

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

“PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA”.

Realizado por:

SANDRA ELIZABETH ZAMBRANO CASTILLO

Directora del proyecto:

Dámaris Intriago Baldeón, MSc.

Como requisito para la obtención del título de:

MAGÍSTER EN BIOMEDICINA

Quito, Septiembre del 2021

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, SANDRA ELIZABETH ZAMBRANO CASTILLO, con cédula de identidad 0603560624, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



Sandra Elizabeth Zambrano Castillo

CC: 0603560624

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

“PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β - CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA”.

Realizado por:

SANDRA ELIZABETH ZAMBRANO CASTILLO

como Requisito para la Obtención del Título de:

MAGÍSTER EN BIOMEDICINA

ha sido dirigido por la profesora

DÁMARIS INTRIAGO BALDEÓN, MSc.

quien considera que constituye un trabajo original de su autor

Dámaris Intriago

CC: 0916181647

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

MARBEL TORRES

JOSÉ RUBÉN RAMÍREZ

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador

MARBEL TORRES



JOSÉ RUBÉN RAMÍREZ

Quito, Septiembre del 2021

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

El presente Trabajo de Fin de Carrera ha sido realizado dentro del Programa de Investigación de la Universidad Internacional SEK denominado:

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β - CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA”.

Perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Salud

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mis padres por el apoyo brindado y su eterna dedicación a mi persona. A mis hermanas por sus motivaciones.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios,
a mi tutora de tesis, Dámaris Intriago Baldeón, MSc., por el apoyo prestado desde un
principio, al director del proyecto, Dr. Lino Arisqueta Herranz, Ph.D,
a la Universidad SEK por la apertura, a mi persona y
de manera especial al Ing. David Baéz por su asesoría.

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

Para ser enviado:

To be submitted:

Predicción computacional de las dianas de β -carbolinas de la especie *Banisteriopsis caapi* y sus vías de señalización asociadas en cáncer de mama.

Sandra Zambrano Castillo¹, Damaris P. Intriago-Baldeón¹

¹Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias de la Salud, Quito,
Ecuador. 30/09/2021.

*AUTOR DE CORRESPONDENCIA: Dámaris P. Intriago-Baldeón, MSc.,

Universidad Internacional SEK,

Facultad de Ciencias de la Salud, Quito, Ecuador.

Teléfono: +593-0997800214; email: damaris.intriago@uisek.edu.ec.

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

RESUMEN

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea que se caracteriza por la presencia de un tumor maligno en las glándulas mamarias. Los tratamientos disponibles para esta patología no son efectivos en todos los pacientes y pueden ser tóxicos; por ello, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas contra esta neoplasia maligna. Se ha reportado que las β -carbolinas de la especie de planta *Banisteriopsis caapi* podrían tener potencial anti-cancerígeno. Sin embargo, la información sobre su potencial antitumoral en el contexto del cáncer de mama es escasa. Por lo tanto, el objetivo principal de esta investigación fue identificar las dianas moleculares de las β -carbolinas de la especie *B. caapi* y sus vías de señalización asociadas en el cáncer de mama *in silico* mediante análisis bioinformáticos para realizar su posterior validación *in vitro*.

En base a la literatura científica disponible, se determinó que *B. caapi* posee 3 β -carbolinas: harmina, harmalina y tetrahidroharmina. La identificación computacional de las dianas moleculares incluyó la predicción de interacciones ligando-proteínas (softwares *SEA*, *MolTarPred*, y *SwissTargetPrediction*); el análisis de enriquecimiento para identificar procesos biológicos y vías de señalización asociados a las dianas moleculares predichas (herramienta *DAVID Bioinformatics Resources*); y el análisis de integración de redes metabólicas (softwares *R-Spider*, *CCancer-Spider* y *CytoScape*).

Se obtuvieron un total de 322 dianas moleculares para las 3 β -carbolinas de *B. caapi*, de las cuales 19 dianas moleculares interactúan con las 3 β -carbolinas y 123 dianas moleculares sólo están presentes en la especie *Homo sapiens*. Utilizando estas 123 dianas moleculares humanas, se identificaron 260 procesos biológicos y 79 vías de señalización asociadas a ellas; las vías de señalización PI3K-AKT y FOXO están directamente relacionadas con el cáncer de

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

mama. En base a los modelos de integración de redes metabólicas, se identificaron 9 dianas moleculares directamente relacionadas con el cáncer, el cáncer de mama, la β -carbolina harmina de *B. caapi* y/o la vía de señalización FOXO: MAPK2, IKKA, IKKB, JAK1, JAK2, JAK3, DYRK1A, DYRK1B, y DYRK2. Las 9 dianas moleculares y 2 vías de señalización seleccionadas deben ser validadas *in vitro* utilizando líneas celulares humanas de cáncer de mama.

PALABRAS CLAVE: Cáncer de mama, *Banisteriopsis caapi*, β -carbolinas, dianas moleculares, vías de señalización.

ABSTRACT

Breast cancer is a heterogeneous disease that is characterized by the presence of a malignant tumor in the mammary glands. Current treatments for this illness are not effective in all patients and can be toxic; thus, there is an urgent need to develop new therapeutic strategies against this malignancy. It has been reported that β -carbolines from the plant species *Banisteriopsis caapi* could have anticarcinogenic potential. However, information regarding their anti-tumor potential in the context of breast cancer is scarce. Therefore, the main objective of this research project was to identify the molecular targets of β -carbolines from the species *B. caapi* and their signaling pathways associated with breast cancer *in silico* through bioinformatic analyses to conduct subsequent *in vitro* validation.

Based on available scientific literature, it was determined that *B. caapi* has 3 β -carbolines: harmine, harmaline, and tetrahydroharmine. The computational identification of the molecular targets encompassed the prediction of protein-ligand interactions (softwares *SEA*, *MolTarPred*, and *SwissTargetPrediction*); the enrichment analysis to identify biological processes and signaling pathways associated with the predicted molecular targets (*David Bioinformatics Resources* tool); and the analysis of integration of metabolic networks (softwares *R-Spider*, *CCancer-Spider* and *CytoScape*).

A total of 322 molecular targets for the 3 β -carbolines present in species *B. caapi* were obtained, 19 molecular targets interact with the 3 β -carbolines and 123 molecular targets are only present in species *Homo sapiens*. Using these 123 human molecular targets, 260 biological processes and 79 signaling pathways associated with them were identified; the signaling pathways PI3K-AKT and FOXO are directly related to breast cancer. Based on the models of integration of metabolic networks, 9 molecular targets that are directly related to cancer, breast cancer, the β -carboline harmine present in *B. caapi* and/or the FOXO signaling pathway: MAPK2, IKKA, IKKB, JAK1, JAK2, JAK3, DYRK1A, DYRK1B and DYRK2. The selected

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

9 molecular targets and 2 signaling pathways must be validated *in vitro* using human breast cancer cell lines.

KEYWORDS: Breast cancer, *Banisteriopsis caapi*, β -carbolines, molecular targets, signaling pathways.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 El cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea que se caracteriza por la presencia de un tumor maligno en las glándulas mamarias. El tumor maligno se desarrolla a partir de la proliferación descontrolada de células mamarias que poseen una acumulación de alteraciones genéticas. La diseminación de estas células tumorales desde las glándulas mamarias a otros tejidos y órganos del cuerpo se denomina metástasis; la metástasis es la causa principal de muerte en pacientes con esta patología. Este tipo de cáncer puede presentarse tanto en mujeres como en hombres; sin embargo, esta enfermedad es diagnosticada con mayor frecuencia en mujeres a nivel mundial (Espinosa, 2018).

Las glándulas mamarias son órganos localizados a nivel del pecho las cuales están constituidas por múltiples lóbulos y lobulillos en los que se produce la leche. Estos lóbulos y lobulillos están conectados entre sí por los conductos galactóforos que conducen la leche hacia el pezón. Cada glándula mamaria posee entre 15 y 20 lóbulos. Las glándulas mamarias también están formadas por el tejido conectivo que las rodea, el cual sostiene todas sus partes. Adicionalmente, las glándulas mamarias contienen vasos sanguíneos que proporcionan sangre y vasos linfáticos que recogen la linfa (Arroyo Yustos et al., 2017).

El cáncer de mama se inicia generalmente en los conductos mamarios (carcinoma ductal); sin embargo, un 10% de los casos se inicia en los lóbulos mamarios (carcinoma lobulillar). Se sospecha que la mayoría de los carcinomas ductales se inician en una forma no invasiva que se denomina carcinoma intraductal. Este carcinoma intraductal no se disemina a otros órganos ni genera metástasis; sin embargo, si este carcinoma no es tratado a tiempo, se puede transformar en un cáncer invasivo de mama (Martín et al., 2015).

1.1.1 Epidemiología y factores de riesgo

La base de datos online de la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, siglás en inglés), GLOBOCAN, muestra en sus estadísticas del año 2020 que el cáncer de mama ocupa el primer lugar tanto en incidencia como en mortalidad en la población femenina mundial. Durante el año 2020, se registraron 2 '261,419 nuevos casos de cáncer de mama y 684,996 muertes en mujeres a nivel global. En nuestra región, América Latina y el Caribe, se registraron 210,100 nuevos casos de cáncer de mama y 57,984 muertes en la población femenina en el año 2020 (GLOBOCAN, 2020).

En Ecuador, el cáncer de mama también ocupa el primer lugar tanto en incidencia como en mortalidad en la población femenina. Durante el año 2020, se registraron 213,663 nuevos casos de cáncer de mama y 59,040 muertes en mujeres ecuatorianas (GLOBOCAN, 2020).

El cáncer de mama es una enfermedad multifactorial; los principales factores de riesgo que están asociados a esta enfermedad son los antecedentes familiares de esta patología con un alto potencial de invasión local y de metástasis, el estilo de vida, y los antecedentes gineco-obstétricos como la menarquía, la nuliparidad, la edad tardía del primer embarazo, la menopausia tardía, entre otros. Además, la obesidad es una de las principales causas de morbimortalidad prevenible, especialmente en mujeres postmenopáusicas (Torres et al., 2017).

1.1.2 Subtipos moleculares del cáncer de mama y su prognosis

Los estudios de segregación de subtipos histológicos han identificado cuatro subtipos moleculares intrínsecos distintos: luminal A, luminal B, HER2-enriquecido y triple-negativo (Hon et al., 2016).

Según Fragomeni, et al. (2018), el subtipo luminal A se caracteriza por ser positivo para el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PR) y negativo para el receptor

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). Este subtipo representa el 30-40% de todos los cánceres invasivos de mama como los carcinomas bien diferenciados de ningún tipo especial (NST), los carcinomas lobulares clásicos, los carcinomas tubulares, los carcinomas mucinosos, los carcinomas neuroendocrinos y los carcinomas cribiformes. Este subtipo posee mutaciones en los genes PIK3CA, MAP3KI, GATA3, y FOXA1 junto con una alta expresión de los genes ESR1 y XBP1.

El subtipo luminal B se caracteriza por ser positivo para el receptor ER (<20%) y/o el receptor PR y positivo para el receptor HER2. Este subtipo representa el 20-30% de los cánceres invasivos de mama como el carcinoma ductal y el carcinoma micropapilar. Este subtipo posee mutaciones en los genes TP53 y PIK3CA (Fragomeni, et al., 2018).

El subtipo HER2-enriquecido se caracteriza por ser positivo para el receptor HER2 y negativo para los receptores ER y PR. Este subtipo representa el 15-30% de todos los cánceres de mama. HER2 es un receptor transmembrana de tirosina quinasa que regula el crecimiento, la proliferación y la supervivencia celular a través de varias vías de señalización como las vías mTOR y RAS/RAF/MEK/ERK (Fragomeni, et al., 2018).

Según Hon et al. (2016), el subtipo triple-negativo representa el 10-30% de todos los cánceres de mama. Este subtipo de cáncer de mama se subdivide en seis subtipos: el subtipo “basal-like 1” (BL1), el subtipo “basal-like 2” (BL2), el subtipo inmunomodulador (IM), el subtipo mesenquimal (M), el subtipo “mesenchymal stem-like” (MSL) y el subtipo “luminal androgen receptor” (LAR).

Según una investigación realizada por Hennigs et al. (2016), los pacientes con subtipos de cáncer de mama luminal A y luminal B con presencia del receptor HER2 tienen la mejor prognosis, es decir altas probabilidades de supervivencia. En contraste, los pacientes con el subtipo de cáncer de mama triple-negativo tienen la peor prognosis, es decir bajas

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

probabilidades de superar la enfermedad. Esto se debe a que este subtipo de cáncer de mama es altamente agresivo y existe una ausencia de estrategias terapéuticas eficaces que pueden ser implementadas para tratarlo; además, tratamientos como la hormonoterapia o el uso de anticuerpos monoclonales anti-HER2 como el Trastuzumab no pueden ser empleados en este contexto por la ausencia de los receptores hormonales y el receptor HER2 en este subtipo.

1.1.4 Tratamientos actuales para el cáncer de mama.

En la actualidad y gracias a los avances científicos, existen diferentes tratamientos para el cáncer de mama como la cirugía, la quimioterapia, la radioterapia y las terapias biológicas.

El tratamiento quirúrgico o cirugía permite extirpar el tumor y analizar afecciones de los ganglios de la axila. Sus aplicaciones son la mastectomía radical modificada para el tratamiento locorregional, la tumorectomía o cuadrantectomía, y el abordaje de la axila en el que se destaca la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) (Arroyo Yustos et al., 2017).

La radioterapia constituye un tratamiento básico dentro del manejo clínico del cáncer de mama, tanto en enfermedad localizada como en enfermedad en estados avanzados. Esta terapia puede tener una finalidad adyuvante (complementaria a la cirugía) para reducir el riesgo de recidiva local (a nivel de la mama o pared) y/o regional (a nivel de ganglios) ó paliativa para aliviar síntomas provocados por el cáncer de mama o la presencia de metástasis (Arroyo Yustos et al., 2017).

La quimioterapia es uno de los pilares del tratamiento sistémico del cáncer de mama junto con la hormonoterapia que se aplica en el tratamiento de los subtipos luminales (tumores positivos para receptores hormonales ER y/o PR y negativos para el receptor HER2). De la misma forma que en el caso de la hormonoterapia, la quimioterapia se administra en tres

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

escenarios: adyuvante o después de la cirugía, neoadyuvante o pre-quirúrgica y en la enfermedad metastásica (Arroyo Yustos et al., 2017).

