

## Estudios morfológicos y bioquímicos de la muerte celular inducida por el IMMUNEPOTENT CRP en células HeLa y MCF-7: rol de las ROS y la autofagia

Karla Alvarez-Valadez<sup>a</sup>, Ana Carolina Martínez-Torres<sup>a\*</sup> y Cristina Rodríguez-Padilla<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidad 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:** Cáncer • IMMUNEPOTENT CRP • ROS • Autofagia

### Introducción

El cáncer figura como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, en México ocupa el tercer lugar como causa de muerte<sup>1</sup>. Las principales opciones terapéuticas son incapaces de destruir selectivamente a las células tumorales sin dañar de forma simultánea a las células sanas, lo que conlleva a múltiples efectos secundarios<sup>2-3</sup>. Como una alternativa terapéutica surge la inmunoterapia con el fin de restaurar o potenciar la capacidad del sistema inmune para combatir el cáncer<sup>4</sup>. Un ejemplo de inmunoterapia es el IMMUNEPOTENT CRP (ICRP), un extracto dializable de leucocitos de bazo bovino (EDLb) que ha demostrado contar con un efecto citotóxico selectivo sobre diferentes líneas celulares cancerosas, sin afectar células mononucleares de sangre periférica de donadores sanos<sup>5-7</sup>. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos realizados hasta el momento para entender su mecanismo de citotoxicidad aún persisten numerosas dudas sobre su mecanismo de acción. El objetivo de este trabajo fue determinar las características morfológicas y bioquímicas que induce el ICRP en células de cáncer cervicouterino (HeLa) y de mama (MCF-7).

### Parte experimental

Mediante microscopía óptica y confocal se analizaron los cambios morfológicos inducidos por el ICRP en dos líneas celulares cancerosas: HeLa, de cáncer cervicouterino, y MCF-7, de cáncer de mama. Las células fueron tratadas con la CC50 de ICRP previamente establecidas para cada línea celular (1.25 U/mL para HeLa y 1.5 U/mL para MCF-7). A través de ensayos de citometría de flujo se evaluó la muerte celular regulada (MCR) (exposición de fosfatidilserina / permeabilidad de la membrana plasmática), presencia de autofagosomas y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS).

### Resultados y discusión

Los resultados obtenidos muestran que el ICRP induce la formación de autofagosomas y microvesículas en las células tratadas. Se demostró el daño mitocondrial y la producción de ROS en ambas líneas celulares. Así mismo, se demostró que las

ROS generadas bajo el tratamiento con ICRP son indispensables para la formación de autofagosomas, y que este proceso juega un papel prosupervivencia en las células tratadas.

Finalmente, se determinó que el tipo de muerte que induce el ICRP es dependiente de la producción de ROS.

### Conclusiones

Este trabajo permite mejorar nuestro conocimiento sobre el mecanismo de acción citotóxica del ICRP, concediendo la oportunidad de utilizarlo, mejorarlo e inclusive, acoplarlo con diferentes agentes con el fin de inducir la muerte selectiva de las células cancerosas.

### 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 de investigación.

### Referencias

1. Torre, L. A.; Bray, F.; Siegel, R. L.; Ferlay, J.; Lortet, T. J. & Jemal, A. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2015, 65(2), 87- 108.
2. Bhatia, M.; Davenport, V. & Cairo, M. S. Leukemia & Lymphoma, 2007, 48(1), 9-15.
3. Shitara, K.; Matsuo, K.; Oze, I.; Mizota, A.; Kondo, C.; Nomura, M. & Muro, K. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2011, 68(2), 301-307.
4. Beatty, G. L. & Gladney, W. L. Clinical Cancer Research, 2015, 21(4), 687-692.
5. Franco-Molina, M. A.; Mendoza-Gamboa, E.; Sierra-Rivera, C. A.; Gómez-Flores, R. A.; Zapata-Benavides, P.; Castillo-Tello, P. & Rodríguez-Padilla, C. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2010, 29(1), 1
6. Garza, T. E. Efecto del IMMUNEPOTENT CRP en la respuesta clínica e inmunológica en pacientes con cáncer de mama. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N.L. 2010.
7. Martínez-Torres, A. C.; Reyes-Ruiz, A.; Benítez-Londoño, M.; Franco-Molina, M. A. & Rodríguez-Padilla, C. BMC Cancer, 2018, 18(1), 13.