



Universidad Autónoma Metropolitana



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA SALUD
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA.

Informe de actividades del servicio social:

Evaluación del flujo glucolítico en células de cáncer pulmonar H292 cultivadas con alta glucosa +/- la quimiocina SDF-1 y su posible efecto en la resistencia a la muerte por apoptosis.

Alumno: Erika Vianet Durán Hernández

Asesor externo:

Dra. Selma Celina Rivas Fuentes.

Asesor interno:

M.C Felipe Mendoza Pérez

Lugar de realización: Departamento de investigación en bioquímica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER).

Periodo de realización: 11 de octubre de 2018 a 11 de abril de 2019

Fecha de Entrega: 27 de Septiembre de 2019

Índice

MARCO TEÓRICO	2
Cáncer	2
Cáncer de pulmón	2
Metabolismo energético	3
El eje molecular SDF-1/CXCR4	4
OBJETIVO GENERAL	6
Objetivos específicos	6
DESARROLLO EXPERIMENTAL	6
1. Cultivo celular.....	6
1.1 Subcultivo celular.....	7
2. Condiciones experimentales.....	8
2.1. Sembrado en placa de 12 pozos.	8
2.2. Stocks de glucosa 1M. (5.5 mM, 6mM,8.5 mM y 11 mM).....	8
2.3. Diluciones.	8
2.4. Estimulación.	9
3. Recuperación de medios condicionados.	9
4. Determinación de piruvato por colorimetría.	10
4.1. Filtración.....	10
4.2. Curva estándar de piruvato.....	10
4.3. Ensayo de reacción: Piruvato.....	11
4.4. Protocolo de placa.....	11
Resultados.	12
Bibliografía.	15

MARCO TEÓRICO

Cáncer

El cáncer se define como una enfermedad en la cual las células se multiplican sin control y de manera independiente, invadiendo así de manera local y a distancia los tejidos (Garza, 2006).

La carcinogénesis es un proceso complicado, el cual requiere la eliminación de distintas barreras impuestas por las células, como la apoptosis (muerte celular programada), las respuestas celulares antiproliferativas y la senescencia. Esto puede ocurrir debido a mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores (Bartkova et al., 2006; Luo J et al., 2009). Adicionalmente, la mayoría de las células tumorales presentan una alteración en el metabolismo de la glucosa, comparadas con las células normales, estas incrementan su glucólisis y por lo tanto que su captación de glucosa sea mayor (Valle & Soto, 2014).

Cáncer de pulmón

En la actualidad el cáncer pulmonar es el más frecuente en el mundo. En 1996 fue la principal causa de muerte en hombres y mujeres en los Estados Unidos de América (EUA). Su frecuencia ha aumentado y se estima que el año 2025 el número de decesos incrementara hasta un 80%. (Medina, 2000)

La complejidad morfológica del cáncer de pulmón ha llevado a su división en dos grandes grupos, con varios subtipos histológicos: Cáncer de Pulmón de células pequeñas (CPCP) y Cáncer de Pulmón de células no pequeñas (CPCNP). (Vinuesa, 2017; Spira, 2004)

El carcinoma mucoepidermoide de pulmón una neoplasia maligna epitelial poco frecuente, entra dentro del grupo de carcinoma de tipo glándulas salivales. Se origina de las glándulas serosas del epitelio traqueobronquial, y se caracteriza porque su masa tumoral presenta células epidermoides, mucosecretantes, y células intermedias. (Orozco, 2000)

Metabolismo energético

La célula en condiciones normales produce trifosfato de adenosina (ATP), el cual requiere para cubrir sus necesidades mediante dos procesos metabólicos acoplados. El primero es un proceso denominado glucólisis, en donde la glucosa es introducida a la célula a través de transportadores de glucosa y en el citosol es metabolizada a piruvato; este proceso produce dos moléculas de ATP.

En las células normales el piruvato producido por la glucólisis es transportado a la matriz mitocondrial, donde con ayuda del complejo enzimático piruvato deshidrogenasa (PDH) es convertido en acetil-CoA. La molécula de acetil-CoA entra al ciclo de Krebs, durante este proceso se produce NADH y FADH₂, estas moléculas entran a la cadena respiratoria y son oxidadas. Estos procesos son muy eficientes para la generación de ATP, la oxidación completa de una molécula de glucosa genera 36 moléculas de ATP (38 si se incluyen los 2 ATPs producidos por la glucólisis) (Mendiola & Soto, 2014). Mediante estos mecanismos se obtiene alrededor de 90% de la energía necesaria para el funcionamiento de las células normales (Casado, 2009)

Las células de cáncer incrementan el consumo de glucosa, produciendo mayor número de metabolitos glucolíticos y moléculas de ATP. La mayoría del piruvato generado durante la glucólisis es convertido en lactato en el citoplasma por acción de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) y es secretado en vez de ser oxidado en la mitocondria (Mendiola & Soto, 2014).

