



# METABOLITOS DE ORIGEN MARINO EN LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER



Thalía Opalo Macías Camacho, Norma Luna Angelica, Benny Weiss Steider y Rosalva Rangel Corona.

Laboratorio de Oncología Celular de la Unidad de Investigación de Diferenciación Celular y Cáncer Facultad de Estudios Superiores Zaragoza/ Universidad Nacional Autónoma de México

Dirección de correspondencia: Batalla 5 mayo s/n Col. Ejercito de Oriente

C.P. 09230 Alcaldía Iztapalapa México Ciudad de México.

Proyecto financiado por el Programa PAPIIT, DGAPA, UNAM

IN-222118

## Resumen

Los efectos secundarios adversos causados por los agentes antineoplásicos han motivado el estudio de bioactivos de origen marino debido a las características que presenta su ecosistema, los cuales entre otros tienen efecto antiproliferativo en cáncer; las algas del género *Sargassum* presentan metabolitos con efectos antitumorales. En el presente estudio se evaluó el efecto de diversas concentraciones de extractos de *Sargassum hystrix buxifolium* (Chauvi) (SabuCh) en células de la línea celular de cáncer cervicouterino (INBL), a través de la técnica de cristal violeta para evaluar proliferación y determinación de fases de ciclo celular por citometría de flujo. Los resultados muestran que el extracto de SabuCh tiene efecto citostático selectivo sobre células de CaCu arrestándolas en G1.



## Introducción

La mayoría de los tratamientos para el cáncer provocan efectos secundarios adversos para los pacientes, debido a ello; la investigación de tratamientos basados en productos de origen natural.

Entre los organismos que presentan estos bioactivos se encuentran las algas, que presentan diversos metabolitos como fucoxantinas, polifenoles, entre otros. De la gran biodiversidad que presentan las algas, el género *Sargassum* ha sido estudiada por su acción antiproliferativa en estudios para diversos tipos de cáncer, en particular el cáncer cervicouterino (CaCu). *Sargassum hystrix buxifolium* (Chauvi) es una alga endémica de litorales mexicanos, la cual se encuentra adherida a los peñascos. SabuCh presenta en sus metabolitos fucoxantinas las cuales han sido reportadas con acción anticancerígena.

**Objetivo:** El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de distintas concentraciones de los extractos de SabuCh sobre células de la línea celular de CaCu (INBL)

## Metodología

Material biológico:

Los ejemplares de *Sargassum hystrix buxifolium* Chauvin (SabuCh) fueron recolectados en el Golfo de México, Estado de Veracruz. Una vez colectadas se fijaron con etanol al 70% y se guardaron en bolsas con cierre hermético etiquetadas para su posterior revisión taxonómica. La determinación taxonómica fue realizada en el Herbario de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (Dra. Alejandrina Ávila Ortíz)

Los ejemplares fueron secados y macerados para obtener el extracto acuoso con éter de petróleo, el extracto crudo fue fraccionado por medio de la técnica de cromatografía en capa fina utilizando como acetato de etilo-cloroformo (3:7). La cromatografía en columna separó los pigmentos del extracto en 20 fracciones.

Los cultivos se mantuvieron en condiciones de incubadora estándar. Se determinó la IC50, en las células (CALO e INBL) que se cultivaron en placas de 96 pozos, colocándose  $1 \times 10^4$  células con 100  $\mu$ l de medio RPMI 1640 al 10% de SFB y 100  $\mu$ l de la dilución del extracto de SabuCh en cada pozo, el control fue en ausencia de tratamiento. De los 20 eluatos obtenidos, se llevaron a cabo diferentes diluciones con RPMI 1640 (1:500, 1:1000, 1:1500 y 1:2000), utilizándose como vehículo DMSO. La evaluación se realizó después de 96 h de cultivo por la técnica de tinción con cristal violeta.

La cinética de Proliferación Celular fue evaluada en presencia y ausencia de la fracción 2 en los cultivos celulares, fracción más activa del extracto de SabuCh, se cultivaron  $1 \times 10^4$  células por pozo en placas de 96 pozos por 9 días, el vehículo del extracto fue DMSO como control. La evaluación de la proliferación se realizó por la técnica de cristal violeta cada 48 horas hasta los 9 días. Se determinó el ciclo en el cual las células eran arrestadas durante el ciclo

