

Producto sintético cubano induce apoptosis en línea celular de mamífero

Cuban synthetic product induces apoptosis in mammalian cell line

Dra. Llanetsy Llanes Mesa^I; Dra. Zoraya Gómez Benítez^{II}

I Especialista de I Grado en Histología. Máster en Longevidad Satisfactoria. Profesor Instructor. Universidad de Ciencias Médicas, Camagüey, Cuba. mllanes@iscmc.cmw.sld.cu

II Especialista de I Grado en Histología. Máster en Ciencias de la Educación Superior. Profesor Asistente. Universidad de Ciencias Médicas, Camagüey, Cuba. zgomez@finlay.cmw.sld.cu

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial después de las enfermedades cardíacas. En Cuba se detectan anualmente 29 000 casos y fallecen alrededor de 19 000 pacientes por esta enfermedad. En el año 2009 la tasa de mortalidad nacional se elevó a 189,7x100 000 habitantes (21 316 fallecidos), en la provincia de Camagüey diagnosticó a 198.3 x 100 000 habitantes (1 515 fallecidos), superior a la tasa nacional.^{1,2}

Las células cancerosas no están sujetas a las restricciones normales concernientes a la proliferación celular, por ello se hacen inefectivas las diversas vías con que cuenta el organismo para eliminar células malignas.^{3,4}

Hasta el momento no existen tratamientos completamente eficaces que logren la muerte selectiva de las células tumorales, por este motivo existe una tendencia a nivel mundial hacia la búsqueda y caracterización de nuevos productos con mayor eficacia en el tratamiento de los diversos tipos de cáncer al inducir la apoptosis en células afectadas.

La apoptosis es un fenómeno biológico en el que la célula muere en respuesta a un estímulo específico, no necesariamente tóxico y pone en marcha un programa de eventos metabólicos y genéticos que culminan en su total desintegración, sin desencadenar una reacción inflamatoria que provoca daño en los tejidos vecinos. Dicha célula atraviesa distintos estadios morfológicos produciéndose cambios que son característicos y parecen ser únicos a la apoptosis, por lo que pueden ser utilizados para identificar este tipo de muerte celular.^{5,6}

El presente trabajo evaluó los cambios morfofuncionales que origina sobre una línea celular un derivado del 2-furiletileno (G1), sintetizado en el Centro de Bioactivos Químicos (CBQ) de Santa Clara. La capacidad de este fármaco para provocar en las células en estudio cambios a nivel de su ultraestructura molecular y su morfología que indican la presencia de una muerte celular programada o apoptosis, esto conlleva sin dudas a un desarrollo en las investigaciones encaminadas a obtener una terapéutica antitumoral mucho más eficaz.

En el Laboratorio de Cultivo Celular del Centro de Inmunología y Productos Biológicos

(CENIPBI) de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey se realizó un estudio experimental en el trienio 2008- 2010, en colaboración con el Departamento de Histoembriología, el Hospital Pediátrico Provincial Eduardo Agramonte Piña y el Centro Provincial de Genética Médica de Camagüey; se utilizó una muestra de 1 000 células de la línea celular no tumoral CHO-K1 (células epiteliales de Ovario de Hámster Chino, (ECACC No.85050302) donada por el Centro de Inmunología Molecular de Ciudad de la Habana, Cuba.

Luego de la realización, según los protocolos internacionales establecidos, de los experimentos programados: medición de la concentración citosólica de los iones Na^+ , K^+ y Ca^{2+} , inducción de apoptosis por fragmentación de ADN; morfología nuclear y determinación del índice mitótico, se obtuvieron importantes resultados.