La terapia biológica induce al sistema inmunológico a identificar y eliminar a las células tumorales, por lo cual también es conocida como inmunoterapia. Existen algunos tipos de inmunoterapia como los inhibidores de puntos de control inmunitario, la terapia de transferencia de células T y los inmunomoduladores. La terapia biológica no se aplica de manera estricta como la quimioterapia, la radioterapia y la cirugía. De igual manera que los demás tratamientos, la inmunoterapia produce efectos secundarios, especialmente cuando el sistema inmunitario se ha hiperactivado para atacar al cáncer. En este escenario, el sistema inmunológico también podría destruir células y tejidos sanos del organismo (Instituto Nacional del Cáncer, 2019).

1.2 *Banisteriopsis caapi*

La *Banisteriopsis caapi* es una planta psicotrópica perteneciente a la familia Malpighiaceae, género *Banisteriopsis*, y especie *caapi*. Los nombres comunes que están asociados a esta especie se derivan del idioma de las tribus nativas del Amazonas; éstos son “Ayahuasca Vine”, “Caapi”, “Bejuco de oro”, “Kaapi”, “Kahi”, “Vine of the Soul”, “Biixa”, “Dapa”, “Maridi”, “Yage”, “Yahe”, “Mihi”, “Natema”, “Yaje”, “Pinde”, “Yaxe”, y “Totenliane” (Morales-García et al., 2017).

Tradicionalmente, la *B. caapi* ha sido considerada como una "planta maestra" para la estimulación del pensamiento creativo y la creatividad visual con fines ritualísticos. Sin embargo, esta especie también es utilizada por los curanderos para tratar trastornos psicológicos en los pacientes. Algunos de sus efectos terapéuticos han sido validados a nivel experimental y clínico (Estrella-Parra et al., 2019).

1.3 Las β -carbolinas.

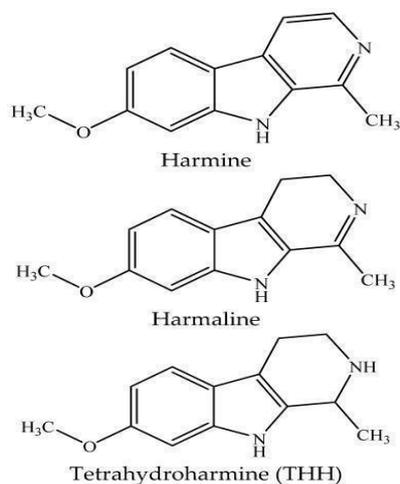
Las β -carbolinas pertenecen al gran grupo de alcaloides indol naturales y sintéticos que poseen una estructura de anillo pirido indol tricíclico común. Inicialmente, las β -carbolinas se aislaron de la especie de planta *Peganum harmala*. Las semillas de *P. harmala* se han utilizado durante cientos de años para tratar los cánceres del tracto digestivo y la malaria en el noroeste de China. A partir de *P. harmala*, se obtuvo la β -carbolina denominada harmina. Durante las dos últimas décadas, se han aislado e identificado numerosas β -carbolinas simples y complejas a partir de varias plantas terrestres, incluyendo *B. caapi* (Cao et al., 2007).

La bebida tradicional indígena denominada “ayahuasca” se prepara utilizando varias especies de plantas como la especie *B. caapi* que posee β -carbolinas y la especie *Psychotria viridis* que contiene la sustancia alucinógena N,N-dimetiltriptamina (DMT). En este contexto, las β -carbolinas presentes en *B. caapi* inhiben el metabolismo de la DMT por la monoamino oxidasa A (MAO-A) periférica; esto permite que el DMT interactúe con los receptores corticales 5-HT_{2A} a nivel del sistema nervioso (Dos Santos et al., 2017).

1.3.1 β -carbolinas presentes en la especie *Banisteriopsis caapi*.

El análisis químico de la bebida “ayahuasca” permitió identificar y aislar la primera β -carbolina a partir de la especie *B. caapi*: la harmina. Esta β -carbolina fue reportada previamente en la especie *Peganum harmala*. Posteriormente, se documentó la presencia de otras dos β -carbolinas en *B. caapi*, la harmalina y la tetrahydroharmina (THH) (Dos Santos et al., 2017; Frecska et al., 2016). Las estructuras químicas de las β -carbolinas de *B. caapi* están descritas en la **Figura 1**. En la bebida “ayahuasca”, las concentraciones de β -carbolinas son de 0.31-8.43% de harmina, 0.03-0.83% de harmalina y 0.05-2.94% de tetrahydroharmina (Culture, 2020).

Figura 1. Estructuras químicas de las β -carbolinas harmina, harmalina y tetrahydroharmina de la especie *B. caapi*. Imagen tomada de Santos et al., 2020.



Las β -carbolinas de *B. caapi* promueven la neurogénesis *in vitro* al estimular la expansión del conjunto de progenitores neurales e inducir su migración y su diferenciación en un fenotipo neuronal. Esto sugiere que este tipo de alcaloides no solo actúan como mitógenos para las células madre neurales, sino que también modulan el destino celular (Morales-García et al., 2017; Dos Santos et al., 2017).

Los efectos biológicos y farmacológicos de las β -carbolinas en las células procariotas y eucariotas son inducidos en parte debido a su capacidad de intercalarse en el ADN; esto ocasiona alteraciones en el proceso de replicación del ADN o afecta a las actividades enzimáticas que están involucradas en el proceso de reparación del ADN (Cao et al., 2007). Las β -carbolinas ejercen un amplio espectro de acción lo cual incluye efectos antimicrobianos, anti-VIH y antiparasitarios. (Nafisi et al., 2010).

1.3.2 Potencial anti-cancerígeno de las β -carbolinas.

Varias investigaciones previas han demostrado que las β -carbolinas exhiben actividad citotóxica significativa *in vitro* en un panel de líneas celulares tumorales humanas que representan al carcinoma de pulmón de células no pequeñas (PLA-801), el carcinoma de hígado (HepG2 y Bel-7402), el carcinoma gástrico (BGC-823), el carcinoma de cuello uterino (HeLa) y el carcinoma de colon (LoVo). Recientemente, se determinó que las β -carbolinas ejercen potentes efectos citotóxicos en líneas celulares humanas de cáncer de mama como MCF-7 (Cao et al., 2007).

La harmina y numerosos derivados de las β -carbolinas pueden actuar como inhibidores potentes y específicos de las quinasas dependientes de ciclinas (CDK). Por ejemplo, la harmina inhibe a CDK1, CDK2 y CDK5 (Cao et al., 2007). Además, la harmina exhibe actividad antimicrobiana, antifúngica, antitumoral, citotóxica, antiplasmodial, antioxidante, antimutagénica, antigenotóxica y alucinógena. La citotoxicidad de la harmina fue evaluada mediante el ensayo de micronúcleos bloqueados con citocalasina b y el ensayo de viabilidad / formación de colonias utilizando cuatro líneas celulares humanas, incluyendo a las células HeLa y las células SW480 no transformadas. La harmina inhibió la proliferación celular en todas las líneas celulares tumorales humanas. Adicionalmente, se ha documentado la disminución en la formación de vasos capilares dirigidos por el tumor gracias al potencial efecto anti-angiogénico de la harmina (Patel et al., 2012).

La harmalina ejerce numerosos efectos clínicos, incluyendo efectos antitumorales los cuales fueron estudiados por primera vez en la década de 1970. Además, esta β -carbolina está asociada con un bajo riesgo de efectos adversos. En ensayos *in vitro*, se ha observado que la harmalina aumenta significativamente la expresión de la proteína p53 en la línea celular humana de carcinoma de hígado HepG2; adicionalmente, la harmalina inhibe significativamente la

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

viabilidad y aumenta la apoptosis en esta línea celular. Finalmente, la harmalina induce la apoptosis y la detención del ciclo celular en las fases G₂ / M a través de la regulación positiva de la vía de señalización Fas/FasL en la línea celular humana de carcinoma gástrico SGC-7901 (Xu et al., 2018).

1.4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

Existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que sean seguras y efectivas para los pacientes que padecen cáncer de mama. Las terapias convencionales disponibles contra el cáncer de mama no suelen ser efectivas en todos los pacientes y pueden ser muy tóxicas para ellos, como es el caso de la quimioterapia (Beracasa et al., 2021). La biodiversidad del Ecuador constituye una fuente natural de especies de plantas y animales que poseen compuestos que podrían tener potencial terapéutico (Mendoza et al., 2020). Investigaciones previas sobre las β -carbolinas de la especie *Banisteriopsis caapi* brindan indicios de que estas moléculas podrían tener potencial anti-tumoral (Cao et al., 2007). Sin embargo, existe escasa información sobre el potencial anti-cancerígeno de las β -carbolinas en el contexto del cáncer de mama (Cao et al., 2007).

Por lo tanto, se llevó a cabo el presente proyecto de investigación para realizar la predicción de las dianas moleculares de las β -carbolinas de *B. caapi* mediante herramientas bioinformáticas en el contexto del cáncer de mama, con el fin de poder validarlas *in vitro* en el futuro. Para ello, se planteó la siguiente pregunta de investigación:

¿Es posible predecir dianas moleculares de las β -carbolinas de la especie *Banisteriopsis caapi* y sus vías de señalización asociadas en el cáncer de mama mediante análisis bioinformáticos?.

1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.

En base a la pregunta de investigación, se generó una hipótesis que fue evaluada mediante el presente estudio:

Sí es posible predecir dianas moleculares de las β -carbolinas de la especie *Banisteriopsis caapi* y sus vías de señalización asociadas en el cáncer de mama mediante análisis bioinformáticos.

1.6. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1.6.1 OBJETIVO GENERAL.

- ❖ Identificar las dianas moleculares de las β -carbolinas de la especie *Banisteriopsis caapi* y sus vías de señalización asociadas en el cáncer de mama *in silico* mediante análisis bioinformáticos para realizar su posterior validación *in vitro*.

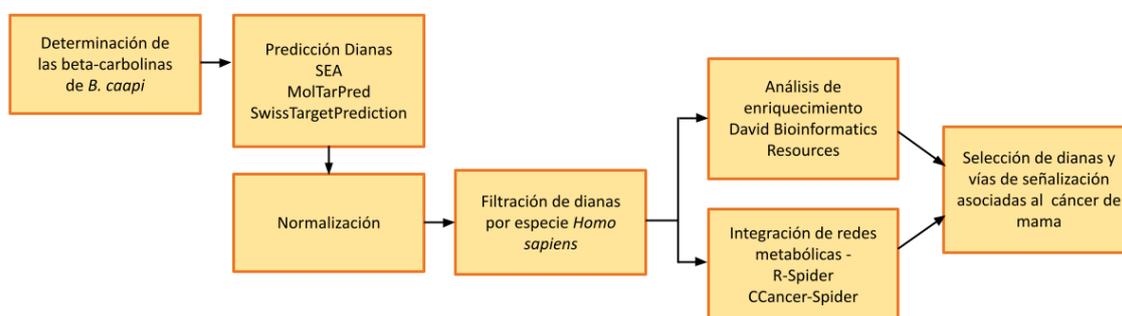
1.6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ❖ Determinar las potenciales dianas moleculares que podrían interactuar con las β -carbolinas de la especie *Banisteriopsis caapi* utilizando herramientas bioinformáticas de predicción ligando-proteínas (“*target-fishing*”).
- ❖ Analizar los procesos biológicos y vías de señalización en donde participan estas dianas moleculares mediante un análisis de enriquecimiento (“*enrichment analysis*”).
- ❖ Seleccionar las dianas moleculares y vías de señalización más relevantes en el contexto del cáncer de mama utilizando literatura científica relacionada con esta patología.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

El diagrama de flujo que describe la metodología que fue empleada en esta investigación se muestra en la **Figura 2**.

Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de predicción computacional de las dianas de β -carbolinas de la especie *B. caapi*.



Primero, se identificaron las β -carbolinas presentes en la especie de planta *Banisteriopsis caapi* mediante una revisión de literatura científica. La especie *B. caapi* posee tres β -carbolinas: la harmina, la harmalina y la tetrahidroharmina (Santos et al. 2020). Los códigos SMILES que representan la estructura química de cada una de las β -carbolinas de *B. caapi* están descritos en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Códigos SMILES de las β -carbolinas de *B. caapi*.

Compuestos	Canonical SMILES	SMILES	Fuentes
Harmina	<chem>CC1=NC=CC2=C1NC3=C2C=CC(=C3)OC</chem>	<chem>O(c1cc2[nH]c3c(c2cc1)ccnc3C)C</chem> 5280953	PubChem
Harmalina	<chem>CC1=NCCC2=C1NC3=C2C=CC(=C3)OC</chem>	<chem>CC1=NCCc2c1[nH]c1c2ccc(c1)OCC13H14N2O</chem>	PubChem
Tetrahidroharmina	<chem>CC1=NC=CC2=C1NC3=C2C=CC(=C3)OC</chem>	<chem>O(c1cc2[nH]c3[C@H](NCCC3c2cc1)C)C</chem> 159809	Hamill et al., 2019

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

A continuación, se llevó a cabo la predicción de interacciones ligando-proteínas utilizando tres softwares bioinformáticos denominados *SEA*, *MolTarPred*, y *SwissTargetPrediction* para determinar las potenciales dianas moleculares de las β -carbolinas de *B. caapi*. Luego de que se obtuvieron los resultados correspondientes a partir de cada uno de los tres softwares, se procedió a realizar una normalización de los datos ya que los índices de significancia generados por cada uno de los programas bioinformáticos para cada una de las dianas moleculares predichas estaban expresados en diferentes escalas. En este contexto, era importante expresar estos datos utilizando la misma escala. A continuación, las dianas moleculares predichas fueron filtradas por especie *Homo sapiens*.

Posteriormente, se realizó un análisis de enriquecimiento para identificar los procesos biológicos y las vías de señalización que están asociados a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* mediante la plataforma *DAVID Bioinformatics Resources*. Después, se realizó un análisis de integración de redes metabólicas asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* utilizando las herramientas bioinformáticas *R-Spider*, *CCancer-Spider* y *CytoScape*.

2.1 Identificación de las β -carbolinas de la especie *B. caapi*.

Según la literatura científica disponible, la especie *B. caapi* posee tres β -carbolinas: la harmina, la harmalina y la tetrahydroharmina (Santos et al., 2020).

2.2 Predicción de interacciones ligando-proteínas

Mediante la aplicación de herramientas computacionales, es posible predecir las interacciones ligando-proteínas con el objetivo de cuantificar y comparar las propiedades químicas de moléculas pequeñas. Para identificar las dianas moleculares de las β -carbolinas de

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

B. caapi, se utilizaron tres softwares bioinformáticos: *SEA* (*Similarity Ensemble Approach*) (Irwin et al., 2018), *MolTarPred* (*Molecular Target Prediction*) (Peón et al., 2019) y *SwissTargetPrediction* (Daina et al., 2019).

