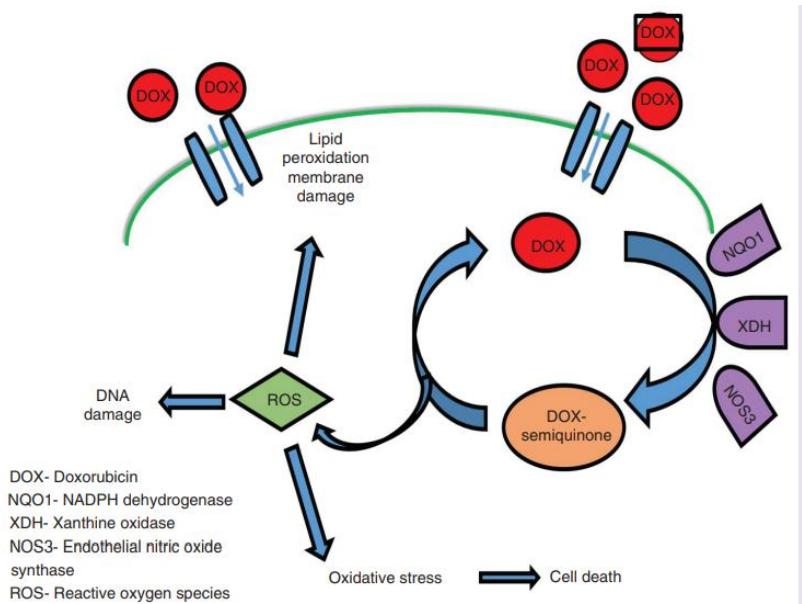
La doxorrubicina es una de las principales drogas anticancerígenas de tipo antraciclina que se ha administran en cáncer desde la década de los 50's, como se muestra en la figura 2, la DOX contiene un grupo hidroxilo en el carbono 14 de la daunarrubicina y es el precursor inmediato durante la biosíntesis de la DOX (Shrestha et al., 2019). Estos son algunos de los tipos de cáncer a los que se les receta DOX como agente antineoplásico: cáncer de mama, cáncer de vejiga, sarcoma de Kaposi, linfoma no Hodgkin y Hodgkin y leucemia linfocítica aguda.

Tal como se explicó anteriormente, la DOX se intercala entre las bases del ADN, interfiriendo con la función de la enzima TOP II. Esta interacción impide el sellado adecuado de la doble hélice, lo que provoca rupturas en el ADN que finalmente conducen a la muerte celular (Sarmento-Ribeiro et al., 2019). La Figura 3 ilustra este mecanismo.



**Figura 3. Mecanismo molecular de la doxorrubicina (DOX) sobre el ADN.** La DOX inhibe la proliferación celular mediante su intercalación en el ADN y la estabilización del complejo Topoisomerasa II-ADN, lo que impide la replicación y transcripción. Su entrada a la célula se da a través de proteínas de canal de membrana.

Otro de los mecanismos moleculares que han descrito el funcionamiento de la DOX en las células, es la generación de especies reactivas de oxígeno; el cual consta la reducción de un electrón por varias oxidoreductasas como es la NADH deshidrogenasa, XO y NOS que inducen la formación de un radical DOX-semiquinona (Podyacheva et al. 2023). Finalmente, la reoxidación de DOX-semiquinona se convierte en DOX y desencadena la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) induciendo estrés oxidativo provocando la muerte de las células cancerosas. La figura 4 esquematiza lo anterior.



**Figura 4. Vías implicadas en la toxicidad de la doxorrubiciна (DOX) en las células.** La formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) genera estrés oxidativo, lo que provoca daño al ADN y peroxidación de membranas lipídicas. Como consecuencia de estos efectos citotóxicos, las células sufren muerte celular.

No solo las células neoplásicas son afectadas por los mecanismos citotóxicos de la DOX, sino también las células sanas, lo que ha limitado su uso clínico debido a los efectos adversos que provoca en diversos órganos. Además, la DOX interfiere con la cadena transportadora de electrones, alterando el equilibrio energético celular. Esta disruptión conduce a un estado de estrés oxidativo, que activa genes relacionados con la respuesta antioxidante y puede desencadenar procesos de apoptosis o necrosis celular (Renu et al., 2018).

## 2.5 Efectos tóxicos de la doxorrubiciна en diferentes órganos.

### 2.5.1 Corazón:

Los cardiomiositos también sufren alteraciones celulares debido a la exposición de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), se trata de un desequilibrio citológico inducido por la DOX. Debido a la incapacidad de mecanismo de defensa de tipo antioxidante, las células comienzan a acumular estas moléculas oxidantes

(Sheibani et al 2022). Para que se presente el estrés oxidativo, el cuerpo del paciente debe de exponerse a una concentración mínima de DOX de 500 mg/m<sup>2</sup>.

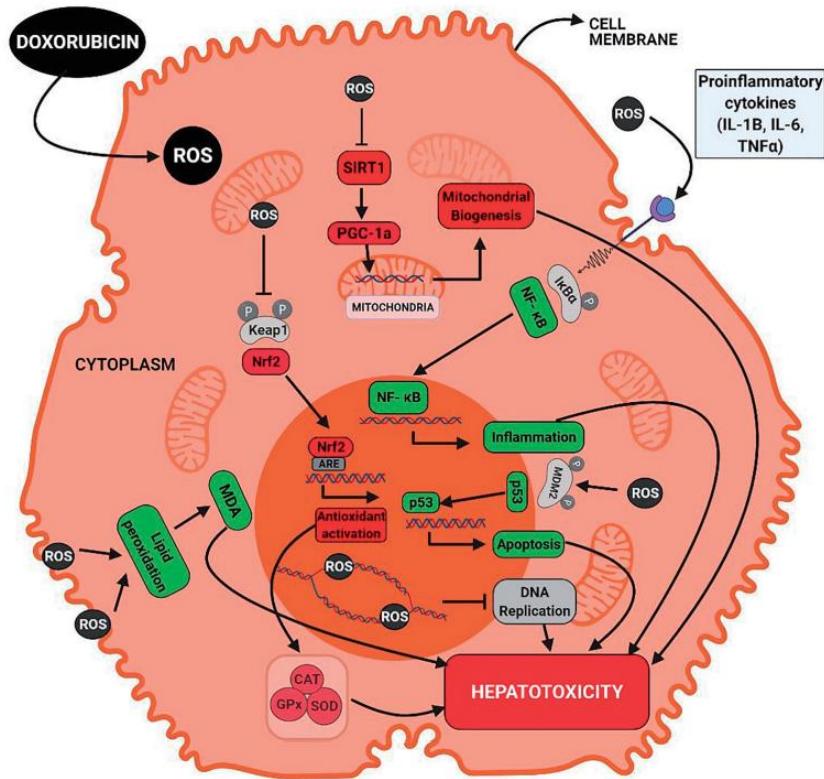
La hemoglobina es una proteína que transporta el oxígeno presente en los glóbulos rojos de la sangre, pero también está presente en el corazón y otros tejidos como componentes enzimáticos (Ahmed, 020). Cuando este interactúa con la DOX formando el complejo (Fe<sup>2+</sup>)-doxorrubicina, este complejo transfiere electrones al oxígeno molecular, cuando hay Fe<sup>2+</sup> libre puede reaccionar con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formando radicales hidroxilos altamente reactivos capaces de dañar lípidos, provocando peroxidación lipídica alterando el potencial de membrana celular.

La peroxidación lipídica consiste en el ataque de ROS a los ácidos grasos provocando una pérdida de integridad de la membrana, dañando la mitocondria y generando productos tóxicos como el malondialdehido (MDA) (Tsikas, 2017). Además, el deterioro del potencial de membrana induce a una acumulación de (Fe) dentro de la célula provocando un desequilibrio de la homeostasis celular.

### **2.5.2 Hígado:**

En los hepatocitos la DOXO también induce estrés oxidativo, provocando un desequilibrio del potencial redox, este mecanismo se ha estudiado en estudios *in vivo*. Ratones de la cepa C57BL6/6J se les administró doxorrubicina y en las químicas sanguíneas encontraron altos niveles de Alanina aminotransferasa, Aspartato aminotransferasa y gamma-glutamiltransferasa, los cuales son indicadores clave de daño hepático (Song, 2019).

Se ha descrito que la DOX provoca un desequilibrio redox provocando cambios en el genotipo de las células, el cual refleja en la inhibición de la actividad de enzimas antioxidantes como es el caso del gen Nrf2; el presenta una baja expresión aumentando los niveles de ROS. La figura 5 describe la hepatotoxicidad inducida por DOX (Renu, 2022).



**Figura 5. Mecanismo de hepatotoxicidad inducida por doxorrubicina.** La generación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los hepatocitos activa múltiples vías de daño celular, incluyendo la peroxidación lipídica, alteraciones en proteínas y ADN, así como la inhibición de rutas antioxidantes. Además, se induce inflamación mediante la vía de NF-κB y apoptosis a través de la activación de *p53*, lo que culmina en la muerte celular hepática.

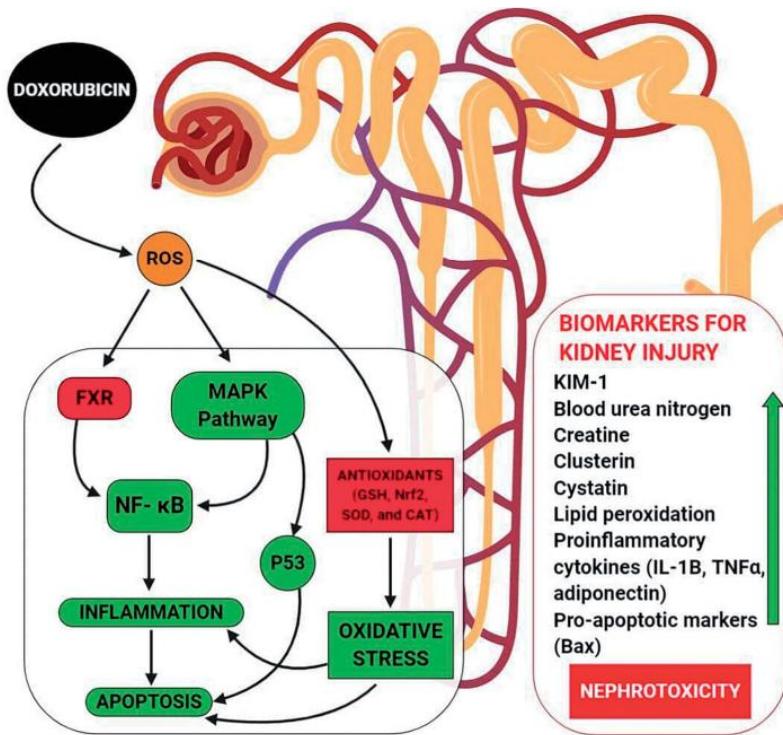
La DOX entra a los hepatocitos y produce ROS; peroxidando lípidos de membrana como se explicó anteriormente, daño a proteínas y DNA llevando a las células a apoptosis. Además, inhibe el sistema antioxidante Nrf2. Las ROS inhiben la fosforilación de Keap I que libera Nrf2. Al no ser liberado Nrf2 no se activan los genes antioxidantes como ARE, catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx), disminuyendo las defensas contra ROS y aumentando significativamente el estrés oxidativo. La inflamación también se ve involucrada en este proceso, ROS promueve la fosforilación de κBα, lo que libera a *NF-κB*, el cual modula la expresión de citocinas proinflamatorias como: *IL-1β*, *IL-6* y *TNFα*. También ROS induce la fosforilación de MDM2, el cual es una proteína que modula

la actividad de *p53*, lo que la activa y manda apoptosis a los hepatocitos (Renu, 2022).

### **2.5.3 Riñones:**

Los radicales libres afectan a las células que componen al tejido renal y esto se puede observar cuando se analizan muestras de sangre que contienen nitrógeno ureico y creatinina (Teo y Endre, 2017). Existen otros marcadores moleculares que se reportan debido a este daño tales como: molécula de daño renal-1 (KIM-1), cistatina C, NADPH oxidasa-4. Además, genes antioxidantes presentan una expresión a la baja como GHS renal, Nrf2, SOD y CAT. Mientras que MDA que es un metabolito final de las ROS se mantiene a la alza, reforzando la hipótesis de la relación entre el estrés oxidativo y la nefrotoxicidad (Farina y Aschner, 2019).

La inflamación y la activación de genes proapoptóticos está presente en este daño renal; por un lado, se ha detectado la presencia de algunas citocinas como el Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), receptor tipo Toll 4 (*TLR4*), proteína quinasa activada por mitógenos p38 (p38 *MAPK*) e interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) que promueven la inflamación en riñones (McWilliam et al., 2021). Por otro lado, la expresión alta de Bax y baja de Bcl-2, los cuales son genes pro apoptóticos y anti apoteóticos respectivamente promueven la apoptosis cuando hay daño renal. La figura 6 describe ampliamente estos mecanismos moleculares.



**Figura 6. Mecanismo de nefrotoxicidad inducida por doxorrubicina.** La generación de ROS activa las vías MAPK y NF-κB, promoviendo inflamación y apoptosis en el tejido renal. La inhibición de FXR y la activación de P53 agravan el estrés oxidativo. Estos procesos aumentan biomarcadores de daño renal, mientras los antioxidantes intentan mitigar el daño.

Al generar especies reactivas de oxígeno, activan la vía de señalización de MAPK que conduce la activación de NF-κB, inhibiendo FxR. Como se explicó anteriormente, la inflamación es estimulada debido a NF-κB junto con vías apoptóticas por p53. Como respuesta, el organismo intenta contrarrestar el daño con antioxidantes. Todo este daño acumulado provoca nefrotoxicidad (Renu, 2022).

Se han descrito anormalidades que se manifiestan a nivel tejido debido a la nefrotoxicidad causada por la DOX, entre ellas: (Afsar et al., 2020)

1. Vacuolización de las células endoteliales glomerulares: consiste en la formación de burbujas llamadas vacuolas dentro de las células que recubren los capilares del glomérulo, indicando daño renal.

2. Congestión vascular y edema perivasculares en el estroma cortical: la acumulación de la sangre en los vasos del riñón y líquido inflamatorio alrededor de ellos: indicativos de inflamación aguda.
3. Proliferación de fibroblastos e infiltración de células del sistema inmune inflamatorias.
4. Hemorragias y fibrosis focal en la región corticomedular: presencia de sangrado en ciertas zonas y formación de tejido cicatricial entre los túbulos lo que compromete la función renal.
5. Degeneración vacuolar y obliteración de la luz tubular: las células que forman los túbulos renales se ven deteriorados, se hinchan y bloquean el paso de la orina afectando la filtración.
6. Cilindros eosinofílicos: se forman estructuras proteicas que se acumulan en los túbulos, indicio de daño tubular severo.
7. Daño estructural severo: se presenta daños en la tubulina que es una proteína intracelular, además del ensanchamiento de los capilares, acumulación del colágeno y tejido cicatricial condicionando la arquitectura y función del riñón.
8. Glomeruloesclerosis y atrofia de membranas basales: consiste en el endurecimiento y pérdida de función de los glomérulos junto con el debilitamiento de las estructuras de soporte del riñón.
9. Expansión del espacio de Bowman y reducción glomerular: el área que circunda al glomérulo se agranda mientras que el glomérulo mismo reduce su tamaño, reflejando dalo severo en la unidad de filtración.

