

Angulo Molina Aracely¹, Espinoza Sanchez Astrid¹, Vazquez Fernando¹, Arteaga Fernando¹, Minjares Lizette¹, Fernández Xiomara¹, Mauleon Abraham¹, Palacios Hernández Teresa^{1,2}, Méndez Miguel Ángel¹, Flores Lilian³, Flores Juan Carlos³, Reyes Leyva Julio³, Hernandez Jesús⁴, Hirata Gustavo⁵, Contreras Oscar Edel⁶, Merino Saúl⁶.

¹Universidad de las Américas Puebla, Puebla, México; ²Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla (UPAEP), Puebla, Méx.; ³Centro de Investigación Biomédica de oriente (CIBIOR), Metepec, Puebla, Méx.; ⁴Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, Hermosillo, Sonora, Méx.; ⁵Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la UNAM (CNYN), Ensenada, BCN; ⁶Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla, Méx.

Introducción

La nanotecnología aplicada a la ciencia de la Nutrición ha venido a revolucionar la búsqueda y desarrollo de métodos alternativos de tratamiento para el cáncer a través de los nanoalimentos funcionales. Actualmente el tratamiento está limitado a la resección quirúrgica, irradiación y quimioterapia. Los análogos de vitamina E como el alfa tocoferil succinato (α -TOS) son moléculas anticancerígenas con una alta selectividad en diferentes tipos de cáncer, a excepción de cáncer de cérvix donde α -TOS pierde su bioactividad por las esterases. El acoplamiento de α -TOS a nanopartículas (Nps) de óxidos de hierro como la magnetita (Fe_3O_4) para proteger su actividad anticancerígena no ha sido estudiado. No tenemos conocimiento de trabajos similares en México donde se involucre la nutrición con la nanotecnología para el desarrollo de nanoalimentos anticancerígenos utilizando vitamina E y el Hierro.

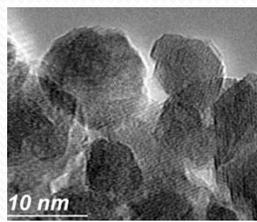
OBJETIVO: Sintetizar y evaluar nanoalimentos funcionales formulados con α -TOS y nanopartículas de óxido de hierro.

Metodología

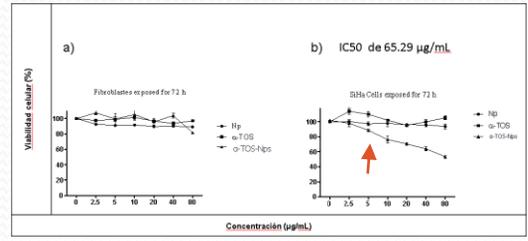
Síntesis del nanoalimento	Tratamientos	Actividad anticancerígena <i>In vitro</i> en líneas celulares tumorales
<p>Las Nps de magnetita Fe_3O_4 se sintetizaron por el método de coprecipitación. Posteriormente se funcionalizaron con el análogo de la vitamina E.</p> <p>Nanoalimento</p> <p>Esquema propuesto para el nanoalimento funcional. La esfera representa la Nps de magnetita (Fe_3O_4) funcionalizadas con la vitamina E en su superficie.</p>	<p>Líneas celulares evaluadas (20X)</p> <p>Fibroblastos (células normales)</p> <p>Células SiHa (células de cáncer de cérvix)</p> <p>Resistentes a la vitamina sola α-TOS</p>	<p>Internalización (ubicación intracelular del nanoalimento): Microscopía Confocal, el nanoalimento se marca con fluoresceína.</p> <p>Viabilidad y muerte celular (Ensayo del MTT que detecta solo células metabólicamente activas capaces de reducir el MTT a formazán y que se lee a 550 nm en un lector de micropalacas)</p> <p>Mecanismo de muerte (naranja de acridina) para distinguir entre apoptosis y necrosis), Microscopía de epifluorescencia. El nanoalimento se marca con fluoresceína. La apoptosis se detecta con naranja de acridina.</p>

Resultados

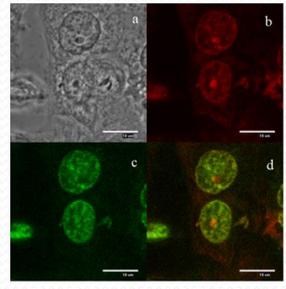
Se encontró que el nanoalimento α -TOS-Nps puede ser internalizado, ubicándose alrededor del núcleo. Las células tratadas presentan una disminución en su viabilidad y cambios morfológicos sugerentes de muerte celular y apoptosis. Además, las células resistentes a la vitamina sola fueron susceptibles al nanoalimento α -TOS-Nps, incluso a bajas concentraciones, un efecto nunca antes reportado. No se observaron efectos citotóxicos en los fibroblastos (células normales) indicando biocompatibilidad.