2.2.1 Enfoque de conjunto de similitud (*Similarity ensemble approach, SEA*)

El Enfoque de Conjunto de Similitud Química (*SEA*) (<https://sea.bkslab.org/>) realiza la predicción de las dianas moleculares de un compuesto en base a la similitud estructural existente entre esta sustancia y los ligandos. Este programa bioinformático identifica las similitudes químicas presentes entre conjuntos de ligandos y filtra aquellas señales que no son confiables. Finalmente, el software normaliza los resultados para establecer la importancia de la similitud farmacológica de cada diana (Irwin et al., 2018).

2.2.2 Predicción de objetivo molecular (*Molecular Target Prediction, MolTarPred*)

Esta herramienta computacional (<https://moltarpred.marseille.inserm.fr/>) es de libre acceso mediante un servidor web. Este software bioinformático predice potenciales interacciones entre proteínas y compuestos orgánicos mediante una gran base de información que incluye 607,659 compuestos y 4,553 objetivos macromoleculares provenientes de la base de datos ChEMBL. Las predicciones generadas son organizadas en una tabla que incluye puntajes de confianza los cuales permitirán establecer futuros ensayos experimentales en base a aquellas predicciones más confiables (Peón et al., 2019).

2.2.3 Predicción de objetivos (*SwissTargetPrediction*)

SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) es una herramienta bioinformática provista por el Instituto Suizo de Bioinformática. Este software predice potenciales dianas proteicas para moléculas pequeñas. Este análisis se lleva a cabo en base al

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

principio de similitud. Primero, se comparan moléculas similares en 2D y 3D lo cual permite generar predicciones. A continuación, se obtiene una lista de dianas proteicas provenientes de una amplia base de datos de compuestos conocidos que son experimentalmente activos que forman parte de un gran grupo de 3068 dianas macromoleculares que está registrado en ChEMBL y UniProt (Daina et al., 2019).

2.3 Normalización

Dado a que cada una de las herramientas computacionales que fueron utilizadas durante esta investigación emplearon diferentes métodos de análisis bioinformático para generar sus predicciones, se realizó la normalización de los resultados obtenidos.

Durante este proceso, se utilizaron las ecuaciones descritas por López-Cortés et al. (2018) y Tejera et al. (2017). Primero, se le asignó a proteína “i” en cada método de predicción “j”. Luego, al compuesto “k”, se le otorgó un número de ordenamiento ($ranking_{i,j}$) en base a su valor de significancia. Con esta información, se calculó el puntaje que tenía cada proteína “i” en el método “j” ($Score_{i,j,k}$) utilizando la **Ecuación 1**.

$$Score_{i,j,k} = \frac{maxranking_{j,k} - ranking_{i,j,k}}{maxranking_{j,k} - minranking_{i,j,k}} \quad (Ecuación 1)$$

A continuación, se calcula el puntaje final de cada proteína predicha “i” con respecto al compuesto “k” ($FinalScore_{i,k}$) mediante la **Ecuación 2**. En esta ecuación, “N” corresponde al número de métodos empleados (3), mientras que “n” constituye el número de métodos que identificaron a la proteína “i”.

$$Final\ Score_{i,k} = \sqrt{\frac{n_i}{N} \sum_{j=1}^N Score_{i,j,k}} \quad (Ecuación 2)$$

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

Posteriormente, se determinó un segundo puntaje para todas las dianas predichas tomando en consideración el número de grupos y el número de compuestos por grupo. Esta segunda puntuación de la proteína “i” en el grupo “m” ($ScoreF_{i,m}$) fue calculada utilizando la **Ecuación 3**. En esta ecuación, “nc” corresponde al número de moléculas presentes en el grupo “m” que interactúan con la proteína “i” y “nc_m” constituye el número de moléculas que forman parte del grupo “m”.

$$ScoreF_{i,m} = \sqrt{\frac{n}{nc_m} \sum_{k=1}^{nc_m} FinalScore_{i,k}} \quad (\text{Ecuación 3})$$

2.4 Filtración de las dianas moleculares predichas por especie *Homo sapiens*.

Luego de la normalización de los datos de significancia generados por los programas bioinformáticos *SEA*, *MolTarPred* y *SwissTargetPrediction* para cada una de las dianas moleculares predichas, se obtuvo una lista de dianas moleculares que pertenecían a varias especies animales, incluyendo al ser humano (*Homo sapiens*). Esta lista está descrita en el **Anexo A**. A continuación, se realizó una filtración de las dianas por especie *Homo sapiens* con el fin de obtener una lista de dianas moleculares predichas que sólo están presentes en nuestra especie. Esta lista final de dianas moleculares predichas está descrita en el **Anexo B**.

2.5 Análisis de enriquecimiento

Este método de análisis bioinformático resume grandes listas de genes en listas más pequeñas que describen procesos biológicos, vías de señalización, y enfermedades las cuales son más fáciles de interpretar. Las listas generadas a partir del análisis de enriquecimiento poseen cierto nivel de relevancia estadística la cual es evaluada mediante el “*test de Fisher*” o

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

utilizando un método similar a esta prueba estadística como el test hipergeométrico (Reimand et al., 2019).

En esta investigación, se llevó a cabo el análisis de enriquecimiento utilizando la herramienta bioinformática denominada *DAVID Bioinformatics Resources* (<https://david.ncifcrf.gov/>). El software *DAVID Bioinformatics Resources* clasifica e interpreta funcionalmente grandes listas de genes y proteínas (Dennis et al., 2003; Jiao et al., 2012).

Esta herramienta bioinformática posee una base de datos que incorpora conocimiento biológico integrado y un grupo de métodos de análisis que permiten obtener una gran cantidad de información biológica a partir de amplias listas de genes y proteínas. Esta información proviene de estudios genómicos y proteómicos que identificaron vías biológicas sobrerrepresentadas, visualizaron listas de genes superpuestos, establecieron asociaciones de genes y enfermedades, y determinaron interacciones entre proteínas (Huang et al., 2009; Jiao et al., 2012).

Mediante el software *DAVID Bioinformatics Resources*, se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento para determinar las dianas moleculares que están relacionadas entre sí tomando en consideración dos tipos de enriquecimientos: el enriquecimiento biológico - *gene ontology* (GO) y el enriquecimiento biológico - vías de señalización utilizando la base de datos KEGG (Moore et al., 2016).

En cada uno de estos análisis bioinformáticos, se tomó en cuenta el valor p (significancia estadística) del enriquecimiento, el enriquecimiento acumulado ("*Fold Enrichment*") que identifica cuántas veces fue enriquecida la vía de señalización o el proceso biológico, la tasa de descubrimiento de falsos ("*False Discovery Rate o FDR*") que indica la probabilidad de error tipo II, y el peso de los enriquecimientos (WPx) que es un valor que se determina en base a un

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

ponderado de los puntajes de significancia (“*Final Score*”) de las dianas moleculares predichas en cada vía de señalización o proceso biológico enriquecido.

Se realizó un ponderado de los procesos biológicos y vías de señalización enriquecidos utilizando la **Ecuación 4**. Para llevar a cabo este cálculo, se tomaron en cuenta las dianas moleculares que estaban presentes en cada proceso o vía y se emplearon los valores ($Score_{F_{i,m}}$) de cada diana que fueron obtenidos durante el proceso de normalización.

$$WP_x = \frac{\sum \text{Score de diana presente en el proceso/ruta}}{\sum \text{Score de diana humana del cluster}} \quad (\text{Ecuación 4})$$

2.6 Redes de integración de redes metabólicas.

El análisis de integración de redes metabólicas fue realizado utilizando las herramientas bioinformáticas *R-Spider* y *CCancer-Spider* (http://www.bioprofiling.de/R_spider.html). *R-Spider* implementa un marco estadístico a partir de la lista de genes que forman parte de la red global, mientras que *CCancer-Spider* aplica un procedimiento similar al de *R-Spider* pero se enfoca en los genes que tienen relevancia en el cáncer (Antonov et al., 2010). Por otro lado, se utilizó *CytoScape* para trabajar con redes metabólicas más grandes, realizar la importación de resultados de redes STRING y visualizar datos adicionales (Doncheva et al., 2016).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

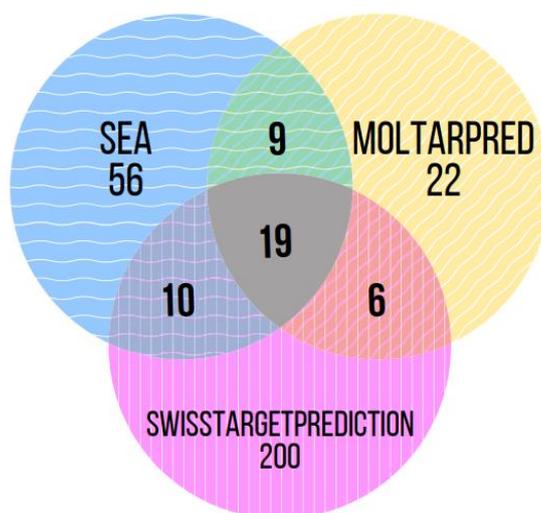
3.1 Predicción computacional de potenciales dianas moleculares de las β -carbolinas de *B. caapi*.

Con las herramientas bioinformáticas anteriormente descritas, se realizó la predicción de las dianas moleculares que podrían interactuar con las β -carbolinas de *B. caapi*: harmina, harmalina y tetrahydroharmina. Se obtuvieron un total de 322 dianas moleculares. Los resultados sobre el número de dianas moleculares que fueron predichas por cada uno de los

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

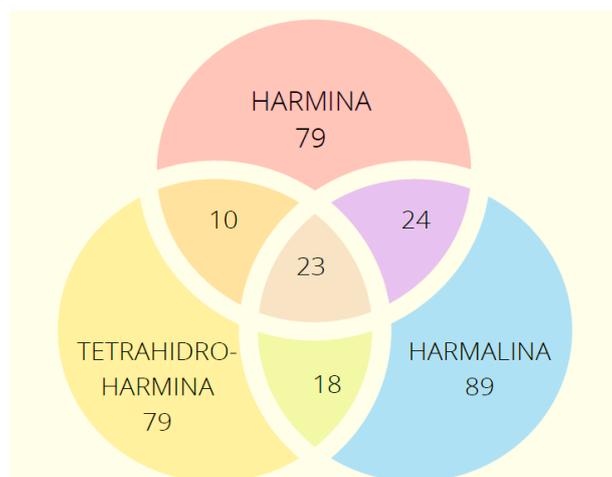
softwares bioinformáticos utilizados (*SEA*, *MolTarPred* y *SwissTargetPrediction*) están descritos en la **Figura 3**. Del total de 322 dianas moleculares predichas, se identificaron 56 dianas moleculares exclusivas utilizando el software *SEA*, 22 dianas moleculares exclusivas mediante el software *MolTarPred* y 200 dianas moleculares exclusivas utilizando el software *SwissTargetPrediction*. En este contexto, 19 dianas moleculares fueron predichas por las tres herramientas bioinformáticas.

Figura 3. Diagrama de Venn: dianas moleculares de las β -carbolinas de *B. caapi* predichas mediante los softwares bioinformáticos *SEA*, *MolTarPred* y *SwissTargetPrediction*.



Además, se realizó la predicción de dianas moleculares para cada una de las β -carbolinas de *B. caapi*; estos resultados están descritos en la **Figura 4**. Se identificaron 79 dianas moleculares exclusivas para la harmina, 89 dianas moleculares exclusivas para la harmalina y 79 dianas moleculares exclusivas para la tetrahydroharmina. En este caso, 23 dianas moleculares fueron predichas para las tres β -carbolinas presentes en *B. caapi*.

Figura 4. Diagrama de Venn: dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* harmina, harmalina y tetrahidroharmina.



Una vez obtenida la lista de potenciales dianas moleculares, éstas se filtraron por especie *Homo sapiens*, tal y como se describe en la sección materiales y métodos (**apartado 2.4**), con el fin de seleccionar aquellas dianas que sólo están presentes en los seres humanos. Este paso de filtración se realizó debido a que la presente investigación se enfocó en el cáncer de mama en nuestra especie. La lista de dianas moleculares predichas que son exclusivas de los seres humanos está descrita en el **Anexo B**. Luego de la filtración, se obtuvieron un total de 123 dianas moleculares. Con este conjunto de 123 dianas moleculares, se llevó a cabo el análisis de enriquecimiento.

3.2 Análisis de enriquecimiento

3.2.1 Identificación de procesos biológicos asociados a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi*

Para poder analizar la relevancia de las dianas predichas por los tres softwares empleados, realizamos un análisis de enriquecimiento. Un total de 260 procesos biológicos fueron identificados mediante el análisis de enriquecimiento realizado por el programa *DAVID Bioinformatics Resources*. La lista que incluye a los 4 procesos biológicos con mayor

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

significancia estadística ($p < 0,05$) está descrita en la **Tabla 2**, mientras que la lista que incluye a todos los procesos biológicos que fueron generados durante esta etapa de la investigación está descrita en el **Anexo C**.

El valor p (“*p-value*”) hace referencia al nivel de significancia estadística del enriquecimiento. El enriquecimiento acumulado (“*Fold Enrichment*”) describe la cantidad de veces que fue enriquecido el proceso biológico. La tasa de descubrimiento de falsos (“*False Discovery Rate*”, FDR) indica la probabilidad de error. Por último, el peso de los enriquecimientos (WPx) es un valor ponderado que se obtiene en base a los puntajes de significancia de cada una de las dianas moleculares predichas que son parte del proceso biológico.

En la lista de procesos biológicos enriquecidos descrita en la **Tabla 2**, el proceso denominado fosforilación de proteínas (“*protein phosphorylation*”) tiene la mayor significancia estadística con un valor de enriquecimiento de 7.78, un valor FDR 2.84×10^{-12} , un valor p de 2.14×10^{-15} y un valor wpx de 2.18×10^{-1} .

Tabla 2. Procesos biológicos asociados a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* con mayor significancia estadística.

