

Actividades antiproliferativas, apoptóticas y antimigratorias de las kafirinas en líneas celulares derivadas de cáncer cervical

Antiproliferative, apoptotic, and antimigratory activities of kafirins on cervical cancer-derived cell lines

Gamaliel Benítez-Arvizu^{1a}, Tania Patricia Castro-Jácome^{2b}, Erik Tovar-Pérez^{3c}, Luz Eugenia Alcántara-Quintana^{4d}

Resumen

Introducción: el cáncer de cuello uterino es una de las principales causas de muerte en las mujeres de todo el mundo, tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. Por lo tanto, es importante un tratamiento eficaz de este cáncer con posibles fármacos antitumorales. Sin embargo, se necesitan nuevos tratamientos inspirados en la medicina nutricional.

Objetivo: usar las líneas celulares de cáncer cervicouterino humano HeLa y SiHa para evaluar la actividad antiproliferativa, apoptótica y migratoria del sorgo (kafirinas).

Material y métodos: los efectos anticancerígenos de las kafirinas se examinaron mediante recuento de células, ensayos de MTT, apoptosis y ensayos de migración.

Resultados: la presente investigación demostró que el sorgo induce la inhibición del crecimiento de las células HeLa y SiHa a un nivel significativo. La inhibición del crecimiento es dependiente de la dosis e irreversible. Cuando las células HeLa y SiHa fueron tratadas con sorgo debido a la actividad de las kafirinas, se observaron cambios morfológicos, los cuales se identificaron mediante la formación de cuerpos apoptóticos. Y las kafirinas en concentraciones de 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL disminuyeron la migración de las células HeLa y SiHa.

Conclusiones: este trabajo demuestra la inducción de actividad antiproliferativa, apoptótica y antimigratoria en las células HeLa y SiHa por parte de las kafirinas. El sorgo puede utilizarse como nutraceutico con potenciales beneficios en la prevención del cáncer.

Abstract

Background: Cervical cancer is one of the leading causes of death in women worldwide, both in developed and developing countries. Therefore, effective treatment of cervical cancer with potential anti-tumor drugs is important. However, new treatments inspired by nutritional medicine are needed.

Objective: To use the human cervical cancer cell lines HeLa and SiHa to evaluate the antiproliferative, apoptotic, and migratory activity of sorghum (kafirins).

Materials and methods: The anticancer effects of the kafirins were examined by counting cells, MTT assays, apoptosis, and migration assays.

Results: This investigation showed that sorghum induced growth inhibition of HeLa and SiHa cells at a significant level. The growth inhibition is dose-dependent and irreversible. When HeLa and SiHa cells were treated with sorghum due to the activity of kafirins, morphological changes were observed, which were identified through the formation of apoptotic bodies. And the kafirins at concentrations of 37.5, 75, 150, and 300 µg/mL decreased the migration of HeLa cells and SiHa cells.

Conclusion: This paper demonstrates the induction of antiproliferative, apoptotic, and anti-migratory activity in HeLa and SiHa cells by kafirins. Sorghum may be used as a nutraceutical with potential cancer-prevention benefits.

¹Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez", Unidad Complementaria Banco de Sangre. Ciudad de México, México

²Instituto Tecnológico de Tepic, Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos. Tepic, Nayarit, México

³Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Amazcala, Facultad de Ingeniería. El Marqués, Querétaro, México

⁴Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología. San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

ORCID: 0000-0001-6065-7176^a, 0000-0003-0859-0140^b, 0000-0002-4998-4480^c, 0000-0003-2961-9838^d

Palabras clave

Apoptosis
Ensayos de Migración Celular
Supervivencia Celular
Neoplasias del Cuello Uterino
Células HeLa

Keywords


Apoptosis
Cell Migration Assays
Cell Survival
Uterine Cervical Neoplasms
HeLa Cells

Fecha de recibido: 24/05/2022

Fecha de aceptado: 27/06/2022

Comunicación con:

Luz Eugenia Alcántara Quintana

 lealcantara@conacyt.mx

Cómo citar este artículo: Benítez-Arvizu G, Castro-Jácome TP, Tovar-Pérez E, Alcántara-Quintana LE. Actividades antiproliferativas, apoptóticas y antimigratorias de las kafirinas en líneas celulares derivadas de cáncer cervical. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2023; 61 Supl 1:S4-11.

Introducción

El *cáncer* es la transformación de una célula normal en una célula tumoral, un proceso que tiene varias etapas y que suele consistir en la progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno.^{1,2} La infección por el virus del papiloma humano (VPH) ha sido reconocida como un factor etiológico para el desarrollo del cáncer. Las mujeres suelen infectarse con uno de estos virus poco después de iniciar su actividad sexual o incluso en la primera relación sexual, y la mayoría de las infecciones se producen en mujeres menores de 25 años.³ El cáncer de cuello uterino representa el 10.60% de todos los cánceres en México y es el segundo cáncer más común en México, probablemente en la categoría de mujeres.⁴ Los tratamientos actuales para el cáncer de cuello uterino incluyen la cirugía, la radiación y la quimioterapia, y la quimioterapia convencional sigue siendo el tratamiento más común para los cánceres en etapa avanzada.⁵ En la última década, los recientes avances en la investigación del cáncer han mejorado la comprensión de la biología del cáncer y su genética. Los efectos anticancerígenos pueden manifestarse por medio de la citotoxicidad selectiva, la acción antiproliferativa, la estimulación de la apoptosis o la inducción de la diferenciación.^{6,7}

