

EFICACIA DE LA LECHE MATERNA COMO INHIBIDOR SELECTIVO *IN VITRO* EN LA VIABILIDAD DE CÉLULAS CANCERÍGENAS HeLa Y A549

*EFFICACY OF BREAST MILK AS A SELECTIVE IN VITRO
INHIBITOR ON THE VIABILITY OF HELA AND A549 CANCER
CELLS*

DORA RODRÍGUEZ
BETANCOURT

BLANCA G. PÉREZ ROMO

CECILIA ESPARZA
GONZÁLEZ

ALICIA RUMAYOR PIÑA

EDUARDO OSORIO RAMOS

ALEJANDRA VARGAS
SEGURA

Posgrado de Prostodoncia,
Facultad de Odontología,
Unidad Sureste, UAdeC.

RESUMEN

La leche materna, reconocida por sus múltiples beneficios nutricionales e inmunológicos, también presenta un potencial anticancerígeno que no ha sido completamente explorado. Este estudio evaluó su eficacia como inhibidor selectivo *in vitro* en la viabilidad de células cancerígenas HeLa, asociadas con cáncer cervicouterino, y A549, correspondientes a carcinoma pulmonar. Se recolectaron 30 muestras de leche materna y se expusieron a las líneas celulares mencionadas. Los resultados demostraron una reducción significativa en la viabilidad celular de ambas líneas cancerígenas. En las células HeLa, se observó una disminución en el 70% de las muestras, mientras que en las células A549, el porcentaje fue del 73.3%. Por otro lado, las células no cancerígenas tipo 3T3 mostraron una menor toxicidad, lo que confirma el efecto selectivo de la leche materna. Además, se identificó una correlación entre el tiempo de lactancia y el efecto antitumoral en las células HeLa, siendo más notable en los primeros meses de lactancia. Estos hallazgos sugieren que la leche materna contiene componentes bioactivos con propiedades anticancerígenas selectivas, abriendo nuevas posibilidades en la investigación de terapias alternativas contra el cáncer.

Palabras clave: lactancia materna; anticancerígeno; HeLa; terapia alternativa.

Correspondencia
alejandravargas@uadec.edu.mx

ABSTRACT

Breast milk, known for its numerous nutritional and immunological benefits, also exhibits anticancer potential that remains underexplored. This study assessed its efficacy as a selective in vitro inhibitor of cancer cell viability in HeLa cells, associated with cervical cancer, and A549 cells, corresponding to lung carcinoma. A total of 30 breast milk samples were exposed to these cell lines. The results showed a significant reduction in cell viability for both cancerous lines. In HeLa cells, a decrease was observed in 70% of the samples, while for A549 cells, the reduction was 73.3%. Non-cancerous 3T3 cells exhibited lower toxicity, supporting the selective effect of breast milk. Furthermore, a correlation was identified between lactation duration and the antitumor effect in HeLa cells, with the effect being more pronounced during the early months of lactation. These findings suggest that breast milk contains bioactive components with selective anticancer properties, opening new avenues for research into alternative cancer therapies.

Keywords: breastfeeding; anticancer; HeLa; alternative therapy.

INTRODUCCIÓN

La leche materna es un biofluido especializado que, además de proveer nutrientes esenciales, desempeña un papel clave en la protección inmunológica y el desarrollo del lactante (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2022). Uno de sus aspectos más notables es su potencial anticancerígeno, evidenciado por la presencia de componentes como la alfa-lactoalbúmina, que ha demostrado inducir apoptosis en células tumorales sin afectar a las células sanas (Svensson y col., 2002). El cáncer, una de las principales causas de mortalidad global, proyecta un aumento alarmante en incidencia y mortalidad para 2040, lo que subraya la necesidad de explorar enfoques innovadores para su tratamiento (Instituto Nacional del Cáncer, 2020).

En este contexto, investigaciones recientes han sugerido que la leche materna podría tener un efecto inhibidor selectivo sobre ciertas líneas celulares cancerígenas, incluyendo las células HeLa, derivadas de un

adenocarcinoma cervical, y las células A549, modelo de carcinoma pulmonar no microcítico (Portillo Vásquez, 2014; Foster y col., 1998). Estos hallazgos abren la posibilidad de utilizar componentes de la leche humana como agentes terapéuticos naturales en la oncología.

