

2010 Octubre, 2(1): 1-

APOPTOSIS DE CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES HUMANAS POR ACCIÓN DEL ISOESPINTANOL Y COMPUESTOS RELACIONADOS

Dade, M¹; Rojano, B²; Tournier, H¹; Schinella, G¹.

¹Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Cs Médicas-UNLP. CIC-Pcia. Buenos Aires, La Plata, Argentina. ²Lab. de Ciencias de los Alimentos. Universidad Nacional de Colombia (sede Medellín), Colombia.

E-mail: martindade26@hotmail.com.ar

Introducción

La apoptosis espontánea de leucocitos polimorfonucleares (PMN) es un proceso fundamental para el mantenimiento de niveles normales de células circulantes asegurando de esta manera la resolución de las respuestas inflamatorias. Previamente habíamos demostrado que el isoespintanol (2-isopropil-3,6-dimetoxi-5-metilfenol), un compuesto aislado de las hojas de *Oxandra cf. xylopioides*, posee actividad antiinflamatoria por un mecanismo que involucra la inhibición de IL-1 β .

Objetivos

En este trabajo se evaluó la citotoxicidad del isoespintanol (1) y dos derivados del mismo, el bromuro de isoespintanol (2) y el desmetil isoespintanol (3) sobre PMN

Materiales y métodos: Se aislaron PMN de sangre de donantes sanos mediante centrifugación en gradiente de Ficoll-Paque. Los PMN se incubaron en presencia de los compuestos citados a 37 °C durante 3 horas en medio PBS completo. Los estudios de citotoxicidad se llevaron a cabo utilizando los ensayos de MTT (actividad mitocondrial) y de exclusión del Ioduro de propicio (IP). Mediante ensayos con citometría de flujo (Annexina V-FITC) y Ioduro de propicio se determinó la naturaleza de la citotoxicidad.

Resultados

Los compuestos (2) y (3), a 100 μ g/mL disminuyeron la viabilidad celular en 40% y 25% respectivamente al cabo de 3 horas de incubación. En el ensayo de exclusión solo el compuesto (3) mostró actividad necrótica (IP⁺: 31% vs. 7% del control, P<0.01).

La naturaleza de la citotoxicidad se evaluó mediante citometría de flujo utilizando diferentes métodos: exposición de la fosfatidil serina de membrana por unión de Annexina V-FITC y b) el desarrollo de núcleos hipodiploides por IP.

Mientras solo una proporción pequeña de PMN sin tratamiento o tratadas con (1) sufrieron apoptosis, la proporción fue muy alta para aquellas células tratadas con (2) (An⁺/ IP⁻ : 62% vs. 2% del control, P<0.01). (2) aumentó el desarrollo de núcleos apoptóticos (39% vs. 12% del control). Cuando el tratamiento incluyó la presencia de un inhibidor de caspasas (z-VAD-fmk), la degradación del ADN se redujo significativamente.

Conclusiones

Los resultados sugieren que el bromuro de isoespintanol induce apoptosis de PMN por un mecanismo parcialmente mediado por activación de caspasas.