Para contrarrestar los efectos dañinos de las especies reactivas de oxígeno ROS en el ADN, las proteínas y los lípidos celulares, se han centrado esfuerzos en la investigación de moléculas antioxidantes. Estas moléculas, que pueden ser de naturaleza fenólica, carotenólica, vitamínica o mineral como el zinc y el selenio (Santos-Sánchez et al., 2019), forman parte de los sistemas no enzimáticos donde actúan atrapando los radicales libres, interrumpiendo la reacción de iniciación radicalaria al neutralizarlos o donándoles electrones para lograr su estabilización. Muchos de estos antioxidantes se obtienen a partir de extractos de plantas o alimentos presentes en la dieta, y su poder antioxidante se mide en función de la cantidad de

radical libre específico que son capaces de capturar (Gupta, 2015).

## **2.6 Curcumina**

La curcumina CURC es un polifenol de bajo peso molecular, de color amarillo, que se obtiene de la cúrcuma (*Curcuma longa*), una planta utilizada tradicionalmente como especia y colorante natural en la industria alimentaria. En las últimas décadas, se han investigado ampliamente sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, ya que se ha demostrado que desempeña un papel importante en la protección contra diversas condiciones patológicas, como la peroxidación de membranas lipídicas (Menon y Sudheer, 2007). De hecho, la CURC ha sido empleada durante siglos en la medicina oriental, tanto por su efecto antiinflamatorio como por sus propiedades quimiopreventivas.

## **2.7 Mecanismos antioxidantes de la curcumina**

La CURC protege a las membranas lipídicas mediante la inhibición de la peroxidación lipídica debido a la eliminación de los radicales libres y esto se atribuye por su estructura química simétrica, la cual contiene grupos funcionales  $\beta$ -dicetona, dobles enlaces carbono-carbono y anillos fenilo que contienen cantidades variables de sustituyentes hidroxilo y metoxi (Priyadarsini, 2013). Especialmente la porción heptadienona es responsable de su actividad antioxidante ya que dona un átomo de hidrógeno del grupo metilénico central en lugar del grupo fenólico. Otra de las teorías que describen su actividad antioxidante, es que la CURC rompe con la cadena debido a su grupo fenólico y el grupo metoxi potencializa dicha actividad.

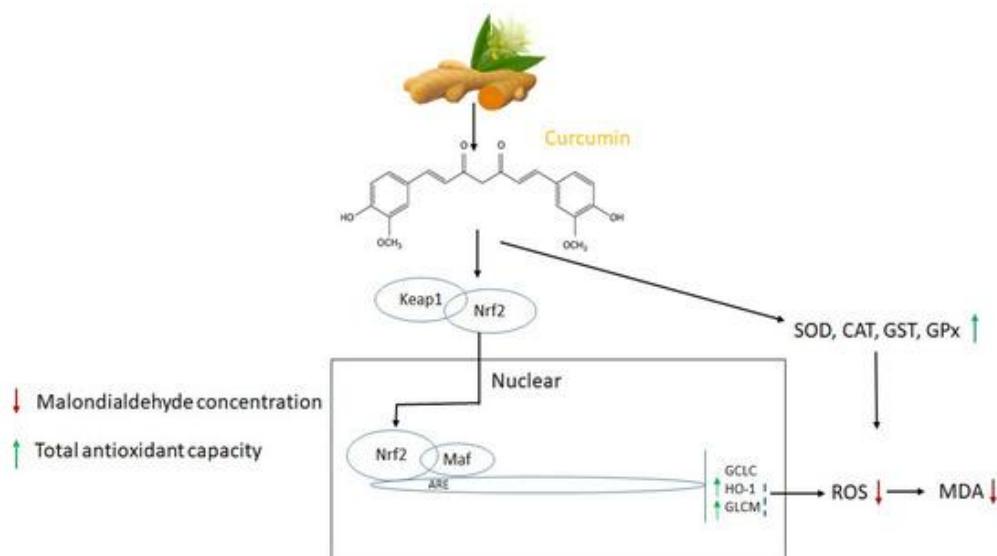
De acuerdo con estudios teóricos basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT), la CURC presenta una mayor estabilidad en su forma enólica en comparación con su forma dicetónica (Priyadarsini, 2013).

Asimismo, se ha determinado que la entalpía de disociación del enlace (BDE) del grupo hidroxilo fenólico es significativamente menor que la del grupo O-H central, lo que sugiere

que la abstracción del átomo de hidrógeno ocurre preferentemente en el grupo fenólico. Además, se ha observado que la CURC reacciona inicialmente con radicales electrofílicos a través de su porción ceto-enol ionizada. Los radicales neutros formados en este proceso pierden posteriormente un protón fenólico, generando así el mismo radical fenoxilo que se obtendría mediante un mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno (HAT) desde el grupo hidroxilo fenólico del anión CURC hacia los radicales.

Esta molécula es capaz de activar las enzimas antioxidantes mediante la activación de genes que codifican para la SOD, catalasa, glutatión peroxidasa y la s-glutatión transferasa (Menon y Sudheer 2007)

En las mitocondrias, dónde se producen grandes cantidades de ROS, también puede neutralizarlos por medio de sus tres sitios redox de la CURC que pueden sufrir oxidación y abstracción de hidrógeno, lo que resulta en la formación de radicales fenoxi y la estabilización a través de la estructura ceto-enol (Marchiani et al., 2014). A continuación, se muestra de manera resumida el mecanismo de acción antioxidante de la CURC (Sathyabhamma et al., 2022)



**Figura 7. Mecanismo antioxidante de la curcumina.** Dos sitios fenólicos le permiten eliminar una serie de radicales libres directamente, además, la curcumina activa la translocación de *Nrf2* al núcleo, donde forma un complejo con Maf y se une al elemento de respuesta antioxidante (ARE), promoviendo la expresión de enzimas antioxidantes como SOD, CAT, GST y GPx. Esto conlleva a un aumento en la capacidad antioxidante total, una reducción en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y una disminución en la concentración de malondialdehído (MDA), un marcador de daño oxidativo.

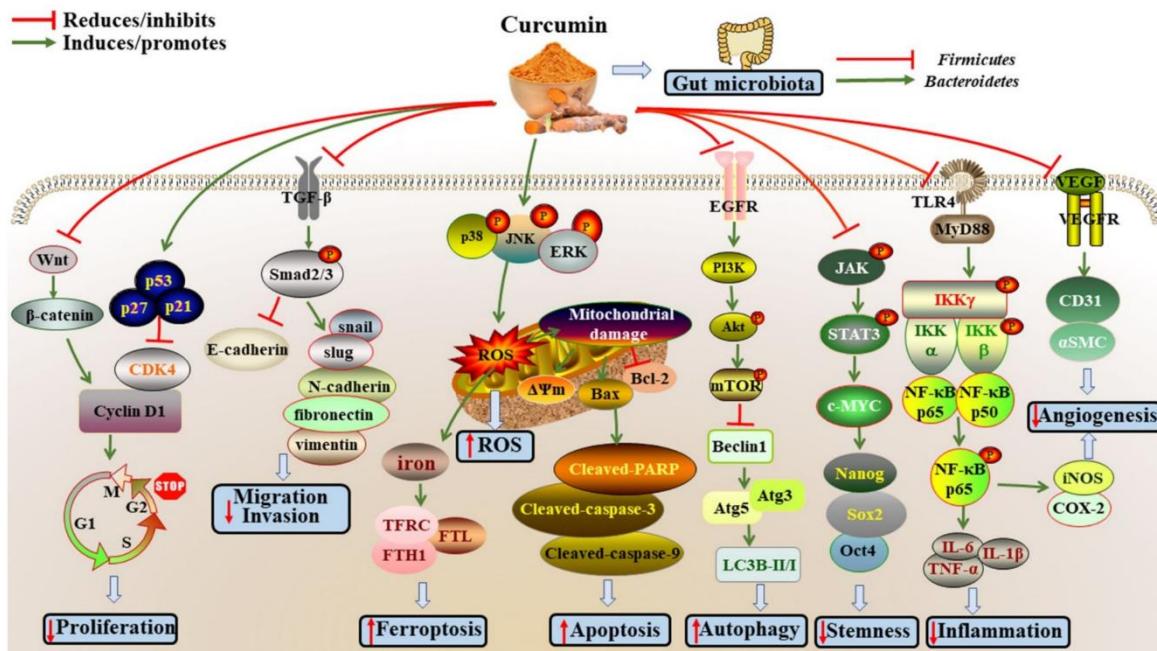
## 2.8 Mecanismo antitumoral de la curcumina.

Las principales vías mediante las cuales la CURC actúa como agente anticancerígeno incluyen la inducción de apoptosis en células tumorales y la inhibición de vías de señalización asociadas con la proliferación e invasión celular (Anand et al., 2008). Una de sus acciones clave es la modificación del potencial de membrana mitocondrial, lo que conduce a una disminución en la expresión de *Bcl-xL*, un gen con función antiapoptótica. Simultáneamente, la CURC favorece la expresión de receptores de muerte celular (DR4 y DR5), lo que permite activar la apoptosis a través de la vía del factor de necrosis tumoral (TNF).

Además de estas acciones, en células cancerosas la CURC puede estimular la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual activa vías de señalización como *p38 MAPK*, *JNK* y *ERK*, involucradas en la muerte celular. Esta producción de ROS también contribuye a la inducción de ferroptosis, un tipo de muerte celular dependiente del hierro, mediante el aumento en la expresión de *TFRC*, *FTL* y *FTH1*, que favorecen el ingreso y almacenamiento de hierro, generando así estrés oxidativo. Así mismo, la CURC activa proteínas proapoptóticas como *Bax*, *caspasa-3* y *caspasa-9* en su forma activa (cleaved), e inactiva *PARP*, bloqueando los mecanismos de reparación celular y disminuyendo la expresión de proteínas antiapoptóticas como *Bcl-2* (Pan et al., 2021).

En otro mecanismo complementario, la CURC modula la vía de señalización *PI3K/Akt/mTOR*, favoreciendo así la activación de la autofagia, un proceso celular clave en la eliminación de componentes dañados. Esta activación se evidencia en el aumento de proteínas esenciales para el ensamblaje del autofagosoma, como *Beclin1*, *Atg5*, *Atg3* y la conversión de *LC3-I* a *LC3-II*. A su vez, la CURC ha demostrado capacidad para inhibir la angiogénesis, un proceso fundamental para el crecimiento tumoral, a través de la reducción de la expresión de factores como *VEGF*, así como de enzimas proinflamatorias asociadas con la formación de vasos sanguíneos, como *iNOS* y *COX-2*, limitando así el suministro de oxígeno y nutrientes al tumor (Ashour et al., 2014).

Esta actividad antitumoral de la CURC ha sido ampliamente estudiada en diversos tipos de cáncer, incluyendo el colorrectal, de mama, pulmón, gástrico, vejiga, próstata, tiroides, hígado, ovario, páncreas, cuello uterino y cerebral. A pesar de las diferencias entre estos tumores, se han identificado mecanismos de acción comunes que explican la eficacia de la CURC, los cuales se resumen en la Figura 6. (Yang et al., 2022)



**Figura 8. Mecanismo antitumoral de la curcumina en diferentes tipos de cáncer.** Mediante la supresión de la vía Wnt/β-catenina, la curcumina inhibe la proliferación celular aumentando los niveles des *p53*, *p21* y *p27*, posteriormente inhibe los niveles de CDK4 y ciclina D1. Suprime la vía de TGF-β/Smad2/3, mejorando los niveles de E-cadherina disminuyendo N-cadherina, vimentina, fibronectina, reflejándose en una disminución de la migración e invasión.

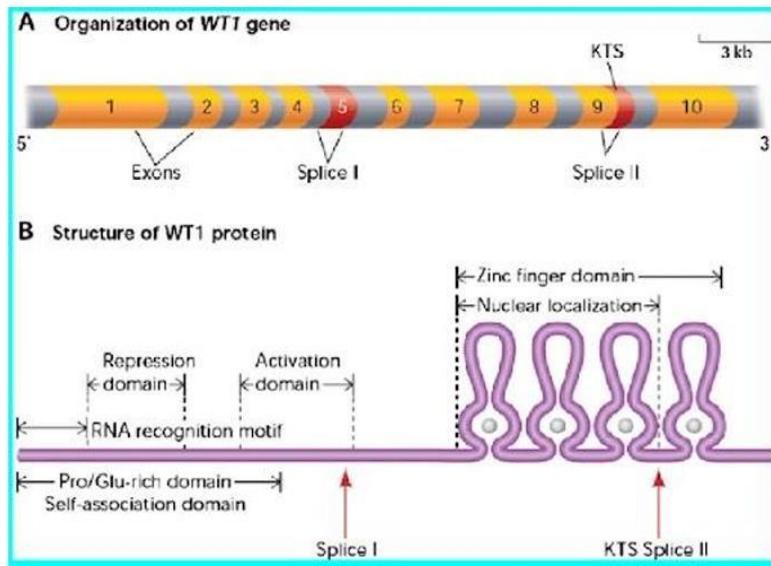
## 2.9 Curcumina modula la expresión de *WT1*.

El gen del tumor de Wilms I es un factor de transcripción que está altamente expresado en cáncer, y se ha encontrado en diferentes hallazgos que la CURC modula la expresión de *WT1* por tres diferentes vías.

1. Por medio de la regulación epigenética de miRNAs: la CURC ejerce efectos antitumorales a través de la modulación epigenética, específicamente mediante la regulación de microARNs (miRNAs) con funciones supresoras de tumor. En células leucémicas, la CURC ha sido capaz de disminuir la expresión de WT1. Este efecto se logra a través de la sobreexpresión de miRNAs antitumorales como miR-15a y miR-16-1, cuya expresión es inducida por la CURC. Dichos miRNAs participan activamente en la represión de WT1, lo que conlleva una disminución en la tasa de proliferación celular y una activación de las vías apoptóticas. (Zhou et al., 2017).
2. Por medio de la inhibición de la vía de señalización de la proteína quinasa C alfa (PKC $\alpha$ ): La CURC suprime la actividad de PKC $\alpha$ , una quinasa que participa en la regulación de la transcripción de WT1. Al inhibir PKC $\alpha$ , la CURC reduce la transcripción de WT1, disminuyendo sus niveles de ARNm y proteína. Este mecanismo ha sido observado en células leucémicas K562, donde la inhibición de PKC $\alpha$  por la CURC resultó en una menor expresión de WT1 (Semsri et al., 2011).
3. Por medio de supresión directa de la transcripción de WT1: la CURC puede actuar directamente sobre la maquinaria transcripcional para reducir la expresión de WT1. Esto implica la interferencia con factores de transcripción o coactivadores necesarios para la transcripción de WT1, lo que lleva a una disminución en la producción de su ARNm y, por ende, de la proteína. Este efecto directo complementa las acciones mediadas por miRNAs y la inhibición de PKC $\alpha$ , contribuyendo a la eficacia antitumoral de la CURC. (Teiten et al., 2013)

## **2.10 El gen del tumor de Wilms I (*WT1*)**

El gen de tumor de Wilms, conocido como *WT1*, se encuentra en el cromosoma 11p13 del genoma humano, y tiene 10 exones con una longitud aproximada de 50 kb (figura 7). Codifica una nucleoproteína de 52-54 kDa que actúa como factor de transcripción (Stefanidis, Constantinos y Querfeld, Uwe, 2011).

