

UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DR. WILLIAM C.
GORGAS
PROGRAMA DE LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

**“Evaluación del efecto del Ácido Palmítico en cultivos celulares
de Melanoma Murino B16F1”**

ELABORADO POR:

Ginger Abigail Gutiérrez Alvarado

C.I.P. 8-1000-1701

TRABAJO DESARROLLADO PARA OPTAR POR EL
Título de Licenciatura en Biotecnología

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2025

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado primeramente a Dios, por ser mi guía y fortaleza en cada paso de este camino. Gracias por darme la oportunidad de aprender, por sostenerme en los momentos difíciles y por llenar mi vida de bendiciones.

A mi familia, por su amor incondicional, su apoyo incansable y por ser mi mayor inspiración. En especial a mis padres Zaida Alvarado y Fabio Gutiérrez y a mi hermana Angie Gutiérrez Sin ustedes, este logro no habría sido posible. A mis amigos y familiares, por su compañía, por cada palabra de aliento y por hacer más ligero este recorrido con su cariño y comprensión.

A mis profesores y mentores, cuyo conocimiento, paciencia y dedicación han sido fundamentales en mi formación. Gracias por compartir su sabiduría y por impulsarme a dar siempre lo mejor de mí. Y a todos aquellos que, de alguna manera, han sido parte de este proceso. Cada gesto de apoyo y cada enseñanza han dejado una huella imborrable en mi vida.

Con gratitud y cariño, dedico este trabajo a ustedes.

AGRADECIMIENTO

A lo largo de este camino, han sido muchas las personas que, con su apoyo, enseñanza y compañía, hicieron posible la realización de este trabajo. En primer lugar, agradezco a mi familia, por su amor incondicional, su paciencia y por ser mi pilar en cada paso de esta trayectoria. Su confianza en mí ha sido mi mayor motivación.

A mis profesores y mentores, especialmente a el Dr. Orlando Serrano, Yoana Pimentel TM MSC, profesora Maricellis Díaz y a la profesora María Fernanda Alves, por su guía, conocimiento y dedicación. Su apoyo y exigencia me han impulsado a dar siempre lo mejor de mí.

A mis compañeros de laboratorio, por compartir no solo el espacio de trabajo, sino también el aprendizaje, las dudas, los logros y los momentos difíciles. Gracias por cada conversación, cada consejo y cada risa en medio de los experimentos.

A mis familiares y amigos, quienes con su compañía y palabras de aliento hicieron más llevadero este proceso. Su apoyo ha sido invaluable. Finalmente, agradezco a todas aquellas personas que, de una forma u otra, contribuyeron a la realización de esta tesis. Su ayuda y presencia han sido esenciales para llegar hasta aquí.

¡Gracias!

ÍNDICE

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTO	2
ÍNDICE.....	3
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	5
Abreviaturas.....	6
Resumen	9
Palabras claves	10
Abstract.....	11
Keywords	11
Capítulo 1	13
1.1 Planteamiento del Problema	14
1.2 Justificación	15
1.3 Objetivos.....	16
1.3.1 Objetivo general.....	16
1.3.2 Objetivos específicos	17
1.4 Hipótesis	17
Capítulo 2	18
2.1 Antecedentes	19
2.2 Introducción al cáncer y al melanoma	20
2.2.1 El cáncer: una enfermedad de impacto global	20
2.2.2 Melanoma: características y relevancia clínica	22
2.2.3 Melanoma B16F1: un modelo de estudio en investigación oncológica ..	27
2.2.4 Procesos clave en la biología del cáncer: proliferación, inflamación y estrés oxidativo.....	31
2.3 El ácido palmítico: aspectos generales	35
2.3.1 Ácido palmítico: definición, estructura y relevancia en el consumo humano	35
2.3.2 Rol del ácido palmítico en el metabolismo humano	36
2.4 Ácido palmítico y su relación con el cáncer	39

2.4.1 Ácidos grasos y mecanismos celulares del ácido palmítico	39
2.4.2 Evidencias científicas sobre el ácido palmítico en otros tipos de cáncer.....	40
2.5 Melanoma B16F1 y su respuesta al ácido palmítico	42
2.5.1 Metabolismo del ácido palmítico en la célula tumoral	42
2.5.2 Vías de señalización activadas por metabolitos de PA	44
2.5.3 Estrés del retículo endoplasmático inducido por el ácido palmítico	44
Capítulo 3	48
3.1 Preparación del Ácido Palmítico	49
3.2 Cultivo Celular	49
3.3 Ensayo de Viabilidad	49
3.4 Ensayo de la Herida.....	50
3.5 Extracción de ARN.....	51
3.6 PCR tiempo real.....	53
3.6.1 Protocolo de PCR para generación de cDNA	53
3.6.2 PCR tiempo real	54
Capítulo 4	57
4.1 Ensayo de Viabilidad	58
4.2 Ensayo de la Herida.....	59
4.3 PCR tiempo real.....	61
Capítulo 5	63
5.1 Discusión	64
Capítulo 6	72
6.1 Conclusión	73
6.2 Recomendaciones	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1: Principales subtipos de melanoma	23
Figura 2: Melanoma B16F1	27
Figura 3: Relación entre inflamación crónica y progresión tumoral.....	33
Figura 4: Estructura química del ácido palmítico	36
Figura 5: Metabolismo y destino celular de los ácidos grasos dietarios.....	37
Figura 6: Representación esquemática de los mecanismos antitumorales del ácido palmítico.	42
Figura 7: Mecanismos de estrés celular inducidos por ácido palmítico.....	45
Figura 8: El estrés del retículo plasmático inducido por el ácido palmítico.	47
Figura 9: Ensayo de migración celular mediante herida lineal.....	51
Figura 10: Viabilidad celular en células B16F1 tratadas con ácido palmítico y etanol, evaluada mediante ensayo MTT.....	58
Figura 11: Ensayo de herida en células B16F1 tratadas con ácido palmítico.	60
Figura 12: Expresión génica de iNOS, NF- κ B y TGF β 1 en células B16F1 tratadas con ácido palmítico.	61
 Tabla 1: Casos y tasas de tumores malignos de los principales sitios anatómicos, por sexo, según año de ocurrencia, años: 2019-2023/P.	 26
Tabla 2: Preparación del RT MasterMix.....	53
Tabla 3: Condiciones del termociclador	54
Tabla 4: Lista de Primers.....	55
Tabla 5: Componentes del MasterMix	55
Tabla 6: Condiciones de la PCR en tiempo real en el termociclador.....	56

ABREVIATURAS

AG: Ácidos Grasos

AGS: Ácidos Grasos Saturados

AGMI: Ácidos Grasos
Monoinsaturados

AP: Ácido Palmítico

ATF4: Activating Transcription
Factor 4 (Factor de Transcripción
Activador 4)

ATF6: Activating Transcription
Factor 6 (Factor de Transcripción
Activador 6)

BSA: Bovine Serum Albumin
(Albúmina Sérica Bovina)

CAF: Cancer-Associated
Fibroblasts (Fibroblastos
Asociados a Cáncer)

CD36: Cluster of Differentiation 36
(Transportador de Ácidos Grasos)

CDK4: Cyclin-Dependent Kinase 4
(Cinasa dependiente de ciclina 4)

CDKN2A: Cyclin-Dependent
Kinase Inhibitor 2A (Inhibidor de la
cinasa dependiente de ciclina 2A)

CHOP: C/EBP Homologous

Protein (Proteína homóloga a
C/EBP)

CM: Quilomicrones

DGAT1/DGAT2: Diacilglicerol
Aciltransferasa 1/2

DNL: De Novo Lipogénesis

ECM / MEC: Extracellular Matrix /
Matriz Extracelular

eIF2 α : Eukaryotic Initiation Factor
2 alpha (Factor de iniciación
eucariota 2 α)

ELISA: Enzyme-Linked
Immunosorbent Assay (Ensayo por
Inmunoabsorción Ligado a
Enzimas) – aparece en referencias
comparativas

EMT: Epithelial–Mesenchymal
Transition (Transición Epitelio–
Mesénquima)

ER/RE: Endoplasmic Reticulum /
Retículo Endoplasmático

FASN: Fatty Acid Synthase (Ácido
Graso Sintasa)

IL-6: Interleucina 6

iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase (Sintasa de Óxido Nítrico Inducible)

IRE1 α : Inositol-Requiring Enzyme 1 α (Enzima inductora de inositol 1 α)

JAK/STAT: Janus Kinase / Signal Transducer and Activator of Transcription (Vía de señalización JAK/STAT)

JNK: c-Jun N-terminal Kinase (Quinasa N-terminal de c-Jun)

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase (Proteína Quinasa Activada por Mitógenos)

MDSC: Myeloid-Derived Suppressor Cells (Células Supresoras Derivadas de Mieloides)

mCAF: Myfibroblasts Cancer Associated Fibroblasts (Miofibroblastos asociados a cáncer)

mTOR: Mammalian Target of Rapamycin (Diana de Rapamicina en Mamíferos)

NF- κ B: Nuclear Factor kappa B

(Factor Nuclear kappa B)

nSMasa: Neutral Sphingomyelinase (Esfingomielinasa neutra)

Nrf2: Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (Factor nuclear respiratorio 2)

PBS: Phosphate Buffered Saline (Solución Salina Amortiguada con Fosfatos)

PCR: Polymerase Chain Reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

PKC: Protein Kinase C (Proteína Quinasa C)

PL: Fosfolípidos de membrana

RNS: Reactive Nitrogen Species (Especies Reactivas de Nitrógeno)

ROS: Reactive Oxygen Species (Especies Reactivas de Oxígeno)

RT-qPCR: Reverse Transcription Quantitative PCR (PCR cuantitativa con retrotranscripción)

SCD1: Stearoyl-CoA Desaturase 1 (Estearoil-CoA Desaturasa 1)

SPT: Serine Palmitoyl Transferase

(Serina Palmitoil Transferasa)

TAG: Triacilglicéridos

TGF- β 1: Transforming Growth Factor beta 1 (Factor de Crecimiento Transformante beta 1)

TLR2/TLR4: Toll-Like Receptor 2/4 (Receptor tipo Toll 2/4)

TNF- α : Tumor Necrosis Factor

alpha (Factor de Necrosis Tumoral α)

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular)

XBP1/XBP1s: X-box Binding Protein 1 (Proteína de Unión a la Caja X)

RESUMEN

El ácido palmítico (AP) es el ácido graso saturado más abundante en la dieta moderna, por lo cual ha sido vinculado con procesos inflamatorios, progresión tumoral y estrés oxidativo. El presente trabajo evaluó los efectos del ácido palmítico en cultivos de melanoma murino (B16F1), con el fin de poder analizar su impacto en la viabilidad, migración celular y expresión génica, de genes relacionados a procesos de inflamación/redox. Se realizaron ensayos de viabilidad (MTT) con concentraciones de 250, 500 y 1000 μM de AP; ensayos de migración (herida) con 75 y 250 μM ; y análisis de expresión génica mediante RT-qPCR para iNOS, NF- κB y TGF- β 1 a 12 y 24 horas de exposición.

Los resultados mostraron que el ácido palmítico no redujo la viabilidad celular, sino que tuvo una tendencia a favorecer la proliferación celular no significativa. En contraste a concentraciones elevadas de 250 μM se pudo observó una disminución significativa en la migración, reflejando un retraso en el cierre de la herida. En cuanto a la expresión de genes, se identificó un aumento temprano de iNOS, para luego ver una disminución a las 24 horas de exposición, hubo ausencia en cambios significativos en NF- κB y, por último, un incremento en TGF- β 1 tras estar expuesto a 24 horas con 250 μM de ácido palmítico.

En conclusión, los efectos del ácido palmítico en las células B16F1 va a depender de la concentración y de tiempo de exposición. Aunque no se vio un efecto significativo en la viabilidad, se pudo evidenciar una modulación en la migración y en la expresión génica, lo que respalda el rol del AP en la dinámica del

microambiente tumoral.

Palabras claves

Ácido palmítico, Estrés oxidativo, Inflamación, Melanoma murino, Migración celular, Viabilidad celular.

ABSTRACT

Palmitic acid (PA) is the most abundant saturated fatty acid in the modern diet, which is why it has been linked to inflammatory processes, tumor progression, and oxidative stress. This study evaluated the effects of palmitic acid on murine melanoma (B16F1) cultures in order to analyze its impact on viability, cell migration, and gene expression of genes related to inflammation/redox processes. Viability assays (MTT) were performed with concentrations of 250, 500, and 1000 μ M PA; migration assays (wound) with 75 and 250 μ M; and gene expression analysis by RT-qPCR for iNOS, NF- κ B, and TGF- β 1 at 12 and 24 hours of exposure. The results showed that palmitic acid did not reduce cell viability but tended to promote non-significant cell proliferation. In contrast, at high concentrations of 250 μ M, a significant decrease in migration was observed, reflecting a delay in wound closure. In terms of gene expression, an early increase in iNOS was identified, followed by a decrease after 24 hours of exposure. There were no significant changes in NF- κ B and, finally, an increase in TGF- β 1 after 24 hours of exposure to 250 μ M palmitic acid.

In conclusion, the effects of palmitic acid on B16F1 cells depend on the concentration and duration of exposure. Although no significant effect on viability was observed, a modulation in migration and gene expression was evident, supporting the role of PA in the dynamics of the tumor microenvironment.

Keywords

Palmitic acid, Oxidative stress, Inflammation, Murine melanoma, Cell migration, Cell

viability.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento del Problema

El ácido palmítico (AP) es el ácido graso saturado, con la particularidad de ser el más común en la dieta de los países industrializados, incluyendo incluso aquellos países en los que la dieta mediterránea debería ser la prevalente. El aceite de palma, con un contenido aproximado del 44% de ácido palmítico, es generalmente la mayor fuente de este ácido en nuestra dieta. Sin embargo, también se encuentra en cantidades significativas en otros aceites y grasas: alrededor del 28% en la mantequilla, el 27% en la manteca de cerdo y el sebo de vacuno, el 13% en el aceite de maíz y el 10% en el aceite de oliva (Mancini et al., 2015) (Gunstone, 1996).

En las últimas décadas, se ha observado un aumento significativo en el consumo de productos industrializados que contienen aceites vegetales, en particular aceite de palma. Esta tendencia llevó a una preocupación justificada sobre cómo afectaría nuestra salud. Un aumento en la proporción de ácido palmítico en las células del cuerpo promueve los procesos inflamatorios. Cabe destacar que todo esto propaga un ambiente tumoral más agresivo y se cree que está involucrado en la patogénesis de la obesidad, la resistencia a la insulina, la hipertensión arterial sistémica y el cáncer. (Fatima et al., 2019).

Muchos estudios *in vivo* han demostrado que una dieta rica en grasas saturadas favorece la tumorigénesis, promoviendo procesos inflamatorios y así afectando al metabolismo celular. Investigaciones preliminares han demostrado que los ácidos grasos saturados pueden inducir cambios en la señalización celular que promueve lo que es la proliferación y supervivencia de estas células cancerígenas, también

hay estudios donde la ingesta elevada de grasas saturadas (pero no de grasas totales, monoinsaturadas o poliinsaturadas) se asoció con un mayor riesgo de cáncer de mama (Sellem et al., 2018). Sin embargo, los efectos específicos del ácido palmítico en la progresión de tumores cancerosos, en las líneas de melanoma (B16F1), no están completamente estudiados hasta la fecha. Por lo tanto, es necesario realizar más investigaciones para así poder comprender mejor el funcionamiento del ácido palmítico en el desarrollo tumoral.

1.2 Justificación

El cáncer representa una de las primeras causas de muerte a nivel mundial, y en Panamá es la principal causa de muerte con un incremento progresivo en la incidencia de melanoma, por lo cual lo convierte en un significativo problema de salud en el país. La mayoría de los cánceres se relacionan con estilos de vida no saludables (nutrición, ambiente, etc...), por esto esta situación plantea la necesidad de comprender mejor los factores ambientales y nutricionales que pueden influir en la progresión de este tipo de cáncer.

El aumento en la prevalencia de enfermedades crónicas como la obesidad, la diabetes tipo 2 y distintos tipos de cáncer ha sido asociada con cambios en los patrones alimenticios. Dentro de estos, el Ácido Palmítico que es el ácido graso saturado más abundante en la dieta actual, presente en aceites vegetales como el de palma y en productos ultraprocesados (Annevelink et al., 2023), ha sido investigado por su papel potencial en la progresión tumoral y la formación de metástasis ya que este ácido graso puede estar jugando un papel muy importante

en la inflamación y en la memoria inmunológica innata, lo que conllevaría a tener implicaciones tanto protectoras como perjudiciales frente a infecciones y enfermedades inflamatorias (Seufert & Napier, 2023). Sin embargo, aunque se ha avanzado en la investigación para determinar cuál es el efecto del ácido palmítico en el melanoma y en el sistema inmune, todavía persisten vacíos importantes en el conocimiento.

Teniendo en cuenta que el efecto del AP depende de la concentración, tipo celular y contexto metabólico, el efecto de este es variable (Carta et al., 2017). Por otro lado, algunos metaanálisis cuestionan la relación directa entre las enfermedades y el consumo de grasa saturadas, y proponen que el verdadero impacto del ácido palmítico depende de donde provenga, en que cantidad se consume o el equilibrio con otras grasas (Astrup et al., 2020). Por esto es por lo que existe la necesidad de comprender de forma más profunda y contextualizada el rol de ácido palmítico, no solo como nutriente, sino como modulador bioquímico e inmunológico.

