

Efectos de Vidatox® 30CH sobre la viabilidad *in vitro* de líneas celulares de cáncer de próstata

Effects of Vidatox® 30CH on the in vitro viability of prostate cancer cell lines

Sebastián Hari Juárez Soto,¹ Valeria Alarcón Jaime,²
Mauricio Dorantes Rodríguez,³ Abril Ramírez Higuera⁴

Resumen

Introducción: El cáncer de próstata es una de las principales causas de mortalidad por cáncer en hombres. Debido al interés creciente por terapias complementarias, el medicamento homeopático Vidatox® 30CH, elaborado a partir del veneno del escorpión *Rhopalurus junceus*, ha sido objeto de estudio por sus posibles efectos biológicos.

Objetivo: Evaluar la viabilidad celular *in vitro* de líneas celulares humanas de cáncer de próstata expuestas a diferentes concentraciones de Vidatox® 30CH. **Material y métodos:** El presente estudio experimental fue realizado en las líneas celulares humanas LNCaP y PC-3, las cuales fueron expuestas a Vidatox® 30CH en concentraciones de 100%, 50%, 25%, 12.5% y 6.25%, además de un control (etanol 33%). La viabilidad celular se evaluó mediante los ensayos MTT y cristal violeta a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la exposición. Los resultados se analizaron mediante ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey. **Resultados y Discusión:** Las concentraciones de 100% y 50% mostraron una disminución de la viabilidad celular, particularmente en la línea PC-3. Las concentraciones de 12.5% y 6.25% presentaron porcentajes de viabilidad similares o incluso superiores al control. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.01$). La reducción de la viabilidad observada en células PC-3 a concentraciones elevadas coincide con reportes sobre efectos citotóxicos de compuestos derivados de venenos de escorpión; sin embargo, la ausencia de cambios relevantes en células LNCaP indica

¹ Investigador asociado. Médico Cirujano por la Universidad Cristóbal Colón. Veracruz, Ver.

² Investigadora asociada. Médico Cirujano por la Universidad Cristóbal Colón. Veracruz, Ver.

³ Doctor en introducción a la medicina genómica con especialidad en identificación de microorganismos por métodos de biología molecular. Instituto Nacional de Medicina Genómica

⁴ Autora de correspondencia. Doctora en ciencias de biotecnología. Instituto de Ciencias Básicas de la UV Investigadora asociada. Correo electrónico: abrira-mirez@uv.mx

que este efecto no es uniforme entre las líneas celulares evaluadas. **Conclusiones:** Bajo las condiciones experimentales estudiadas, Vidatox® 30CH redujo la viabilidad celular de la línea PC-3 a concentraciones elevadas, mientras que en la línea LNCaP no produjo cambios relevantes. Estos hallazgos sugieren un posible efecto dependiente de la concentración y del tipo celular. Se requieren estudios adicionales para confirmar estos resultados y esclarecer los mecanismos biológicos involucrados.

Palabras clave (DeCS/MeSH): Neoplasias de la próstata, Viabilidad celular, Líneas celulares tumorales, Homeopatía, Citotoxicidad

Abstract

Introduction: Prostate cancer is one of the leading causes of cancer-related death in men. Due to the growing interest in complementary therapies, the homeopathic medicine Vidatox® 30CH, derived from the venom of the *Rhopalurus junceus* scorpion, has been studied for its potential biological effects. **Objective:** To evaluate the in vitro cell viability of human prostate cancer cell lines exposed to different concentrations of Vidatox® 30CH. **Materials and methods:** An experimental study was conducted using the human cell lines LNCaP and PC-3. The cells were exposed to Vidatox® 30CH at concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, and 6.25%, in addition to a control. Cell viability was assessed using the MTT and crystal violet assays at 24, 48,

and 72 hours post-exposure. The results were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test. **Results and Discussion:** Concentrations of 100% and 50% showed a decrease in cell viability, particularly in the PC-3 cell line. Concentrations of 12.5% and 6.25% showed viability percentages similar to or higher than the control. Analysis of variance showed significant differences between treatments ($p = 0.01$). The reduction in viability observed in PC-3 cells at high concentrations is consistent with reports on the cytotoxic effects of compounds derived from scorpion venom; however, the absence of relevant changes in LNCaP cells indicates that this effect is not uniform among the cell lines evaluated. **Conclusions:** Under the experimental conditions studied, Vidatox® 30CH reduced cell viability in the PC-3 cell line at high concentrations, while in the LNCaP cell line it did not produce relevant changes. These findings suggest a possible concentration- and cell-type-dependent effect. Further studies are required to confirm these results and elucidate the biological mechanisms involved.

Keywords (DeCS/MeS): Prostatic Neoplasms, Cell Viability, Tumor Cell Lines, Homeopathy, Cytotoxicity

Introducción

El cáncer de próstata es una patología neoplásica cuyo principal tipo histológico es el adenocarcinoma, el cual representa cerca

del 95% de los cánceres originados en esta glándula (Wasim *et al.* 2022). Presenta un espectro clínico heterogéneo que abarca desde neoplasias indolentes de crecimiento lento hasta tumores muy agresivos y de rápido crecimiento con una alta mortalidad (*National Cancer Institute. Surveillance*, 2023).

De acuerdo con cifras internacionales del Observatorio Global de Cáncer (GLOBOCAN), el cáncer de próstata representa un problema de salud pública alarmante, al ser la segunda enfermedad neoplásica más frecuente en el mundo, llegando a presentar una incidencia variable de 6.4 a 82.8 casos por cada 100,000 personas, siendo el más alto en las regiones del norte de Europa, Australia, el Caribe y Norte América; incluso siendo el causante de una mortalidad que ocupó el quinto lugar, secundaria a patologías oncológicas en el año 2022 (Bray *et al.* 2024). En nuestro país esta patología representa el cáncer más mortífero en personas del sexo masculino, registrando 41,088 defunciones en el 2017 de acuerdo con cifras del INEGI (Procuraduría Federal del Consumidor, 2019), de acuerdo con datos del GLOBOCAN, durante el 2022 se registraron un total de 26,565 nuevos casos de cáncer de próstata, traducándose en un 27.7% del total de nuevos casos de patologías oncológicas en México (Ferlay J., 2024).

Entre los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de esta patología se

encuentra: una edad avanzada (> 65 años), alteraciones genéticas como BRCA1, BRCA 2, ATM y CHEK2, así como, ascendencia africana y ascendencia judía asquenazí (Berenguer *et al.*, 2023), dieta, el consumo de carnes rojas > 66.1 gr por cada 1000 k/Cal, ricas en grasas y/o consumo de embutidos > 24.6 gr/1000 kcal, la obesidad, el sedentarismo, infecciones y exposición a altas dosis de radiación ionizante (Oczkowsk, 2021).