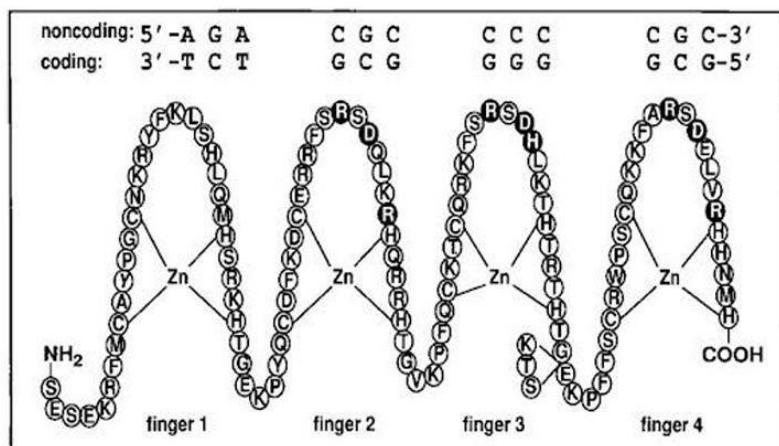


**Figura 9. Ordenamiento del gen *WT1*:** A) se muestran diez exones representados en amarillo. Región KTS es representada de color roja. B) Estructura proteica de WT1, se muestran sus regiones funcionales como la unión al ARN, así como los dominios de dedos de zinc.

Estos dedos de zinc están compuestos por láminas Beta ( $\beta$ ) y Alfa ( $\alpha$ ) hélice, las cuales son estabilizadas por un ion de zinc en el centro. Interactúan con dos cisteínas de las láminas  $\beta$  y dos histidinas de  $\alpha$  hélice. El primer dedo de zinc se une a la parte 3' de la secuencia de reconocimiento del ADN, mientras que el cuarto se une al extremo 5', como se muestra en la figura 9 (Zhang et al., 2020).

Durante el proceso de corte y empalme, las transcripciones del ARN mensajero sufren distintas modificaciones, lo cual resulta en cuatro isoformas principales de WT1. Una de las principales isoformas incluye o excluye 17 aminoácidos en el exón 5, justo antes de los dedos de zinc. Además, el empalme alternativo en el exón 9 inserta tres aminoácidos KTS (Lis-Thr-Ser) entre el tercer y cuarto dedo de zinc, formando dos tipos de dedos de zinc con dominios terminados en ZF-KTS y ZF+KTS. Esta última isoforma tiene una mayor afinidad hacia el ARN, mientras que ZF-KTS muestra una mayor afinidad hacia el ADN, especialmente a secuencias ricas en GC, como el motivo más degenerado "5'-GNGNGGGNG-3'" (Larsson et al., 1995). Si bien es necesario que los cuatro dedos de zinc

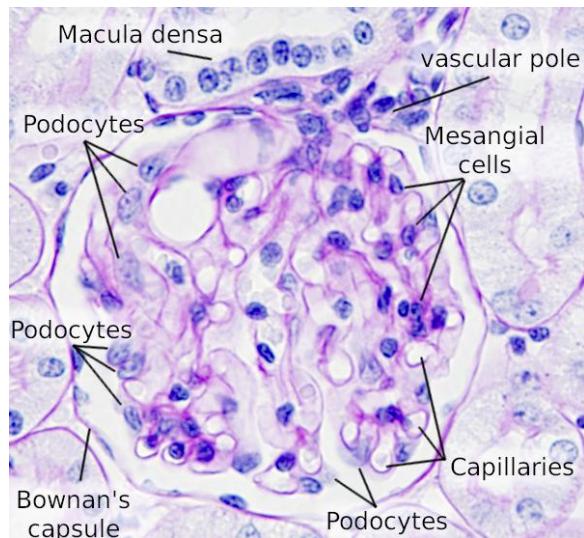
funcionen para que haya una alta complementariedad con el ARN, la presencia de alguna delección en la región codificante del primer dedo de zinc resultaría en una pobre afinidad con el ARN. Incluso si se suprime el cuarto dedo de zinc, se perdería completamente esa afinidad (Bardeesy y Pelletier, 1998). Los dedos de zinc desempeñan un papel importante en estabilizar el pliegue del dominio de dedos de zinc. Una mutación en cualquiera de ellos provoca una reducción directa tanto en la unión a los aptámeros del ARN como en la actividad de unión, ya que pueden formar uno o más contactos directos con el complejo formado por el ARN (Weiss y Romaniuk, 2009). La generación de al 11 menos 12 isoformas de WT1 se debe a dos situaciones: el pre-ARNm de WT1 contiene dos codones de inicio alternativo diferente, CUG y un AUG (upstream y downstream del AUG normal), y el empalme alternativo (Rasà et al., 2017).



**Figura 10. Representación esquemática de las interacciones de los dedos de zinc con el ADN.** Se muestra una orientación antiparalela del complejo formado. El extremo 3' del dedo de zinc se une covalentemente con el primer dedo de zinc y el cuarto con el 5'.

## 2.11 WT1 en podocitos

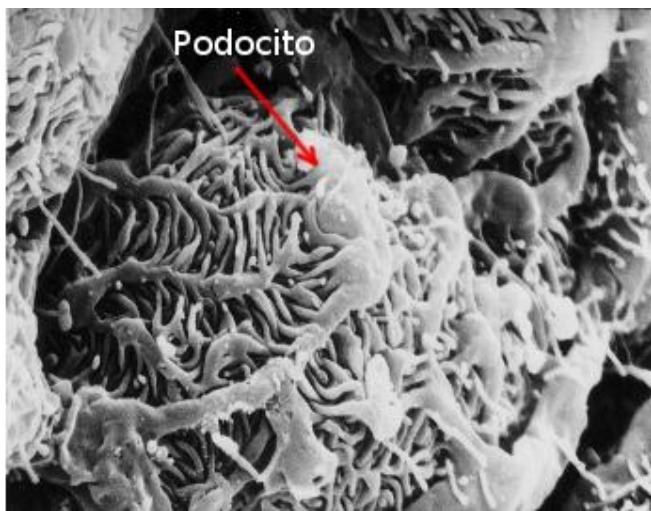
Los podocitos son células epiteliales altamente especializadas que se localizan en la capa visceral de la cápsula de Bowman, dentro del glomérulo renal. Estas células juegan un papel fundamental en el proceso de filtración de la sangre, que constituye la primera etapa en la formación de la orina (Reiser y Altintas, 2016). La figura 9 muestra la estructura de un glomérulo de manera detallada.



**Figura 11. Estructura glomerular de riñón murino teñida con hematoxilina.** Se observan los podocitos, células especializadas que recubren los capilares glomerulares y forman parte de la barrera de filtración. También se identifican células mesangiales, las cuales brindan soporte estructural y regulan el flujo sanguíneo intraglomerular; la mácula densa, parte del aparato yuxtaglomerular involucrado en la regulación de la presión arterial; el polo vascular, por donde entran y salen las arteriolas; los capilares glomerulares, donde ocurre la filtración sanguínea; y la cápsula de Bowman, que delimita el espacio urinario.

Estructuralmente, los podocitos se caracterizan por poseer prolongaciones citoplasmáticas conocidas como pedicelos, que se entrelazan alrededor de los capilares glomerulares formando una red de espacios llamados ranuras de filtración. Estas ranuras están recubiertas por un diafragma especializado que actúa como un filtro altamente selectivo, permitiendo el paso de agua, iones y pequeñas moléculas, mientras restringe el paso de proteínas plasmáticas y células sanguíneas.

Además de su papel mecánico como barrera de filtración, los podocitos participan activamente en la señalización celular y en el mantenimiento de la integridad estructural del glomérulo. La salud y funcionalidad de estas células es crítica, si sufre daño o pérdida está asociada con diversas enfermedades renales, como la glomeruloesclerosis focal y segmentaria, la nefropatía diabética y el síndrome nefrótico, entre otras (San Martín, 2017). A continuación, la figura de 10 pertenece a una imagen obtenida de un microscopio electrónico de barrido de podocitos.



**Figura 12. Imagen de microscopía electrónica de barrido de un podocito en el glomérulo renal.** Se observa la compleja morfología del podocito, con sus prolongaciones primarias y pedicelos (procesos secundarios) que envuelven los capilares glomerulares. Estas estructuras especializadas forman parte esencial de la barrera de filtración glomerular, permitiendo el paso selectivo de moléculas mientras evitan la pérdida de proteínas plasmáticas.

Durante el proceso de filtración, que se lleva a cabo en el diafragma de la hendidura, los podocitos adyacentes son conectados mediante el emparejamiento de moléculas de nefrina, que están ancladas a la membrana celular de los pedicelos apuestos. (Welsh y Saleem, 2010).

WT1 es esencial para el buen funcionamiento de los podocitos; se han reportado mutaciones en este gen que inducen glomerulopatías como es el síndrome de Denys-Drash y de Frasier;

que en ambos casos hay una presencia abundante de esclerosis en los glomérulos. Estas mutaciones sin sentido o de cambio de sentido dentro de la región de los dedos de zinc que conducen a una proteína que ya no puede unirse al DNA e interrumpen el sitio donador de empalme alternativo en el intrón 9, interfiriendo así con la producción de la isoforma WT1(+KTS) respectivamente. (Brunskill et al., 2011).

Experimentos con ratones con delección en alguna de sus isoformas de WT1 (-KTS) impide la expresión de nefrina (*NPHS1*), podocina (*NPHS2*) y sinaptopodina (*SYNPO*), los cuales son proteínas fundamentales para la función de la barrera de filtración glomerular: nefrina es una proteína estructural crítica de la hendidura de filtración; podocina participa en la señalización y mantenimiento de esta estructura; y sinaptopodina regula la organización del citoesqueleto de actina, esencial para la forma y movilidad de los podocitos (Lefebvre et al., 2015). En ratones con ausencia de (KTS+) identificaron la expresión de dichos genes, pero con alteraciones en la organización glomerular por lo que los riñones no se desarrollan completamente.

Además, WT1 se posiciona directamente a regiones reguladoras de un gran número de genes específicos de podocitos. De los 192 genes más expresados en podocitos, 91 muestran asociación con regiones de unión de WT1, entre estos genes se encuentran *Nphs1*, *Nphs2*, y *MafB*, así como genes de familias relacionadas con la adhesión a la membrana basal (como integrinas *Itga3*, *Itgav*, *Itgb5*, *Itgb8*) y la dinámica intracelular (*Myo1d*, *Myo1e*, *Myo6*). (Lefebvre et al., 2015)

### 3 Justificación

La DOXO es un agente quimioterapéutico ampliamente utilizado en el tratamiento de diversas neoplasias, su aplicación clínica se limita por sus efectos adversos, entre los que destacan la nefrotoxicidad y la hepatotoxicidad. Estos daños comprometen la función renal y hepática, afectan la calidad de vida de los pacientes y en muchos casos obligan a modificar o suspender el tratamiento oncológico. Por lo que es importante identificar estrategias que permitan mitigar las lesiones inducidas por la DOXO y, de esta manera, mejorar los resultados terapéuticos y la supervivencia de los pacientes.

La CURC, principal componente bioactivo de la cúrcuma (*Curcuma longa*), ha demostrado en diversos estudios efectos antioxidantes, antiinflamatorios y citoprotectores, lo que sugiere su potencial utilidad para contrarrestar el daño orgánico secundario a la quimioterapia. Particularmente, la CURC ha sido descrita como moduladora de la expresión del factor de transcripción *WT1*, proteína que se encuentra altamente expresada en los podocitos renales y cuya alteración puede comprometer la estructura y función de la barrera de filtración glomerular.

El presente estudio es importante debido a que contribuye al entendimiento de los mecanismos de protección tisular inducidos por la CURC frente al daño provocado por la quimioterapia, un área de gran interés en el campo de la oncología y la nefrología. Los resultados obtenidos podrían ofrecer bases sólidas para considerar la CURC como una terapia adyuvante en pacientes sometidos a tratamientos con DOXO, ayudando a preservar la función renal y hepática, y mejorando potencialmente la calidad de vida de los pacientes oncológicos.

#### **4 Hipótesis**

La administración de curcumina en ratones tratados con doxorrubicina reducirá el daño renal y hepático, preservando la estructura y función de ambos órganos. Además, la curcumina podría modular la expresión del factor de transcripción *WT1* en podocitos, contribuyendo a sus efectos protectores sobre el riñón.

#### **5 Objetivo General**

Evaluar el efecto protector de la curcumina frente al daño renal y hepático inducido por doxorrubicina, y analizar su implicación en la regulación de la expresión de *WT1* en podocitos de ratones *Balb/c*.

#### **6 Objetivos específicos**

1. Determinar la tasa de supervivencia y masa corporal de ratones *Balb/c* sometidos a modelos de daño renal y hepático crónico, tratados con doxorrubicina y curcumina.
2. Evaluar la función renal y hepática en ratones *Balb/c* tratados con doxorrubicina y curcumina en modelos de daño agudo y crónico.
3. Analizar las alteraciones histopatológicas en tejido renal en ratones tratados con doxorrubicina y curcumina.
4. Evaluar la expresión de *WT1* en muestras de riñones y orina tratados con doxorrubicina y curcumina

## 7 Material y Métodos

### 1. Animales

Se obtuvieron hembras *Balb/c* de entre 8-10 semanas de edad con una masa entre 25-30 g del departamento de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas con el consentimiento del comité de Bioética. Los ratones fueron criados en ciclos de luz y oscuridad de 12 horas respectivamente. Con alimento y agua debidamente administrado.

### 2. Tratamientos

Se administraron cuatro tratamientos experimentales distribuidos entre los diferentes grupos:

- Solución salina (NaCl) al 0.9% (9 mg/mL).
- Doxorrubicina a una concentración de 140 mg/mL.
- Curcumina a una concentración de 50  $\mu$ L/mL.

Tratamiento combinado de doxorrubicina y curcumina, administrados de forma simultánea a las mismas concentraciones utilizadas individualmente. En el modelo agudo, cada grupo experimental recibió una única dosis del tratamiento correspondiente el día 1 del experimento. Para el modelo crónico, se aplicaron dos dosis: la primera el día 1 y la segunda el día 7 después del inicio del tratamiento.

### 3. Obtención de muestras biológicas.

Durante el desarrollo del experimento, se llevó a cabo el monitoreo del peso corporal de los animales como indicador del estado general de salud y posible toxicidad. En el modelo agudo, el peso se registró diariamente durante los dos días de duración del protocolo. En el modelo crónico, el peso se registró en los días 1, 2, 3, 6, 8, 11 y 16 posteriores al inicio del tratamiento.

La recolección de muestras biológicas se realizó en puntos temporales definidos. Para el modelo agudo, se recolectó un pool de orina por grupo experimental a las 24 y 48 horas

postratamiento. En el modelo crónico, la orina se recolectó los días 1 y 16. Con el fin de preservar la integridad del ARN presente en la orina, a cada muestra se le añadió RNA later inmediatamente después de su recolección.

Las muestras sanguíneas se obtuvieron mediante punción cardiaca, conforme a lo establecido por la **NOM-062-ZOO-1999**, que regula el uso y cuidado de animales de laboratorio. Esta recolección se realizó a las 48 horas después del tratamiento en el modelo agudo y al día 16 en el modelo crónico.

