

Artículo Original / Original Article

Modulación por *Passiflora edulis* de triglicéridos y colesterol intracelulares en líneas celulares de cáncer colorrectal SW480 y sus derivadas metastásicas (SW620)

[Modulation by *Passiflora edulis* of intracellular triglycerides and cholesterol in SW480 colorectal cancer cell lines and their metastatic derivatives (SW620)]

Juan Camilo Guerrero Ospina¹, Nasly Jimena Garay¹, Beatriz Restrepo¹, Nelsy Loango^{1,2},
María Elena Maldonado-Celis³ y Patricia Landázuri¹

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Quindío, Armenia, Quindío, Colombia

²Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad de Quindío, Armenia, Quindío, Colombia

³Escuela de Nutrición y dietética. Universidad de Antioquia Medellín, Antioquia, Colombia

Reviewed by:

Carmen Marín
Universidad Nacional de Trujillo
Peru

Miguel Moreno
Universidad de San Salvador
El Salvador

Correspondence:

Juan Camilo GUERRERO OSPINA
jcguerrero@uniquindio.edu.co

Section Biological activity

Received: 7 March 2023

Accepted: 29 May 2023

Accepted corrected: 9 June 2023

Published: 30 March 2024

Citation:

Guerrero Ospina JC, Garay NJ, Restrepo B, Loango N, Maldonado-Celis ME, Landázuri P. Modulación por *Passiflora edulis* de triglicéridos y colesterol intracelulares en líneas celulares de cáncer colorrectal SW480 y sus derivadas metastásicas (SW620)

Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat

23 (2): 214 - 228 (2024).

<https://doi.org/10.37360/blacpma.24.23.2.15>

Abstract: Cancer cells modify lipid metabolism to proliferate, *Passiflora edulis* (*P. edulis*) fruit juice (ZuFru) has antitumor activity, but whether a mechanism is through modulation of cell lipids is unknown. To establish if ZuFru modifies cholesterol and triglycerides in SW480 and SW620. ZuFru composition was studied by phytochemical march; antiproliferative activity by sulforhodamine B, cholesterol, and triglycerides by Folch method. ZuFru contains anthocyanins, flavonoids, alkaloids, and tannins. Cell lines showed differences in their growth rate ($p=0.049$). At 39.6 $\mu\text{g/mL}$ of ZuFru, cell viability was decreased: SW480 (45.6%) and SW620 (45.1%). In SW480, cholesterol (44.6%) and triglycerides (46.5%) decreased; In SW620, cholesterol decreased 14.8% and triglycerides increased 7%, with significant differences for both lines. Antiproliferative activity of ZuFru could be associated with the inhibition of intracellular biosynthesis of cholesterol and triglycerides in SW480. Action mechanisms need to be further investigated.

Keywords: Cholesterol; Triglycerides; Antiproliferative activity; Colorectal cancer; Hormetic effect.

Resumen: Las células cancerosas modifican el metabolismo lipídico para proliferar; el zumo de fruta (ZuFru) de *Passiflora edulis* (*P. edulis*) tiene actividad antitumoral, sin embargo, se desconoce si se involucran los lípidos celulares. Establecer si ZuFru modifica colesterol y triglicéridos en células SW480 y SW620. Composición del ZuFru, actividad antiproliferativa, colesterol y triglicéridos. Se encontraron antocianinas, flavonoides, alcaloides y taninos. Las líneas celulares mostraron diferencias en su tasa de crecimiento ($p=0.049$); ZuFru 39,6 $\mu\text{g/ml}$ se disminuyó la viabilidad celular; SW480 (45,6%) y SW620 (45,1%); en SW480 colesterol (44,6%) y triglicéridos (46,5%) en SW620, colesterol (14,8%) y los triglicéridos aumentaron 7%, con diferencias significativas para ambas líneas. La actividad antiproliferativa del ZuFru podría estar asociada a la inhibición de la biosíntesis intracelular de colesterol y de triglicéridos en SW480, pero no en SW620. Estos mecanismos de acción deben ser fuertemente investigados.

Palabras clave: Colesterol; Triglicéridos; Actividad antiproliferativa; Cáncer colorrectal; Efecto hormético.

INTRODUCTION

El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer tipo de cáncer más frecuente en todo el mundo. Su tratamiento requiere cirugía, quimioterapia o ambas. Aunque la quimioterapia ha mejorado la supervivencia de los pacientes con CCR, los efectos colaterales y la resistencia a la misma han llevado a la búsqueda de tratamientos alternativos o adyuvantes (Bernaba & Pandiella, 2018). En este contexto, los productos naturales con propiedades medicinales o nutraceuticas están cobrando importancia debido a su baja toxicidad en concentraciones compatibles con la ingesta humana y a su capacidad para producir menores efectos colaterales en comparación con los fármacos químicos (Bernaba & Pandiella, 2018; Huang *et al.*, 2019). Las plantas medicinales proporcionan grandes cantidades de moléculas bioactivas, como ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, carotenoides con actividad citotóxica y apoptótica frente a diversos tipos de cáncer, incluido el CCR (Bernaba & Pandiella, 2018; Moosavi *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019). Varios de estos compuestos se han identificado a partir de extractos de hojas, frutos y semillas de distintas variedades de *P. edulis* (Li *et al.*, 2011; Wosch *et al.*, 2017).

Para la especie *P. edulis f. flavicarpa* se han demostrado actividades biológicas como sedante, antihipertensiva, hipolipemiente, antioxidante y antiproliferativa (Li *et al.*, 2011; Aguillón *et al.*, 2013; Mota *et al.*, 2018; Guerrero *et al.*, 2018); en cuanto a sus propiedades antitumorales, el estudio de Ramírez *et al.* (2019), evaluó el efecto de un extracto etanólico de hojas de *P. edulis* sobre células de adenocarcinoma de colon (Caco-2), SW480 y su derivadas metastásicas SW620, y la línea celular no tumoral CHO-K1 y encontró efecto antiproliferativo con una dosis letal media (DL₅₀) de 167.62 µg/mL a las 24 h; el estudio también evidenció un incremento en el número de células necróticas en los cultivos tratados durante 48 h y un aumento en las poblaciones SubG1 y G2/M. Además, los autores evidenciaron un aumento en la actividad de la caspasa3 y la acumulación de glutatión oxidado con mayor efecto en células SW620 y menor en las células CHO-K1 (Ramírez *et al.*, 2019); asimismo, el estudio de Aguillón *et al.* (2013), con zumo de *P. edulis f. flavicarpa* en células SW480 y SW620, encontró un efecto antiproliferativo con IC₅₀ = 444 mg/mL y 415 mg/mL, respectivamente, reduciendo el crecimiento de las células SW480 y SW620 en 40% y