Código	Procesos biológicos	Fold Enrichment	FDR	P Value	Valor wpx
GO:0006468	Protein phosphorylation	7.78405363	2.84E-12	2.14E-15	2.18E-01
GO:0007268	Chemical synaptic transmission	11.37669377	6.36E-12	9.63E-15	1.98E-01
GO:0042493	Response to drug	9.430680359	2.70E-11	6.13E-14	1.79E-01

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0007187 G-protein coupled 32.64616472 3.04E-10 9.21E-13 1.11E-01
receptor signaling
pathway, coupled
to cyclic nucleotide
second Messenger

La fosforilación de proteínas es un mecanismo de regulación de procesos celulares como la síntesis de proteínas, la división celular, y la transducción de señales. Por ejemplo, durante la transducción de señales a nivel intracelular, enzimas y receptores se activan y desactivan por eventos de fosforilación y desfosforilación que están mediados por quinasas y fosfatasa, respectivamente. Además, la fosforilación de proteínas constituye uno de los pasos iniciales en la coordinación de procesos fisiológicos vitales como la proliferación, la apoptosis, el tráfico subcelular, y la inflamación. Por lo tanto, este proceso biológico está involucrado en el desarrollo tumoral. La hiperactividad de cinasas, su mal funcionamiento o sobreexpresión puede promover el desarrollo de enfermedades humanas como las neoplasias. Enzimas como las quinasas dependientes de ciclinas son actores principales en la regulación del ciclo celular y se ha demostrado que las alteraciones en su función promueven el desarrollo de varios tipos de cáncer (Ardito et al., 2017; Singh et al., 2017).

3.2.2. Vías de señalización asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi*.

Un total de 79 vías de señalización fueron identificadas mediante el análisis de enriquecimiento que se llevó a cabo utilizando el programa *DAVID Bioinformatics Resources*. La lista que incluye a las 6 vías de señalización con mayor significancia estadística ($p < 0,05$)

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

está descrita en la **Tabla 3**, mientras que la lista que incluye a todas las vías de señalización que fueron identificadas por el software bioinformático está descrita en el **Anexo D**.

En base a estos resultados, se realizó una búsqueda bibliográfica que nos permitiera discriminar aquellas vías de señalización que están directamente relacionadas con el cáncer de mama. En ese sentido, las dos vías de señalización seleccionadas a partir de la **Tabla 3** fueron: “*FoxO signaling pathway*” y “*PI3K - Akt signaling pathway*”. De hecho, la primera vía de señalización está conformada por los factores de transcripción FOXO, los cuales constituyen dianas corriente abajo de la vía de señalización PI3K-AKT, cuya desregulación está directamente relacionada con la tumorigénesis (Farhan et al., 2017; Rodgers et al., 2017).

Tabla 3. Vías de señalización asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* obtenidas a partir de la base KEGG.

Código	Vías de señalización	Fold Enrichment	FDR	P Value	Valor wpx
hsa04024	cAMP signaling pathway	4.754226475	1.73E-04	1.40E-05	1.06E-01
hsa04022	cGMP-PKG signaling pathway	5.041239174	4.31E-04	5.30E-05	8.33E-02
hsa04068	FoxO signaling pathway	5.403770621	5.00E-04	8.09E-05	6.27E-02
hsa04668	TNF signaling pathway	6.090605017	5.33E-04	9.69E-05	6.15E-02
hsa04660	T cell receptor signaling pathway	5.792842105	0.001601824	4.05E-04	5.28E-02

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

hsa04151 PI3K-Akt signaling 2.938398169 0.00279506 7.62E-04 9.32E-02
pathway

La familia de proteínas forkhead box (FOX) consta de 19 subfamilias de factores de transcripción que comparten un dominio de unión al ADN altamente conservado de aproximadamente 110 aminoácidos, el dominio forkhead box, también conocido como dominio de hélice alada. Dentro de esta familia, el subgrupo O (FOXO) está conformado por cuatro miembros: FOXO1 (FKHR), FOXO3 (FKHRL1), FOXO4 (AFX) y FOXO6 (Beretta et al., 2019).

Los FOXOs están involucrados en la transcripción de genes implicados en el ciclo celular, la regulación de la apoptosis y la farmacorresistencia. Como resultado, los FOXOs pueden incidir en la respuesta celular al tratamiento con agentes antitumorales. La actividad alterada de los factores de transcripción es crítica en muchos cánceres humanos y varias líneas de evidencia demuestran que la localización o función alterada de los factores de transcripción FOXO está asociada con la tumorigénesis y la progresión del cáncer (Beretta et al., 2019).

De manera general, los FOXOs se consideran como proteínas supresoras de tumores por sus funciones reguladoras del ciclo celular. Algunas vías de señalización importantes, como las que involucran a PI3K, Ras o IKK, han sido relacionadas con los factores de transcripción FOXO en el contexto del cáncer. Un mecanismo principal para la regulación de los FOXOs es su fosforilación por medio de AKT (*Protein Kinase B*, *PKB*) en tres residuos aminoacídicos (por ejemplo, T32, S253 y S315 en FOXO3) después de la estimulación del receptor de membrana corriente arriba de AKT por un factor de crecimiento (Coomans De Brachène & Demoulin, 2015).

Factores de transcripción FOXO como FOXO1 (FKHR) y FOXO3a (FKHRL1) actúan aguas abajo del antagonista de PI3K, PTEN, en las células cancerígenas, inhiben el ciclo celular

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

y promueven la muerte celular mediante la modulación de la expresión de genes involucrados en la apoptosis (Gao et al., 2012).

En las células de cáncer de mama humano, FOXO1 induce la transcripción de MMP-1 lo cual aumenta el potencial invasivo celular y promueve la metástasis. Por lo tanto, los factores de transcripción FOXO en el contexto del cáncer de mama no solo inducen la muerte celular, sino que también contribuyen a la progresión de la patología (Coomans De Brachène & Demoulin, 2015).

El factor de transcripción FOXO3a juega un rol importante en el contexto de varios tipos de cáncer como el cáncer de mama, hígado, colon, próstata, vejiga y nasofaringe. Esta proteína actúa como supresor de tumores a diferentes niveles. A través de la vía de señalización IKK/NF- κ B, FOXO3a es un objetivo directo de IKKa y b; éstos fosforilan el residuo S644 de FOXO3a e inducen su exclusión nuclear y degradación por proteasomas. IKK estimula la supervivencia y la proliferación celular lo cual promueve la tumorigénesis. IKKe, otro miembro de la familia IKK, también es capaz de fosforilar a FOXO3 en el residuo S644 lo cual bloquea la apoptosis. El rol de FOXO3a en la migración e invasión celular se ha relacionado con el estado del receptor de estrógeno alfa (ER α) (Coomans De Brachène & Demoulin, 2015; Liu et al., 2018).

En las células de cáncer de mama tratadas con 5-fluorouracilo, un agente anticancerígeno utilizado en terapia, hay una acumulación de HuR (antígeno humano R, también llamado proteína de unión al ARN similar a ELAV 1), una proteína de unión al ARN que se une al ARNm de FOXO1 y lo estabiliza, lo cual promueve la apoptosis. Además, se demostró que el paclitaxel, fármaco de quimioterapia que también se utiliza para el tratamiento del cáncer de mama, estimula la apoptosis mediante la expresión de Bim, la cual es inducida por FOXO3. Otros medicamentos contra el cáncer de mama como el trastuzumab, el lapatinib

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

y el tamoxifeno también activan a los FOXOs para mediar la apoptosis en las células cancerígenas (Coomans De Brachène & Demoulin, 2015).

En las células de cáncer de mama, el fármaco gefitinib reduce los niveles del factor de transcripción oncogénico FOXM1 (Forkhead Box M1) mediante la activación de FOXO3a; esto inhibe a la enzima CDC25B (fosfatasa 2 inductora de fase M) y promueve la muerte celular. Como consecuencia de la desfosforilación de AKT mediada por gefitinib, se produce una acumulación nuclear de FOXO3a junto con la detención del ciclo celular y la apoptosis en las células de cáncer de mama que fueron expuestas al fármaco (Beretta et al., 2019).

3.3 Análisis de integración de redes metabólicas asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi*.

Para llevar a cabo el análisis de integración de redes metabólicas, se utilizó una lista de dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* que se relacionan entre sí junto con las herramientas bioinformáticas *R-Spider* y *CCancer-Spider* del servicio web BioProfiling.de. La visualización de los resultados de este análisis fue posible gracias al software *CytoScape*. Los modelos de integración de redes metabólicas que fueron obtenidos mediante la herramienta bioinformática *R-Spider* están descritos en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Modelos de integración de redes metabólicas asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* obtenidos mediante el software bioinformático *R-Spider*.

Modelo	Número de genes	Valor p
1	8	<0.005
2	28	<0.025
3	44	<0.395

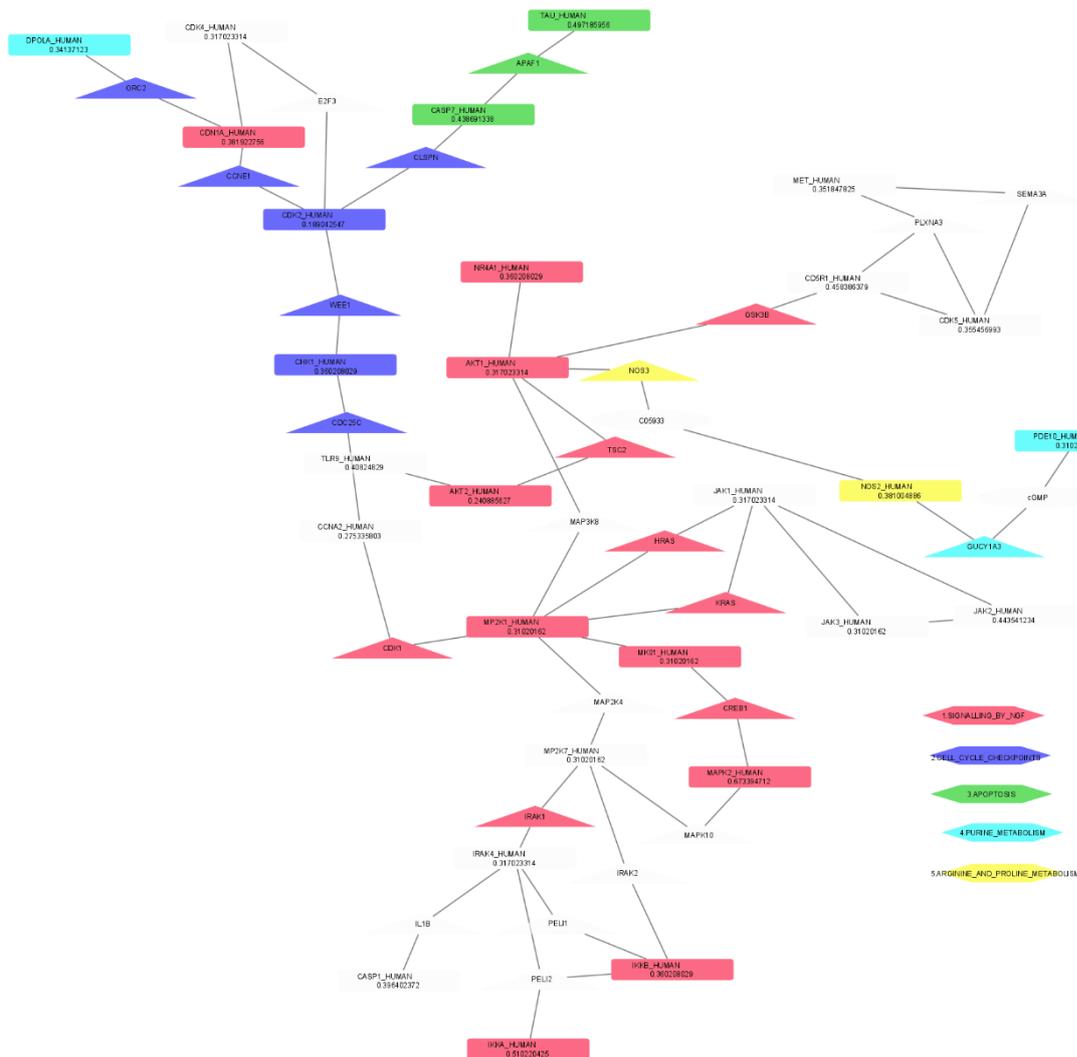
PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

Las redes metabólicas que conforman el modelo 1 incluyen dianas moleculares predichas que están directamente relacionadas entre sí. Por otro lado, los modelos 2 y 3 conectan a las dianas moleculares predichas mediante uno o dos genes intermedios, respectivamente; de esta forma, se logró la integración de rutas metabólicas distantes.

Para realizar la interpretación de resultados, se seleccionó al modelo 2 porque incluye un total de 28 genes, lo cual constituye un número de genes que puede ser manejado sin dificultades a diferencia de lo que sucede con los modelos 1 y 3. El modelo 1 era apenas explicativo por su simpleza y no constituía una ruta metabólica, mientras que el modelo 3 ya no tenía validez estadística ($p > 0,05$).

Figura 5. Modelo 2 de integración de redes metabólicas obtenido mediante el software bioinformático *R-Spider*.

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA



En la **Figura 5**, se observa el modelo 2 que fue generado por *R-Spider*. Los rectángulos constituyen los genes de entrada, mientras que los triángulos representan a los genes intermedios de la red metabólica. Los genes señalados con color rosado están relacionados con la señalización del factor de crecimiento nervioso (*“signalling_by_NGF”*). Los genes señalados con color azul constituyen los puntos de control del ciclo celular (*“cell_cycle_checkpoints”*). Los genes señalados con color verde están relacionados con la apoptosis. Los genes señalados con color turquesa están relacionados con el metabolismo de la purina (*“purine_metabolism”*). Finalmente, los genes señalados con color amarillo están

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

relacionados con el metabolismo de la arginina y la prolina (“*arginine and proline metabolism*”).

Entre estas rutas metabólicas, la relación con el cáncer está clara en el caso de la apoptosis y los *check points* del ciclo celular.

El ciclo celular involucra una sucesión de eventos durante los cuales una célula duplica su contenido y se divide, los cuales están coordinados por proteínas reguladoras de la reproducción celular. La regulación del ciclo celular es ejecutada por las proteínas ciclinas y las enzimas quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) que constituyen puntos de control (“*check points*”) durante el ciclo celular. Los puntos de control del ciclo celular garantizan que cada fase del ciclo se haya completado antes de que la célula pase al siguiente proceso; esto se lleva a cabo mediante cambios en los niveles de las CDKs. La regulación del ciclo celular evita una división celular inadecuada (Wenzel, E. S., & Singh, A., 2018).

