



Terapia Fotodinámica en Cáncer de Pulmón: un antiguo principio con un nuevo enfoque



Alicia Beltrán Jacobo, Laura Gpe. Hernández Aragón, *Fabián Galindo Ramírez, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Fisiología, Laboratorio Cáncer y Comunicación Intercelular

Resumen

Se sabe que la terapia fotodinámica (TFD) puede ocasionar la muerte de células tumorales a través de mecanismos como la producción de especies reactivas de oxígeno, sin embargo, no se sabe como podría estar afectando a los niveles de intracelular de Ca^{2+} . Nuestros experimentos *in vitro* con células de cáncer de pulmón han demostrado que el uso de la TFD provoca un aumento del Ca^{2+} intracelular en la célula irradiada y vecinas. Además, genera muerte de la célula irradiada y aquellas cercanas. Determinamos que conexinas 26, 32, 43 y 46 están presentes en células tumorales de pulmón y que el bloqueo farmacológico de estas, disminuye la señal de Ca^{2+} y el número de células muertas. Necesitamos realizar experimentos en tumores generados en ratones inmunocompetentes para verificar la efectividad de esta terapia.

Introducción

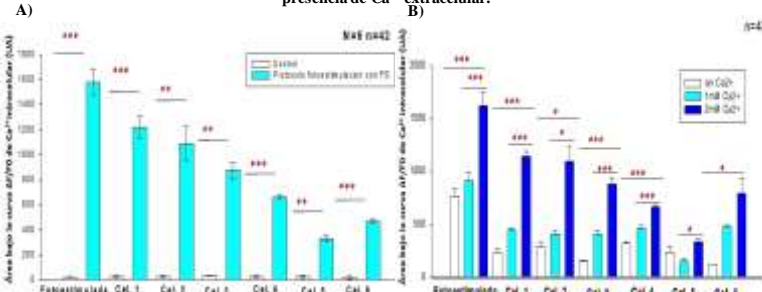
El cáncer pulmonar ha sido el más común durante varias décadas. En 2018 hubo 2,1 millones de casos nuevos.¹ Este se divide en cáncer de células pequeñas (CPCP) 25% y cáncer de células no pequeñas (CPCNP) 75%, donde el adenocarcinoma ocupa el primer lugar en CPCNP.² La terapia fotodinámica (TFD) está utilizándose como nueva opción de tratamiento en forma individual o coadyuvante contra el cáncer. El Ca^{2+} tiene un rol esencial en muchos procesos celulares como la muerte celular. Alterando la homeostasis de este ion en células tumorales podemos generar un daño que provocaría la muerte, generando además la posibilidad de enviar señales letales a otras células a través de uniones comunicantes (gap junctions). No existen estudios sobre efectos de la TFD en el Ca^{2+} intracelular ni de cómo las gap junctions o hemicanales participarían en la propagación de Ca^{2+} entre las células cancerígenas.

Objetivos

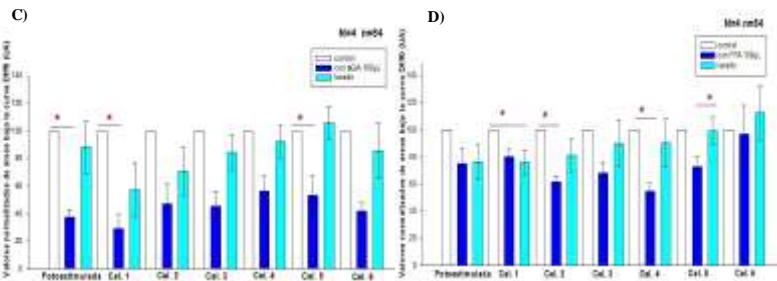
- Estudiar la señal de Ca^{2+} intracelular generada por la activación de un fotosensibilizador y los mecanismos que favorecen su propagación intercelular.

Resultados

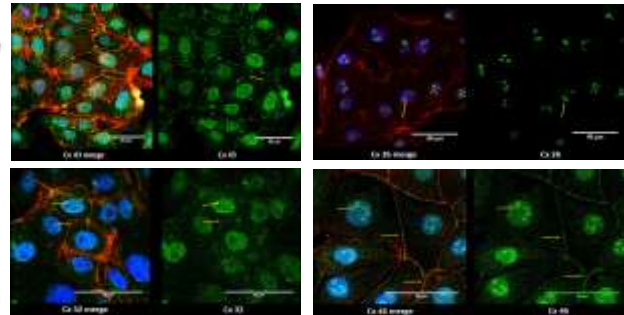
I. La terapia fotodinámica provoca un aumento en el nivel de Ca^{2+} intracelular en presencia de un fotosensibilizador (FS), en célula fotoestimulada y vecinas, además, este incremento es dependiente de la presencia de Ca^{2+} extracelular.



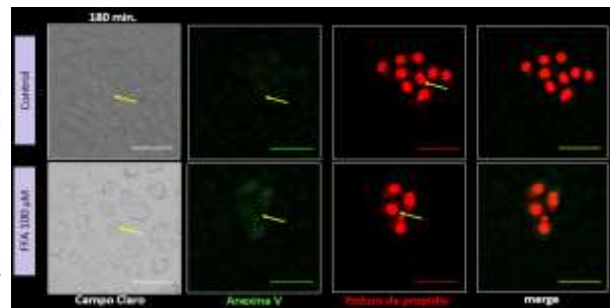
II. La propagación de la señal de Ca^{2+} intracelular disminuye en presencia de bloqueador 18 β -ácido glicirretínico y ácido flufenámico en célula fotoestimulada y vecinas



III. Presencia de Cx en células de la línea LP07



IV. La fotoestimulación causa cambios morfológicos y muerte celular, la cual esta disminuida en presencia de bloqueador FFA y sin Ca^{2+} extracelular



Metodología

- Cultivo celular línea de adenocarcinoma pulmonar murino LP07.
- Incubación de las células con FS AIClPc y sonda para Ca^{2+} Fluo-4FF AM para experimentos *in vitro* de cambios de Ca^{2+} intracelular por TFD en microscopio con focal Nikon Eclipse Ti-U.
- Ensayo con kit anexina V y Ioduro de propidio para muerte celular.
- Técnica inmunofluorescencia indirecta para evaluar presencia de conexinas 43, 26, 46 y 32.
- Experimentos de TFD en condiciones control y en presencia de bloqueadores de gap junctions y hemicanales como el 18-beta-ácido glicirretínico (18 β -GA) y ácido flufenámico (FFA).

Conclusiones

La fotoactivación genera un incremento en el nivel intracelular de Ca^{2+} de la célula estimulada y dicho incremento también se aprecia en las células cercanas a esta. La generación de la señal de Ca^{2+} de la célula fotoestimulada y vecinas parecen depender del Ca^{2+} extracelular. Sin embargo aun no se ha evaluado el papel que juegan los depósitos intracelulares de Ca^{2+} .

La activación de una sustancia fotosensible en la terapia fotodinámica provoca cambios morfológicos y los resultados sugieren que la muerte celular sucede principalmente por necrosis. Además de que la presencia de Ca^{2+} extracelular aumenta el número de células muertas.

La conexina 43 se encuentra ampliamente expresada en la membrana plasmática, las 46 y 32 se observa tanto en membrana plasmática como intranuclear, y la 26

Referencias

- GLOBOCAN. International Agency for Research on Cancer. All Cancers (excluding non-melanoma skin cancer) 2019. 2. Moctezuma C, Patiño M. Artículo de revisión cáncer de pulmón anales de radiología, México 2009.