

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APITOXINA SOBRE EL CÁNCER LINGUAL EN RATAS

ZAVALA WD, FOSCOLO M, CAVICCHIA JC.

FACULTAD ODONTOLOGIA, U.N.CUYO. MENDOZA. ARGENTINA.

Director de proyecto: Zavala WD. 06/K092 SECRETARIA CIENCIA y TECNICA

Introducción y objetivos: El 90 % de los carcinomas de cavidad bucal corresponden a carcinoma de células escamosas y el 40% se localiza en el piso de la boca y la superficie lingual (1).

Por otro lado existe evidencia creciente sobre los efectos de nuevas sustancias en ciertos cancers, incluyendo compuestos de síntesis así como productos de origen animal, vegetal o mineral. Entre los de origen animal se están estudiando los componentes de algunos venenos como el de escorpión o el de abeja (2).

El veneno de abeja (apitoxina) contiene en su composición varios péptidos con actividad biológica, incluyendo la melitina (componente principal), apamina, péptido de degranulación de mastocitos, enzimas (fosfolipasas, hialuronidasa) y componentes no pepticos como histamina.

Si bien el efecto de la apitoxina, de acuerdo a la bibliografía, sería beneficioso en enfermedades de origen reumático, la evidencia de su acción sobre patología tumoral no es concluyente, aunque se han reportado una fuerte acción apoptótica, en cáncer de pulmón (3) y tumores hepáticos (4).

En base a lo expuesto se plantea este trabajo cuyo objetivo principal es: estudiar el efecto de la apitoxina en lesiones tumorales experimentalmente inducidas de lengua.

Materiales y métodos:

Un total de 20 ratas macho de la especie Wistar se utilizaron en este estudio.

El procedimiento experimental se llevó a cabo respetando los principios éticos para la investigación de los animales de acuerdo al protocolo revisado y aprobado institucionalmente por CICUAL (FCM, UNCuyo).

Las ratas fueron separadas al azar en dos grupos iguales: grupo control (grupo 1) estuvieron sometidas al efecto carcinogénico de la sustancia nitroquinolina (4-NQO), disuelta en el agua de bebida. Por otro lado al grupo experimental (grupo 2) se les administró, además del agua con 4-NQO, una dosis de apitoxina subcutánea por semana. Se utilizó veneno de abeja diluido (*Apis mellifera* 3X, equivalente a 1 mg/ml) a razón de 0.5 mg/kg.

Los animales se sacrificaron bajo campana de monóxido de carbono a 30 semanas del inicio de la administración de los tratamientos específicos. La lengua fue extraída y fotografiada para su análisis macro y microscópico. Cada muestra de tejido fue fijada en solución de paraformaldehído 10% y procesada para técnicas histológicas habituales.

Resultados:

Examen macroscópico: En el grupo control, se encontraron un 20% de lenguas clínicamente normales: (TLN). En el 80 % restante se detectó algún tipo de lesión, desde lesiones blancas (LB) bien delimitadas en un 20% de la muestra y el 60% restante correspondieron a lesiones exofíticas o ulceradas de tamaño variable (LE).

En el grupo experimental se encontró al examen clínico: 60% de lenguas normales, mientras que el 40% mostraron lesiones tumorales en lengua (20% de lesiones induradas blancas y 20% de lesiones exofíticas o ulceradas).

Examen anatomopatológico: En el grupo control, el 60 % de las muestras observadas coincidieron con el diagnóstico de carcinoma de células escamosas (CCE). Se encontró invasión de tejido conectivo subyacente, núcleos hiper cromáticos, relación núcleo / citoplasma alterado y formación de focos de queratina en el tejido conectivo, mientras que un 20% mostraron formaciones papilomatosas benignas y displasia bien diferenciada, sin invasión de la membrana basal pero con abundante reacción inflamatoria en el tejido conectivo subepitelial. En el grupo 2, sometido al efecto de 4-NQO y a la aplicación de apitoxina subcutánea, el examen microscópico encontró una incidencia de 40% de carcinoma de células escamosas. Se observaron células tumorales pleomórficas y una extensa invasión la submucosa formando abundantes nidos con formación de queratina.

