



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



Instituto Nacional de
Medicina Genómica
MÉXICO

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe de Servicio Social
“Efecto del ácido acetilsalicílico y metformina en la agregación plaquetaria
inducida por líneas celulares de cáncer de próstata”

Ángel Mauricio González Alatríste
2193070176

Laboratorio de Oncogenómica – INMEGEN y Laboratorio de Genética
Molecular (N-103), UAM-X

05/12/2023 al 05/06/2024

Asesor Interno

Dr. Alberto Ortega Vázquez
Profesor Asociado “D” T.C.

Laboratorio de Genética Molecular
Departamento de Sistemas Biológicos
UAM-X

Asesor Externo

Dr. Mauricio Rodríguez Dorantes
Investigador en Ciencias Médicas “E”

Laboratorio de Oncogenómica
Instituto Nacional de Medicina
Genómica

Índice

1. Introducción.....	3
2. Antecedentes	3
3. Planteamiento del problema y justificación	5
4. Objetivos	6
4.1. Objetivo general.....	6
4.2. Objetivos Específicos.....	6
5. Metodología.....	7
6. Discusión de resultados.....	8
7. Conclusión.....	12
8. Referencias	13

1. Introducción

A nivel mundial, el cáncer de próstata se sitúa como el segundo cáncer más frecuente y la quinta causa principal de mortalidad por cáncer en hombres, según GLOBOCAN (2022). En México, este cáncer destaca como la principal causa de cáncer y mortalidad en hombres, datos de la Secretaría de Salud (2022). Aproximadamente un tercio de los casos evoluciona hacia formas avanzadas y metastásicas, un fenómeno biológico complejo que marca una etapa de la enfermedad con tratamiento difícil, limitaciones para la vida y una baja tasa de supervivencia (Ferlay et al., 2021). En los últimos años, se han logrado avances significativos en la investigación, diagnóstico y tratamiento del cáncer de próstata. Sin embargo, la aparición de metástasis avanzada en pacientes con cáncer sigue siendo un factor determinante en el aumento de la mortalidad. La mayoría de las muertes relacionadas con el cáncer se deben a la enfermedad en fase metastásica en lugar de a los tumores primarios (Chitty et al., 2018 & Rebello et al., 2021). Hasta la fecha, no se comprenden completamente los mecanismos involucrados en la progresión de esta enfermedad. Recientemente, se ha encontrado que las plaquetas pueden desempeñar un papel importante en la progresión del cáncer, y uno de los posibles mecanismos es a través de la activación plaquetaria inducida por células tumorales (TCIPA) (Nilsson et al., 2011). Por otro lado, estudios han demostrado que el consumo de algunos antiagregantes como el ácido acetilsalicílico (ASA), y la metformina (cuya actividad inhibitoria de la activación plaquetaria se ha sugerido recientemente), pueden suprimir la metástasis (Roussel et al., 2010; Tao et al., 2021; Chang et al., 2022). Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo analizar la capacidad antiagregante del ácido acetilsalicílico y la metformina sobre la activación plaquetaria inducida por células cancerosas en líneas celulares de cáncer de próstata, con la finalidad de abrir oportunidades para enfoques terapéuticos innovadores.

2. Antecedentes

A nivel mundial, según GLOBOCAN (2022), el cáncer de próstata ocupa el segundo lugar entre los cánceres más comunes y la quinta posición en términos de mortalidad por cáncer en hombres. En México, el panorama es aún más preocupante, con una tasa de incidencia de 42.2 por cada 100,000 habitantes, y de muertes relacionadas con el cáncer, alcanzando 68.92 por cada 100,000 habitantes (INEGI, 2024). La próstata es un órgano accesorio glandular del sistema reproductor masculino, tiene forma de nuez, desempeña una función crucial al producir el líquido seminal que transporta y contiene los nutrientes necesarios para los espermatozoides. (Mayo Clinic, 2022). No obstante, en hombres de edad avanzada, esta glándula es propensa al desarrollo de cáncer de próstata, surgiendo típicamente a partir de los 50 años y alcanzando su incidencia máxima después de los 65 años. La patología se caracteriza por una desregulación en el control del crecimiento y en procesos celulares fundamentales del tejido prostático, incluyendo la muerte celular, la alteración del ciclo celular y la reparación del ADN (INSP, 2020 & Mayo Clinic, 2022).

Durante el proceso del cáncer de próstata, las células epiteliales pueden experimentar una transición epitelio-mesenquimal o EMT, caracterizada por cambios morfológicos en su fenotipo debilitando la adhesión célula-célula y facilitando la disociación de las células epiteliales, lo que impulsa la migración e invasión celular (Odero-Marah et al., 2018) Estos procesos adaptativos requieren que las células cancerosas se ajusten al microambiente, desencadenando cambios en su fenotipo. Posteriormente, se realiza la intravasación, una entrada activa de las células en la circulación para diseminarse por el cuerpo, atravesando la capa endotelial de los vasos hacia el torrente sanguíneo o los vasos linfáticos (Chitty et al., 2018 & Rebello et al., 2021). A pesar de que la sangre representa un entorno inmunológicamente hostil para las células cancerosas, ya que son rápidamente atacadas por el sistema inmunológico y están expuestas a tensiones de cizallamiento reológico, las células cancerosas aprovechan los componentes sanguíneos del hospedero para mejorar sus posibilidades de supervivencia en la circulación. En este contexto, las plaquetas se convierten en aliadas cruciales en la diseminación del cáncer (Nilsson et al., 2011).