Debido a su alta incidencia existen múltiples tamizajes para su diagnóstico oportuno, destacando la medición del antígeno prostático específico (APE), estudio de primera elección para el tamizaje de cáncer de próstata de acuerdo con la Asociación Americana de Urología (AUA, por sus siglas en inglés) iniciando a los 45-50 años dependiendo de los factores de riesgo de cada paciente (Wei, 2023). A pesar de ello, su diagnóstico definitivo siempre será brindado por medio de una biopsia prostática transrectal que confirme la estirpe histológica y su clasificación por medio del puntaje de Gleason (Akin, 2023).

Clínicamente su manifestación depende del estadio clínico en el que se encuentra, cursando asintóticamente en sus estadios iniciales o confinados al propio órgano, para posteriormente presentar síntomas urinarios irritativos u obstructivos una vez encontrándose localmente avanzada (Yanes Chacón, 2023); mientras que en la patología avanzada

o metastásica puede llegar a provocar síntomas constitucionales, gastrointestinales, renales y neurológicos (Michalski, 2021).

En la actualidad existen diversos tratamientos para esta patología oncológica de acuerdo con el estadio, entre los que destaca la resección prostática radical, la radioterapia, la braquiterapia intersticial prostática, la terapia de privación androgénica, la quimioterapia y la inmunoterapia; todos estos con resultados variables de acuerdo con cada caso (*National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), 2019). En la búsqueda de nuevas terapias que ayuden a lidiar con este tipo de patologías oncológicas, se han estudiado diversos compuestos naturales, tales como el veneno de diferentes animales de los cuales se aíslan péptidos específicos que se asocian a diferentes mecanismos que llevan a la apoptosis celular, en especial malignas, lo cual puede ser útil en el tratamiento del cáncer (Colella, 2021). Entre estos compuestos destacan los venenos de múltiples arácnidos, sobre todo el de los escorpiones, los cuales se componen de diversas moléculas con carga positiva y estructuras homólogas, así como de diversas propiedades fisicoquímicas como una alta afinidad hacia los canales iónicos celulares de K⁺, Cl⁺ y Ca²⁺ (Uzair, 2018). Recientemente, dicha afinidad iónica ha sido objeto de estudio como posible mecanismo anticancerígeno como consecuencia de la inhibición de la proliferación celular al provocar despolarización de la membrana celular generando

una alteración de la homeostasis celular y la activación de mediadores enzimáticos como las caspasas, metaloproteinasas y factores de crecimiento (Srairi-Abid, 2019).

Actualmente se estudian múltiples toxinas de escorpiones, tal es el caso del veneno del escorpión *Mesobuthus tamulus*, el cual ha sido estudiado en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), observándose que al modificar la toxina tampina se produce un bloqueo del movimiento de las células malignas de 60 a 70%, produciéndose una inhibición de la migración de las células tumorales por medio de una hiperpolarización al interactuar con los canales iónicos SK3, disminuyéndose así su propiedad metastásica (Del Río Portilla & Mayorga Flores, 2020).

En los años recientes, el escorpión *Rhopalurus junceus*, endémico de la región de Cuba, ha sido objeto de estudio pues su veneno, un compuesto soluble en al menos 50 componentes proteicos (péptidos) y de los cuales cuatro destacan por ser los más abundantes en su composición, posee un efecto citotóxico de tipo alfa y beta a través de los canales iónicos de Na al analizarse *in vitro* con técnicas de parche sobre células de neuroblastoma, además de poseer propiedades enzimáticas de tipo fosfolipasa y hialuronidasa (García-Gómez, 2011).

Con base a este compuesto surgen múltiples medicamentos dirigidos a la población con enfermedades inflamatorias y sobre todo con cáncer; tales como el LifeEscozul y Vidatox 30CH. Este último tratándose de un compuesto homeopático 30 centesimal que utiliza como tintura madre el veneno de este alacrán azul y el cual es comercializado con propiedades analgésicas y antitumorales a pacientes con patologías oncológicas como un tratamiento coadyuvante (LABIOFAM, 2022).

A pesar de tratarse de un medicamento homeopático de venta libre, no existen múltiples artículos científicos donde se certifiquen los efectos del compuesto en cuestión. Entre los pocos disponibles destaca el estudio de Casamayor y colaboradores (Casamayor, 2020), donde se administró el medicamento a un grupo de pacientes con patologías inflamatorias, entre ellas patologías oncológicas, y los pacientes refirieron mejoría clínica, sin embargo, en ningún momento se valoró el efecto del compuesto de manera explícita y se basaron los resultados en estudios previos donde se valoraban los efectos de los péptidos del veneno del *R. junceus*, más no del Vidatox. Por otro lado, destacan estudios como el de Giovannini y colaboradores (2017), en donde se estudió el efecto del Vidatox sobre líneas celulares de carcinoma hepatocelular concluyéndose que, en vez de provocarse una citotoxicidad, se observó que su uso indujo la proliferación e invasión de dicho carcinoma

hepatocelular, además, de asociarse a niveles mayores de citoquinas proinflamatorias (Giovannini *et al.* 2017). Así como el reporte de un caso en el 2020 donde un paciente con carcinoma broncopulmonar inicia tratamiento con este fármaco y posterior presenta una muerte súbita (Damadoğlu., 2021).

Es por lo anterior que el presente estudio tiene como objetivo evaluar la viabilidad de líneas celulares de cáncer de próstata expuestas a diferentes concentraciones de Vidatox® 30CH, con la finalidad de determinar si este compuesto modifica dicha viabilidad bajo condiciones experimentales *in vitro*.

Material y métodos

Periodo del estudio

El estudio se llevó a cabo entre septiembre de 2023 y noviembre de 2024, incluyendo la fase experimental, el análisis de datos y la elaboración del manuscrito.

Lugar del estudio

Laboratorio de Oncogenómica del Cáncer de Próstata del Instituto Nacional de Medicina Genómica de México.

Tipo de estudio

Estudio experimental *in vitro* realizado en líneas celulares humanas de cáncer de próstata.

Población del estudio

La población de estudio estuvo conformada por las líneas celulares humanas de cáncer de próstata LNCaP (CRL-1740™) y PC-3 (CRL-1435™), obtenidas de ATCC y mantenidas

bajo condiciones controladas de cultivo celular en el Laboratorio de Oncogenómica del Cáncer de Próstata del Instituto Nacional de Medicina Genómica.