En este sentido, este trabajo se justifica con la necesidad de generar evidencia experimental sobre los efectos que tiene el ácido palmítico en células B16F1, evaluando así su viabilidad, migración celular y expresión de genes asociados a procesos inflamatorios/estrés oxidativo. Los resultados ayudarán a ampliar la comprensión de la interacción de factores dietarios con el cáncer.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar los efectos del ácido palmítico en procesos inflamatorio/redox en cultivos

celulares de melanoma murino.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la viabilidad de las células tumoral B16F1 frente a la exposición a diferentes concentraciones de ácido palmítico.
- Analizar si el ácido palmítico modifica la capacidad de migración celular en la línea B16F1.
- Evaluar la expresión de genes relacionados con inflamación y estrés oxidativo (NF- κ B, TGF- β 1 e iNOS) en células B16F1 expuestas a diferentes concentraciones de ácido palmítico.

1.4 Hipótesis

H_0

La exposición a diferentes concentraciones de ácido palmítico no produce cambios significativos en la viabilidad, migración ni en la expresión de genes relacionados con inflamación y estrés oxidativo (NF- κ B, TGF- β 1 e iNOS) en células de melanoma murino B16F1.

H_1

La exposición a diferentes concentraciones de ácido palmítico modifica significativamente la viabilidad, la migración y la expresión de genes relacionados con inflamación y estrés oxidativo (NF- κ B, TGF- β 1 e iNOS) en células de melanoma murino B16F1.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Según Pascual et al., (2021), en su publicación del trabajo sobre el ácido palmítico promueve la metástasis y hace más agresivas a las células tumorales, describen como el aceite de palma es un aceite vegetal rico en grasas saturadas, fundamentalmente ácido palmítico, empleado frecuentemente en alimentación, donde identifican que la metástasis, que se presenta cuando las células cancerosas se desprenden del tumor primario y forman uno nuevo en otros órganos o tejidos, es la causante del 90 % de las muertes por cáncer, esto indica cómo una dieta rica en ácido palmítico, el componente principal del aceite de palma altera el genoma del cáncer y aumenta la probabilidad de que se extienda.

En este trabajo, células de tumores orales y melanomas procedentes de pacientes han sido expuestas a una dieta rica en dicho ácido y se ha observado que tienen mayor capacidad de hacer metástasis en ratones, incluso cuando esta dieta se suministra durante un periodo muy breve de tiempo, esto se debe a que las modificaciones que genera el ácido graso sobre el genoma de las células metastáticas son permanentes. Los autores, creen que estos resultados se pueden extrapolar a las personas enfermas, donde observaron con datos de expresión génica los tipos de cáncer en cientos de pacientes.

Los investigadores identificaron una serie de marcadores de la exposición al ácido palmítico en las células tumorales, donde un cambio hace que estas mantengan una mayor capacidad metastática, incluso meses después de estar expuestas al ácido graso y que podría estar relacionado con una mayor capacidad de estas

células tumorales para invadirse. Los resultados indican que una dieta rica en aceite de palma sería perjudicial para el desarrollo del cáncer, incluso si tiene lugar en una fase muy inicial de la enfermedad en la que el tumor primario quizás no ha sido detectado aún.

Lo observado indica que esta capacidad expansiva y colonizadora se adquiere debido al consumo de ácido palmítico (predominante en el aceite de palma), pero no ocurre así con el ácido oleico (muy abundante en el aceite de oliva) o el ácido linoleico (característico de la linaza), apuntando a que la agresividad no solo tiene que ver con el metabolismo de las grasas, sino también las modificaciones epigenéticas que se producen en las células tumorales cuando ingieren ácido palmítico.

Para que una célula tumoral pueda establecer una metástasis, primero debe desprenderse del tumor de origen, introducirse en los vasos sanguíneos o linfáticos, alcanzar otro órgano vital y sobrevivir y crecer allí, una dieta rica en ácido palmítico permite a las células tumorales crear una red neuronal alrededor del tumor, donde las células tumorales más metastáticas adquieren capacidad para llamar al sistema nervioso y la red neuronal que se forma alrededor del tumor generando un entorno regenerativo, que las células utilizan en su propio beneficio, para crecer y expandirse.

2.2 Introducción al cáncer y al melanoma

2.2.1 El cáncer: una enfermedad de impacto global

El cáncer es la principal causa de muerte en todo el mundo. Según la Organización

Mundial de la Salud (OMS), en 2020 se atribuyeron a esta enfermedad casi 10 millones de defunciones. El número estimado de personas que estaban vivas a los 5 años siguientes a un diagnóstico de cáncer era de 53,5 millones. Alrededor de 1 de cada 5 personas desarrollará cáncer a lo largo de su vida; aproximadamente 1 de cada 9 hombres y 1 de cada 12 mujeres mueren a causa de la enfermedad. (*Cancer Today*, n.d.) (Organización Panamericana de la Salud [OPS/OMS], 2024). Se anticipa que en 2040 el número de casos nuevos de cáncer por año aumentará a 29,9 millones y el número de muertes relacionadas con el cáncer aumentará a 15,3 millones (World Health Organization: WHO, 2025).

En Panamá, el 17% de las muertes son ocasionadas por el cáncer, lo que convierte a esta enfermedad en la primera causa de muerte y en un significativo problema de salud en el país. En nuestro país se registran 14 casos diarios de cáncer, mientras que unas 7 mueren por causas relacionadas con algún tipo de cáncer. Cifras del Instituto Oncológico Nacional (ION) indican que en Panamá se atienden entre 14 mil y 16 mil pacientes con cáncer por año, y se realizan más de 3 mil cirugías relacionadas con esta enfermedad (Noticias Caja de Seguro Social, 2024). En Panamá, se estima que alrededor del 40% de los cánceres se relacionan con estilos de vida no saludables, factores nutricionales, ambientales y de riesgo modificables, como el consumo y la exposición al humo del tabaco, la obesidad, el consumo de alcohol, la exposición a sustancias tóxicas y a agentes infecciosos (Deygarcia, 2024).

El cáncer es un conjunto de enfermedades el cual se produce por el crecimiento descontrolado de las células, las cuales pueden invadir otros tejidos u órganos, en donde encontraran un ambiente apropiado para continuar su crecimiento originando una metástasis. El cáncer puede originarse prácticamente en cualquier parte del cuerpo humano, que está formado por billones de células. Las células de nuestro cuerpo se dividen constantemente para renovar los tejidos del cuerpo, en condiciones normales esto ocurre siguiendo un equilibrio entre células que se multiplican y células que mueren para dar lugar a otras. Sin embargo, alteraciones en estos mecanismos pueden dar lugar a una proliferación celular descontrolada, ya que los genes que regulan la proliferación suelen sufrir mutaciones, perdiendo el control sobre ellas mismas y empiezan a dividirse sin parar permitiendo la supervivencia de células anómalas que deberían haber sido eliminadas (National Cancer Institute, 2021) (Mitrus et al., 2012).

2.2.2 Melanoma: características y relevancia clínica

El melanoma es un tipo de cáncer de piel que se origina cuando los melanocitos, células dendríticas originadas en la cresta neural y causales de la síntesis de melanina (Jm & M, 2004). El melanoma es una neoplasia conocida por ser altamente invasiva con un elevado potencial metastásico, lo que lo hace particularmente agresivo y peligroso si no se detecta a tiempo y se trata a etapas tempranas. Se ha clasificado en subtipos según el tejido del que surge el tumor primario. Los principales subtipos son el melanoma cutáneo (MC), que surge en la piel no glabra; el melanoma acral (MA), una forma distinta que se origina en la piel glabra de las palmas de las manos, las plantas de los pies y los lechos ungueales;

el melanoma mucoso (MM), el subtipo más raro, que surge de los melanocitos en el revestimiento mucoso de los tejidos internos; y el melanoma uveal (MU) que se desarrolla a partir de los melanocitos en el tracto uveal del ojo (Figura 1), cada uno con perfiles genómicos y pronósticos distintos, influenciados por mutaciones en genes como BRAF, NRAS, c-KIT y GNAQ/GNA11 (Rabbie et al., 2018) (Teixido et al., 2021).

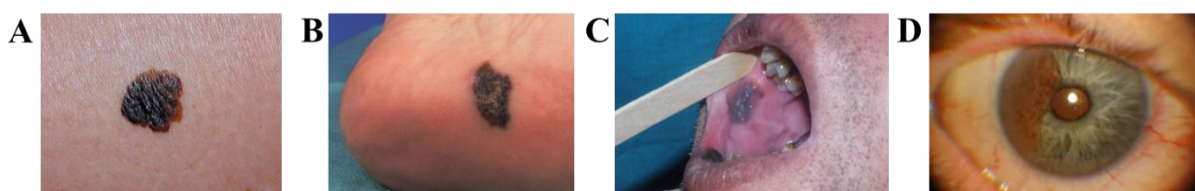


Figura 1: Principales subtipos de melanoma. **A.** El melanoma cutáneo (MC) (Jm & M, 2004b); **B.** El melanoma acral (MA) (Farías, 2023); **C.** El melanoma mucoso (MM) (Ramos, 2016); **D.** El melanoma uveal (MU) (Universidad de Virginia [UVA], 2022).

En condiciones fisiológicas, los melanocitos y otras células de la piel se multiplican controlada y ordenadamente. Mientras que se generan nuevas células, las células viejas van a ser empujadas a la superficie cutánea, donde finalmente morirán y se van a desprender. Sin embargo, en el melanoma, suceden alteraciones en el ADN las cuales van a inducir una proliferación desregulada, lo que resulta en un crecimiento celular incontrolado. Luego estas células cancerosas se acumulan, se adhieren entre sí y forman tumores (moffitt cancer center, 2023).

El melanoma se desarrolla en áreas de la piel expuestas a la radiación solar, como lo son los brazos, espalda, rostro. Sin embargo, hay cosas en los que puede manifestarse en otras localizaciones que no son frecuentes como los ojos, incluyendo en las mucosas de la cavidad nasal y la faringe (Sample & He, 2017).

Algunos factores propios del paciente pueden aumentar el riesgo de desarrollar melanoma, como el número de nevos (lunares), tanto congénitos como adquiridos, así como la susceptibilidad genética y los antecedentes familiares de melanoma, son factores de riesgo relevantes para el desarrollo de melanoma. El 26 % de los melanomas cutáneos se originan a partir de un nevo (Bevona, 2003). El receptor de melanocortina 1 (MC1R) es uno de los genes que representan más relevancia para la susceptibilidad al melanoma (Dessinioti et al., 2011).

Aunque el melanoma hereditario verdadero debido a una mutación genética transmitida es menos común, se ha observado que aproximadamente entre el 5 y 15% de pacientes tienen antecedentes familiares. Rossi et al. (2019) dicen que las mutaciones de la línea germinal en CDKN2A y, menos comunes, las mutaciones en CDK4 son las anomalías genéticas más frecuentes identificadas en estas familias.

El melanoma sigue siendo un importante problema de salud pública a nivel mundial y se caracteriza por una alta incidencia en poblaciones de piel clara de ascendencia europea y una mortalidad desproporcionada en los países en transición. Se estima que su incidencia ha aumentado rápidamente en las últimas décadas (Garbe et al., 2021), especialmente en países desarrollados. Aunque solo represente el 1.7% de los diagnósticos mundial de cáncer su impacto en salud pública es significativo debido a su alta mortalidad.

Lo reportado por Arnold et al. (2022) dice que, en 2020, se estimó que 325 000 personas (174 000 hombres y 151 000 mujeres) fueron diagnosticadas con melanoma en todo el mundo, y aproximadamente 57 000 personas (32 000 hombres

y 25 000 mujeres) fallecieron a causa de la enfermedad. Las tasas más altas de incidencia se observan en Australia/Nueva Zelanda, Europa Occidental y América del Norte, mientras que en África y Asia el melanoma sigue siendo raro.

En Panamá, según cifras del Registro Nacional del Cáncer del MINSA, se ha visto un incremento en la tasa de incidencia del melanoma, llegando a ser el doble en tan solo dos años, siendo para el 2014 de 1.2/100 mil hab. y al 2016 de 2.3/100 mil hab. en ambos sexos (Ministerio de Salud [REGISTRO NACIONAL DEL CÁNCER DE PANAMÁ], 2018). El Instituto Oncológico Nacional (ION) es el hospital de referencia para pacientes diagnosticados con cáncer en la República de Panamá y según su Registro Institucional del Cáncer, para el año 2012, se atendieron 31 pacientes con melanoma y para el año 2017, 49 pacientes (incremento del 36.7%) (INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL, n.d.).

Cie-O-3	Sitio Anatómico	Año de ocurrencia	Total		Sexo			
					Hombre		Mujer	
			Nº	Tasa (1)	Nº	Tasa (2)	Nº	Tasa (3)
C16	Estómago/1	2019	459	10.9	299	14.13	160	7.61
		2020	413	9.7	231	10.77	182	8.53
		2021	458	10.6	274	12.60	184	8.50
		2022 (P)	705	16.0	428	19.42	277	12.62
		2023(P)	701	15.7	438	19.62	263	11.82
C18	Colon/1	2019	446	10.6	211	9.97	235	11.17
		2020	415	9.7	211	9.84	204	9.56
		2021	473	10.9	230	10.58	243	11.23
		2022 (P)	784	17.8	370	16.79	414	18.86
		2023(P)	783	17.6	424	18.99	359	16.13
C34	Bronquios y pulmón/1	2019	343	8.1	205	9.69	138	6.56
		2020	343	8.0	212	9.88	131	6.14
		2021	292	6.7	182	8.37	110	5.08
		2022 (P)	482	11.0	288	13.07	194	8.84
		2023(P)	543	12.2	320	14.33	223	10.02
C44	Piel/1	2019	884	21.0	413	19.52	471	22.39
		2020	446	10.4	247	11.52	199	7.45
		2021	614	14.2	316	14.53	298	13.77
		2022 (P)	657	14.9	345	15.66	312	14.21
		2023(P)	669	15.0	369	16.53	300	13.48
C50	Mama femenina/2	2019	1154	73.8	..	..	1154	73.76
		2020	929	58.3	..	..	929	58.27
		2021	1110	68.3	..	..	1110	68.30
		2022 (P)	1589	96.0	..	..	1589	96.03
		2023(P)	1549	91.9	..	..	1,549	91.94
C53	Cuello de útero/2	2019	529	33.8	..	..	529	33.80
		2020	427	26.8	..	..	427	26.78
		2021	862	52.1	..	..	862	52.09
		2022 (P)	862	52.1	..	..	862	52.09
		2023(P)	896	53.2	..	..	896	53.18
C61	Próstata/2	2019	932	60.0	932	60.00	..	..
		2020	625	39.5	625	39.51	..	..
		2021	900	55.9	900	55.88	..	..
		2022 (P)	1115	68.0	1115	68.01	..	..
		2023(P)	1184	71.0	1184	70.98	..	..

(P) Datos preliminares, en procesos de depuración

(1) Tasa calculada en base a la estimación de la población total por 100,000 habitantes, al 1° de julio del año respectivo; incluidos los melanoma maligno de piel (C44 Piel)

(2) Tasas Específicas: calculada en base a la población mayor de 15 años, según sexo, por 100,000 habitantes, al 1° de julio del año respectivo

Tabla 1: Casos y tasas de tumores malignos de los principales sitios anatómicos, por sexo, según año de ocurrencia, años: 2019-2023/P. (Registro Nacional Del Cáncer | Ministerio De Salud De La República De Panamá, n.d.)

Los tumores malignos de piel (C44) representan una de las neoplasias con mayor incremento en la población panameña en los últimos años. Según datos oficiales del Registro Nacional de Cáncer, durante el periodo 2019–2023 se observa una tendencia ascendente en el número de casos reportados (Tabla 1). En 2019 se registraron 884 casos (tasa de 19.7 por 100,000 habitantes), cifra que disminuyó a 449 casos en 2020. Pero en 2021 se reportó un aumento de casos sostenido con 614 casos (tasa 14.2) (Ministerio de Salud [REGISTRO NACIONAL DEL CÁNCER DE PANAMÁ], 2025).

2.2.3 Melanoma B16F1: un modelo de estudio en investigación oncológica

B16-F1 es una línea celular murina de melanoma (Figura 2), derivada del nódulo de melanoma pulmonar del primer pase seriado de la línea celular parental B16-F0 en ratones C57BL/6, presenta una morfología que es una mezcla de células fusiformes y células de aspecto epitelial. (Fidler, 1975) (ATCC, 2023). Estas células están dentro del rango de 8 a 13 μm de diámetro.