Si la cadena respiratoria no funciona adecuadamente como lo es en las células tumorales, la cantidad de oxígeno es limitada y el metabolismo oxidativo disminuye por lo que la oxidación del NADH+H⁺ no ocurre y el piruvato se reducirá hasta lactato. Es por esto por lo que el paso de piruvato a lactato es un punto crítico en el metabolismo de las células cancerosas (Mendiola & Soto, 2014).

El cambio en el metabolismo de estas células fue observado en 1924 por Otto Warburg y lo llamo glucólisis o efecto Warburg. Su hipótesis fue que, debido a

defectos en la mitocondria, estos inhibían la capacidad de oxidar de manera efectiva la glucosa a CO₂ (Mendiola & Soto, 2014).

Quimiocinas

Las quimiocinas son una superfamilia de las proteínas solubles similares a las citocinas que se unen y activan a una familia de receptores de quimiocinas. Se han identificado más de 50 quimiocinas y se dividen en 4 familias (CXC, CX3C, CC y C) en base a las posiciones de 4 residuos de cisteína conservados (Ransohoff, 2009). Se sabe que las quimiocinas tienen propiedades quimioatrayentes y son reguladoras de leucocitos en órganos y tejidos. Las quimiocinas CXC son quimioatrayentes y las CC atraen más eficazmente a los monocitos. Dado que las respuestas inflamatorias se inician con la migración de estas células hacia el origen inflamatorio, dirigidas por la acción de las quimiocinas, estas moléculas son altamente importantes en el proceso inflamatorio (Suarez, 2014).

Entre las funciones más importantes de las quimiocinas y sus receptores es la regulación de la metástasis. La diseminación del tumor puede facilitarse debido a los receptores de las quimiocinas pues estos participan en los pasos fundamentales de la metástasis como la adherencia de las células tumorales al endotelio, la extravasación de los vasos sanguíneos, la colonización metastásica, la angiogénesis, la proliferación y la protección de la respuesta del huésped mediante la activación de vías de supervivencia clave (Keeley et al., 2010; Secchiero P et al., 2010; Wright et al., 2005).

El eje molecular SDF-1/CXCR4

La quimiocina SDF-1 (factor 1 derivado de estroma), también llamada CXCL12 pertenece a la sub-familia de quimiocinas CXC. Es expresada en una gran variedad de tejidos, y actúa como molécula quimioatrayente de células hematopoyéticas maduras e inmaduras ^[15,16]. Además, SDF-1 es importante para la localización de células madre hematopoyéticas en la médula ósea también, y puede regular la supervivencia y proliferación celular (Keeley et al., 2010; Secchiero P et al., 2010;

Wright et al., 2005). SDF-1 presenta dos isoformas principales, α y β (Caruz et al., 1998).

SDF-1 se une al receptor CXCR4, el cual es un receptor acoplado a proteínas G heterotriméricas, que presenta siete dominios transmembranales. CXCR4 ha destacado debido a que se expresa en una gran variedad de tejidos, incluidos el sistema inmunitario y el sistema nervioso central, además de que puede mediar la migración de los leucocitos en reposo y los progenitores hematopoyéticos en respuesta al funcionamiento de CXCL12 en una serie de procesos fisiológicos (Zou et al., 1998; Feil & Augustin, 1998; Lazarini et al., 2000).

Cuando SDF-1 se une a CXCR4, se forma un complejo receptor- proteína G el cual inhibe la producción de monofosfato de adenosina cíclica (cAMP) mediada por adenil ciclasa y la movilización de calcio intracelular (Lee et al., 2007; Lu et al., 2009; Princen et al., 2003; Roland et al., 2003)

Se ha demostrado la sobreexpresión de CXCR4 en más de 23 cánceres humanos, dentro de los cuales se encuentran el cáncer de mama, ovario y próstata, así como el melanoma (Balkwill, 2004; Müller et al., 2001; Scotton et al., 2001)

La regulación de la expresión de CXCR4 está dada por el incremento en células malignas de diversos mecanismos. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) induce la expresión de este receptor, y se ha demostrado que la subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia (HIF1A) aumenta para poder inducir VEG (Zagzag et al., 2006). HIF-1 responde a las concentraciones de oxígeno en los tejidos y se ha comprobado que regula el aumento de la expresión de CXCR4. Por esta razón, en las regiones hipóxicas de los tumores en crecimiento, los receptores de quimiocinas podrían aumentar para favorecer la supervivencia y diseminarse a otras partes del cuerpo, formando nuevos tumores. Además de facilitar la metástasis a distancia, HIF-1 induce CXCR4 en los gliomas, provocando una mejor proliferación, invasión local y resistencia a la apoptosis (Zagzag et al., 2006)

MODELO DE ESTUDIO: En el presente trabajo utilizamos como modelo de estudio la línea celular H292, que es una línea celular humana de carcinoma mucoepidermoide de pulmón humana. La cual fue derivada de una metástasis cervical de un mucoepidermoide pulmonar de una mujer de 32 años.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el flujo glucolítico en células de cáncer pulmonar H292 cultivadas con alta glucosa +/- la quimiocina SDF-1, y su posible efecto en la resistencia a la muerte por apoptosis.