Selección de la muestra

Se seleccionaron las líneas celulares LNCaP y PC-3 debido a que representan modelos ampliamente utilizados de cáncer de próstata con características biológicas diferentes. A partir de los cultivos en crecimiento se sembraron células viables en placas de 96 pozos a las densidades descritas en el protocolo experimental. La unidad experimental correspondió a cada pozo tratado con una concentración específica de Vidatox o con el control de vehículo.

Medicamento evaluado

El producto evaluado fue Vidatox® 30CH (LABIOFAM S.A., La Habana, Cuba), preparado homeopático elaborado a partir del veneno de *Rhopalurus junceus*. Se utilizó el lote 210217, con fecha de caducidad 29/12/24, de acuerdo con la información proporcionada por el fabricante. El producto comercial contiene una solución hidroalcohólica con etanol al 33% como vehículo.

Criterios de inclusión

Células viables con una supervivencia $\geq 90\%$ después de la descongelación y expansión.

Criterios de exclusión

Cultivos con evidencia de contaminación microbiológica, alteraciones morfológicas incompatibles con la línea celular o viabilidad inferior al 90 %.

Criterios de eliminación

Se eliminaron del análisis los pozos que presentaron contaminación, desprendimiento masivo de células o fallas técnicas durante los ensayos de viabilidad.

Tamaño de la muestra

Se analizaron seis condiciones por línea celular (vehículo, 6.25 %, 12.5 %, 25 %, 50 % y 100 % de Vidatox). Cada condición experimental fue evaluada por triplicado en tres experimentos independientes de

acuerdo con recomendaciones metodológicas para ensayos de citotoxicidad *in vitro*.

Población experimental

La población experimental estuvo constituida por las líneas celulares humanas de cáncer de próstata LNCaP (CRL-1740™) y PC-3 (CRL-1435™), obtenidas de ATCC (The American Type Culture Collection).

Cultivo celular

Las líneas celulares se mantuvieron en medio RPMI 1640 (Corning® 10-040-CM), suplementado con 10% de suero fetal bovino (Gibco® 16000044). Los cultivos se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂.

Controles experimentales.

Se incluyó un grupo control compuesto por células expuestas únicamente a la concentración equivalente de etanol presente en la formulación comercial de Vidatox® 30CH (33% de etanol), sin exposición al producto activo. Los valores de viabilidad celular obtenidos en los grupos tratados fueron normalizados respecto al control, considerado como el 100% de viabilidad celular. La viabilidad celular se calculó mediante la normalización de los valores de absorbancia obtenidos para cada tratamiento respecto al grupo control, considerado como el 100% de viabilidad celular. El porcentaje de viabilidad se determinó mediante la expresión: Viabilidad (%) = (Absorbancia del tratamiento / Absorbancia del control de vehículo) × 100.

Asignación experimental y réplicas.

Las diferentes concentraciones de Vidatox® fueron asignadas aleatoriamente a los pozos de las microplacas para minimizar posibles sesgos asociados a la posición de cultivo. Cada experimento incluyó un grupo control de vehículo y los grupos tratados con concentraciones de 6.25%, 12.5%, 25%, 50% y 100% de Vidatox®.

Descripción general del estudio

Se realizaron las tres réplicas de los cultivos de las dos líneas celulares de cáncer prostático seleccionadas (LNCaP y PC-3) por medio de un ensayo de viabilidad con MTT y cristal violeta. Se emplearon de manera complementaria los ensayos MTT y cristal violeta. El ensayo

MTT permitió evaluar la actividad metabólica mitocondrial asociada a células viables, mientras que el ensayo con cristal violeta permitió estimar la biomasa celular adherida. La utilización conjunta de ambos métodos proporcionó una evaluación más robusta de la respuesta celular frente a la exposición a Vidatox® 30CH.

Ensayo de viabilidad MTT

1. Las concentraciones de Vidatox (100%, 50%, 25%, 12.5% y 6.25%) fueron asignadas a los pozos de cultivo de manera aleatoria para minimizar posibles sesgos derivados de la posición dentro de la microplaca.
2. Se preincubaron las células PC-3 a una concentración de 1×10^6 células/ml en medio de cultivo RPMI 1640 con 10% de suero fetal bovino a 37 °C y CO₂ al 5%.
3. Se sembraron las células a una concentración de 5×10^4 células/pocillo en 100 µl en microplacas (calidad cultivo tisular, 96 pocillos, fondo plano).
4. Se incubaron los cultivos celulares durante 24 horas a +37 °C y CO₂ al 5%.
5. Después del período de incubación, se añadieron 10 µl del reactivo de marcaje MTT (concentración final 0,5 mg/ml) a cada pocillo.
6. Se incubó la microplaca durante 4 h en una atmósfera humidificada (37 °C, CO₂ al 5%).
7. Se añadió 100 µl de la disolución de solubilización a cada pocillo.
8. Se dejó la placa reposar toda la noche en la incubadora en una atmósfera humidificada (+37 °C, CO₂ al 5 %).
9. Finalmente, se comprobó la solubilización completa de los cristales de formazán morados y se midió la absorbancia de las muestras con un lector de microplacas (ELISA). La longitud de onda para medir la absorbancia del producto formazán fue de 550 a 600 nm en función de los filtros disponibles para el lector ELISA utilizado. La longitud de onda de referencia fue superior a 650 nm.

Ensayo de viabilidad cristal violeta

1. Se disolvió el polvo del cristal violeta en agua y posteriormente se agregó el metanol, almacenándose la disolución en oscuridad y a temperatura ambiente.
2. Se cultivaron las células de LNCaP o PC-3 en las cajas de 96 pozos, dejándose tres pozos sin contener ni células ni medio, con un volumen del medio de cultivo de $\geq 100 \mu\text{L}$ /pozo para evitar efectos de evaporación y se incubarán las células durante 24 h a 37°C para promover la adhesión de las células a los pozos.
3. Se sembraron de $2-3 \times 10^4$ células/pozo y se utilizaron los pozos vacíos como controles de unión inespecífica del colorante con el pozo.
4. Posterior a las 24 h se retiró el medio de los pozos y se adicionó $\geq 100 \mu\text{L}$ /pozo de medio fresco.
5. Se trataron las células y se incubaron en las condiciones deseadas (37°C y CO_2 5%).
6. Al finalizar el tratamiento se retiraron y lavaron gentilmente las células con PBS 1X y se agregó glutaraldehído al 1% hasta llenar pozo (50-100 μL) para fijar las células e incubarse 10-20 min.
7. Se lavaron muy gentilmente con agua inclinando el plato para evitar que el agua golpee directamente las células en monocapa y se desprendan. Después del lavado se eliminó el agua de los pozos y se invirtió la placa colocándose sobre papel absorbente o papel filtro para remover el líquido remanente.
8. Después del secado se agregaron 50 μL de cristal violeta al 0.5% a cada pozo y se incubaron por 20 min a temperatura ambiente o en una placa de agitación con una frecuencia de 20 oscilaciones por minuto.
9. Se lavó el plato 4 veces en agua corriente del grifo y después se invirtió el plato en papel filtro.