La eficacia de los compuestos antitumorales parece estar relacionada con la propensión de las células tumorales a responder por apoptosis. En los últimos años, se ha prestado mucha atención a la serie de acontecimientos denominados apoptosis y al papel que desempeña este proceso en la forma en que los fármacos anticancerosos eliminan las células cancerosas.^{8,9}

Las proteínas alimentarias, derivadas de los cereales, se han estudiado durante mucho tiempo para identificar los péptidos bioactivos que contienen. Se ha demostrado que tienen varios beneficios para la salud, pues ayudan a prevenir el cáncer, la diabetes, la inflamación, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares.^{10,11,12,13} El grano de sorgo contiene proteínas de calidad nutricional media-baja y durante décadas se ha intentado aumentar sus propiedades nutricionales y funcionales mediante procesos químicos, biotecnológicos y termomecánicos.¹⁴ Las principales proteínas de almacenamiento de este grano, las kafirinas, son una fuente potencial de compuestos bioactivos, los cuales representan hasta el 70% de la proteína total del grano de sorgo.^{15,16} Existen pruebas de que las kafirinas y sus hidrolizados tienen una potencial actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) *in vitro*, actividad antioxidante en cultivos organotípicos de piel humana y actividad antiinflamatoria en macrófagos humanos THP-1.^{13,15,16,17} Xu *et al.* demostraron en 2019 que los hidrolizados de kafirina reducían eficazmente el crecimiento de las células HepG2 mediante mecanismos no tóxicos, lo

que indica su potencial anticancerígeno.¹⁷ El mecanismo anticancerígeno estaba relacionado con la capacidad potencial de las kafirinas para inducir la detención de la fase S de las células cancerosas, lo que requiere una investigación más profunda.^{18,19,20} Sin embargo, no hay estudios en los que se refleje el efecto de las kafirinas en el cáncer de cuello de útero. En este estudio se utilizaron las líneas celulares SiHa, derivadas de un carcinoma de células escamosas, infectadas con el agente HPV16 (del inglés *human papilloma virus*), y HeLa, derivadas de un adenocarcinoma, infectado con el agente HPV18.²¹ El objetivo de este estudio fue observar cómo los péptidos antiproliferativos, apoptóticos y antimigratorios (llamados kafirinas) afectan a las células cervicales humanas.

Material y métodos

Extracto de kafirina

La kafirina de sorgo se aisló de la harina de sorgo blanco desgrasado (*Sorghum bicolor* L. Moench, Perla 101) utilizando tert-butanol y 5% (p/v) de metabisulfito de sodio, como se informó previamente.¹³ Los extractos de kafirinas fueron liofilizados y almacenados a -20°C hasta su posterior uso. La concentración de proteínas se determinó, según Bradford, 1976,^{22,23,24} utilizando albúmina de suero bovino como estándar (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) en un rango de concentración de 0 a 1 mg/mL. Para la identificación de las kafirinas, el perfil electroforético se llevó a cabo en condiciones reductoras, utilizando un gel de separación (poliacrilamida al 12% p/v) y un gel de apilamiento (poliacrilamida al 4% p/v) y se corrió a 200 V durante 45 min,¹³ en miniláminas (Bio-Rad, Modelo Mini Protein III, Hercules, California, USA). Para la determinación de los pesos moleculares de la kafirina (Mw), se utilizó un estándar proteico (SDS-PAGE Standards, Broad Range, Bio-Rad No. 161-0317).

Recuento del número de células

Las líneas celulares de cáncer se mantuvieron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), suplementado con 10% (v/v) de suero bovino fetal, 2 mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina y 100 µg/mL de estreptomina a 37°C en una atmósfera con 5% de CO_2 . Las células HeLa y SiHa se cultivaron 5×10^4 células en placas de 96 pocillos. Las células se trataron con kafirinas a 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL durante 48 horas (se añadieron 100 µL de diluciones de la solución madre de 300 mg/mL en dimetilsulfóxido al 0.01% a cada pocillo para conseguir concentraciones que iban de 37.5 a 75 µg/mL). En un estudio anterior, se probaron kafi-

rinas a concentraciones de 100 a 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sin observar efectos adversos en las células normales de la piel.¹³ Las células se observaron mediante microscopía de contraste de fase (aumento $\times 20$). El número de células se evaluó mediante el método de exclusión del azul tripán (figuras 1A y 1B). Se hicieron seis réplicas para cada línea celular y para cada tratamiento.