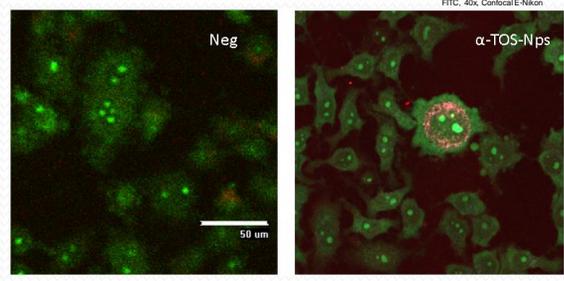
Nanoalimento funcional: Se observa que las nanopartículas tienen forma esférica irregular y son < 15 nm. Microscopía electrónica de transmisión (TEM).



Efecto en la viabilidad celular a las 72 h de tratamiento con Np (nanopartículas puras) α -TOS (alfa tocoferil succinato) y α -TOS-Nps (nanoalimento funcional). Ensayo del MTT. Los datos representan la media \pm DS. Los ensayos se realizaron por triplicado. En la figura a) se observa que solo el nanoalimento induce muerte celular a partir de los 5 μ g/mL (flecha roja), pero sus constituyentes por separado no. Se requiere que la vitamina esté unida a las Nps de magnetita para inducir el efecto antitumoral.



80 μ g/mL α -TOS-Nps-FTTC. 150,000 células SiHa, 72h. \times 1000. Confocal E-Nikon. Las células internalizan el nanoalimento Np- α -TOS localizándose en citoplasma y en zonas puntuales del núcleo. Las permeabilidad, la morfología y la viabilidad de las células tumorales tratadas fue alterada con el nanoalimento. a) contraste de fases, b) filtro rojo para detector células muertas, c) filtro verde para detector el nanoalimento marcado con fluoresceína, d) combinación de filtros, mostrando las células muertas que incorporaron el nanoalimento marcado con fluoresceína (células con centro rojo y resto del núcleo verde). Microscopía de epifluorescencia. 40x.



Detección de ADN FRAGMENTADO (color rosa) indicativo de muerte celular por apoptosis. Este resultado sugiere que el nanoalimento induce selectivamente la muerte de las células tumorales por apoptosis, el mecanismo deseado para los medicamentos antitumorales ya que se asocia a menores reacciones adversas. 40x

Conclusiones

Los nanoalimentos funcionales con análogos de vitamina E y Nps de magnetita representan un método alternativo de tratamiento para malignidades ginecológicas como el cáncer de cérvix, con un efecto antitumoral evidente en las células resistentes. No hubo efectos en células normales, teniendo así un nanoalimento con un uso potencial en la terapia anticancerígena.

Referencias
 1.-Dong LF, Grant G, Massa H, Zabolava R, Akporiaye E, and Neuzil J. α -Tocopheryloxyacetic acid is superior to α -tocopheryl succinate in suppressing HER2-high breast carcinomas due to its higher stability. *Int J Cancer*. 2011 Oct 31. doi: 10.1002/ijc.26489.
 2.-Kline K, Lawson K, Yu W and Sanders B. 2007. Vitamin E and cancer. *Vitamins and Horm* 76:435-461
 3.-Tomassetti M, Strafella E, Staffolani S, Santarelli L, Neuzil J, Guerrieri R. 2010. α -tocopheryl succinate promotes selective cell death induced by vitamin k3 in combination with ascorbate. *Brit J Cancer* 102:1224-1234.
 4.-Ou S, Yang H, Ren D, Kan S, Zou G, Li D, Li M. *J Coll Int Sci* 215 (1999) 190-195.
 5.-Yu W, Jia L, Park SK, Li J, Gopalan A, Simmons-Menchaca M, Sanders BG and Kline K. 2009. Anticancer actions of natural and synthetic Vitamin E forms: RRR- α -tocopherol blocks the anticancer actions of γ -tocopherol. *Mol Nut Food Res*. 53:1573-1581
 6.- Zhang Y, Kohler N, Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. *Biomaterials* 23 (2002) 1553-1561