Por otro lado, la apoptosis o muerte celular programada elimina células no deseadas o dañadas del organismo generando un daño mínimo en los tejidos circundantes. La apoptosis se caracteriza por la inducción de cambios morfológicos en la célula y procesos bioquímicos dependientes de enzimas. Si la apoptosis no se produce, la resultante acumulación de células dañadas en el organismo pueden promover la tumorigénesis (D'Arcy M. S., 2019).

La tumorigénesis se produce por la división celular descontrolada de células aberrantes que contienen mutaciones en su genoma debido a la desregulación del ciclo celular y la resistencia a la apoptosis; éstos dos últimos eventos forman parte del conjunto de signos distintivos del cáncer (“*hallmarks of cancer*”), los cuales constituyen capacidades biológicas que son obtenidas por las células tumorales durante el desarrollo del cáncer en el ser humano (Hanahan, D., & Weinberg, R. A., 2011).

El punto de control del ciclo celular más conocido está en la fase G1; en esta fase, la presencia de daño en el ADN produce una elevación de la proteína supresora de tumores p53,

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

lo cual detiene el ciclo celular hasta que el daño haya sido reparado y evita la división de células que poseen aberraciones genéticas. En el contexto del cáncer de mama, existe una correlación entre la presencia de mutaciones en el gen que codifica para la proteína p53 y el desarrollo de esta enfermedad. Con respecto a los tratamientos para esta patología, fármacos citotóxicos empleados en la quimioterapia como la epirrubicina inducen daño masivo en el ADN de las células tumorales lo cual promueve su apoptosis; esto ha sido observado en las líneas celulares humanas de cáncer de mama, MCF-7 y SK-BR-3. Por otro lado, el resveratrol, un politerpenoide natural que puede eliminar especies reactivas de oxígeno *in vivo* para llevar a cabo funciones de antioxidación y antienvjecimiento, inhibe la división celular e induce la apoptosis en células de cáncer de mama. Adicionalmente, la detención del ciclo celular en la fase G2 / M a través de un mecanismo mediado por p53 y la inducción selectiva de la apoptosis en la línea celular humana de cáncer de mama MCF-7 pueden ser estimuladas por el nicotinato de curcumina (CN), compuesto polifenólico derivado de la curcumina (Hedenfalk et al., 1997; Wu et al., 2019; He et al., 2019).

En la **Tabla 5**, se observan los modelos de integración de redes metabólicas asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* que fueron generados mediante la herramienta bioinformática *CCancer-Spider* del servicio web BioProfiling.de. Estos modelos fueron construidos tomando en cuenta aquellas dianas moleculares predichas que están directamente relacionadas con el cáncer.

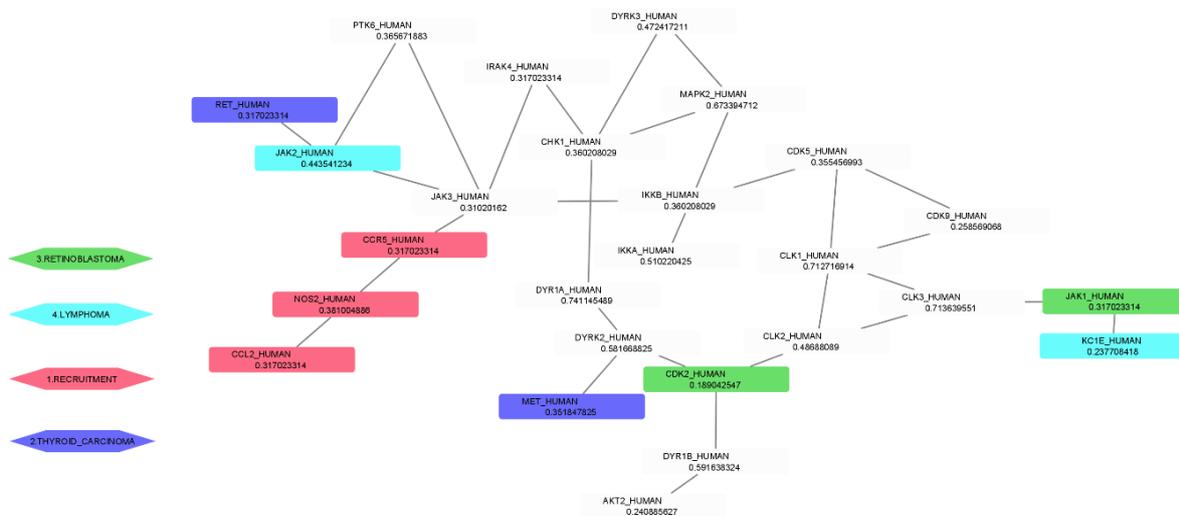
Tabla 5. Modelos de integración de redes metabólicas asociadas a las dianas moleculares predichas para las β -carbolinas de *B. caapi* obtenidos mediante el software bioinformático *CCancer-Spider*.

Modelo	Número de genes	Valor p
1	26	<0.005
2	95	<0.01

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

Para realizar la interpretación de resultados, se seleccionó el modelo 1 que posee un total de 26 genes. Este modelo tiene significancia estadística ($p < 0.005$) y una complejidad suficiente. En la **Figura 6**, se observa el modelo 1 generado por *CCancer-Spider*. Los genes señalados con color rosado están relacionados con el reclutamiento de las células cancerígenas. Los genes señalados con color azul están relacionados con el carcinoma de tiroides. Los genes señalados con color verde están relacionados con el retinoblastoma. Finalmente, los genes señalados con color celeste están relacionados con el linfoma.

Figura 6. Modelo 1 de integración de redes metabólicas obtenido mediante la herramienta bioinformática *CCancer-Spider*.



Tomando en cuenta el modelo 2 de *R-Spider* (**Figura 5**) y el modelo 1 de *CCancer-Spider* (**Figura 6**), se identificaron las dianas moleculares que estaban presentes en ambos modelos, tenían una puntuación cercana a 1 y estaban directamente relacionadas con el cáncer. Las seis dianas moleculares seleccionadas están descritas en la **Tabla 6**.

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

Tabla 6. Lista de 6 dianas moleculares relacionadas directamente con el cáncer que estuvieron presentes en el modelo 2 de integración de redes metabólicas de *R-Spider* y el modelo 1 de integración de redes metabólicas de *CCancer-Spider*.

Dianas	Nombre completo	Puntuación
MAPK2-HUMAN	Quinasa 2 activada por mitógenos	0,673394712
IKKB-HUMAN	Inhibidor de la quinasa kappa-B del factor nuclear beta	0,360208029
IKKA-HUMAN	Inhibidor de la quinasa kappa-B del factor nuclear alfa	0,510220425
JAK1-HUMAN	Janus quinasa 1	0,317023314
JAK2-HUMAN	Janus quinasa 2	0,443541234
JAK3-HUMAN	Janus quinasa 3	0,31020162

Además, en base al modelo 1 de *CCancer-Spider* (**Figura 6**) y a una revisión de literatura científica, se identificaron las dianas moleculares que están relacionadas con el cáncer de mama, las β -carbolinas de *B. caapi*, y la vía de señalización FOXO. Las dianas moleculares seleccionadas fueron: DYRK1A (puntuación: 0,741145489), DYRK1B (puntuación: 0,591638324) y DYRK2 (puntuación: 0,581668825). Estas dianas moleculares son miembros de la familia de las quinasas reguladas por fosforilación de tirosina de especificidad dual (“*Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase*”, DYRK). La literatura científica

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

disponible indica que estas dianas son inhibidas por la harmina, una de las β -carbolinas presentes en la especie *B. caapi*.

Las quinasas reguladas por fosforilación de tirosina de especificidad dual (*Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase, DYRK*) son una familia de enzimas que fosforilan un amplio conjunto de proteínas implicadas en varios procesos celulares. Esta familia se divide en tres subfamilias: La subfamilia DYRK contiene cinco miembros que están presentes en los seres humanos los cuales se agrupan en dos clases según sus relaciones filogenéticas: la clase I que está formada por DYRK1A y DYRK1B (también conocido como MIRK - quinasa relacionada con el minibrain); y la clase II que está formada por DYRK2, DYRK3 (también conocido como REDK - quinasa eritroide reguladora) y DYRK4 (Boni, J et al., 2020).

Por ejemplo, DYRK1A fosforila proteínas que participan en procesos biológicos asociados con los signos distintivos del cáncer, desde la inestabilidad genómica hasta el aumento de la proliferación y la resistencia a la muerte celular programada, o vías de señalización cuya disfunción promueve la aparición y progresión tumoral. La búsqueda de inhibidores tanto naturales como sintéticos de DYRK1A conducirá al desarrollo de fármacos para el tratamiento del cáncer (Boni et al., 2020).

La β -carbolina harmina es un inhibidor de alta afinidad de DYRK1A; la desventaja es que la harmina puede inhibir a la monoamino oxidasa A (MAO-A) con mayor potencia (Rüben et al., 2015). Se ha documentado que la harmina constituye un inhibidor específico de DYRK *in vitro* porque impide la fosforilación del residuo Thr125 por parte de DYRK1A, lo cual ejerce efectos anticancerígenos. La harmina no sólo inhibe la actividad serina / treonina quinasa de DYRK1A maduro, sino que también impide su autofosforilación en residuos de tirosina durante la traducción; esto imposibilita la formación de la enzima activa (Seifert et al., 2008; Carvalho et al., 2017).

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

DYRK1B es una serina / treonina quinasa que está involucrada en la regulación de la proliferación celular y la progresión tumoral. El estudio realizado por Chen et al. (2017) señala que la proliferación de las líneas celulares humanas de cáncer de mama como MDA-MB-231 y MCF-7 y la línea celular de mama normal MCF 10A se inhibió significativamente después de la supresión de DYRK1B por un ARN de interferencia (ARNip). Los compuestos que inhiben la actividad de DYRK1B inducen citotoxicidad en varios tipos de cáncer. Por lo tanto, la combinación de fármacos inhibidores de DYRK1B con otros tratamientos antiproliferativos podría mejorar la eficacia de la intervención terapéutica contra el cáncer (Chen et al., 2017; Boni et al., 2020).

La harmina es un inhibidor competitivo de Adenosín Trifosfato (ATP) que se une a la conformación activa del dominio quinasa. Esta β -carbolina ha demostrado ser muy selectiva para DYRK1A y DYRK1B (Rüben et al., 2015; Cuny et al., 2012).

En el contexto de la vía de señalización FOXO, DYRK1B fosforila a FOXO1 y promueve su translocación desde el núcleo celular al citoplasma; este proceso inactiva a FOXO1. La inhibición de la expresión de FOXO1 promueve la proliferación celular y la tumorigénesis en el cáncer de mama. Esto podría constituir el mecanismo mediante el cual DYRK1B contribuye a la supervivencia de las células de cáncer de mama. Los resultados sugieren que DYRK1B juega un papel clave en la progresión del cáncer de mama; por lo tanto, DYRK1B constituye una potencial diana terapéutica para esta enfermedad (Chen et al., 2017; Gao et al., 2012).

Finalmente, DYRK2 es un regulador negativo de la formación de las células madre del cáncer de mama. La inhibición de la expresión de DYRK2 promueve el desarrollo de características asociadas a las células madre del cáncer *in vitro*, la tumorigénesis *in vivo*, y la población de células madre del cáncer en tumores de pacientes con cáncer de mama. A pesar

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

de que la harmina ha sido identificada como un inhibidor de las quinasas de la familia DYRK, se ha demostrado que existe menos actividad inhibitoria hacia DYRK2 (Mimoto et al., 2017; Cuny et al., 2012).

El siguiente paso de esta investigación será la validación *in vitro* de las 9 dianas moleculares (MAPK2, IKKA, IKKB, JAK1, JAK2, JAK3, DYRK1A, DYRK1B, y DYRK2) y las 2 vías de señalización (PI3K-AKT y FOXO) seleccionadas utilizando líneas celulares humanas de cáncer de mama como la MCF-7. Primero, se podrían realizar ensayos de proliferación celular, apoptosis, migración celular e invasión celular con el fin de evaluar si las β -carbolinas presentes en la especie *B. caapi* inducen efectos antitumorales en líneas celulares humanas de cáncer de mama. En caso de que se observen efectos antitumorales que sean estadísticamente significativos, se podrían analizar los mecanismos moleculares que inducen estos efectos. Tomando en cuenta los resultados de la predicción computacional, se podría investigar si las β -carbolinas de *B. caapi* inducen estos efectos antitumorales mediante la inactivación de la vía de señalización PI3K-AKT la cual está directamente relacionada con la tumorigénesis. Si esta vía de señalización es inactivada, los factores de transcripción FOXO no son fosforilados por AKT; por lo tanto, éstos pueden ingresar al núcleo celular e inducir la transcripción de genes diana que promuevan efectos anticancerígenos.

5 CONCLUSIONES

La predicción computacional realizada utilizando herramientas bioinformáticas identificó un total de 322 dianas moleculares para las 3 β -carbolinas de *B. caapi*. Del total de dianas moleculares predichas, 19 dianas interactúan con las 3 β -carbolinas. La filtración de las dianas moleculares por especie *Homo sapiens* generó un total de 123 dianas que sólo están presentes en los seres humanos.

A partir de este conjunto de 123 dianas moleculares exclusivas para nuestra especie, se identificaron 260 procesos biológicos y 79 vías de señalización que están asociados a las dianas moleculares predichas. Del total de 79 vías de señalización identificadas, 2 vías de señalización están directamente relacionadas con el cáncer de mama: PI3K-AKT y FOXO.

En base a los modelos de integración de redes metabólicas que fueron generados, se identificaron 9 dianas moleculares que están directamente relacionadas con el cáncer, el cáncer de mama, la β -carbolina harmina de *B. caapi* y/o la vía de señalización FOXO: MAPK2, IKKA, IKKB, JAK1, JAK2, JAK3, DYRK1A, DYRK1B, y DYRK2.

Las 9 dianas moleculares y las 2 vías de señalización seleccionadas durante este estudio deben ser validadas *in vitro* utilizando líneas celulares humanas de cáncer de mama como la MCF-7.

6 RECOMENDACIONES

Este estudio constituye el primer paso para evaluar si las β -carbolicinas de *B. caapi* inducen efectos antitumorales en el contexto del cáncer de mama. Por lo tanto, se debe realizar la validación *in vitro* de las dianas moleculares y vías de señalización que fueron seleccionadas durante esta investigación por tener una estrecha relación con esta patología.