Ensayos de MTT

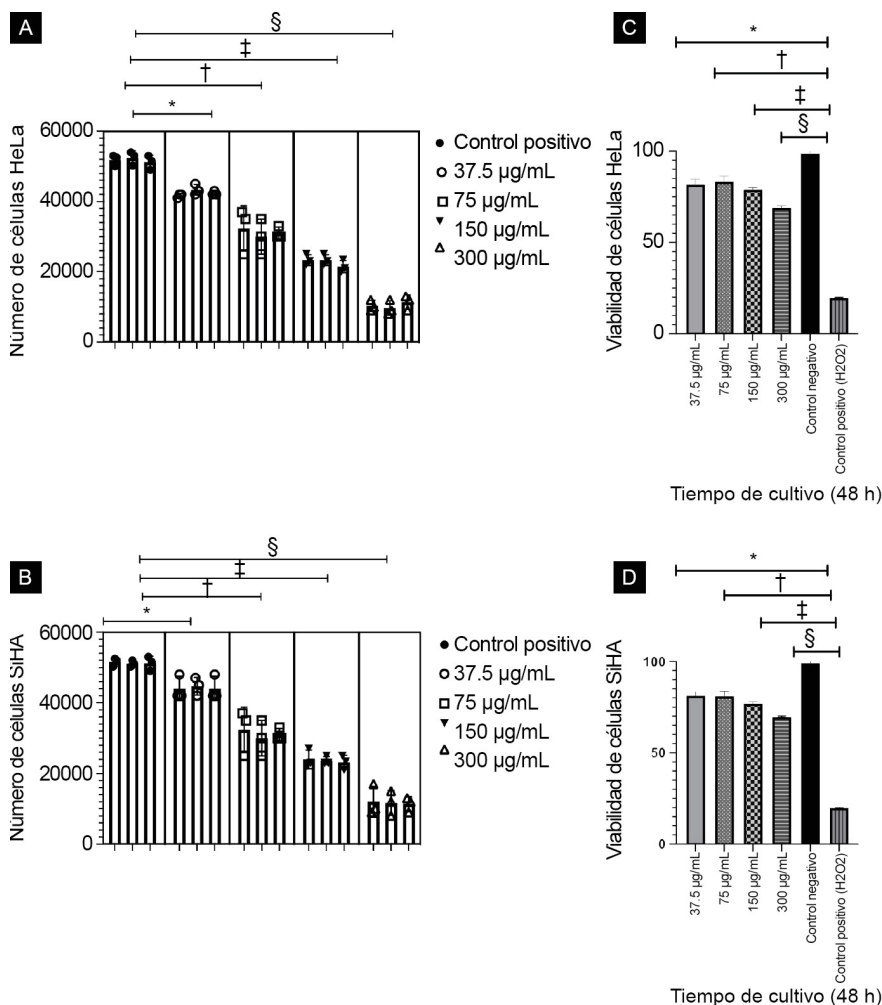
Los ensayos MTT de las kafirinas se evaluaron en líneas celulares de cáncer humano HeLa y SiHa. Las células HeLa o SiHa (10^4 células/mL) se colocaron en placas de microtitulación de 96 pocillos. Después de 24 horas, se añadieron kafirinas (100 μL de diluciones de una solución madre de

300 mg/mL en dimetilsulfóxido al 0.01%) a cada pocillo para conseguir concentraciones que oscilaban entre 37.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Después de 48 horas, cada pocillo recibió 20 μL de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT, 5.0 mg/mL). Después de 4 horas, el producto de formazán se disolvió en 100 μL de dimetilsulfóxido y se midió la absorbancia a 570 nm utilizando un lector de microplacas. Con el programa Graphpad 8.2 para Mac, las pruebas se realizaron tres veces en tres experimentos separados (figuras 1C y 1D).

Apoptosis mediante tinción con DAPI

La tinción de las líneas celulares de cáncer tratadas y el examen mediante microscopía fluorescente son métodos

Figura 1 Efecto de las kafirinas en el recuento y la viabilidad de las células SiHa, HeLa



Las células fueron tratadas con kafirinas de 37.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ durante 48 horas, seguidas de incubación en un medio libre de suero durante 24 horas. A) Recuento de células HeLa. B) Recuento de células SiHa. C) Viabilidad de las células HeLa. D) Viabilidad de las células SiHa

*, †, ‡, §, $p < 0.05$ en comparación con el grupo de control

adecuados para la evaluación de los cambios morfológicos y la expresión de la citotoxicidad en la membrana celular y la cromatina. El método de tinción con DAPI se empleó para observar los cambios morfológicos en las células tratadas. Los cambios morfológicos de la apoptosis se detectaron mediante microscopía de fluorescencia tras la tinción con 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de DAPI (figuras 2A-E). Las células se tiñeron con DAPI y luego se contaron al microscopio. Todos los experimentos se repitieron tres veces (figuras 2 F-G).