50%, respectivamente (Aguillón *et al.*, 2013). Los datos de ambos estudios evidencian un potencial anticancerígeno de *P. edulis*, que parece estar mediado, entre otros mecanismos, por la afectación del ciclo celular, como indican los hallazgos de Ramírez *et al.* (2019), al demostrar que el tratamiento con el extracto etanólico de *P. edulis* aumenta las subpoblaciones subG1 y G2/M, fases durante las cuales las células se reorganizan y reponen nutrientes, incluyendo lípidos; el no pasar a las siguientes fases cuando se expone al extracto de la fruta podría sugerir un menor aporte de nutrientes vitales para su división como son los triglicéridos y colesterol, dado que estos compuestos son importantes fuentes de energía, además de ser componentes estructurales de las membranas celulares y desempeñar un papel importante en las vías de señalización que permiten la proliferación celular (Grunt, 2018; Corn *et al.*, 2020), así, cambios en el metabolismo lipídico pueden afectar a numerosos procesos celulares, como el crecimiento, la proliferación, la diferenciación, la invasión y la metástasis (Broadfield *et al.*, 2021). Por otro lado, la literatura indica que las células cancerosas activan múltiples vías oncogénicas que convergen en un aumento de la síntesis y captación de ácidos grasos y colesterol para proliferar (Snaebjornsson *et al.*, 2020; Butler *et al.*, 2020), por lo que el objetivo de este trabajo fue investigar el efecto del zumo de *P. edulis* sobre la viabilidad celular y la concentración intracelular de colesterol y triglicéridos en células de adenocarcinoma de colon humano primario (SW480) y sus derivados metastásicos en ganglios linfáticos (SW620).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y preparación del ZuFru de P. edulis

Se utilizaron los frutos sanos y maduros de *Passiflora edulis f. flavicarpa*. Se recolectaron entre las 6:00 am y las 8:00 am en el municipio de La Tebaida, departamento del Quindío en Colombia. La madurez del fruto se determinó a través de su color y por el índice de madurez (brix/acidez), de acuerdo con la norma técnica colombiana NTC1267 (NTC 1267), la cual establece los requisitos que debe cumplir el fruto de *P. edulis* para su consumo en fresco. La especie fue identificada en el Herbario de la Universidad del Quindío (H18063). El ZuFru fue extraído por métodos mecánicos (sin incluir la semilla), liofilizado y almacenado a -20°C hasta su uso. Para la viabilidad

celular, se evaluaron cuatro concentraciones: 39,6, 52,8, 66,0, 132,0 µg/mL del liofilizado diluido en el medio de cultivo.

Contenido total de fenoles

El contenido total de fenoles se determinó según el método de Folin-Ciocalteu modificado (Prior y Cao, 1999). El ZuFru (10 µL) se mezcló con 125 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 400 µL de solución de carbonato sodio (7,1% p/v); la solución resultante se llevó a un volumen final de 1000 µL. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 30 min en la oscuridad. La absorbancia se midió a 760 nm frente a un blanco. Se utilizó una solución estándar de ácido gálico para realizar las curvas de calibración. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (GAE)/L.

Contenido total de flavonoides

Los flavonoides se determinaron mediante el método colorimétrico descrito por (Marinova et al., 2005); brevemente: se mezclaron 100 µL de ZuFru con 30 µL de NaNO₂ (5% p/v), 30 µL de AlCl₃ (10% p/v), 200 µL de NaOH (1 M), y la solución resultante se llevó a un volumen final de 1000 µL con agua destilada. La absorbancia se midió a 510 nm. Se utilizó la solución estándar de (+)-catequina para realizar las curvas de calibración y los resultados se expresaron como equivalentes de catequina/L.

Determinación de antocianinas monoméricas

Se utilizó el método del pH diferencial descrito por (Giusti & Wrolstad, 2001); El extracto se diluyó con dos buffers (pH=1,0 y pH=4,5) y se midió la absorbancia (A) de cada muestra a 530 y 700 nm en un espectrofotómetro (Beckman Instruments, Inc., Fullerton, CA). La estimación de las antocianinas monoméricas totales (AT) se realizó mediante la expresión: $AT (mg/100 mL) = \Delta A PM FD 100/\epsilon$ 1 donde: $\Delta A = [(A_{530} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{530} - A_{700})_{pH4,5}]$, con un coeficiente de extinción molar (ϵ) para el cianidin-3-glucósido (C-3-G) de 26900 y peso molecular (PM) para el cya-nidin-3-glucósido, 449,2 g/mol. Los resultados se presentaron como miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido (C3G) por 100 mL de muestra (mgEq C3G/100 mL) \pm SD.

Determinación del contenido total de taninos

Se tomó una alícuota de 250 µL del extracto de ZuFru, se añadieron 500 µL de solución de Albumina de suero bovino (BSA) en tampón de ácido acético 0,2 M con pH=5,0, se mezcló cuidadosamente y se dejó reposar durante 15 min; se centrifugó a 5.000 g x durante 15 min y se desechó el sobrenadante, el precipitado se diluyó con 1 mL de solución de dodecil sulfato sódico (SDS) al 1% y trietanolamina al 4%. Por último, se añadieron 250 µL de cloruro férrico (FeCl₃) al 0,01 M en ácido clorhídrico (HCl) al 0,01 M y se incubaron durante 30 min. La absorbancia se analizó a 510 nm en espectrofotómetro (BioTeck, Epoch microplate). Como blanco, se utilizó 1 mL de solución de SDS al 1% y trietanolamina al 4% en 250 µL de solución de FeCl₃ al 0,01 M en HCl al 0,01 M. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido tánico por gramo de ZuFru (mg TAE/g ZuFru). El ácido tánico se utilizó como patrón para la curva de calibración (Armentano et al., 2015).

Determinación del contenido total de alcaloides

Se utilizó el método de verde de bromocresol. Brevemente, se mezcló 1 mL del ZuFru con 5 mL de tampón fosfato (pH=4,7) y 5 mL de solución de verde de bromocresol, añadiendo a continuación 2 mL de cloroformo; este último paso se repitió dos veces; por último, la absorbancia del extracto recogido se midió a 470 nm en espectrofotómetro (BioTeck, microplaca Epoch). Se utilizó quinina como patrón para elaborar la curva de calibración. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quinina por gramo de ZuFru (mg QE/g ZuFru) (Fazel et al., 2010).

Determinación del contenido total de polisacáridos

Se utilizó el método fenol-ácido sulfúrico. Brevemente, se añadieron 100 µL del ZuFru a 100 µL de fenol al 5% y 500 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 95%, la mezcla se incubó a RT durante 15 min. La absorbancia se midió a 490 nm en espectrofotómetro (BioTeck, Epoch microplate), y se utilizó como blanco agua destilada más H₂SO₄. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de glucosa por gramo de ZuFru (mg GE/g ZuFru). Se utilizó glucosa como patrón para elaborar la curva de calibración (Lopez et al., 2017).

Análisis de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante del extracto de *P. edulis* se

analizó mediante el método del 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazilo (DPPH); este método se basa en la cuantificación de la decoloración de este radical debida a la interacción con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o transferir un electrón; el análisis se realizó según Gil *et al.*, (2012). La muestra de análisis consistió en 1 mL de ZuFru y 99 mL de la disolución de DPPH (20 mg/L). Como reactivo de referencia se utilizó la misma cantidad de DPPH y 1 mL de agua. Se obtuvo un blanco sustituyendo el cromóforo por metanol. La absorbancia se analizó a 517 nm en espectrofotómetro (BioTeck, Epoch microplate), tras 30 min de reacción a temperatura ambiente y en oscuridad. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de ZuFru ($\mu\text{mol TE/g}$).