Objetivos específicos.

- Aprender la técnica de cultivo celular en células adherentes
- Estimulación de las células en diferentes condiciones de glucosa.
- Recuperación de los medios condicionados por la estimulación.
- Determinación de piruvato y lactato en medios de cultivo condicionados: alta glucosa +/- las quimiocinas de interés.
- Evaluación del rescate a la muerte por apoptosis por estimulación con las quimiocinas de interés en cultivos de alta glucosa

DESARROLLO EXPERIMENTAL

1. Cultivo celular.

Se realizó el descongelamiento de un vial de células H292 en baño maría a una temperatura de 37°C, se transfirieron a un tubo Falcon® con medio DMEM de Gibco® hidratado, baja glucosa, piruvato y rojo fenol como indicador de pH (No. De catálogo 31600034), previamente colocado. Se centrifugó (Centrifuge 5804 R Eppendor) por 5 minutos a 150 g / 900 RPM y temperatura ambiente. Después del centrifugado se eliminó el sobrenadante y el botón formado de células se resuspendió en medio DMEM de Gibco® con numero de catálogo 31600034 y se realizó una segunda centrifugación a las mismas condiciones, nuevamente el sobrenadante es absorbido y el botón celular se resuspendió y se añadió medio

DMEM de Gibco® suplementado con suero fetal bovino inactivado al 10%, antimicrobiano/ antimicótico [100X] de Gibco® y HEPES (buffer).

Para realizar el conteo celular se toma un volumen 1:1 de la solución del tubo con las células y azul de tripano, se colocan 10 µL de esta mezcla en la cámara de Neubauer y se observa a 10X en el microscopio. El número de células contadas fue expresado con la ayuda de la fórmula.

$$\text{No. total de células} = \frac{\text{No. de células.}}{\text{No. de cuadrantes.}} \times 10^4 \times 2 \times \text{Volumen total.}$$

Se cultivaron en una botella T 75 e incubaron a 37°C y 5% de CO₂ por dos días.

1.1 Subcultivo celular

Cuando el cultivo celular estuvo confluyente entre el 70-80% se procedió al subcultivo de las células. Se aspiró el medio de cultivo y se realizó un lavado con PBS 1X y se añadió volumen suficiente de tripsina-EDTA 0,25% para cubrir la botella y esta se incubó 5 minutos a 37°C hasta observar que las células se desprendían del fondo (tripsinización). Para inactivar la tripsina, se añadió una solución con suero fetal bovino (SFB) al 8%. Se recogió toda la solución en un tubo y se centrifugó (Centrifuge 5804 R Eppendor) por 5 minutos a 150 g / 900 RPM y temperatura ambiente. Después del centrifugado se elimina el sobrenadante y el botón formado de células se resuspendió en medio DMEM de Gibco® con número de catálogo 31600034 y se realizó una segunda centrifugación a las mismas condiciones, nuevamente el sobrenadante es absorbido y el botón celular se resuspende y se añaden 3 mL de medio DMEM de Gibco® suplementado. Se realizó el conteo celular y se calculó la viabilidad.

Para poder proseguir con el experimento se requirieron como mínimo dos millones de células.

2. Condiciones experimentales.

Para el protocolo de estimulación se requirieron de 3 días de trabajo consecutivo.

2.1. Sembrado en placa de 12 pozos.

En cada pozo de la placa se colocaron 150,000 células en un volumen final de 900 μ L. Posteriormente se colocó en la incubadora a 37°C por 24 horas.

Se utilizó medio DMEM de Gibco® bajo en glucosa, sin glutamina, con piruvato y sin rojo fenol suplementado con suero fetal bovino inactivado al 10%, antibacteriano/antimicótico [100X], HEPES y glutamina. (No. De catálogo 11054020)

2.2. Stocks de glucosa 1M. (5.5 mM, 6mM,8.5 mM y 11 mM)

Se preparó un stock 5.5mM de glucosa 1M con DMEM de Gibco® con número de catálogo 11054020. Se utilizó un filtro de 0.22 μ m para su esterilización. Posteriormente se realizó un ajuste de medios para la preparación de los stocks 6Mm, 8.5 mM y del stock 11 mM, esto a partir de la solución de glucosa 5.5 mM.

