XIX Verano de Investigación

Función de los canales de potasio Ether a go go en células cancerosas y no cancerosas asociadas a Osteosarcoma

Ramírez-Salinas OR[1], Rosendo-Pineda MJ[1], Rivera HM[1].
[1]Laboratorio de Tecnología de Proteínas de Membrana, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Mail: m2mrivera@uaem.mx

INTRODUCCIÓN

OSTEOSARCOMA: dentro de los diferentes tipos de cáncer encontramos al osteosarcoma (OS), el más frecuente de los tumores malignos primarios de hueso, provoca una mortalidad de alrededor del 50% de los pacientes en menos de un año. Este tipo de cáncer se puede presentar en cualquier hueso (Fig. 1A), es más frecuente en adolecentes y niños[2].

La mayoría de los distintos tipos de cáncer, incluyendo OS, no cuentan con biomarcadores (BMs), sustancias presentes en el cuerpo humano que pueden ser medibles y útiles como indicadores de un proceso biológico normal o patológico. Con ellos se busca la detección oportuna de la enfermedad, su cura o su pronóstico.

El difícil diagnóstico del OS se debe a que el síntoma más frecuente es el dolor óseo, muy común en etapas de desarrollo[3].

En México actualmente no se utiliza el mapeo genómico de manera rutinaria, no obstante, en Estados Unidos y países de Europa, sí se realiza este test.

ANTECEDENTES

Canales Iónicos Activados por Voltage (VGICs): Hallazgos recientes, han descrito biomarcadores en otros tipos de cáncer, donde encontramos a los **canales iónicos activados por voltaje** (VGICs por sus siglas en inglés), relacionados con cáncer de próstata, mama, pulmón, colon, ovario, cérvix, entre otros[4].Los VGICs son proteínas transmembranales que forman poros para el flujo selectivo de iones a través de la membrana celular en respuesta a estímulos de voltaje (Fig. 1C y D). Participan en diversos procesos mediados eléctricamente como regulación hormonal en células endócrinas, señalización eléctrica en neuronas, contracción en miocitos cardiacos y de músculo-esqueleto, etcétera[5].

Canales ether a gogo: Esta subfamilia de canales de potasio activados por voltaje se han postulado como oncogenes, en especial los nombrados *eag*1 y *eag2*, ya que al estar sobreexpresados favorecen el desarrollo del cáncer[6].

OBJETIVOS

General

-Describir la importancia de los canales iónicos activados por voltaje en células de osteoblastos sanos y de osteosarcoma.

Particulares

-Realizar una revisión bibliográfica para describir la relación entre los VGICs y el cáncer.

-Adquirir e implementar las condiciones de cultivo para líneas celulares de osteoblastos no cancerosos hFOB1.19 y de osteosarcoma Saos-2 y SJSA-1.

-Adquirir e implementar las condiciones de registro para las líneas celulares de osteoblastos no cancerosos hFOB1.19 y de osteosarcoma Saos-2 y SJSA-1.