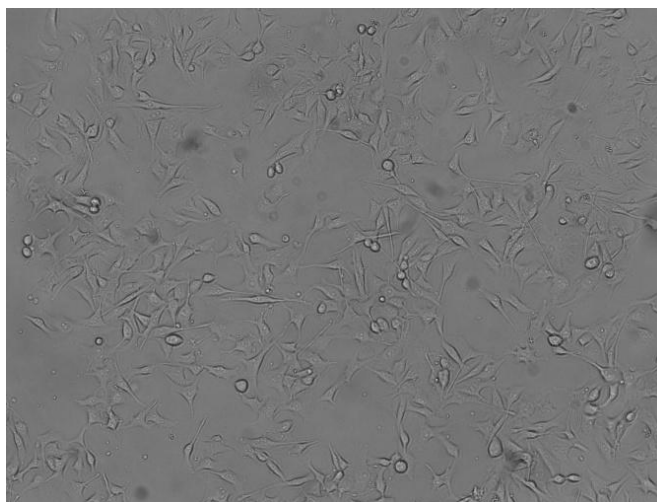


Figura 2: Melanoma B16F1. *Fuente: elaboración propia.*

Origen y desarrollo de la línea B16

La línea celular murina B16 es ampliamente utilizada en las investigaciones oncológicas del melanoma. Se caracteriza por su potencial metastásico, morfología adherente y su uso como modelo en los estudios experimentales sobre la progresión tumoral y la metástasis (Fidler, 1975; Raz et al., 1980). Existen tres variantes celulares de la línea parental B16, que son: B16F1, B16F10, y B16FLr. Cada una tienen distintas propiedades y se selecciona la variante de acuerdo con el interés

del estudio. En el estudio de Raz, A. et al., (1980), ahondaron en las propiedades de las variantes celulares de la línea parental B16, para ello utilizaron un método de marcaje radiactivo denominado sialoglucoproteína (78 KDa). El cual consiste en marcar una glucoproteína que se encuentra en la superficie celular de ciertas células del sistema inmune, células epiteliales o en la matriz extracelular y actúan como moléculas de adhesión, receptoras de señalización o componentes estructurales (Raz et al., 1980). El marcaje con la sialoglucoproteína (78 KDa), que entre menos se marquen las glucoproteínas más altas es la capacidad de las líneas celulares para formar colonias tumorales; es decir entre menos se marquen las glucoproteínas, más metastásica es la célula. Para estudiar la adherencia celular, realizaron ensayos de unión a lectinas (que son las lectinas), para ello utilizaron concavalina a las tres líneas de la variante celular B16 (Raz et al., 1980).

Cómo se adquieren las células tumorales

El proceso de metástasis parte de un tumor primario, ya que se libera, y luego ocurre la dimerización a diferentes lugares, a través de la microcirculación de órganos. La metástasis también depende de las propiedades de las células tumorales y su sistema (Fidler, 1975).

Los cambios en las propiedades de la superficie celular pueden ir acompañado de la transformación neoplásica. La mayoría de las características transforma la membrana celular. Se extraen las líneas celulares mediante varios métodos, uno de ellos es mediante el aislamiento y propagación de líneas variantes a partir de metástasis (Fidler, 1975). Puede ser en sistemas murinos tan diversos como el

melanoma (Fidler, 1975).

El segundo método es por aislamiento de variantes tumorales consiste selección in vitro de la célula por propiedades específicas como el desprendimiento en monocapa (Hart et al., 1981), y resistencia a la lisis por linfocitos singénicos (Poste et al., 1979), y la resistencia a la toxicidad mediada por lectina (Raz et al., 1980). Luego se determina si la selección afecta el comportamiento metastásico in vivo. Un tercer enfoque más reciente, consiste en establecer in vitro un gran número de líneas a partir de tumores parentales, como el melanoma B16 (Hill et al., 1980).

Los resultados comparativos entre las sublíneas de melanoma murino B16 demuestran claras diferencias en su comportamiento metastásico. En particular la sublínea B16F1, la cual mostro una capacidad metastásica significativa menor en pulmón (Gehlsen & Hendrix, 1986). Mientras que la sublínea B16-F10 presenta una colonización pulmonar hasta diez veces superior, constituyéndose en un modelo de melanoma altamente metastásico (Raz et al., 1980). Sin embargo, la variante B16-F10Lr se caracteriza por una colonización pulmonar baja, y particularidades en los receptores de superficie (Raz et al., 1980).

En cuanto a la adherencia, se ha descrito que B16-F10 y B16F10Lr presentan menor adherencia en comparación con la sublínea B16-F1. No obstante, los autores destacan que el comportamiento metastásico de estas células de melanoma B16, no se correlaciona necesariamente con modificaciones cualitativas en la membrana, ya que no se detectaron diferencias marcadas en la fluidez lipídica entre sublíneas (Raz et al., 1980).

La línea B16-F1, además de su baja colonización pulmonar, posee la capacidad de

generar metástasis extrapulmonares en órganos como: hígado, ganglios linfáticos, ovarios, y glándulas suprarrenales (Fidler, 1975).

Estas características la convierten en un modelo adecuado para estudios orientados a evaluar las respuestas celulares frente a compuestos, en lugar de reproducir un fenotipo altamente metastásico. En cambio, la sublínea B16-F10 se emplea más como modelo de estudio al melanoma agresivo, por sus capacidades metastásicas. Mientras, que la sublínea B16F10Lr se emplea para evaluar receptores específicos. En este contexto, el empleo de la línea B16-F1 resulta más apropiado para estudiar el efecto del ácido palmítico en un escenario de baja agresividad tumoral, y evitando la interferencia de procesos metastásicos que dificulten la interpretación de los resultados (Elvin & Evans, 1984).

Morfología y comportamiento celular (fusiforme/epiteliode, adherencia, proliferación)

La línea celular B16F1 es ampliamente usada en el modelo de estudio experimental oncológico del melanoma murino. La morfología de la línea celular tiene una distribución típica fusiforme (Elvin & Evans, 1984).

La morfología de las células B16F1 suelen ser fusiformes o epiteliode es una forma característica de las células melanoma. De las tres líneas de B16, la línea celular de B16F1 tiene una mayor adhesividad homotópica es decir hay más adhesión celular a célula dentro del mismo tipo, en contraste con las otras sublíneas como la B16F10 que es más metastásica (Elvin & Evans, 1984). En cuanto al tipo de comportamiento de adhesión que tienen las B16F1 una mayor adhesión a las

células pulmonares, pero ahí muestran menor adhesión heterotópica que las B16F10 (Elvin & Evans, 1984). En cuanto a la línea subcelular B16F1 proliferan de una forma robusta en cultivo e in vivo, no son metastásicas, y se suelen utilizar para estudiar la generación de variantes metastásicas y la progresión tumoral (Hill et al., 1980). Esto se debe a sus características heterogeneidad dinámica del cáncer (Hill et al., 1980).

Sus propiedades adhesivas lo hacen útil para estudiar los mecanismos de desprendimiento celular, invasión y colonización específica de órganos (Raz et al., 1980; Elvin & Evans, 1984). En cuanto a su empleo en estudios sobre inmunoterapia y prueba de fármacos, la línea B16F1 y las líneas B16 se consideran estándares de referencia para los estudios preclínicos de inmunoterapia del melanoma y respuestas a fármacos, a pesar de algunas limitaciones en la similitud genética con el melanoma humano (Klinke II et al., 2025).

2.2.4 Procesos clave en la biología del cáncer: proliferación, inflamación y estrés oxidativo

Las mutaciones de los genes responsables de la carcinogénesis pueden originarse por diversos factores, por errores que ocurren naturalmente al momento de replicar nuestro ADN, por factores externos como el fumar, la exposición a rayos ultravioletas del sol, sustancias químicas, o procesos biológicos en el envejecimiento celular. La carcinogénesis es el proceso por el cual las células normales se transforman en cancerosas. Se sabe que en la carcinogénesis están implicados dos tipos principales de genes, cuyas alteraciones genéticas contribuyen

al desarrollo del cáncer, estos genes están relacionados con el crecimiento y proliferación de las células normales.

Los Protooncogenes son genes que se encargan de activar la proliferación celular cuando las células reciben estas señales, en el cáncer estos protooncogenes mutan dando lugar a los oncogenes, que es una versión alterada y que está siempre activa la cual estimulara la división celular. Su mutación es de tipo dominante, es decir, solo es necesario que uno de los alelos sufra una mutación para que la proteína que codifica gane funcionalidad (Hanahan & Weinberg, 2000) (Weitzel et al., 2011). Los genes supresores de tumores se encargarán de frenar la división, de todos los genes supresores de tumores, el más importante es el p53 (guardián del genoma) que este actúa como un sensor de peligro cuando la célula sufre un daño, este gen detendrá la división celular para reparar este daño, en tal caso que no se pueda arreglar este va a inducir la muerte celular (Weitzel et al., 2011b).

En el cáncer estos genes mutados se manifiestan de forma recesiva y como consecuencia dejan de funcionar correctamente, haciendo que la célula cancerosa se divida por muchos daños que acumule. Aproximadamente el 50% de los cánceres implican un gen p53 defectuoso, habitualmente inactivado por una mutación puntual o por deleciones génicas (Bishop, 1991) (Harris, 1986) (Takahashi et al., 1989).

La inflamación es una respuesta fisiológica clave que implica la activación, el reclutamiento y la acción de las células de la inmunidad innata y adaptativa, para defender al huésped contra patógenos, la inflamación es igualmente importante

para la reparación, regeneración y remodelación de tejidos como para la regulación de la homeostasis tisular (Medzhitov, 2008).

Sin embargo, cuando la inflamación se mantiene de forma sostenida deja de ser una respuesta protectora y se vuelve crónica siendo un proceso perjudicial, favoreciendo un microambiente propicio para el desarrollo tumoral. Esta inflamación crónica se caracteriza por la infiltración persistente de células inmunitarias, como macrófagos y linfocitos que harán que aumente la proliferación celular, la evasión de la apoptosis, lo que conllevará a una mayor supervivencia de las células tumorales y van a promover la generación de nuevos vasos (angiogénesis) (Taniguchi & Karin, 2018).

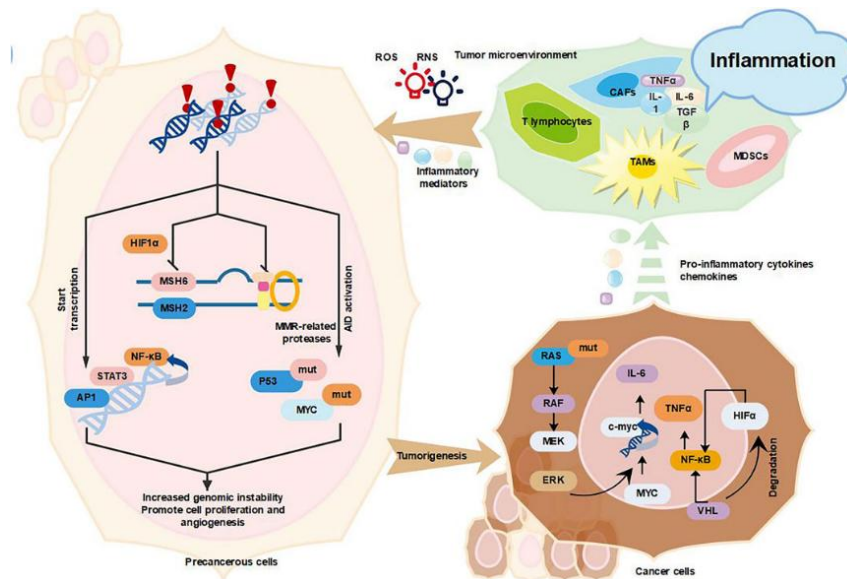


Figura 3: Relación entre inflamación crónica y progresión tumoral. (Wen et al., 2022). La inflamación sostenida reclutara distintos tipos de células inmunes AMs (macrófagos asociados a tumor), CAFs (fibroblastos asociados a cáncer), MDSCs (células supresoras derivadas de mieloides) y Linfocitos T, las cuales van a causar una liberación excesiva de factores inflamatorios ($\text{TNF-}\alpha$, IL-6, $\text{TGF-}\beta$ e IL-1 β), ROS y RNS de células inflamatorias activadas, lo cual mantendrá una inflamación activa, lo que causará daño al ADN celular, y va a promover la activación de factores de

transcripción (NF- κ B, STAT3, HIF-1 α y AP-), y causan mutaciones en los genes supresores de tumores p53, aumentando la inestabilidad genómica al suprimir la MMR. En las células ya transformadas, estas señales mantienen las vías oncogénicas activas.

En el microambiente tumoral inflamatorio (TME), las células inmunitarias infiltradas en el tejido liberan mediadores inflamatorios como: factor de necrosis tumoral (TNF), IL-6 en respuesta a señales aberrantes del tumor (Wang et al., 2019). Estos mediadores inflamatorios activan además múltiples vías de señalización fundamentales, como las cinasas Janus/transductores de señales y activadores de la transcripción (JAK/STAT) y el factor nuclear kappa B (NF- κ B), el cual desempeñan papeles críticos en la regulación transcripcional de genes vitales para las respuestas inmunes e inflamatorias, la supervivencia celular y la proliferación (Liu & Cao, 2016) (Lawrence, 2009).

En este contexto inflamatorio crónico, también se produce una liberación constante de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS), los cuales van a alterar varias vías de señalización que afectan el metabolismo celular. Mientras que los niveles de ROS aumentan, se va a observar una disminución en la regulación adecuada de los sistemas antioxidantes de la célula, lo que significa que las células tumorales ya no tienen control de sus defensas antioxidantes, y esto va acompañado de varios objetivos moleculares, incluyendo NF- κ B y Nrf2 (Morgan & Liu, 2010) (Puar et al., 2018).

Esto conllevará a que las células se vuelvan inestables genéticamente y promueve la transformación tumoral. Alto estrés oxidativo sucumbe a la célula a la apoptosis, pero las células cancerosas van a desarrollar un sistema de defensas antioxidantes

el cual evitara que el ROS se acumule, permitiéndoles sobrevivir en un entorno donde normalmente morirían (Gorrini et al., 2013). Por lo que la generación de ROS no solo contribuye a la transformación maligna de células, sino que mantiene un entorno estable para la progresión tumoral potenciando más este daño. (Figura 3)

2.3 El ácido palmítico: aspectos generales

2.3.1 Ácido palmítico: definición, estructura y relevancia en el consumo humano

El ácido palmítico, también conocido como ácido hexadecanoico (16:0, PA), es un ácido graso saturado de cadena larga con la fórmula química $C_{16}H_{32}O_2$ (Figura 4), sin ramificaciones ni dobles enlaces. Es uno de AG de los más abundantes presentes en animales, plantas y microorganismos. El nombre del ácido palmítico proviene del aceite de palma, el cual constituye uno de sus principales componentes. El PA representa el 20-30% de los ácidos grasos totales (AG) en los fosfolípidos de membrana (PL) y los triacilglicéridos adiposos (TAG) (Carta et al., 2015). El ácido palmítico presenta un punto de fusión de aproximadamente 61.8 – 63 °C, lo cual le confiere una textura sólida cuando está en temperatura ambiente, y su estabilidad a la oxidación lo hace ideal para aplicaciones industriales que requieren resistencia térmica, como la fritura o la fabricación de cosméticos. (Base de datos de HMDB, n.d.)

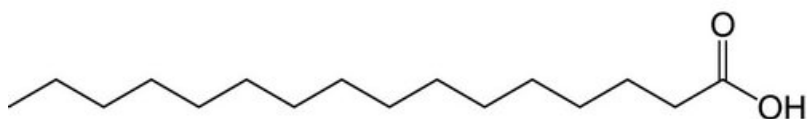


Figura 4: Estructura química del ácido palmítico. (Laboratoriumdiscounter, n.d.)

También se encuentra en productos como la carne y los productos lácteos (50-60% de las grasas totales), así como en la manteca de cacao (26 %) y el aceite de oliva (8-20%) y suele estar presente en la leche materna entre un 20-30% de las grasas totales (Innis, 2015). En la producción comercial, el ácido palmítico se extrae de aceites vegetales y grasas animales a través de un proceso conocido como hidrólisis. El ácido palmítico se considera uno de los ácidos grasos más relevantes de los que quizás no se haya percatado.

Este compuesto se destaca en el ámbito de los ácidos grasos saturados, ya que, es ampliamente utilizado en diversas industrias, y se encuentra presente en numerosos productos de uso diario. La versatilidad del ácido palmítico es asombrosa, abarcando desde su uso en la alimentación hasta su incorporación en productos cosméticos y farmacéuticos (Piantoni et al., 2013) (Visali et al., 2024). Además, su rol en procesos industriales lo convierte en un componente esencial para la fabricación de jabones, detergentes y otros productos químicos. Sin duda, el ácido palmítico es una sustancia que merece más atención y reconocimiento por su amplia gama de aplicaciones y su impacto en nuestra vida cotidiana.

2.3.2 Rol del ácido palmítico en el metabolismo humano

El ácido palmítico desempeña múltiples funciones: se destaca por hacer un papel esencial en el metabolismo energético y un componente estructural de las

membranas celulares y modulador de diversas rutas de señalización celular. En el cuerpo, el ácido palmítico puede ser sintetizado de carbohidratos y proteínas, además de esto puede sintetizarse endógenamente a través de la lipogénesis de novo (DNL) (Wilke et al., 2009), el cual ocurre en el citoplasma celular a partir de acetil-CoA, mediante la acción del complejo multienzimático ácido graso sintasa (FASN) (Vernieri et al., 2016) o se puede obtener directamente de la dieta (alimentos ricos en grasas saturadas) (Figura 5).

