

2017 Octubre, 7(1): 1-1

## **EUCALIPTOL (1,8-CINEOLE) INHIBE LA PROLIFERACIÓN DE CELULAS TUMORALES MEDIANTE ARRESTO DEL CICLO CELULAR, ESTRÉS OXIDATIVO, ACTIVACIÓN DE MAPKs E INHIBICIÓN DE AKT**

Rodenak-Kladniew Boris<sup>1,2</sup>, Castro Agustina<sup>1,3</sup>, Crespo Rosana<sup>1,2</sup>, García de Bravo Margarita<sup>1,2</sup>.

(1) INIBIOLP (UNLP-CONICET CCT La Plata). Fac. de Cs. Médicas, UNLP.

(2) Cátedra de Biología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

(3) Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

[brodenak@med.unlp.edu.ar](mailto:brodenak@med.unlp.edu.ar)

### **Introducción**

En la actualidad, el uso biomédico de productos naturales derivados de plantas juega un rol fundamental. Muchos aceites esenciales poseen actividad farmacológica que proviene de sus constituyentes mayoritarios, entre ellos los monoterpenos. 1,8-cineole es un monoterpeno cíclico, componente mayoritario del aceite esencial de eucalipto (>90%) que ha demostrado poseer propiedades antibacteriales, antiinflamatorias y antitumorales entre otras. El efecto antitumoral de 1,8-cineole sobre células tumorales hepáticas y pulmonares fue reportado previamente por nuestro grupo, sin embargo, el conocimiento de los mecanismos de acción involucrados que permita identificar su blanco terapéutico es importante al momento de considerar un compuesto como potencial agente antitumoral y potenciar su actividad en combinación con drogas que actúen a otros niveles.

### **Objetivos**

Analizar los mecanismos moleculares responsables de la actividad antitumoral de 1,8-cineole sobre células tumorales humanas, considerando su efecto sobre el ciclo celular, apoptosis, generación de especies reactivas del oxígeno (EROS) y vías de señalización MAPKs (ERK, p38) y Akt/mTOR, involucradas en la proliferación y supervivencia celular y activadas en respuesta a estrés oxidativo.

### **Materiales y métodos**

Se utilizaron células HepG2 (Hepatocarcinoma Celular) y A549 (Adenocarcinoma Pulmonar) como modelos de células tumorales humanas. En base a resultados previos del efecto antiproliferativo de 1,8-cineole en ambas líneas celulares se seleccionaron concentraciones óptimas para cada ensayo en el rango de 0-10 mM. Se analizó ciclo celular por citometría de flujo (incorporación de Ioduro de Propidio). Se emplearon diferentes métodos para determinar apoptosis (TUNEL, actividad de caspasa-3, Western Blot), se determinó generación EROS mediante microscopía de fluorescencia empleando una sonda apropiada (DCFH-DA) y el efecto 1,8-cineole sobre la proliferación celular en presencia de antioxidantes (vitaminas C y E).

Se realizaron ensayos de Western Blot para evaluar proteínas del ciclo celular (CDK, ciclinas e inhibidores del ciclo), apoptosis (caspasa-3 y PARP) y proteínas quinasas ERK, p38, Akt y p70S6K.

### **Resultados**

Se produjo un arresto del ciclo celular a expensas de una disminución en los niveles de Cdk4 y ciclina A y un aumento del inhibidor p27. A concentraciones donde se inhibe un 50% la proliferación (IC50) no se observan indicios de apoptosis. Sólo a concentraciones altamente citotóxicas (IC80-90) se evidenció fragmentación del ADN mediante la técnica de TUNEL (apoptosis/necrosis). 1,8-cineole produjo una inducción de la producción de EROS mientras que el agregado de antioxidantes previo al tratamiento con 1,8-cineole revirtió significativamente el efecto citotóxico. El análisis de proteínas quinasas en células HepG2 mostró una inhibición de Akt a concentraciones moderadas, mientras que a concentraciones elevadas se produce una fuerte inducción de la actividad de ERK y p38, proteínas activadas por estrés oxidativo involucradas en la proliferación y supervivencia celular.

### **Conclusiones**

El arresto del ciclo celular en fase G0/G1 es el principal mecanismo antiproliferativo de 1,8-cineole sobre células HepG2 y A549, mientras que sólo se evidenció apoptosis/necrosis a concentraciones altamente citotóxicas. La inducción de EROS es responsable, al menos en parte, del efecto antiproliferativo promovido por 1,8-cineole. La inhibición de Akt, junto con la inhibición de Cdk4, ciclina A e inducción de p27 en células HepG2 inducen el arresto observado en fase G0/G1. A concentraciones elevadas, p38 y ERK se activan en respuesta a niveles elevados de EROS, probablemente cumpliendo un rol de supervivencia.