El cáncer es una enfermedad compleja caracterizada por el crecimiento celular descontrolado y su capacidad de metástasis, y se estima que en 2018 causó aproximadamente 9,5 millones de muertes a nivel mundial (National Human Genome Research Institute, 2022). A pesar de los avances en tratamientos, los efectos secundarios significativos y la resistencia al tratamiento limitan la eficacia de las terapias actuales. Por ello, explorar opciones menos invasivas y con menos efectos adversos es una prioridad.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficacia de la leche materna como inhibidor selectivo in vitro en la viabilidad de las células HeLa y A549, buscando contribuir al entendimiento de su potencial anticancerígeno y su posible aplicación en terapias menos invasivas y más específicas. Este enfoque representa una oportunidad para explorar el impacto positivo de un recurso biológico accesible y subutilizado en la lucha contra el cáncer.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proceso de recolección de muestras de leche materna para este estudio contó con la participación de madres donantes del municipio de Saltillo, seleccionadas a través de grupos de apoyo a la lactancia materna. Un total de 30 muestras fueron recolectadas cumpliendo estrictamente los criterios de inclusión y exclusión establecidos previamente. Antes de iniciar el procedimiento, a cada participante se le explicó la finalidad y objetivos del estudio, se recopiló su historia clínica, y se les solicitó firmar un consentimiento informado para formalizar su participación.

La extracción de la leche se realizó bajo estrictas condiciones higiénico-sanitarias para evitar cualquier contaminación del producto. Las participantes se prepararon adecuadamente siguiendo protocolos de limpieza, que incluían el lavado de manos y brazos con jabón neutro y el secado de las mamas, manos y antebrazos con compresas

estériles. Durante todo el procedimiento, se utilizó equipo de protección básico (gorro, mascarilla, bata y guantes), y las superficies de trabajo se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.5% o alcohol al 70% para minimizar cualquier riesgo de contaminación, especialmente en el contexto del virus SARS-CoV-2.

El método de extracción (Figura 1) incluyó técnicas manuales, guiadas por explicaciones y diagramas, que consistían en masajes suaves desde la periferia hacia la areola para estimular la liberación de prolactina y oxitocina, lo que favoreció la eyección de la leche. Posteriormente, se recolectaron las primeras gotas descartadas y se depositaron de 3 a 4 tubos estériles Eppendorf® con un volumen aproximado de 1.5 ml cada uno. Cada muestra fue etiquetada con un código correspondiente al orden de recolección.

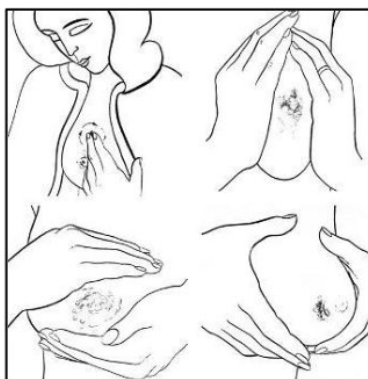


Figura 1. Masaje para estimular la bajada de leche materna.

Las muestras recolectadas se transportaron de inmediato en condiciones de frío controlado (entre -3°C y 5°C) en una caja isotérmica con hielo al laboratorio. La leche se congeló en un lapso no mayor a 30 minutos desde la extracción y se almacenó en un congelador de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Coahuila. Este almacenamiento se mantuvo por un periodo máximo de tres meses hasta su análisis. Estas rigurosas condiciones garantizaron la calidad de las muestras y la fiabilidad de los resultados del estudio.

El ensayo de citotoxicidad in vitro (MTT) se llevó a cabo utilizando las líneas celulares NIH/3T3 (no cancerígenas, derivadas de fibroblastos embrionarios de ratón albino suizo), HeLa (cancerígenas, asociadas con cáncer cervicouterino) y A549 (cancerígenas, derivadas de

carcinoma pulmonar). Estas células fueron cultivadas en frascos de 75 cm² con 12 ml de medio DMEM (Dulbecco Modified Eagle's Medium), suplementado con 2% de antibióticos, 1% de aminoácidos no esenciales y 10% de suero fetal bovino. Las células se incubaron en una atmósfera controlada con 5% de CO₂ a una temperatura de 37 °C. El medio se reemplazó cada 48 horas hasta que las células alcanzaron una confluencia del 90% y adquirieron la morfología adecuada para proceder con el análisis.

Las células fueron sembradas en placas de 96 pozos (8500 células por pozo) y tratadas con leche materna descongela en proporción 1:1 con medio de cultivo. Tras incubarlo durante 24 horas a 37 °C con 5% de CO₂, se permitió la adhesión celular y se evaluaron los efectos del tratamiento.