Se utilizó medio DMEM de Gibco® bajo en glucosa, sin glutamina, con piruvato y sin rojo fenol suplementado con suero fetal bovino inactivado al 10%, antimicrobiano/ antimicótico [100X], HEPES y glutamina. (No. De catálogo 11054020) para la preparación de los stocks.

2.3. Diluciones.

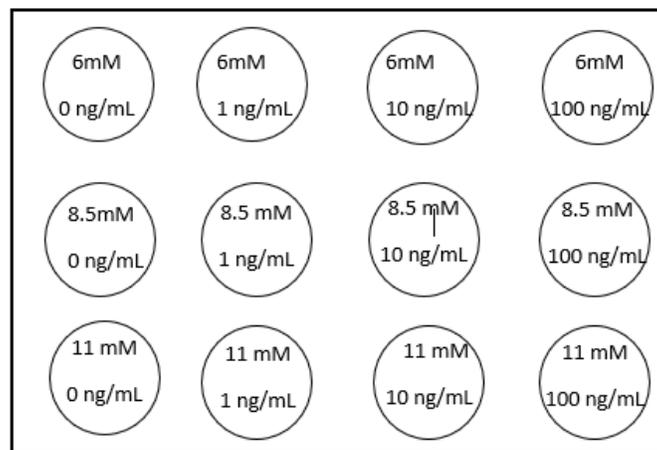
A partir de un stock de quimiocina SDF-1 (200ng/mL) se realizaron 4 diluciones con un volumen final total de 1100 μ L en tubos Eppendor®, con concentraciones diferentes (0ng/mL, 1ng/mL, 10ng/mL y 100ng/mL) por cada stock de glucosa previamente preparados (6Mm, 8.5 mM y 11 mM). Dando un total de 12 diluciones.

2.4. Estimulación.

Después de 24 horas de incubación, la placa de 12 pozos se observó a 10X al microscopio y se descartó cualquier contaminación. Se absorbió el medio y se lavó con PBS 1 X. Posteriormente se colocaron en manera ascendente las diluciones preparadas según se muestra en el protocolo de la placa. (Figura 1).

Se incubó por 24 horas exactas a 37°C.

Figura1. Protocolo de la placa para la estimulación.



3. Recuperación de medios condicionados.

Se rotularon dos series de tubos Eppendorf®, la primera contenía una etiqueta con la concentración de quimiocina y glucosa correspondientes y la segunda serie fue rotulada con una etiqueta detallada con la fecha de inicio del experimento, MD (medio condicionado) y las concentraciones de glucosa y quimiocina.

Después de pasadas las 24 horas exactas de la incubación, la placa es observada a 10X al microscopio y se descartó contaminación. Los medios condicionados se recuperaron en los tubos con etiqueta rápida y se centrifugaron (Centrifuge 5415 C Eppendor) a 900 g/ 3500 RPM a temperatura ambiente por 10 minutos. El sobrenadante se transfirió a los tubos de etiqueta detallada y se preservaron a -70 °C.

Todos los experimentos realizados se llevaron a cabo bajo condiciones de esterilidad y asepsia. Se trabajó en campana de flujo laminar, para evitar contaminación.

4. Determinación de piruvato por colorimetría.

4.1. Filtración

Se colocó el filtro Amicon® Ultra-0.5 (No. De catálogo **UFC5010**) de corte de peso molecular de 10 KDa, sobre un tubo de microcentrífuga, posteriormente se realizó la filtración en dos partes, adicionando 500 µL de medio condicionado recuperado en la primera y el resto de la muestra en una segunda (solo se utilizó el filtrado). Cada una se centrifugo a 14,000 g durante 15 minutos a temperatura ambiente.

De cada una de las muestras se tomaron 100 µL para piruvato y 100 µL para lactato, y se almacenaron a -80°C.

Esto se realizó con las 36 muestras de SDF-1 y 9 muestras piloto de fractalcina.

4.2. Curva estándar de piruvato

Se preparó la solución estándar con una concentración de 1 nmole / mL, colocando 10 µl de estándar de Pyruvate (100 nmoles / ml) con 990 µl de Pyruvate Assay Buffer, posteriormente se adicionó 0, 2, 4, 6, 8, 10 µl de la solución estándar de 1 nmol/ml en una placa de 96 pozos y se llevó a un volumen de 50 µL con Pyruvate Assay Buffer. Se colocó el mix de reacción a cada uno de los pozos de la curva estándar.

La curva se realizó por duplicado.