Posteriormente, los ratones fueron eutanasiados mediante la administración intraperitoneal de un cóctel anestésico de ketamina/xilacina (100 mg/kg), de acuerdo con las directrices éticas y técnicas especificadas en la **NOM-062-ZOO-1999**. Una vez realizada la eutanasia, se extrajeron ambos riñones de cada animal. Uno fue fijado en formalina al 10% para análisis histopatológico, y el otro fue congelado inmediatamente a -80 °C para la posterior extracción de ARN.

#### 4. Químicas Sanguíneas.

Una vez obtenidas las muestras de sangre por grupo experimental, se enviaron a un laboratorio clínico para la realización de análisis de química sanguínea. Estos estudios permitieron evaluar parámetros relacionados con el metabolismo de lípidos y proteínas, la función hepática y los niveles de minerales séricos. Algunos de los analitos evaluados incluyeron alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), albúmina, urea, creatinina, colesterol y triglicéridos, entre otros.

Los resultados obtenidos fueron normalizados con respecto al grupo control correspondiente y se representaron gráficamente utilizando el software GraphPad Prism versión 8.0.

#### 5. Análisis de orina por tiras reactivas.

Para el análisis de orina, se utilizó un volumen de entre 100 y 200 µL de orina por grupo

experimental, previamente recolectada en forma de pool. Se aplicó cada muestra a una tira reactiva comercial de uso clínico, siguiendo las instrucciones del fabricante. Las tiras permitieron evaluar diversos parámetros urinarios, tales como: pH, glucosa, proteínas, urobilinógeno, nitritos, leucocitos y hemoglobina.

Las tiras reactivas fueron escaneadas y se realizó un análisis densitométrico de las zonas reactivas mediante software de procesamiento de imagen: Image J (fiji win x98), con el fin de cuantificar visualmente los cambios de color correspondientes a cada parámetro. Posteriormente, los resultados fueron comparados con los obtenidos en el grupo control y graficados utilizando GraphPad Prism versión 8.0.

## 6. Procesamiento Histológico y tinción de H&E.

Tras la eutanasia, un riñón de cada ratón fue extraído cuidadosamente y fijado en formalina neutra al 10% durante un mínimo de 24 horas a temperatura ambiente, con el fin de preservar la estructura tisular. Posteriormente, los órganos fueron sometidos a un proceso de deshidratación mediante una serie de soluciones de alcohol en concentraciones crecientes (70%, 80%, 95% y 100%), seguido de aclaramiento en xilol y posterior inclusión en parafina. Una vez obtenidos los bloques de parafina, se realizaron cortes histológicos de 5  $\mu\text{m}$  de espesor utilizando un micrótomo rotatorio.

Los cortes fueron montados en portaobjetos previamente tratados y se dejaron secar a 37 °C durante al menos 12 horas. Posteriormente, se desparafinaron con xilol y se rehidrataron mediante una serie de soluciones alcohólicas en concentraciones decrecientes (100%, 95%, 80%, 70%) hasta llegar a agua destilada. La tinción se realizó siguiendo el protocolo estándar de hematoxilina y eosina (H&E). Primero, las secciones se tiñeron con hematoxilina para resaltar los núcleos celulares, seguida de la tinción con eosina para contrastar el citoplasma y estructuras extracelulares. Tras el enjuague, las láminas se deshidrataron nuevamente, se aclararon en xilol y se montaron con un medio de montaje permanente. Finalmente, las muestras teñidas fueron observadas y analizadas bajo un microscopio óptico de luz, documentando los hallazgos morfológicos relevantes para el estudio.

## 7. Extracción de RNA de tejido y muestras de orina.

La extracción de ARN se realizó tanto a partir de muestras de orina como de tejido renal, utilizando reactivos comerciales específicos para cada tipo de muestra y siguiendo las instrucciones del fabricante (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, EE. UU.).

### ➔ Extracción de ARN de orina

Para las muestras líquidas de orina, se utilizó el reactivo TRI Reagent® LS, diseñado para la extracción de ARN total a partir de líquidos biológicos. Se procesaron entre 100 y 200  $\mu$ L de orina por grupo experimental (en pool), mezclándolos en proporción 1:3 con el reactivo TRI Reagent® LS. La extracción se llevó a cabo según las indicaciones del fabricante, que incluyen lisis completa de la muestra, separación de fases mediante adición de cloroformo, precipitación del ARN con isopropanol y lavados con etanol al 75%. El ARN obtenido fue resuspendido en agua libre de nucleasas y almacenado a -80 °C hasta su análisis.

### ➔ Extracción de ARN de riñón

Para el tejido renal, los riñones previamente congelados a -80 °C fueron pulverizados con nitrógeno líquido en un mortero pre-enfriado para mantener la integridad del ARN durante la disruptión del tejido. El polvo obtenido fue tratado con TRI Reagent®, formulado para tejidos y cultivos celulares, y procesado según las instrucciones del fabricante, que incluyen lisis, separación con cloroformo, precipitación con isopropanol y lavados con etanol al 75%. Finalmente, el ARN fue resuspendido en agua libre de nucleasas y almacenado a -80 °C.

## 8. Evaluación de la cantidad e integridad del ARN

La cuantificación del ARN total obtenido de ambas muestras se realizó mediante espectrofotometría utilizando un equipo NanoDrop®, registrando la absorbancia a 260 nm y evaluando la pureza mediante la relación A260/A280. Para verificar la integridad del ARN, se realizaron corridas electroforéticas en gel de agarosa al 0.8% teñido con bromuro de etidio. La presencia de bandas bien definidas correspondientes a los ribosomas 28S y 18S indicó un ARN de buena calidad.

## 9. Síntesis de ADN complementario (cDNA)

La síntesis de ADN complementario (cDNA) se realizó a partir del ARN total previamente extraído, utilizando el kit SensiFAST™ cDNA Synthesis Kit (Bioline®), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Para ello, se preparó la mezcla de reacción sobre hielo, incluyendo ARN total (hasta 1 µg), buffer de transcripción, transcriptasa inversa y agua libre de nucleasas, en un volumen final de 20 µL. Los componentes del kit fueron previamente vortexeados y centrifugados brevemente antes de su uso para asegurar homogeneidad.

Una vez preparada la mezcla, se incubó en un termociclador programado con el siguiente perfil térmico:

- 25 °C por 10 minutos (hibridación de cebadores)
- 42 °C por 15 minutos (síntesis del cDNA mediante transcripción inversa)
- 85 °C por 5 minutos (inactivación de la enzima)

Finalmente, el producto fue mantenido a 4 °C o conservado en hielo hasta su almacenamiento o uso inmediato. En caso de ARN con estructuras secundarias complejas, se consideró un paso opcional de 48 °C por 15 minutos. El cDNA obtenido fue almacenado a -20 °C hasta su posterior utilización.

## 10. qPCR.

La expresión de los genes *G3PDH* y *WT1* se evaluó mediante la técnica de PCR punto final. Para cada reacción se preparó un máster mix que contenía:

Máster Mix qPCR SYBR green	10 µL
Primers 0.5 µM,	2µL, sentido y 2 µL antisentido
DNA complementario	100 µg
Agua DEPC	Completar volumen hasta 20 µL

Posteriormente fueron introducidos en un termociclador en tiempo real, bajo las siguientes condiciones de acuerdo con la secuencia de Primers utilizados:

#### GA3PDH

Secuencia de Primers	Forward: 5'-ACACAGTCCATGCCATCAC-3' Reverse: 5'-TCCACCACCTGTTGCTGTA-3'
TM	60°C
Núm. Ciclos	35
Tamaño del Amplicón	452 pb

#### WT1 isoforma General:

Secuencia de Primers	Forward: 5'-GAGAAACCATACCAGTGTGA-3' Reverse: 5'-GGTTTACCTGTATGAGTCCT-3'
TM	60°C
Núm. Ciclos	35
Tamaño del Amplicón	179 pb

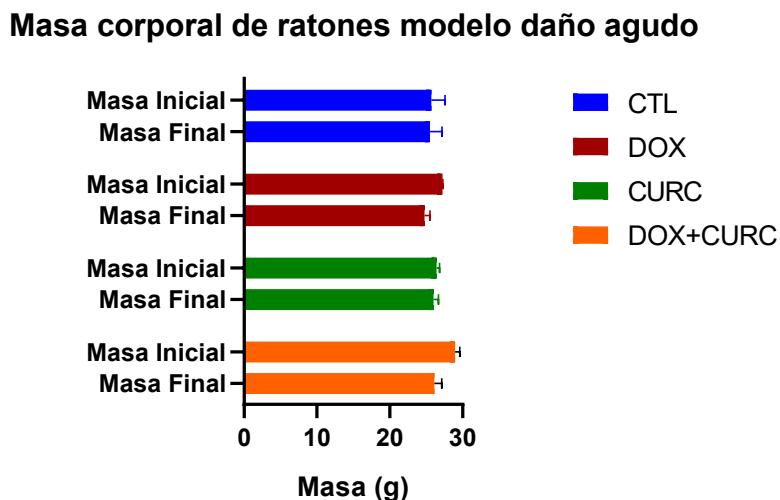
Las curvas de amplificación y los valores de umbral de ciclo (Ct) se obtuvieron mediante el software del equipo de qPCR. Para cada gen analizado, las reacciones se realizaron por triplicado y se verificó la ausencia de productos inespecíficos mediante la curva de disociación (melt curve). Los valores de Ct se normalizaron frente al gen de referencia seleccionado (*Ga3pdh*) y el cálculo de la expresión relativa se realizó utilizando el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  por medio de una hoja de cálculo.

Para cada grupo experimental, se calcularon los promedios y se representaron gráficamente en *GraphPad Prism* versión 8.0, los resultados de expresión relativa. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza de una vía (one-way ANOVA) seguido de la prueba post-hoc de Dunnett, con el fin de comparar cada tratamiento contra el grupo control.

## 8. Resultados.

### 8.1 La doxorrubicina induce pérdida de masa corporal en ratones *Balb/c*.

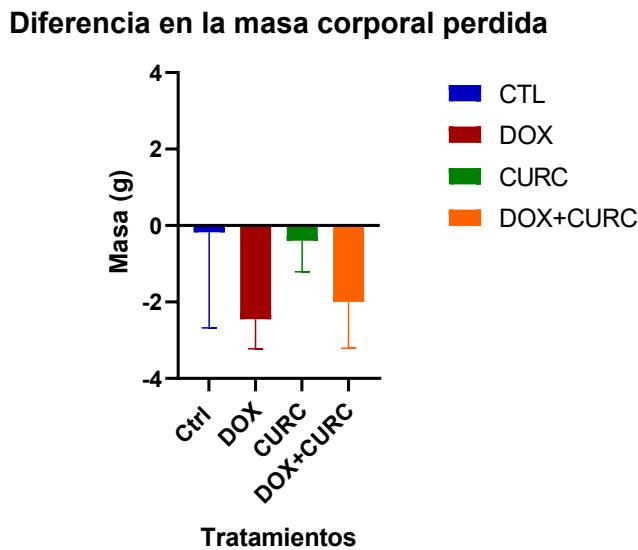
Para determinar la masa corporal de ratones *Balb/c* sometidos a modelo de daño agudo y crónico tratados con doxorrubicina y curcumina, se pesaron diariamente cada ratón de cada tratamiento, se tabularon los pesos y se construyeron las gráficas correspondientes que se muestran a continuación.



**Figura 13. Gráfica de masa corporal de ratones modelo daño agudo.** La gráfica de barras muestra la masa corporal de ratones tratados con solución salina (CTL), doxorrubicina (DOX), curcumina (CURC) y la combinación de ambos (DOX+CURC). Se observa una mayor pérdida de masa corporal en los ratones tratados con DOX en comparación con los tratados con curcumina o el grupo control.

Los ratones tratados con doxorrubicina presentaron una pérdida de masa corporal significativamente mayor en comparación con los grupos tratados con curcumina o el grupo control. Esta disminución en el peso corporal puede atribuirse a los efectos adversos del fármaco, entre los que destaca la inducción de estrés oxidativo sistémico, conocido por promover catabolismo y deterioro del estado general del organismo. La cuantificación exacta de la masa corporal perdida se presenta en la figura siguiente, donde se comparan los distintos

tratamientos evaluados.

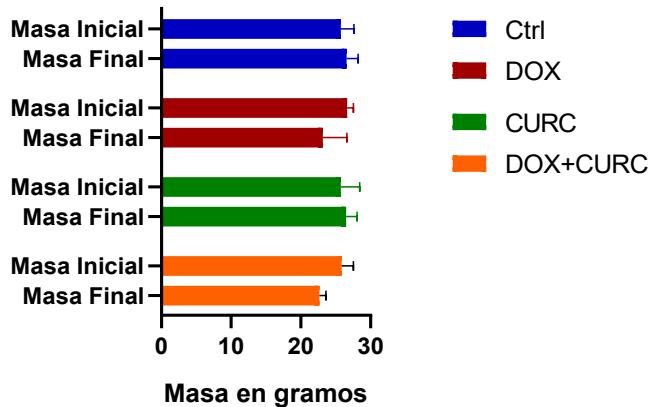


**Figura 14. Diferencia de masa corporal en ratones del modelo de daño agudo.** La gráfica representa la variación de masa corporal (masa inicial menos masa final) en los cuatro grupos experimentales: control (CTL), curcumina (CURC), doxorrubicina (DOX) y la combinación DOX+CURC. Se observa una pérdida de masa corporal destacada en los grupos tratados con doxorrubicina, especialmente en comparación con los grupos control y curcumina.

Todos los grupos experimentales presentaron una disminución en la masa corporal. En el caso del grupo control, esta pérdida podría atribuirse al estrés derivado de la manipulación y la administración intraperitoneal de los tratamientos. En los grupos que recibieron curcumina, es posible que el vehículo utilizado (DMSO) haya contribuido a la reducción de peso observada, lo cual también explicaría la pérdida en el grupo que recibió la combinación DOX+CURC. No obstante, los ratones tratados con doxorrubicina mostraron una disminución de masa corporal considerablemente mayor, lo que demuestra un efecto tóxico adicional del fármaco. Estos resultados indican que, bajo las condiciones del presente estudio, la curcumina no fue capaz de prevenir la pérdida de masa corporal inducida por la doxorrubicina en el modelo agudo.

El tiempo de tratamiento y las dosis administradas también son factores que pueden influir en la variación de la masa corporal de los ratones, como se observó en el modelo de daño crónico.

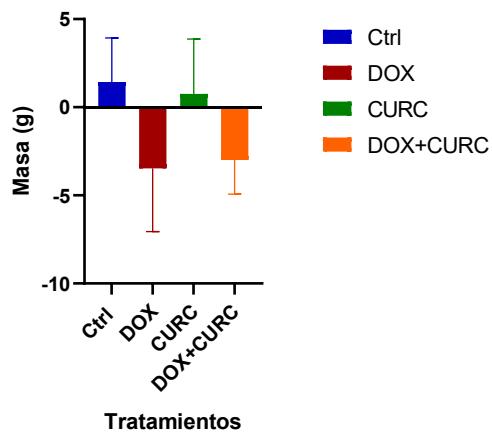
### Masa corporal de ratones modelo daño crónico



**Figura 15. Gráfica de masa corporal de ratones modelo daño crónico.** La gráfica de barras muestra la masa corporal de ratones tratados con solución salina (CTL), doxorrubiciна (DOX), curcumina (CURC) y la combinación de ambos (DOX+CURC). Se observa una mayor pérdida de masa corporal en los ratones tratados con DOX en comparación con los tratados con curcumina o el grupo control, se observa una recuperación del peso en los ratones tratados con curcumina.