## Resultados

### Cinéticas de Proliferación

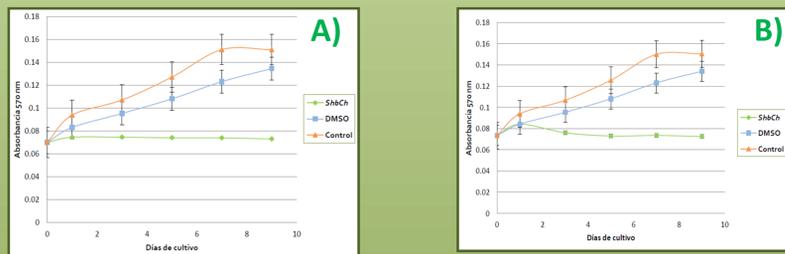


Figura 3. Cinéticas de proliferación de las líneas celulares CALO e INBL. Verde: Células cultivadas en presencia de extracto SabuCh; Naranja: Cinética de proliferación de células cultivadas en ausencia del extracto de SabuCh; Azul: Células cultivadas en presencia de DMSO. a) Cinética de proliferación de la línea celular CALO, se observa una disminución de la proliferación desde las 24 horas en las células cultivadas en presencia de SabuCh. b) Cinética de la línea celular INBL, se muestra una disminución de la proliferación a partir de las 48 horas en las células cultivadas en presencia de SabuCh.

### Proliferación de células de CaCu

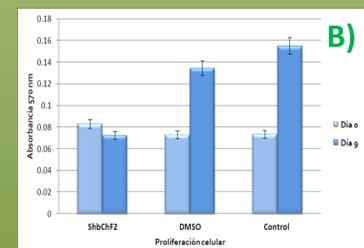
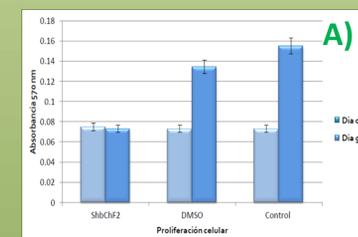


Figura 4. Proliferación de las células de CaCu. a) Línea celular CALO cultivada en presencia y ausencia del extracto de SabuCh, se puede observar una disminución en la proliferación de los cultivos de células en presencia del extracto de SabuCh después de los 9 días de cultivo en comparación con los cultivos en ausencia de SabuCh, así como de aquellos en presencia del vehículo de dilución (DMSO). b) Línea celular INBL cultivada en presencia y ausencia del extracto de SabuCh, se muestra una disminución en la proliferación de los cultivos de células en presencia del extracto de SabuCh después de los 9 días de cultivo en comparación con los cultivos en ausencia de SabuCh así como de aquellos en presencia del vehículo de dilución (DMSO).

### Determinación de fases de ciclo celular

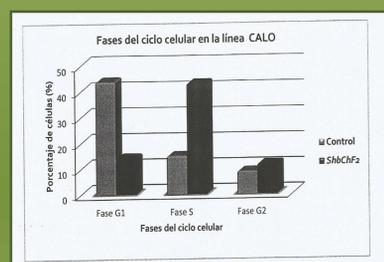
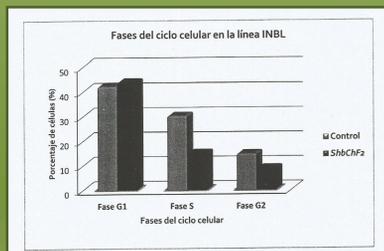


Figura 5. Representación de las fases del ciclo celular en células de CaCu la línea celular INBL en presencia y ausencia de SabuCh; representación porcentual de células en fase G1 donde aumenta al ser cultivadas en presencia del extracto SabuCh.

Figura 6. Representación de las fases del ciclo celular en células de CaCu la línea celular CALO en presencia y ausencia de SabuCh; representación porcentual de células en fase S donde aumenta 2-5 veces y en G2/M 0.34 veces al ser cultivadas en presencia del extracto SabuCh.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos del presente estudio muestran que el extracto de *Sargassum Buxifolium* Chauvi (SabuCh) actúa como agente citostático sobre la proliferación celular de células de CaCu (INBL y CALO, con arresto celular diferencial del ciclo dependiente del estadio).

## Referencias

- OPS. México perfil epidemiológico de cáncer. 2013.
- Ireland B, Foster M, Mc Donald L, Radisky D, Swersey J. Biomedical potencial of marine natural products. In: Altaway D, Zaborosky O, editors. Marine biotechnology, vol 1, pharmaceutical bioactive natural products. New York: Plenum Press; 1993.
- Amico V, Consulo F, Neri P, Piatelli M. Antimicrobial tetrapenylnolquinol derivatives from *Cystosera spynosa* var. *Squarrosa*. *Phytochemistry*. 1988;27.
- Stella Mary J, Vinotha P. Screening in vitro cytotoxic activity of seaweed, *Sargassum* sp. Against Hep-2 and MCF-7 cancer cell lines. *Asian Pac J cancer prev*. 2012;13.
- Luna N. Determinación de las fases de ciclo celular de líneas de carcinoma de cérvix CALO e INBL cultivadas en presencia del extracto de *Sargassum buxifolium* Chauvin. UNAM; 2010.
- Zorrilla Garcia AE, Mayte EI, Izquierdo éposito M. Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. *Rev Cuba Invest Bioméd*. 2004;23(Supl 1).