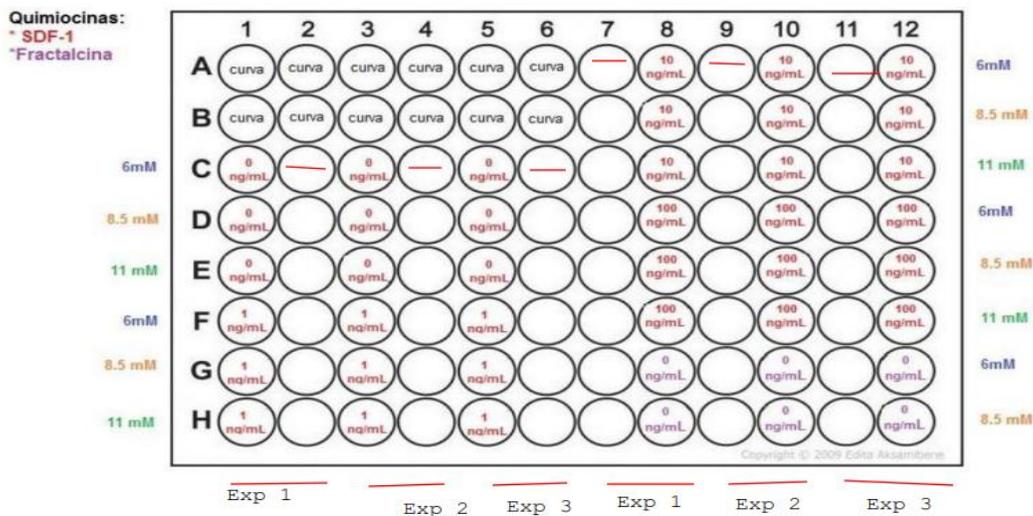
4.3. Ensayo de reacción: Piruvato.

Se preparó el mix de reacción de acuerdo con la siguiente tabla, tomando en cuenta que por cada muestra (incluida la curva estándar) se necesitan 50 μL .

Reagent	Volume
Pyruvate assay buffer	46 μL
Pyruvate probe solution	2 μL
Pyruvate enzyme mix	2 μL

4.4. Protocolo de placa.

El plan de placa se realizó de la siguiente forma.

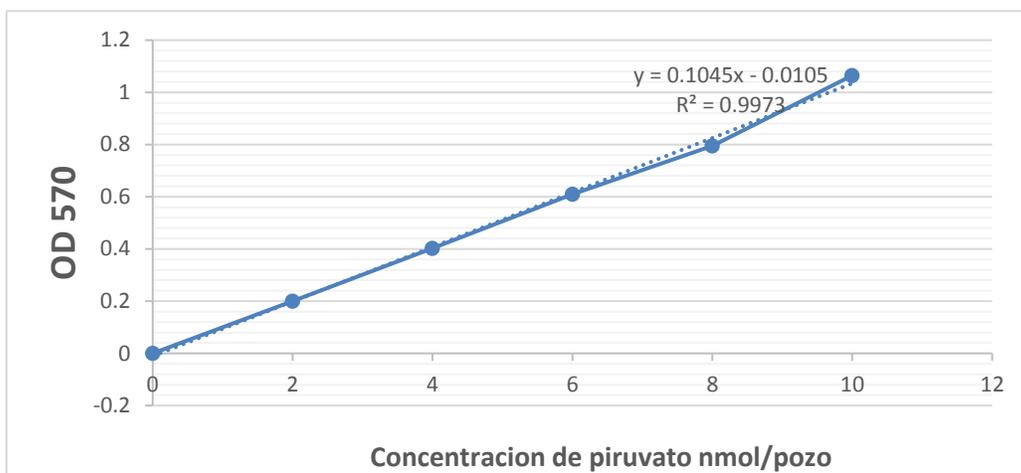


Las muestras se leyeron espectrofotométricamente dando los siguientes resultados:

Resultados.

