

## Aportaciones al mecanismo de acción de nanopartículas de plata estabilizadas con *Mentha spicata* y citrato con actividad anticancerígena

Yuridia Torres<sup>a</sup>, Israel López<sup>b</sup>, Isaías Balderas<sup>a</sup>, Eder Arredondo<sup>a</sup>, Patricia González<sup>a</sup>, Mónica Ramírez<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Ingeniería Genética y Genómica, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México

<sup>b</sup>Laboratorio de Materiales I, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

\*E-mail de autor responsable: monica.ramirez@uanl.edu.mx

**Palabras clave:** Nanopartículas, *Mentha spicata*, citrato, especies reactivas de oxígeno, caspasa-3, microarreglo.

### Introducción

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial debido al incremento en el número de casos y a fármacos anticancerígenos no eficaces, poco selectivos y además con diversos efectos adversos graves, se considera importante la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos, lo que ha provocado en años recientes el surgimiento de ciencias como la nanotecnología con aplicaciones en el área de la salud, en donde se emplean nanomateriales como lo son las nanopartículas metálicas (con un diámetro menor a 100 nm). Las nanopartículas son sintetizadas por diversos métodos destacando el de química verde con extractos acuosos de plantas y reducción química, en ambas se ha evaluado la actividad anticancerígena y citotóxica encontrando resultados prometedores por lo que se considera de importancia seguir sintetizando, evaluando, elucidando el mecanismo de acción y comparando los efectos entre ambas nanopartículas.<sup>1-2</sup>

### Parte Experimental

La evaluación de la producción de especies reactivas de oxígeno se realizó mediante la prueba de diacetato de diclorofluoresceína sobre las líneas celulares de hígado de Chang y cáncer de cérvix (SiHa), en un rango de concentración de 200 a 3.12 μg/mL de nanopartículas de *Mentha spicata* y citrato, como control positivo se usó xantina oxidasa y el control negativo fue células con medio, este ensayo se realizó por triplicado.<sup>3</sup>

La determinación de la inducción de apoptosis por la actividad de la caspasa-3 se realizó empleando el Kit EnzChek de Molecular Probes usando la línea celular SiHa la cual se expuso a las nanopartículas *Mentha spicata* y citrato, en una concentración de 12.20 μg/mL, el control positivo fue la podofilotoxina en igual concentración, como control negativo se empleó células con medio, este ensayo se realizó por triplicado.

El microarreglo se realizó en la línea celular SiHa en dos condiciones experimentales diferentes a un mismo tiempo, en la primera la línea celular fue expuesta a las nanopartículas *Mentha spicata* y citrato en una concentración de 12.20 μg/mL y en la segunda las células se emplearon como control negativo, ambas se incubaron 24 horas, posteriormente se hizo la extracción de RNA de forma convencional, se sintetizó el DNA complementario marcándolo con los fluoróforos correspondientes para posteriormente hibridarlo en el microarreglo, escanearlo y realizar la interpretación de los resultados, este ensayo se realizó en un único experimento.<sup>4</sup>

### Resultados y discusión

En el ensayo para la producción de especies reactivas de oxígeno en la línea celular de hígado de Chang y de cáncer de cérvix por ambas nanopartículas se obtuvo en ambos una mínima producción de especies reactivas que en comparación con el control xantina oxidasa, la cual en concentraciones menores y a tiempos cortos era mayor que las producidas por ambas nanopartículas a altas concentraciones y a tiempos de exposición mayores en ambas líneas celulares, se observó también una mayor producción para el control negativo en comparación de las nanopartículas en las dos líneas celulares, como se puede apreciar en el gráfico 1.

Se realizó el análisis estadístico de ANOVA y se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las nanopartículas y la xantina oxidasa por lo que se realizó la prueba estadística de Tukey para encontrar que grupos eran diferentes y se encontró diferencia entre la nanopartícula *Mentha spicata* y la xantina oxidasa y entre la nanopartícula de citrato y la xantina oxidasa, esto fue para las dos líneas celulares empleadas.