Ensayo de migración celular

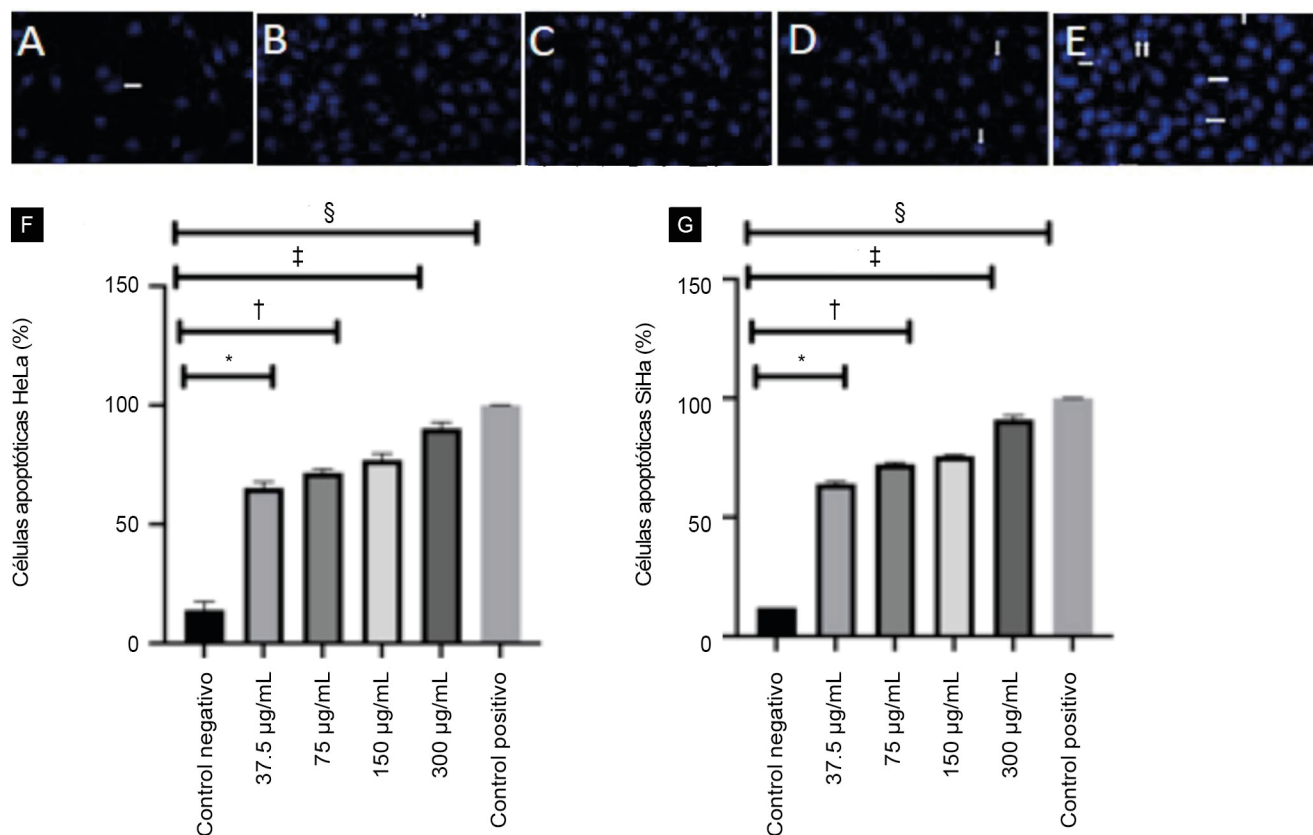
La migración de las células cancerosas se ensayó en cámaras Transwell. Brevemente, se utilizaron cámaras Transwell (Costar) con filtros de policarbonato de 6.5 mm de tamaño de poro de 8 μm (figura 3A). Tras 24 horas de incubación, se resuspendieron células HeLa y SiHa (5×10^5 células/mL) en DMEM (100 μL , con suero FBS), se colocaron en las cámaras Transwell superiores y se incubaron durante 5 horas a 37 °C. Las células se trataron con kafiri-

nas a 37.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Tras 5 horas de incubación a 37 °C, las células de la superficie superior del filtro se limpiaron completamente con un hisopo de algodón. Las células de la superficie inferior del filtro se fijaron con metanol, se tiñeron con Giemsa y se contaron al microscopio. Para cada réplica, se determinaron las células cancerosas en 10 campos seleccionados al azar y se promediaron los recuentos (figuras 3B y 3C). Las imágenes digitales fueron tomadas con un aumento de 10 X y se evaluó la cantidad de células mediante la herramienta *Cell Counter* del programa ImageJ.^{14,15}

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa GraphPad Prism 10.0 (GraphPad, La Jolla, CA). Se presentan resultados representativos. Se utilizó un ANOVA de una vía para comparar los datos, seguido de la prueba de Tukey. Cuando hubo una p de 0.05, las diferencias se consideraron estadísticamente significativas. Todos los experimentos se repitieron al menos tres veces.