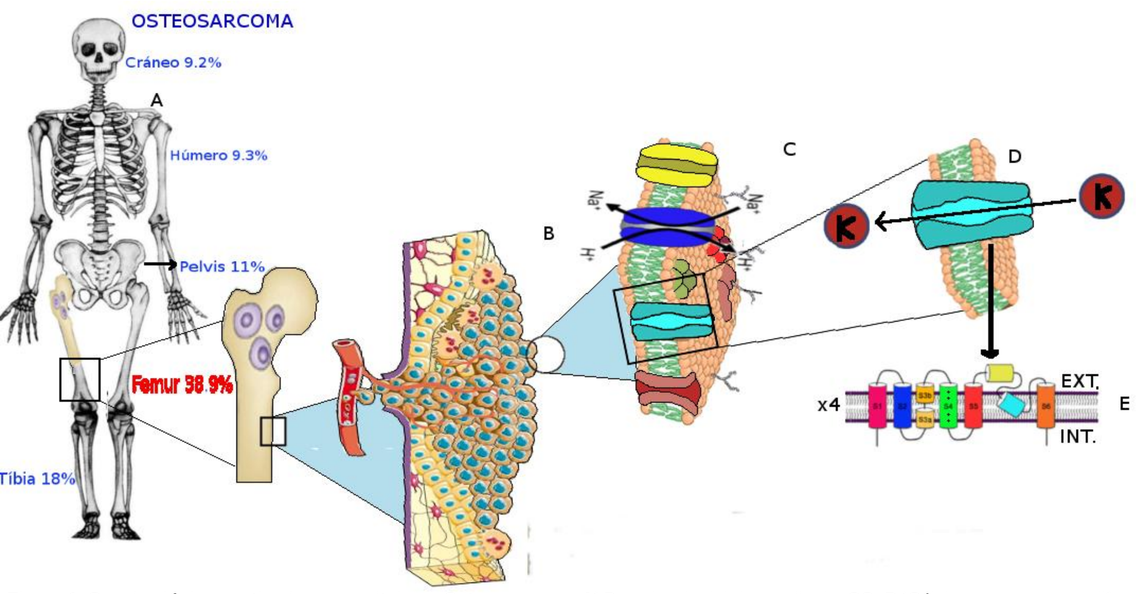

Figura 1. Canales iónicos activados por voltaje en Osteosarcoma. ***A)*** Prevalencia del desarrollo del OS. ***B)***Células cancerosas proliferan e interactúan con el resto de células presentes en hueso. Se observa la transición epitelio-mesénquima y la ruptura de la membrana basal, procesos que permiten la invasión y metástasis. ***C)*** Porción de membrana de célula cancerosa que presenta canales iónicos activados por voltaje, en amarillo selectivos a calcio, en rojo selectivos a sodio y en turquesa selectivos a potasio, además se muestra intercambiador tipo 1 de iones sodio e hidrogeniones, se ha propuesto como acidificador del pH perimembranal favoreciendo la migración. ***D)*** Canal ether a go go en membrana. ***E)*** Diagrama topológico del canal *eag1*, se ilustra un sólo dominio con sus seis segmentos transmembranales (S1-S6).

JUSTIFICACIÓN

Este tipo de cáncer, ocupa el quinto lugar de los distintos tumores malignos en la infancia. En México hay alrededor de 300 casos por año, presentándose el 60% en individuos de entre 10 y 20 años. Sabemos que la expresión de los canales iónicos activados por voltaje está asociada con aspectos cruciales en el desarrollo de algunos tipos de cáncer por lo que resulta importante identificar dichos canales en células de OS.

HIPÓTESIS

Se ha demostrado que existe la relación entre la función de los canales iónicos activados por voltaje y la proliferación del osteosarcoma (Wu *et al* 2012, 2013 y 2014). Más aún, ¿existe una diferencia funcional de estas proteínas entre células sanas y enfermas? Por lo anterior se espera que pueda existir un papel diferencial de la localización de los canales activados por voltaje entre células de osteoblastos normales y células anormales de hueso.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Cultivo de líneas celulares

Para este estudio se emplearon tres líneas celulares, hFOB1.19, Saos-2 y SJSA-1, obtenidas de ATCC® (American Type Culture Collection).

Línea celular hFOB1.19

Línea celular Saos-2

Línea celular SJSA-1

b) Registros electrofisiológicos

Equipo de electrofisiología

El sistema de registro (set up) consistió en un amplificador modelo Axopatch 200B conectado a una interfase Digidata 1322 A/D,

Soluciones internas y externas para los registros electrofisiológicos

Solución externa (en mM): 156 NaCl, 5 KCl, 2 $CaCl_2$, 1 $MgCl_2$, 10 HEPES, pH de 7.4 ajustado con CsOH y osmolaridad final de 314 mOsm.

Solución interna (en mM): 107 KCl, 30 NaCl, 2 $CaCl_2$, 1 $MgCl_2$, 10 EGTA, 10 HEPES,pH 7.3 ajustado con CsOH y osmolaridad final de 291 mOsm.

Revisión bibliográfica y generación de imágenes

Para la revisión de artículos científicos se emplearon motores de búsqueda en bases de datos como PubMed, Science Direct, Gene2MeSH, Bases de datos poblacionales como ENSANUT e INEGI.

Para la elaboración de la figura 1 se utilizó el software de edición de imágenes Gimp/GNU el cual se corrió desde un sistema operativo Linux con una distribución Fedora 23.

Resultados

Una vez que se alcanzó, en los cultivos de las 3 líneas celulares, una confluencia cercana al 90% se realizó ensayos de electrofisiología con la técnica de *patch clamp* en configuración de célula completa. Utilizando soluciones interna y externa que contenían potasio (ver material y métodos), se obtuvieron registros de corrientes de potasio en las tres líneas (Figuras 2 A, B y C).