Mediante la técnica de MTT se evaluó la viabilidad celular tras 24 horas de tratamiento. Se reemplazó el medio de cultivo por uno nuevo, se agregó MTT y las placas se incubaron por 4 horas a 37 °C con 5% de CO₂. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante, se añadió DMSO y las placas se analizaron en un espectrofotómetro a 595 nm. Los resultados expresaron la viabilidad celular como un porcentaje, comparando con células de control no tratadas.

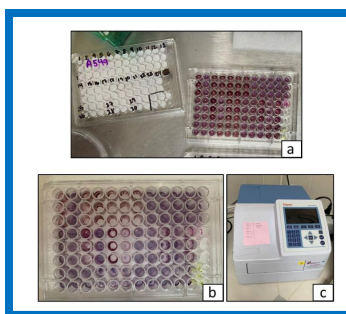


Figura 2. a) Placa con MTT previo a la incubación. b) Placa sin sobrenadante posterior a la incubación. c)

El rango de edad de las madres que donaron leche materna es de 19 a 38 años, siendo la media de 27.27 con una desviación estándar de ± 4.31 . Respecto a la leche materna donada, la edad mínima de los lactantes fue de 2 meses, y 30 meses como edad máxima, siendo la media de 8.1 meses con una desviación estándar de ± 7.37 .

Al exponer las líneas celulares con el tratamiento se obtuvieron los siguientes resultados. Disminuyó la viabilidad de las células tipo HeLa, en 21 de las 30 muestras. Mientras que en 3 muestras se incrementó y en 1 muestra se duplicó, tal como lo podemos observar en la Figura

3.

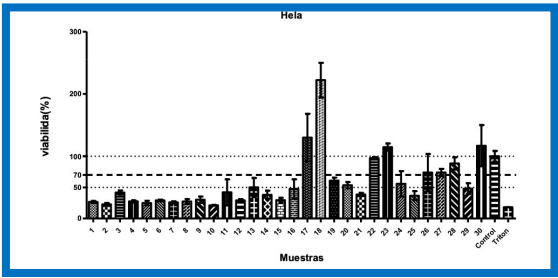


Figura 3. Gráfica de la viabilidad de las células HeLa.

Disminuyó la viabilidad de las células A549 en 22 muestras. Mientras que en 8 muestras no hubo una disminución efectiva en la viabilidad celular, tal como lo podemos observar en la Figura 4.

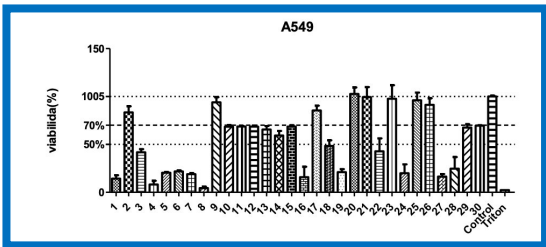


Figura 4. Gráfica de la viabilidad de las células HeLa.

Respecto al efecto antitumoral en las células tipo HeLa al ser expuestas con la leche materna se obtuvo en una frecuencia de 21 de 30 muestras, siendo su porcentaje de efectividad del 70% (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto antitumoral en células HeLa.

Célulass HeLA		Frecuencia	Porcentaje
Efecto Anti-tumoral	Sí	21	70%
	No	9	30%
	Total	30	100%

El efecto antitumoral en las células tipo A549 al ser expuestas con la leche materna se obtuvo en una frecuencia de 22 de 30 muestras, siendo su porcentaje de efectividad del 73.3% (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto antitumoral en células A54.

Células A549		Frecuencia	Porcentaje
Efecto Anti-tumoral	Sí	22	70%
	No	8	30%
	Total	30	100%

Al hacer un análisis descriptivo con la viabilidad de cada una de las líneas celulares se encontró que la media en la viabilidad de las células HeLa fue de 57.45 con una desviación estándar de ± 43.370 , la media en la viabilidad de las células A549 fue de 58.62 con una desviación estándar de ± 37.592 , mientras que para las células tipo 3T3 la media fue de 76.532 con una desviación estándar de ± 22.79 .

Tabla 3. Media, mínimo y máximo de viabilidad de las 3 líneas celulares.

		VariabH	VariabA	Variab3T
N	Válido	30	30	30
	Perdidos	0	0	0
Media		57.45	58.6223	76.5320
Mediana		41.90	64.1250	70.6850
Desv. Estándar		± 43.370	± 37.59224	± 22.79512
Mínimo		21	4.39	41.85
Máximo		222	134.90	127.80

Se realizó un análisis T-Student, de cada muestra vs el grupo control, teniendo como el valor de p significativo de < 0.05 , estos resultados nos indican que se confirma la hipótesis (Tabla 4).