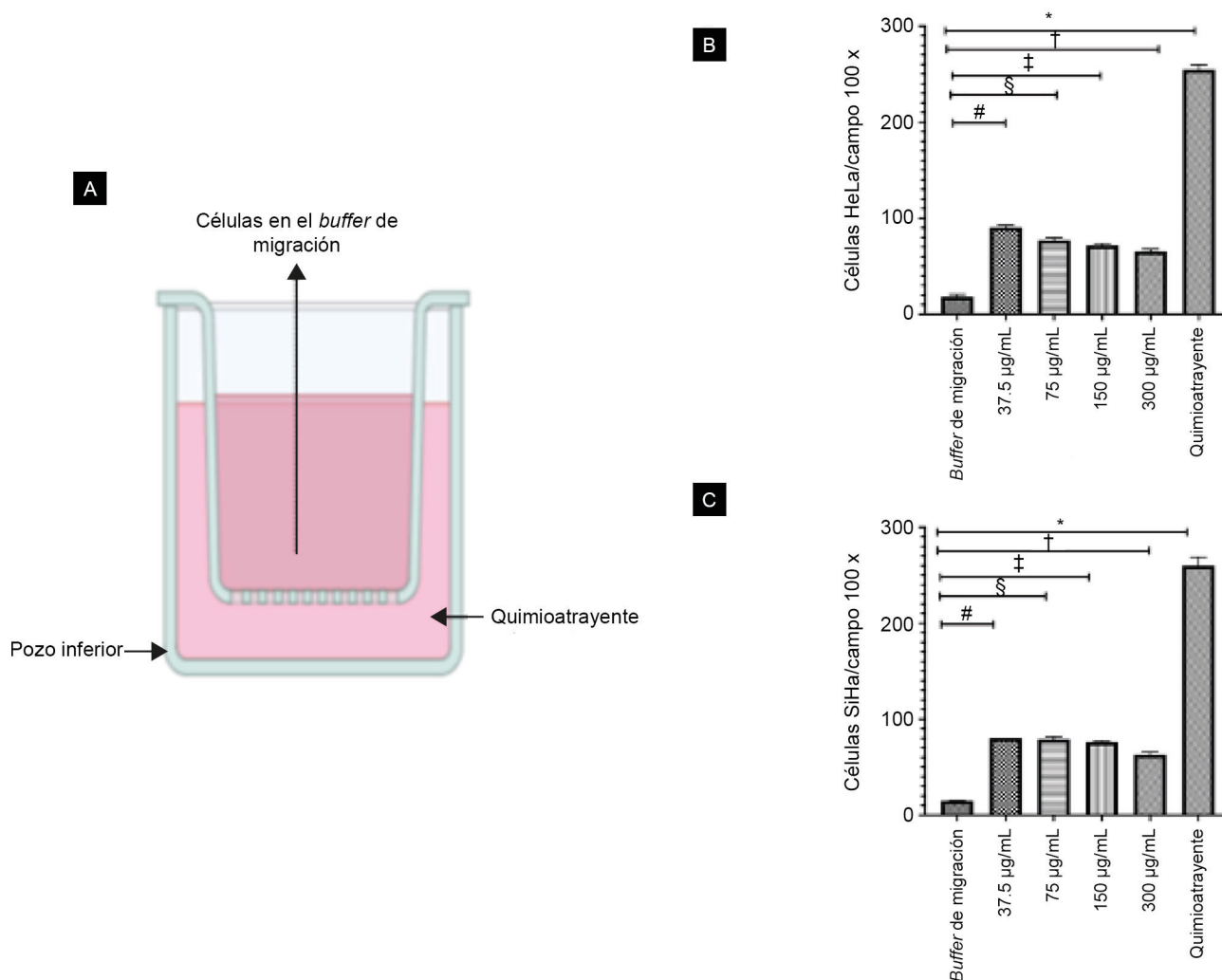
Figura 2 Detección de células apoptóticas mediante tinción DAPI



Tras la administración de kafirina a las concentraciones indicadas, las células se tiñeron con DAPI y se visualizaron con un microscopio de fluorescencia a las 48 h. (A-E), Las flechas blancas indican las células HeLa apoptóticas

*, †, ‡, §, $p < 0.05$ en comparación con el grupo de control

F: células HeLa; G: células SiHa

Figura 3 Ensayo de migración de células cancerosas en Transwell

A: se añadieron a la cámara inferior el tampón de migración celular y el medio condicionado de las células HeLa y SiHa como control negativo y quimioatrayente, respectivamente. Cuantificación de las células que migran hacia el tampón de migración o el quimioatrayente (media de 10 campos de imagen a 100 aumentos totales). B: migración de células HeLa, células no tratadas y tratadas con kafirinas de 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL *, †, ‡, §, # $p < 0.05$. C: migración de células SiHa, células no tratadas y tratadas con kafirinas de 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL *, †, ‡, §, # $p < 0.05$

Resultados

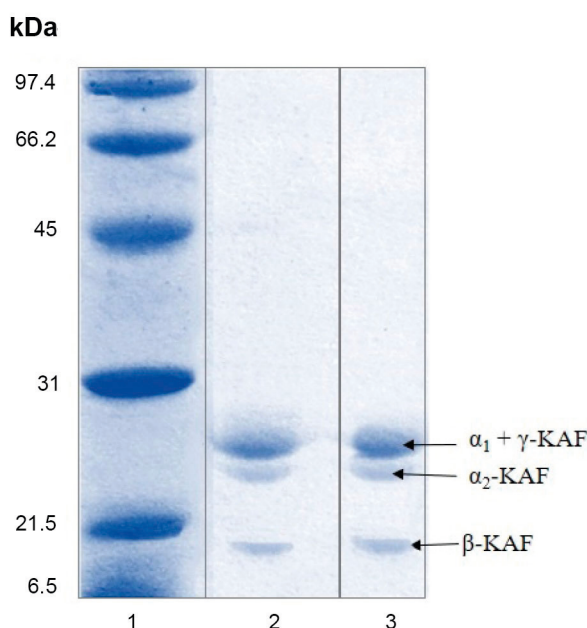
Extracto de kafirinas

El contenido de proteína total en la harina de sorgo blanco (Perla 101) fue consistente con un estudio anterior ($8.38 \pm 0.02\%$, base seca). Una vez realizada la extracción de kafirinas en la harina de sorgo, se obtuvo un porcentaje de rendimiento del 30 % (2.5 ± 0.2 g de kafirinas/100 g de harina), como se ha informado previamente para esta variedad de sorgo.¹³ El perfil electroforético de las kafirinas obtenidas mostró un patrón similar al de informes anteriores,^{11,13,18,25} lo que afirma la extracción de sólo kafirinas sin

contaminación de otras fracciones proteicas. Se observaron un total de tres bandas en condiciones reductoras (figura 4). La banda predominante fue la formada por $\alpha 1 + \gamma$ -KAF con un MW = 25-27 kDa, la segunda fue $\alpha 2$ -KAF (MW = 23 kDa), y β -KAF con un MW = 19 kDa, lo cual confirma lo reportado previamente bajo las mismas condiciones de extracción y electroforesis de kafirinas.¹³

Recuento del número de células

Cuando observamos el efecto de las kafirinas en el recuento de células de cada línea (figura 1), encontramos que las kafirinas a 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL inhibieron el

Figura 4 Perfil de kafirinas en SDS-PAGE

Carril 1: estándar de proteínas; líneas 2 y 3: extracto de kafirinas (KAF)

crecimiento de las células HeLa (A) y SiHa (B) ($p < 0.05$), y fue de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ la que mostró el menor número de células a las 48 horas. En el análisis estadístico del efecto de las kafirinas en función del número de células (figura 1), encontramos que las células HeLa mostraron una disminución significativa ($p < 0.05$) en relación con el control, similar en las células SiHa ($p < 0.05$).

