

## **CONCLUSIONES**



---

## 6. CONCLUSIONES

1. Los efectos antiproliferativos de la Daunorubicina sobre las células leucémicas Jurkat T dependen de la dosis utilizada: apoptosis a dosis altas ( $IC_{75}$ ) y senescencia a dosis bajas/moderadas ( $IC_{50}$ ). Ambas respuestas requieren la presencia de p53 funcional.

2. La WP631 es más citotóxica que la Daunorubicina en la línea Jurkat T pero no induce apoptosis, sino catástrofe mitótica. La WP631 reduce la expresión de p53 en las células Jurkat T, haciendo que se comporten como células p53<sup>-/-</sup>. La línea Jurkat T resultó ser un buen modelo para el estudio de mecanismos dependientes e independientes de p53.

3. El efecto antiproliferativo de la WP631 en las líneas de carcinoma mamario MDA-MB-231 y MCF-7/VP, resistentes a la apoptosis, tiene lugar a través de la inducción de catástrofe mitótica.

4. Nuestros resultados demuestran que la catástrofe mitótica se produce cuando las células tumorales resistentes a la apoptosis se tratan con genotóxicos. Se produciría como resultado de una o varias mitosis aberrantes, que conducen a la muerte de las células por rutas que pueden requerir o no la activación de la caspasa-2 y la caspasa-3.

5. La catástrofe mitótica en células MDA-MB-231 tratadas con Doxorubicina está mediada por la activación de las caspasas durante la mitosis. La Doxorubicina induce la acumulación de células 4n ( $G_2/M$ ) y su muerte posterior. Las células Jurkat T, MDA-MB-231 y MCF-7/VP se acumulan en la fase  $G_2/M$  en presencia de WP631 y reentran en el ciclo, favoreciendo el aumento de células poliploides. En estos casos, la catástrofe mitótica no depende de la activación de las caspasas. La muerte se produce como consecuencia de varias mitosis anormales, que culminan en la fragmentación de los cromosomas.

6. Los efectos celulares de la Daunorubicina y la WP631 en las células Jurkat T son la respuesta a lesiones en el DNA y a variaciones en los perfiles de transcripción génica, como consecuencia de los tratamientos. La dosis  $IC_{75}$  para la Daunorubicina provoca

---

lesiones en el DNA que inducen la apoptosis. Ni la dosis IC<sub>50</sub> para la Daunorubicina ni la dosis IC<sub>75</sub> para WP631 provocan gran número de lesiones en el DNA.

7. La WP631 compite con los factores de transcripción Sp1 y Sp3, e inhibe la transcripción dependiente de Sp1 *in vivo* (cultivos celulares), a las mismas concentraciones capaces de inducir la catástrofe mitótica en las células Jurkat T. La efectividad de la WP631 depende de las concentraciones relativas de los factores Sp1 y Sp3 en el interior de las células, y la afinidad, tanto de los factores de transcripción, como de la Bisantraciclina, por su sitio de unión en el DNA.

8. La WP631 reduce la transcripción del gen *mrp-1* en la línea celular MCF-7/VP, cuya sobreexpresión está asociada a la resistencia múltiple a antitumorales. Este efecto está mediado por la interferencia con el factor de transcripción Sp1, que regula positivamente la expresión del gen.

9. La capacidad de inhibir la transcripción del gen *mrp-1* y reducir la actividad de la proteína asociada a la resistencia múltiple depende de la dosis de WP631 usada. La dosis IC<sub>75</sub> para la WP631 (594 nM) reduce un 50% la actividad de la proteína MRP-1 con respecto a las células sin tratar.

10. La reducción de la actividad de la proteína MRP-1 en las células MCF-7/VP en presencia de la dosis IC<sub>75</sub> para la WP631 (594 nM) representa el primer caso descrito en que el propio antitumoral modula la actividad de las bombas transportadoras asociadas a la resistencia múltiple, regulando su entrada en las células. La WP631 es una molécula con interés clínico potencial en el tratamiento de tumores con fenotipo MDR.

11. La WP631 es un agente antiproliferativo más eficaz que la Daunorubicina y la Doxorubicina en las líneas tumorales Jurkat T, MDA-MB-231 y MCF-7/VP. La WP631 inhibe el crecimiento celular a dosis muy reducidas (nanomolar). Las ventajas de la WP631 sobre otras Antraciclina radican en sus propiedades de unión al DNA y en su capacidad de desplazar al factor de transcripción Sp1.

---

**12.** En diferentes promotores humanos, la frecuencia observada de las dianas potenciales de unión para la WP631 es menor a la las frecuencias que se esperarían si los nucleótidos se encontraran distribuidos al azar en el genoma, lo que indica una mayor especificidad. Nuestros resultados indican que se pueden diseñar racionalmente moléculas de bajo peso molecular, con constantes de unión al DNA del mismo orden de magnitud que la de los factores de transcripción.

**13.** Senescencia y catástrofe mitótica no parecen ser procesos restringidos a las células en cultivo, por lo que el análisis en profundidad de los mecanismos moleculares que regulan estos procesos ha de constituir una herramienta muy útil para poder incrementar la eficacia en determinados tratamientos antitumorales.