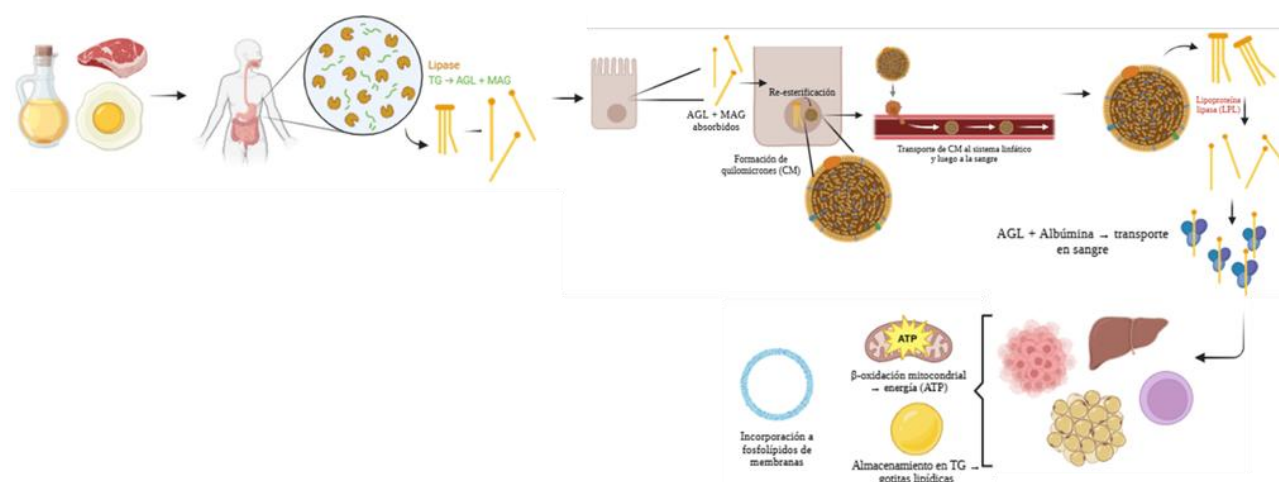


Figura 5: Metabolismo y destino celular de los ácidos grasos dietarios. *Fuente: elaboración propia.*

El ácido palmítico en estos alimentos estará en forma de triglicéridos, luego en el intestino las lipasas pancreáticas degradan los triglicéridos en ácidos grasos libres (AGL), liberando así el AP libre. Posterior a esto, estos ácidos grasos libres se digieren y luego se reensamblan en los enterocitos. Los AGL y el MAG se reesterifican en triglicéridos (TG) en el citosol, se incorporan a los quilomicrones (CM) y se transportan a un conducto linfático para su transporte al resto del cuerpo (Ockner et al., 1969) (Lin et al., 2017).

En la sangre como los AGL no pueden circular solos ya que son hidrófobos; se unen a la albumina sérica que es una proteína que transporta en sangre hacia diferentes tejidos. El AP unido a la albumina será captado por los diversos tejidos (hígado, tejido adiposo o células inmunes o tumorales), luego que el AP entre a la célula, puede ser utilizado para la B-oxidación mitocondrial (generar energía) (Houten & Wanders, 2010), Ser almacenada en forma de triglicéridos en gotitas lipídicas o s54e incorporará a las membranas de las células (Foster, 2013) (Innis et al., 1994).

Además de sus funciones estructurales y energéticas, el PA también puede inducir respuestas inflamatorias; sin embargo, lo hace activando diferentes vías de señalización. Algunas vías pueden interactuar, mientras que otras pueden ocurrir solo en células específicas. En muchos estudios, donde se han utilizado inhibidores específicos y ARNi, los resultados mostraron que TLR2 y TLR4 son activados por SFA, como PA (Lee et al., 2001) (Sindhu et al., 2016), Como consecuencia, en macrófagos y monocitos, hay una mayor expresión de citocinas como IL-1 β (Nguyen et al., 2007), TNF- α (Huang et al., 2012).

Sin embargo, en algunas células, el PA puede aumentar la expresión de citocinas proinflamatorias. Por ejemplo, CCL2/MCP-1 se secreta en adipocitos (Suganami et al., 2006) (Kanda, 2006). Por el contrario, de manera dependiente de TLR4, el PA causa el aumento de la expresión de CCL2/MCP-1 y CXCL1 en las células β pancreáticas (Korbecki & Bajdak-Rusinek, 2019) (Eguchi et al., 2012).

Por consiguiente, el PA favorece la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), el estrés del retículo endoplasmático y la activación de rutas como mTOR y

PI3K, que están implicadas en la regulación del crecimiento y la supervivencia celular (Kazemi et al., 2005) (Ventura et al., 2005). Estos efectos no solo tienen implicaciones metabólicas, sino también podrían influir en los procesos patológicos como lo es la progresión tumoral.

2.4 Ácido palmítico y su relación con el cáncer

2.4.1 Ácidos grasos y mecanismos celulares del ácido palmítico

Los ácidos grasos (AG) son los componentes básicos de los compuestos lipídicos más grandes y, sirven como sustratos para moléculas bioactivas. Los AG representan alrededor del 30% de la ingesta total de energía de los seres humanos. Estos sustratos lipídicos pueden almacenarse en cantidades excesivas en el tejido adiposo, especialmente cuando aumenta la ingesta dietética de grasas y energía, lo que da lugar a la obesidad (Lichtenstein, 2023). Además, es un componente esencial de las membranas celulares, estos también funcionan como moléculas de transducción de señales en una variedad de fenómenos biológicos (Tokuyama & Nakamoto, 2014).

Ciertos mecanismos explicados en el punto 2.5 vinculan al ácido palmítico (AP) con fenotipos proinflamatorios. Ya que, se relacionan con la acumulación de metabolitos sintetizados a partir del AP, que activan diversos marcadores moleculares que favorecen la proliferación. Como la activación de vías inflamatorias (vías IRE1 α /XBP-1s y PERK/ATF4/CHOP), en el retículo endoplasmático (RE) debido al exceso de AP en la célula a (Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019)). Dichas respuestas inflamatorias promueven un microambiente inflamatorio, activando la

proliferación, resistencia a la apoptosis y/o la plasticidad celular. En conjunto estos mecanismos explican cómo el exceso de ácido palmítico facilita el crecimiento y adaptación tumoral en la célula.

2.4.2 Evidencias científicas sobre el ácido palmítico en otros tipos de cáncer

Los efectos del ácido palmítico se han registrados en diversos estudios experimentales. Se ha escrito como en ciertas células promueve procesos tumorales y en otras puede frenar la proliferación celular. El mecanismo varía según el tipo de célula estudia, el microambiente tumoral y la interacción con otros lípidos. Los cambios descritos en las investigaciones en melanoma y carcinoma oral, junto al AP en baja concentraciones y tiempo breve. Describen que la interacción está asociada a una memoria prometastásica; la cual está involucrada en modificaciones epigénéticas que facilitan la invasión y migración celular (Pascual et al., 2021).

También se han descrito como el AP incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en células epiteliales y en hepatocitos. El incremento, genera estrés en RE, lo que desencadena vías inflamatorias como NF- κ B. Lo que posteriormente conduce a una mayor producción de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) y quimiocinas (CCL2). Estos procesos inflamatorios producen la progresión tumoral (Rodríguez-Carrio et al., 2016; Korbecki & Bajdak-Rusinek, 2019).

La literatura sugiere que el ácido palmítico puede inducir la apoptosis y arresto del ciclo celular en líneas tumorales específicas. En el estudio de Yu et al., 2019 se

discute sobre cómo el AP a través de señales asociadas al estrés del RE (Kim et al., (2015)), activa la proteína p53 y sus dianas como p21, Sesn2. Dichas proteínas promueven la apoptosis. Mientras que, en el estudio de Zhu et al., 2017, se comparten datos sobre el arresto del ciclo celular en la línea celular HCT116 (cáncer de colon). Los autores demuestran como el AP aumenta la actividad de las proteínas p27 y reduce la ciclina D1. Por lo que exponen como el AP bloquea proteínas claves para la división celular (Zhu et al., 2017; Hsiao et al., 2014).

En líneas celulares de cáncer colorrectal, los hallazgos mostraron una acumulación significativa de PA en el tejido tumoral y sus niveles se correlacionaron altamente con el contenido de mCAF (miofibroblastos asociados a cáncer), con lo que también puede estar relacionada con la remodelación de la matriz extracelular (ECM), ya que se encontró que las altas concentraciones de PA aumentaron la secreción de proteínas relacionadas con la ECM por los mCAF. Además, el PA no afectó directamente a los fibroblastos normales, sino que activó la vía NF- κ B en las células tumorales para estimular la secreción de CSF1, TGF β 1 y CXCL8, lo que promovió la activación de fibroblastos normales en mCAF y exacerbó el endurecimiento de la matriz extracelular (MEC) (Deng et al., 2025).

En conjunto, la literatura revisada sustenta como el AP no actúa de forma uniforme en el cáncer. Ya que los autores citados comparten como el AP favorece procesos de inflamación, migración e invasión en algunos tumores. Mientras que en contacto con otras células induce la apoptosis y limita la proliferación.

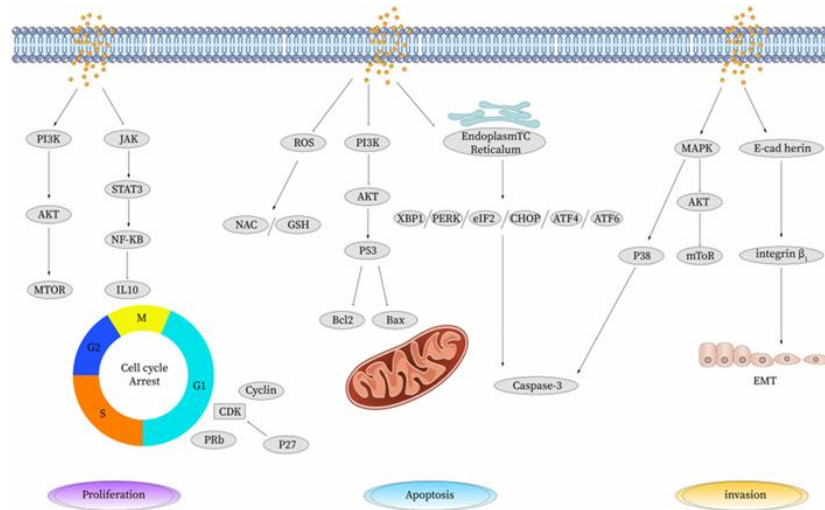


Figura 6: Representación esquemática de los mecanismos antitumorales del ácido palmítico. El ácido palmítico puede modular diferentes rutas de señalización implicadas en el desarrollo tumoral. Una de ellas es la inhibición de la expresión de ciclinas y CDK, reduciendo la proliferación celular. Asimismo, activa la proteína p53, desencadenando la apoptosis a través de la mitocondria. Al mismo tiempo, provoca estrés en el retículo endoplasmático mediante la activación de los sensores IRE1, PERK y ATF6, contribuyendo con la apoptosis mediada por la vía CHOP. Extraído de: Yu, X., et al., (2019).

Todos estos nuevos hallazgos nos demuestran la importancia de seguir investigando los diferentes ácidos grasos en los diversos modelos oncológicos, ya que su papel puede variar desde efectos protumorales hasta funciones citotóxicas y antimetastásicas dependiendo de la línea celular, ambiente tumoral. Esto abre camino a poder identificar posibles blancos terapéuticos o estrategias combinadas, que integren moduladores lipídicos con tratamientos convencionales.

2.5 Melanoma B16F1 y su respuesta al ácido palmítico

2.5.1 Metabolismo del ácido palmítico en la célula tumoral

El ácido palmítico (AP) es un ácido graso saturado abundante en la dieta, el cual se ha encontrado en el plasma de pacientes con obesidad y/o resistencia a la insulina

(Hruby, A., & Hu, F. B. (2015)). Se ha demostrado que el AP modula la expresión de genes inflamatorios (Rodríguez-Carrio, J., et al., (2016)). Es por ello por lo que el exceso de consumo de ácido palmítico provoca distintos trastornos metabólicos que inducen al aumento de la concentración de ácidos grasos en sangre. Resultando en procesos inflamatorios como la obesidad y/o la resistencia a la insulina (Khodabandehloo, H. et al., (2016)). Mediante la síntesis de novo se metaboliza el ácido palmítico, resultando en fosfolípidos saturados. Posteriormente, se metaboliza en lisofosfatidilcolina, diacilglicérido, y ceramidas (Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019)). Estos procesos metabólicos se llevan a cabo en un orden, el cual es: ácido graso $\rightarrow$ triacilglicerol (TAG) $\rightarrow$ diacilglicerol (DAG). Los ácidos grasos monoinsaturados se van acumulando en triacilglicerol de baja toxicidad.

En una dieta balanceada se lleva a cabo la síntesis de TAG a partir de DAG, evitando que se acumule en la célula. Sin embargo, el ácido palmítico en exceso obstruye la síntesis de TAG a partir de DAG. A pesar de que el mecanismo que obstaculiza el proceso se sigue estudiando. A la fecha se cuenta con dos hipótesis sobre el proceso. La primera hipótesis sugiere que hay una inhibición en las enzimas diacilglicerol aciltransferasa (DGAT 1 y DGAT2). Estas enzimas se desempeñan en el proceso de síntesis de TAG a partir de DAG y ácil-CoA. La segunda hipótesis propone que el ácido palmítico induce la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) la cual inhibe la activación de la enzima DGAT2 (Jung, S., et al., (2017)).

2.5.2 Vías de señalización activadas por metabolitos de PA

Los metabolitos del ácido palmítico están relacionados con la activación de ciertos factores inflamatorios. Como el DAG, que activa a las proteínas quinasas C (PKC), las cuales son importantes para la activación de los TLR2 y TLR4, de esta forma ocurre la activación del factor nuclear κ B (NF- κ B). La DAG es el activador de la PKC convencional (cPKC) y la PKC novedosa (nPKC) (Jung, S., et al., (2017)). También puede activar otros tipos de PKC en distinta afinidad, como PKC δ , PKC ϵ , PKC θ (este último lo activa fuertemente). Mientras que las ceramidas activan las quinasas PKC ζ (Wang, G., et al., (2009)).

2.5.3 Estrés del retículo endoplasmático inducido por el ácido palmítico

La combinación del ácido palmítico con la activación de PKC, provoca estrés del retículo endoplasmático (Kim, S. et al., (2015)). Una alta concentración de ácido palmítico conduce a la acumulación de DAG saturado y lisofosfatidil colina saturada en el retículo endoplasmático. Lo cual causa cambios destructivos en su estructura. Los cambios en la membrana del retículo endoplasmático son detectados por la enzima inositol 1 α (IRE1 α) y la quinasa del retículo endoplasmático (PERK), pero no por el factor de transcripción activador (ATF6) (Kitai, Y., et al., (2013)). Por lo que la influencia de gran cantidad de ácido palmítico conduce a la activación de los sensores del estrés de retículo endoplasmático; sin embargo, bajo la influencia de lípidos saturados no se forma un gran cúmulo con IRE1 α , sino una dimerización de este sensor. IRE1 α es una quinasa y endonucleasa que cataliza la escisión de un

intrón del mRNA de la proteína de unión a la caja X (XBP-1), para formar el XBP-1 empalmado (XBP1s) (Kim, S. et al., (2015)). La proteína XBP-1 quien activa las respuestas al estrés del retículo endoplasmático.

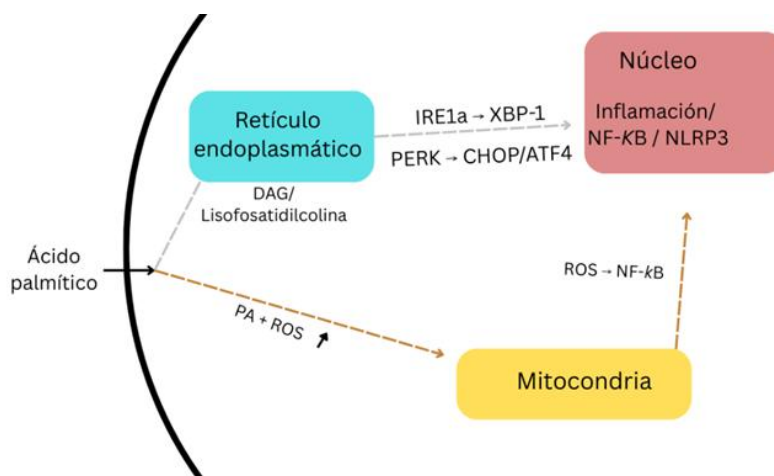


Figura 7: Mecanismos de estrés celular inducidos por ácido palmítico. El exceso de ácido palmítico se metaboliza en diacilgliceridos (DAG), y lisofosfatidilcolina saturada que se acumulan en el retículo endoplasmático, provocando la activación de los sensores de estrés IRE1α ($\rightarrow$ XBP-1s) y PERK ($\rightarrow$ CHOP/ATF4). Fuente: *Elaboración Propia*.

La proteína quinasa del retículo endoplasmático (PERK) se encarga de la fosforilación del factor de iniciación eucariota 2α (eIF2α), por lo que la PERK causa la represión de la traducción (Kim, et al., (2015)). Sin embargo, la activación de PERK por estrés del ER aumenta la traducción de la proteína homóloga a C/EBP (CHOP) y ATF4, y luego de genes dependientes de CHOP y ATF4, los cuales están involucrados en aumentar la capacidad para mantener la autofagia en células estresadas. La autofagia también depende de la vía JNK–MAPK (c-Jun N-terminal quinasa–proteína quinasa activada por mitógeno). La autofagia es un mecanismo clave para proteger a la célula contra la lipotoxicidad.