Las plaquetas son células sanguíneas que desempeñan un papel crucial en diversos aspectos como la hemostasia, la reparación de heridas, la respuesta inflamatoria y la inmunidad, según González et al. en 2019, tienen su activación desencadenada por la interacción de sus receptores con diversas moléculas, ya sean endógenas o exógenas. Entre estas moléculas se encuentran la trombopoyetina (TPO), trombina, tripsina, colágeno, ADP, epinefrina, metabolitos del ácido araquidónico, factor activador de plaquetas y epinefrina (Gómez et al., 2018). Aunque son reconocidas por su función en la coagulación sanguínea y la cicatrización de heridas, las plaquetas también se han involucrado con la progresión del cáncer en relación con su conexión con el cáncer (In & Wurdinger, 2019).

Se ha demostrado que las células cancerígenas son capaces de causar activación plaquetaria, y esta capacidad se correlaciona con su potencial metastásico. La activación plaquetaria promueve la liberación de factores de crecimiento que pueden ser utilizados por las células tumorales. En ese sentido, se ha reportado que las células de cáncer de próstata tienen la capacidad de promover la activación y agregación plaquetaria (Rudzinski et al., 2020). Además, se ha observado que las células tumorales pueden estimular directamente la síntesis proteica y la señalización de las plaquetas, destacando la dinámica y la respuesta activa de estas, lo cual cuestiona la noción previa de su funcionalidad estática (Booyse et al., 1968; In & Wurdinger, 2019). Este fenómeno se vincula con la existencia de plaquetas educadas por el tumor (TEPs), que, debido a la exposición a las células cancerosas, presentan un perfil de expresión alterada de ARN mensajeros (ARNm), ARN no codificantes (ARNnc) y proteínas, modificando así su respuesta y comportamiento en presencia del tumor (Najafi et al., 2024). La interacción entre plaquetas y cáncer se sugiere principalmente a través de la activación plaquetaria inducida por células tumorales (TCIPA). Este proceso implica la activación de plaquetas por parte de las células tumorales, lo que lleva a la liberación de su contenido, como factores de crecimiento. Estos elementos

liberados pueden ser aprovechados por las células tumorales para su supervivencia, progresión, metástasis y/o angiogénesis. La TCIPA es un proceso clave que ha impulsado investigaciones adicionales sobre sus mecanismos. También se ha reportado que las células cancerosas tienen la capacidad de estimular la agregación plaquetaria (Zarà et al., 2018).

La inhibición de la activación plaquetaria mediante medicamentos antiagregantes podría abrir nuevas perspectivas para el desarrollo de enfoques terapéuticos innovadores, según indicó Strassenburg en 2022. La consideración de incorporar la aspirina en la terapia contra el cáncer se deriva de investigaciones como el metaanálisis realizado por Elwood y colaboradores (2024), quienes observaron una reducción del 20% en la mortalidad en individuos con cáncer que consumían aspirina. Además, se ha explorado el uso de metformina para prevenir la activación y agregación, como demostró el estudio de Roussel et al. (2010), quienes encontraron una disminución de la mortalidad en pacientes con aterotrombosis que utilizaban metformina, sugiriendo su potencial para suprimir la metástasis (Tao et al., 2021; Chang et al., 2022).

3. Planteamiento del problema y justificación

A nivel mundial, el cáncer de próstata ocupa la segunda posición entre los más comunes y la quinta en términos de mortalidad en hombres (GLOBOCAN, 2022). En México, destaca como la principal causa de cáncer y mortalidad en el género masculino. Aunque la mayoría de los pacientes con cáncer de próstata reciben tratamientos con fines curativos, alrededor de un tercio de los casos evolucionan hacia formas avanzadas y metastásicas, marcando una etapa de la enfermedad con limitaciones para la vida. El porcentaje de pacientes con enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico ha experimentado un aumento en la última década (Ferlay et al., 2021). La progresión metastásica es un fenómeno biológico complejo, cuyos mecanismos moleculares aún no se comprenden completamente. Recientemente se ha encontrado que las plaquetas desempeñan un papel relevante en la progresión de distintos tipos de cáncer, sugiriéndose que uno de los posibles mecanismos podría ser mediado por la activación plaquetaria inducida por células tumorales (TCIPA) (Nilsson et al., 2011). Por otra parte, se ha observado que algunos fármacos, como el ácido acetilsalicílico y la metformina, pueden disminuir la incidencia y progresión de algunos tipos de cáncer (Roussel et al., 2010; Tao et al., 2021; Chang et al., 2022). A pesar de esta asociación observada en estudios epidemiológicos, los mecanismos moleculares subyacentes aún no han sido completamente dilucidados. Por lo tanto, en este estudio, se propone analizar el efecto del ácido acetilsalicílico y la metformina sobre la activación plaquetaria inducida por células tumorales. Este fenómeno particular, se busca no solo contribuir al entendimiento general de la relación entre plaquetas y el cáncer de próstata, sino también proporcionar información valiosa sobre los posibles mecanismos moleculares que subyacen a los efectos benéficos observados con la administración de aspirina y metformina en la prevención y tratamiento de ciertos tipos de cáncer. Este enfoque

