

Linalool induce muerte de células eritroleucemicas a través de la vía autofágica

Linalool induces erythroleukemia cells death through the autophagic pathway

J.M. Martín ¹; B. N. Salassa ^{1,2}; R.M. Milán ¹; C. Fader Kaiser ^{1,2}.

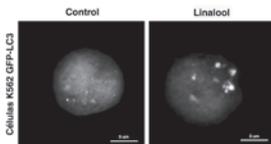
¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina.

² Instituto de Histología y Embriología (IHEM), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, CONICET, Mendoza, Argentina

Contacto: cfader31@gmail.com

Palabras clave: autofagia - eritroleucemia - linalool

Key Words: autophagy - erithroleukemia - linalool



Introducción: La eritropoyesis es un proceso complejo que se inicia en la médula ósea. Las células precursoras sufren una extensiva remodelación de sus componentes internos, para

asegurar su función celular como glóbulos rojos maduros. La autofagia es un proceso de homeostasis celular, donde se degradan componentes intracelulares. Éstos son secuestrados en una estructura de doble membrana llamada autofagosoma y degradados en los lisosomas. Se ha visto que durante la maduración eritroide algunas estructuras celulares, son secuestradas y eliminadas por autofagocitosis. Estudios recientes apuntan que la autofagia está implicada en la muerte celular, en donde degrada prácticamente todos los componentes internos, regulando la supervivencia celular. El Linalool es un terpeno con un grupo alcohol cuya forma natural es común en plantas aromáticas de nuestra región; especialmente en las familias Lamiaceae, Lauraceae y Rutaceae. Estudios recientes demuestran que posee una fuerte actividad antiproliferativa e inductora de apoptosis de líneas celulares provenientes de cánceres hemáticos.

Objetivo: Estudiar el efecto del Linalool sobre la inducción de la muerte celular autofágica de células eritroleucemicas.

Metodología: Se utilizó la línea de células eritroleucemicas, células K562. Fueron cultivadas en RPMI con 10% de suero fetal bovino, en estufa a 37°C y atmósfera con 5% de CO₂.

Para los ensayos de viabilidad celular, las células fueron incubadas en presencia de concentraciones de Linalool de 54,7; 547; 1094 y 2735 μ M, durante 8 horas. Se realizó el conteo celular cada dos horas de las diferentes condiciones, las cuales fueron marcadas con Azul de Tripán, y cuantificadas por microscopia. El estudio de los resultados se realizó mediante la estadística descriptiva obtenida con el programa KyPlot. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba de ANOVA. Otra población de células fue transfectada con un plásmido que sobreexpresa la

proteína GFP-LC3 (marcadora de autofagosomas). La sobreexpresión de esta proteína permitió observar la morfología celular y cuantificar por microscopia de fluorescencia la cantidad de vesículas autofágicas, midiendo los niveles de autofagia en las distintas condiciones mencionadas anteriormente. Las vesículas se cuantificaron con el programa ImageJ.

Resultados: En los ensayos de viabilidad celular, observamos que la exposición a concentraciones de Linalool de 547, 1094 y 2735 μ M produce un aumento del 50% de células muertas a partir de las seis horas. De forma interesante, se observó que a las ocho horas de incubación con 2735 μ M de Linalool se alcanzó el máximo porcentaje de muerte celular (76,5%). Por lo que concluimos que el efecto letal del Linalool es concentración y tiempo dependiente. Por otro lado, observamos por microscopia de fluorescencia que las células K562 que sobreexpresan la proteína GFP-LC3, incubadas dos horas con Linalool 54,7 μ M tienen un mayor número y tamaño de vesículas autofágicas, con respecto a las células control. De forma interesante, el número de vesículas autofágicas aumentó aún más, luego de cuatro horas con 547 μ M de Linalool.

Discusión: Las leucemias son neoplasias hematológicas, con proliferaciones clonales de los órganos hematopoyéticos con aumento de células blásticas en sangre periférica y tejidos. Los resultados sugieren que Linalool, en concentraciones de 547, 1094 y 2735 μ M, podría contribuir a disminuir el número de células leucémicas, a través de la inducción de la muerte celular autofágica. Para poder comprobarlo, debemos hacer ensayos de cuantificación de proteínas de la vía autofágica por Western Blot y además estudiar la vía apoptótica.

Conclusión: Es importante identificar nuevos agentes que puedan cesar la proliferación de células blásticas, y es considerablemente mejor si estos agentes son drogas naturales. El Linalool podría ser una alternativa terapéutica, ya que creemos que es eficiente para inducir la muerte celular de las células eritroleucémicas.