10. Se secó al aire la placa sin la tapa por 24 horas a temperatura ambiente.
11. Posteriormente, se agregaron 200 μ L de metanol en cada pozo y se incubó la placa por 20 min a temperatura ambiente sobre una placa de agitación con una frecuencia de 20 oscilaciones por minuto.
12. Después, se midió la densidad óptica de cada pozo a 570 nm (OD570) en un lector de placas.
13. Se restauró el promedio de la OD570 de cada pozo sin células del OD570 de cada pozo con células tratadas.

El conjunto promedio de OD570 de las células no estimuladas serán el 100 %. Luego, se determinó el porcentaje de células estimuladas con los valores promedio de OD570 y los valores promedios de las no estimuladas. Los valores de absorbancia obtenidos fueron normalizados respecto al grupo control, considerado como el 100% de viabilidad celular. Se calculó el promedio y el error estándar para al menos tres experimentos independientes.

Posteriormente, las células a estudiar se cultivaron en placas de cultivos de 96 pozos para que de esa manera pudieran ser tratadas con una curva de 5 concentraciones diferentes del compuesto Vidatox (100%, 50%, 25%, 12.5% y 6.25%), tal como se observa en la **figura 1**, de acuerdo con la guía de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) para el estudio *in vitro* de la citotoxicidad en células prostáticas secundario a compuestos químicos, ya que de esta forma se logró cubrir un rango permisivo donde existe desde una citotoxicidad alta hasta una citotoxicidad casi nula y así poder valorar con una mayor exactitud la relación de concentración-respuesta (Castro Murillo M. & González Betancur J., 2016), aplicándose una vez que las células de los cultivos se encontraran a un 70% de su capacidad de crecimiento total o en confluencia dentro de la placa de cultivo, lo que tomó aproximadamente 48 horas desde su cultivo a su tratamiento.

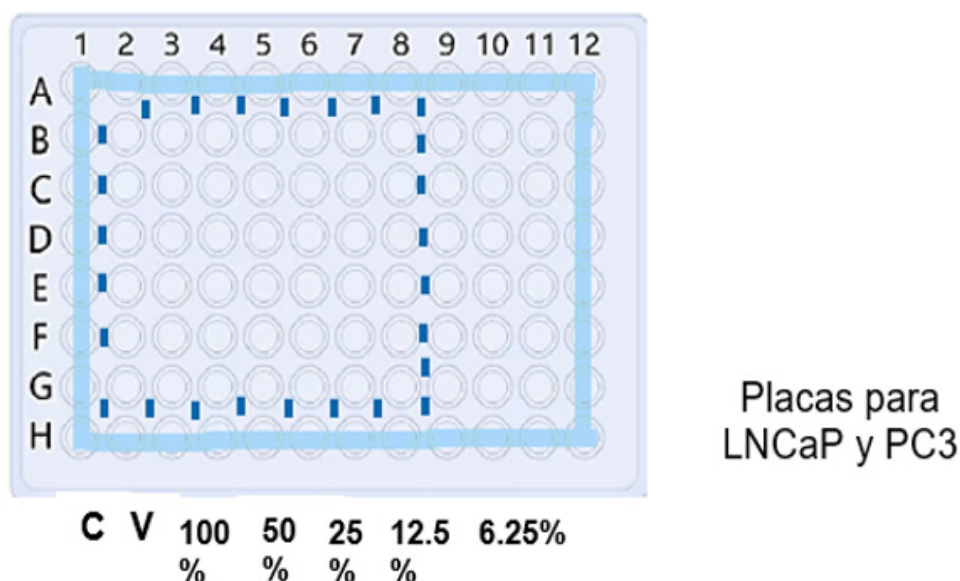


Figura 1. Placas de LNCaP y PC-3 y concentraciones utilizadas del compuesto Vidatox. Fuente: Elaboración propia.

Se realizaron las lecturas de viabilidad celular disponible a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la administración del compuesto por medio del método de espectrofotometría de absorbancias para microplacas en el lector de placas Epoch para mediciones en el rango UV – visibles en microplacas con un rango de longitud de onda de 200-999 nm.

Descripción del instrumento

La viabilidad celular fue evaluada mediante un lector de microplacas Epoch (BioTek Instruments, Estados Unidos), equipo diseñado para realizar mediciones espectrofotométricas en microplacas dentro del rango ultravioleta-visible (200–999 nm). Este instrumento permite cuantificar la absorbancia generada por los productos de reacción de los ensayos de viabilidad celular, proporcionando una estimación indirecta del número de células viables presentes en cada pozo.

Para el ensayo MTT, la absorbancia del producto formazán fue determinada entre 550 y 600 nm, utilizando una longitud de onda de referencia superior a 650 nm. En el ensayo de cristal violeta, la densidad óptica fue medida a 570 nm. Los valores de absorbancia obtenidos fueron utilizados para calcular el porcentaje de viabilidad celular en las líneas LNCaP y PC-3 expuestas a las diferentes concentraciones de Vidatox.

Análisis estadístico

Una vez realizados los ensayos de viabilidad celular con las líneas celulares de cáncer de próstata y analizarse el porcentaje de viabilidad celular presente a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la aplicación de las diferentes concentraciones del medicamento homeopático Vidatox y su vehículo (etanol), se procedió a realizar una tabulación específica de los diferentes porcentajes de viabilidad celular observados en cada una de las réplicas, además, se calculó la media aritmética de cada porcentaje administrado con la finalidad de un mejor análisis de los datos obtenidos, tal como se muestra en la tabla 7.

Análisis de varianza (ANOVA).

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía. La variable dependiente fue la media del porcentaje de viabilidad celular y la variable independiente fue el porcentaje del medicamento (6 niveles). El nivel de significancia establecido para todas las pruebas estadísticas fue de $p=0.01$. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS.

Prueba Post-hoc.

Se aplicó la prueba post-hoc de Tukey para determinar qué porcentajes del medicamento difirieron significativamente entre sí.