Cultivo celular

Las líneas celulares utilizadas, SW480 y SW620, se obtuvieron de la European Collection of Animal Cell Culture (ECACC, Salisbury, Reino Unido). Las cuales se mantuvieron y propagaron en frascos de cultivo Falcon de 75 cm² en me-dium Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) (Gibco) con 25 mM de glucosa y 2 mM de L-glutamina, suplementado con 10% de suero fetal bovino (BFS)(Gibco), 100 U/mL de penicilina, 100 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomycin (Gibco) y 1% de aminoácidos no esenciales (Gibco) tomado como medio de mantenimiento (MM). Para los tratamientos con ZuFru, el medio se modificó de la siguiente manera: el suero fetal bovino se redujo al 3% y se complementó con 10 $\mu\text{g/mL}$ de insulina, 5 $\mu\text{g/mL}$ de transferrina y 5 ng/mL de selenio (ITS), y se denominó medio de tratamiento (TM) (Broadfield *et al.*, 2021). Todos los cultivos celulares se incubaron a 37°C en un 5% de CO₂. La propagaron de las líneas celulares se realizó removiendo el medio de mantenimiento cada 48 horas, por 8 días, se realizaron procedimientos de subcultivo. Para cada transferencia se descartó el sobrenadante dejando las células adheridas y se lavó la superficie de adhesión celular con PBS (1X), se adicionó 1ml de tripsina EDTA (GIBCO) a una concentración de 0.25% durante 5 minutos y luego se bloqueó la actividad enzimática con 3 mL de medio de mantenimiento. La suspensión celular obtenida fue transferida a un tubo cónico de 15 mL y se centrifugo a 1100 rpm durante 3 minutos. Se descarto nuevamente el sobrenadante y el botón celular se resuspendió con 2 mL de medio.

Se estimó la concentración celular en cámara de Neubauer y por exclusión de colorante con Azul de tripano 0.4% (Gibco). A cada subcultivo se transfirió 700.000 células por frasco T25 en un volumen final de 5 mL medio de cultivo de mantenimiento (Maldonado *et al.*, 2014).

Crecimiento celular

Para estudiar el crecimiento celular se utilizó el método de la sulforodamina B (SRB) (Maldonado *et al.*, 2014). Dicho método se basa en la unión del colorante a las proteínas de las células que se han adherido a las placas de cultivo. Brevemente, se sembraron 5.000 células por pocillo en placas de 96 pocillos a 37°C y 5% de CO₂. Se monitorizó su crecimiento durante 72 h, realizando fijaciones cada 6 h, la fijación se per-formó durante 1 h con 100 μL al 50% (v/v) de ácido tricloroacético (TCA) a 4°C. La placa se lavó con agua para eliminar el TCA y se dejó secar durante la noche; las células se tiñeron durante 30 min con 100 μL de solución de SRB (0,4%). El colorante no unido se enjuagó con ácido acético al 1% v/v y después se dejó secar la placa durante la noche. Por último, se añadieron 200 μL de solución de Tris 10 mM (pH=10,5) a cada pocillo y se incubó la placa con agitación durante 30 min a 55 rpm. El valor de DO se midió a 490 nm en un lector de microplacas (BioTeck, Epoch microplate).

Efecto antiproliferativo de la *P. edulis*

El ensayo se realizó de acuerdo con lo establecido por Ramírez *et al.* (2019), con algunas modificaciones así: Se cultivaron 15.000 células/pocillo de cada línea celular en placas de 96 pocillos, el volumen final de medio de tratamiento con las concentraciones de ZuFru estudiadas fue de 200 μL . Las células se incubaron durante 24 y 48 h. El medio se sustituyó con ZuFru cada 48 h. Tras el periodo de exposición a las distintas concentraciones de zumo (39,6, 52,8, 66,0, 132 0 $\mu\text{g/mL}$), se pararon los cultivos añadiendo 100 μL de TCA frío (50% v/v) (MERCK) a 4°C durante 1 h, se lavó el ácido y se añadieron 100 μL de SRB (0,4% p/v diluido en ácido acético 1%) durante 30 min a temperatura ambiente (RT), y después se lavaron con ácido acético (1% v/v en agua destilada). Las placas se secaron a TA durante 24 h. Para leer la absorbancia, la SRB unida a las proteínas se solubilizó añadiendo 100 μL de tampón Tris-HCl (10 mM pH=10,5) a cada pocillo y se agitó de forma orbital durante 20 min. La densidad

óptica se leyó a 490 nm en un lector de microplacas (BioTeck Epoch microplate). El porcentaje de viabilidad se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{Viabilidad} = \frac{\text{DO células tratadas}}{\text{DO células control}} \times 100$$

Extracción de lípidos intracelulares

Se utilizó el método Folch con modificaciones. Brevemente, se sembraron 1.000.000 de células en cajas Petri de poliestireno (60 x 15 mm de tamaño) y se cultivaron en medio DMEM con BFS al 3% durante 24 h. Cuando las células alcanzaron el 80% de confluencia, se retiró el medio de cultivo y se añadió 1 mL de tampón de lisis RIPA (Hepes, NaCl, Triton y SDS, pH=7,6). El lisado se dividió en tres porciones: 400 µL para determinar el colesterol, 400 µL para los triglicéridos y 200 µL para cuantificar las proteínas. Se añadió una cantidad de 500 µL de solución de cloroformo y metanol (2:1) a los 400 µL de lisado; la mezcla se dejó en agitación durante 2 min, después se añadieron 1.000 µL de NaCl al 0,09% y se agitó durante 1 min en vórtex; a continuación, se añadieron 2.000 µL de cloroformo y se centrifugó a 3.000 rpm durante 2 min y la fase cloroformada se retiró a un nuevo tubo (esta fase tenía los lípidos extraídos). A continuación, el cloroformo se evaporó a temperatura ambiente

durante 24 h; el colesterol y los triglicéridos se determinaron por separado en el residuo resultante con estuches comerciales (Human Liquicolor®), siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de lípidos se normalizó con la concentración de proteína de cada muestra. Las proteínas se cuantificaron mediante el método del ácido bicinónico (BCA), utilizando albúmina sérica para la curva de calibración.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media \pm error estándar (EE) o porcentaje. Los datos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y se complementaron con las pruebas de Bonferroni o Tukey-Kramer. Para comparar los grupos se utilizó el software GraphPad Prism V8. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Caracterización fisicoquímica del ZuFru

En la Tabla N° 1 se resalta la alta presencia de cardiotónicos, carotenoides y carbohidratos, también la presencia media de los taninos, además de la baja presencia de quinonas, esteroides y flavonoides, metabolitos que se relacionan en la discusión con los resultados obtenidos.

Tabla N° 1

Tamizaje fitoquímico de los extractos del zumo liofilizado de *P. edulis*

Componentes fitoquímicos	Zumo
Taninos	++
Flavonoides	+
Quinonas	+
Esteroides	+
Saponinas	-
Cardiotónicos	+++
Carotenoides	+++
Carbohidratos	+++

(+)Poca presencia, (++)Presencia media, (+++)Alta presencia, (-)Ausencia

En la Tabla N° 2 se relaciona la composición proximal del Zufu, resaltando principalmente el

pH ácido y la alta actividad antioxidante determinada por el protocolo de FRAP.

Tabla N° 2
Composición proximal del zumo liofilizado de *P. edulis*

Análisis	Resultado	Unidades
% acidez titulable	4.88	g de fruta / 100 mL de ácido
Actividad del agua (<i>aw</i>)	0,46	Paw kit Water Activity Meter
% de humedad	15,67	AOAC 1990
pH	3,06	NTC 440
Sólidos solubles <i>Bx</i>	12	NTC 440
% grasa cruda	1.57	NTC 668
% fibra cruda	1.60	NTC 668
% Solubilidad del agua	19	g de fruta / mL de agua
Capacidad antioxidante <i>FRAP</i>	623.93	μmol ET / 100 g fruta

Crecimiento celular

La Figura N° 1, muestra el crecimiento de las células SW480 y SW620. Bajo las condiciones de cultivo descritas en la sección de Materiales y Métodos, el crecimiento celular en ambas líneas fue similar durante las primeras 24 h, a partir de las cuales el

crecimiento de las células SW620 fue mayor que en las SW480 con diferencias significativas en cada punto evaluado. Ambas líneas alcanzan su fase exponencial después de 60 h, siendo el crecimiento de las células SW620 1,6 veces mayor en comparación con las células SW480 ($p=0,049$).