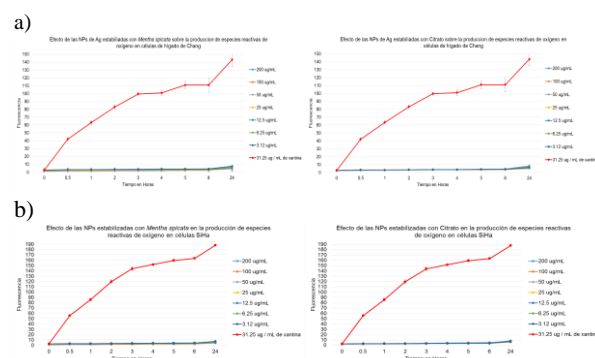


Gráfico 1. Gráficos de la producción de especies reactivas de las nanopartículas en: a) hígado de Chang y b) SiHa.

En cuanto a la inducción de apoptosis por la actividad de la caspasa-3 se obtuvo una mínima producción que puede apreciarse por una baja cantidad en la intensidad de fluorescencia la cual fue de 0.008 para la nanopartícula *Mentha spicata*, de 0.004 para la nanopartícula de citrato en comparación con los resultados del control positivo que fue de 0.152 y de 0.078 para el control negativo como se observa en el gráfico 2.

Se realizó el análisis estadístico de ANOVA y se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las nanopartículas y la podofilotoxina por lo que se realizó la prueba estadística de

Tukey para saber que grupos eran diferentes y se obtuvo había diferencia entre la nanopartícula de *Mentha spicata* y la podofilotoxina y entre la nanopartícula de citrato y la podofilotoxina.



Gráfico 2. Inducción de la apoptosis por actividad de la caspasa-3.

En el análisis del patrón de expresión génica para la nanopartícula estabilizada con *Mentha spicata* se obtuvieron 158 genes reprimidos afectando 31 vías metabólicas y 232 genes sobreexpresados afectando 21 vías metabólicas.

En la nanopartícula estabilizada con citrato se obtuvieron 162 genes reprimidos afectando 26 vías metabólicas y 255 genes sobreexpresados afectando 24 vías metabólicas.

En las vías que fueron reprimidas se encontró la de apoptosis e investigando más en esa vía afectada se encuentra que el gen para la caspasa-3 está reprimido y junto con los resultados obtenidos en la inducción de apoptosis por la actividad de la caspasa-3 para ambas nanopartículas podemos confirmar que el mecanismo de acción por el cual ejercen su efecto no es por apoptosis por caspasa-3, en el caso de las especies reactivas de oxígeno seguimos buscando una vía que se encuentre relacionada con los resultados.

## Conclusiones

La nanopartícula sintetizada con *Mentha spicata* presenta actividad citotóxica muy similar a la sintetizada con citrato, sus mecanismos de acción por medio del cual ejercen su efecto no se encuentran asociados a la producción de especies reactivas de oxígeno, así como tampoco existe asociación con la inducción de apoptosis por la actividad de la caspasa-3, los resultados obtenidos en estos dos ensayos pueden ser debidos a un proceso normal de la célula ya que en comparación con el control negativo las cifras se encuentran por debajo. Los resultados obtenidos en el microarreglo se continúan revisando para obtener más información sobre el posible mecanismo de acción.

## Referencias

1. Ramírez C, MA. Evaluación de la cinética de distribución y toxicidad de las nanopartículas de plata. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, Agosto de 2010.
2. Zanella R.; Mundo Nano 2012, 5, 69-81.
3. Bass, D. A.; Parce, J. W.; Dechatelet, L. R.; Szejda, P.; Seeds, M. C.; Thomas, M. J Immunol 1983, 4, 1910-1917
4. Arredondo, E. Síntesis de porfirinas y metaloporfirinas no simétricas funcionalizadas con L-Glutamato y evaluación de sus propiedades fotodinámicas y anticancerígena. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, Septiembre de 2014