Además, dado a que las dianas moleculares y vías de señalización que fueron seleccionadas durante este estudio también podrían estar relacionadas con otros tipos de cáncer, sería importante que se incluya en el proceso de validación *in vitro* a líneas celulares humanas que representan a otras neoplasias malignas que tienen alta incidencia y mortalidad en la población ecuatoriana. Esto permitirá evaluar si las β -carbolicinas de *B. caapi* pueden inducir efectos antitumorales en otros tipos de cáncer que afectan a los pacientes ecuatorianos.

7 REFERENCIAS CITADAS

- Antonov, A. V., Schmidt, E. E., Dietmann, S., Krestyaninova, M., & Hermjakob, H. (2010). R spider: A network-based analysis of gene lists by combining signaling and metabolic pathways from Reactome and KEGG databases. *Nucleic Acids Research*, 38(SUPPL. 2), 78–83. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq482>.
- Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G., & Lo Muzio, L. (2017). The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 40, 271-280. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3036>.
- Arroyo Yustos, M., Martín Angulo, M., & Álvarez-Mon Soto, M. (2017). *Cáncer de mama. Medicina - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(34), 2011–2023. doi:10.1016/j.med.2017.05.001.
- Beracasa, Lorena., Pardo, Carlos Andrés., Sánchez, Jesús Oswaldo. (2021). Toxicidad relacionada con el tratamiento para el cáncer en adultos mayores. Revisión de la literatura TT - Treatment-Related Toxicity for Cancer in Older Adults. Literature review. *Univ. Med.* 2021;62(1). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed62-1.toxi>
- Beretta, G. L., Corno, C., Zaffaroni, N., & Perego, P. (2019). Role of FoxO proteins in cellular response to antitumor agents. *Cancers*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/cancers11010090>.
- Boni, J., Rubio-Perez, C., López-Bigas, N., Fillat, C., & de la Luna, S. (2020). The DYRK Family of Kinases in Cancer: Molecular Functions and Therapeutic Opportunities. *Cancers*, 12(8), 2106. <https://doi.org/10.3390/cancers12082106>
- Cao, R., Peng, W., Wang, Z., & Xu, A. (2007). β -Carboline Alkaloids: Biochemical and

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

- Pharmacological Functions. *Current Medicinal Chemistry*, 14(4), 479–500.
<https://doi.org/10.2174/092986707779940998>
- Carvalho, A., Chu, J., Meinguet, C., Kiss, R., Vandebussche, G., Masereel, B., Wouters, J., Kornienko, A., & Pelletier, J. (2017). A harmine-derived beta-carboline displays anti-cancer effects in vitro by targeting protein synthesis. *European Journal of Pharmacology*, October 2016, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.03.034>
- Chen, Y., Wang, S., He, Z., Sun, F., Huang, Y., Ni, Q., Wang, H., Wang, Y., & Cheng, C. (2017). Dyrk1B overexpression is associated with breast cancer growth and a poor prognosis. *Human pathology*, 66, 48–58.
<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2017.02.033>
- Coomans De Brachène, A., & Demoulin, J. B. (2015). FOXO transcription factors in cancer development and therapy. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(6), 1159–1172.
<https://doi.org/10.1007/s00018-015-2112-y>
- Culture, G. A. &. (2020). *Tetrahydroharmina*.
<https://artsandculture.google.com/entity/m03npcp?hl=es>.
- Cuny, G. D., Ulyanova, N. P., Patnaik, D., Liu, J. F., Lin, X., Auerbach, K., Ray, S. S., Xian, J., Glicksman, M. A., Stein, R. L., & Higgins, J. M. (2012). Structure-activity relationship study of beta-carboline derivatives as haspin kinase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(5), 2015–2019.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.01.028>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W357–W3664. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>.
- Dennis, G., Sherman, B. T., Hosack, D. A., Yang, J., Gao, W., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2003). DAVID: Database for Annotation, Visualization, and

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

- Integrated Discovery. *Genome Biology*, 4(5). <https://doi.org/10.1186/gb-2003-4-5-p3>
- Ding, Y., He, J., Huang, J., Yu, T., Shi, X., Zhang, T., Yan, G., Chen, S., & Peng, C. (2019). Harmine induces anticancer activity in breast cancer cells via targeting TAZ. *International Journal of Oncology*, 54(6), 1995–2004. <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4777>.
- Doncheva, N. T., Morris, J. H., & Jensen, L. J. (2016). Cytoscape StringApp: Network Analysis and Visualization of Proteomics Data. *Physiology & Behavior*, 176(1), 100–106. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00702>.Figure
- Dos Santos, Rafael G., Bouso, José., & Hallak, Jaime E. C. (2017). Ayahuasca, dimethyltryptamine, and psychosis: a systematic review of human studies. *Ayahuasca, Dimethyltryptamine, and Psychosis: A Systematic Review of Human Studies*, 9(6), 259–261. <https://doi.org/10.1177/>.
- D'Arcy M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international*, 43(6), 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>
- Espinosa Ramírez, M. (2018). Cancer de mama. *Revista Brasileira de Medicina*, 57(5), 463–474. <https://doi.org/10.37980/im.journal.rmdp.2019828>.
- Estrella-Parra, E. A., Almanza-Pérez, J. C., & Alarcón-Aguilar, F. J. (2019). Ayahuasca: Uses, Phytochemical and Biological Activities. *Natural Products and Bioprospecting*, 9(4), 251–265. <https://doi.org/10.1007/s13659-019-0210-5>.
- Farhan, M., Wang, H., Gaur, U., Little, P. J., Xu, J., & Zheng, W. (2017). FOXO Signaling Pathways as Therapeutic Targets in Cancer. *International journal of biological sciences*, 13(7), 815–827. <https://doi.org/10.7150/ijbs.20052>.
- Fragomeni, S.M., Sciallis, A., & Jeruss, J. S. (2018). Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Clínicas quirúrgicas de oncología de América del*

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

Norte, 27(1), 95–120. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2017.08.005>

Frecska, E., Bokor, P., & Winkelman, M. (2016). The therapeutic potentials of ayahuasca:

Possible effects against various diseases of civilization. *Frontiers in Pharmacology*, 7(MAR), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00035>.

Gao, J., Yang, X., Yin, P., Hu, W., Liao, H., Miao, Z., Pan, C., & Li, N. (2012). The involvement of FoxO in cell survival and chemosensitivity mediated by Mirk/Dyrk1B in ovarian cancer. *International journal of oncology*, 40(4), 1203–1209. <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.1293>.

GLOBOCAN. (2020). *Cancer Today*. https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2020&mode=cancer&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=2&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&

Hamill, J., Hallak, J., Dursun, S. M., & Baker, G. (2019). *Ayahuasca : Psychological and Physiologic Effects , Pharmacology and Potential Uses in Addiction and Mental Illness*. 108–128. <https://doi.org/10.2174/1570159X16666180125095902>.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.

He, Y. C., He, L., Khoshaba, R., Lu, F. G., Cai, C., Zhou, F. L., Liao, D. F., & Cao, D. (2019). Curcumin Nicotinate Selectively Induces Cancer Cell Apoptosis and Cycle Arrest through a P53-Mediated Mechanism. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 4179. <https://doi.org/10.3390/molecules24224179>.

Hedenfalk, I. A., Baldetorp, B., Borg, A., & Oredsson, S. M. (1997). Activated cell cycle checkpoints in epirubicin-treated breast cancer cells studied by BrdUrd-flow cytometry. *Cytometry*, 29(4), 321–327. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0320\(19971201\)29:4<321::aid-cyto9>3.0.co;2-c](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0320(19971201)29:4<321::aid-cyto9>3.0.co;2-c)

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

- Hennigs, A., Riedel, F., Gondos, A., Sinn, P., Schirmacher, P., Marmé, F., Jäger, D., Kauczor, H. U., Stieber, A., Lindel, K., Debus, J., Golatta, M., Schütz, F., Sohn, C., Heil, J., & Schneeweiss, A. (2016). Prognosis of breast cancer molecular subtypes in routine clinical care: A large prospective cohort study. *BMC Cancer*, *16*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2766-3>
- Hon, J. D. C., Singh, B., Sahin, A., Du, G., Wang, J., Wang, V. Y., Deng, F. M., Zhang, D. Y., Monaco, M. E., & Lee, P. (2016). Breast cancer molecular subtypes: From TNBC to QNBC. *American Journal of Cancer Research*, *6*(9), 1864–1872.
- Huang, D. W., Sherman, B. T., Lempicki, R. A., & Lempicki, R. A. (2009). Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protocols*, (301), 1–43.
- Instituto Nacional del Cáncer. (2019). *Inmunoterapia para el cáncer*. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia>.
- Irwin, J. J., Gaskins, G., Sterling, T., Mysinger, M. M., & Keiser, M. J. (2018). Predicted Biological Activity of Purchasable Chemical Space. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *58*(1), 148–164. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00316>.
- Jiao, X., Sherman, B. T., Huang, D. W., Stephens, R., Baseler, M. W., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2012). DAVID-WS: A stateful web service to facilitate gene/protein list analysis. *Bioinformatics*, *28*(13), 1805–1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts251>.
- Karmakar, S., & Lal, G. (2021). Role of serotonin receptor signaling in cancer cells and anti-tumor immunity. *Theranostics*, *11*(11), 5296–5312. <https://doi.org/10.7150/thno.55986>.
- López-Cortés, A., Paz-y-Miño, C., Cabrera-Andrade, A., Barigye, S. J., Munteanu, C. R., González-Díaz, H., Pazos, A., Pérez-Castillo, Y., & Tejera, E. (2018). Gene prioritization, communality analysis, networking and metabolic integrated pathway to

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

- better understand breast cancer pathogenesis. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35149-1>.
- Liu, Y., Ao, X., Ding, W., Ponnusamy, M., Wu, W., Hao, X., Yu, W., Wang, Y., Li, P., & Wang, J. (2018). Critical role of FOXO3a in carcinogenesis. *Molecular Cancer*, 17(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0856-3>.
- Mendoza, Dulce., & Veloz, Nelson. (2020). Protección de los conocimientos ancestrales de la ayahuasca como derechos de las comunidades indígenas del Ecuador. Trabajo de titulación. Universidad de Guayaquil.
- Mimoto R, Imawari Y, Hirooka S, Takeyama H, Yoshida K. Impairment of DYRK2 augments stem-like traits by promoting KLF4 expression in breast cancer. *Oncogene*. 2017 Mar 30;36(13):1862-1872. doi: 10.1038/onc.2016.349. Epub 2016 Oct 10. PMID: 27721402.
- Moore, A. C., Winkjer, J. S., & Tseng, T. T. (2016). Bioinformatics resources for microRNA discovery. *Biomarker Insights*, 10, 53–58. <https://doi.org/10.4137/BMI.S29513>.
- Morales-García, J. A., De La Fuente Revenga, M., Alonso-Gil, S., Rodríguez-Franco, M. I., Feilding, A., Perez-Castillo, A., & Riba, J. (2017). The alkaloids of *Banisteriopsis caapi*, the plant source of the Amazonian hallucinogen Ayahuasca, stimulate adult neurogenesis in vitro. *Scientific Reports*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05407-9>.
- Nafisi, S., Bonsaii, M., Maali, P., Khalilzadeh, M. A., & Manouchehri, F. (2010). β -Carboline alkaloids bind DNA. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 100(2), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.05.005>.
- Patel, K., Gadewar, M., Tripathi, R., Prasad, S. K., & Patel, D. K. (2012). A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid “ Harmine.” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8), 660–664.

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60116-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60116-6).

Peón, A., Li, H., Ghislat, G., Leung, K. S., Wong, M. H., Lu, G., & Ballester, P. J. (2019).

MolTarPred: A web tool for comprehensive diana prediction with reliability estimation.

Chemical Biology and Drug Design, (February), 1390–1401.

<https://doi.org/10.1111/cbdd.13516>.

Peón, A., Naulaerts, S., & Ballester, P. J. (2017). Predicting the Reliability of Drug-target

Interaction Predictions with Maximum Coverage of Target Space. *Scientific Reports*,

7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04264-w>.

Reimand, J., Isserlin, R., Voisin, V., Kucera, M., Tannus-Lopes, C., Rostamianfar, A., Wadi,

L., Meyer, M., Wong, J., Xu, C., Merico, D., & Bader, G. D. (2019). Pathway

enrichment analysis and visualization of omics data using g:Profiler, GSEA, Cytoscape

and EnrichmentMap. *Nature Protocols*, 14(2), 482–517.

<https://doi.org/10.1038/s41596-018-0103-9>.Pathwa

Rodgers, S. J., Ferguson, D. T., Mitchell, C. A., & Ooms, L. M. (2017). Regulation of PI3K

effector signalling in cancer by the phosphoinositide phosphatases. *Bioscience reports*,

37(1), BSR20160432. <https://doi.org/10.1042/BSR20160432y>.

Rüben, K., Wurzlbauer, A., Walte, A., Sippl, W., Bracher, F., & Becker, W. (2015). Selectivity

Profiling and Biological Activity of Novel β -Carbolines as Potent and Selective DYRK1

Kinase Inhibitors. *PloS one*, 10(7), e0132453.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132453>.

Santos, B. W. L., de Oliveira, R. C., Sonsin-Oliveira, J., Fagg, C. W., Barbosa, J. B. F., &

Caldas, E. D. (2020). Biodiversity of β -carboline profile of banisteriopsis caapi and ayahuasca, a plant and a brew with neuropharmacological potential. *Plants*, 9(7), 1–14.

<https://doi.org/10.3390/plants9070870>.

Seifert, A., Allan, L. A., & Clarke, P. R. (2008). DYRK1A phosphorylates caspase 9 at an

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

- inhibitory site and is potently inhibited in human cells by harmine. *FEBS Journal*, 275(24), 6268–6280. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06751.x>.
- Singh, V., Ram, M., Kumar, R., Prasad, R., Roy, B. K., & Singh, K. K. (2017). Phosphorylation: Implications in Cancer. *The protein journal*, 36(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10930-017-9696-z>
- Taira, N., Mimoto, R., Kurata, M., Yamaguchi, T., Kitagawa, M., Miki, Y., & Yoshida, K. (2012). DYRK2 priming phosphorylation of c-Jun and c-Myc modulates cell cycle progression in human cancer cells. *The Journal of clinical investigation*, 122(3), 859–872. <https://doi.org/10.1172/JCI60818>
- Tan, Q., Zou, S., Jin, R., Hu, Y., Xu, H., Wang, H., Ding, M., Hu, M., Wei, C., & Song, L. (2020). Selective degradation of IKK α by autophagy is essential for arsenite-induced cancer cell apoptosis. *Cell death & disease*, 11(4), 222. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2420-5>.
- Tejera, E., Cruz-Montagudo, M., Burgos, G., Sánchez, M. E., Sánchez-Rodríguez, A., Pérez-Castillo, Y., Borges, F., Cordeiro, M. N. D. S., Paz-Y-Miño, C., & Rebelo, I. (2017). Consensus strategy in genes prioritization and combined bioinformatics analysis for preeclampsia pathogenesis. *BMC Medical Genomics*, 10(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12920-017-0286-x>
- Torres, C., Duque, G., Orellana, I., & Arias, C. (2017). Características epidemiológicas y clínica del cáncer de mama. *Revista Médica Ateneo*, 19(2), 146–159. <https://www.colegiomedicosazuay.ec/ojs/index.php/ateneo/article/view/13>
- Tropical Plants Database, K. F. (2021). *Banisteriopsis caapi* - *Useful Tropical Plants*. <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Banisteriopsis+caapi>
- Wager, M. G. T. and J. F. S. (2010). Composition, Standardization and Chemical Profiling of *Banisteriopsis caapi*, a Plant for the Treatment of Neurodegenerative Disorders Relevant

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

to Parkinson's Disease. *Bone*, 23(1), 1–7.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.02.013>.Composition.