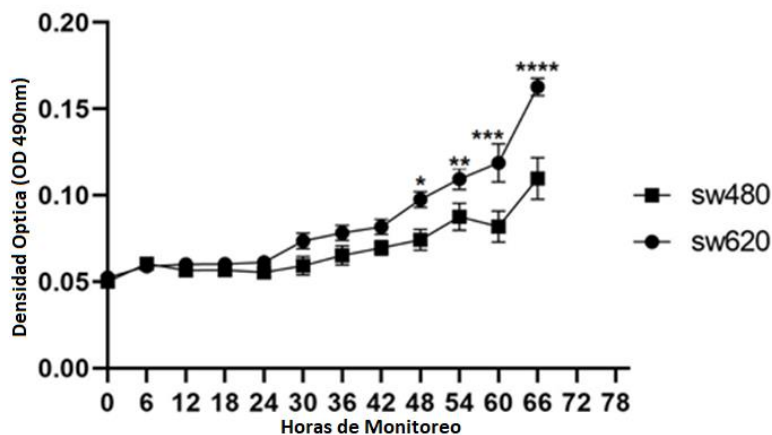


Figura N° 1

Crecimiento celular de las células SW480 y SW620. Las células (5.000 células/pocillo) se cultivaron en placas de 96 pocillos, (ver Materiales y Métodos). El crecimiento celular se monitorizó mediante densidad óptica (DO) a 490 nm cada 6 h durante 72 h. Los datos se expresan como la media \pm error estándar de tres experimentos independientes. * $p<0.049$, ** $p<0.047$, *** $p<0.040$, **** $p<0.036$.

Efecto del ZuFru sobre la viabilidad celular

La Figura N° 2, muestra la viabilidad de ambas líneas celulares; el crecimiento de las células SW480 disminuyó a concentraciones de ZuFru de 39,6 y 52,8 $\mu\text{g/mL}$ con relación a las líneas no son tratadas (control), con diferencias significativas, resultados similares se encontraron en las células SW620. A las

concentraciones de 66,0 y 132 $\mu\text{g/mL}$, la viabilidad celular de ambas líneas celulares aumentó, mostrando un comportamiento inverso al conocido comportamiento hormético en el que existe una respuesta bifásica al estímulo de un agente natural (Bao et al., 2014).

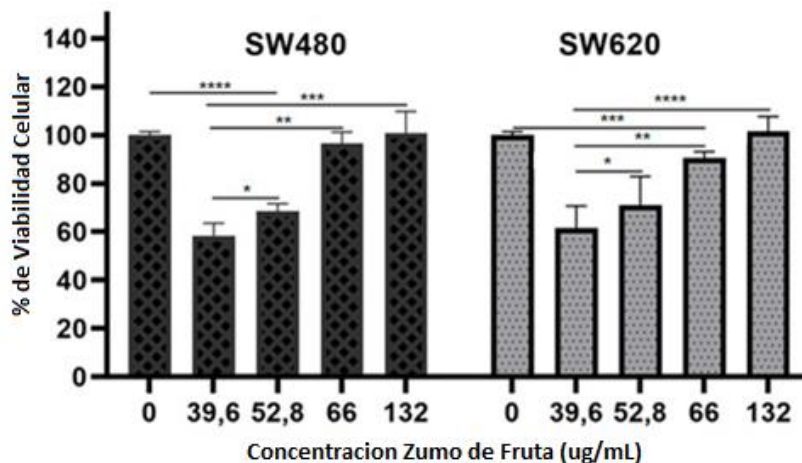


Figura N° 2

Efecto del zumo de fruta de *Passiflora edulis f. flavicarpa* sobre la viabilidad de las células SW480 y sus derivadas metastásicas SW620. Las células se expusieron a diferentes concentraciones de zumo durante 48 h. Los datos se expresan como la media \pm error estándar de tres experimentos independientes. En SW480 * $p=0.0036$, ** $p=0.0018$, * $p=0.0007$, **** $p=0.0002$; SW620: * $p=0.0021$, ** $p=0.0001$, *** $p=0.0001$, **** $p=0.0001$**

Efecto del ZuFru de *P. edulis* en la concentración intracelular de colesterol y triglicéridos

La Figura N° 3, muestra la concentración intracelular de colesterol total (CT) en las células SW480 y SW620. Los datos indican un mayor contenido de CT (6,9 $\mu\text{g/mL}$) en las células SW480 en comparación con las SW620 (4,9 $\mu\text{g/mL}$) con diferencias significativas. El ZuFru a concentraciones de 39,6 y

52,8 $\mu\text{g/mL}$ disminuyó significativamente los niveles de colesterol intracelular en las células SW480, 3,8 y 3,1 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente ($p=0.042$), mientras que en las células SW620 esta disminución sólo se produjo a la concentración de 39,6 $\mu\text{g/mL}$, (4,2 $\mu\text{g/mL}$) ($p=0.001$), con una recuperación de los niveles de colesterol por encima de los valores de control a 52,8 $\mu\text{g/mL}$

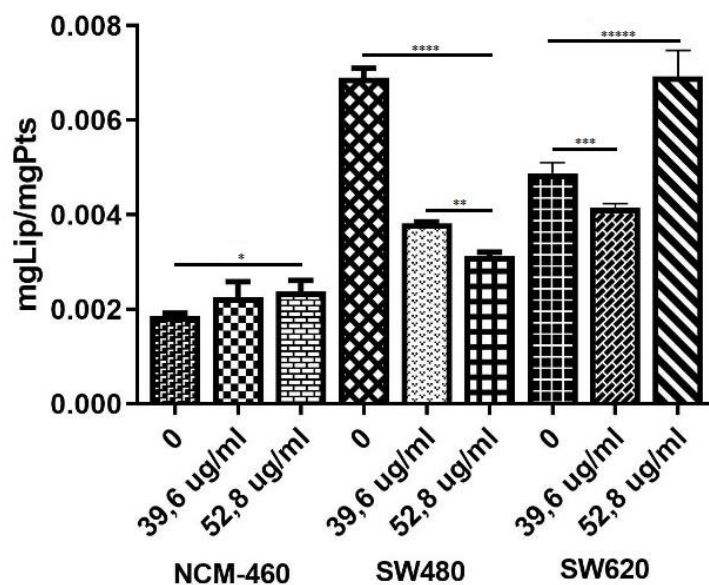


Figura N° 3

Niveles de colesterol intracelular total de NCM-460, SW480 y SW620: efecto del zumo de *Passiflora edulis f. flavicarpa*. Las células se expusieron a dos concentraciones de zumo durante 48 h. Los datos se expresan como la media \pm error estándar de tres experimentos independientes realizados por triplicado. * $p=0.045$, ** $p=0.042$, *** $p=0.0039$, **** $p=0.001$, ***** $p=0.001$, $\mu\text{gTC}/\text{mgTP}$: microgramos de colesterol/miligramo de proteínas totales

Para los triglicéridos intracelulares, se encontró una situación similar a la del CT, que evidenció que las células SW480 tienen mayor contenido de triglicéridos (8,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) que las células SW620 (7,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) con diferencias significativas. El ZuFru disminuyó los triglicéridos en SW480 en a 4,4

y 3,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con 39,6 y 52,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente ($p=0.025$); pero en SW620 el efecto fue diferente, los triglicéridos aumentaron a 7,5 y 12,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con 39,6 y 52,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ZuFru respectivamente con diferencias significativas ($p=0.047$), solo para este último valor con respecto al control. (Figura N° 4).