específico tiene el potencial de abrir nuevas opciones de tratamiento, lo que podría beneficiar a los pacientes, disminuyendo la mortalidad y mejorando la calidad de vida.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Analizar la capacidad antiagregante del ácido acetil salicílico y la metformina sobre la activación plaquetaria inducida por células cancerosas líneas celulares de cáncer de próstata.

4.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar el efecto de las células de cáncer de próstata sobre la activación plaquetaria.
- Evaluar la respuesta antiagregante del ácido acetilsalicílico en activación plaquetaria inducida por células tumorales.
- Evaluar la respuesta antiagregante de la metformina en agregación plaquetaria inducida por células tumorales.
- Evaluar el efecto del ácido acetilsalicílico y la metformina en un modelo de co-cultivo de plaquetas y líneas celulares de cáncer de próstata.

5. Metodología

Se llevó a cabo un estudio de un modelo experimental *in vitro* para evaluar la capacidad antiagregante del ácido acetilsalicílico y la metformina en la TCIPA de líneas celulares de cáncer de próstata. El proyecto corresponde a una parte del protocolo de investigación “El papel de las plaquetas educadas en el establecimiento de metástasis óseas en cáncer de próstata”, perteneciente al Laboratorio de Oncogenómica del Instituto Nacional de Medicina Genómica.

5.1. Cultivo de células de cáncer de próstata

Para el análisis de la activación plaquetaria inducida por células cancerosas se utilizaron líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP (CRL-1740™) y PC-3 (CRL-1435™), obtenidas de ATCC (*The American Type Culture Collection*). Las líneas celulares se mantuvieron en crecimiento con medio RPMI 1640 (Corning® 10-040-CM), complementado con un 10% de suero fetal bovino (SFB) de Gibco® (16000044). El cultivo celular se llevará a cabo en condiciones de incubación a 37°C con una atmósfera de 5% de CO₂.

5.2. Obtención y aislamiento de plaquetas

Las plaquetas se obtuvieron a partir de sangre periférica mediante centrifugación diferencial en tubos con solución A de citrato-ácido cítrico-dextrosa (ACD-A), al centrifugar a 100 g durante 10 minutos para obtener el plasma rico en plaquetas (PRP). El PRP se transfirió a un tubo nuevo, se añadió prostaglandina E1 (PGE1) a una concentración de 1 µM y se centrifugó a 150 g durante 7 minutos para sedimentar la contaminación celular restante. Posteriormente, el sobrenadante se transfirió a otro tubo y se centrifugó a 500 g durante 10 minutos para obtener el *pellet* plaquetario, las plaquetas se suspendieron en una solución amortiguadora HEPES modificado (140 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 3.8 mM HEPES, 5 mM EGTA, 5.5 mM glucosa, 1 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂, pH 7.4).

5.3. Cuantificación de la activación plaquetaria y evaluación de los antiagregantes en la activación plaquetaria inducida por células de cáncer de próstata

Después del aislamiento de las plaquetas, se realizaron diversas pruebas para evaluar su activación utilizando agonistas específicos. Las muestras se dejaron sin tratar o se sometieron a un pretratamiento con ácido acetilsalicílico 1mM (Sigma; A5376) o metformina 1mM (Sigma; M0605000) o la combinación de ambos durante 30 minutos a 37°C. Luego, se trataron con líneas celulares LNCaP y PC-3, utilizando el medio de las células como control negativo y ADP a 20 µM (Sigma; A2754) y *Thrombin*

Receptor Activator Peptide 6 (TRAP) a 10 μ M (Sigma; T1573) como controles positivos, se dejaron incubar por 30 minutos a 37°C.

Posteriormente, las plaquetas se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 2% durante 15 minutos a temperatura ambiente. La activación plaquetaria se evaluó mediante análisis de citometría de flujo. Las plaquetas fueron marcadas con el anticuerpo anti-CD62P (BD Pharmingen™ PE Mouse Anti-Human CD62P; 555524) y el anticuerpo anti-PAC-1 (BD™ FITC Mouse Anti-Human PAC-1). Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo BD FACSCanto™ II.