Wenzel, E. S., & Singh, A. (2018). Cell-cycle Checkpoints and Aneuploidy on the Path to Cancer. *In vivo (Athens, Greece)*, 32(1), 1–5. <https://doi.org/10.21873/invivo.11197>.

Wu, H., Chen, L., Zhu, F., Han, X., Sun, L., & Chen, K. (2019). The Cytotoxicity Effect of Resveratrol: Cell Cycle Arrest and Induced Apoptosis of Breast Cancer 4T1 Cells. *Toxins*, 11(12), 731. <https://doi.org/10.3390/toxins11120731>.

Xu, B., Li, M., Yu, Y., He, J., Hu, S., Pan, M., Lu, S., Liao, K., Pan, Z., Zhou, Y., & Zhu, J. (2018). Effects of harmaline on cell growth of human liver cancer through the p53/p21 and Fas/FasL signaling pathways. *Oncology letters*, 15(2), 1931–1936. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7495>.

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

ANEXOS.

ANEXO A. Lista de dianas moleculares predichas mediante el análisis con las herramientas bioinformáticas *SEA*, *MolTarPred* y *SwissTargetPrediction*.

UNIPROT ID	UNIPROT ID	UNIPROT ID	UNIPROT ID
AOFA_HUMAN	TRPM7_MOUSE	DRD5_HUMAN	5HT7R_HUMAN
HASP_HUMAN	CLK3_HUMAN	NISCH_HUMAN	NISCH_HUMAN
DYR1A_HUMAN	VMAT2_MOUSE	ACHB4_MOUSE	5HT2C_HUMAN
CLK1_HUMAN	CLK4_MOUSE	ADA2A_HUMAN	5HT6R_HUMAN
DYRK2_HUMAN	H6TY12_PERAM	ADA2B_HUMAN	5HT2A_HUMAN
DYR1B_HUMAN	DYR1A_HUMAN	ADA2C_HUMAN	AMPC_ECOLI
CLK2_HUMAN	TBB1_HUMAN	ACHB2_MOUSE	CASP7_HUMAN
DYRK4_HUMAN	TLR9_HUMAN	VMAT2_MOUSE	STE24_YEAST
DYRK3_HUMAN	ADA2B_RAT	5HT1D_CAVPO	TBB3_HUMAN
CLK4_HUMAN	CLK2_MOUSE	5HT2C_HUMAN	TBB2B_BOVIN
ADA2A_HUMAN	GLF_MYCTU	SGMR1_HUMAN	VMAT2_BOVIN
ADA2C_HUMAN	PERL_BOVIN	5HT2C_RAT	AKT2_HUMAN
ADA2B_HUMAN	CASP1_HUMAN	CP24A_RAT	MYLK_HUMAN
PIM3_HUMAN	TPOR_HUMAN	CLK3_HUMAN	HASP_HUMAN
5HT7R_HUMAN	ACHB4_MOUSE	ADA2B_RAT	5HT7R_HUMAN
KC1D_HUMAN	Q25615_ONCVO	5HT1A_HUMAN	DRD2_HUMAN
5HT6R_HUMAN	MAPK2_HUMAN	5HT1D_HUMAN	MAPK2_HUMAN
5HT2C_HUMAN	CDN1A_HUMAN	5HT5A_HUMAN	5HT2B_HUMAN
5HT2A_HUMAN	ACHB2_MOUSE	5HT6R_HUMAN	D3ZAC0_RAT
NISCH_HUMAN	5HT2C_RAT	MTR1A_HUMAN	ITB3_RAT
SC6A2_HUMAN	CLK1_HUMAN	MTR1B_HUMAN	MTR1B_CHICK
TBB2B_BOVIN	5HT5A_HUMAN	SC6A2_HUMAN	VMAT2_BOVIN
Q25615_ONCVO	PGFRA_MOUSE	TBB1_HUMAN	5HT2A_HUMAN
G3V783_RAT	CLK1_MOUSE	ACEA_CANAX	KAT3_HUMAN
TGT_HUMAN	VMAT2_HUMAN	SC5A5_RAT	TBB2B_BOVIN
PGFRA_MOUSE	DYR1A_RAT	TAU_HUMAN	PNMT_BOVIN
CLK3_HUMAN	ATP4A_PIG	AADAT_RAT	RYR2_HUMAN
CLK4_MOUSE	GSTO1_HUMAN	5HT1B_HUMAN	IKKA_HUMAN
PGFRB_RAT	AOFA_HUMAN	5HT1E_HUMAN	IRAK4_HUMAN
CLK2_MOUSE	C11B2_RAT	ACES_HUMAN	JAK1_HUMAN
DYR1A_RAT	5HT2A_RAT	ACHA4_HUMAN	JAK2_HUMAN
PEBB_HUMAN	HIF1A_HUMAN	ACHB3_HUMAN	PRKX_HUMAN
CLK1_MOUSE	IMPA1_RAT	ACHB4_HUMAN	RET_HUMAN

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

TBA1A_PIG	LMNA_HUMAN	CHK1_HUMAN	S1PR1_HUMAN
ADA2B_RAT	TAU_HUMAN	DPP8_HUMAN	SEPR_HUMAN
IKKA_HUMAN	UBP2_HUMAN	DPP9_HUMAN	TOPK_HUMAN
SMCA2_HUMAN	HASP_HUMAN	DRD1_HUMAN	C11B2_RAT
AOFB_HUMAN	DYR1B_HUMAN	IKKB_HUMAN	DYR1A_RAT
TBB1_HUMAN	PNMT_BOVIN	KIF11_HUMAN	ACHB_HUMAN
KI20A_HUMAN	5HT1B_RAT	NR4A1_HUMAN	PDE5A_BOVIN
PERL_BOVIN	5HT1B_HUMAN	OPRM_HUMAN	CCNT1_HUMAN
CD5R1_HUMAN	5HT1D_HUMAN	PARP1_HUMAN	CCNA2_HUMAN
NOS2_HUMAN	ADA1A_HUMAN	SC6A3_HUMAN	CDK9_HUMAN
5HT1E_HUMAN	ADA1B_HUMAN	SC6A4_HUMAN	5HT2A_RAT
5HT2C_RAT	ADA1D_HUMAN	SCN4A_HUMAN	KC1E_HUMAN
GSTO1_HUMAN	BACE1_HUMAN	TRPV1_HUMAN	CDK2_HUMAN
PTK6_HUMAN	DHB1_HUMAN	VMAT2_HUMAN	KCNN3_RAT
PGFRB_MOUSE	JAK2_HUMAN	DPOLA_HUMAN	CD5R1_HUMAN
CDK5_HUMAN	JAK3_HUMAN	ACHA6_HUMAN	O40947_HHV8
MET_HUMAN	MK01_HUMAN	DYR1A_HUMAN	CP1A2_HUMAN
MTR1A_HUMAN	MP2K1_HUMAN	CLK1_HUMAN	AOFA_RAT
Q8I5C5_PLAF7	MP2K7_HUMAN	5HT3A_HUMAN	CP2D6_HUMAN
5HT1B_RAT	PDE10_HUMAN	ACHG_HUMAN	CDK4_HUMAN
ACES_HUMAN	TAAR1_HUMAN	AKT1_HUMAN	CHKA_HUMAN
ATP4A_PIG	5HT1E_HUMAN	AOC1_HUMAN	CP2A6_HUMAN
DPOL_VACCW	BRS3_HUMAN	CATC_HUMAN	DPP2_HUMAN
MAPK2_HUMAN	CP1B1_HUMAN	CCL2_HUMAN	DRD3_HUMAN
CP1A2_HUMAN	DYRK2_HUMAN	CCR5_HUMAN	HDAC1_HUMAN
CCNT1_HUMAN	KCNN3_RAT	CDK4_HUMAN	

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

ANEXO B. Lista de dianas moleculares filtradas por especie *Homo sapiens*.

UNIPROT ID			
5HT7R_HUMAN	5HT5A_HUMAN	CASP7_HUMAN	ACHA4_HUMAN
NISCH_HUMAN	MTR1A_HUMAN	TBB3_HUMAN	ACHB3_HUMAN
5HT2C_HUMAN	IKKA_HUMAN	TGT_HUMAN	ACHB4_HUMAN
5HT2A_HUMAN	VMAT2_HUMAN	KAT3_HUMAN	CHK1_HUMAN
5HT6R_HUMAN	GSTO1_HUMAN	DRD5_HUMAN	DPP8_HUMAN
DYR1A_HUMAN	TAU_HUMAN	PEBB_HUMAN	DPP9_HUMAN
CLK3_HUMAN	ACES_HUMAN	TLR9_HUMAN	DRD1_HUMAN
CLK1_HUMAN	5HT1D_HUMAN	SGMR1_HUMAN	IKKB_HUMAN
TBB1_HUMAN	CLK2_HUMAN	SMCA2_HUMAN	KIF11_HUMAN
MAPK2_HUMAN	DYRK4_HUMAN	AOFB_HUMAN	NR4A1_HUMAN
AOFA_HUMAN	5HT1B_HUMAN	CASP1_HUMAN	OPRM_HUMAN
HASP_HUMAN	DYRK3_HUMAN	TPOR_HUMAN	PARP1_HUMAN
ADA2A_HUMAN	CLK4_HUMAN	KI20A_HUMAN	SC6A3_HUMAN
ADA2C_HUMAN	CD5R1_HUMAN	CP1A2_HUMAN	SC6A4_HUMAN
ADA2B_HUMAN	PIM3_HUMAN	CDN1A_HUMAN	SCN4A_HUMAN
5HT1E_HUMAN	DRD2_HUMAN	NOS2_HUMAN	TRPV1_HUMAN
DYR1B_HUMAN	KC1D_HUMAN	5HT1A_HUMAN	CDK5_HUMAN
DYRK2_HUMAN	JAK2_HUMAN	MTR1B_HUMAN	MET_HUMAN
SC6A2_HUMAN	5HT2B_HUMAN	PTK6_HUMAN	DPOLA_HUMAN
ACHA6_HUMAN	CCR5_HUMAN	RET_HUMAN	MK01_HUMAN
HIF1A_HUMAN	CDK4_HUMAN	S1PR1_HUMAN	MP2K1_HUMAN
LMNA_HUMAN	CHKA_HUMAN	SEPR_HUMAN	MP2K7_HUMAN
UBP2_HUMAN	CP2A6_HUMAN	TOPK_HUMAN	PDE10_HUMAN
5HT3A_HUMAN	DPP2_HUMAN	ADA1A_HUMAN	TAAR1_HUMAN
ACHG_HUMAN	DRD3_HUMAN	ADA1B_HUMAN	BRS3_HUMAN
AKT1_HUMAN	HDAC1_HUMAN	ADA1D_HUMAN	CP1B1_HUMAN
AOC1_HUMAN	IRAK4_HUMAN	BACE1_HUMAN	ACHB_HUMAN
CATC_HUMAN	JAK1_HUMAN	DHB1_HUMAN	CCNT1_HUMAN
CCL2_HUMAN	PRKX_HUMAN	JAK3_HUMAN	CCNA2_HUMAN
CDK9_HUMAN	AKT2_HUMAN	KC1E_HUMAN	CP2D6_HUMAN
RYR2_HUMAN	MYLK_HUMAN	CDK2_HUMAN	

ANEXO C. Lista completa de los procesos biológicos obtenidos a partir del análisis de enriquecimiento realizado con la herramienta *DAVID Bioinformatics Resources*.