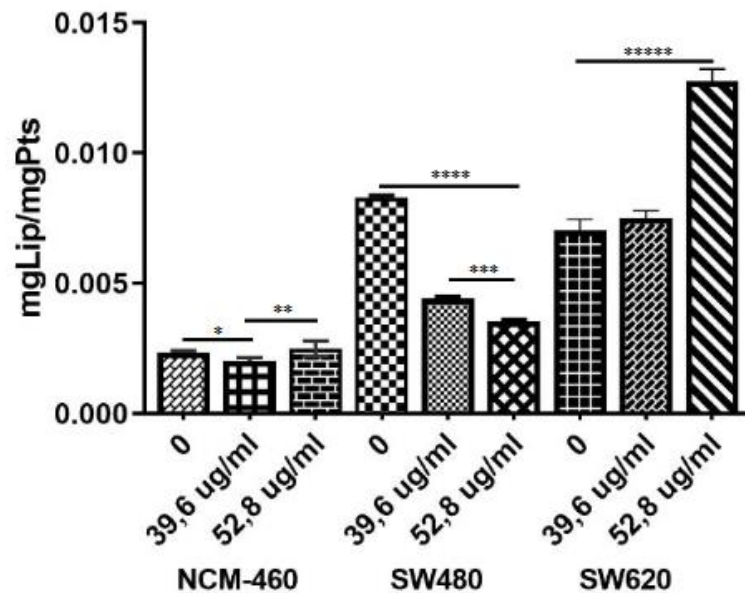


Figura N° 4

Efecto del extracto de zumo de fruta de *Passiflora edulis f. flavicarpa* sobre los triglicéridos intracelulares de NCM-460, SW480 y SW620. Las células fueron expuestas a dos concentraciones, 39,6 y 52,8 $\mu\text{g/mL}$ del zumo durante 48 h. Datos expresados como media \pm error estándar de tres experimentos independientes. * $p=0.011$, ** $p=0.017$ *** $p=0.025$, **** $p=0.030$, ***** $p=0.047$; $\mu\text{gTAG/mgPT}$. microgramo de triglicéridos/miligramos de proteínas totales

DISCUSIÓN

Los lípidos intracelulares son indispensables para la supervivencia y migración de las células tumorales porque ellas los utilizan para sintetizar nuevas membranas, obtener energía y en las vías de señalización de la proliferación celular (Grunt, 2018; Corn *et al.*, 2020), de ahí que el estudio del metabolismo lipídico en cáncer es un foco de investigación de frontera en búsqueda de dianas terapéuticas para combatir la enfermedad (Butler *et al.*, 2020).

En esta perspectiva las plantas medicinales constituyen una fuente innegable de sustancias bioactivas utilizadas en la lucha contra el cáncer, pues a partir de ellas se han extraído o diseñado diversos medicamentos (Kaur *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019).

En este trabajo se estudió el ZuFru de *P. edulis*, una planta de la familia *Passifloraceae* en cuyos extractos se han demostrado diferentes actividades biológicas, como su capacidad antiproliferativa, antihipertensiva y antioxidante (Gazola *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2021), pero no se han descrito completamente los mecanismos de estas acciones, ni a cuáles de sus compuestos se les puede

atribuir estas actividades; igualmente a varios de los fitoquímicos descritos para *P. edulis* se les han atribuido propiedades antiproliferativas como a los polifenoles de tipo flavonoide (Aguillón *et al.*, 2013)

El análisis fitoquímico del ZuFru, descrito en este trabajo, confirma la existencia de esas familias de metabolitos secundarios de interés biológico y farmacológico para la prevención y tratamiento del cáncer; así este trabajo muestra que el ZuFru contenía en cantidades abundantes antocianinas, flavonoides y alcaloides, compuestos a los que podrían atribuirse los efectos en la viabilidad celular observados en las células SW480 y SW620 en este estudio y que a través de otros estudios *in vitro* se han demostrado que los mecanismos de acción de estos compuestos involucran vías de señalización que modulan genes, proteínas, marcadores de vías metabólicas antiproliferativas o que inducen muerte celular, como la vía mitógeno-activada proteína quinasa (AMPK por sus siglas en inglés) y sus familias de quinasas/fosfatasa, las caspasas 3, 7, 8 y 9, y p53, entre las más conocidas (Zhang *et al.*, 2013; Refolo *et al.*, 2015; Kee *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2016, Afrin *et al.*, 2020).

Además, el análisis proximal muestra que el ZuFru tiene un pH ácido, lo que podría hacer sinergia con los polifenoles para su actividad antiproliferativa, ya que la evidencia indica que las células cancerosas acidifican su entorno y, por lo tanto, se alcalinizan intracelularmente para proliferar (Persi *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2020); un medio de cultivo ya ácido por la presencia del ZuFru genera la ruptura del gradiente de protones y podría limitar la alcalinización interna y evitar la proliferación de las células estudiadas.

Sus mecanismos de acción involucran vías de señalización que modulan genes, proteínas, marcadores de vías metabólicas antiproliferativas o que inducen muerte celular, como la vía AMPK y sus familias de quinasas/fosfatasa, caspasas 3, 7, 8 y 9, y p53, entre las más conocidas y conocidas. implícita en la CDN. Además, estos polifenoles logran la inhibición de factores de proliferación celular, como Bcl-2, p-Akt y NF- κ B, la modulación de las vías de las quinasas (PI3K, AKT y P-AKT), la disfunción lisosomal y mitocondrial o la detención de la célula. ciclo en algunas de sus fases para impedir la proliferación y promover la muerte celular. Las Figuras N° 1 y N° 2 muestran estos efectos y mecanismos en la apoptosis, el ciclo celular, la reparación del ADN, la inflamación, la proliferación celular y el mantenimiento de los flavonoides genisteína antocianinas, Kaempferol, EGCG y algunas de sus fuentes dietéticas.

Adicionalmente, y como mecanismo coadyuvante en la inhibición del crecimiento celular visto en este trabajo por la exposición de las células al ZuFru, se podrían considerar las propiedades antioxidantes demostradas para el extracto por el método de DPPH. Diversos estudios indican que los antioxidantes a bajas concentraciones previenen, reducen o limitan varios tipos de tumores maligno, así, antioxidantes de tipo antocianina, flavonoides y taninos, extraídos de diversas plantas, suprimen *in vitro* la proliferación de células de cáncer gástrico, de colon y de pulmón, entre otros (Carvalho & Conte-Junior, 2021), lo que podría explicar el efecto anti proliferativo del ZuFru a bajas concentraciones descrito en este trabajo.