5.4. Consideraciones éticas

En este estudio, se cumplieron todas las consideraciones éticas pertinentes. La investigación se llevó a cabo exclusivamente utilizando líneas celulares de cáncer de próstata. Todos los procedimientos experimentales fueron diseñados y ejecutados de acuerdo con las normativas y directrices correspondientes, garantizando la integridad y el respeto de los estándares científicos y éticos en todo momento.

6. **Discusión de resultados**

En este estudio se realizó un análisis detallado de la actividad inhibitoria del ácido acetilsalicílico y la metformina sobre la activación plaquetaria inducida por células tumorales. Utilizando citometría de flujo con plaquetas marcadas, se evaluó cómo estos fármacos afectan la activación y agregación de las plaquetas en presencia de células cancerosas. Esta investigación se basa en la sugerencia reciente de que la progresión tumoral podría estar mediada por la activación plaquetaria inducida por células tumorales, un proceso que involucra la liberación de gránulos plaquetarios y el intercambio de información biológica a través de moléculas de adhesión, citocinas o vesículas extracelulares (Strasenburg et al., 2022).

Por lo tanto, el objetivo principal del presente trabajo fue analizar la actividad inhibitoria del ácido acetilsalicílico y la metformina en la activación plaquetaria inducida por células tumorales.

Para evaluar la activación plaquetaria, se utilizaron marcadores específicos como CD62P y PAC-1. CD62P, también conocido como P-selectina, es una molécula de adhesión que actúa como un marcador específico de activación plaquetaria, expresándose en la superficie de las plaquetas cuando estas están activadas. Esta molécula desempeña un papel crucial en la interacción de las plaquetas con otros componentes celulares y en la formación de coágulos sanguíneos. PAC-1, por otro lado, es un anticuerpo utilizado como marcador de la activación del receptor de glucoproteína IIb/IIIa en las plaquetas, que es fundamental para la agregación plaquetaria. Este receptor facilita la unión de las plaquetas entre sí a través de

la fibrina, formando coágulos. Durante la activación plaquetaria, el receptor de glucoproteína IIb/IIIa cambia de su forma inactiva a una forma activa, lo que permite la unión a ligandos como el fibrinógeno. PAC-1 se une específicamente a la forma activada del receptor, permitiendo la detección de plaquetas en proceso de agregación (Yun et al., 2016).

El protocolo de aislamiento de plaquetas es fundamental para el estudio de su respuesta, ya que influye directamente en su activación. El método más utilizado implica la centrifugación diferencial, que requiere una serie de pasos de centrifugación y lavado para separar las plaquetas de otros componentes sanguíneos. Para este estudio, fue necesario estandarizar un método de aislamiento que garantizara la inactividad de las plaquetas durante la extracción y su posterior activación en respuesta a un agonista o estímulo.

Inicialmente, se evaluó la activación plaquetaria utilizando un método de aislamiento previamente estandarizado en el laboratorio, que consistía en el aislamiento de plaquetas en tubos Vacutainer® de 6 ml recubiertos con EDTA (10.8 mM). Sin embargo, este método generó una alta proporción de plaquetas activadas y no permitió distinguir una mayor activación incluso en presencia del agonista ADP (20 μ M) o TRAP (10 μ M) (Figura 1). Se concluyó que este método no era adecuado para el aislamiento de plaquetas no activadas.

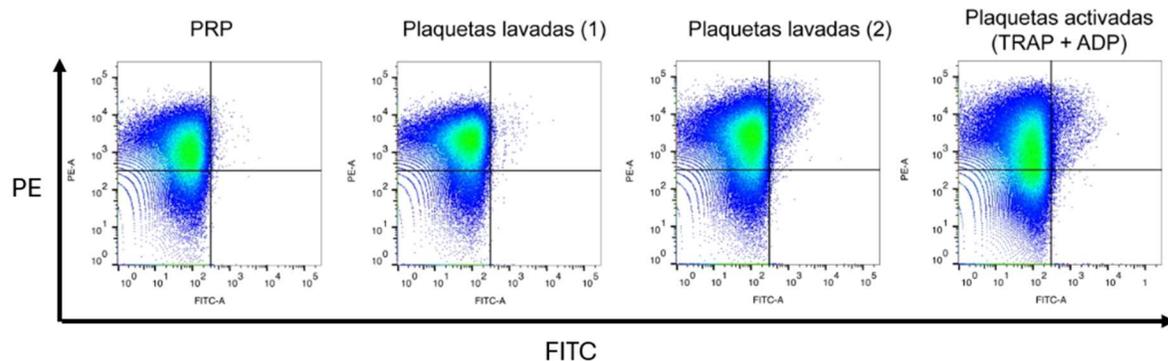


Figura 1. Análisis de la activación plaquetaria en el método de aislamiento utilizando tubos Vacutainer con EDTA. Se observaron niveles elevados de activación plaquetaria en varias etapas del procedimiento, lo que permitió identificar momentos específicos de activación. Para determinar estos puntos críticos, se tomaron muestras de plaquetas en diferentes pasos del método de aislamiento: desde el PRP, después del primer lavado, tras el segundo lavado y finalmente con una activación inducida (Histogramas en orden de izquierda a derecha).