Resultados

Viabilidad celular.

Tras realizarse los ensayos de viabilidad celular con las dos líneas celulares de cáncer de próstata, se analizó el porcentaje de viabilidad celular presente a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la aplicación de las diferentes concentraciones del medicamento homeopático Vidatox y su vehículo (etanol), obteniéndose los siguientes resultados.

En la primera réplica, elaborada con líneas celulares PC-3 por medio del ensayo MTT, se obtuvieron los porcentajes de viabilidad celular presentados en la tabla 4 y figura 2, observándose cambios mínimos en la viabilidad celular tras la exposición al veneno, a excepción de las concentraciones del 50% y 100% donde la viabilidad celular media fue inferior al 90 %.

Tabla 4. Réplica 1 PC-3 (MTT) porcentaje de la viabilidad celular tras exposición a diferentes porcentajes del compuesto Vidatox. Fuente: Elaboración propia.

PC-3 Rep. 1 (MTT)	% Viabilidad 24 H	% Viabilidad 48 H	% Viabilidad 72 H	Viabilidad media (%)
Vehículo	115%	100%	65%	93.3%
6.25%	105%	125%	80%	103.3%
12.5%	100%	100%	100%	100%
25%	75%	100%	100%	91.6%
50%	100%	85%	80%	88.3%
100%	75%	110%	80%	88.3%

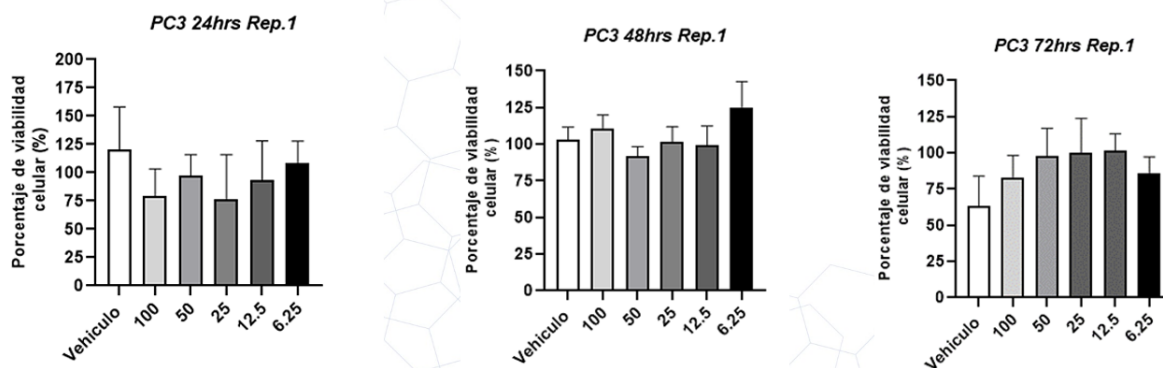


Figura 2. Réplica 1 realizada por el método MTT sobre el efecto de la viabilidad de la línea celular PC-3 tratadas con veneno. Fuente: Elaboración propia.

En la primera réplica, elaborada con líneas celulares LNCaP por medio del ensayo cristal violeta, se obtuvieron los porcentajes de viabilidad celular presentados en la tabla 5 y figura 3, observándose una disminución inferior al 10% y sin patrón específico por lo que se puede atribuir a diferentes factores y no solo al fármaco.

Tabla 5. Réplica 1 LNCaP (Cristal violeta) porcentaje de la viabilidad celular tras exposición a diferentes porcentajes del compuesto Vidatox. Fuente: Elaboración propia.

LNCaP Rep.1 (C.V.)	% Viabilidad 24 H	% Viabilidad 48 H	% Viabilidad 72 H	Viabilidad media (%)
Vehículo	110%	85%	85%	93.3%
6.25%	115%	100%	100%	105%
12.5%	112%	100%	62%	91.3%
25%	75%	100%	100%	91.6%
50%	95%	100%	70%	88.3%
100%	100%	115%	62%	92.3%

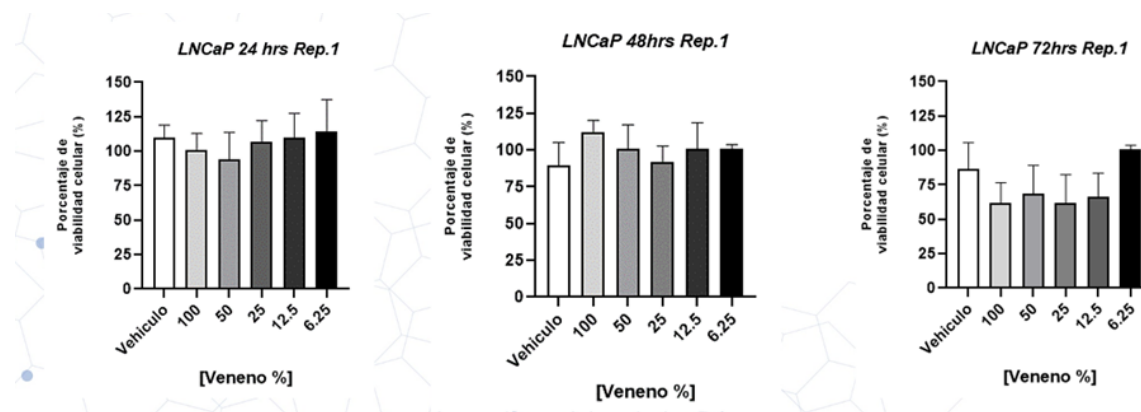


Figura 3. Réplica 1 realizada por el método con Cristal Violeta sobre el efecto de la viabilidad de la línea celular LNCaP tratadas con veneno. Fuente: Elaboración propia.

En la segunda réplica, elaborada con líneas celulares PC-3 por medio del ensayo cristal violeta, se obtuvieron los porcentajes de viabilidad celular presentados en la tabla 6 y figura 4, donde se observan cambios mínimos en los porcentajes de viabilidad celular ($\pm 5\%$) con una viabilidad celular media de cada una de las concentraciones por arriba del 90%.

Tabla 6. Réplica 2 PC-3 (Cristal violeta) porcentaje de la viabilidad celular tras exposición a diferentes porcentajes del compuesto Vidatox.
Fuente: Elaboración propia.

