REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA, 37, 363-364, 1981

CARTAS AL EDITOR

Efecto del antibiótico antitumoral bleomicina en la estructura del nucleoide: estudios de sedimentación

Las bleomicinas (BLM) son una familia de antibióticos glicopeptídicos producidos en cultivos de *Streptomyces verticillus* y aislados originalmente por UMEZAWA *et al.* en 1966 (5). Estos antibióticos exhiben actividad antibacteriana, antivírica y antitumoral, y hoy en día se emplean en la terapia de ciertos tipos de cáncer tales como linfomas, carcinoma escamoso y carcinoma testicular (3).

En el presente trabajo se investigan las alteraciones que el nucleoide o cromosoma plegado de *Escherichia coli* K-12 (2) sufre durante el tratamiento de las células con bleomicina A-2, basándonos en que los cambios en la estructura del nucleoide se reflejan en sus propiedades de sedimentación (1). La concentración de bleomicina utilizada (15 μg/ml) produce una disminución de la velocidad de crecimiento y de la densidad óptica final del cultivo sin producir una inactivación total del mismo.

En la figura 1 se observa el efecto de la bleomicina en el nucleoide. El ADN de las células de *E. coli* se marcó radiactivamente con timidina tritiada añadida al iniciarse el crecimiento a 37° C; al llegar los cultivos a la fase exponencial las células se recuperaron mediante centrifugación y se resuspendieron en el mismo medio sin radiactividad durante 60 min a 37° C, para incorporar en su cromosoma toda la timidina tritiada. A continuación, se añadió la bleomicina A-2 a los cultivos celulares y a diferentes tiempos se volvieron a centrifugar para su recolección, todo ello a 37° C. Después del tratamiento las células se lisaron para obtener sus nucleoides, siguiendo la técnica descrita anteriormente (2). Los lisados se analizaron mediante sedimentación en gradientes neutros de sacarosa (10-50 %) a 4.000 r.p.m., se fraccionaron y la radiactividad en cada fracción se determinó en un contador de centelleo (2).

Los nucleoides procedentes de células que no sufrieron el tratamiento con bleomicina (círculos, fig. 1-A) tienen un coeficiente de sedimentación de 1.800 S (1). Después de 5 min de tratamiento con bleomicina (triángulos, fig. 1-A) los nucleoides presentaron una disminución en su coeficiente de sedimentación (1.500 S). A los 10 min de tratamiento (círculos, fig. 1-B) el coeficiente de sedimentación de los nucleoides había disminuido hasta 830 S. Sin embargo, cuando el tiempo de tratamiento se extiende de 10 a 15 min (triángulos, fig. 1-B), el coeficiente de sedimentación comienza a aumentar alcanzando 1.400 S a los 15 min. Tratando las células durante más tiempo no produce variación sustancial del coeficiente de sedimentación de sus nucleoides.

La cinética del efecto de la bleomicina en los nucleoides sugiere la existencia de cierta forma de reparación estructural de los mismos. Un segundo tratamiento de las células con bleomicina, después de que la

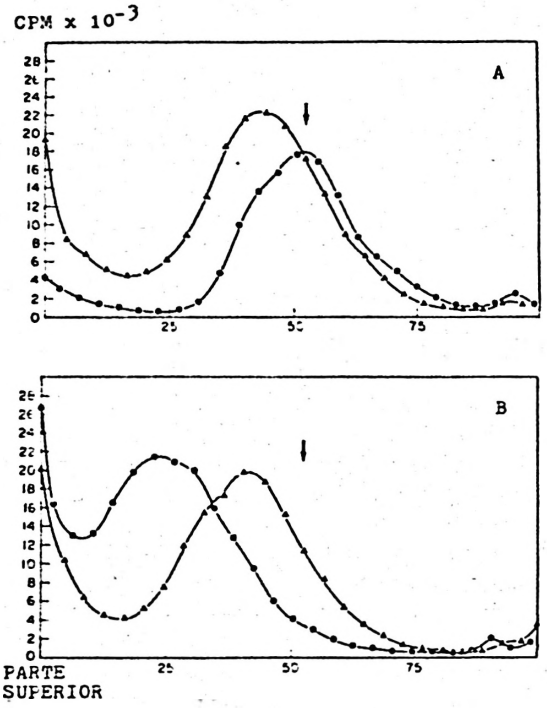

Fig. 1. *Efecto de la bleomicina A-2* in vivo *en los nucleoides de* E. coli.
A: control (●); 15 μg/ml BLM A-2, 5 min (▲). *B:* 15 μg/ml BLM A-2, 10 min (●) y 15 min (▲). Las flechas indican la posición de los nucleoides control (1.800 S).

reparación estructural ha ocurrido, origina una nueva disminución del coeficiente de sedimentación de los nucleoides. Estos resultados indican que el efecto de la bleomicina en el nucleoide es parcialmente reversible y que el sitio en el cual la bleomicina ejerce su acción permanece sensible.

La disminución del coeficiente de sedimentación se puede deber al despliegue de la estructura del nucleoide y/o a roturas en su ADN que se producen cuando las células se tratan con bleomicina. El subsiguiente aumento en el coeficiente de sedimentación puede deberse a la reparación de ambos tipos de lesión. Experimentos no reseñados aquí indican que las roturas en ambas cadenas del ADN no se reparan durante el período de tiempo estudiado. Así, parece ser que la bleomicina, además de producir roturas en el ADN, podría actuar en la región central del nucleoide (donde el ADN, el ARN mensajero y la ARN polimerasa interaccionan) causando el despliegue de la estructura. Esta interpretación es coherente con los resultados de TAKESHITA *et al.* (4), los cuales observaron la inhibición de la síntesis de ARN mensajero por bleomicina A-2, inhibición que daría lugar al despliegue de la estructura del nucleoide como han demostrado diversos autores (1).

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la bleomicina A-2 altera temporalmente la relación entre el ADN, el ARN y la ARN polimerasa en el nucleoide, originando cambios estructurales en el mismo. Estas alteraciones irían seguidas de una reparación estructural parcial que parece estar relacionada con el repliegue de los nucleoides.

Bibliografía

1. HECHT, R. M., STIMPSON, D. y PETTIJOHN, D. E.: *J. Mol. Biol.*, **111**, 257-277, 1977.
2. PELLÓN, J. R. y GÓMEZ, R. F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **37**, 189-196, 1981.
3. REMERS, W. A.: En «The Chemistry of Antitumor Antibiotics». Vol. 1. J. Wiley, Nueva York, 1979, pp. 176-220.
4. TAKESHITA, M., HORWITZ, S. B. y GROLLMAN, A. P.: *Virology*, **60**, 455-465, 1974.
5. UMEZAWA, H., MAEDA, K., TAKEUCHI, T. y OKAMI, Y.: *J. Antibiot. Ser.*, **19**, 200-209, 1966.

J. R. PELLÓN [1], S. M. HECHT [2] y R. F. GÓMEZ

Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.

(Recibido el 23 de abril de 1981)

[1] Dirección actual: Instituto Tecnológico de Postgraduados, P.° Juan XXIII, 3. Madrid-3 (España).

[2] Universidad of Virginia, Charlottesville, Virginia, U.S.A.