Sin embargo, la exposición prolongada de las células a un ambiente lipotóxico causa

la inhibición de la autofagia dependiente de mTOR (objetivo de rapamicina en mamíferos) y conduce a la apoptosis celular (Yin, J., et al., (2015)). CHOP está involucrada en la inducción de apoptosis en hepatocitos. Aunque la activación de JNK–MAPK por el glucógeno sintasa quinasa-3 β (GSK-3 β) también es importante en la inducción de apoptosis, el mecanismo exacto de activación de GSK-3 β por AP aún no está claro. Puede activarse no solo por estrés del ER, sino también de manera independiente del ER. A pesar de inducir apoptosis, el estrés del ER es importante en la inducción de la respuesta inflamatoria. Activa NF- κ B e inflamasoma NLRP3 (receptor tipo NOD con dominio purina 3), lo que da como resultado una mayor producción de citocinas proinflamatorias (Kakisaka, K., et al., (2012); Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019)).

Diversas funciones de las mitocondrias se ven fuertemente afectadas por el tratamiento con AP. Normalmente, la generación de ROS es relativamente baja, pero en presencia de AP aumenta significativamente. Este incremento se debe principalmente a la inhibición parcial de los complejos I y III de la cadena respiratoria (Schönfeld, P., & Wojtczak, L. (2008)). Otro efecto del AP es la inhibición de la actividad del translocador de nucleótidos de adenina mitocondrial, lo cual provoca acumulación de ATP en estos orgánulos y mayor producción de ROS.

Los ROS funcionan como segundos mensajeros específicos que participan en la inducción de la respuesta inflamatoria; por ejemplo, pueden desencadenar la activación de NF- κ B (Ciapaite, et al., (2006)). Los otros lípidos sintetizados a partir de AP son las ceramidas. Su aumento provoca una regulación positiva en la expresión y mayor actividad de la esfingomielinasa neutra (nSMasa) y la serina

palmitoil transferasa (SPT) (Verma, et al., (2014)). Probablemente, esto ocurra a través de la activación de NF- κ B y el aumento de la expresión de sus genes regulados [61] o mediante el estrés del ER, que activa la vía IRE1 α $\rightarrow$ XBP-1s (Kakazu, et al., (2016)).

Esto da como resultado un aumento en la síntesis de novo de ceramidas, así como un mayor liberamiento de esfingosina desde la membrana celular, que luego se transforma en ceramidas. Además, la incubación de las células con AP causa la acumulación de palmitoil-CoA, que es un sustrato para la producción de ceramidas. Parece que la producción de ceramidas de novo bajo la influencia de AP es importante para potenciar la transducción de señales a través de TLR4 (Jin, et al., (2013)); Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019)).

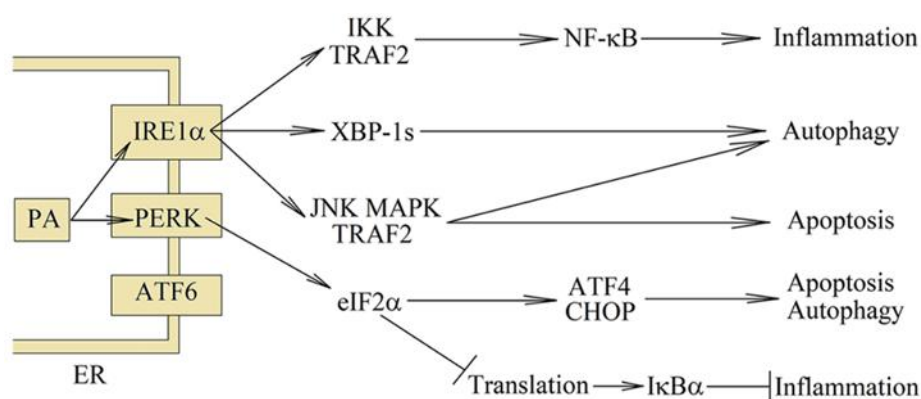


Figura 8: El estrés del retículo plasmático inducido por el ácido palmítico. Extraído de (Jan Korbecki and Karolina Bajdak Rusinek; 2019).

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

3.1 Preparación del Ácido Palmítico

Para la preparación del compuesto con BSA libre de ácidos grasos, se siguió la bibliografía de Tremblay et al. (2022), la BSA se pesaron 2.5 gramos de albumina y se disolvió en 25 ml de agua destilada, luego se disolvió a 37 °C, seguido de una filtración estéril. Para el tratamiento en un tubo de 15 ml colocamos 1 ml de etanol absoluto y luego se le agrego los 0.02 gramos de ácido palmítico pesado para obtener una concentración madre de $1 \times 10^{-1}M$, luego se disolvió a 37 °C en el baño maría.

3.2 Cultivo Celular

Para este proyecto se emplearán células de melanoma (B16F1) las cuales son mantenidas en condiciones óptimas dentro del cuarto de cultivo celular del CIPFAR. Las células contendrán medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado con suero fetal bovino al 5% y 1% de Anfotericina, se mantendrán hasta su adhesión a la placa a 37°C en una atmósfera con un 5% de CO₂ dentro de la incubadora.

3.3 Ensayo de Viabilidad

La actividad citotóxica del Ácido Palmítico se evaluará en células B16F1 a través de 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il) -2, 5-difeniltetrazolio ensayo de bromuro (MTT) (Gerlier & Thomasset, 1986). Se sembrarán a diferentes concentraciones en placas de 96 pocillos y se incubaron en un ambiente normal durante 24 h a 37 °C en una atmósfera con un 5% de CO₂, para permitir que el cultivo se estabilice. Luego, las

células se tratarán con 200 μ l del medio conteniendo diferentes concentraciones del Ácido Palmítico 1000 μ M, 500 μ M y 250 μ M, luego se procederá a incubar por 24 horas. El grupo control no contendrá Ácido Palmítico.

Después de este periodo, se agregará a cada pocillo 100 μ l de medio de cultivo a una concentración del 0.5 mg/ml del reactivo MTT y finalmente las placas se incubarán a 37 °C durante 12 horas. Transcurrido este tiempo, el medio de cultivo se retirará y se disolverán los cristales con isopropanol ácido, para finalmente determinar la absorbancia óptica a 570 nm mediante lector de microplacas EpochTM.

3.4 Ensayo de la Herida

Para el ensayo de migración celular se sembraron 125,000 células por pocillo en placas de 12 pocillos. Las células se incubaron hasta alcanzar aproximadamente un 80 % de confluencia con 1 ml de medio. Luego de 24 horas, se retiró el medio de cultivo y se realizó una herida lineal en el monocapa celular utilizando una punta estéril de 1000 μ L, se procedió a lavar cuidadosamente con PBS para remover los restos celulares.

Posteriormente, las células se tratarán con 2 ml del medio fresco conteniendo diferentes concentraciones del Ácido Palmítico 250 μ M y 75 μ M. Los controles incluyeron células sin tratar y células tratadas únicamente con etanol. La migración celular se evaluó mediante la toma de imágenes del área de la herida a 0, 6, 12 y 24 horas posttratamiento, utilizando un microscopio óptico acoplado a una cámara digital. Las imágenes obtenidas se analizaron para determinar la velocidad de cierre

de la herida en cada condición experimental.

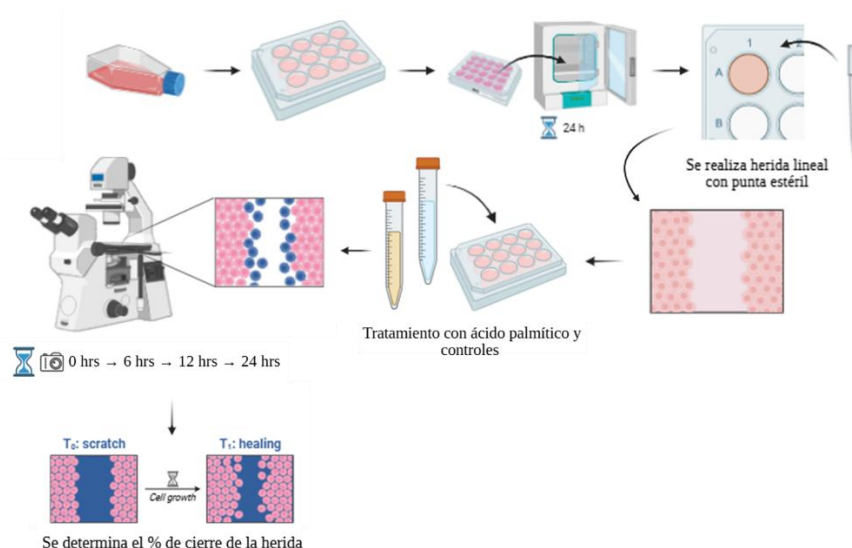


Figura 9: *Ensayo de migración celular mediante herida lineal.* Metodología empleada para evaluar el efecto del ácido palmítico sobre la migración celular. Fuente: Elaboración propia a partir de los resultados experimentales.

3.5 Extracción de ARN

Para el ensayo, se sembraron 100,000 células por pocillo en placas de 12 pocillos. Las células se incubaron hasta alcanzar aproximadamente un 80 % de confluencia con 1 ml de medio. Luego de 24 horas, se retiró el medio de cultivo y posteriormente, las células se tratarán con 2 ml del medio fresco conteniendo diferentes concentraciones del Ácido Palmítico 250 μ M, 150 μ M y 75 μ M.

Luego, para determinar biomarcadores asociados a procesos inflamatorios en células tratadas con ácido palmítico en 24 horas y 12 horas, se extrajo con el kit ARN NucleoSpin® de Macherey-Nagel. El procedimiento consistió en, Quitar los 2 ml de medio de las placas. Posteriormente, se van a lisar las células añadieron 8,400 μ L Buffer RA1 and 84 μ L β -mercaptoethanol (β -ME) al sedimento celular, y luego se rasparon. Después se filtrará el lisado, Recoja la viscosidad y limpia el lisado por filtración a través de NucleoSpin® Filter

(violeta) y centrifugar durante 1 min a 11.000 x g. A continuación, Deseche el filtro NucleoSpin® y añada 350 µL de etanol (70 %) al lisado homogeneizado y mezcle pipeteando arriba y abajo (5 veces). Para cada preparación tome una NucleoSpin® RNA (azul claro) colocada en un tubo de recogida, pipetee el lisado arriba y abajo 2-3 veces y cargue el lisado a la columna. Centrifugar durante 30 s a 11.000 x g. Colocar la columna en un nuevo tubo de recogida (2 mL).

Luego, añadimos 350 µL de MDB (Membrane Desalting Buffer) y centrifugar a 11.000 x g durante 1 min para secar la membrana. Procedemos a preparar la mezcla de reacción de DNasa en un tubo de microcentrífuga estéril de 1.5 mL (10 µL de rDNasa reconstituida a 90 µL de tampón de reacción para rDNasa por cada muestra) y aplique 95 µL de mezcla de reacción de DNasa directamente sobre el centro de la membrana de sílice de la columna. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Procedemos a entrar en los lavados, en el primer lavado vamos a añadir 200 µL de tampón RAW2 a la columna NucleoSpin® RNA Column y Centrifugamos durante 30 s a 11.000 x g. Colocar la columna en un nuevo tubo de recogida (2 mL). Luego, en el segundo lavado añadimos 600 µL de tampón RA3 a la columna de ARN NucleoSpin® y Centrifugamos durante 30 s a 11.000 x g. Desechar el flujo y vuelva a colocar la columna en el tubo de recogida. Y, por último, en el tercer lavado Añada 250 µL de tampón RA3 a la columna NucleoSpin® RNA Column y centrifugamos durante 2 min a 11.000 x g para secar completamente la membrana. Coloque la columna en un tubo de recogida sin nucleótidos (1,5 mL, suministrado). Posteriormente, Eluir el ARN en 60 µL de H₂O libre de RNasa, (suministrado) y centrifugar a 11.000 x g durante 1 min. Se obtuvo El ARN total de las células tratadas; se cuantificó el ARN con el espectofotometro Multiskan SkyHigh (Thermo scientific).

3.6 PCR tiempo real

3.6.1 Protocolo de PCR para generación de cDNA

La tabla a continuación se detalla la preparación del RT *MasterMix*, para una reacción de 20 μL :

Componentes	Volumen/Reacción
5x iScript Reaction Mix	4 μL
iScript Reverse Transcriptase	1 μL
Nuclease-free Water	Variable
RNA template (100 fg-1 μg total RNA)	Variable

Tabla 2: Preparación del RT *MasterMix*.

Para preparar la reacción del cDNA, se cuantificó el ARN con el espectrofotómetro Multiskan SkyHigh (Thermo scientific). Posteriormente, el ARN se transcribieron inversamente en ADNc utilizando el kit iScript™ RT *PreMix* de BioRad, y un termociclador T100™ (Thermal Cycler BioRad). A fin de estandarizar la cantidad de ARN entre todas las muestras, se utilizó como referencia la muestra con la menor concentración detectada. Esta concentración fue dividida entre 500 para calcular la cantidad de ARN (en volumen) a utilizar en todas las reacciones de retrotranscripción. Con base en este cálculo, se tomaron los microlitros correspondientes de cada muestra de ARN, y se procedió a añadir 5 μL del RT *MasterMix*, por último, se completó el volumen restante con nuclease-free water, así completando un volumen final de 20 μL para cada reacción de síntesis de cDNA. A continuación, la tabla describe las condiciones del termociclador:

	Desnaturalización	Amplificación	Extensión	Tiempo de espera
Temperatura (°C)	25°C	46°C	95°C	4°C
Tiempo	5	20	1	∞

Tabla 3: Condiciones del termociclador

3.6.2 PCR tiempo real

Para realizar la PCR en tiempo real, las muestras de cDNA se almacenaron a -80 °C y se diluyeron en una proporción 1:10. La dilución se obtuvo mezclando 20 µL de cDNA con 180 µL de agua libre de nucleasa, obteniendo un volumen final de 200 µL. Los materiales utilizados para la PCR en tiempo real fueron: diluciones 1:10 de cDNA, primers específicos (ABM), SyBr Green (Bio-Rad), agua libre de nucleasa y el equipo CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). El programa de amplificación incluyó una etapa de curva de disociación (melt curve) al finalizar la reacción, con el fin de verificar la especificidad de los productos amplificados.

Lista de los Primers:

Primer	Secuencia
B-actina F	5'-GCAGGAGTACGATGAGTCCG-3'
B-actina R	5'-ACGCAGCTCAGTAACAGTCC-3'
NfκB1 – F	5'-CCCTACGGACCTGGGGCAAAT-3'

NfkB1 – R	5'-TGCAAATTTTGACCTGTGGGT-3'
Tgfb1 – F	5'-CCATATGGAGCTGACACCCC-3'
Tgfb1 – R	5'-GAGCAAAGGCTGCTGGTTTC-3'
INOS – F	5'-CTGCCTTGCAAGAAAGAGCC-3'
INOS – R	5'-CCGGTCCGGTCACTTGATTT-3'

Tabla 4: Lista de Primers.

Preparación del *MasterMix* para cada primer y para un volumen total de

MIX	Final	Volumen (1x)	35
Master Fas (2x)	1x	5	175
Primer F	0.5	0.5	17.5
Primer R	0.5	0.5	17.5
cDNA	1:10	2	
H2O		2	70
V total (μL)	25	10	350

Tabla 5: Componentes del *MasterMix*

Para programar la PCR real time, se elaboró en dos etapas, la primera es el ciclo de PCR y la segunda es la curva de disociación

	Desnaturalización	40 ciclos	curva de
--	--------------------------	------------------	-----------------

	inicial	Desnaturalización	Alineamiento	Extensión	disociación
Temperatura	95 °C	95 °C	55 °C	65 °C	65 °C
Tiempo	3 min	10 seg.	30 seg.	31 seg.	5 seg.

Tabla 6: Condiciones de la PCR en tiempo real en el termociclador.

Tras un rango de 40 ciclos de la reacción de PCR, se confirmó la especificidad de la reacción mediante el análisis de la curva de fusión, y se cuantificaron las expresiones génicas comparando los valores de CT con los del gen estándar de beta-actina.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.1 Ensayo de Viabilidad

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el ensayo de viabilidad celular (MTT) realizado en células B16F1. Se evaluaron diferentes condiciones de tratamiento para poder determinar los posibles cambios en la viabilidad. Los grupos evaluados fueron el control celular, el control de muerte (Tritón 2%), controles con solvente (etanol 1 %, 0.50 % y 0.25 %) y tratamientos con Ácido Palmítico (AP) en concentraciones de 1000 μ M, 500 μ M y 250 μ M.

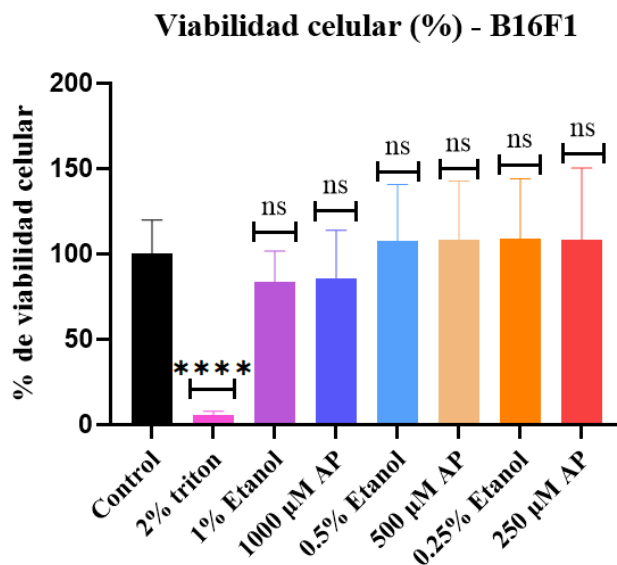


Figura 10: Viabilidad celular en células B16F1 tratadas con ácido palmítico y etanol, evaluada mediante ensayo MTT. Las concentraciones evaluadas fueron 250 μ M, 500 μ M y 1000 μ M. Se incluyó un grupo control (sin tratamiento), un control de muerte con 2 % Tritón X-100 y controles con etanol equivalente a cada concentración de AP. Los resultados se expresan como media $\pm$ desviación estándar (SD), con n = 16 réplicas por grupo. Se consideraron significativas las diferencias con $p < 0.05$ (* $p < 0.05$, *** $p < 0.0001$, ns = no significativo).