PC-3 Rep.2 (C.V.)	% Viabilidad 24 H	% Viabilidad 48 H	% Viabilidad 72 H	Viabilidad media (%)
Vehículo	85%	100%	95%	93.3%
6.25%	100%	105%	105%	103.3
12.5%	105%	100%	95%	100%
25%	105%	102%	89%	98.6%
50%	90%	95%	90%	91.6%
100%	87%	95%	90%	90.6%

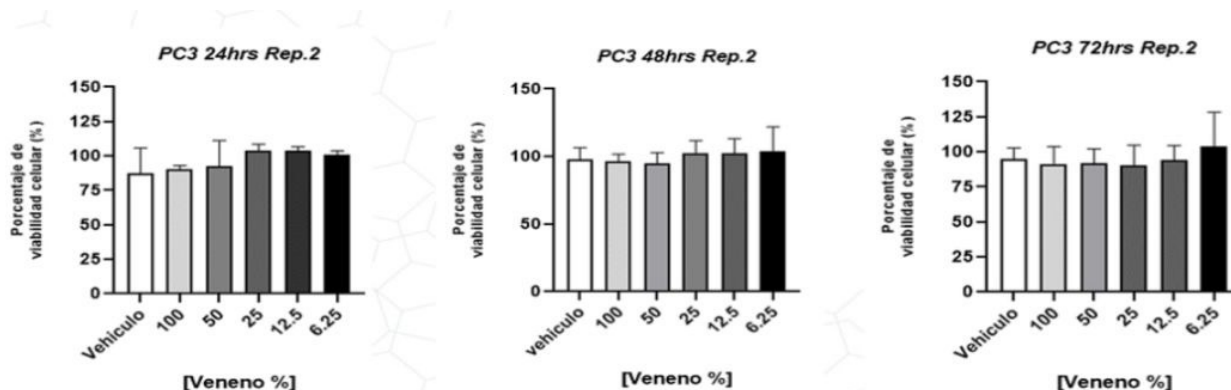


Figura 4. Réplica 2 realizada por el método con Cristal Violeta sobre el efecto de la viabilidad de la línea celular PC-3 tratadas con veneno.

Fuente: Elaboración propia.

Se calculó y graficó la Viabilidad celular media (%) de las líneas celulares de cada una de las réplicas estudiadas a las diferentes concentraciones con la finalidad de una evaluación más precisa de los efectos del medicamento homeopático en la viabilidad celular de las líneas de cáncer de próstata, obteniéndose los resultados presentados en la tabla 7 y la figura 5, donde como tendencia general se observa que la viabilidad celular disminuye con concentraciones altas del medicamento (100% y 50%) y con concentraciones bajas del mismo (12.5% y 6.25%) esta aumenta; mientras que en los cultivos sometidos únicamente al vehículo del fármaco se observa una viabilidad celular media constante en todos los cultivos (93.3%).

Tabla 7. Viabilidad celular media (%) de las líneas celulares de cáncer de próstata expuestas a los diferentes porcentajes de Vidatox.

Fuente: Elaboración propia.

Líneas celulares	Vehículo	100%	50%	25%	12.5%	6.25%
PC-3 Rep. 1 (MTT)	93.3%	88.3%	88.3%	91.6%	100%	103.3%
LNCaP Rep. 1 (C.V)	93.3%	92.3%	88.3%	91.6%	91.3%	105%
PC-3 Rep. 2 (C.V)	93.3%	90.6%	91.6%	98.6%	100%	103.3%

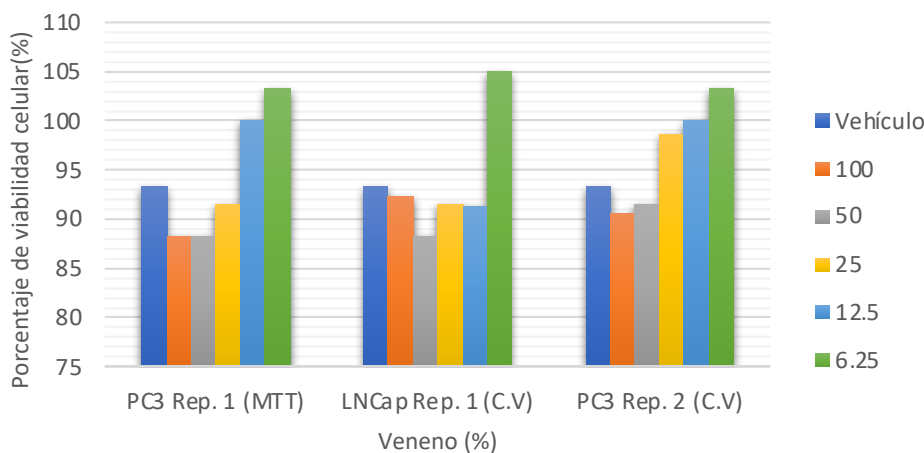


Figura 5. Viabilidad celular media (%) de los 3 cultivos de líneas celulares de cáncer de próstata expuestos a los diferentes porcentajes de Vidatox. Fuente: Elaboración propia.

Prueba post-hoc de Tukey

La prueba post-hoc de Tukey (tabla 8) indica que los porcentajes de 100% y 25% del medicamento difieren significativamente en la viabilidad celular ($p = 0,001$).

Tabla 8. Resultado de la prueba post-hoc de Tukey.

Fuente: Elaboración propia.

Comparación	Diferencia de medias	Error estándar	p
100% vs 50%	15	3	0,01
100% vs 25%	25	4	0,001
50% vs 25%	10	3	0,05

Discusión

De acuerdo con nuestros hallazgos, Vidatox® 30CH, una formulación homeopática elaborada a partir del veneno de *Rhopalurus junceus* y que utiliza etanol como vehículo, produjeron efectos distintos sobre la viabilidad celular de las líneas de cáncer de próstata evaluadas. Se observó una disminución significativa de la viabilidad celular principalmente en la línea PC-3 cuando se emplearon concentraciones elevadas (100 % y 50 %), mientras que en la línea LNCaP los cambios

fueron menos evidentes. Estas diferencias podrían estar relacionadas con las características biológicas propias de cada modelo celular, ya que PC-3 corresponde a una línea independiente de andrógenos y asociada con un fenotipo más agresivo, mientras que LN-CaP conserva sensibilidad androgénica y presenta un comportamiento biológico distinto. Asimismo, a concentraciones menores se observó una tendencia al incremento de la viabilidad celular respecto al control de vehículo, lo que sugiere una respuesta dependiente de la concentración y del tipo celular. Debe considerarse que Vidatox® 30CH corresponde a una preparación homeopática altamente diluida. En este tipo de formulaciones, la interpretación de los efectos biológicos observados sigue siendo objeto de debate científico, ya que las diluciones empleadas exceden con frecuencia los niveles en los que es posible demostrar la presencia de cantidades farmacológicamente detectables del compuesto original. Por ello, cualquier efecto observado debe interpretarse con prudencia y requiere ser corroborado mediante estudios adicionales que permitan esclarecer los posibles mecanismos involucrados.