Código	Procesos Biológicos	Código	Procesos Biológicos
GO:0006468	protein phosphorylation	GO:0001963	synaptic transmission, dopaminergic
GO:0007268	chemical synaptic transmission	GO:0048148	behavioral response to cocaine
GO:0042493	response to drug	GO:0007626	locomotory behavior
GO:0007187	G-protein coupled receptor signaling pathway, coupled to cyclic nucleotide second messenger	GO:0001975	response to amphetamine
GO:0018108	peptidyl-tyrosine phosphorylation	GO:0045907	positive regulation of vasoconstriction
GO:0007210	serotonin receptor signaling pathway	GO:0006874	cellular calcium ion homeostasis
GO:0051209	release of sequestered calcium ion into cytosol	GO:0007623	circadian rhythm
GO:0009636	response to toxic substance	GO:0015844	monoamine transport
GO:0007200	phospholipase C-activating G-protein coupled receptor signaling pathway	GO:0007193	adenylate cyclase-inhibiting G-protein coupled receptor signaling pathway
GO:0018105	peptidyl-serine phosphorylation	GO:0007274	neuromuscular synaptic transmission
GO:0071880	adenylate cyclase-activating adrenergic receptor signaling pathway	GO:0032922	circadian regulation of gene expression
GO:0014059	regulation of dopamine secretion	GO:0008283	cell proliferation
GO:0046777	protein autophosphorylation	GO:0002031	G-protein coupled receptor internalization
GO:0042220	response to cocaine	GO:0007191	adenylate cyclase-activating dopamine receptor signaling pathway

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0042310	vasoconstriction	GO:0060134	prepulse inhibition
GO:0006939	smooth muscle contraction	GO:0007198	adenylate cyclase-inhibiting serotonin receptor signaling pathway
GO:0007165	signal transduction	GO:0032496	response to lipopolysaccharide
GO:0007271	synaptic transmission, cholinergic	GO:0006940	regulation of smooth muscle contraction
GO:0035094	response to nicotine 7	GO:0001666	response to hypoxia
GO:0018107	peptidyl-threonine phosphorylation	GO:1901796	regulation of signal transduction by p53 class mediator
GO:0050795	regulation of behavior	GO:0070374	positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade
GO:0098655	cation transmembrane transport	GO:0032811	negative regulation of epinephrine secretion
GO:0001994	norepinephrine-epinephrine vasoconstriction involved in regulation of systemic arterial blood pressure	GO:0035625	epidermal growth factor-activated receptor transactivation by G-protein coupled receptor signaling pathway
GO:0071883	activation of MAPK activity by adrenergic receptor signaling pathway	GO:0010700	negative regulation of norepinephrine secretion
GO:0010513	positive regulation of phosphatidylinositol biosynthetic process	GO:0043484	regulation of RNA splicing
GO:0008542	visual learning	GO:0007568	Aging
GO:0019229	regulation of vasoconstriction	GO:0045776	negative regulation of blood pressure
GO:0030335	positive regulation of cell migration	GO:1990090	cellular response to nerve growth factor stimulus
GO:0051584	regulation of dopamine uptake involved in synaptic transmission	GO:0046677	response to antibiotic
GO:0071502	cellular response to temperature stimulus	GO:0001938	positive regulation of endothelial cell proliferation

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0042420	dopamine catabolic process	GO:0006281	DNA repair
GO:0007194	negative regulation of adenylate cyclase activity	GO:0007265	Ras protein signal transduction
GO:0000165	MAPK cascade	GO:0051967	negative regulation of synaptic transmission, glutamatergic
GO:0090314	positive regulation of protein targeting to membrane	GO:0035095	behavioral response to nicotine
GO:0007186	G-protein coupled receptor signaling pathway	GO:0030334	regulation of cell migration
GO:0045471	response to ethanol	GO:0060158	phospholipase C-activating dopamine receptor signaling pathway
GO:0051482	positive regulation of cytosolic calcium ion concentration involved in phospholipase C-activating G-protein coupled signaling pathway	GO:0042053	regulation of dopamine metabolic process
GO:0015872	dopamine transport	GO:0042417	dopamine metabolic process
GO:0032760	positive regulation of tumor necrosis factor production	GO:0000079	regulation of cyclin-dependent protein serine/threonine kinase activity
GO:0045944	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	GO:0007204	positive regulation of cytosolic calcium ion concentration
GO:0060397	JAK-STAT cascade involved in growth hormone signaling pathway	GO:0038083	peptidyl-tyrosine autophosphorylation
GO:0045725	positive regulation of glycogen biosynthetic process	GO:0007252	I-kappaB phosphorylation

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0071456	cellular response to hypoxia	GO:0045429	positive regulation of nitric oxide biosynthetic process
GO:0042593	glucose homeostasis	GO:0006809	nitric oxide biosynthetic process
GO:0019233	sensory perception of pain	GO:0051770	positive regulation of nitric-oxide synthase biosynthetic process
GO:0043123	positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling	GO:0006974	cellular response to DNA damage stimulus
GO:0055093	response to hyperoxia	GO:0031100	organ regeneration
GO:0008284	positive regulation of cell proliferation	GO:0051403	stress-activated MAPK cascade
GO:0019373	epoxygenase P450 pathway	GO:0055117	regulation of cardiac muscle contraction
GO:0001659	temperature homeostasis	GO:0051000	positive regulation of nitric-oxide synthase activity
GO:0008285	negative regulation of cell proliferation	GO:0035924	cellular response to vascular endothelial growth factor stimulus
GO:0006915	apoptotic process	GO:0006935	Chemotaxis
GO:0071356	cellular response to tumor necrosis factor	GO:0006006	glucose metabolic process
GO:0019226	transmission of nerve impulse	GO:0050796	regulation of insulin secretion
GO:0035556	intracellular signal transduction	GO:0045893	positive regulation of transcription, DNA-templated
GO:0030168	platelet activation	GO:0070371	ERK1 and ERK2 cascade
GO:0007416	synapse assembly	GO:0071300	cellular response to retinoic acid
GO:0045987	positive regulation of smooth muscle contraction	GO:0009820	alkaloid metabolic process
GO:0007208	phospholipase C-activating serotonin receptor signaling pathway	GO:0001525	angiogenesis

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0090325	regulation of locomotion involved in locomotory behavior	GO:0045787	positive regulation of cell cycle
GO:0001912	positive regulation of leukocyte mediated cytotoxicity	GO:0010507	negative regulation of autophagy
GO:0046960	sensitization	GO:0055114	oxidation-reduction process
GO:0007166	cell surface receptor signaling pathway	GO:1904340	positive regulation of dopaminergic neuron differentiation
GO:0032148	activation of protein kinase B activity	GO:0046602	regulation of mitotic centrosome separation
GO:0007202	activation of phospholipase C activity	GO:0060574	intestinal epithelial cell maturation
GO:0002224	toll-like receptor signaling pathway	GO:0014063	negative regulation of serotonin secretion
GO:0017144	drug metabolic process	GO:0033136	serine phosphorylation of STAT3 protein
GO:0010629	negative regulation of gene expression	GO:0042506	tyrosine phosphorylation of Stat5 protein
GO:0000086	G2/M transition of mitotic cell cycle	GO:0014827	intestine smooth muscle contraction
GO:0032869	cellular response to insulin stimulus	GO:0007260	tyrosine phosphorylation of STAT protein
GO:0001662	behavioral fear response	GO:0090170	regulation of Golgi inheritance
GO:0043542	endothelial cell migration	GO:0010748	negative regulation of plasma membrane long-chain fatty acid transport
GO:0006805	xenobiotic metabolic process	GO:0007631	feeding behavior
GO:0007628	adult walking behavior	GO:0042517	positive regulation of tyrosine phosphorylation of Stat3 protein
GO:0046676	negative regulation of insulin secretion	GO:0030182	neuron differentiation
GO:0046717	acid secretion	GO:0007169	transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway
GO:0021697	cerebellar cortex formation	GO:0007346	regulation of mitotic cell cycle

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0006837	serotonin transport	GO:0051583	dopamine uptake involved in synaptic transmission
GO:0060160	negative regulation of dopamine receptor signaling pathway	GO:0046883	regulation of hormone secretion
GO:0034776	response to histamine	GO:0099565	chemical synaptic transmission, postsynaptic
GO:0031663	lipopolysaccharide-mediated signaling pathway	GO:0007262	STAT protein import into nucleus
GO:0016310	phosphorylation	GO:0007195	adenylate cyclase-inhibiting dopamine receptor signaling pathway
GO:0016477	cell migration	GO:0045600	positive regulation of fat cell differentiation
GO:0045087	innate immune response	GO:0042127	regulation of cell proliferation
GO:0007267	cell-cell signaling	GO:0009408	response to heat
GO:0000082	G1/S transition of mitotic cell cycle	GO:0071870	cellular response to catecholamine stimulus
GO:0030155	regulation of cell adhesion	GO:0007617	mating behavior
GO:0008202	steroid metabolic process	GO:0033194	response to hydroperoxide
GO:0001755	neural crest cell migration	GO:0010870	positive regulation of receptor biosynthetic process
GO:0042737	drug catabolic process	GO:0071312	cellular response to alkaloid
GO:2000052	positive regulation of non-canonical Wnt signaling pathway	GO:0014808	release of sequestered calcium ion into cytosol by sarcoplasmic reticulum
GO:0016098	monoterpenoid metabolic process	GO:0030814	regulation of cAMP metabolic process
GO:0046483	heterocycle metabolic process	GO:0032287	peripheral nervous system myelin maintenance

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0021853	cerebral cortex GABAergic interneuron migration	GO:0030432	Peristalsis
GO:0035897	proteolysis in other organism	GO:0019722	calcium-mediated signaling
GO:0021984	adenohypophysis development	GO:0061179	negative regulation of insulin secretion involved in cellular response to glucose stimulus
GO:0071156	regulation of cell cycle arrest	GO:0042135	neurotransmitter catabolic process
GO:0009804	coumarin metabolic process	GO:2000641	regulation of early endosome to late endosome transport
GO:0048512	circadian behavior	GO:0032872	regulation of stress- activated MAPK cascade
GO:0060440	trachea formation	GO:0050877	neurological system process
GO:0042503	tyrosine phosphorylation of Stat3 protein	GO:0070244	negative regulation of thymocyte apoptotic process
GO:0006273	lagging strand elongation	GO:0097011	cellular response to granulocyte macrophage colony-stimulating factor stimulus
GO:0006936	muscle contraction	GO:0003300	cardiac muscle hypertrophy
GO:0000187	activation of MAPK activity	GO:1900364	negative regulation of mRNA polyadenylation
GO:0048146	positive regulation of fibroblast proliferation	GO:0006954	inflammatory response
GO:0021766	hippocampus development	GO:0045793	positive regulation of cell size
GO:1903827	regulation of cellular protein localization	GO:0051481	negative regulation of cytosolic calcium ion concentration
GO:0050665	hydrogen peroxide biosynthetic process	GO:0048661	positive regulation of smooth muscle cell proliferation
GO:0007167	enzyme linked receptor protein signaling pathway	GO:0006508	Proteolysis

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0060020	Bergmann glial cell differentiation	GO:0007049	cell cycle
GO:0097267	omega-hydroxylase P450 pathway	GO:0007613	Memory
GO:0010579	positive regulation of adenylate cyclase activity involved in G-protein coupled receptor signaling pathway	GO:0009611	response to wounding
GO:0010907	positive regulation of glucose metabolic process	GO:0048149	behavioral response to ethanol
GO:0007612	learning	GO:0008210	estrogen metabolic process
GO:0006811	ion transport	GO:0030517	negative regulation of axon extension
GO:0043406	positive regulation of MAP kinase activity	GO:0021756	striatum development
GO:0071407	cellular response to organic cyclic compound	GO:0032436	positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process
GO:0043268	positive regulation of potassium ion transport	GO:0042738	exogenous drug catabolic process
GO:0051146	striated muscle cell differentiation	GO:0031000	response to caffeine
GO:0061001	regulation of dendritic spine morphogenesis	GO:0090399	replicative senescence
GO:0071260	cellular response to mechanical stimulus	GO:0035815	positive regulation of renal sodium excretion
GO:0050965	detection of temperature stimulus involved in sensory perception of pain	GO:0042136	neurotransmitter biosynthetic process
GO:0007625	grooming behavior	GO:0070989	oxidative demethylation
GO:0090303	positive regulation of wound healing	GO:0032228	regulation of synaptic transmission, GABAergic
GO:0071732	cellular response to nitric oxide	GO:0035690	cellular response to drug
GO:0045821	positive regulation of glycolytic process	GO:0071850	mitotic cell cycle arrest

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

GO:0060402	calcium ion transport into cytosol	GO:0021819	layer formation in cerebral cortex
GO:0050729	positive regulation of inflammatory response	GO:0071318	cellular response to ATP
GO:0060644	mammary gland epithelial cell differentiation	GO:0050709	negative regulation of protein secretion
GO:0060334	regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway	GO:0030818	negative regulation of cAMP biosynthetic process

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

ANEXO D. Lista completa de las vías de señalización obtenidas a partir del análisis de enriquecimiento realizado con la herramienta *DAVID Bioinformatics Resources*.

Código	Vías de señalización	Código	Vías de señalización
hsa04080	Neuroactive ligand-receptor interaction	hsa04550	Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells
hsa04726	Serotonergic synapse	hsa05231	Choline metabolism in cáncer
hsa04020	Calcium signaling pathway	hsa05031	Amphetamine addiction
hsa04540	Gap junction	hsa04664	Fc epsilon RI signaling pathway
hsa05030	Cocaine addiction	hsa04920	Adipocytokine signaling pathway
hsa05220	Chronic myeloid leukemia	hsa04917	Prolactin signaling pathway
hsa05169	Epstein-Barr virus infection	hsa05140	Leishmaniasis
hsa04024	cAMP signaling pathway	hsa05219	Bladder cancer
hsa05145	Toxoplasmosis	hsa00980	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450
hsa05161	Hepatitis B	hsa05133	Pertussis
hsa05212	Pancreatic cancer	hsa04919	Thyroid hormone signaling pathway
hsa04022	cGMP-PKG signaling pathway	hsa04270	Vascular smooth muscle contraction
hsa04728	Dopaminergic synapse	hsa05166	HTLV-I infection
hsa05162	Measles	hsa05204	Chemical carcinogenesis
hsa05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	hsa04110	Cell cycle
hsa04068	FoxO signaling pathway	hsa00330	Arginine and proline metabolism
hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	hsa05213	Endometrial cancer
hsa04668	TNF signaling pathway	hsa04014	Ras signaling pathway
hsa05164	Influenza A	hsa00340	Histidine metabolism
hsa04725	Cholinergic synapse	hsa05168	Herpes simplex infection
hsa05215	Prostate cancer	hsa04150	mTOR signaling pathway
hsa00380	Tryptophan metabolism	hsa04915	Estrogen signaling pathway
hsa05230	Central carbon metabolism in cancer	hsa04630	Jak-STAT signaling pathway

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE LAS DIANAS DE β -CARBOLINAS DE LA ESPECIE *Banisteriopsis caapi* Y SUS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS EN CÁNCER DE MAMA

hsa05218	Melanoma	hsa05210	Colorectal cancer
hsa04660	T cell receptor signaling pathway	hsa05205	Proteoglycans in cáncer
hsa05203	Viral carcinogenesis	hsa05216	Thyroid cancer
hsa04151	UPI3K-Akt signaling pathway	hsa04115	p53 signaling pathway
hsa05200	Pathways in cancer	hsa00232	Caffeine metabolism
hsa04062	Chemokine signaling pathway	hsa05010	Alzheimer's disease
hsa05221	Acute myeloid leukemia 6	hsa04071	Sphingolipid signaling pathway
hsa05222	Small cell lung cancer	hsa04621	NOD-like receptor signaling pathway
hsa04722	Neurotrophin signaling pathway	hsa04010	MAPK signaling pathway
hsa05214	Glioma	hsa04370	VEGF signaling pathway
hsa04066	HIF-1 signaling pathway	hsa05160	Hepatitis C
hsa05211	Renal cell carcinoma	hsa04210	Apoptosis
hsa04380	Osteoclast differentiation	hsa05152	Tuberculosis
hsa00982	Drug metabolism - cytochrome P450	hsa04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes
hsa04662	B cell receptor signaling pathway	hsa04914	Progesterone-mediated oocyte maturation
hsa05034	Alcoholism	hsa05223	Non-small cell lung cáncer
hsa04012	ErbB signaling pathway		