Para abordar esta limitación, se evaluó el método propuesto por Weiss L., et al. (2023), que involucra el aislamiento de plaquetas a partir de tubos recubiertos con *buffer* ácido cítrico-citrato-dextrosa A (ACD-A) (38 mM de ácido cítrico, 75 mM de citrato trisódico, 136 mM de dextrosa) y una serie de pasos de centrifugación en presencia del inhibidor de la agregación plaquetaria prostaglandina E1 (1 μ M de PGE1), finalizando con la suspensión de las plaquetas en *buffer* Tyrodes modificado (6 mM de dextrosa, 130 mM de NaCl, 10 mM de NaHCO₃, 10 mM de Tris-HCl, 3 mM de KCl, 0.81 mM de KH₂PO₄, 0.9 mM de MgCl₂). Con este método, se observó que el uso de PGE1 inhibió consistentemente la activación plaquetaria en diferentes puntos del aislamiento. Sin embargo, en presencia de

un estímulo con ADP (20 μM) y TRAP (10 μM), este método produjo solo una proporción limitada de plaquetas activadas, dando como resultado una activación reducida e insuficiente. (Figura 2).

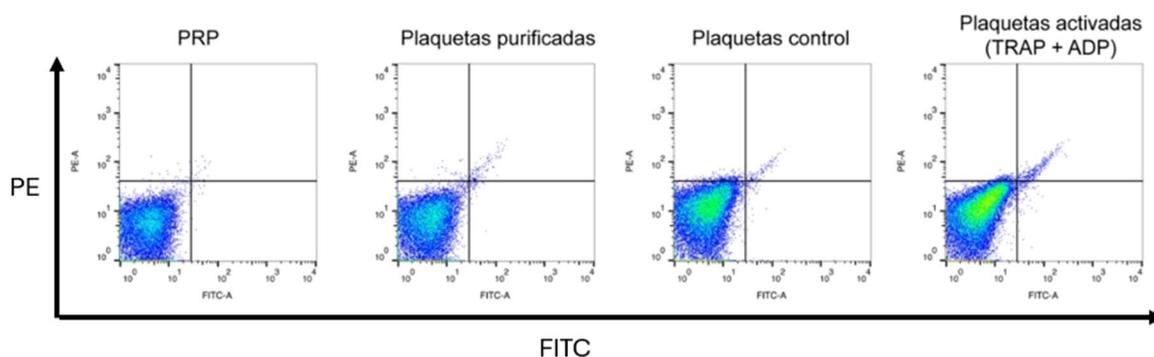


Figura 1. Análisis de activación plaquetaria en el método de aislamiento utilizando tubos Vacutainer ACD-A. Se muestran niveles bajos de activación plaquetaria en las diferentes etapas del procedimiento de aislamiento. Para identificar los puntos críticos de activación plaquetaria, se tomaron muestras de plaquetas en distintos pasos del método de aislamiento. Plaquetas obtenidas desde el plasma PRP, al final del proceso con las plaquetas purificadas, plaquetas sin activación y plaquetas con activación inducida (Histogramas en orden de izquierda a derecha).

Paralelamente, se utilizó el método reportado por Zarà M. et al. (2022), en el cual las plaquetas fueron finalmente resuspendidas en *buffer* HEPES en presencia de glucosa 5 mM, CaCl_2 1 mM y MgCl_2 0.5 mM. Este método mostró una mayor respuesta a la activación plaquetaria por los agonistas ADP (20 μM) y TRAP (10 μM), Este método demostró ser el más adecuado, ya que mantuvo las plaquetas inactivas durante su aislamiento y sensibles a los estímulos para activarse cuando fuera necesario (Figura 3).