Tabla 4. Viabilidad de las células T pareada entre las muestras y el grupo control.

Muestra	Viabilidad HeLa	T pareada HeLa Valor de p	Viabilidad A549	T pareada A549 Valor de p	Viabilidad 3T3	T pareada 3t3 Valor de p
1	26.21	0.0103*	14.37	0.0016**	53.49	0.0171*
2	22.84	0.0078**	83.42	0.0953	79.02	0.1288
3	41.77	0.0087	41.77	0.0041**	71.29	0.0631
4	27.59	0.0182*	8.15	0.0027**	75.29	0.0421
5	24.98	0.0191*	20.46	0.0003***	101.1	0.6582
6	29.15	0.0152*	21.84	0.0005***	80.02	0.0545
7	25.89	0.0087**	18.96	0.0002***	113.1	0.2701
8	27.39	0.0037**	4.39	0.0002***	123.3	0.1807
9	30.25	0.00025**	93.95	0.3078	111.2	0.6643

10	21.28	0.0129*	76.9	0.0038**	97.06	0.8319
11	42.03	0.0438*	79.5	0.0076**	67.77	0.0064*
12	29.08	0.0077**	73.35	0.0152	69.93	0.0659
13	50.03	0.0179*	68.92	0.0302*	66.25	0.0032*
14	38	0.0400*	59.33	0.0126*	82.81	0.1219
15	29.54	0.0045**	81.21	0.0285*	41.85	0.0032*
16	47.56	0.0197*	15.76	0.0190*	87.01	0.0587
17	129.8	0.4905	85.4	0.0824	89.96	0.405
18	222.1	0.0777	48.42	0.0094**	68.56	0.0073*
19	60.9	0.0161*	21.02	0.0013	54.99	0.0194*
20	53.42	0.0334*	102.7	0.6969	51.31	0.0023*
21	38.65	0.0227*	99.44	0.9589	44.9	0.0121*
22	96.81	0.7786	42.85	0.0478*	64.77	0.0074*
23	114.7	0.3934	97.7	0.8775	93.26	0.4502
24	55.69	0.2256	19.98	0.0118*	56.31	0.0299*
25	36.56	0.0036**	90.08	0.6818	127.8	0.3004
26	73.91	0.5268	91.26	0.3418	63.25	0.0303*
27	73.91	0.0808	16.42	0.0015*	70.08	0.0563
28	88.42	0.564	24.72	0.0236*	83.29	0.181
29	47.95	0.0198*	115.55	0.0300*	57.73	0.0305*
30	116.8	0.62	134.9	0.0031	49.26	0.012

Al hacer una correlación de Pearson entre el tiempo de la lactancia con el efecto antitumoral de la leche materna y el porcentaje de la viabilidad de las células tipo Hela, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, ya que el valor de p es $<.001$, lo que indica que, a menor tiempo de la lactancia materna, mayor efecto antitumoral, por el contrario, a mayor tiempo de lactancia materna, menor efecto antitumoral (Tabla 5).

Tabla 5. Correlación de Pearson para Células HeLa.

Comparación entre los meses de LM y viabilidad células HeLa			
Lactancia		Lactancia	ViabilidadH
	Correlación de Pearson	1	.652**
	Valor de p		$<.001$
ViabilidadH	N	30	30
	Correlación de Pearson	3.652**0	1
	Valor de p	$<.001$	
	N	30	30
	**La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).		

Al hacer la correlación de Pearson entre el tiempo de la lactancia con el efecto antitumoral de la leche materna y el porcentaje de la viabilidad de las células tipo A549 se observó que no hubo correlación, ya que

el valor de p es .674 (Tabla 6).

Tabla 6. Correlación de Pearson para Células HeLa.

Comparación entre los meses de LM y viabilidad células A549			
		Lactancia	ViabilidadA
Lactancia	Correlación de Pearson	1	.080
	Valor de p		.674
	N	30	30
ViabilidadA	Correlación de Pearson	.080	1
	Valor de p	.674	
	N	30	30
P= ≤0.05			

DISCUSIÓN

El cáncer es una enfermedad prevalente en todo el mundo y, actualmente, los tratamientos existentes no son completamente selectivos ni están exentos de efectos secundarios graves. Este panorama ha impulsado investigaciones para desarrollar alternativas más seguras y efectivas. Uno de los enfoques recientes es el análisis del potencial anticancerígeno de la leche materna, cuyos efectos aún no han sido completamente estudiados, especialmente en diferentes líneas celulares cancerígenas.