Resultados de ensayos MTT

Se estudió la citotoxicidad contra las líneas celulares HeLa y SiHa mediante el ensayo MTT. En la figura 1 (C), se observa una disminución de la viabilidad en las células HeLa y las células SiHa (D), tratadas con extractos de kafirina (37.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Las células HeLa mostraron una disminución significativa de la viabilidad ($p < 0.05$), que es consistente con lo encontrado en el recuento de células (C). Por otro lado (D), las células SiHa mostraron una viabilidad menor cuando fueron tratadas con kafirinas también. Se encontró que la concentración con mayor efecto fue de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para ambas líneas celulares.

Apoptosis mediante tinción con DAPI

Tras la administración de kafirinas a las concentraciones indicadas, las células se tiñeron con DAPI y se visua-

lizaron con un microscopio de fluorescencia a las 48 horas (figuras 2A y 2E). Se observó una fluorescencia azul brillante en las células teñidas tras el tratamiento con kafirina, lo que sugiere una condensación de la cromatina y los núcleos apoptóticos. Las células de control mostraron un núcleo normal teñido sin condensación de cromatina. Las flechas blancas indican células HeLa apoptóticas. En donde se indica con asteriscos hubo una $p < 0.05$ en comparación con el grupo control. En F y Gg se muestran los porcentajes de células HeLa y SiHa tras el recuento.

Ensayo de migración celular

Se investigó el efecto de la migración celular inducida por el FBS. Los resultados mostraron que el 10% de FBS estimuló la migración a lo largo de un gradiente de concentración, lo cual indica que la migración celular mostrada en respuesta al FBS se debía a la quimiotaxis. El número de HeLa que migró por medio de la inducción de FBS pretratada con kafirinas a concentraciones de 3.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ disminuyó con índices de migración de 4.9, 4.1, 3 y 0.6, respectivamente, en comparación con las células no tratadas (índice de migración = 21.6). Del mismo modo, las kafirinas a 37.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ disminuyeron la migración de las células SiHa con índices de migración de 5.4, 4.4, 3.3 y 0.4, respectivamente (figura 3).

Discusión

Los ensayos mostraron que las kafirinas generan resultados interesantes en la actividad antiproliferativa *in vitro* en comparación con la actividad observada con el control. La actividad antiproliferativa fue 3.3-4 veces superior a la del control. Las kafirinas son las principales proteínas de almacenamiento en el grano de sorgo y representan entre el 77-82% del total de proteínas del endospermo.^{21,22} Estas proteínas se clasifican como la fracción de prolaminas. Se caracterizan por ser solubles en disolventes no polares (principalmente en soluciones alcohólicas) y por su alto contenido en prolina, glutamina, alanina y leucina.²⁶ Las kafirinas tienen un alto contenido de ácido glutámico y aminoácidos no polares como la prolina (Pro), la leucina (Leu) y la alanina (Ala), pero un bajo contenido del aminoácido esencial lisina (Lys).¹¹ Anteriormente hemos investigado las propiedades antielastasa, antitirosina y antioxidantes de esta fracción proteica del sorgo en otro modelo biológico.¹³ Y hemos encontrado que las kafirinas tienen efectos protectores en la piel contra la luz UVB.¹³ En otros estudios, se utilizaron hidrolizados de kafirinas en concentraciones de 50 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Estos hidrolizados no inhibieron el crecimiento de las células HepG2 (células de cáncer de hígado) en 48 horas de cultivo. Se observó que hasta las 72 horas, los hidrolizados de KAF incorporados

tanto a 50 como a 200 µg/mL inhibieron significativamente el crecimiento de las células HepG2 en comparación con el control.¹⁸ En nuestro caso, hemos encontrado que las kafirinas inhiben el crecimiento de las células HeLa y SiHa ($p < 0.05$). El ensayo MTT, utilizado para comprobar la citotoxicidad de las kafirinas en las células HeLa y SiHa, mostró una actividad dependiente de la dosis en comparación con las células no tratadas. La citotoxicidad para las células HeLa y SiHa se determinó al medir la viabilidad celular y se presentó un mayor efecto a una concentración de 300 µg/mL. En un estudio anterior, se probaron las kafirinas en concentraciones de 100 a 300 µg/mL y se observaron efectos beneficiosos en las células normales de la piel humana tras ser expuestas a la radiación UV.¹³ La disminución del número de células HeLa y SiHa y su capacidad de vivir podría estar relacionada con la forma en que las kafirinas combaten el cáncer.