La viabilidad celular fue evaluada mediante el ensayo MTT en células B16F1 tras 24 horas de exposición a ácido palmítico (AP) a concentraciones de 250, 500 y 1000 μ M, previamente conjugado con albúmina (BSA). Se incluyeron controles

vehiculares correspondientes a cada concentración de etanol utilizado (0.25%, 0.5% y 1% de etanol), así como un grupo sin tratamiento (control) y un control de muerte con Triton X-100 al 2 %.

El tratamiento con Triton X-100 (2 %) presentó una disminución significativa de la viabilidad celular (~5 %; $p < 0.0001$), validando así la sensibilidad del ensayo. En contraste, los grupos tratados con ácido palmítico mostraron una tendencia a aumento de la viabilidad celular respecto al control. Sin embargo, no lograron a llegar a la significancia estadísticas entre las múltiples comparaciones ($p > 0.05$), lo cual no permite concluir si tiene un efecto proliferativo bajo las condiciones experimentadas. De igual manera, los grupos tratados con etanol no mostraron ninguna diferencia significativa frente al control basal. Esto indica que el vehículo, en esas concentraciones, no tuvo un efecto significativo sobre la viabilidad celular.

4.2 Ensayo de la Herida

A continuación, se presentan los resultados de migración celular (herida), lo cuales van a mostrar la capacidad de cierre de la herida en la línea celular B16F1 bajo diferentes condiciones. Se evaluaron 4 grupos: control celular, células tratadas únicamente con etanol (0.075% y 0.25%) como controles vehiculares, y células tratadas con ácido palmítico (AP) a concentraciones de 75 μM y 250 μM . El cierre de la herida se analizó en intervalos de 0, 6, 12 y 24 horas posteriores del raspado.

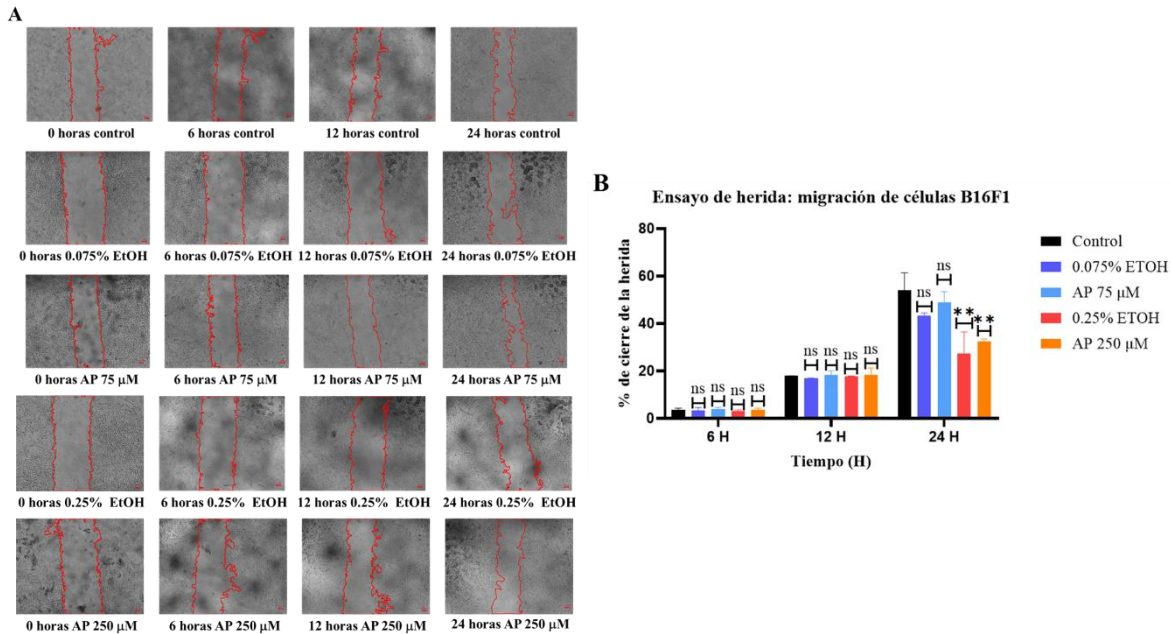


Figura 11: Ensayo de herida en células B16F1 tratadas con ácido palmítico. **(A)** Imágenes representativas del cierre de herida a 0, 6, 12 y 24 horas en células B16F1 bajo diferentes condiciones: control, vehículos (0.075% y 0.25% EtOH) y tratamientos con ácido palmítico (AP 75 μ M y 250 μ M). Las líneas rojas delimitan los bordes de la herida en cada tiempo evaluado. **(B)** Cuantificación del porcentaje de cierre de la herida en cada condición experimental. Los datos representan la media $\pm$ error estándar (n = 3) por grupo. Se consideraron significativas las diferencias con p < 0.05 (*p < 0.05, ***p < 0.0001, ns = no significativo).

Las microfotografías obtenidas en los distintos tiempos del ensayo mostraron que en el grupo control, la herida se cerró de manera progresiva desde las 6 horas hasta las 24 horas. En los grupos que fueron tratados con ácido palmítico a 75 μ M, se observó un comportamiento muy similar al control. Sin embargo, en los grupos tratados con ácido palmítico a 250 μ M, el cierre de la herida fue más lento, y se evidenció un área más abierta a las 24 horas en comparación con el control. Finalmente, en los grupos que se usó etanol como control del solvente, (0.075 % y 0.25 %), los bordes de la herida se apreciaron más irregulares, con células retraídas y menos densidad en el límite de la herida (Figura 11A).

Los valores obtenidos en este ensayo mostraron que dentro de las 6 y 12 horas no hubo significancia entre el grupo control y los grupos con tratamiento, ni con los grupos de etanol (0.075 % y 0.25 %) ($p > 0.05$). Finalmente, a las 24 horas se mostró que el grupo control tuvo un porcentaje de cierre de 54%, mientras que los grupos con AP 75 μ M (48.82%) y etanol 0.075 % (43.24%) no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$), mostrando valores similares a los del control. En contraste, los grupos tratados con etanol 0.25 % y AP 250 μ M mostraron porcentajes de cierres significativos, siendo estos menores respecto al control ($p < 0.01$) (Figura 11B).

4.3 PCR tiempo real

Se presentan los resultados obtenidos mediante PCR en tiempo real, los cuales corresponden a la expresión de los genes estudiados: iNOS, NF- κ B y TGF β 1, utilizando β -actina como gen de referencia. Para evaluar el efecto del ácido palmítico en las células, se analizaron en tres condiciones: control celular, tratadas con AP a 75 μ M y células tratadas con AP a 250 μ M. Las muestras se incubaron en dos tiempos, 12 y 24 horas, con el fin de determinar cambios en la expresión génica.

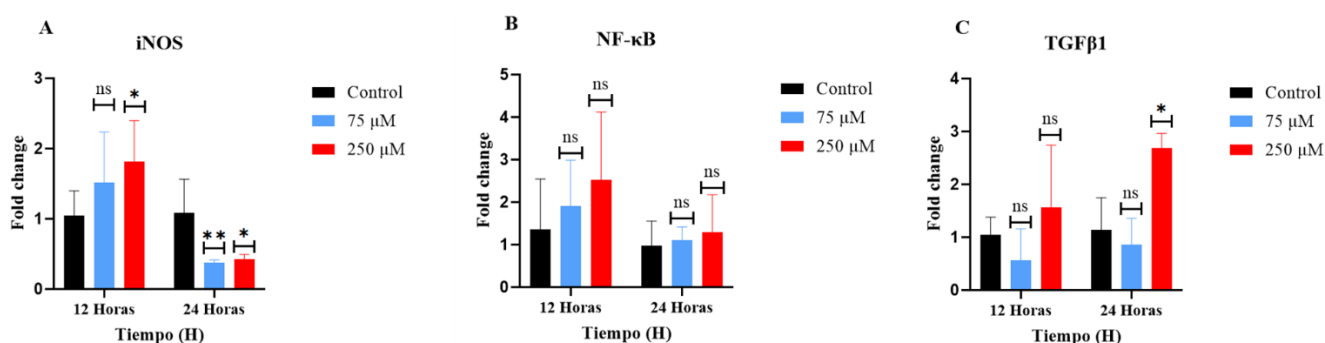


Figura 12: Expresión génica de iNOS, NF- κ B y TGF β 1 en células B16F1 tratadas con ácido palmítico.

Para iNOS, a las 12 horas, el tratamiento de 75 no mostro una diferencia significativa respecto al control ($p > 0.05$). Sin embargo, en las tratadas con 250 se pudo observar un aumento en la expresión de iNOS frente al control ($p > 0.05$). Por otro lado, se ve que a las 24 horas la expresión de iNOS disminuyo significativamente tanto en el grupo tratada con 75 μM de AP ($p < 0.01$), como en las tratadas con 250 μM de AP ($p < 0.05$) en comparación con el control (Figura 12A).

En la expresión de NF- κB , mostro una ligera tendencia al aumento a las 12 horas en las células tratadas con 250 μM ; sin embargo, no se logró detectar una diferencia significativa en ninguno de los tratamientos respecto al control, en ninguno de los tiempos evaluados (12 y 24 horas) $p > 0.05$) (Figura 12B).

Por otro lado, TGF β 1 no presentó variaciones significativas a las 12 horas, entre los tratamientos y el control ($p > 0.05$). En contraste, a las 24 horas se pudo observar un incremento significativo en la expresión de TGF β 1 en las células que fueron tratadas con 250 μM de ácido palmítico ($p < 0.05$). Las células tratadas con 75 μM de ácido palmítico no mostraron ninguna diferencia significativa ($p > 0.05$) (Figura 12C).

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN

5.1 Discusión

En este trabajo se evaluó el efecto del ácido palmítico (AP) sobre la viabilidad, migración y expresión de genes asociados a inflamación/estrés oxidativo en células B16F1. Los resultados obtenidos muestran efectos dependientes de la concentración y del tiempo de exposición. La exposición de las células B16F1 a distintas concentraciones de ácido palmítico mostró una tendencia al aumento en la viabilidad celular sin alcanzar una significancia estadística. Lo que sugiere que a las condiciones experimentales empleadas de 24 horas de exposición con un rango de concentración de 250–1000 μM , este ácido no indujo un efecto proliferativo notable ni mucho menos generó citotoxicidad.

Se analiza este aspecto, ya que, en estudios previos Kwan et al., (2014) demostraron que a concentraciones bajas de ácido palmítico (3–50 μM) estimulan de manera marcada la proliferación de células de melanoma B16F10 y humanas (A375, G361), mediada por la activación de la vía PI3K/Akt de forma independiente de PTEN, efectos que se mantuvo en modelos murinos, de forma complementaria, Yamada et al. (2019) evidenció que el AP en células de B16F10 a concentraciones de 50 μM induce procesos inflamatorios y de estrés oxidativo que potencia la supervivencia y crecimiento celular. Por su parte, Zhang et al., (2022) mostraron que, a concentraciones de 12, 5, 25 o 50 μM , el ácido palmítico favorece a la proliferación e invasión celular de células B16 y A375 a través de la vía TLR4/TRIF-Peli1-pNF κ B, lo que se tradujo en un aumento de la metástasis pulmonar en modelos murinos.

Las diferencias con nuestros resultados podrían deberse a los factores empleado como la concentración con la que se trabajó, las cuales son considerablemente más altas que las utilizadas en los estudios mencionados. Esto sugiere que la acción del ácido palmítico es dosis dependiente y que a altas concentraciones pueden activar mecanismos de tolerancia o saturación lipídica que limitan la respuesta proliferativa. En segundo lugar, el tiempo empleado (24 horas) puede que no haya sido suficiente como para reflejar cambios acumulativos en la viabilidad, a diferencia de los estudios mencionados los cuales fue de 48 horas o más.

En este contexto, resulta pertinente mencionar que, De Sousa Andrade et al., (2005), demostró que el ácido palmítico en concentraciones altas (100–200 μM) ejerce un efecto tóxico en B16F10 y SK-Mel-28, induciendo apoptosis y necrosis que fue asociado a la pérdida de integridad de la membrana y fragmentación de ADN. Este hallazgo refuerza la idea de que el ácido palmítico no actúa de manera uniforme en todos los contextos. La tendencia no significativa a menos viabilidad observada en nuestro modelo a 1000 μM es coherente con esta posibilidad, aun cuando no alcanzó una significancia estadística.

La discrepancia entre las células (B16F1 y B16F10) podría deberse a diferencias intrínsecas entre ambos subtipos, ya que mientras las variantes que son altamente metastásicas presentan mayor demanda metabólica y activan con facilidad vías de señalización pro-tumorales, como lo es la captación de AG mediada por CD36 y la activación más sensible de rutas como PI3K/Akt, que lo que harán es favorecer a la proliferación de esta (Pascual et al., 2016) (Guerrero-Rodríguez et al., 2022).

Por otro lado, B16F1 es caracterizada por su bajo potencial metastásico, lo que podría mantener mecanismos más conservadores de captación y utilización de lípidos, se ha propuesto que las células menos agresiva tienden a contar con un buen “**buffer lipídico**”, ya que es basado en la actividad de la enzima DGAT1, que va a esterificar los AGS en triglicéridos y los almacena en gotas lipídicas (Wilfling et al., 2014) (W. Zhang et al., 2021), o en esteroil-CoA desaturasa (SCD1), que esta convierte el palmitato en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) menos tóxicos por lo cual serán más fácil de almacenar (Scaglia & Igal, 2005) (Vriens et al., 2019), lo que limitaría la respuesta proliferativa inmediata al AP y solo se observara una tendencia a la proliferación sin alcanzar significancia. La escasa literatura disponible sobre B16F1 dificulta comparaciones directas, pero a la vez resalta la relevancia de este trabajo al aportar datos novedosos sobre este subtipo de melanoma murino que es poco explorado.

Aunque en los ensayos de viabilidad el PA no mostró un efecto proliferativo significativo, la progresión tumoral depende también de procesos como la migración. En este contexto se evaluó la capacidad de motilidad de la célula frente al ácido palmítico en diferentes concentraciones. Los resultados demostraron que durante las primeras 6 y 12 horas, no se observaron diferencias significativas entre los grupos tratados y el control.

Sin embargo, vemos que a las 24 horas las células que fueron expuestas a 250 μM de AP redujo significativamente el porcentaje de la herida en comparación con el control, lo sigue un retraso en el crecimiento de las células. En contraste, con las células expuestas a 75 μM solo mostro una tendencia a menor cierre sin alcanzar

una diferencia significativa, mientras que también se vio que a concentración altas del solvente (0.25%) también se vieron afectadas las células en la dinámica migratoria.

Aunque no se han encontrado estudios previos que evalúen específicamente la acción del AP en B16F1, en modelos murinos de melanoma se ha descrito que la captación y utilización de ácidos grasos puede modular directamente la capacidad metastásica. Pascual et al. (2016) mostro que la captación de AG a través de CD36 potencia lo que es la colonización pulmonar, por otro lado X. Zhang et al., (2022) evidencio que a concentraciones bajas de AP favorece la invasión y metástasis por medio d la activación del eje TLR4/Peli1/NF- κ B y cambios en EMT. En contraste, en nuestro modelo con B16F1 (variantes menos metastásicas), el efecto observado a 75 μ M se limitó a una ligera tendencia sin significancia, lo que podría reflejar una menor sensibilidad de esta sublínea a la activación de rutas promigratorias.

No obstante, en nuestro estudio, la exposición a 250 μ M no promovió la migración, sino que la retraso, lo que podría sugerir que en estas células las concentraciones elevadas pueden diferir de lo que se observó en la sublinea B16F10 (más agresiva). Una posible explicación es que el AP, además de influir en la proliferación, también pueda desencadenar mecanismos de estrés lipídico y alteraciones en el citoesqueleto, lo cual limitara la motilidad en condiciones elevadas, como lo describió De Sousa Andrade et al. (2005) en su estudio de toxicidad en melanoma a dosis elevadas.

Cabe señalar que el etanol a 0.25% también mostró un efecto negativo sobre la

dinámica migratoria, lo que coincide con reportes que señalan que concentraciones $\geq 0.2\%$ puede estar alterando la dinámica celular (organización del citoesqueleto y reducir la capacidad de migración) (Rovasio & Battiato, 2002) (Loureiro et al., 2010). Silberman et al. (1990) reportó que a concentraciones de etanol en el rango de 0.99–1.5 % modifican la fluidez de la membrana, reorganizan la actina, por lo que afectará la migración celular (B16F10), sin disminuir la viabilidad.