Sin embargo, el aumento del crecimiento celular a mayores concentraciones del ZuFru, tendría que explicarse por un mecanismo diferente, como por ejemplo la mayor disponibilidad de nutrientes en el medio, entre ellos la importante presencia de azúcares reductores y polisacáridos descritas para el ZuFru, estos azúcares estarían jugando un papel más importante que las propiedades antioxidantes o los

polifenoles presentes y que podría explicar el efecto hormético inverso observado en este estudio, dado que por décadas se ha demostrado que el metabolismo de la glucosa es diferente en las células tumorales y juega un papel importante en la oncogénesis (Mboge & Bissell, 2020).

Este trabajo también encontró que las líneas celulares SW480 y SW620 muestran que bajo las mismas condiciones de cultivo tienen una tasa de crecimiento diferente, especialmente durante su fase exponencial, una característica que ya ha sido demostrada por otros autores (Duranton *et al.*, 2003). Esta diferencia en la tasa de crecimiento puede deberse no sólo a su origen (tumor primario SW480 y células metastásicas SW620), sino a la expresión diferente de marcadores, factores de crecimiento y vías de señalización que genera respuestas de crecimiento diferente por si solas o frente a la exposición de sustancias como el ZuFru (Ge *et al.*, 2020).

Esta respuesta diferencial podría explicar los datos en la viabilidad celular encontrada en esta investigación, la concentración de 39,6 μ g/mL de ZuFru obtuvo una disminución comparable (45,6% y 45,1%) de la viabilidad para SW480 y SW620, respectivamente, en comparación con sus homólogos no tratados. Sin embargo, a concentraciones del ZuFru \geq 52,6 μ g/mL, se observó un aumento de la viabilidad celular. Una posible explicación de este resultado podría ser que el zumo a estas concentraciones tiene efectos contrarios como se dijo antes al conocido comportamiento hormético (sustancias que a dosis bajas tienen efectos benéficos y a dosis altas efectos nocivos). En este trabajo, el efecto antiproliferativo (nocivo) se obtuvo a dosis bajas y se pierde este efecto a dosis altas. Abundante evidencia indica que algunos compuestos o extractos naturales tienen un efecto inverso u opuesto al hormético, como el encontrado para el ZuFru de *P. edulis*, por ejemplo, Dang & Lowik (2004), reportaron que la isoflavona daidzeína mostró un efecto bifásico sobre la osteogénesis, pero lo hizo de manera opuesta/inversa al efecto hormético; específicamente, la daidzeína estimuló la osteogénesis a concentraciones de 1-20 μ M, pero a concentraciones \geq 30 μ M, inhibió la osteogénesis (Dang & Lowik, 2004).

Una explicación a este efecto anti hormético del ZuFru fue mencionada arriba sobre el alto contenido de carbohidratos en el extracto, si bien este trabajo no identifico los carbohidratos individuales presentes, Conde *et al.* (2017), demostraron un alto

contenido en glucosa y fructosa en *P. edulis* (Conde *et al.*, 2017), ambos azúcares son incorporados a la célula y utilizados para proporcionar energía y síntesis de lípidos para los procesos vitales celulares.

Para reafirmar esta explicación, este mismo fenómeno de crecimiento frente a los carbohidratos ha sido observado por otros autores, pero en líneas celulares no tumorales, así, Peres *et al.* (2017), indican que a altas concentraciones de glucosa (30 mM), las células renales normales en cultivo proliferaban.

En resumen, en el presente trabajo, es posible que el crecimiento celular diferencial entre las dos líneas celulares se deba, a su origen y a la expresión de diferentes transportadores de glucosa para cada línea celular (Ohta *et al.*, 1990; Gromova *et al.*, 2021).

Con respecto a la viabilidad celular, en resumen, la exposición al ZuFru causa muerte celular a bajas dosis y no a altas dosis, fenómeno contrario al hormético que pudiera ser explicado desde la disponibilidad de nutrientes, donde a altas concentraciones del ZuFru (altas concentraciones de carbohidratos), los mecanismos de sobrevivencia pesan más que los mecanismos antiproliferativos vía polifenoles y antioxidantes, sin embargo, esto es especulativo pues este trabajo no profundizó en estos mecanismos.

Con respecto a los niveles intracelulares de colesterol y triglicéridos determinados en las líneas celulares SW480 y SW620, los resultados muestran por primera vez y hasta donde se conoce, cual es la concentración intracelular de estos compuestos en el modelo *in vitro* SW480 y SW620, así como cuál es el efecto del ZuFru sobre estos lípidos. Los resultados obtenidos en este estudio revelan que la respuesta al ZuFru de CT y TAG fue diferencial en ambas líneas celulares; es decir, mientras que en las células SW480 disminuyen los niveles de CT y TAG, estos mismos lípidos aumentan tras el tratamiento con el zumo de *P. edulis* en SW620. Estos hallazgos sugieren que las células metastásicas tienen adaptaciones metabólicas distintas a las del tumor primario posiblemente para favorecer su proliferación, evasión y desplazamiento a otros tejidos como se ha demostrado para otras líneas celulares (Broadfielt *et al.*, 2021) y para las propias SW620 (Duranton *et al.*, 2003).

Por otro lado, se han identificado varios fitoquímicos y extractos de plantas con capacidad para reducir los niveles de colesterol en organismos completos (He *et al.*, 2013) y en modelos celulares

(Pedro *et al.*, 2021). En la Figura N° 2 nuestros resultados muestran una disminución de la proliferación celular en SW480 y SW620 del 45,6% y 45,1%, respectivamente, a una concentración de 39,6 µg/mL, y a la misma concentración una reducción de los niveles de colesterol (44,6% y 14,8%, respectivamente). Aunque no se estudió la relación causa-efecto entre los lípidos y la disminución de la viabilidad celular, una hipótesis que se desprende de estos resultados es que a esa concentración el ZuFru podría inhibir en algún punto la vía de síntesis de colesterol ya que este lípido es fundamental para proliferación celular, especialmente en las células SW480, donde la reducción de los niveles de colesterol es mayor; sin embargo, se necesita estudios para conocer los mecanismos implicados en esta reducción del colesterol y su relación con el efecto antiproliferativo observado en este caso.

Algo similar ocurre con los triglicéridos, que disminuyen significativamente en un 46,52% a la concentración de 39,6 µg/mL en SW480, concentración a la que el ZuFru alcanza el mayor efecto antiproliferativo en esta línea celular, sugiriendo también que la inhibición de la síntesis de triglicéridos podría estar implicada en el mecanismo antiproliferativo del ZuFru.

Para las células SW620, el efecto es diferente; el ZuFru no disminuye los triglicéridos, al contrario, los triglicéridos aumentan cuando las células son expuestas a 39,6 µg/mL, concentración a la que el ZuFru tiene el mayor efecto antiproliferativo; además, a mayores concentraciones de ZuFru, los triglicéridos aumentan notablemente respecto a las células no tratadas (control) con diferencias significativas.

A este respecto, la literatura ha demostrado que los triglicéridos se utilizan como fuente de energía, de recomposición de la membrana celular y de metabolitos para las vías de señalización en las células tumorales (Jensen-Urstad & Semenkovich, 2012; Chen & Li, 2016); esta reconstrucción de la membrana, según varios autores, les permite modular la tolerancia al estrés oxidativo y la supervivencia celular; además, estos cambios en los lípidos permiten la invasión y la metástasis (Liu *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2021), recordando que las SW620 son metastásicas.