Aunque el presente estudio evaluó una formulación homeopática altamente diluida, los resultados observados son parcialmente consistentes con reportes previos que describen efectos citotóxicos de componentes derivados de venenos de escorpión sobre células tumorales. Crusca y colaboradores reportaron

que ciertos péptidos aislados del veneno de *Pandinus imperator* indujeron citotoxicidad mediada por apoptosis en líneas celulares de cáncer de próstata y mama (Crusca, 2018). De manera similar, Satitmanwivat y colaboradores observaron una disminución de la viabilidad celular en líneas de cáncer de mucosa oral humana expuestas al péptido BmKn-2 derivado de *Mesobuthus martensii* (Satitmanwivat, 2016). Sin embargo, debe considerarse que dichos estudios evaluaron péptidos aislados y caracterizados, mientras que Vidatox® 30CH corresponde a una preparación homeopática altamente diluida, por lo que las comparaciones deben interpretarse con cautela.

Por otra parte, nuestros resultados difieren de los reportados por Giovannini y colaboradores, quienes observaron un incremento significativo de la viabilidad celular y de la producción de citocinas proinflamatorias en líneas celulares de carcinoma hepatocelular expuestas a Vidatox® (Giovannini, 2017). Estas discrepancias podrían atribuirse a diferencias inherentes al tipo celular estudiado, a las características biológicas de cada neoplasia o a las condiciones experimentales empleadas. Asimismo, es importante considerar que el etanol presente en la formulación comercial podría contribuir parcialmente a algunos de los efectos observados, particularmente a concentraciones elevadas, razón por la cual se incluyó un control de vehículo en el presente estudio. Adicionalmente, el etanol

utilizado como vehículo en la formulación comercial de Vidatox® podría influir en la respuesta celular observada, especialmente cuando el producto se administra a concentraciones elevadas. Aunque en el presente estudio se incluyó un control para reducir este posible efecto de confusión, no puede descartarse completamente que parte de las variaciones observadas en la viabilidad celular estén relacionadas con la exposición al componente hidroalcohólico de la formulación y no exclusivamente con el producto evaluado.

Nuestros hallazgos también contrastan con el reporte de caso descrito por Demadoglu y colaboradores (2021), en el que un paciente con carcinoma pulmonar decidió sustituir el tratamiento oncológico convencional por la administración de Vidatox®, presentando un deterioro clínico progresivo y falleciendo pocos días después. Aunque dicho reporte no permite establecer una relación causal entre el producto y el desenlace clínico observado, resalta la importancia de interpretar con precaución los hallazgos experimentales obtenidos en modelos *in vitro*. En conjunto, los resultados del presente estudio constituyen evidencia preliminar sobre los efectos de Vidatox® 30CH en la viabilidad celular de líneas de cáncer de próstata y no permiten establecer eficacia terapéutica ni recomendaciones clínicas, por lo que se requieren estudios mecanísticos, preclínicos y de seguridad

adicionales para esclarecer el alcance biológico de estos hallazgos.

Conclusiones

Bajo las condiciones experimentales evaluadas, Vidatox® 30CH produjo una disminución significativa de la viabilidad celular en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata cuando se administró en concentraciones elevadas (100 % y 50 %). En contraste, las concentraciones menores (12.5 % y 6.25 %) no mostraron cambios significativos en la viabilidad celular respecto al grupo control tratado con el vehículo. Por otra parte, en la línea celular LNCaP no se observaron modificaciones significativas de la viabilidad celular en ninguna de las concentraciones evaluadas, manteniéndose valores comparables a los observados en el grupo control.

Los resultados obtenidos sugieren una respuesta dependiente tanto de la concentración como del tipo celular, observándose una mayor susceptibilidad de la línea PC-3 en comparación con LNCaP. Estas diferencias podrían estar asociadas a las características biológicas propias de cada modelo celular, incluyendo factores relacionados con su estado de diferenciación, perfil molecular y dependencia androgénica; sin embargo, los mecanismos responsables de los efectos observados no fueron evaluados en el presente estudio.

Limitaciones

- El diseño experimental corresponde a un modelo *in vitro*, por lo que los resultados no pueden extrapolarse directamente a condiciones clínicas.
- Se necesitan estudios adicionales para confirmar y ampliar los hallazgos.
- No se incluyó una línea celular prostática no tumoral para comparación.
- No se incorporó un control positivo de citotoxicidad.

Recomendaciones

- Investigar los mecanismos moleculares detrás del efecto citotóxico.
- Realizar estudios *in vivo* para confirmar eficacia y seguridad.
- Optimizar la formulación y dosificación del medicamento homeopático.
- Con la evidencia disponible, no es posible recomendar su uso clínico, por lo que se requieren investigaciones adicionales que demuestren su eficacia y seguridad.

Consideraciones éticas y de bioseguridad

El estudio se realizó exclusivamente utilizando líneas celulares humanas comerciales adquiridas a través de ATCC, sin participación de sujetos humanos ni animales de experimentación. Debido a la naturaleza del modelo experimental empleado, no se requirió consentimiento informado. El proyecto fue revisado internamente por el Laboratorio de Oncogenómica del Cáncer de Próstata del Instituto Nacional de Medicina Genómica y se desarrolló bajo las normas institucionales de bioseguridad vigentes. La manipulación de las líneas celulares, reactivos y materiales biológicos fue realizada por personal capacitado en técnicas de cultivo celular y bioseguridad, adscrito al Laboratorio de Oncogenómica del Cáncer de Próstata del Instituto Nacional de Medicina Genómica. Todas las actividades se llevaron a cabo siguiendo los procedimientos normalizados de operación del laboratorio, así como las medidas de protección, almacenamiento y eliminación de

residuos biológicos establecidas por la normatividad vigente y las recomendaciones del proveedor de las líneas celulares (ATCC). Asimismo, los residuos biológicos fueron manejados de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 para el manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Financiamiento

Recursos propios: Durante el desarrollo del protocolo de investigación se adquirió el tratamiento homeopático Vidatox con recursos propios. El Instituto Nacional de Medicina Genómica proporcionó las instalaciones, el personal y el equipo necesario para llevar a cabo la investigación en cuestión.

Disponibilidad de datos

Los datos que respaldan los resultados de este estudio estarán disponibles previa solicitud razonable al autor de correspondencia.