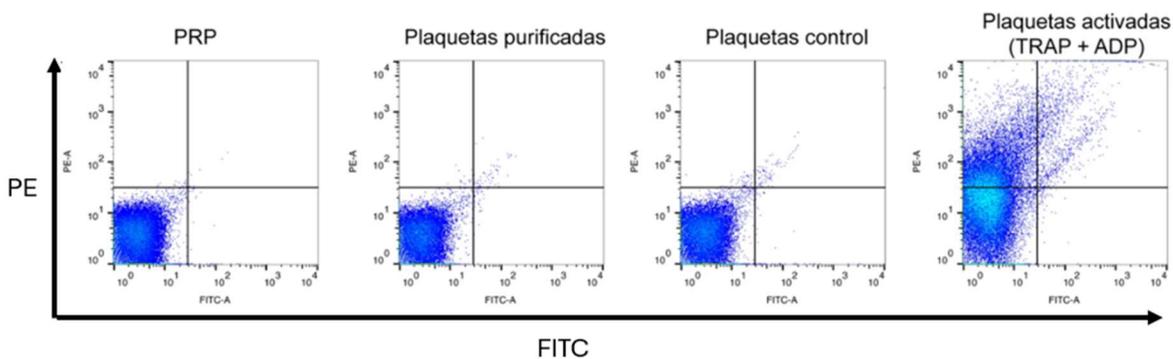


Figura 2. Análisis de activación plaquetaria en el método de aislamiento utilizando tubos Vacutainer ACD-A. Se evaluó la activación plaquetaria inducida por los agonistas ADP y TRAP. Se tomaron muestras de plaquetas en distintos pasos del método de aislamiento para identificar los puntos críticos de activación plaquetaria. Plaquetas obtenidas desde el plasma PRP, al final del proceso con las plaquetas purificadas, plaquetas sin activación y plaquetas con activación inducida (Histogramas en orden de izquierda a derecha).

Una vez estandarizado el método, se evaluaron diferentes condiciones para determinar la activación plaquetaria inducida por células tumorales. En este análisis, las plaquetas fueron expuestas a las líneas celulares LNCaP y PC3. A diferencia del control con vehículo PBS

1x, las células tumorales promovieron la activación plaquetaria, mostrando mayor positividad para los marcadores CD62P y PAC1 (Figura 4).

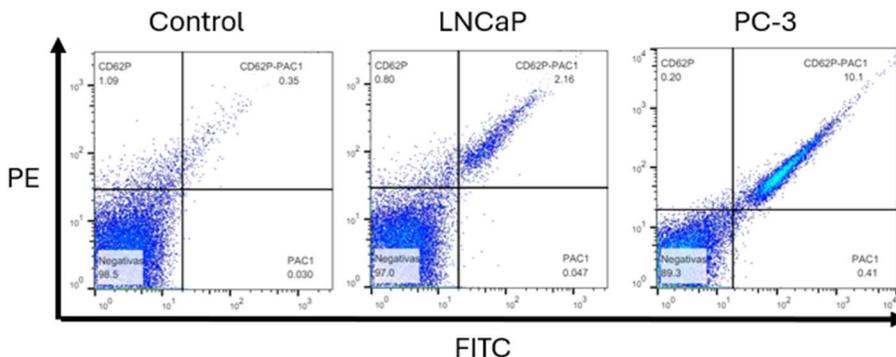


Figura 4. Activación plaquetaria inducida por células tumorales. Plaquetas aisladas fueron incubadas con PBS, la línea celular LNCaP o PC3. Los histogramas, de izquierda a derecha, muestran los niveles de activación plaquetaria correspondientes a cada condición.

Los resultados obtenidos mediante nuestra metodología sugieren que las plaquetas son activadas por las líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP y PC-3. En el caso de LNCaP, se observó una activación plaquetaria del 3%, mientras que para PC-3 fue significativamente mayor, alcanzando un 10.7%. Estos hallazgos destacan la variabilidad en la capacidad de diferentes líneas celulares de cáncer de próstata para inducir la activación plaquetaria.

El pretratamiento con fármacos mostró una reducción en la activación plaquetaria. Para la línea celular LNCaP, el tratamiento con ácido acetilsalicílico resultó en una activación del 4.1%. La metformina, por su parte, mostró una mayor eficacia, reduciendo la activación a un 1.3%. La combinación de ambos fármacos resultó en una activación del 2.3%. (Fig. 5)

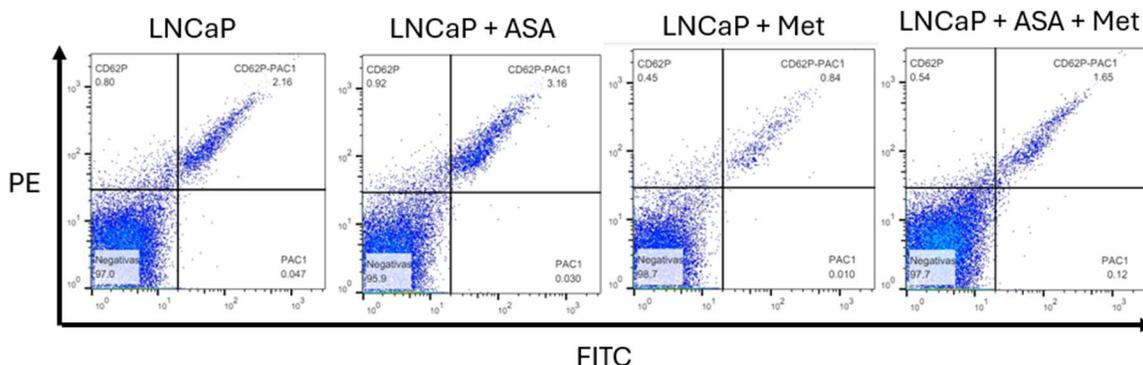


Figura 5. Activación plaquetaria inducida por LNCaP. Diagrama del análisis por citometría de flujo de plaquetas sin pretratamiento, con pretratamiento con ácido acetilsalicílico (ASA), con metformina (Met) y ambos tratamientos combinados, en orden de izquierda a derecha.