Diversos estudios han revelado que, a diferencia de las células tumorales primarias, las células metastásicas activan varias vías metabólicas de lípidos; por ejemplo, pueden mejorar la captación

de ácidos grasos (AG) aumentando el CD36, un transportador de AG, sobre expresar carnitina palmitoil transferasa 1A (CPT1A, enzima clave limitadora de la tasa de oxidación de ácidos grasos) (Liu *et al.*, 2017; Broadfield *et al.*, 2021); aumentan la biosíntesis de novo de lípidos a través de la ATP-citrato liasa (ACLY) (enzima controladora de la velocidad del primer paso en la síntesis de lípidos) y la enzima sintasa de ácidos grasos (FASN) (enzima clave en la síntesis de ácidos grasos), lo que también fomenta la capacidad de migración e invasión de las células cancerosas (Martin *et al.*, 2021). Estas características de las células metastásicas en el metabolismo de los lípidos podrían justificar las diferencias del efecto ZuFru sobre estos compuestos en las dos líneas celulares aquí utilizadas.

Las limitaciones del presente estudio radican en que no se demostró un efecto directo sobre la síntesis o degradación de CT y TAG en las células estudiadas, sin embargo, se apoyan en diversos estudios que han mostrado no sólo alteraciones en el metabolismo lípido-energético de tumores y líneas celulares cancerosas en general, sino diferencias en las vías metabólicas alteradas en cada uno de ellos, proporcionando fenotipos lipídicos característicos de cada tumor o línea, evidenciando que los lípidos

pueden ser potenciales biomarcadores de diferentes tipos de cáncer y pueden ser utilizados para clasificar algunas células cancerosas y potenciar tratamientos anticancerígenos (Wang *et al.*, 2020), se requiere entonces seguir profundizando en los mecanismos de acción del ZuFru sobre las síntesis o degradación de lípidos.

CONCLUSIONES

Este trabajo demuestra tasas de crecimiento celular, respuestas en viabilidad y niveles de CT y TAG diferentes frente al ZuFru entre SW480 y SW620, evidenciando que las necesidades metabólicas y de supervivencia celular son diferentes según su origen, y que es necesario profundizar en los mecanismos de acción del ZuFru para generar conocimiento para su uso como o coadyuvante o como tratamiento del CCR.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por COLCIENCIAS (Ministerio de Ciencia y Tecnología de Colombia) a través del Ecosistema Científico Convocatoria 778 de 2017 (número de concesión, FP44842-211-2018) COLCIENCIAS, proyecto número 58580.

REFERENCIAS

- Afrin S, Giampierib F, Gasparinic M, Forbes-Hernández BT, Cianciosa D, Reboredo-Rodríguez P, Zhanga J, Mannaa PP, Dagliad M, Atanasove AG, Battinob M. 2020. Dietary phytochemicals in colorectal cancer prevention and treatment: A focus on the molecular mechanisms involved. **Biotechnol Adv** 38: 107322. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.011>
- Aguillón OJ, Maldonado ME, Loango CN, Arango VSS, Landázuri P. 2013. Antioxidant and antiproliferative activity of ethanolic and aqueous extracts from leaves and fruits juice *Passiflora edulis*. **Perspect Nutr Hum** 15: 113 - 125.
- Armentano MF, Bisaccia F, Miglionico R, Russo D, Nolfi N, Carosino M, Milella L. 2015. Antioxidant and proapoptotic activities of *Sclerocarya birrea* [(A. Rich.) Hochst.] methanolic root extract on the hepatocellular carcinoma cell line HepG2. **Biol Med Res Int** Volume 2015: Article 561589 <https://doi.org/10.1155/2015/561589>
- Bao Y, Wang W, Zhou Z, Sun C. 2014. Benefits and risks of the hormetic effects of dietary isothiocyanates on cancer prevention. **Plos One** 9: 12-e114764. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114764>
- Benarba B, Pandiella A. 2018. Colorectal cancer and medicinal plants: Principle findings from recent studies. **Biomed Pharmacother** 107: 408 - 423. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.006>
- Broadfield LA, Pane AA, Talebi A, Swinnen JV, Fendt SM. 2021. Lipid metabolism in cancer: new perspectives and emerging mechanisms. **Dev Cell** 56: 1363 - 1393. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.04.013>
- Butler LM, Perone Y, Dehairs J, Lupien LE, de Laat V, Talebi A, Loda M, Kinlaw WB, Swinnen JV. 2020. Lipids and cancer: emerging roles in pathogenesis, diagnosis and therapeutic intervention. **Adv Drug Deliv Rev** 159: 245 - 293. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.07.013>
- Carvalho APA, Conte-Junior CA. 2021. Health benefits of phytochemicals from Brazilian native foods and plants: antioxidant, antimicrobial, anti-cancer, and risk factors of metabolic/endocrine disorders control. **Trends Food Sci Technol** 111: 534 - 548. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.006>
- Conde CG, Guardo KPT, Llamas EG, Pájaro-Castro NP, Milano YG. 2017. Caracterización química y evaluación

- de la actividad antioxidante de la pulpa de *Passiflora edulis* Sims (gulupa). **Rev Cub Plant Med** 22: 2.
- Corn KC, Windham MA, Rafat M. 2020. Lipids in the tumor microenvironment: from cancer progression to treatment. **Prog Lipid Res** 80: 101055. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2020.10.10.55>
- Chen Y, Li P. 2016. Fatty acid metabolism and cancer development. **Sci Bull** 61:1473 - 1479. <https://doi.org/10.1007/s11434-016-1129-4>
- Dang Z, Löwik CW. 2004. The balance between concurrent activation of ERs and PPARs determines daidzein-induced osteogenesis and adipogenesis. **J Bone Min Res** 19:853 - 861. <https://doi.org/10.1359/jbmr.040120>
- Duranton B, Holl V, Schneider Y, Carnesecchi S, Gossé F, Raul F, Seiler N. 2003. Polyamine metabolism in primary human colon adenocarcinoma cells (SW480) and their lymph node metastatic derivatives (SW620). **Amino Acids** 24: 63 - 72. <https://doi.org/10.1007/s00726-002-0333-5>
- Fazel S, Hamidreza M, Rouhollah G, Verdian-rizi M. 2010. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. **J Appl Hortic** 12:69 - 70.
- García CDM, Landázuri P, Cortés BR, Sánchez MOE. 2021. Estrés oxidativo e ingesta de *Passiflora edulis* en voleibolistas hombres. **Rev Asoc Colomb Cienc Biol** 1: 3394-101. <https://doi.org/10.47499/revistaacsb.v1i33.237>
- Gazola AC, Costa GM, Zucolotto SM, Castellanos L, Ramos FA, de Lima TCM, Schenkel E. 2018. The sedative activity of flavonoids from *Passiflora quadrangularis* is mediated through the GABAergic pathway. **Biomed Pharmacother** 100: 388 - 393. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.002>
- Ge S, Zhang Q, Tian Y, Hao L, Duan J, Zhang B. 2020. Cell metabolic profiling of colorectal cancer via 1H NMR. **Clin Chim Acta** 510: 291 - 297. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.07.039>
- Gil GMA, Rojano BA, Guerrero CA. 2012. **Inhibición de la polifenoloxidasas extraída del banano (*cavendish*) por medio de algunos derivados del isoespintanol**. In Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia. Corporación Universitaria Lasallista, Medellín, Colombia.
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Curr Protocols Food Anal Chem** 1: F1 - 2.
- Gromova LV, Fetissov SO, Gruzdkov AA. 2021. Mechanisms of glucose absorption in the small intestine in health and metabolic diseases and their role in appetite regulation. **Nutrients** 13: 2474. <https://doi.org/10.3390/nu13072474>
- Grunt TW. 2018. Interacting cancer machineries: cell signaling, lipid metabolism, and epigenetics. **Trends Endocrinol Metab** 29: 86 - 98. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.11.003>
- Guerrero OJC, Nieto OA, Zarate P, Loango N, Restrepo B, Landazuri P. 2018. Beneficial effects of *Passiflora edulis* on blood pressure and reduction of oxidative stress. **Indian J Sci Technol** 11: 1 - 8. <https://doi.org/10.17485/ijst/2018/v11i43/134064>
- He WS, Wang MG, Pan XX, Li JJ, Jia CS, Zhang XM, Feng B. 2013. Role of plant stanol derivatives in the modulation of cholesterol metabolism and liver gene expression in mice. **Food Chem** 140: 9 - 16. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.062>
- Huang XM, Yang ZJ, Xie Q, Zhang ZK., Zhang H, Ma JY. 2019. Natural products for treating colorectal cancer: a mechanistic review. **Biomed Pharmacother** 117: 109 - 142. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109142>
- Jensen-Urstad APL, Semenkovich CF. 2012. Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: housekeeper or messenger? **Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids** 1821: 747 - 753. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.09.017>
- Kaur V, Kumar M, Kumar A, Kaur K, Dhillon VS, Kaur S. 2018. Pharmacotherapeutic potential of phytochemicals: implications in cancer chemoprevention and future perspectives. **Biomed Pharmacother** 97: 564 - 586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.12.4>
- Kee JY, Han YH, Kim DS, Mun JG, Park J, Jeong MY, Um JY, Hong SH. 2016. Inhibitory effect of quercetin on colorectal lung metastasis through inducing apoptosis, and suppression of metastatic ability. **Phytomedicine** 23: 1680 - 1690. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.09.011>
- Li H, Zhou P, Yang Q, Shen Y, Deng J, Li L, Zhao D. 2011. Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* 'edulis' and *Passiflora edulis* 'flavicarpa'. **J Ethnopharmacol** 133: 1085 - 1090. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.039>