Este es el primer estudio en el que se utilizan kafirinas en un modelo de células HeLa y SiHa de cáncer de cuello de útero. Se realizó una tinción con DAPI para explorar la causa de la muerte celular. Las células HeLa y SiHa mostraron fluorescencia azul después de 48 horas de tratamiento, lo que indica daños en el ADN y la condensación nuclear, un sello distintivo de las células que sufren apoptosis, mientras que las células no tratadas mostraron una tinción DAPI uniforme, es decir, no se observó material condensado. La proliferación celular incluye una serie de eventos muy específicos que deben ser seguidos de forma rigurosa por varios puntos de control para garantizar la precisión e integridad de la replicación del ADN.^{27,28} Cuando los factores nocivos causan daños en el ADN, el progreso del ciclo celular se bloquea y la reparación de la célula sigue o conduce al inicio de la apoptosis.²⁷ Las kafirinas podrían inducir la apoptosis por medio de la vía mitocondrial en las células HeLa y SiHa.²⁸ Esta teoría se basa en los efectos de otros compuestos como la α -ciperona, que fue capaz de inducir la apoptosis en las células HeLa.²⁷ Esto podría explicarse por los estímulos de los radicales libres y el estrés oxidativo, los cuales pueden desencadenar la vía intrínseca de la apoptosis mediada por el potencial de membrana mito-

condrial,²⁸ y esto en presencia de compuestos como las kafirinas. Además de la actividad antiproliferativa, también se estudió la migración celular. La migración celular es un aspecto importante de estudio en la investigación del cáncer. La migración celular en Transwell revela información detallada sobre los comportamientos migratorios de las células y puede utilizarse para investigar los mecanismos moleculares de la migración celular.^{29,30,31} Esto implica la migración de un tejido a otro a través de la matriz de la membrana extracelular, que actúa como barrera entre los diferentes tejidos. Utilizamos estos ensayos para averiguar la rapidez con la que se movían las líneas celulares HeLa y SiHa, y su capacidad para invadir otros espacios.

La migración celular Transwell proporciona un análisis exhaustivo de la capacidad de las células para percibir un determinado quimioatrayente y migrar a través de una barrera física hacia él.³² Las concentraciones de kafirinas de 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL disminuyeron la migración de las células HeLa, con índices de migración de 4.9, 4.1, 3 y 0.6, respectivamente, en comparación con las células no tratadas (índice de migración = 21.6). Las kafirinas a 37.5, 75, 150 y 300 µg/mL disminuyeron también la migración de las células SiHa con índices de migración de 5.4, 4.4, 3 y 8.4, respectivamente.

Conclusiones

Este trabajo demuestra claramente la inducción de la actividad antiproliferativa, apoptótica y antimigratoria en las células HeLa y SiHa por parte de las kafirinas. El sorgo puede utilizarse como nutraceutico con potenciales beneficios en la prevención del cáncer.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno relacionado con este artículo.

Referencias

- Alcántara-Quintana LE, Gallegos-García V, Terán-Figueroa Y. Cervical Cancer in Stem Cell. *Int J Sci Res.* 2018;7(8):1-12. doi: 10.36106/ijrsr
- Chiodi I, Mondello C. Life style factors, tumor cell plasticity and cancer stem cells. *Mutation Res.* 2020;784:108308. doi: 10.1016/j.mrrev.2020.108308
- Muñoz N, Castellsagué X, De González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine.* 2006;24:S1-S10. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.05.115
- Secretaría de Salud. Estadísticas de Cáncer de Mama y C
- cer Cervicouterino. Diario Oficial de la Federación 2015; última actualización, 2017.
- Majidi A, Ghiasvand R, Hadji M, Nahvijou A, Mousavi AS, Pakgozar M, et al. Priority Setting for Improvement of Cervical Cancer Prevention in Iran. *Int J Health Policy Manag.* 2015;5(4):225-32. doi: 10.15171/ijhpm.2015.201
- Wang KD, Xu DJ, Wang BY, Yan DH, Lv Z, Su JR. Inhibitory Effect of Vaginal Lactobacillus Supernatants on Cervical Cancer Cells. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2018;10(2):236-42. doi: 10.1007/s12602-017-9339-x
- Kumar L, Harish P, Malik PS, Khurana S. Chemotherapy and targeted therapy in the management of cervical