En el caso de la línea celular PC-3, el ácido acetilsalicílico disminuyó la activación plaquetaria a un 2.6%, la metformina a un 2.2%, y la combinación de ambos a un 5.7%. (Fig 6.)

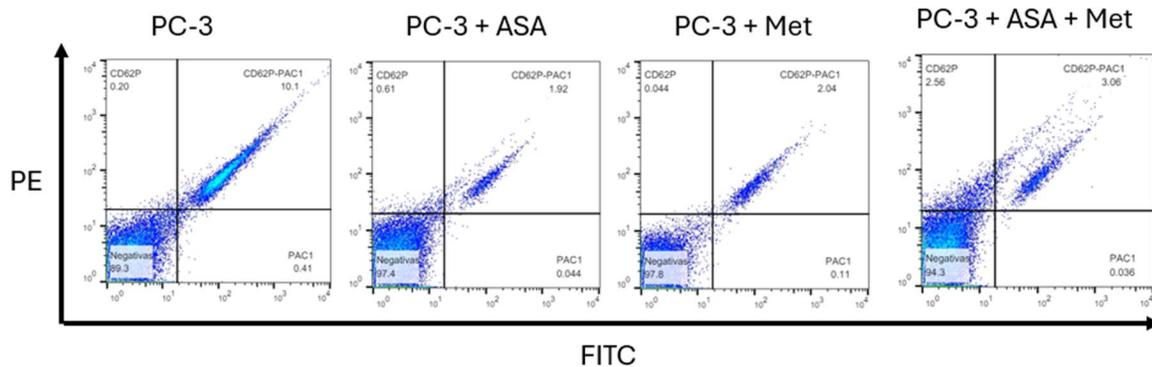


Figura 6. Activación plaquetaria inducida por PC-3. Diagrama del análisis por citometría de flujo de plaquetas sin pretratamiento, con pretratamiento con ácido acetilsalicílico (ASA), con metformina (Met) y ambos tratamientos combinados, en orden de izquierda a derecha.

Estos resultados sugieren que la activación plaquetaria inducida por las células de cáncer de próstata puede ser modulada mediante tratamientos farmacológicos. En particular, el uso de aspirina (ASA) y metformina (Met) se perfilan como estrategias farmacológicas prometedoras para reducir la activación plaquetaria en el contexto del cáncer de próstata.

7. Conclusión

Se caracterizó el efecto de las células de cáncer de próstata sobre la activación plaquetaria, observando una activación plaquetaria del 3% por LNCaP y 10% por PC3, destacando la variabilidad en la capacidad de diferentes líneas celulares de cáncer de próstata para inducir la activación plaquetaria.

En conclusión, ASA y Met muestran un potencial antiagregante significativo para disminuir la activación plaquetaria inducida por las líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP y PC-3. La inhibición de la activación plaquetaria por ASA fue de 4.5% para LNCaP y 2.6% para PC-3. Met mostró una inhibición de 1.3% para LNCaP y 2.2% para PC-3. Cuando se usaron ambos fármacos en conjunto, la inhibición fue de 2.3% para LNCaP y 5.7% para PC-3.

Los hallazgos encontrados en este estudio sugieren que la ASA y Met tienen el potencial para ser empleados como estrategias farmacológicas novedosas para disminuir la activación plaquetaria inducida por células tumorales de próstata. Esta información proporciona una base sólida para futuras investigaciones en otros modelos de estudio de la actividad plaquetaria, ampliando el conocimiento de la investigación científica sobre las estrategias terapéuticas del cáncer de próstata.