- Liu Q, Luo Q, Halim A, Song G. 2017. Targeting lipid metabolism of cancer cells: a promising therapeutic strategy for cancer. **Cancer Lett** 401: 39 - 45. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.002>
- López LX, Taramuel GA, Arboleda EC, Segura SF, Restrepo BLF. 2017. Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. **Rev Cub Quím** 29: 180 - 198.
- Maldonado ME, Arango VSS, Rojano BA. 2014. Free radical scavenging capacity and cytotoxic and antiproliferative effects of *Vaccinium meridionale Sw.* against colon cancer cell lines. **Rev Cub Plant Med** 19: 172 - 184.
- Martin PM, Urdiroz UU, Bigas C, Benitah SA. 2021. Lipid metabolism in metastasis and therapy. **Curr Opin Syst Biol** 28: 100401. <https://doi.org/10.1016/j.coisb.2021.100401>
- Mboge MY, Bissell MJ. 2020. The not-so-sweet side of sugar: influence of the microenvironment on the processes that unleash cancer. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis** 1866: 165960. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165960>
- Moosavi, MA, Haghi A, Rahmati M, Taniguchi H, Mocan A, Echeverría J, Atanasov A. 2018. Phytochemicals as potent modulators of autophagy for cancer therapy. **Cancer Lett** 424: 46 - 69. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.02.030>
- Mota NS, Kwiecinski MR, Zeferino RC, de Oliveira DA, Bretanha C, Ferreira R, Ourique F. 2018. *In vivo* antitumor activity of by-products of *Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg. rich in medium and long chain fatty acids evaluated through oxidative stress markers, cell cycle arrest and apoptosis induction. **Food Chem Toxicol** 118: 557 - 565. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.06.010>
- Ohta T, Isselbacher KJ, Rhoads DB. 1990. Regulation of glucose transporters in LLC-PK1 cells: effects of D-glucose and monosaccharides. **Mol Cell Biol** 10: 6491 - 6499. <https://doi.org/10.1128/mcb.10.12.6491-6499.1990>
- Pedro B, Guedes L, André R, Gaspar H, Vaz P, Ascensão L, Melo R, Serralheiro ML. 2021. *Undaria pinnatifida* (*U. pinnatifida*) bioactivity: antioxidant, gastro-intestinal motility, cholesterol biosynthesis and liver cell lines proteome. **J Funct Foods** 83: 104 - 567. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104567>
- Peres GB, Schor N, Michelacci YM. 2017. Impact of high glucose and AGEs on cultured kidney-derived cells. effects on cell viability, lysosomal enzymes and effectors of cell signaling pathways. **Biochimie** 135: 137 - 148. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.02.004>
- Persi E, Duran-Frigola M, Damaghi M, Roush WR, Aloy P, Cleveland JL, Gillies RJ, Ruppin E. 2018. Systems analysis of intracellular pH vulnerabilities for cancer therapy. **Nat Commun** 9: 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05261-x>
- Prior RL, Cao G. 1999. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. **Free Radic Biol Med** 27: 1173 - 1181. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00203-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00203-8)
- Ramirez V, Arango SS, Maldonado ME, Uribe D, Aguillón J, Quintero JP, Loango N. 2019. Biological activity of *Passiflora edulis f. flavicarpa* ethanolic leaves extract on human colonic adenocarcinoma cells. **J Appl Pharm Sci** 9: 64 - 71. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90209>
- Refolo MG, D'Alessandro R, Malerba N, Laezza C, Bifulco M, Messa C, Caruso MG, Notarnicola M, Tutino V. 2015. Anti proliferative and pro apoptotic effects of flavonoid quercetin are mediated by CB1 receptor in human colon cancer cell lines. **J Cell Physiol** 230: 2973 - 2980. <https://doi.org/10.1002/jcp.25026>
- Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. 2005. Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **J Univ Chem Technol Metal** 40: 255 - 260.
- Snaebjornsson MT, Janaki RS, Schulze A. 2020. Greasing the wheels of the cancer machine: the role of lipid metabolism in cancer. **Cell Metab** 31: 162 - 176. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.11.010>
- Wang T, Chen X, Luan C, Wu J. 2020. High throughput lipid profiling for subtype classification of hepatocellular carcinoma cell lines and tumor tissues. **Anal Chim Acta** 1107: 92 - 100. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.02.01.9>
- Wosch L, Santos KCD, Imig DC, Santos CAM. 2017. Comparative study of *Passiflora* taxa leaves: II. a chromatographic profile. **Rev Bras Farmacogn** 27: 40 - 49. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.06.007>
- Yang L, Liu Y, Wang M, Qian Y, Dong X, Gu H, Wang H, Guo S, Hisamitsu T. 2016. Quercetin-induced apoptosis of HT-29 colon cancer cells via inhibition of the Akt-CSN6-Myc signaling axis. **Mol Med Rep** 14: 4559 - 4566. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5818>
- Zhang Y, Li Q, Zhou D, Chen H. 2013. Genistein, a soya isoflavone, prevents azoxymethane-induced up-regulation

of WNT/beta-catenin signalling and reduces colon pre-neoplasia in rats. **Br J Nutr** 109: 33 - 42.

<https://doi.org/10.1017/S0007114512000876>

Zheng T, Jäättelä M, Liu B. 2020. pH gradient reversal fuels cancer progression. **Int J Biochem Cell Biol** 125: 105796. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105796>