

PKHB1 induce regresión tumoral mediante la muerte celular regulada y estimulación del sistema inmune.

Kenny M. Calvillo-Rodríguez^{1*}, Ashanti C. Uscanga-Palomeque¹, Luis Gómez-Morales^{1,2}, Diana E. Caballero-Hernández¹, Philippe Karoyan², Cristina Rodríguez-Padilla¹, Ana C. Martínez-Torres¹.

1. Universidad Autónoma de Nuevo León; Facultad de Ciencias Biológicas; Laboratorio de Inmunología y Virología. México.

2. Université Pierre et Marie Curie (Paris VI)- ENS-CNRS; Chimie Moléculaire FR 2769, Laboratoire des Biomolécules. France.

Autor responsable: ana.martinezto@uanl.edu.mx.

Palabras claves: PKHB1, 4N1K, CD47, MCR.

Introducción

La leucemia es un tipo de cáncer que comienza en tejidos formadores de sangre, incluida la médula ósea, y afecta las células del sistema inmunitario. Esta se clasifica de acuerdo con su progresión en casos agudos o crónicos y por la célula afectada en linfocítica o mielocítica¹. Los tratamientos actuales para la leucemia son la quimioterapia y los inhibidores específicos de cinasas, utilizados solos o en combinación con inmunoterapias. Estos tratamientos tienen como objetivo inducir apoptosis, sin embargo, las mutaciones en la maquinaria apoptótica presentes en diferentes tipos de cancer, así como el microambiente quimio protector de las células leucémicas, inducen la resistencia a la apoptosis, lo que dificulta su eliminación². Recientemente se demostró que péptidos agonistas de CD47 derivados del dominio C-terminal de la Trombospondina 1 (4N1K, PKHB1) inducen un tipo de muerte celular regulada (MCR) independiente de caspasas y de señales quimio protectoras del microambiente tumoral en células de leucemia linfocítica crónica³, entre otros tipos de cáncer⁴. Además se demostró que la administración de PKHB1 en ratones inmunodeficientes xenotransplantados con células de Leucemia linfocítica crónica disminuye el crecimiento tumoral³. CD47 es una proteína transmembranal expresada ubicuamente, que tiene diferentes roles en el sistema inmune, por lo que este trabajo propone la activación de CD47 para eliminar células leucémicas.

Parte experimental

Se evaluó la muerte celular, analizando la exposición de fosfatidilserina (Ann-V), la permeabilización de la membrana celular (PI), la respuesta al inhibidor de caspasas (Q-VD-OPh) y el quelante de calcio (BAPTA) en las líneas celulares de Leucemia linfocítica aguda de células T (CEM, Jurkat), Leucemia linfocítica crónica de células B (MEC-1), Leucemia mielóide crónica (K562), Leucemia promielocítica aguda (HL60) y la línea de linfoblastos T tumorales de murino (L5178Y-R), así como células mononucleares de sangre periférica de personas sanas. *In vivo* se estableció el tumor de células L5178Y-R en ratones BALB/c, un grupo control sin tratamiento y un grupo tratado semanalmente con 200µg/200µL de PKHB1, se calculó el índice tumoral y la supervivencia de ratones tratados y sin tratamiento.

Resultado y discusión

PKHB1 es mejor inductor de muerte que 4N1K, y es selectivo para células de diferentes tipos de leucemia (MEC 1, CEM, Jurkat, K562, HL-60, L5178Y-R); no es citotóxico para hPBMC ni células derivadas de órganos linfoides de ratón. El mecanismo de MCR activado por PKHB1 es independiente de caspasas, pero dependiente de calcio. En ratones BALB/c inoculados subcutáneamente con células L5178Y-R y tratados intraperitonealmente con PKHB1, se observa disminución del volumen tumoral y supervivencia prolongada con respecto a los controles sin tratamiento. No se observó daño en órganos vitales. Análisis histopatológicos revelan infiltración de PMN y linfocitos en los ratones tratados.

Conclusiones

La activación de CD47 induce selectivamente MCR independiente de caspasas, regulada por calcio en diferentes tipos de leucemia. Además, *in vivo*, el PKHB1 genera regresión tumoral caracterizada por la infiltración de linfocitos y PMN, así como un aumento en la supervivencia de los ratones tratados. Por lo que el empleo de péptidos agonistas de CD47 en otros tipos de cáncer, así como en modelos *in vivo* inmunocompetentes, ayudarán a esclarecer las funciones de CD47 en la eliminación tumoral y activación del sistema inmune.

Agradecimientos

Al laboratorio de Inmunología y Virología, por el apoyo económico y de infraestructura para llevar a cabo esta investigación. KMCR, ACUP, LGM agradecen al CONACyT por la beca de manutención. ACMT agradece a la SEP-CONACyT- ANUIES-ECOS, por el apoyo 291297.

Referencias

1. American Cancer Society. 2015. [On line] disponible en: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/document/s/document/acspc-044552.pdf> (consultado el 01 de abril de 2018).
2. Meads MB, et al. *Clinical Cancer Research*. 14(9):2519-26 (May 1, 2008).
3. Martínez-Torres, A. C., Quiney, C., Attout, T., Boulet, H., Herbi, L., Vela, L., ... & Davi, F. *PLoS Med*. 2015. 12, 1-37
4. Denèfle, T., Boulet, H., Herbi, L., Newton, C., Martínez-Torres, A. C., Guez, A., ... & Lardé, E. *J med chem*. 2016. 59(18), 8412-8421.