Al analizar con mayor detalle las diferencias de peso, se encontró que los ratones tratados con solución salina y curcumina lograron recuperar su masa corporal e incluso superarla respecto a su peso inicial. En contraste, los tratamientos con doxorrubiciна resultaron ser letales, provocando una disminución significativa en la masa corporal de los animales.

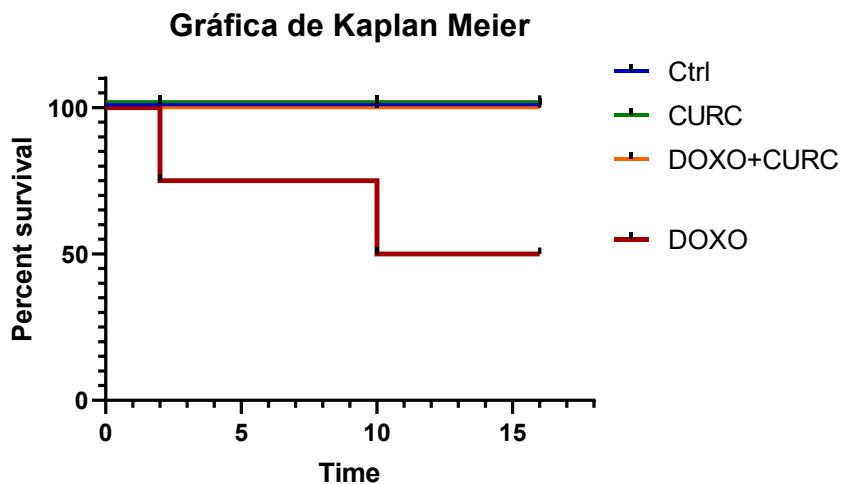
### Diferencia en la masa corporal perdida



**Figura 16. Diferencia de masa corporal en ratones del modelo de daño crónico.** La gráfica muestra la variación de masa corporal (masa inicial menos masa final) en los cuatro grupos experimentales: control (CTL), curcumina (CURC), doxorrubiciна (DOX) y la combinación DOX+CURC. El grupo tratado con DOX presentó la mayor pérdida de masa corporal, mientras que los ratones del grupo combinado (DOX+CURC) también mostraron una disminución, aunque en menor medida.

## 8.2 La curcumina previene la mortalidad inducida por doxorrubicina en ratones.

Se evaluó la supervivencia de los ratones pertenecientes a los cuatro grupos experimentales en el modelo de daño crónico. Durante este experimento, los ratones fueron monitoreados los 16 días que el experimento duró. A continuación, se muestra la curva de Kaplan Meier.

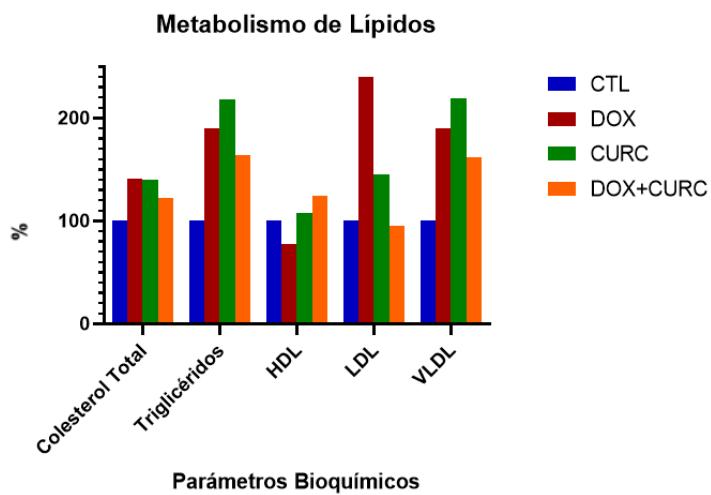


**Figura 17. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier.** Se presenta la supervivencia acumulada durante 16 días para los cuatro grupos experimentales: control (CTL), curcumina (CURC), doxorrubicina (DOX) y la combinación DOX+CURC. Todos los ratones de los grupos CTL, CURC y DOX+CURC sobrevivieron a lo largo del experimento. En el grupo DOX, se observaron dos muertes: una al día 2 y otra al día 10. El análisis estadístico mediante la prueba de log-rank mostró diferencias significativas en la supervivencia entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

La curva de Kaplan-Meier evidenció que los grupos control, curcumina y la combinación DOX+CURC mantuvieron una supervivencia del 100 % a lo largo de los 16 días del experimento. En cambio, el grupo tratado únicamente con doxorrubicina presentó una reducción en la supervivencia, con la muerte de dos ratones, un ocurrido tempranamente día 2 y otra al día 10. Esta mortalidad refleja la alta toxicidad de la doxorrubicina y su letalidad que genera en distintos órganos. Encontramos que la administración conjunta de curcumina con doxorrubicina evitó completamente la mortalidad en los ratones, lo que sugiere un efecto

protector de la curcumina frente a los efectos letales de la doxorrubicina. Así, la combinación de ambos compuestos no solo mantiene la supervivencia, sino que podría representar una estrategia adyuvante para reducir los efectos adversos asociados al tratamiento con doxorrubicina.

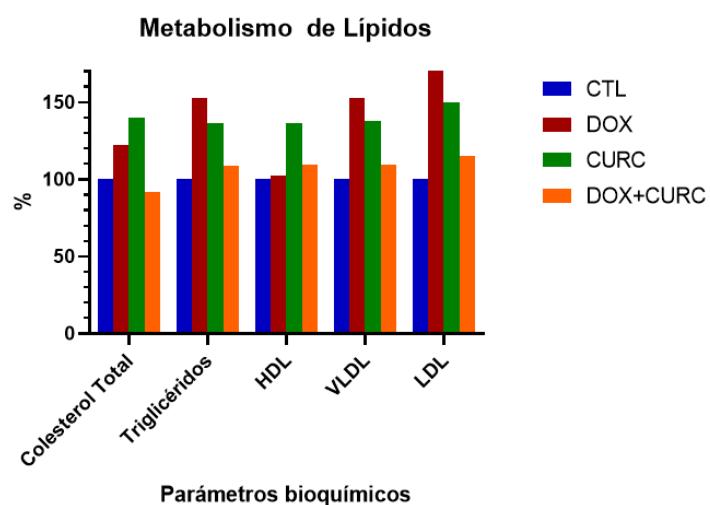
### 8.3 La curcumina mejora la función renal y hepática en ratones tratados con doxorrubicina.



**Figura 18. Análisis del metabolismo lipídico en el modelo agudo.** Se evaluaron los niveles de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL. Los animales tratados con doxorrubicina presentaron un aumento en los niveles de triglicéridos, LDL y VLDL (lipoproteínas de baja y muy baja densidad). La administración de curcumina logró revertir parcialmente estas alteraciones, incluyendo una reducción en los niveles de triglicéridos. Sin embargo, se observó un aumento en el colesterol total en el grupo tratado con curcumina en comparación con el control.

Con el objetivo de evaluar la función renal y hepática en los diferentes grupos experimentales, se recolectaron muestras de sangre de los animales, agrupadas en pools. A partir de estas muestras, se realizaron análisis de química sanguínea para medir distintos parámetros bioquímicos tanto en modelos de daño agudo como crónico. Como se mencionó previamente, la administración de doxorrubicina incrementa la generación de radicales libres, lo que induce peroxidación lipídica y, en consecuencia, altera el metabolismo de los lípidos.

A continuación, se presentan los resultados relacionados con el perfil lipídico en ambos modelos de daño.



**Figura 19. Análisis del metabolismo lipídico en el modelo crónico.** Se evaluaron parámetros relacionados con el metabolismo lipídico: colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL. Los animales tratados con doxorrubicina mostraron un aumento en los niveles de colesterol total, LDL y VLDL (lipoproteínas de baja y muy baja densidad), así como una disminución en los niveles de HDL en comparación con el grupo control. La administración de curcumina logró revertir parcialmente estas alteraciones en las lipoproteínas. No obstante, se observó un aumento en los niveles de triglicéridos en el grupo tratado con curcumina en comparación con el control.

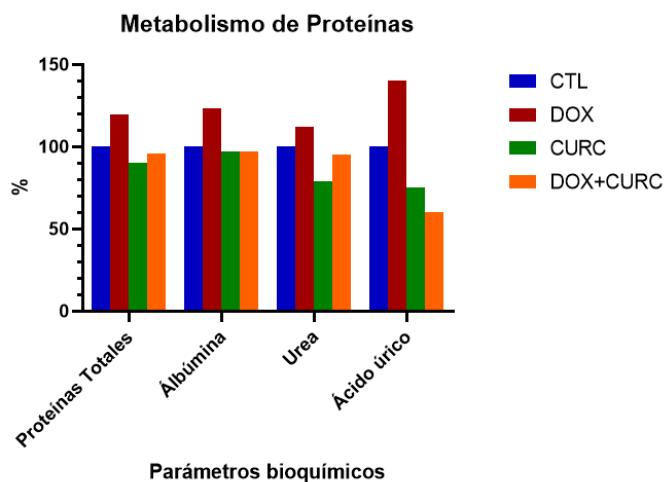
Para evaluar el efecto protector de la curcumina frente a la citotoxicidad inducida por la doxorrubicina, se analizaron los siguientes parámetros del metabolismo lipídico: colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL. En ambos modelos (agudo y crónico), se observó que la curcumina, tanto sola como en combinación con doxorrubicina, incrementa y mantiene los niveles de HDL, mientras reduce los niveles de LDL y VLDL en comparación con los grupos tratados únicamente con doxorrubicina. Esto sugiere que la curcumina favorece el transporte reverso de colesterol, promoviendo la eliminación de lipoproteínas aterogénicas y contribuyendo a un perfil lipídico más saludable.

Particularmente, se encontró que cuando la curcumina se administra sola, puede elevar los niveles de colesterol total y triglicéridos en comparación con el grupo control. Esto podría deberse a un efecto regulador sobre el metabolismo lipídico basal, posiblemente por su

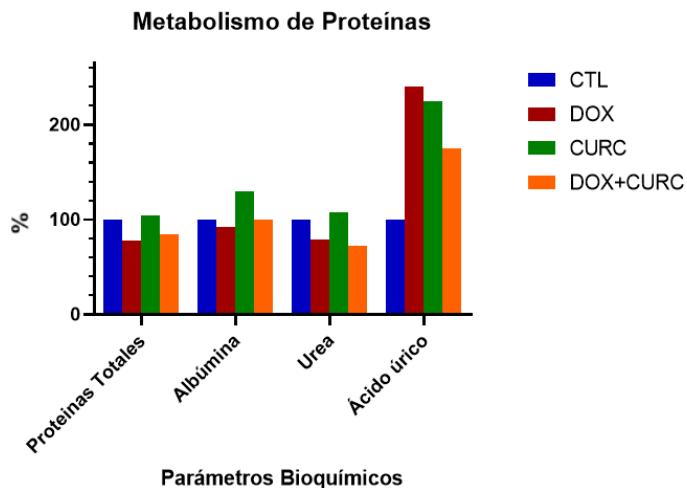
capacidad para modular enzimas clave involucradas en la biosíntesis y movilización de lípidos. Sin embargo, cuando la curcumina se administra de forma simultánea con doxorrubicina, los niveles de colesterol y triglicéridos disminuyen significativamente respecto al grupo tratado solo con doxorrubicina.

Esta reducción en el tratamiento combinado puede explicarse por la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de la curcumina, que atenúa el estrés oxidativo y el daño hepático inducido por la doxorrubicina, lo que a su vez normaliza parcialmente el metabolismo de lípidos. Así, la curcumina no solo contrarresta el aumento inducido por la quimioterapia, sino que modula favorablemente los niveles de colesterol y triglicéridos cuando el daño está presente, actuando como un agente regulador adaptativo frente al desequilibrio metabólico.

El hígado y el riñón son los órganos encargados metabolizar las proteínas por medio del ciclo de la urea y la filtración de desechos nitrogenados y la reabsorción de proteínas respectivamente, por eso evaluamos para ambos modelos los niveles de proteínas totales, albúmina, urea y ácido úrico.



**Figura 20. Análisis del metabolismo de proteínas en el modelo agudo.** Los animales tratados con doxorrubicina presentaron un aumento en los cuatro parámetros evaluados: proteínas totales, albúmina, urea y ácido úrico, en comparación con el grupo control. La administración de curcumina logró estabilizar estos niveles, incluso cuando se administró en combinación con doxorrubicina, lo que sugiere un efecto protector sobre el metabolismo proteico.



**Figura 21. Análisis del metabolismo de proteínas en el modelo crónico.** El grupo tratado con doxorrubicina presentó un aumento significativo en los niveles de proteínas totales, urea y ácido úrico, lo que indica daño renal y hepático. En contraste, el tratamiento combinado con curcumina redujo estos niveles, sugiriendo un efecto protector frente a la toxicidad inducida por la doxorrubicina. CURC por sí sola no alteró significativamente estos parámetros en comparación con el grupo control (CTL).

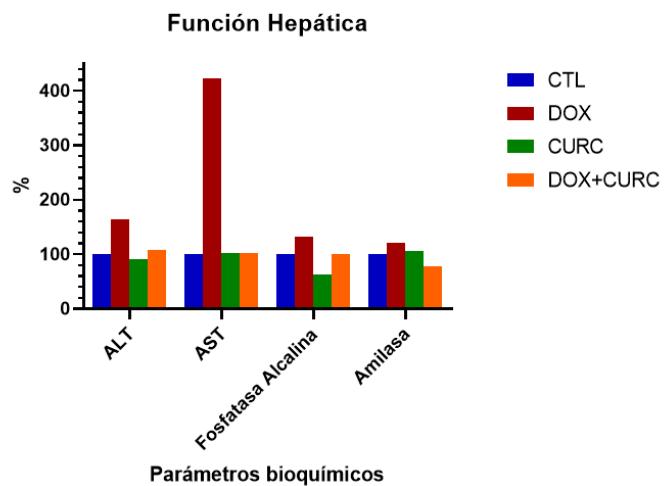
Como se muestra en el modelo agudo, la administración de doxorrubicina induce un aumento significativo en los niveles de proteínas totales, albúmina, urea y ácido úrico en suero, lo que indica un desequilibrio en el metabolismo proteico posiblemente relacionado con daño hepático y renal, así como con un aumento en el catabolismo proteico. Sin embargo, los grupos tratados con curcumina, tanto de forma individual como en combinación con doxorrubicina, lograron contrarrestar estos efectos, mostrando niveles iguales o incluso menores que los del grupo control.