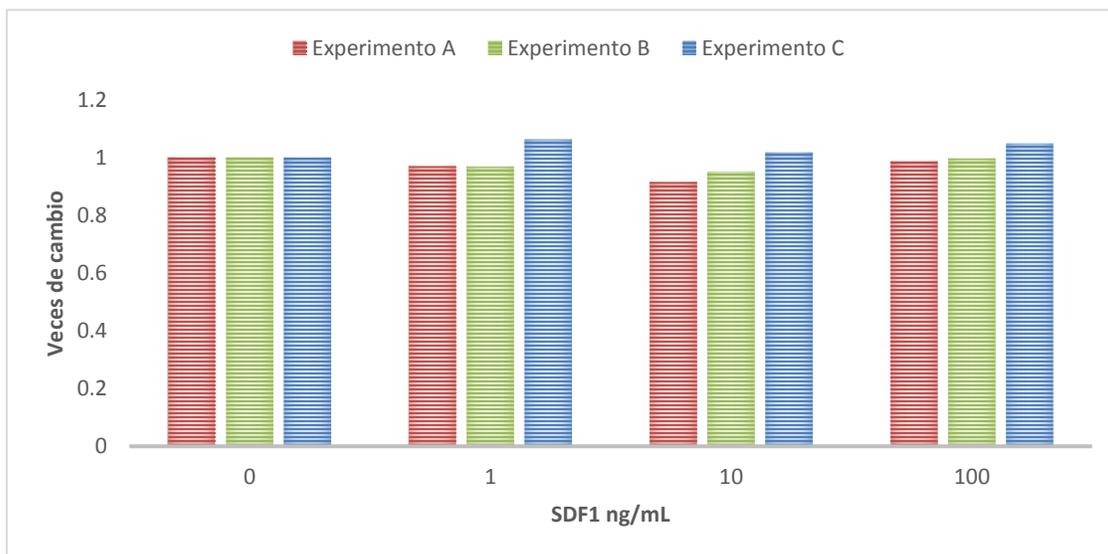
1. Curva de estándar de piruvato

Grafica 1.- Curva estándar de la concentración de piruvato respecto a la densidad óptica con un coeficiente de regresión de $r^2: 0.997$.



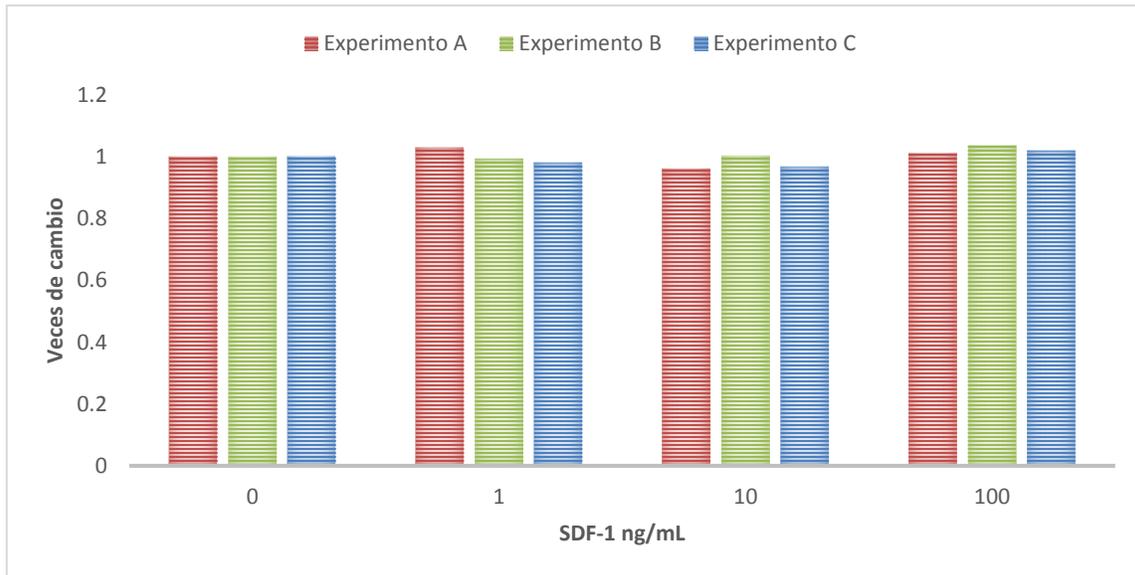
2. Resultados del cultivo de células H292 en alta glucosa (6, 8.5 y 11 mM) +/- quimiocina SDF.

2.1 Condición 6 mM de glucosa.



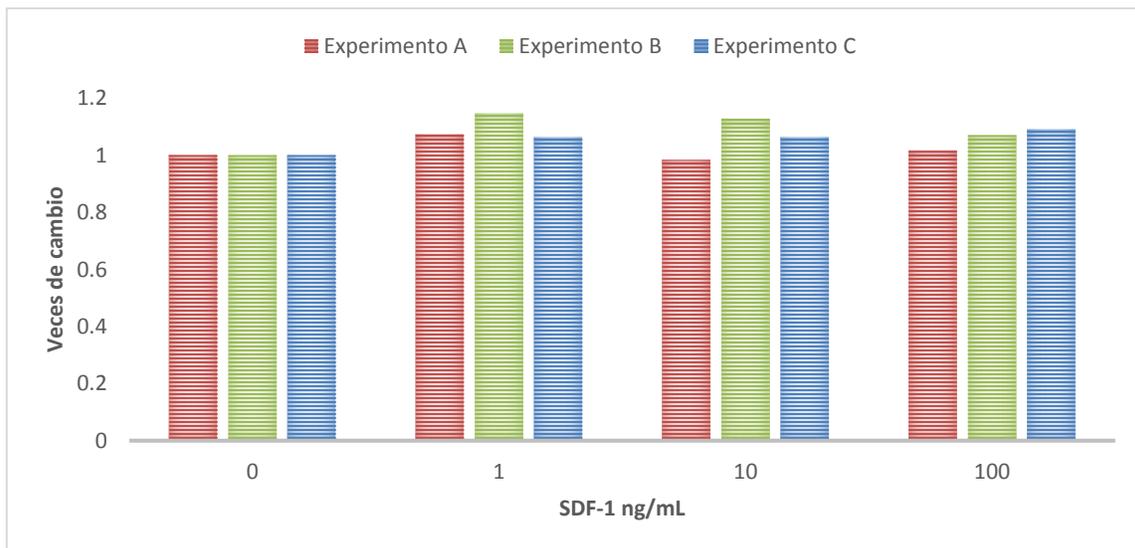
Grafica 1.- Veces de cambio de las diferentes concentraciones de quimiocina SDF-1 con base a la concentración de piruvato en condiciones 6mM de glucosa.