Estos hallazgos concuerdan con lo observado en las microfotografías las cuales se ven que los bordes de las heridas tratadas con etanol al 0.25% se apreciaron más irregulares en comparación del control.

Debido a que AP puede activar rutas pro-inflamatorias (p. ej., TLR4/NF- κ B) y, a concentraciones elevadas, inducir estrés lipídico, resulta pertinente evaluar si en estos ciertos procesos se reflejan en cambios transcriptómicos de genes que están asociados a inflamación y estrés oxidativo. En el cáncer, la señalización inflamatoria y el estrés oxidativo son determinantes en la progresión tumoral y la respuesta a ciertos nutrientes como en nuestro caso lo es el ácido palmítico. Estudios como lo de X. Zhang et al. (2022) demostraron que el AP puede activar vías como la de TLR4/NF- κ B, promoviendo un ambiente proinflamatorio y prometastático.

Asimismo, se ha reportado que la exposición a AGS en exceso puede incrementar la producción de especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico, ya que estos están mediados por la inducción de iNOS (sintasa de óxido nítrico inducible) y asociados a daño celular o señalización tumoral (Listenberger et al., 2003) (Yamada et al., 2019). De forma complementaria, la activación de TGF- β 1 en melanoma murino

contribuye a la facilitación de procesos de migración e invasión por medio de la remodelación del microambiente tumoral (Javelaud & Mauviel, 2005).

En la evaluación de la expresión génica mediante PCR en tiempo real observamos respuestas diferentes según el marcador y la concentración del ácido palmítico. El comportamiento observado en la expresión de iNOS podría estar relacionado con los mecanismos de adaptación de las células tumorales frente a el exceso de ácido palmítico. A las 12 horas, con el aumento que se observó a los 250 μ M sugiere que hubo una temprana activación de respuestas inflamatorias y oxidativas. Sin embargo, a las 24 horas, tanto las células tratadas con 75 como 250 μ M se asociaron con una disminución significativa de iNOS, lo cual indica que la célula no mantiene una inflamación sostenida.

En la literatura mencionan que las células tumorales son capaces de activar defensas antioxidantes para poder sobrevivir en entornos de alto estrés oxidativo permitiéndoles sobrevivir en un entorno donde normalmente morirían (Morgan & Liu, 2010) (Gorrini et al., 2013) (Puar et al., 2018). Además, existen mecanismos como la esterificación de ácidos grasos saturados vía DGAT1 y la desaturación a MUFA mediante SCD1 los cuales se han descrito como estrategias que la célula utiliza para reducir la toxicidad lipídica y así limitar el daño oxidativo (Scaglia & Igal, 2005) (Wilfling et al., 2014).

En cuanto a NF- κ B (ARNm) no se observaron cambios significativos a 12 ni a 24 horas tras la exposición a AP, aunque se puede observar que a las 12 horas hubo una ligera tendencia en el grupo tratado con 250 μ M. Este patrón contrasta con lo

descrito en estudios de B16F10, que demuestran activación funcional de NF- κ B por PA a través del eje TLR4/TRIF–Peli1, que viene con cambios de EMT y fenotipos pro-invasivos (X. Zhang et al., 2022). La ausencia de cambios significativos la línea B16F1 sugiere que puede que tenga una menor sensibilidad, a la estimulación del ácido palmítico en las condiciones empleadas.

La actividad de NF- κ B es principalmente post-traducciona, por lo cual no es necesario que se refleje en su nivel de transcrito (Hayden & Ghosh, 2012). Además iNOS no depende necesariamente solo de un nodo, este se puede inducir por STAT1/IRF1, AP-1 y rutas asociadas a estrés del retículo endoplásmico y ROS (Listenberger et al., 2003), lo que explica la expresión de esta temprano sin cambios en el ARNm de NF- κ B.

Por su parte, TGF- β 1 no se observó cambios a las 12 horas, sin embargo, a las 24 horas se registró un aumento significativo en las células que fueron tratadas con 250 μ M, mientras que las células tratadas con 75 μ M no se observó diferencias con el control. Este hallazgo indica que la respuesta de esta frente al AP en B16F1 va a depender tanto de la concentración como del tiempo

TGF- β 1 en el cáncer es descrito como un factor con doble función. En fases iniciales este puede actuar como un supresor tumoral, promoviendo así la detención del ciclo celular y apoptosis, sin embargo, cuando son tumores ya establecidos incluido el melanoma murino este favorece a la invasión, migración y remodelación del microambiente del tumor (Javelaud & Mauviel, 2005). Massagué (2008) explica que TGF- β activa factores como Snail, Slug, Twist, ZEB1/2 y fosforila Par6 para inducir

EMT, diferenciarse en miofibroblastos, que secretan proteasas, VEGF, IL-8 y CXCL12 para promover invasión y angiogénesis (Batlle & Massagué, 2019). Por lo tanto, el aumento que se observó con las células tratadas a 250 μ M durante 24 horas, podría reflejar un intento de la célula tumoral por reprogramar su microambiente tumoral en respuesta a el estrés lipídico, más que activar la proliferación inmediata.

Finalmente, este estudio presenta algunas limitaciones que deben ser consideradas al interpretar los resultados y para futuros proyectos. El rango de concentraciones y tiempo de exposición que se evaluó, fueron muy restringidos, limitándose a tres dosis de AP, lo cual es imposible observar efectos cumulativos o respuestas no lineales.

Asimismo, no se realizaron ensayos funcionales adicionales (como análisis de proteínas, vías de señalización activadas o mediciones de especies reactivas de oxígeno) por lo que las interpretaciones sobre mecanismos adaptativos se basan en la comparación de reportes previos.

Finalmente, es importante señalar que estos ensayos solo se hicieron en modelo tumoral murino, por lo que será fundamental ampliar estos estudios a células inmunes, ya que es importante ver la interacción tumor-inmunidad ya que es determinante en la progresión del melanoma.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIÓN Y

RECOMENDACIONES

6.1 Conclusión

1. Con el presente trabajo se permitió demostrar que el efecto del ácido palmítico en células de melanoma murino B16F1 son dependientes de la concentración y tiempo de exposición.
2. El ácido palmítico no disminuyó la viabilidad celular, por lo contrario, mostró una tendencia a favorecer la proliferación, aunque esta no alcanzo la significancia estadística bajo las condiciones que se evaluaron.
3. A medida que se incrementaron las concentraciones de ácido palmítico, la migración celular se vio afectada, reflejando un retraso en la dinámica del cierre de la herida.
4. Se comprobó la modulación en la expresión génica, observando incremento de iNOS y TGF- β 1, lo que concuerda con reportes previos, los cuales describen el carácter proinflamatorio y su capacidad de remodelar el microambiente tumoral.

6.2 Recomendaciones

- Ampliar el rango de concentraciones y tiempos de exposición de ácido palmítico, para poder evaluar posibles efectos dosis-dependiente.
- Incluir análisis complementarios que nos permitan confirmar mecanismos sugeridos a partir de la expresión génica y a su vez verificar la activación de rutas de señalización, realizar análisis por Western blot para determinar la expresión y activación de proteínas involucradas y procesos celulares.
- Explorar la interacción del ácido palmítico con células inmunes, con el fin de poder comprender mejor la relación entre los factores dietarios y el microambiente tumoral.

→ Considerar la implementación de co-cultivos o modelos más cercanos a la fisiología real, para poder aportar una mayor validez al comportamiento de estas células.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Annevelink, C. E., Sapp, P. A., Petersen, K. S., Shearer, G. C., & Kris-Etherton, P. M. (2023). Diet-derived and diet-related endogenously produced palmitic acid: Effects on metabolic regulation and cardiovascular disease risk. *Journal of Clinical Lipidology*, 17(5), 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2023.07.005>

Arnold, M., Singh, D., Laversanne, M., Vignat, J., Vaccarella, S., Meheus, F., Cust, A. E., De Vries, E., Whiteman, D. C., & Bray, F. (2022). Global burden of cutaneous melanoma in 2020 and projections to 2040. *JAMA Dermatology*, 158(5), 495. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2022.0160>

Astrup, A., Magkos, F., Bier, D. M., Brenna, J. T., De Oliveira Otto, M. C., Hill, J. O., King, J. C., Mente, A., Ordovas, J. M., Volek, J. S., Yusuf, S., & Krauss, R. M. (2020). Saturated Fats and Health: A Reassessment and Proposal for Food-Based Recommendations. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(7), 844–857. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.05.077>

ATCC. (2023). B16-F1 - CRL-6323 | ATCC. <https://www.atcc.org>. <https://www.atcc.org/products/crl-6323>

Base de datos de HMDB. (n.d.). *Human Metabolome Database: Showing metabocard for Palmitic acid (HMDB0000220)*. <https://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0000220>

Batista-Gonzalez, A., Vidal, R., Criollo, A., & Carreño, L. J. (2020). New insights on the role of lipid metabolism in the metabolic reprogramming of macrophages. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02993>

Batlle, E., & Massagué, J. (2019). Transforming growth factor-B signaling in immunity and cancer. *Immunity*, 50(4), 924–940. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.024>

Bevona, C. (2003). Cutaneous melanomas associated with nevi. *Archives of Dermatology*, 139(12), 1620. <https://doi.org/10.1001/archderm.139.12.1620>

Bishop, J. (1991). Molecular themes in oncogenesis. *Cell*, 64(2), 235–248. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90636-d](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90636-d)

Cancer today. (n.d.). <https://gco.iarc.fr/today/en>

Carta, G., Murru, E., Banni, S., & Manca, C. (2017). Palmitic acid: physiological role, metabolism and nutritional implications. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00902>

Carta, G., Murru, E., Lisai, S., Sirigu, A., Piras, A., Collu, M., Batetta, B., Gambelli, L., & Banni, S. (2015). Dietary Triacylglycerols with Palmitic Acid in the sn-2 Position Modulate Levels of N-Acylethanolamides in Rat Tissues. *PLoS ONE*, 10(3), e0120424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120424>

Ciapaite, J., Bakker, S. J. L., Diamant, M., Van Eikenhorst, G., Heine, R. J., Westerhoff, H. V., & Krab, K. (2006). Metabolic control of mitochondrial properties by adenine nucleotide translocator determines palmitoyl-CoA effects. *FEBS Journal*, 273(23), 5288–5302. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05523.x>

De Sousa Andrade, L. N., De Lima, T. M., Curi, R., & De Lauro Castrucci, A. M. (2005). Toxicity of fatty acids on murine and human melanoma cell lines. *Toxicology in Vitro*, 19(4), 553–560. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.02.002>

Deng, S., Wang, J., Zou, F., Cheng, D., Chen, M., Gu, J., Shi, J., Yang, J., Xue, Y., Jiang, Z., Qin, L., Mao, F., Chang, X., Nie, X., Liu, L., Cao, Y., & Cai, K. (2025). Palmitic acid accumulation activates fibroblasts and promotes matrix stiffness in colorectal cancer. *Cancer Research*. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-24-2892>

Dessinioti, C., Antoniou, C., Katsambas, A., & Stratigos, A. J. (2011). Melanocortin 1 receptor variants: functional role and pigmentary associations. *Photochemistry and Photobiology*, 87(5), 978–987. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00970.x>

Deygarcia. (2024, October 11). *El cáncer en Panamá: Una de las cinco principales causas de muerte* – CSS Noticias. <https://prensa.css.gob.pa/2024/10/11/el-cancer-en-panama-una-de-las-cinco-principales-causas-de-muerte/>

Eguchi, K., Manabe, I., Oishi-Tanaka, Y., Ohsugi, M., Kono, N., Ogata, F., Yagi, N., Ohto, U., Kimoto, M., Miyake, K., Tobe, K., Arai, H., Kadowaki, T., & Nagai, R. (2012). Saturated Fatty Acid and TLR Signaling Link β Cell Dysfunction and Islet Inflammation. *Cell Metabolism*, 15(4), 518–533. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.023>

Farías, I. (2023, April 1). Melanoma lentiginoso acral y su relación con la presión o el estrés mecánico. *Medicina Y Salud Pública*. <https://medicinaysaludpublica.com/noticias/oncologia-hematologia/melanoma-lentiginoso-acral-y-su-relacion-con-la-presion-o-el-estres-mecanico/12633>

Fatima, S., Hu, X., Gong, R., Huang, C., Chen, M., Wong, H. L. X., Bian, Z., & Kwan, H. Y. (2019). Palmitic acid is an intracellular signaling molecule involved in disease development. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(13), 2547–2557. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03092-7>

- Fidler, I. (1975). Biological behavior of malignant melanoma cells correlated to their survival in vivo. *PubMed*, 35(1), 218–224. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1109790/>
- Foster, D. A. (2013). Phosphatidic acid and lipid-sensing by mTOR. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24(6), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.02.003>
- Garbe, C., Keim, U., Gandini, S., Amaral, T., Katalinic, A., Holleczek, B., Martus, P., Flatz, L., Leiter, U., & Whiteman, D. (2021). Epidemiology of cutaneous melanoma and keratinocyte cancer in white populations 1943–2036. *European Journal of Cancer*, 152, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.04.029>
- Gehlsen, K. R., & Hendrix, M. J. (1986). In vitro assay demonstrates similar invasion profiles for B16F1 and B16F10 murine melanoma cells. *Cancer Letters*, 30(2), 207–212. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(86\)90090-x](https://doi.org/10.1016/0304-3835(86)90090-x)
- Go, D., Lee, Y. G., Lee, D., Kim, J., Jo, I., Han, Y. S., Jo, Y. H., Kim, K., Seo, Y., Moon, J., Jung, C. H., & Jeon, T. (2017). 3-Decylcatechol induces autophagy-mediated cell death through the IRE1 α /JNK/p62 in hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget*, 8(35), 58790–58800. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17732>
- Gorrini, C., Harris, I. S., & Mak, T. W. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(12), 931–947. <https://doi.org/10.1038/nrd4002>
- Guerrero-Rodríguez, S. L., Mata-Cruz, C., Pérez-Tapia, S. M., & Velasco-Velázquez, M. A. (2022). Role of CD36 in cancer progression, stemness, and targeting. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1079076>
- Gunstone, F. D. (1996). Fatty acids — Nomenclature, structure, isolation and structure determination, biosynthesis and chemical synthesis. In *Springer eBooks* (pp. 1–34). https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4131-8_1
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)
- Harris, H. (1986). The genetic analysis of malignancy. *Journal of Cell Science*, 1986(Supplement_4), 431–444. https://doi.org/10.1242/jcs.1986.supplement_4.23
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2012). NF- κ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes & Development*, 26(3), 203–234. <https://doi.org/10.1101/gad.183434.111>

Hill, R. P., Chambers, A. F., Ling, V., & Harris, J. F. (1984). Dynamic heterogeneity: rapid generation of metastatic variants in mouse B16 melanoma cells. *Science*, 224(4652), 998–1001. <https://doi.org/10.1126/science.6719130>

Houten, S. M., & Wanders, R. J. A. (2010). A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β -oxidation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 33(5), 469–477. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9061-2>

Huang, S., Rutkowsky, J. M., Snodgrass, R. G., Ono-Moore, K. D., Schneider, D. A., Newman, J. W., Adams, S. H., & Hwang, D. H. (2012). Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. *Journal of Lipid Research*, 53(9), 2002–2013. <https://doi.org/10.1194/jlr.d029546>

Innis, S. M. (2015). Palmitic acid in early human development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(12), 1952–1959. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1018045>

Innis, S. M., Dyer, R., & Nelson, C. M. (1994). Evidence that palmitic acid is absorbed as sn-2 monoacylglycerol from human milk by breast-fed infants. *Lipids*, 29(8), 541–545. <https://doi.org/10.1007/bf02536625>

INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL. (n.d.). *Registro Hospitalario de Cáncer*. https://ion.gob.pa/?page_id=556

Javelaud, D., & Mauviel, A. (2005). Crosstalk mechanisms between the mitogen-activated protein kinase pathways and Smad signaling downstream of TGF- β : implications for carcinogenesis. *Oncogene*, 24(37), 5742–5750. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208928>

Jin, J., Zhang, X., Lu, Z., Perry, D. M., Li, Y., Russo, S. B., Cowart, L. A., Hannun, Y. A., & Huang, Y. (2013). Acid sphingomyelinase plays a key role in palmitic acid-amplified inflammatory signaling triggered by lipopolysaccharide at low concentrations in macrophages. *AJP Endocrinology and Metabolism*, 305(7), E853–E867. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00251.2013>

Jm, C. S., & M, R. P. (2004a, April 15). *Melanoma*. Atención Primaria. <https://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-melanoma-13059757>

Jm, C. S., & M, R. P. (2004b, April 15). *Melanoma*. Atención Primaria. <https://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-melanoma-13059757?code=tOfML3mulXhHpYiwgTsoZFN41yDIS7&newsletter=true>

Jung, S., Choi, M., Choi, K., Kwon, E. B., Kang, M., Kim, D., Jeong, H., Kim, J., Kim,