8. Referencias

1. Booyse, F. M., & Rafelson, M. E. (1968). Studies on human platelets. I. Synthesis of platelet protein in a cell-free system. *Biochimica et Biophysica Acta*, 166(3), 689–697. [https://doi.org/10.1016/0005-2787\(68\)90376-6](https://doi.org/10.1016/0005-2787(68)90376-6)
2. Chang, Y., Huang, W.-C., Hsu, C.-Y., Hsia, C.-W., Jayakumar, T., Hsieh, C.-Y., Lu, W.-J., & Chang, C.-C. (2022). Metformin Serves as a Novel Drug Treatment for Arterial Thrombosis: Inhibitory Mechanisms on Collagen-Induced Human Platelet Activation. *Applied Sciences*, 12(15), 7426. <https://doi.org/10.3390/app12157426>
3. Chitty, J. L., Filipe, E. C., Lucas, M. C., Herrmann, D., Cox, T. R., & Timpson, P. (2018). Recent advances in understanding the complexities of metastasis. *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-1169. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15064.2>
4. Elwood, P., Morgan, G., Watkins, J., et al. (2024). Aspirin and cancer treatment: systematic reviews and meta-analyses of evidence: for and against. *British Journal of Cancer*, 130(1), 3–8. <https://doi.org/10.1038/s41416-023-02506-5>
5. Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., et al. (2024). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Retrieved from <https://gco.iarc.fr/today>
6. Gómez, B., Rodríguez, F. L., & Díaz, E. (2018). Fisiología plaquetaria, agregometría plaquetaria y su utilidad clínica. *Medicina Interna de México*, 34(2). <https://doi.org/10.24245/mim.v34i2.1908>
7. González, A., Bizarro, P., Rojas, M., López, N., Ustarroz, M., Barbosa, F., García, B., Albarrán, J., & Fortoul, T. I. (2019). The megakaryocyte: a very original cell. *Revista de La Facultad de Medicina*, 62(1), 6–18. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2019.62.1.02>
8. In, & Würdinger, T. (2019). Tumor-educated platelets. *Blood*, 133(22), 2359–2364. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-12-852830>
9. INEGI. (2024). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2024/EAP_CANCER24.pdf
10. INSP. (2020). Mortalidad por cáncer de próstata en México a lo largo de tres décadas. *Insp.mx*. <https://www.insp.mx/avisos/4189-cancer-prostata-mx.html>
11. Jurasz P, Alonso-Escolano D, Radomski MW. (2004). Platelet-Cancer Interactions: Mechanisms and Pharmacology of Tumour Cell-Induced Platelet Aggregation. *British Journal of Pharmacology*, 143(7), 819–26. doi: 10.1038/sj.bjp.0706013
12. Mayo Clinic. (2022). Cáncer de próstata - Síntomas y causas, *Mayoclinic.org*. <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/prostate-cancer/symptoms-causes/syc-20353087>
13. Najafi, S., Asemani, Y., Majidpoor, J., Mahmoudi, R., Aghaei-Zarch, S. M., & Mortezaee, K. (2024). Tumor-educated platelets. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 552, 117690. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117690>
14. Nilsson, R. J., Balaj, L., Hulleman, E., van Rijn, S., Pegtel, D. M., Walraven, M., Widmark, A., Gerritsen, W. R., Verheul, H. M., Vandertop, W. P., Noske, D. P., Skog, J., & Würdinger, T. (2011). Blood platelets contain tumor-derived RNA biomarkers. *Blood*, 118(13), 3680–3683. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-344408>
15. Odero-Marrah, V., Hawsawi, O., Henderson, V., Sweeney, J. (2018). Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) and Prostate Cancer. In: Schatten, H. (eds) *Cell & Molecular Biology of Prostate Cancer*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1095. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95693-0_6

16. Palacios-Acedo, A. L., Mège, D., Crescence, L., Dignat-George, F., Dubois, C., & Panicot-Dubois, L. (2019). Platelets, Thrombo-Inflammation, and Cancer: Collaborating With the Enemy. *Frontiers in immunology*, 10, 1805. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01805>
17. Rebello, R. J., Oing, C., Knudsen, K. E., Loeb, S., Johnson, D. C., Reiter, R. E., Gillessen, S., Van der Kwast, T., & Bristow, R. G. (2021). Prostate cancer. *Nature reviews. Disease primers*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>
18. Roussel, R., Travert, F., Pasquet, B., Wilson, P. W., Smith, S. C., Jr, Goto, S., Ravaud, P., Marre, M., Porath, A., Bhatt, D. L., Steg, P. G., & Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry Investigators (2010). Metformin use and mortality among patients with diabetes and atherothrombosis. *Archives of internal medicine*, 170(21), 1892–1899. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2010.409>
19. Secretaría de Salud. (2022). 278. En México, cada año se detectan más de 25 mil casos de cáncer de próstata. *Gob.mx*. Retrieved from <https://www.gob.mx/salud/prensa/278-en-mexico-cada-ano-se-detectan-mas-de-25-mil-casos-de-cancer-de-prostata>
20. Strassenburg, W., Jo'zwicki, J., Durs'lewicz, J., Kuffel, B., Kulczyk, MP., Kowalewski, A., Grzanka, D., Drewa, T., & Adamowicz, J. (2022). Tumor Cell-Induced Platelet Aggregation as an Emerging Therapeutic Target for Cancer Therapy. *Frontiers in Oncology*, 12:909767. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.909767>
21. Tao, D. L., Tassi Yunga, S., Williams, C. D., & McCarty, O. J. T. (2021). Aspirin and antiplatelet treatments in cancer. *Blood*, 137(23), 3201–3211. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003977>
22. Yun, S. H., Sim, E. H., Goh, R. Y., Park, J. I., & Han, J. Y. (2016). Platelet Activation: The Mechanisms and Potential Biomarkers. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9060143>
23. Zarà, M., Canobbio, I., Visconte, C., Canino, J., Torti, M., & Guidetti, G. F. (2018). Molecular mechanisms of platelet activation and aggregation induced by breast cancer cells. *Cellular signalling*, 48, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.04.008>