

Las nanopartículas de oro cubiertas de quitosano inducen muerte celular regulada selectiva en células cancerosas sin afectar PBMC en estado proliferativo.

Jorge Alberto Uribe-Echeverría, Helen Yarimet Lorenzo-Anota¹, Diana G. Zarate-Triviño¹, Ana Carolina Martínez-Torres^{1*}, Cristina Rodríguez-Padilla¹

¹ Laboratorio de Inmunología y Virología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), México.

* ana.martinezto@uanl.edu.mx.

Palabras clave: nanopartículas de oro, proliferación, ROS, PBMC, cáncer, concanavalina A.

Introducción

El cáncer es uno de los problemas de salud más graves a nivel mundial. Los tratamientos principales no son selectivos ya que afectan significativamente células no tumorales, generando daño al ADN. Las nanopartículas de oro cubiertas con quitosano (CHAuNPs) son inductores selectivos de muerte celular mediado por la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en líneas celulares tumorales (HeLa y MCF-7) y leucémicas (K562 y CEM), sin dañar células de cultivo primario derivado de médula ósea y células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Sin embargo, aún se desconoce si la citotoxicidad selectiva de las CHAuNPs está relacionada con alta tasa de proliferación de las células cancerosas, característica que no muestran los cultivos primarios. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la implicación de la proliferación y los ROS en la selectividad citotóxica de las CHAuNPs.

Metodología

El método de Turkevich fue empleado para la síntesis de las CHAuNPs. La pérdida en la viabilidad se determinó mediante la técnica MTT en células cancerosas A549 y en células no cancerosas proliferantes HUVEC, NIH3T3 y PBMC. La muerte celular, fue evaluada por citometría de flujo mediante la exposición de fosfatidilserina (Ann-V) y la permeabilización de la membrana plasmática (PI). El ciclo celular se realizó mediante un análisis de cuantificación de ADN intracelular (PI). La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) se evaluaron con los marcajes de DCFDA y DHE por citometría de flujo. Se utilizó al antioxidante NAC como inhibidor de ROS, para verificar su implicación en la muerte y en el ciclo celular. Finalmente, se evaluó el efecto citotóxico de las CHAuNPs en PBMC en estado proliferativo, para ello se empleó al mitógeno concanavalina A (ConA). La proliferación de las PBMC fue verificada por el marcaje de Cell trace (CFSE).

Resultados y discusión

Las CHAuNPs presentaron un tamaño de 2 a 5 nm y un plasmón de resonancia superficial de 520 nm. La reducción de la viabilidad en las células tratadas con CHAuNPs a 125 μ M fue del 95% en las células tumorales A549 mientras que en modelos no tumorales (HUVEC, NIH3T3 y PBMC), la reducción en la viabilidad fue de 30 a 40%. Los precursores de síntesis (Quitosano y ácido tetracloroáurico) no afectaron la viabilidad celular. La muerte celular inducida por las CHAuNPs a 125 μ M, en A549, Jurkat, L5178Y-R y CEM, fue del 75 al 95%, mientras que, en PBMC,

HUVEC y NIH3T3 no superó el 20%. Por lo tanto, las CHAuNPs inducen una citotoxicidad selectiva en células cancerosas, independiente del linaje celular y de manera dosis-dependiente. El análisis de ROS con DCFDA mostró un incremento significativo en HUVEC, A549 y CEM ($p < 0.01$) mientras que, las PBMC mostraron incremento significativo ($p = 0.17$). Con DHE, se observó un incremento significativo de las ROS, en HUVEC, PBMC, A549 y CEM ($p < 0.0001$). Estos resultados demuestran que los ROS inducidos por las CHAuNPs en HUVEC, CEM y A549 son peróxido de hidrógeno (H_2O_2) e iones superóxido (O_2^-). No obstante, en PBMC únicamente se ve la producción de O_2^- . No se observó ninguna alteración en el ciclo celular de células no tumorales. Para evaluar la implicación de los ROS en la muerte celular se empleó el inhibidor NAC, el cual, redujo significativamente la baja citotoxicidad de las CHAuNPs en HUVEC y PBMC ($p < 0.05$). Confirmando que la baja citotoxicidad en células no cancerosas es dependiente de la producción de ROS. Finalmente, para determinar si el efecto citotóxico de las CHAuNPs era dependiente del estado proliferativo en PBMC, se determinaron los mismos parámetros en PBMC proliferantes. La proliferación celular en las PBMC se indujo con el mitógeno concanavalina A. El análisis con CFSE reveló que, se encontraban en estado proliferativo. No se observaron diferencias en la reducción de viabilidad, muerte celular, los ROS y su implicación en la muerte en comparación con PBMC no proliferantes. Lo cual demuestra que el efecto de las CHAuNPs es independiente del estado proliferativo de las PBMC.

Conclusiones

Nuestros resultados indican que las CHAuNPs inducen citotoxicidad selectiva en células cancerosas comparado con células no cancerosas. Además, se determinó que la muerte inducida por las CHAuNPs era dependiente de ROS en los tipos celulares evaluados. Este estudio mejora la comprensión de la citotoxicidad generada por las CHAuNPs, así como su selectividad ante las células cancerosas, independientemente del estado proliferativo.

Referencias

1. Martínez-Torres, A. C.; Lorenzo-Anota, H. Y.; García-Juárez, M. G., Zarate-Triviño; D. G.; Rodríguez-Padilla, C. *Int J Nanomedicine*. 2019, 2019:14, 7173-7190.
2. J. Turkevich; P.C. Stevenson; J. Hiller. 1951. *Faraday Soc.* 11, 55-7.
3. Gmeiner W. H.; Ghosh, S. *Nanotechnol Rev*. 2015, 176, 139-148.