La exposición durante 24 horas del producto en estudio a concentraciones muy por debajo de sus valores descritos de IC_{50} (250 $\mu\text{mol/L}$), incrementó las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} a valores cuantificables de 0,1mmol/L. Esta concentración activa las caspasas dependientes de este ión, para entre otras funciones, activar nucleasas que degradan la molécula de ADN de la célula que va a morir.⁷

En la electroforesis de ADN en gel de agarosa 1,8 % se evidenció la presencia de fragmentos oligonucleosómicos en las tallas esperadas (250, 500 y 750 pb) luego de la purificación del ADN genómico de células CHO tratadas con el

producto⁸; que unido a la presencia de un 75 % de cuerpos apoptóticos (muy similar al 80 % que induce el citostático 5-fluorouracilo utilizado como control positivo), resultó una evidencia irrefutable de que el producto desencadena un fenómeno molecular intracelular característico de la apoptosis.^{9,10} Se observaron además variadas formas de condensación de la cromatina, estados previos a la formación de dichos cuerpos apoptóticos.¹¹

Por último el G1 mostró una ligera inducción de mitosis en la población celular. Esta asociación positiva entre la inducción de la apoptosis evaluada por el porcentaje de núcleos apoptóticos (77,1 %) y el índice mitótico (IM), sugiere que el producto no tiene acción directa sobre la inhibición del ciclo celular, sin embargo, este resultado coincide con varios estudios realizados por otros investigadores.^{12, 13}

Al concluir la investigación se evidenciaron por primera vez las variaciones morfofuncionales ocasionadas en un modelo celular *in vitro* por un producto sintetizado en nuestro país, mostrándose las marcas moleculares y morfológicas más utilizadas en la actualidad para confirmar la inducción de una muerte celular programada o apoptosis.

Por la importancia de los resultados obtenidos en esta investigación, se diseñan experimentos que evidencien las vías moleculares implicadas en la muerte celular programada e inducida por el producto G1, y se planifican otros experimentos *in vitro* para evaluar este y otros

cuatro productos de la misma familia a través de células de médula ósea de ratas Wistars.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez Peñalver I. Prevención del cáncer, curación definitiva. Rev Cubana Oncol. 1998; 14(3): 141-142.
2. MINSAP. Anuario Estadístico de Salud 2009 [Internet]. La Habana: Dirección Nacional de registros médicos y estadísticas de salud; 2011 [citado 5 ene 2011]. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgibin/wxis/anuario/>
3. Rodríguez L, Reyes JA. El ciclo celular: características, regulación e importancia en el cáncer. Biotecnología Aplicada. 2004; 21(6): 60-69.
4. De la Rosa EJ. De gusanos y premios Nobel: el proceso de muerte celular programada. Madrid: El observador; 2003
5. Héctor S, Prehn JH. Apoptosis signaling proteins as prognostic biomarkers in colorectal cancer: a review. Biochim Biophys Acta. 2009; 5(2):117-129.
6. Michel HR, Gordon IK, Wojciech Pa. Histología texto y atlas color con Biología celular y molecular. 4ta ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2005.
7. Quadrilatero J, Bombardier E, Norris SM, Talanian JL, Palmer MS, Logan HM, et al. Prolonged moderate-intensity aerobic exercise does not alter apoptotic signaling and DNA fragmentation in human skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010; 298(3): 534-47.
8. Yoshida A, Pommier Y. Endonuclease activation and chromosomal DNA fragmentation during apoptosis in leukemia cells. Int J Hematol. 2006; 84(1): 31-37.
9. Sakkas D, Alvarez JG. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. Fertil Steril. 2010; 93(4): 1027-36.
10. Haag C, Stadel D, Zhou S, Bachem MG, Moller P, Debatin KM, et al. Identification of c-FLIP (L) and c-FLIP(S) as critical regulators of death receptor-induced apoptosis in pancreatic cancer cells. Gut. 2011; 60(2): 225-37.
11. Yamada T, Takatsu Y, Kasumi M, Ichimura K, van Doorn WG, et al. Nuclear fragmentation and DNA degradation during programmed cell death in petals of morning glory (*Ipomoea nil*). Planta. 2006; 224(6): 1279-1290.
12. Sitorus RS, Gumay S, van der Valk P. The apoptotic paradox in retinoblastoma. Ann N Y Acad Sci. 2009; 1171(5): 77-86.
13. James S, Miller B, Basnakian AG, Pogribny IP, Pogribna M, Muskhelishvili L, et al. Apoptosis and proliferation under conditions of deoxynucleotide pool imbalance in liver of folate/methyl

deficient rats. Carcinogenesis. 1997; 18
(2): 287-93.

Recibido: 22 de junio de 2012

Aprobado: 20 de julio de 2012

*LLanetsy Llanes Mesa. Email:
mllanes@iscmc.cmw.sld.cu*