Hassan y col. (2016) realizaron un estudio en el que aislaron bacterias de leche materna humana, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus hominis*, y las expusieron a células MCF-7 (cáncer de mama). Utilizando concentraciones de 25 a 200 µg/mL y evaluando la citotoxicidad mediante la técnica MTT, observaron que la mayor inhibición (66.99% de viabilidad) ocurrió tras 24 horas de exposición a 200 µg/mL. Sin embargo, el efecto disminuyó con el tiempo, alcanzando viabilidades de 86.88% y 97.98% a las 48 y 72 horas, respectivamente.

En el presente estudio, se evaluó la viabilidad de células HeLa (cáncer cervicouterino), A549 (carcinoma pulmonar) y 3T3 (no cancerígenas) mediante la técnica MTT, exponiéndolas a leche materna en una

proporción 1:1 durante 24 horas. Los resultados mostraron viabilidades promedio de 57.45% para las células HeLa y 58.62% para las células A549, destacando un mayor efecto inhibidor en comparación con los hallazgos de Hassan y col. (2016). Por otro lado, las células normales tipo 3T3 no mostraron citotoxicidad significativa, con una viabilidad promedio de 76.53%.

Rodríguez Avilés y col. (2020) mencionan que las modificaciones en la leche materna están alineadas con las necesidades específicas del lactante, siendo más marcadas durante los primeros 12 meses de vida. En este estudio, se observó una correlación significativa entre la edad del lactante y el efecto antitumoral en las células HeLa, donde menores edades estuvieron asociadas con una mayor inhibición. No obstante, este patrón no se replicó en las células A549, posiblemente debido a las diferencias en los receptores celulares.

Según la norma ISO 10993-1:2021, una reducción de viabilidad celular superior al 30% se considera citotóxica. En este contexto, los resultados obtenidos para las células HeLa y A549 confirman el efecto antitumoral de la leche materna tras 24 horas de exposición, mientras que las células 3T3 no mostraron toxicidad, lo que sugiere la selectividad del tratamiento.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman que la leche materna es eficaz en la disminución de la viabilidad de las células cancerígenas, con efectos estadísticamente significativos en las líneas celulares HeLa y A549, además de demostrar su seguridad al no ser citotóxica para células normales como las 3T3. Este estudio resalta la importancia de la lactancia materna no solo por sus beneficios para el desarrollo del lactante, sino también por su potencial terapéutico, fortaleciendo la necesidad de promover esta práctica. Asimismo, los hallazgos abren nuevas líneas de investigación para explorar los efectos antitumorales y las aplicaciones potenciales de la leche materna en el tratamiento de células cancerígenas.

REFERENCIAS

- Foster, K. A., Oster, C. G., Mayer, M. M., Avery, M. L., & Audus, K. L. (1998). Characterization of the A549 cell line as a type II pulmonary epithelial cell model for drug metabolism. *Experimental Cell Research*, 243(2): 359-366.
- Hassan, A. M., Shoukry, M. M., El-Zayat, M. A., & Abou-Zeid, R. (2016). Anticancer effect of human milk bacteria on MCF-7 breast cancer cell line. *Biomedical Research International*, 10(5): 123-130.
- Instituto Nacional del Cáncer. (2020). Estadísticas del cáncer. Recuperado de <https://www.cancer.gov>
- International Organization for Standardization (ISO). (2021). Biological evaluation of medical devices—Part 1: Evaluation and testing within a risk management process (ISO 10993-1:2021). Geneva, Switzerland: ISO.
- National Human Genome Research Institute. (2022). Cancer: Genetics and biology. Recuperado de <https://www.genome.gov>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2022). Lactancia materna: recomendaciones.
- Portillo Vásquez, S. (2014). Historia y aplicaciones de las células HeLa en investigación científica. *Revista Médica*, 22(4): 231-236.
- Rodríguez Avilés, F. E., Sánchez-Castro, L. A., & Morales-Flores, R. A. (2020). Componentes de la leche materna y sus variaciones según las necesidades del lactante. *Pediatría Integral*, 24(1): 34-40.
- Svensson, M., Schön, K., & Håkansson, A. (2002). Alpha-lactalbumin, an apoptotic complex in human milk. *Pediatric Research*, 52(4): 456-461.