

Actividad citotóxica del IMMUNEPOTENT-CRP contra líneas celulares de cáncer pulmonar

Alan Martínez-Loria^a, Ana Martínez-Torres^{a*}, Luis Gómez-Morales^a y Cristina Rodríguez-Padilla^a

^aUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Inmunología y Virología. San Nicolás de los Garza, N. L., México.

*ana.martinezto@uanl.edu.mx

Palabras clave: IMMUNEPOTENT-CRP, factor de transferencia, cáncer, CPCNP, ROS

Introducción

El cáncer se define como un conjunto de enfermedades de origen multisistémico y carácter multifactorial, distinguidas por la proliferación desmesurada de las células y su resistencia a morir¹. En México, se registraron 78,719 fallecimientos a causa del cáncer con una tasa de mortalidad general de 67.8% por cada 100,000 habitantes. Siendo el de mayor impacto el cáncer de pulmón con un 9.7% de mortalidad². Debido a ello, existen múltiples esfuerzos en investigación para describir a las células cancerosas, y a su vez desarrollar nuevas terapias cada vez más focalizadas. En la actualidad existen diversos tratamientos en contra de este conjunto de enfermedades; como la quimioterapia, la radioterapia y la inmunoterapia. Entre las inmunoterapias se encuentra el IMMUNEPOTENT-CRP® (I-CRP), el cual es un extracto dializable de leucocitos de bazo bovino que contiene al factor de transferencia³. Se trata de una inmunoterapia activa no específica que se ha utilizado como adyuvante en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) para reducir los efectos secundarios de la quimioterapia y la radioterapia⁴, pero además ha demostrado actividad citotóxica *in vitro* en líneas celulares de diferentes tipos de cáncer⁵⁻⁷. Sin embargo, su mecanismo de acción contra las células de cáncer de pulmón no ha sido evaluado. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el mecanismo citotóxico del I-CRP en líneas celulares de cáncer de pulmón.

Parte experimental

Se evaluó la viabilidad celular a través del ensayo de MTT en las líneas celulares de CPCNP A549, A427, Calu-1 e INER-51, después del tratamiento con concentraciones crecientes de I-CRP (0.25-2U/mL) a tres tiempos (24, 48 y 72h). Para comprender mejor los mecanismos de disminución de la viabilidad celular se utilizó la clasificación celular activada por fluorescencia para evaluar la muerte celular (tinción de anexina-V y yoduro de propidio [PI]) a concentraciones crecientes de I-CRP (1.25-1.75U/mL) durante 24 h. Una vez determinado el IC₅₀ se evaluaron otros parámetros como el ciclo celular y degradación del DNA (tinción de PI), alteraciones mitocondriales (tinción de TMRE), y producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (tinción de DCFDA). Además, se evaluó la dependencia de caspasas y ROS en la muerte celular pre-tratando las células con el inhibidor de caspasas Q-VD-OPH (10µM) y el antioxidante N-acetilcisteína (NAC, 5mM), respectivamente

Resultados y discusión

Nuestros datos muestran que I-CRP es citotóxica para líneas celulares de CPCNP de una manera dependiente de la dosis y del

tiempo, sin diferencias sustanciales entre las cuatro líneas celulares analizadas (A549, A427, Calu-1 e INER-51). La citotoxicidad se induce a través de la muerte celular regulada y la inducción de arresto del ciclo celular. La muerte celular inducida por I-CRP en líneas celulares de CPCNP se caracteriza por la degradación del DNA, el daño mitocondrial y la producción de ROS. Por otra parte, la muerte celular es independiente de las caspasas, pero se basa en la producción de ROS, ya que se inhibió al emplear NAC.

Conclusiones

En conjunto, estos resultados mejoran el conocimiento sobre la actividad citotóxica del I-CRP en células de CPCNP, indicando que la muerte celular, detención del ciclo celular, degradación del DNA y el daño mitocondrial son características importantes, mientras que las ROS juega el papel principal para la citotoxicidad mediada por I-CRP.

Agradecimientos

Agradecemos al Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas por el apoyo económico e infraestructura brindados para la realización de este trabajo.

Referencias

1. Vincent, A., Herman, J., Schulick, R., Hruban, R. H., & Goggins, M. In *The Lancet*. **2011**. Vol. 378, pp. 607–620.
2. Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. *International Journal of Cancer*. **2010**. 127(12), 2893–2917.
3. Arnaudov, A. Immunotherapy with Dialyzable Leukocyte Extracts Containing T Transfer Factor; *InTech*. **2017**. 14, 326–338.
4. Franco-Molina, M. A., Mendoza-Gamboa, E., Zapata-Benavides, P., Vera-García, M. E., Castillo-Tello, P., García de la Fuente, A., ... Rodríguez-Padilla, C. *Cytotherapy*. **2008**. 10(5), 490–496.
5. Franco-Molina, M. A., Mendoza-Gamboa, E., Miranda-Hernández, D., Zapata-Benavides, P., Castillo-León, L., Isaza-Brando, C., ... Rodríguez-Padilla, C. *Cytotherapy*. **2006**. 8(4), 408–414.
6. Franco-Molina, M. A., Mendoza-Gamboa, E., Zapata-Benavides, P., Castillo-Tello, P., Isaza-Brando, C. E., Zamora-Avila, D., ... Rodríguez-Padilla, C. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. **2010**. 32(4), 637–646.
7. Martínez-Torres, A. C., Reyes-Ruiz, A., Benítez-Londoño, M., Franco-Molina, M. A., & Rodríguez-Padilla, C. *BMC Cancer*. **2018**. 18(1), 13.