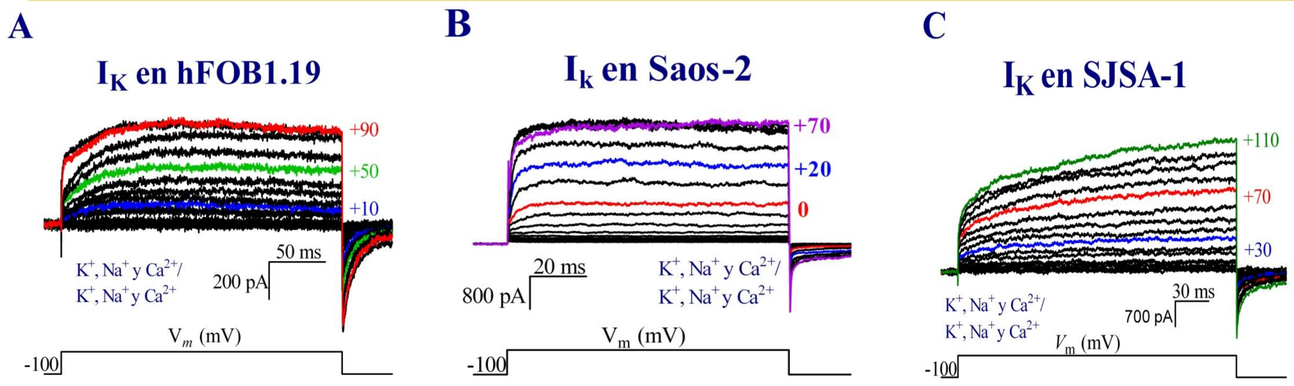

Figura 2. Corrientes de potasio en osteoblastos sanos y osteoblastos cancerosos. ***A)***Trazos de corriente generados por canales de potasio activados por voltaje en hFOB1.19, obtenidos en respuesta a pulsos despolarizantes desde -70 a +90 mV, en pasos de 10 mV. ***B)*** Trazos de corriente generados por K_v'sen Saos-2, obtenidos en respuesta a pulsos despolarizantes desde -70 a +70 mV, en pasos de 10 mV. ***C)*** Trazos de corriente generados por K_v'sen SJSA-1, obtenidos en respuesta a pulsos despolarizantes desde -70 a +110 mV, en pasos de 10 mV

Discusión y conclusiones

Se realizó una revisión bibliográfica del papel de los VGICs en el desarrollo del cáncer (Fig. 1), adicionalmente se demostró la presencia de los canales de potasio activados por voltaje en la membrana de osteoblastos normales, hFOB1.19, y de osteoblastos cancerosos, Saos-2 y SJSA-1 (Fig. 2). Los trazos de corriente obtenidos son únicamente representativos. Con base en los reportes de Wu y colaboradores en 2012, 2013 y 2014 se especula que la amplitud de corriente de las células de OS debería ser mayor con respecto a la amplitud de osteoblastos sanos. Por otro lado, se debe tener en cuenta que el mRNA de estos canales o la proteína misma puede estar aumentada, sin aumentar el número de canales en la membrana, ya que como lo han sugerido Wu y colaboradores en 2012, los K_v's se encuentran principalmente en zonas perinucleares y no membranales. Lo anterior alienta a realizar un mayor número de estudios sobre estos canales y el desarrollo del cáncer. La relación funcional de estas proteínas y el cáncer abarca desde su expresión funcional hasta la dinámica del transporte de iones. Se requiere un esfuerzo mayúsculo para continuar obteniendo claves, a través de los estudios que se realizan en los laboratorios de investigación biomédica, tanto a nivel internacional como en el país.

BIBLIOGRAFÍA: 1) http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003129-pdf.pdf 2) Arndt *et al.* N Engl J Med 1999; 341:342–52. 3) Krzeszinski & Wan. Cell 2015 4)Le Guennec *et al*. Recent Pat Anticancer Drug Discov 2007; 2:189-202. 5) Catterall *et al*. Pharmacol 2003; 55:579-581. 6) Pardo & Stûhmer. Exp Opin Ther Targets 2008; 12:837-843.