Esta disminución indica que la curcumina ejerce un efecto regulador sobre el metabolismo de proteínas, posiblemente mediante la reducción del estrés oxidativo, la mejora de la función hepatorrenal y la disminución del catabolismo sistémico. Aun en presencia de doxorrubicina, la curcumina parece preservar la homeostasis proteica, lo cual podría estar relacionado con una mejor conservación del estado nutricional, reducción de la pérdida de masa muscular y menor desgaste metabólico en general. La curcumina no solo protege frente al daño inducido por la quimioterapia, sino que también modula activamente los procesos metabólicos que se

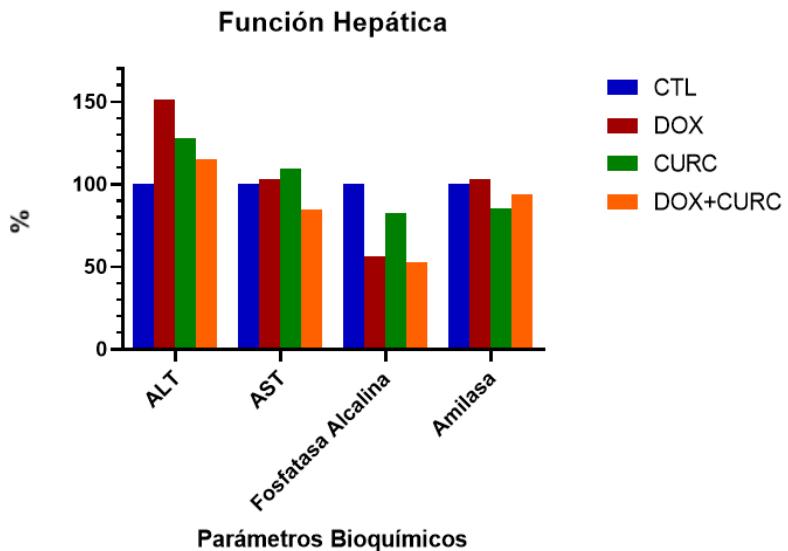
alteran durante el estrés celular.

En el modelo crónico, los niveles de proteínas totales, albúmina y urea se mantuvieron estables en todos los grupos experimentales, mostrando valores similares al grupo control. Sin embargo, el ácido úrico presentó un aumento significativo en el grupo tratado únicamente con doxorrubicina, mientras que en los grupos tratados con curcumina sola o en combinación con doxorrubicina, este incremento fue considerablemente menor pero mayor que en el control. Este patrón posiblemente indica que la doxorrubicina, al inducir un daño oxidativo sostenido, podría incrementar el catabolismo de nucleótidos de purina, elevando los niveles de ácido úrico. La curcumina, por su parte, parece atenuar este efecto mediante su acción antioxidante y hepatoprotectora, lo que limita la acumulación de productos de desecho nitrogenados como el ácido úrico, incluso en condiciones de tratamiento prolongado.

Las enzimas AST, ALT y fosfatasa alcalina son biomarcadores ampliamente utilizados para evaluar daño hepático, ya que se liberan al torrente sanguíneo como consecuencia de la lesión o destrucción de los hepatocitos. La evaluación de estos parámetros se realizó en ambos modelos experimentales (agudo y crónico), cuyos resultados se presentan a continuación.



**Figura 22. Análisis de la función hepática y pancreática en modelo agudo.** Los animales tratados con doxorrubicina mostraron un incremento significativo en los niveles de enzimas hepáticas, en especial AST, así como de amilasa, en comparación con el grupo control. Los tratamientos con curcumina, tanto solos como en combinación con doxorrubicina, evidenciaron una reducción en los niveles de estas enzimas, lo cual sugiere un efecto hepatoprotector y posiblemente pancreatoprotector de la curcumina.

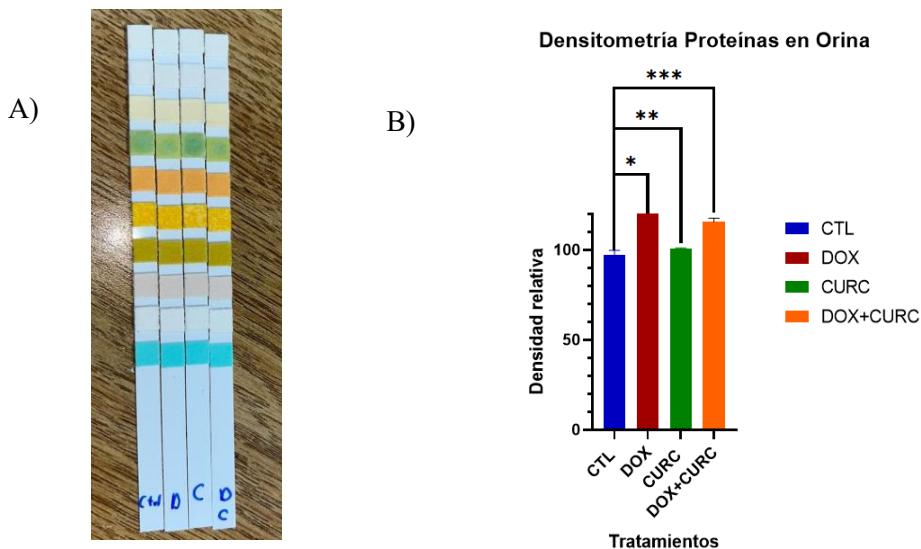


**Figura 23. Análisis de la función hepática y pancreática en modelo crónico.** En este modelo, la administración de doxorrubicina produjo un aumento en los niveles de ALT y amilasa. Por otro lado, la curcumina redujo significativamente los niveles de fosfatasa alcalina y amilasa. De forma interesante, el tratamiento con curcumina por sí solo generó un aumento en AST; sin embargo, en combinación con doxorrubicina, se observó una disminución de esta enzima en suero.

En el modelo agudo, los tratamientos con doxorrubicina indujeron un aumento marcado de las transaminasas, lo que confirma su efecto hepatotóxico. En cambio, en el modelo crónico, los niveles enzimáticos se mantuvieron en valores similares al control, con excepción de ALT, que se mantuvo elevada. Estos resultados evidencian el impacto tóxico acumulativo de la doxorrubicina sobre el hígado. Por su parte, la curcumina mostró un efecto protector sobre los hepatocitos en ambos modelos, ya que los niveles de enzimas hepáticas en los grupos tratados con curcumina, sola o en combinación con doxorrubicina, se mantuvieron cercanos a los del grupo control.

Otro método utilizado para evaluar la función renal y hepática fue el análisis de orina mediante tiras reactivas. Para ello, se recolectó una muestra de orina (pool) por cada grupo experimental en dos momentos distintos (día 1 y día 2). Las tiras fueron expuestas a 200  $\mu$ L de orina y posteriormente se analizó la densitometría de los diferentes parámetros evaluados. Los resultados fueron tabulados y graficados para permitir una comparación visual entre los

grupos experimentales que a continuación se muestran.



**Figura 24.** Tiras reactivas de orina y análisis densitométrico de proteínas urinarias mediante tiras reactivas.

(A) Imagen de tiras reactivas para proteínas en orina: CTL, DOX, CURC y DOX+CURC.  
 (B) Gráfica de densidad relativa: DOX incrementó la excreción de proteínas en comparación con el control, mientras que el tratamiento combinado DOX+CURC redujo este efecto.

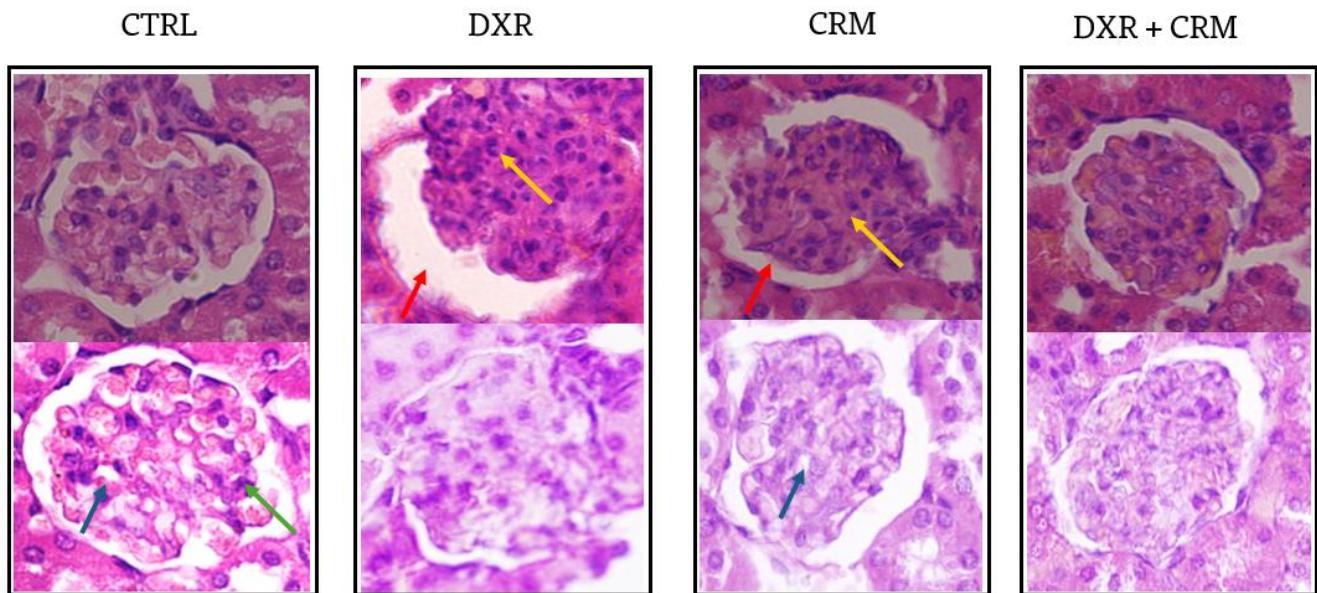
La gráfica muestra la evaluación de proteínas urinarias obtenidas del pool de orina de cada grupo experimental mediante densitometría de tiras reactivas. Se observa que la administración de DOX provoca un incremento marcado en la excreción de proteínas urinarias en comparación con el grupo control. Este resultado guarda concordancia con el aumento de proteínas totales observado en las pruebas bioquímicas séricas del mismo grupo experimental, lo que sugiere que la DOX ocasiona un daño significativo tanto a nivel hepático como renal. Este daño compromete la función tubular renal, limitando la reabsorción de proteínas de baja densidad hacia el torrente sanguíneo y favoreciendo su eliminación urinaria.

En contraste, la administración de curcumina no genera cambios relevantes en la excreción urinaria de proteínas. Además, cuando se combina con DOX, se observa una reducción ligera pero estadísticamente significativa de la proteinuria respecto al grupo tratado únicamente con DOX. Estos resultados indican que la curcumina podría ejercer un efecto modulador o

protector frente a la nefrotoxicidad inducida por la DOX.

#### 8.4 La curcumina protege la estructura del glomérulo ante el daño causado por la doxorrubicina.

Para analizar la histopatología de los riñones provenientes de los cuatro grupos experimentales y evaluar tanto el daño glomerular inducido por la doxorrubicina como el posible efecto nefroprotector de la curcumina, se realizaron cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina (H&E). A continuación, se presentan las microfotografías representativas y el análisis correspondiente.



**Figura 25. Análisis histopatológico de riñones tratados con curcumina y doxorrubicina.** Se observan imágenes de cortes histológicos teñidos con h&e de glomérulos de ratones pertenecientes a los tratamientos. En el grupo tratado con DXR se observan alteraciones estructurales marcadas, como deformación glomerular, compresión celular y ampliación del espacio urinario (flechas rojas y amarillas). El tratamiento con CRM mostró una morfología glomerular más parecida al control, mientras que el grupo combinado (DXR + CRM) evidenció una notable atenuación del daño inducido por DXR, con estructuras glomerulares más similares al grupo control.

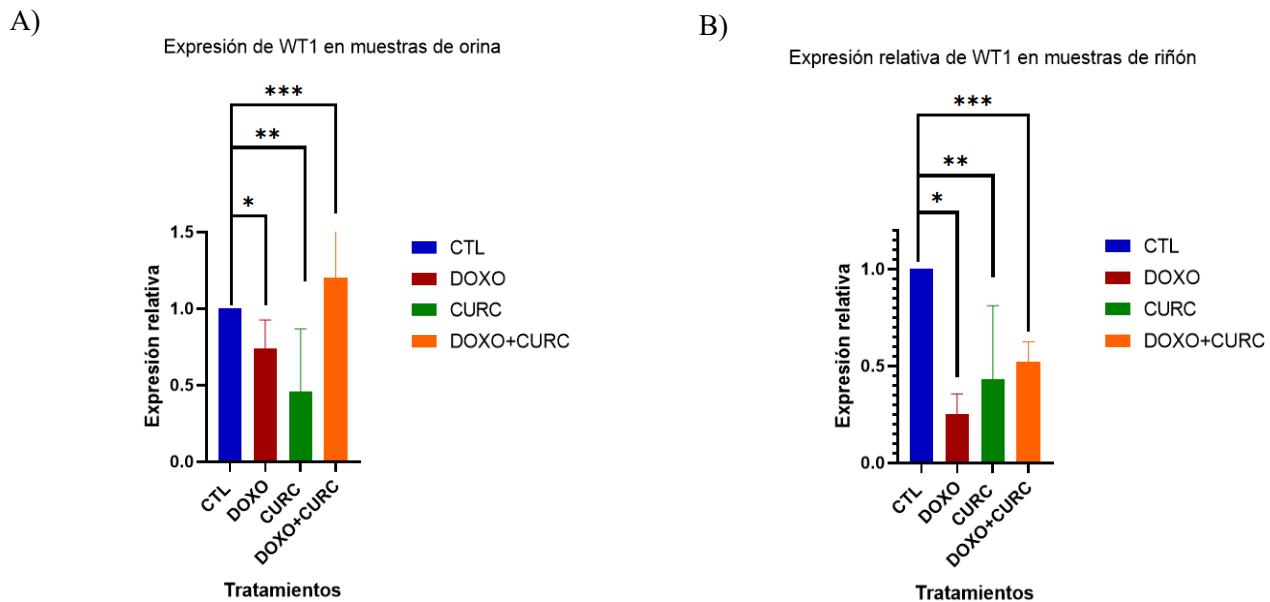
En los cortes histológicos del grupo control, los glomérulos presentan una estructura morfológica intacta y bien organizada. Se distingue claramente la cápsula de Bowman, de

contorno definido y continuo, así como un espacio urinario regular y uniforme. Las células endoteliales, podocitos y células mesangiales se encuentran distribuidas de manera ordenada, y los capilares glomerulares son visibles, permitiendo inferir un funcionamiento renal fisiológico. En contraste, los glomérulos del grupo tratado con doxorrubicina (DXR) muestran una desorganización estructural evidente. Se observa compresión y amontonamiento celular, reducción y deformación del espacio urinario, además de una pérdida significativa de la arquitectura capilar, lo que sugiere colapso de los capilares glomerulares. La ausencia del polo vascular, estructura fundamental para la entrada de sangre al glomérulo, refuerza la premisa de una afectación severa del proceso de filtración glomerular. Estos cambios histológicos reflejan un daño agudo inducido por la doxorrubicina a nivel renal.

El grupo tratado únicamente con curcumina (CRM) presenta una arquitectura glomerular más cercana al estado fisiológico. Aunque se detectan algunas alteraciones leves, como una ligera disminución del espacio urinario o menor definición de ciertas estructuras, en general, el glomérulo conserva una disposición organizada. Esto sugiere que la curcumina no induce un daño renal significativo y podría contribuir a preservar la morfología glomerular. Finalmente, en el grupo DXR + CRM, los glomérulos muestran una restauración parcial de la estructura dañada por DXR. El espacio urinario aparece más definido y conservado, similar al del grupo control. La cápsula de Bowman mantiene su morfología envolvente, los capilares glomerulares no presentan signos evidentes de colapso, y las células mesangiales y podocitos están distribuidos homogéneamente. Concluimos que la curcumina funge un papel como agente nefroprotector, atenuando el daño estructural inducido por la doxorrubicina a nivel glomerular.