- J. H., Kim, M. O., Han, S., & Cho, S. (2017). Inactivation of human DGAT2 by oxidative stress on cysteine residues. *PLoS ONE*, 12(7), e0181076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181076>
- Kakazu, E., Mauer, A. S., Yin, M., & Malhi, H. (2016). Hepatocytes release ceramide-enriched pro-inflammatory extracellular vesicles in an IRE1 α -dependent manner. *Journal of Lipid Research*, 57(2), 233–245. <https://doi.org/10.1194/jlr.m063412>
- Kakisaka, K., Cazanave, S. C., Fingas, C. D., Guicciardi, M. E., Bronk, S. F., Werneburg, N. W., Mott, J. L., & Gores, G. J. (2011). Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced hepatocyte lipoapoptosis. *AJP Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302(1), G77–G84. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00301.2011>
- Kanda, H. (2006). MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 116(6), 1494–1505. <https://doi.org/10.1172/jci26498>
- Kazemi, M. R., McDonald, C. M., Shigenaga, J. K., Grunfeld, C., & Feingold, K. R. (2005). Adipocyte fatty Acid-Binding protein expression and lipid accumulation are increased during activation of murine macrophages by Toll-Like receptor agonists. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 25(6), 1220–1224. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000159163.52632.1b>
- Khodabandehloo, H., Gorgani-Firuzjaee, S., Panahi, G., & Meshkani, R. (2015). Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. *Translational Research*, 167(1), 228–256. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2015.08.011>
- Kim, S. K., Oh, E., Yun, M., Lee, S., & Chae, G. T. (2015). Palmitate induces cisternal ER expansion via the activation of XBP-1/CCT α -mediated phospholipid accumulation in RAW 264.7 cells. *Lipids in Health and Disease*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0077-3>
- Kitai, Y., Ariyama, H., Kono, N., Oikawa, D., Iwawaki, T., & Arai, H. (2013). Membrane lipid saturation activates IRE1 α without inducing clustering. *Genes to Cells*, 18(9), 798–809. <https://doi.org/10.1111/gtc.12074>
- Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019). The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms. *Inflammation Research*, 68(11), 915–932. <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01273-5>
- Kwan, H. Y., Fu, X., Liu, B., Chao, X., Chan, C. L., Cao, H., Su, T., Tse, A. K. W., Fong, W. F., & Yu, Z. (2014). Subcutaneous adipocytes promote melanoma cell

growth by activating the AKT signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 289(44), 30525–30537. <https://doi.org/10.1074/jbc.m114.593210>

Laboratoriumdiscounter. (n.d.). *Ácido palmítico ≥98 %, extra puro*. Laboratorium Discounter | Productos De Laboratorio Baratos. <https://www.laboratoriumdiscounter.nl/es/palmitico-acido-98-extra-puro.html>

Lawrence, T. (2009). The nuclear factor NF- B pathway in inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(6), a001651. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001651>

Lee, J. Y., Sohn, K. H., Rhee, S. H., & Hwang, D. (2001). Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4. *Journal of Biological Chemistry*, 276(20), 16683–16689. <https://doi.org/10.1074/jbc.m011695200>

Lin, L., Ding, Y., Wang, Y., Wang, Z., Yin, X., Yan, G., Zhang, L., Yang, P., & Shen, H. (2017). Functional lipidomics: Palmitic acid impairs hepatocellular carcinoma development by modulating membrane fluidity and glucose metabolism. *Hepatology*, 66(2), 432–448. <https://doi.org/10.1002/hep.29033>

Listenberger, L. L., Han, X., Lewis, S. E., Cases, S., Farese, R. V., Ory, D. S., & Schaffer, J. E. (2003). Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(6), 3077–3082. <https://doi.org/10.1073/pnas.0630588100>

Liu, Y., & Cao, X. (2016). Characteristics and significance of the pre-metastatic niche. *Cancer Cell*, 30(5), 668–681. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.09.011>

Loureiro, S. O., Heimfarth, L., Reis, K., Wild, L., Andrade, C., Guma, F. T. C. R., Gonçalves, C. A., & Pessoa-Pureur, R. (2010). Acute ethanol exposure disrupts actin cytoskeleton and generates reactive oxygen species in c6 cells. *Toxicology in Vitro*, 25(1), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.09.003>

Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, C., Daniele, A., Orrù, S., & Buono, P. (2015). Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: Effects on health. *Molecules*, 20(9), 17339–17361. <https://doi.org/10.3390/molecules200917339>

Massagué, J. (2008). TGF β in cancer. *Cell*, 134(2), 215–230. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.001>

Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>

Ministerio de Salud [REGISTRO NACIONAL DEL CÁNCER DE PANAMÁ]. (2018). *REGISTRO NACIONAL DEL CÁNCER DE PANAMÁ BOLETÍN ESTADÍSTICO AÑO:* 2014-2016.

https://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/general/boletin_2014_rncp__0.pdf

Ministerio de Salud [REGISTRO NACIONAL DEL CÁNCER DE PANAMÁ]. (2025). *BOLETÍN ESTADÍSTICO: Registro Nacional del Cáncer AÑO: 2021 oficial 2022-2023 preliminar.* https://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/publicacion-general/boletin_registro_nacional_de_cancer_de_panama_2021-2023.pdf

Mitrus, I., Bryndza, E., Sochanik, A., & Szala, S. (2012). Evolving models of tumor origin and progression. *Tumor Biology*, 33(4), 911–917. <https://doi.org/10.1007/s13277-012-0389-0> moffitt cancer center. (2023). *Información sobre el tratamiento del melanoma.* <https://www.moffitt.org/es/cancers/melanoma/>

Morgan, M. J., & Liu, Z. (2010). Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Research*, 21(1), 103–115. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.178>

National Cancer Institute. (2021, October 11). *What is cancer?* Cancer.gov. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>

Nguyen, M. T. A., Favelyukis, S., Nguyen, A., Reichart, D., Scott, P. A., Jenn, A., Liu-Bryan, R., Glass, C. K., Neels, J. G., & Olefsky, J. M. (2007). A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 282(48), 35279–35292. <https://doi.org/10.1074/jbc.m706762200>

Noticias caja de seguro social. (2024, October 13). *Incremento del cáncer: un problema social de salud en Panamá – CSS Noticias.* <https://prensa.css.gob.pa/2024/10/13/incremento-del-cancer-un-problema-social-de-salud-en-panama/>

Ockner, R. K., Hughes, F. B., & Isselbacher, K. J. (1969). Very low density lipoproteins in intestinal lymph: role in triglyceride and cholesterol transport during fat absorption. *Journal of Clinical Investigation*, 48(12), 2367–2373. <https://doi.org/10.1172/jci106203>

Organización Panamericana de la Salud [OPS/OMS]. (2024, February 1). *Crece la carga mundial de cáncer en medio de una creciente necesidad de servicios.* OPS/OMS | Organización Panamericana De La Salud. <https://www.paho.org/es/noticias/1-2-2024-crece-carga-mundial-cancer-medio-creciente-necesidad-servicios>

Pascual, G., Avgustinova, A., Mejetta, S., Martín, M., Castellanos, A., Attolini, C. S., Berenguer, A., Prats, N., Toll, A., Hueto, J. A., Bescós, C., Di Croce, L., & Benitah, S. A. (2016). Targeting metastasis-initiating cells through the fatty acid receptor CD36. *Nature*, 541(7635), 41–45. <https://doi.org/10.1038/nature20791>

Pascual, G., Domínguez, D., Elosúa-Bayes, M., Beckedorff, F., Laudanna, C., Bigas, C., Douillet, D., Greco, C., Symeonidi, A., Hernández, I., Gil, S. R., Prats, N., Bescós, C., Shiekhata, R., Amit, M., Heyn, H., Shilatifard, A., & Benitah, S. A. (2021). Dietary palmitic acid promotes a prometastatic memory via Schwann cells. *Nature*, 599(7885), 485–490. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04075-0>

Piantoni, P., Lock, A. L., & Allen, M. S. (2013). Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7143–7154. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6680>

Puar, Y., Shanmugam, M., Fan, L., Arfuso, F., Sethi, G., & Tergaonkar, V. (2018). Evidence for the involvement of the Master Transcription Factor NF- κ B in cancer initiation and progression. *Biomedicines*, 6(3), 82. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6030082>

Rabbie, R., Ferguson, P., Molina-Aguilar, C., Adams, D. J., & Robles-Espinoza, C. D. (2018). Melanoma subtypes: genomic profiles, prognostic molecular markers and therapeutic possibilities. *The Journal of Pathology*, 247(5), 539–551. <https://doi.org/10.1002/path.5213>

Ramos, H. R. & W. (2016, March 19). *Melanoma de Mucosa Oral*. PIEL-L Latinoamericana. <https://piel-l.org/blog/42115>

Registro Nacional del Cáncer | Ministerio de Salud de la República de Panamá. (n.d.). <https://www.minsa.gob.pa/contenido/registro-nacional-del-cancer>

Rodríguez-Carrio, J., Alperi-López, M., López, P., Ballina-García, F. J., & Suárez, A. (2016). Non-Esterified Fatty Acids Profiling in Rheumatoid Arthritis: Associations with Clinical Features and Th1 Response. *PLoS ONE*, 11(8), e0159573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159573>

Rossi, M., Pellegrini, C., Cardelli, L., Ciciarelli, V., Di Nardo, L., & Fargnoli, M. C. (2019). Familial melanoma: diagnostic and management implications. *Dermatology Practical & Conceptual*, 10–16. <https://doi.org/10.5826/dpc.0901a03>

Rovasio, R. A., & Battiato, N. L. (2002). Ethanol induces morphological and dynamic changes on in vivo and in vitro neural crest cells. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 26(8), 1286–1298. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2002.tb02669.x>

Sample, A., & He, Y. (2017). Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine*, 34(1), 13–24. <https://doi.org/10.1111/phpp.12329>

Scaglia, N., & Igal, R. A. (2005). Stearoyl-CoA Desaturase Is Involved in the Control of Proliferation, Anchorage-independent Growth, and Survival in Human Transformed Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 280(27), 25339–25349. <https://doi.org/10.1074/jbc.m501159200>

Schönfeld, P., & Wojtczak, L. (2008). Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(3), 231–241. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.029>

Sellem, L., Srour, B., Guéraud, F., Pierre, F., Kesse-Guyot, E., Fiolet, T., Lavalette, C., Egnell, M., Latino-Martel, P., Fassier, P., Hercberg, S., Galan, P., Deschasaux, M., & Touvier, M. (2018). Saturated, mono- and polyunsaturated fatty acid intake and cancer risk: results from the French prospective cohort NutriNet-Santé. *European Journal of Nutrition*, 58(4), 1515–1527. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1682-5>

Seufert, A. L., & Napier, B. A. (2023). A new frontier for fat: dietary palmitic acid induces innate immune memory. *Immunometabolism*, 5(2), e00021. <https://doi.org/10.1097/in9.0000000000000021>

Silberman, S., McGarvey, T. W., Comrie, E., & Persky, B. (1990). The influence of ethanol on cell membrane fluidity, migration, and invasion of murine melanoma cells. *Experimental Cell Research*, 189(1), 64–68. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(90\)90257-b](https://doi.org/10.1016/0014-4827(90)90257-b)

Sindhu, S., Al-Roub, A., Koshy, M., Thomas, R., & Ahmad, R. (2016). Palmitate-Induced MMP-9 Expression in the Human Monocytic Cells is Mediated through the TLR4-MyD88 Dependent Mechanism. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 39(3), 889–900. <https://doi.org/10.1159/000447798>

Suganami, T., Tanimoto-Koyama, K., Nishida, J., Itoh, M., Yuan, X., Mizuarai, S., Kotani, H., Yamaoka, S., Miyake, K., Aoe, S., Kamei, Y., & Ogawa, Y. (2006). Role of the toll-like receptor 4/NF- κ B pathway in saturated fatty Acid-Induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 27(1), 84–91. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000251608.09329.9a>

Takahashi, T., Nau, M. M., Chiba, I., Birrer, M. J., Rosenberg, R. K., Vinocour, M., Levitt, M., Pass, H., Gazdar, A. F., & Minna, J. D. (1989). p53: A Frequent Target for Genetic Abnormalities in Lung Cancer. *Science*, 246(4929), 491–494.

<https://doi.org/10.1126/science.2554494>

Taniguchi, K., & Karin, M. (2018). NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nature Reviews. Immunology*, 18(5), 309–324. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.142>

Teixido, C., Castillo, P., Martinez-Vila, C., Arance, A., & Alos, L. (2021). Molecular markers and targets in melanoma. *Cells*, 10(9), 2320. <https://doi.org/10.3390/cells10092320>

Universidad de Virginia [UVA]. (2022, August 3). *Uveal melanoma - neurosurgery*. Neurosurgery. <https://med.virginia.edu/neurosurgery/services/gamma-knife/disorders-treated/uveal-melanoma/>

Ventura, F., Ruiters, J., IJlst, L., De Almeida, I. T., & Wanders, R. (2005). Differential inhibitory effect of long-chain acyl-CoA esters on succinate and glutamate transport into rat liver mitochondria and its possible implications for long-chain fatty acid oxidation defects. *Molecular Genetics and Metabolism*, 86(3), 344–352. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2005.07.030>

Verma, M. K., Yateesh, A. N., Neelima, K., Pawar, N., Sandhya, K., Poornima, J., Lakshmi, M. N., Yogeshwari, S., Pallavi, P. M., Oommen, A. M., Somesh, B. P., & Jagannath, M. R. (2014). Inhibition of neutral sphingomyelinases in skeletal muscle attenuates fatty-acid induced defects in metabolism and stress. *SpringerPlus*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-255>

Vernieri, C., Casola, S., Foiani, M., Pietrantonio, F., De Braud, F., & Longo, V. (2016). Targeting Cancer metabolism: Dietary and pharmacologic interventions. *Cancer Discovery*, 6(12), 1315–1333. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-16-0615>

Visali, K., Rubavathi, A., Jayasri, S., Vimali, E., & Murugan, A. (2024). Palmitic Acid Synthesis from Coconut Oil Cake Waste using Probiotic Bacteria of Marine Fishes. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(2), 1347–1357. <https://doi.org/10.22207/jpam.18.2.58>

Vriens, K., Christen, S., Parik, S., Broekaert, D., Yoshinaga, K., Talebi, A., Dehairs, J., Escalona-Noguero, C., Schmieder, R., Cornfield, T., Charlton, C., Romero-Pérez, L., Rossi, M., Rinaldi, G., Orth, M. F., Boon, R., Kerstens, A., Kwan, S. Y., Faubert, B., . . . Fendt, S. (2019). Evidence for an alternative fatty acid desaturation pathway increasing cancer plasticity. *Nature*, 566(7744), 403–406. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0904-1>

Wang, G., Krishnamurthy, K., Umapathy, N. S., Verin, A. D., & Bieberich, E. (2009).

The carboxyl-terminal domain of atypical protein kinase CZ binds to ceramide and regulates junction formation in epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 284(21), 14469–14475. <https://doi.org/10.1074/jbc.m808909200>

Wang, J., Li, D., Cang, H., & Guo, B. (2019). Crosstalk between cancer and immune cells: Role of tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment. *Cancer Medicine*, 8(10), 4709–4721. <https://doi.org/10.1002/cam4.2327>

Weitzel, J. N., Blazer, K. R., MacDonald, D. J., Culver, J. O., & Offit, K. (2011a). Genetics, genomics, and cancer risk assessment. *CA a Cancer Journal for Clinicians*, 61(5), 327–359. <https://doi.org/10.3322/caac.20128>

Weitzel, J. N., Blazer, K. R., MacDonald, D. J., Culver, J. O., & Offit, K. (2011b). Genetics, genomics, and cancer risk assessment. *CA a Cancer Journal for Clinicians*, 61(5), 327–359. <https://doi.org/10.3322/caac.20128>

Wen, Y., Zhu, Y., Zhang, C., Yang, X., Gao, Y., Li, M., Yang, H., Liu, T., & Tang, H. (2022). Chronic inflammation, cancer development and immunotherapy. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1040163>

Wilfling, F., Haas, J. T., Walther, T. C., & Farese, R. V., Jr. (2014). Lipid droplet biogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 29, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.03.008>

Wilke, M. S., French, M. A., Goh, Y. K., Ryan, E. A., Jones, P. J., & Clandinin, M. T. (2009). Synthesis of specific fatty acids contributes to VLDL-triacylglycerol composition in humans with and without type 2 diabetes. *Diabetologia*, 52(8), 1628–1637. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1405-9>

World Health Organization: WHO. (2025, February 3). *Cáncer*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

Yamada, H., Hakozaiki, M., Uemura, A., & Yamashita, T. (2019). Effect of fatty acids on melanogenesis and tumor cell growth in melanoma cells. *Journal of Lipid Research*, 60(9), 1491–1502. <https://doi.org/10.1194/jlr.m090712>

Yin, J., Gu, L., Wang, Y., Fan, N., Ma, Y., & Peng, Y. (2015). Rapamycin Improves Palmitate-Induced ER Stress/NFκB Pathways Associated with Stimulating Autophagy in Adipocytes. *Mediators of Inflammation*, 2015(1). <https://doi.org/10.1155/2015/272313>

Zhang, W., Xu, L., Zhu, L., Liu, Y., Yang, S., & Zhao, M. (2021). Lipid droplets, the central hub integrating cell metabolism and the immune system. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.746749>

Zhang, X., Li, X., Xiong, G., Yun, F., Feng, Y., Ni, Q., Wu, N., Yang, L., Yi, Z., Zhang, Q., Yang, Z., Kuang, Y., Sai, B., & Zhu, Y. (2022). Palmitic acid promotes lung metastasis of melanomas via the TLR4/TRIF-Peli1-PNF-KB pathway. *Metabolites*, 12(11), 1132. <https://doi.org/10.3390/metabo12111132>