- cancer. *Curr Probl Cancer*. 2018;42(2):120-8. doi: 10.1016/j.currproblcancer.2018.01.016
8. Devi PS, Kumar MS, Das SM. Evaluation of antiproliferative activity of red sorghum bran anthocyanin on a human breast cancer cell line (mcf-7). *Int J Breast Cancer*. 2011; 2011: 891481. doi: 10.4061/2011/891481
 9. Rao S, Chinkwo K, Santhakumar A, Johnson S, Blanchard C. Apoptosis Induction Pathway in Human Colorectal Cancer Cell Line SW480 Exposed to Cereal Phenolic Extracts. *Molecules*. 2019;24(13):2465. doi: 10.3390/molecules24132465
 10. Udenigwe CC, Aluko RE. Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potential health benefits. *J Food Sci*. 2012;77(1):R11-24. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02455.x
 11. De Mesa-Stonestreet NJ. Sorghum Proteins: The Concentration, Isolation, Modification, and Food Applications of Kafirins. *J Food Sci*. 2010;75(5):1-10. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01623.x
 12. Cavazos A, Gonzalez de Mejia E. Identification of Bioactive Peptides from Cereal Storage Proteins and Their Potential Role in Prevention of Chronic Diseases. *Compr Rev Food Sci F*. 2013;12(4):364-80. doi: 10.1111/1541-4337.12017
 13. Castro-Jácome TP, Alcántara-Quintana LE, Lugo-Cervantes E, Montalvo-González E, Ortiz-Basurto RI, Tovar-Pérez EG. Anti-elastase, anti-tyrosinase and antioxidant properties of a peptide fraction obtained from sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grain. *Int Food Res J*. 2019;26(6):1813-22. Disponible en: [http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20\(06\)%202019/18%20-%20IFRJ19184.R1-Final.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20(06)%202019/18%20-%20IFRJ19184.R1-Final.pdf)
 14. Bobadilla AVP, Arevalo J, Sarro E, Byrne HM, Maini PK, Carraro T, et al. 2019 In vitro cell migration quantification method for scratch assays. *J R Soc*. 2019;16(151):20180709. doi: 10.1098/rsif.2018.0709
 15. Pijuan J, Barceló C, Moreno DF, Maiques O, Sisó P, Martí RM, et al. In vitro Cell Migration, Invasion, and Adhesion Assays: From Cell Imaging to Data Analysis. *Front Cell Dev Biol*. 2019;7:107. doi: 10.3389/fcell.2019.00107
 16. Teferra TF, Amoako DB, Rooney WL, Awika JM. Qualitative assessment of 'highly digestible' protein mutation in hard endosperm sorghum and its functional properties. *Food Chem*. 2019;271:561-569. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.014
 17. Xu S, Shen Y, Chen G, Bean S, Li Y. Antioxidant Characteristics and Identification of Peptides from Sorghum Kafirin Hydrolysates. *J Food Sci*. 2019;84(8):2065-76. doi: 10.1111/1750-3841.14704
 18. Castro-Jácome TP, Alcántara-Quintana LE, Tovar-Pérez EG. Optimization of sorghum kafirin extraction conditions and identification of potential bioactive peptides. *BioRes*. 2020;9(1):198-208. doi: 10.1089/biores.2020.0013
 19. Sullivan AC, Pangloli P, Dia VP. Kafirins from Sorghum bicolor inhibition of inflammation in THP-1 human macrophages is associated with reduction of intracellular reactive oxygen species. *Food Chem Toxicol*. 2018;111:503-10. doi: 10.1016/j.fct.2017.12.002
 20. Xu S, Shen Y, Xu J, Qi G, Chen G, Wang W, et al. Antioxidant and anticancer effects in human hepatocarcinoma (HepG2) cells of papain-hydrolyzed sorghum kafirin hydrolysates. *J Func Foods*. 2019;58:374-82. doi: 10.1016/j.jff.2019.05.016
 21. Jafari S, Saeidnia S, Abdollahi M. Role of natural phenolic compounds in cancer chemoprevention via regulation of the cell cycle. *Curr Pharm Biotechnol*. 2014;15(4):409-21. doi: 10.2174/1389201015666140813124832
 22. Weng CJ, Yen GC. Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treat Rev*. 2012;38(1):76-87. doi: 10.1016/j.ctrv.2011.03.001
 23. Diao MK, Liu CY, Liu HW, Li JT, Li F, Mehryar MM, et al. Integrated HPV genomes tend to integrate in gene desert areas in the CaSki, HeLa, and SiHa cervical cancer cell lines. *Life Sci*. 2015;127:46-52. doi: 10.1016/j.lfs.2015.01.039
 24. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54. doi: 10.1006/abio.1976.9999
 25. Belton PS, Delgadillo I, Halford NG, Shewry PR. Kafirins structure and functionality. *J Cereal Sci*. 2006;44(3):272-86. doi: 10.1016/j.jcs.2006.05.004
 26. Shewry PR, Tatham AS. The prolamin storage proteins of cereal seed: structure and evolution. *Biochem J*. 1990;267(1):1-12. doi: 10.1042/bj2670001
 27. Pei XD, Yao HL, Shen LQ, Yang Y, Lu L, Xiao JS, et al. α -Cyperone inhibits the proliferation of human cervical cancer HeLa cells via ROS-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Eur J Pharmacol*. 2020;883:173355. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173355
 28. Wang DD, Wu QX, Pan WJ, Hussain S, Mehmod S, Chen Y. A novel polysaccharide from the *Sarcodon aspratus* triggers apoptosis in HeLa cells via induction of mitochondrial dysfunction. *Food Nutr Res*. 2018;62:1285. doi: 10.29219/fnr.v62.1285
 29. Hall A. The cytoskeleton and cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2009;28(1-2):5-14. doi: 10.1007/s10555-008-9166-3
 30. Albini A. Tumor and endothelial cell invasion of basement membranes. The matrigel chemoinvasion assay as a tool for dissecting molecular mechanisms. *Pathol Oncol Res*. 1998; 4(3):230-41. doi: 10.1007/BF02905254
 31. Zhang Y, Feng Y, Justus CR, Jiang W, Li Z, Lu JQ, et al. Comparative study of 3D morphology and functions on genetically engineered mouse melanoma cells. *Integr Biol (Camb)*. 2012; 4(11):1428-36. doi: 10.1039/c2ib20153d
 32. Castellone RD, Leffler NR, Dong L, Yang LV. Inhibition of tumor cell migration and metastasis by the proton-sensing GPR4 receptor. *Cancer Lett*. 2011;312(2):197-208. doi: 10.1016/j.canlet.2011.08.013