2.2 Condiciones 8.5 mM de glucosa.



Grafica 3.- Veces de cambio de las diferentes concentraciones de quimiocina SDF-1 con base a la concentración de piruvato en condiciones 8.5mM de glucosa.

2.3 Condiciones 11 mM de glucosa.



Grafica 4.- Veces de cambio de las diferentes concentraciones de quimiocina SDF1 con base a la concentración de piruvato en condiciones 11 mM de glucosa.

Discusión

En este trabajo de investigación no fue posible evaluar el flujo glucolítico de la célula tumoral en presencia de alta glucosa +/- la quimiocina SDF-1. Para realizar dicha evaluación es necesario determinar el piruvato y el lactato extracelular, y con estos dos parámetros calcular la tasa metabólica. La determinación de lactato no fue posible realizarla porque el kit de determinación de lactato no llegó en el tiempo que se tenía planificado debido a una cuestión administrativa.

Los resultados obtenidos con piruvato indican que la presencia de este metabolito en el medio condicionado de células H292 no se modifica en cultivos en alta glucosa (8 y 11 mM), ni tampoco por la estimulación con la quimiocina SDF-1 (1, 10 y 100 ng/mL), como se puede observar en las gráficas 2, 3 y 4. Los resultados obtenidos son robustos porque las mediciones fueron reproducibles en tres ensayos independientes; y aunque la determinación de piruvato se hizo en una sola corrida, se obtuvo una curva patrón con una R^2 de 0.99, y triplicados con una desviación estándar pequeña.

Los medios condicionados destinados a la determinación de lactato permanecen congelados a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo cual permitirá en un futuro estimar la tasa metabólica.

Comentarios finales

Durante la realización del servicio social, se logró aprender la técnica de cultivo celular, diseñar experimentos y realizar determinaciones de metabolitos celulares por la técnica de colorimetría. Por lo cual, creemos que la función principal de un trabajo de servicio social se cumplió satisfactoriamente, ya que el estudiante complementó su formación escolar con técnicas que no manejaba, colaboró en el avance de una investigación, desarrolló un tema de investigación y elaboró un reporte final de resultados.

Bibliografía.

1. Balkwill, F. (2004). Cancer and the chemokine network. *Nature Reviews Cancer*, 4(7), 540.
2. Bartkova J, Rezaei N, Liontos M, et al. Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature* 2006; 444:633–637.
3. Casado Pinna, M. (2009). Regulación de la expresión génica por glucosa. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*.
4. Feil, C., & Augustin, H. G. (1998). Endothelial cells differentially express functional CXC-chemokine receptor-4 (CXCR-4/fusin) under the control of autocrine activity and exogenous cytokines. *Biochemical and biophysical research communications*, 247(1), 38-45.
5. García de Vinuesa Calvo, G. (2017). Clasificación anatomopatológica. *Rev. esp. patol. torac*, 29(2, supl. 1), 13-24.
6. Garza Juárez P. (2014). *El cáncer*. Ciudad de México: Ciencia a tu alcance.
7. Lazarini, F., Casanova, P., Tham, T. N., De Clercq, E., Arenzana-Seisdedos, F., Baleux, F., & Dubois-Dalcq, M. (2000). Differential signalling of the chemokine receptor CXCR4 by stromal cell-derived factor 1 and the HIV glycoprotein in rat neurons and astrocytes. *European Journal of Neuroscience*, 12(1), 117-125.
8. Lee, R. L., Westendorf, J., & Gold, M. R. (2007). Differential role of reactive oxygen species in the activation of mitogen-activated protein kinases and Akt by key receptors on B-lymphocytes: CD40, the B cell antigen receptor, and CXCR4. *Journal of cell communication and signaling*, 1(1), 33-43.
9. Lu, D. Y., Tang, C. H., Yeh, W. L., Wong, K. L., Lin, C. P., Chen, Y. H., ... & Fu, W. M. (2009). SDF-1alpha up-regulates interleukin-6 through CXCR4, PI3K/Akt, ERK, and NF-kappaB-dependent pathway in microglia. *European journal of pharmacology*, 613(1-3), 146-154.
10. Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and nononcogene addiction. *Cell* 2009; 136:823–837.
11. Medina-Morales, F., & Salazar-Flores, M. (2000). Frecuencia y patrón cambiante del cáncer pulmonar en México. *salud pública de méxico*, 42, 333-336.
12. Mendiola, A. V., & Soto Cruz, I. (2014). Metabolismo energético y cáncer. *Vertientes Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 17(2), 108-113.
13. Mendiola, A. V., & Soto Cruz, I. (2014). Metabolismo energético y cáncer. *Vertientes Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 17(2), 108-113.