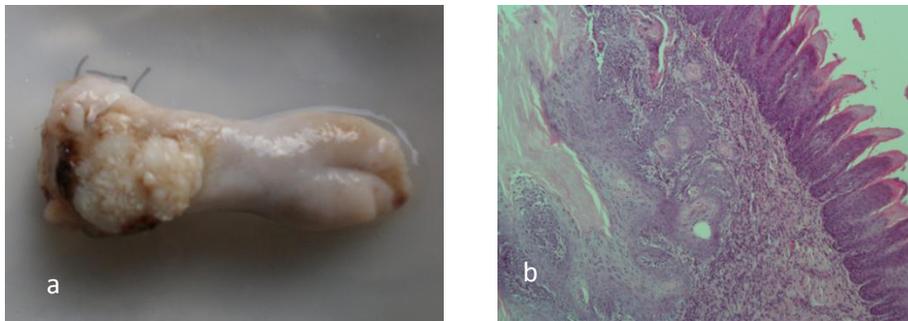


Figura 1: a) Lesión tumoral desarrollada en el tercio posterior de la lengua. Ejemplar tratado con apitoxina. b) Imagen de tejido lingual con CCE perteneciente al grupo tratado con apitoxina. (H-e, x100)

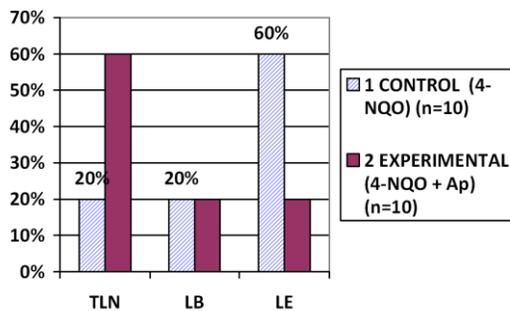


Tabla 1: Hallazgos del examen macroscópico de lengua (TLN: tejido lingual normal, LB: lesión blanca, LE: lesión exofítica).

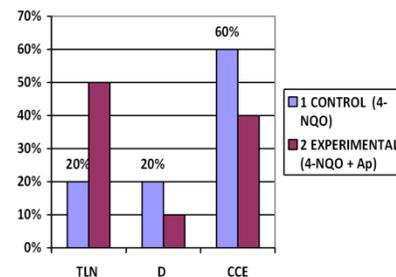


Tabla 2: Evaluación microscópica y diagnóstico anatomopatológico de tejido lingual (TLN: tejido lingual normal, D: displasia, CCE: carcinoma de células escamosas).

Tomando como referencia el diagnóstico anatomopatológico las muestras se reagruparon en dos categorías: tejido lingual normal (TLN) y carcinoma de células escamosas (CCE). Los datos se volcaron en una tabla de contingencia tipo 2x2, y se realizó análisis estadístico con test exacto de Fisher, el cual arrojó los siguientes datos:

Tabla 3: Tabla de contingencia según diagnóstico anatomopatológico de muestras de lengua de dos grupos analizados.

	TLN	CCE	TOTAL (número de casos)
Grupo 1 (4NQO)	4	6	10
Grupo 2(4NQO+Ap)	6	4	10
TOTAL	10	10	20

The two-tailed P value equals 0.6563. The association between rows (groups) and columns (TLN and CCE) is considered to be not statistically significant.

Conclusiones:

Los resultados muestran que no existen variaciones estadísticamente significativas al comparar el efecto de la apitoxina en los animales con CCE lingual y el grupo control. Tomando en consideración los resultados de esta experiencia podemos concluir que, aunque no se comprobó la acción preventiva de la apitoxina aplicada en forma subcutánea en carcinoma lingual, y considerando la acción potencial de la droga, se requiere mayor experimentación de la sustancia en las otras fases de la evolución propia de esta neoplasia

Bibliografía:

1. Ferlay, J., et al. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*, 136: E359–E386.
2. Oršolić N. (2012). Bee venom in cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2 Jun;31(1-2):173-94.
3. Jang, M. Hetal,(2003). Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299. *Journal of Pharmacology Science*, 91(2), 95–104.
4. Hu, H., et al. (2006). Effect of polypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosis induction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitro and Balb/c nude mice in-vivo. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58(1), 83–89

Agradecimiento: por la gran predisposición y colaboración de Laura Melina García, técnica en histología, Facultad Odontología, UNCuyo.