Referencias

- Akin, O., Woo, S., Oto, A., Allen, B. C., Avery, R., Barker, S. J., Gerena, M., Halpern, D. J., Gettle, L. M., Rosenthal, S. A., Taneja, S. S., Turkbey, B., Whitworth, P., & Nikolaidis, P. (2023). ACR Appropriateness Criteria® pretreatment detection, surveillance, and staging of prostate cancer: 2022 update. *Journal of the American College of Radiology*, 20(5), S187–S210. <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2023.02.010>
- Berenguer, C. V., Pereira, F., Câmara, J. S., & Pereira, J. A. M. (2023). Underlying features of prostate cancer—Statistics, risk factors, and emerging methods for its diagnosis. *Current Oncology*, 30(2), 2300–2321. <https://doi.org/10.3390/curroncol30020178>
- Bergengren, O., Pekala, K. R., Matsoukas, K., Fainberg, J., Mungovan, S. F., Bratt, O., Bray, F., Brawley, O., Luckenbaugh, A. N., Mucci, L., Morgan, T. M., & Carlsson, S. V. (2023). 2022 update on prostate

- cancer epidemiology and risk factors—A systematic review. *European Urology*, 84(2), 191–206. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2023.04.021>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Casamayor Laime, Z., Guevara García, M. M., & González Laime, S. (2020). Empleo del Vidatox® 30CH en el alivio del dolor y otros síntomas de enfermedades inflamatorias. *Revista Cubana de Farmacia*, 53(4). <https://orcid.org/0000-0002-1684-1811>
- Castro Murillo, M., & González Betancur, J. (2016). OECD guideline for the testing of chemicals (Guideline 476). Organisation for Economic Co-operation and Development. <http://www.oecd.org/termsandconditions/>
- Colella, F., Scillitani, G., & Pierri, C. L. (2021). Sweet as honey, bitter as bile: Mitochondriotoxic peptides and other therapeutic proteins isolated from animal tissues, for dealing with mitochondrial apoptosis. *Toxicology*, 447, 152612. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152612>
- Crusca, E., Basso, L. G. M., Altei, W. F., & Marchetto, R. (2018). Biophysical characterization and antitumor activity of synthetic Pantinin peptides from scorpion venom. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1860(11), 2530–2540. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.08.012>
- Damadoğlu, E., Irmak, İ., & Kalyoncu, A. F. (2021). Cuban blue scorpion venom and lung carcinoma: Is it always true what does not kill me makes me stronger? *Turkish Thoracic Journal*, 22(3), 265–266. <https://doi.org/10.5152/turkthoracj.2021.20202>
- Del Río Portilla, F., & Mayorga Flores, M. (2020, 19 de noviembre). En proceso de patente, veneno de alacrán que inhibe propagación de cáncer en piel, mama y próstata. *Gaceta UNAM*, 5156, 4–5. <https://www.gaceta.unam.mx/wp-content/uploads/2020/11/201119.pdf>
- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Laversanne, M., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., Znaor, A., Soerjomataram, I., & Bray, F. (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today. *International Agency for Research on Cancer*. <https://gco.iarc.who.int/>

- García-Gómez, B. I., Coronas, F. I. V., Restano-Cassulini, R., Rodríguez, R. R., & Possani, L. D. (2011). Biochemical and molecular characterization of the venom from the Cuban scorpion *Rhopalurus junceus*. *Toxicon*, 58(1), 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.04.011>
- Giovannini, C., Baglioni, M., Baron Toaldo, M., Cescon, M., Bolondi, L., & Gramantieri, L. (2017). Vidatox 30 CH has tumor activating effect in hepatocellular carcinoma. *Scientific Reports*, 7(1), 44685. <https://doi.org/10.1038/srep44685>
- LABIOFAM. (2024). Vidatox® 30 CH. <https://www.vidatox.com.mx/>
- Michalski, J. M., Pisansky, T. M., Lawton, C. A., & Potters, L. (2021). Prostate cancer. En J. E. Tepper & L. L. Gunderson (Eds.), *Gunderson & Tepper's clinical radiation oncology* (pp. 1054–1114). Elsevier.
- National Cancer Institute. (2023). Cancer stat facts: Prostate cancer. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>
- National Institute for Health and Care Excellence. (2019). Prostate cancer: Diagnosis and management (NG131). <https://www.nice.org.uk/guidance/ng131>
- Oczkowski, M., Dziendzikowska, K., Pasternak-Winiarska, A., Włodarek, D., & Gromadzka-Ostrowska, J. (2021). Dietary factors and prostate cancer development, progression, and reduction. *Nutrients*, 13(2), 496. <https://doi.org/10.3390/nu13020496>
- Procuraduría Federal del Consumidor. (2019, 17 de junio). Cuida tu próstata y regálale vida. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/profeco/documentos/cuida-tu-prostata-y-regalate-vida>
- Satitmanwivat, S., Changsangfa, C., Khanuengthong, A., Promthep, K., Roytrakul, S., Arpornsuwan, T., Saikhun, K., & Sritanaudomchai, H. (2016). The scorpion venom peptide BmKn2 induces apoptosis in cancerous but not in normal human oral cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1044–1050. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.041>
- Srairi-Abid, N., Othman, H., Aissaoui, D., & BenAissa, R. (2019). Anti-tumoral effect of scorpion peptides: Emerging new cellular targets and signaling pathways. *Cell Calcium*, 80, 160–174. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.05.003>
- Uzair, B., Bint-e-Irshad, S., Khan, B. A., Azad, B., Mahmood, T., Rehman, M. U., & Braga, V. A. (2018). Scorpion venom peptides as a potential source for human drug candidates. *Protein & Peptide*

Letters, 25(7), 702–708. <https://doi.org/10.2174/0929866525666180614114307>

Wasim, S., Lee, S. Y., & Kim, J. (2022). Complexities of prostate cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14257. <https://doi.org/10.3390/ijms232214257>

Wei, J. T., Barocas, D. A., Carlsson, S. V., Coakley, F. V., Eggener, S. E., Etzioni, R., Fine, S. W., Han, M., Konety, B. R., Miner, M. M., Moses, K. A., Nissenberg, G., Pinto, P. A., Salami, S. S., Souter, L. H., Thompson, I. M., & Lin, D. W. (2023). Early detection of prostate cancer: AUA/SUO guideline (2023). *The Journal of Urology*, 210(1), 46–53. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000003491>

Yanes Chacón, A. N., Villalobos Campos, N. P., & Cubas González, S. A. (2023). Cáncer de próstata: Una perspectiva global. *Revista Médica Sinergia*, 8(12), e1124. <https://doi.org/10.31434/rms.v8i12.1124>