

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS ANTIAPOPTÓTICAS DURANTE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA POR EL EFECTO DE CASIOPEÍNAS®.



FORO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN CIENCIAS NATURALES

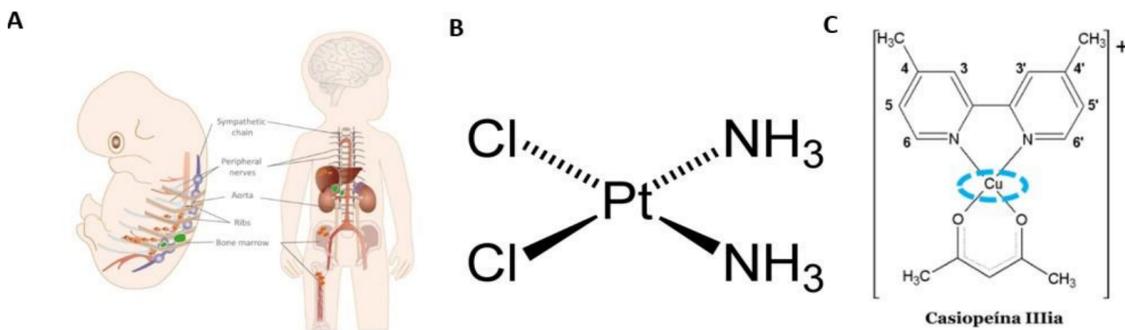
Trejo-Álvarez, J.G.¹, Jaime-Martínez, L.A.¹, Azuara-Martínez, L.A.¹, Ruiz-Azuara L², Mejía C.¹.

¹Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

²Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.



INTRODUCCIÓN: El neuroblastoma (NB) es un tumor sólido extracraneal originario de la cresta neural y se le atribuye el 15% de muertes por cáncer pediátrico. Dentro de los tratamientos tradicionales hay quimioterapéuticos con base platino que tienen una respuesta muy agresiva en los pacientes. Surgen así las Casiopeínas®, una familia de compuestos de coordinación de cobre(II) con efectos anti-proliferativos, citostáticos, citotóxicos y genotóxicos menos agresivos que el Cisplatino (Figura 1). [1,2]



El mecanismo de acción de las Casiopeínas incluye la apoptosis intrínseca y la autofagia a las 4 h para células SK-N-SH. A las 10 h solo hay autofagia y supervivencia, a las 24 h [3,4]. Sin embargo, la apoptosis puede verse interrumpida por la activación de las proteínas inhibidoras de apoptosis (IAP's). Ahora nuestro interés se centra en saber si las IAP's están relacionadas con la presencia de autofagia.

Figura 1. A) Desarrollo del Neuroblastoma (NB). B) Estructura del Cisplatino. C) Estructura de la Casiopeína IIIia.

OBJETIVO

Determinar la presencia de las IAP's y la proteína pro-apoptótica SMAC/DIABLO a las 4, 10 y 24 h de tratamiento con Casiopeína® IIIia.

MATERIALES Y MÉTODO

Cultivo celular de la línea SK-N-SH bajo tratamiento de Cas IIIia a 4, 10 y 24h (Figura 2). Western blot para las proteínas inhibidoras de la apoptosis cIAP2, XIAP y Survivina, así como de la proteína inhibidora de IAP's SMAC/DIABLO, en cada uno de los tratamientos (Figura 3).

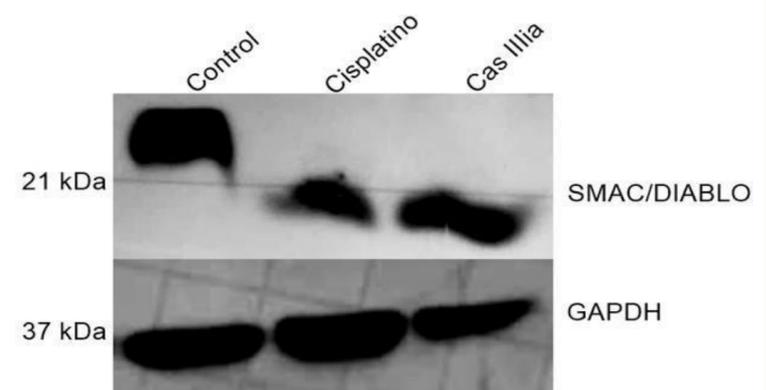


Figura 4. Alta expresión de SMAC/DIABLO a 4 h de tratamiento con Casiopeína IIIia. GAPDH fue utilizada como proteína control.