14. Monteagudo, C., Pellin-Carcelén, A., Martín, J. M., & Ramos, D. (2011). Papel de las quimiocinas en la progresión del melanoma. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 102(7), 498-504.
15. Müller, A., Homey, B., Soto, H., Ge, N., Catron, D., Buchanan, M. E.,... & Barrera, J. L. (2001). Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *nature*, 410(6824), 50. (Müller et al., 2001)
16. Princen, K., Hatse, S., Vermeire, K., De Clercq, E., & Schols, D. (2003). Evaluation of SDF-1/CXCR4-induced Ca²⁺ signaling by fluorometric imaging plate reader (FLIPR) and flow cytometry. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 51(1), 35-45.
17. Ransohoff, R. M. (2009). Chemokines and chemokine receptors: standing at the crossroads of immunobiology and neurobiology. *Immunity*, 31(5), 711-721.
18. Regifo, G. F. (2007). Expresión de fenes de las enzimas de la vía glicolítica en células cancerígenas. *Acta Medica Peruana*, 187.
19. Roland, J., Murphy, B. J., Ahr, B., Robert-Hebmann, V., Delauzun, V., Nye, K. E., & Biard-Piechaczyk, M. (2003). Role of the intracellular domains of CXCR4 in SDF-1-mediated signaling. *Blood*, 101(2), 399-406.
20. Scotton, C. J., Wilson, J. L., Milliken, D., Stamp, G., & Balkwill, F. R. (2001). Epithelial cancer cell migration: a role for chemokine receptors? *Cancer research*, 61(13), 4961-4965.
21. Spira, A., & Ettinger, D. S. (2004). Multidisciplinary management of lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 350(4), 379-392.
22. Suárez, A., Mozo, L., & Martín, C. G. 09 Citocinas y Quimiocinas.
23. Zagzag, D., Lukyanov, Y., Lan, L., Ali, M. A., Esencay, M., Mendez, O.,... & Newcomb, E. W. (2006). Hypoxia-inducible factor 1 and VEGF upregulate CXCR4 in glioblastoma: implications for angiogenesis and glioma cell invasion. *Laboratory investigation*, 86(12), 1221.
24. Zou, Y. R., Kottmann, A. H., Kuroda, M., Taniuchi, I., & Littman, D. R. (1998). Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature*, 393(6685), 595.

Resumen

Las células de cáncer incrementan el consumo de glucosa, produciendo mayor número de metabolitos glucolíticos y moléculas de ATP. La mayoría del piruvato generado durante la glucólisis es convertido en lactato) y es secretado en vez de ser oxidado en la mitocondria (Mendiola & Soto, 2014). Es por esto por lo que el paso de piruvato a lactato es un punto crítico en el metabolismo de las células cancerosas (Mendiola & Soto, 2014).

Las quimiocinas son una superfamilia de las proteínas solubles que se unen y activan a una familia de receptores de quimiocinas. Entre las funciones más importantes de las quimiocinas y sus receptores es la regulación de la metástasis y la proliferación (Keeley et al., 2010; Secchiero P et al., 2010; Wright et al., 2005).

La quimiocina SDF-1 (factor 1 derivado de estroma), también llamada CXCL12 pertenece a la sub-familia de quimiocinas CXC. SDF-1 se une al receptor CXCR4, el cual es un receptor acoplado a proteínas G heterotriméricas, (Zou et al., 1998; Feil & Augustin, 1998; Lazarini et al., 2000).

Se ha demostrado la sobreexpresión de CXCR4 en más de 23 cánceres humanos, (Balkwill, 2004; Müller et al., 2001; Scotton et al., 2001) La regulación de la expresión de CXCR4 está dada por el incremento en células malignas de diversos mecanismos. Por esta razón, en las regiones hipóxicas de los tumores en crecimiento, los receptores de quimiocinas podrían aumentar para favorecer la supervivencia y diseminarse a otras partes del cuerpo, formando nuevos tumores.

El objetivo de este trabajo fue Evaluar el flujo glucolítico en células de cáncer pulmonar H292 cultivadas con alta glucosa +/- la quimiocina SDF-1, y su posible efecto en la resistencia a la muerte por apoptosis. Durante la realización del servicio social, se logró aprender la técnica de cultivo celular, diseñar experimentos y realizar determinaciones de metabolitos celulares por la técnica de colorimetría