## 9.5 Curcumina modula la expresión de *WT1* en podocitos.

Para cuantificar las variaciones de *WT1* inducidas por los tratamientos, se extrajo RNA de muestras de riñón y orina de ratones tratados con DOX, CURC y DOX+CURC. Se calculó  $\Delta CT$  y la expresión relativa de *WT1*. Los resultados se muestran en la figura 26.



**Figura 26. Expresión de *WT1* determinada por qPCR en podocitos:** A) tejido renal, B) muestras de orina, en ratones tratados con doxorrubicia (DOX), curcumina (CURC) y su combinación (DOX+CURC). En riñón, los tratamientos inducen una disminución en la expresión de *WT1*; sin embargo, la curcumina atenúa la pérdida excesiva provocada por DOX. En orina, *WT1* disminuye con DOX y CURC, mientras que el tratamiento combinado evita la baja expresión e incluso induce un aumento. *WT1* se expresa de forma constitutiva en podocitos glomerulares.

Como se ha revisado previamente, *WT1* se expresa de manera constitutiva en los podocitos glomerulares y regula genes esenciales para la estructura y la función del glomérulo. Una reducción en su expresión puede comprometer la barrera de filtración, favoreciendo la pérdida de proteínas y otras moléculas, lo cual coincide con nuestros resultados vistos anteriormente. La doxorrubicia (DOX) induce daño directo y pérdida de podocitos, lo que

se refleja en un descenso marcado de *WT1* en el tejido renal y en la presencia de material celular, incluidos podocitos lesionados, en la orina de los ratones tratados.

En las muestras de riñón, *WT1* (figura 26A) disminuyó con todos los tratamientos en comparación con el control, siendo más notoria la reducción con DOX. La curcumina (CURC) y el tratamiento combinado (DOX+CURC) también redujeron su expresión, aunque de forma menos severa.

Respecto a la orina (figura 26B), aunque normalmente contiene cantidades muy bajas de RNA en comparación con tejidos sólidos u otros fluidos biológicos, debido a su bajo contenido celular y a la degradación por RNAsas, estos niveles aumentan de manera notable en presencia de daño renal, inflamación o descamación celular, como ocurre con DOX. En este caso, detectamos *WT1* en orina como reflejo de la pérdida de podocitos. Sin embargo, el tratamiento combinado (DOX+CURC) mostró un aumento ligero pero significativo de *WT1* respecto a DOX solo, lo que podría indicar que la curcumina reduce el daño podocitario y preserva parcialmente la expresión de *WT1*.

## 9. Discusión

Los tratamientos quimioterapéuticos han demostrado ser altamente eficaces en la eliminación de células cancerosas debido a su capacidad para interferir con mecanismos fundamentales de proliferación. En particular, la doxorrubicina actúa inhibiendo la enzima topoisomerasa IIB, clave en la replicación del ADN. Sin embargo, su acción no selectiva provoca estrés oxidativo y daño en células sanas, especialmente en órganos con alta actividad metabólica como el hígado, riñones y corazón.

Con el objetivo de explorar estrategias para mitigar esta toxicidad, en el presente estudio desarrollamos un modelo murino de daño agudo y crónico inducido por doxorrubicina, utilizando ratones *Balb/c*, este modelo tiene el propósito de mostrar las patologías severas que causa la DOX principalmente en hígado y riñones, de este modo evaluamos el potencial protector de la curcumina, un polifenol natural con conocidas propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, administrado solo o en combinación con doxorrubicina. Nuestros análisis abarcaron parámetros de peso corporal, supervivencia, bioquímica sanguínea, perfil lipídico, marcadores hepáticos y renales, así como análisis histopatológicos. Además, estudiamos la expresión de *WT1*, un factor de transcripción maestro en la función de los podocitos glomerulares.

Observamos que la administración de doxorrubicina, en ambos modelos experimentales, provocó una pérdida significativa de peso corporal. Este efecto ha sido asociado previamente con caquexia inducida por quimioterapia, caracterizada por disminución de masa muscular y pérdida de apetito. No obstante, los ratones tratados con curcumina mostraron una recuperación progresiva del peso, y aquellos que recibieron el tratamiento combinado (DOX + Curc) experimentaron una pérdida de peso menos pronunciada que el grupo tratado solo con doxorrubicina. Este hallazgo sugiere un efecto modulador de la curcumina sobre los efectos catabólicos de la quimioterapia, en concordancia con estudios como el de Liu et al. (2018), donde la curcumina previno la pérdida de peso en modelos tratados con metotrexato.

Este efecto protector se extendió también a la tasa de supervivencia. Mientras que el grupo

tratado exclusivamente con doxorrubicia presentó una mortalidad del 50%, ningún animal del grupo DOX + CURC falleció durante el experimento. Este resultado muestra que la curcumina no solo atenúa los efectos tóxicos inmediatos, sino que también incrementa la tolerancia sistémica a la quimioterapia. Estudios como el de Yu et al. (2020) han reportado efectos similares, mostrando que la curcumina previene la cardiotoxicidad y la pérdida de masa corporal en ratones tratados con doxorrubicia. En conjunto, estos datos apoyan la idea de que la curcumina podría actuar como un adyuvante terapéutico que protege frente a los efectos adversos sin comprometer la eficacia antitumoral.

Para evaluar con mayor detalle la funcionalidad hepática y renal, realizamos análisis bioquímicos séricos. Observamos que la administración de curcumina logró atenuar parcialmente el impacto negativo de la doxorrubicia sobre el metabolismo de los lípidos. En particular, se registró un aumento en los niveles de HDL en los grupos tratados con curcumina, lo cual podría indicar un perfil lipídico más favorable. Sin embargo, algunos parámetros como triglicéridos y colesterol se mantuvieron elevados, especialmente en el modelo crónico. Esto podría explicarse por dos razones: (1) la elevación de HDL podría estar facilitando la movilización de lípidos hacia el hígado para su posterior eliminación, lo que justificaría su presencia en sangre sin implicar necesariamente dislipidemia, y (2) la dosis y duración del tratamiento con curcumina podrían no haber sido suficientes para lograr un efecto hipolipemiante sostenido, como sugieren otros estudios con tratamientos más prolongados.

A nivel hepático, los efectos de la curcumina fueron más claros. En el modelo agudo, los niveles de transaminasas ALT y AST, así como la fosfatasa alcalina, se incrementaron significativamente tras la administración de doxorrubicia, indicando daño hepático. No obstante, estos valores disminuyeron notablemente en los grupos tratados con curcumina, incluso en combinación con doxorrubicia. Este efecto hepatoprotector se atribuye a la capacidad antioxidante de la curcumina para estabilizar las membranas celulares y neutralizar radicales libres, como se ha descrito en estudios previos Mohamad et al., 2009; Aggarwal y Harikumar, (2009).

Del mismo modo, analizamos los niveles de proteínas totales, albúmina, urea y ácido úrico

en suero, así como proteinuria en orina, como marcadores indirectos de daño renal y metabolismo proteico. Los ratones tratados con doxorrubicina mostraron un aumento significativo en todos estos parámetros, lo cual es consistente con daño glomerular y disfunción hepática. En contraste, el grupo DOX + CURC presentó valores considerablemente menores, lo que respalda la hipótesis de un efecto dual nefro- y hepatoprotector de la curcumina. Fan et al. (2020) y Radwan et al. (2012) han documentado reducciones similares en proteínas séricas y urinarias en modelos animales tratados con curcumina, confirmando su capacidad para preservar la integridad de la barrera de filtración glomerular y mitigar el catabolismo proteico excesivo inducido por la quimioterapia.

Para correlacionar estos resultados funcionales con cambios estructurales, realizamos estudios histológicos en tejido renal, específicamente en glomérulos. En el grupo tratado con doxorrubicina, se observaron alteraciones morfológicas evidentes, como deformaciones en la cápsula de Bowman, expansión del espacio urinario, compresión celular y pérdida de capilares glomerulares. Sin embargo, en los ratones tratados con curcumina en combinación con doxorrubicina, estas alteraciones fueron notablemente menores, y se conservó en gran medida la arquitectura glomerular. Estudios como los de Fan et al. (2020) y Mohajeri y Sahebkar (2018) han reportado resultados similares, donde la curcumina redujo la infiltración inflamatoria, hemorragias y daño tubular en modelos de toxicidad renal inducida por doxorrubicina.

Uno de los ejes centrales de este estudio es evaluar el estado de expresión de *WT1* en podocitos glomerulares expuestos a doxorrubicina (DOX), curcumina (CURC) y la combinación de ambas (DOX+CURC), ya que, hasta donde sabemos, no existen reportes previos que respondan directamente a esta pregunta.

*WT1* ha sido ampliamente estudiado en oncología: se ha documentado su expresión anormal en cáncer de mama (Silberstein et al., 1997), leucemias (Lazzarotto y Candoni, 2022) y cáncer de pulmón (Li et al., 2023), donde su presencia inusual suele asociarse con mal pronóstico. Sin embargo, en el riñón, *WT1* actúa como un factor de transcripción maestro esencial para el mantenimiento del podocito y el funcionamiento glomerular.

En nuestras muestras renales, los tratamientos con DOX redujeron significativamente la expresión de *WT1* respecto al control. Proponemos dos mecanismos posibles:

Lesión renal y pérdida de podocitos: la quimioterapia con antraciclinas causa inflamación y estrés oxidativo (Zhu et al., 2019), lo que podría conducir a pérdida de podocitos *WT1*, reflejándose como una disminución global de su señal. Alteraciones epigenéticas indirectas: DOX podría inducir cambios en la metilación del ADN. Bauer et al. (2021) reportaron modificaciones significativas en el perfil de metilación de PBMC en pacientes tratados con doxorrubicina, asociadas con cardiotoxicidad. Si bien esto sugiere remodelación epigenética inducida por DOX, aunque no existe evidencia directa de que reprime *WT1* mediante metilación promotora. Aun así, la caída de *WT1* observada en nuestras muestras podría ser un reflejo combinado de daño oxidativo y alteraciones epigenéticas que comprometen la función glomerular.

Los tratamientos con CURC o DOX+CURC también mostraron una reducción de *WT1*. En el caso de CURC sola, esta observación resulta compleja, ya que nuestros resultados previos (químicas sanguíneas y estudios histológicos) no evidenciaron daño renal, sino un efecto protector. Este resultado sugiere un posible efecto directo de curcumina sobre *WT1*, como se ha descrito en modelos de cáncer: Jia et al. (2019) demostraron supresión de *WT1* mediada por curcumina, incluso confirmada en líneas de leucemia K562 (Kouhpeikar et al., 2019).

En los tratamientos combinados (DOX+CURC) la expresión de *WT1* fue mayor que con DOX sola, aunque aún inferior al control. Esto podría indicar que la curcumina atenúa el efecto citotóxico de DOX, evitando la pérdida masiva de podocitos y preservando parcialmente la expresión de *WT1*. Así, aunque CURC por sí misma podría modular *WT1* de forma directa, su efecto protector global sobre el riñón parece compensar la agresión de DOX, coherente con la preservación de parámetros bioquímicos renales observados.

En relación con la expresión urinaria de *WT1*, observamos que los tratamientos con DOX y

CURC mostraron una tendencia general a la disminución de este marcador. La interpretación de este resultado debe explicarse por estudios previos que demuestran que los niveles de *WT1* en orina reflejan la magnitud del daño glomerular y podrían predecir la progresión de la enfermedad renal crónica (ERC) (Abe et al. 2018). Dado que *WT1* es expresado específicamente en podocitos y esencial para el mantenimiento de su integridad y la función glomerular (Csurgyók et al. 2023), la pérdida de *WT1* urinario puede indicar tanto reducción en la expresión génica como desprendimiento o muerte de podocitos.

En nuestras muestras, los tratamientos con DOX se asociaron con una mayor presencia total de RNA urinario, lo que sugiere un mayor desprendimiento de células glomerulares incluyendo podocitos, debido a lesión renal inducida por antraciclinas (Liu et al., 2020). Esta pérdida celular coincide con la pobre expresión tisular de *WT1* observada en las muestras de riñón obtenidas, lo que soporta la hipótesis de daño estructural glomerular.

Contrastando, los tratamientos con CURC también mostraron una reducción de *WT1* urinario, pero sin evidencias de daño renal significativo en los resultados mostrados de las histologías y bioquímicos. Esto supondría que la modulación de *WT1* por curcumina podría deberse a un efecto directo sobre su regulación transcripcional, como se ha descrito en modelos de cáncer (Jia et al., 2019; Kouhpeikar et al., 2019), y no necesariamente a pérdida de podocitos.

Finalmente, en los tratamientos combinados (DOX+CURC) observamos un aumento relativo de *WT1* urinario respecto a los tratamientos individuales. Esto podría reflejar un efecto protector de la curcumina que atenúa la lesión podocitaria inducida por DOX, preservando parcialmente la expresión y el desprendimiento de *WT1*, que concuerda con la menor agresión renal observada en parámetros bioquímicos.

La curcumina no solo actúa como un potente antioxidante y antiinflamatorio, sino que también ejerce efectos protectores funcionales y estructurales en órganos blanco de la toxicidad inducida por doxorrubicina.

## 10. Conclusión

Este trabajo demuestra que la curcumina posee un notable potencial como agente coadyuvante en quimioterapia con doxorrubicina, al mitigar de forma significativa los efectos adversos sistémicos y órgano-específicos. En modelos murinos de daño agudo y crónico, la administración de curcumina redujo la pérdida de peso corporal, mejoró la supervivencia y atenuó marcadores bioquímicos de hepatotoxicidad, nefrotoxicidad y estrés oxidativo. Los análisis histológicos confirmaron un efecto protector sobre la arquitectura renal, particularmente en los glomérulos, reforzando su acción nefroprotectora.

Además, obtuvimos por primera vez evidencia del estado de expresión de *WT1* en podocitos y orina bajo estos tratamientos. La doxorrubicina disminuyó de manera marcada la expresión de *WT1*, tanto en tejido como en orina, consistente con pérdida de podocitos y daño glomerular. En comparación, la curcumina también redujo *WT1*, pero sin acompañarse de parámetros de lesión renal, lo que sugiere una modulación directa sobre su regulación transcripcional más que un efecto citotóxico. En los tratamientos combinados (DOX+CURC), la expresión de *WT1* se preservó parcialmente respecto a DOX sola, lo que coincide con la atenuación de la agresión renal y la menor pérdida de podocitos.

Estos resultados nos indican que la curcumina puede mejorar la tolerancia a la doxorrubicina sin comprometer su eficacia antitumoral, posicionándola como una alternativa prometedora para reducir la toxicidad asociada a la quimioterapia, al tiempo que aporta nueva evidencia sobre la regulación de *WT1* como posible marcador de daño glomerular y de respuesta terapéutica.

## **11. Perspectivas**

1. Evaluar el efecto profiláctico de la curcumina cuando se administra antes de la exposición a doxorrubicina y otros agentes quimioterapéuticos con alta toxicidad sistémica, como cisplatino o gemcitabina, comúnmente utilizados como tratamientos de primera línea en distintos tipos de cáncer.
2. Analizar simultáneamente el efecto antitumoral de la curcumina junto con su capacidad antioxidante y antiinflamatoria en un modelo murino de cáncer, con el fin de determinar su viabilidad como coadyuvante terapéutico.
3. Explorar nuevas formas de administración de curcumina, incluyendo su formulación en nanopartículas u otros vehículos menos tóxicos que el DMSO, para mejorar su biodisponibilidad, estabilidad y perfil de seguridad en aplicaciones *in vivo*.