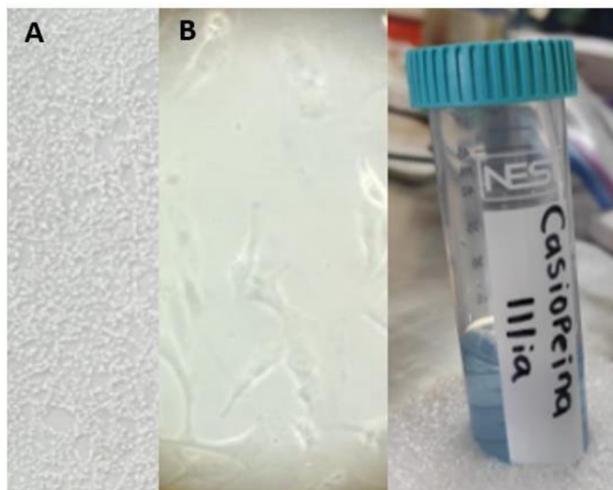


Figura 2. Línea SK-N-SH y Casiopeína IIIia (Cas IIIia). A) 5X. B) 100X.

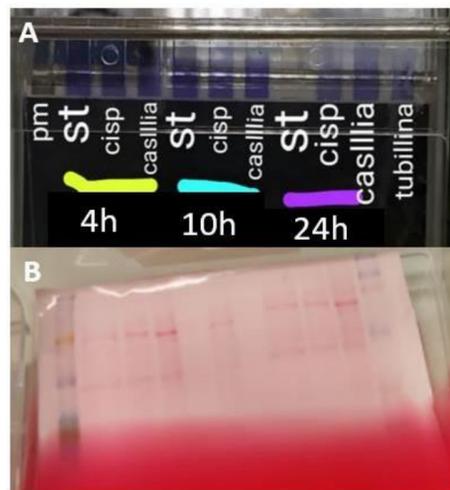


Figura 3. A) Electroforesis del tratamiento de Cas IIIia a 4, 10 y 24h. B) Transferencia y tinte del Western blot.

RESULTADOS ESPERADOS

En la línea celular SK-N-SH de neuroblastoma tratada con Casiopeína IIIia durante 24 h, observamos que ocurren tres procesos: la apoptosis y la autofagia pueden observarse a las 4 h, mientras que solo la autofagia se encuentra a las 10 h, y finalmente solo hay supervivencia celular a las 24 h [4]. Por lo tanto, se espera que a las 4 h de tratamiento, se muestre una baja expresión de las IAP's, mientras que SMAC/DIABLO estará altamente expresada (Figura 4). En cambio, esperamos que a las 10 h las IAP's aumenten su expresión y SMAC/DIABLO disminuya su concentración. Finalmente, esperamos que durante el proceso de supervivencia celular (24 h de tratamiento) las IAP's sean casi imperceptibles, y solo haya un ligero aumento en la concentración de SMAC/DIABLO, aunque menor que a las 4 h de tratamiento.

CONCLUSIONES

Con estos resultados comprobaremos que las IAP's son responsables de detener el proceso apoptótico y permitir que se lleve a cabo la autofagia a las 10 horas de tratamiento.

La determinación de la presencia de las proteínas inhibidoras de apoptosis durante la autofagia contribuirá a complementar los mecanismos de acción de las Casiopeínas®, la primera familia de moléculas sintetizadas en México en alcanzar la etapa clínica.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo cuenta con apoyo del Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría (FOPER) 2021. Clave FOPER FCN2509.



REFERENCIAS

1. Carmen Mejía & Lena Ruiz-Azuara. 2008. Casiopeínas Ilgly and IIIia Induce Apoptosis in Medulloblastoma Cells. Springer. Pathol. Oncol. Res. 14:467-472, DOI 10.1007/s12253-008 9060-x.
2. Carvalho, F.C., Trejo, C.S., Gómez, C.R., Rodríguez, E.A., Macías, R.L., Cortés, B.E., Cedillo, P.C., García, M.I. & Ruiz, A.L. (2008). Casiopeína III-ia induce apoptosis in HTC-15 cells in vitro through caspase-dependent mechanisms and has antitumor effect in vivo. BioMetals. 21(1): 17-28. DOI: 10.1007/s10534-007-9089-4.
3. Mejía, C. and L. Ruiz-Azuara, Casiopeínas Ilgly and IIIia induce apoptosis in medulloblastoma cells. Pathology Oncology Research, 2008. 14(4):p. 467-472.
4. Vázquez-Aguirre A, Gutiérrez AG, Moreno-Esparza R, Hernández-Lemus E, Ruiz-Azuara L, Mejía C. (2019). Autophagy Promotes Survival of CHP-212 Neuroblastoma Cells Treated With Casiopeínas®. Anticancer Res, 39: 3687-3695.