## 12.Bibliografía

- Rosero, López y Panche. 2020. Síndrome de Burnout en médicos de Latinoamérica: una revisión de alcance de la literatura, 2010–2020.
- Herrmann, 2021. Diagnóstico y tratamiento de la nefrotoxicidad asociada a inhibidores de puntos de control inmunitario: una declaración de posición de la Sociedad. 1:21-32
- Hernández O, SO 2008. Síndrome nefrótico. El Residente, 3: 90-96.
- Feehally J, Floege J, Johnson R. 2007. Comprensión Clínica del Síndrome Nefrótico
- Gargantilla M, Belda B, García T, Hepatitis aguda medicamentosa. Revista Clínica de Medicina de Familia, 10:3: 194-196.
- QuanJun Y, GenJin Y, LiLi W, YongLong H, Yan H, Jie L y Cheng G. 2017. Efectos protectores del dexrazoxano contra la cardiotoxicidad inducida por doxorrubicina: Un estudio metabolómico. 12:1: e0169567.
- Morrison A, Viney L, Saleem A, y Ladomery R. 2008. New insights into the function of the Wilms tumor suppressor gene WT1 in podocytes. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 295:1:, F12-F17.
- Chidharla A, Parsi M, Kasi A. 2023. StatPearls; Treasure Island
- Muhammad T, Anusha C. y Anup K. 2023 Quimioterapia contra el cáncer
- Pommier Y, Sun Y, Huang SYN y Nitiss JL. 2016. Funciones de las topoisomerasas eucariotas en la transcripción, replicación y estabilidad genómica. Nature Reviews, Molecular cell biology , 17 :11:, 703-721.
- Pommier Y, Kiselev E. y Marchand C. 2015. Inhibidores interfaciales. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters , 25:18: 3961-3965.
- Ferreira ADA, Matsubara LS y Matsubara BB 2008. Cardiotoxicidad inducida por antraciclinas. Agentes cardiovasculares y hematológicos en química medicinal (anteriormente, Química Medicinal Actual - Agentes Cardiovasculares y Hematológicos) , 6:4: 278-281.
- Russo M, Della A, Tocchetti, G, Porporato PE y Ghigo A. 2021. Aspectos metabólicos de la cardiotoxicidad por antraciclina. Opciones de tratamiento actuales en oncología, 22: 1-21.
- Soares E. 2018. Efectos cardiotóxicos, hepatotóxicos e histopatológicos inducidos

por la doxorrubicina asociada a terapia antioxidante en ratas Wistar.

- Barzola M Y & Sierra L. 2018. Tratamiento con antraciclinas, un antecedente sospechoso. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 11: 28-30.
- Vargas-Neri JL, Castelán-Martínez OD, Estrada-Loza MJ, Betanzos-Cabrera Y, Rivas-Ruiz R. 2016. Anthracycline-induced cardiotoxicity: report of fatal cases. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 54:404.
- Shrestha B, Pokhrel AR, Darsandhari S, Parajuli P, Sohng JK, Pandey RP. 2019. Engineering *Streptomyces peucetius* for doxorubicin and daunorubicin biosynthesis. En: *Pharmaceuticals from Microbes: The Bioengineering Perspective*.
- Sarmento-Ribeiro AB, Scorilas A, Gonçalves AC, Efferth T, Trougakos IP. 2019. The emergence of drug resistance to targeted cancer therapies: clinical evidence. *Drug Resistance Updates* 47:100646.
- Podyacheva E, Danilchuk M, Toropova Y. 2023. Molecular mechanisms of endothelial remodeling under doxorubicin treatment. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 162:114576.
- Sheibani M, Azizi Y, Shayan M, Nezamoleslami S, Eslami F, Farjoo MH, Dehpour AR. 2022. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview on pre-clinical therapeutic approaches. *Cardiovascular Toxicology* 22:292-310.
- Ahmed MH, Ghatge MS, Safo MK. 2020. Hemoglobin: structure, function and allostery. In: *Vertebrate and invertebrate respiratory proteins, lipoproteins and other body fluid proteins*, (eds) pp. 345–382.
- Tsikas D. 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry* 524:13–30.
- Song S, Chu L, Liang H, Chen J, Liang J, Huang Z, Chen X. 2019. Protective effects of dioscin against doxorubicin-induced hepatotoxicity via regulation of Sirt1/FOXO1/NF- $\kappa$ b signal. *Frontiers in Pharmacology* 10:1030.
- Renu K, Pureti LP, Vellingiri B, Valsala Gopalakrishnan A. 2022. Toxic effects and molecular mechanism of doxorubicin on different organs-an update. *Toxin Reviews* 41:650-674.
- Teo SH, Endre ZH. 2017. Biomarkers in acute kidney injury (AKI). *Best Practice &*

Research Clinical Anaesthesiology 31(3):331-344

- Farina M, Aschner M. 2019. Sistema antioxidante del glutatión y neurotoxicidad inducida por metilmercurio: Una interacción intrigante. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Temas Generales* 1863(12):129285.
- McWilliam SJ, Wright RD, Welsh GI, Tuffin J, Budge KL, Swan L, Oni L. 2021. The complex interplay between kidney injury and inflammation. *Clinical Kidney Journal* 14(3):780-788.
- Santos-Sánchez NF, Salas-Coronado R, Villanueva-Cañongo C, Hernández-Carlos B. 2019. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *IntechOpen*.
- Afsar T, Razak S, Almajwal A, Al-Disi D. 2020. Doxorubicin-induced alterations in kidney functioning, oxidative stress, DNA damage, and renal tissue morphology; Improvement by *Acacia hydaspica* tannin-rich ethyl acetate fraction. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(9):2251-2260.
- Gupta D. 2015. Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6(2):546.
- Menon V P, Sudheer A R. 2007. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. In: *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, Aggarwal B B and Surh Y J (eds). Springer: Boston, MA, pp. 105-125.
- Priyadarsini K I. 2013. Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin. *Current Pharmaceutical Design* 19(11):2093-2100.
- Menon V P, Sudheer A R. 2007. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. In: *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*. Springer: Boston, MA, pp. 105-125.
- Marchiani A, Rozzo C, Fadda A, Delogu G, Ruzza P. 2014. Curcumin and curcumin-like molecules: from spice to drugs. *Current Medicinal Chemistry* 21(2):204-222.
- Sathyabama M, Priya Dharshini L C, Karthikeyan A, Kalaiselvi S, Min T. 2022. The credible role of curcumin in oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction in mammals. *Biomolecules* 12(10):1405.
- Ashour A A, Abdel-Aziz A A H, Mansour A M, Alpay S N, Huo L, Ozpolat B. 2014. Targeting elongation factor-2 kinase (eEF-2K) induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Apoptosis* 19:241-258.

- Pan L, Sha J, Lin W, Wang Y, Bian T, Guo J. 2021. Curcumin inhibits prostate cancer progression by regulating the miR-30a-5p/PCLAF axis. *Experimental and Therapeutic Medicine* 22(3):969.
- Yang Z J, Huang S Y, Zhou D D, Xiong R G, Zhao C N, Fang A P, Zhu H L. 2022. Effects and mechanisms of curcumin for the prevention and management of cancers: An updated review. *Antioxidants* 11(8):1481.
- Tomeh M A, Hadianamrei R, Zhao X. 2019. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International Journal of Molecular Sciences* 20(5):1033.
- Anuchapreeda S, Limtrakul P, Thanarattanakorn P, Sittipreechacharn S, Chanarat P. 2006. Inhibitory effect of curcumin on WT1 gene expression in patient leukemic cells. *Archives of Pharmacal Research* 29:80-87.
- Zhou S, Zhang S, Shen H, Chen W, Xu H, Chen X, Tang J. 2017. Curcumin inhibits cancer progression through regulating expression of microRNAs. *Tumor Biology* 39(2):1010428317691680.
- Teiten M H, Dicato M, Diederich M. 2013. Curcumin as a regulator of epigenetic events. *Molecular Nutrition & Food Research* 57(9):1619-1629
- Stefanidis CJ, Querfeld U. 2011. The podocyte as a target: cyclosporin A in the management of the nephrotic syndrome caused by WT1 mutations. *European Journal of Pediatrics* 170(11):1377-1383.
- Zhang Y, Yan WT, Yang ZY, Li YL, Tan XN, Jiang J, Qi XW. 2020. The role of WT1 in breast cancer: clinical implications, biological effects and molecular mechanism. *International Journal of Biological Sciences* 16(8):1474.
- Larsson SH, Charlieu JP, Miyagawa K, Engelkamp D, Rassoulzadegan M, Ross A, Hastie ND. 1995. Subnuclear localization of WT1 in splicing or transcription factor domains is regulated by alternative splicing. *Cell* 81(3):391-401.
- Bardeesy N, Pelletier J. 1998. Overlapping RNA and DNA binding domains of the WT1 tumor suppressor gene product. *Nucleic Acids Research* 26(7):1784-1792. <https://doi.org/10.1093/nar/26.7.1784>
- Weiss TC, Romaniuk PJ. 2009. Contribution of individual amino acids to the RNA binding activity of the Wilms' tumor suppressor protein WT1. *Biochemistry* 48(1):148-155. <https://doi.org/10.1021/bi8019368>

- Rasà DM, D'Amico AG, Maugeri G, Cavallaro S, D'Agata V. 2017. WT1 alternative splicing: role of its isoforms in neuroblastoma. *Journal of Molecular Neuroscience* 62:131-141. <https://doi.org/10.1007/s12031-017-0918-9>
- Reiser J, Altintas MM. 2016. Podocytes. *F1000Research* 5:F1000 Faculty Rev-114. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7255.1>
- San Martín R. 2017. Rol de insulina en la translocación a la membrana plasmática del transportador ENT2 glomerular.
- Welsh GI, Saleem MA. 2010. Nephrin—signature molecule of the glomerular podocyte? *The Journal of Pathology* 220(3):328-337.
- Brunskill EW, Georgas K, Rumballe B, Little MH, Potter SS. 2011. Defining the molecular character of the developing and adult kidney podocyte. *PLoS ONE* 6(9):e24640.
- Cella PS, Matos RLND, Marinello PC, Costa JCD, Moura FA, Bracarense APFRL, Deminice R. 2024. Doxorubicin causes cachexia, sarcopenia, and frailty characteristics in mice. *PLoS ONE* 19(4):e0301379.
- Liu Z, Huang P, Law S, Tian H, Leung W, Xu C. 2018. Preventive effect of curcumin against chemotherapy-induced side-effects. *Frontiers in Pharmacology* 9:1374.
- Yu W, Qin X, Zhang Y, Qiu P, Wang L, Zha W, Ren J. 2020. Curcumin suppresses doxorubicin-induced cardiomyocyte pyroptosis via a PI3K/Akt/mTOR-dependent manner. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy* 10(4):752.
- Hernández Á, Soria-Florido M T, Schröder H, Ros E, Pinto X, Estruch R, Fitó M. 2019. Papel de la función de HDL y la aterogénicidad de LDL en el riesgo cardiovascular: Un análisis exhaustivo. *PLoS ONE* 14(6):e0218533.
- Shin S K, Ha T Y, McGregor R A, Choi M S. 2011. Long-term curcumin administration protects against atherosclerosis via hepatic regulation of lipoprotein cholesterol metabolism. *Molecular Nutrition & Food Research* 55(12):1829-1840.
- Sahebkar A. 2014. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials investigating the effects of curcumin on blood lipid levels. *Clinical Nutrition* 33(3):406-414.
- Aggarwal B B, Harikumar K B. 2009. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary,

metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **41**(1):40-59.

- Mohamad R H, El-Bastawesy A M, Zekry Z K, Al-Mehdar H A, Al-Said M G A M, Aly S S, El-Merzabani M M. 2009. The role of Curcuma longa against doxorubicin (adriamycin)-induced toxicity in rats. *Journal of Medicinal Food* **12**(2):394-402.
- Aggarwal B B, Harikumar K B. 2009. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **41**(1):40-59.
- Fan H Y, Wang X K, Li X, Ji K, Du S H, Liu Y, Qi D. 2020. Curcumin, as a pleiotropic agent, improves doxorubicin-induced nephrotic syndrome in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **250**:112502.
- Radwan R R, Shaban E A, Kenawy S A, Salem H A. 2012. Protection by low-dose  $\gamma$  radiation on doxorubicin-induced nephropathy in rats pretreated with curcumin, green tea, garlic or l-carnitine. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* **50**(2):133-140.
- Silberstein GB, Van Horn K, Strickland P, Roberts CT Jr, Daniel CW. 1997. Altered expression of the WT1 Wilms tumor suppressor gene in human breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**(15):8132-8137.
- Lazzarotto D, Candoni A. 2022. The role of wilms' tumor gene (WT1) expression as a marker of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Medicine* **11**(12):3306.
- Li X, An W, Pan H, Fan Y, Huang H, Wang Y, Zhou X. 2023. Wilms' tumour gene 1 (WT1) enhances non-small cell lung cancer malignancy and is inhibited by microRNA-498-5p. *BMC Cancer* **23**(1):824.
- Zhu MM, Wang L, Yang D, Li C, Pang ST, Li XH, Feng L. 2019. Wedelolactone alleviates doxorubicin-induced inflammation and oxidative stress damage of podocytes by I $\kappa$ K/I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **117**:109088.
- Bauer MA, Todorova VK, Stone A, Carter W, Plotkin MD, Hsu PC, Makhoul I. 2021. Genome-wide DNA methylation signatures predict the early asymptomatic

doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer. *Cancers* 13(24):6291.

- Jia W, Deng F, Fu W, Hu J, Chen G, Gao X, Zhu S. 2019. Curcumin suppresses Wilms' tumor metastasis by inhibiting RECK methylation. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 111:1204-1212.
- Kouhpeikar H, Butler AE, Bamian F, Barreto GE, Majeed M, Sahebkar A. 2019. Curcumin as a therapeutic agent in leukemia. *Journal of Cellular Physiology* 234(8):12404-12414.
- Kouhpeikar H, Butler AE, Bamian F, Barreto GE, Majeed M, Sahebkar A. 2019. Curcumin as a therapeutic agent in leukemia. *Journal of Cellular Physiology* 234(8):12404-12414.
- Abe H, Sakurai A, Ono H, Hayashi S, Yoshimoto S, Ochi A, Doi T. 2018. Urinary exosomal mRNA of WT1 as diagnostic and prognostic biomarker for diabetic nephropathy. *The Journal of Medical Investigation* 65(3.4):208-215.
- Csurgók R, Sütő G, Wittmann I, Vas T. 2023. Expression of Wilms' Tumor 1 Antigen, Vimentin, and Corticotropin-Releasing Factor in the Human Kidney with Focal Segmental Glomerulosclerosis and Effect of Oxidative Stress on These Markers in HEK 293 Cells. *Kidney and Blood Pressure Research* 48(1):56-65.
- Liu Y, Li S, Rong W, Zeng C, Zhu X, Chen Q, Zen K. 2020. Podocyte-released migrasomes in urine serve as an indicator for early podocyte injury. *Kidney Diseases* 6(6):422-433.