

CITOCALASINA Y BENOMIL: ASPECTOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS

CYTOCHALASIN AND BENOMYL: CHEMICAL AND BIOLOGICAL ASPECTS

Soto-Arredondo Karla Jazmín¹, Flores-Villavicencio Lérica L¹, Barbosa Sabanero Gloria², Sabanero-López Myrna*¹.

¹Departamento de Biología, DCNyE, ²Departamento de Ciencias Biomédicas, DCS, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Col. Noria Alta. C.P. 36050. Tel. (01) 473 73 200 06 ext. 8158 fax 8153. *Responsable del artículo, e-mail: myrna.sabanero@gmail.com

Resumen

Citocalasinas y Benomil, son metabolitos de hongos que se unen a la actina y tubulina respectivamente, alterando su polimerización. Estos compuestos, han sido utilizados en el estudio de procesos biológicos: motilidad celular, reacción acrosomal, transporte neuronal y mitosis. Se presentan aspectos químicos –biológicos y mecanismo de acción de la citocalasinas y benomil.

Palabras clave: Citocalasinas, benomil, citoesqueleto.

Abstract

Cytochalasins and benomyl are metabolites from fungi that bind to actin and tubuline respectively, altering its polymerization. These compounds, have been used to study biological processes i.e. cellular motility, acrosomal reaction, neuronal transport and mitosis. It is present chemical-biological aspects and mechanism of action of cytochalasin and benomyl.

Keywords: Cytochalasins, benomyl, cytoskeleton.

INTRODUCCIÓN

Existe una amplia gama de moléculas de origen natural conocidas como citocalasinas y benomil, que se han utilizado, como herramientas para explorar y definir las funciones biológicas vitales, tales como, la segregación de los cromosomas, la motilidad celular, la reacción acrosómica, y el transporte neuronal. Prácticamente, en todas estas funciones participan polímeros estructurales, dinámicos, constituidos de actina y tubulina que forman parte del citoesqueleto celular (Gupta, 2004).

En general la citocalasinas, y otras drogas como la faloidina, latrunculina y kasplakinolide (Cooper, 2004), alteran la distribución y grado de polimerización de los filamentos de actina. Por otra parte, se conoce que el benomil y moléculas como colchicina, vinblastina, y taxol afectan la polimerización de los microtúbulos de tubulina (Gupta, 2004). Estos compuestos han sido ampliamente usados como herramienta en el estudio de los procesos de motilidad y morfología celular.

En esta revisión, abordaremos algunos aspectos químicos particularmente de las citocalasinas y el benomil, así como la aplicación que presentan para el análisis de procesos de interés biológico.

CITOCALASINAS

Las citocalasinas son un grupo de compuestos naturales que han demostrado afectar la polimerización de actina (Cooper, 2004). Debido a su naturaleza química, el uso de las citocalasinas ha permitido por más de tres décadas entender la polimerización de actina, la motilidad celular, división celular, contracción, el movimiento del citoesqueleto y muchos otros procesos biológicos. La citocalasina B, originalmente llamada fomina, fue la primera citocalasina aislada y ha sido usada como herramienta para el estudio de la división celular y motilidad celular, procesos que dependen de la formación y degradación de los filamentos de actina (Schüler, 2006).

Químicamente son un grupo de metabolitos fúngicos con complejas y diversas estructuras (Fig. 1). Las citocalasinas A y B son metabolitos de *Helminthosporium dematioideum*; citocalasina C y D son metabolitos isoméricos de *Metarrhizium anisopliae*; citocalasina E es un metabolito de *Rosellinia necatrix*; citocalasina F es un metabolito menor de *Helminthosporium* y, la Dihidro-CB y la Dihidro-CB- γ -lactona, son derivados sintéticos de la citocalasina B (Yahara, 1986).

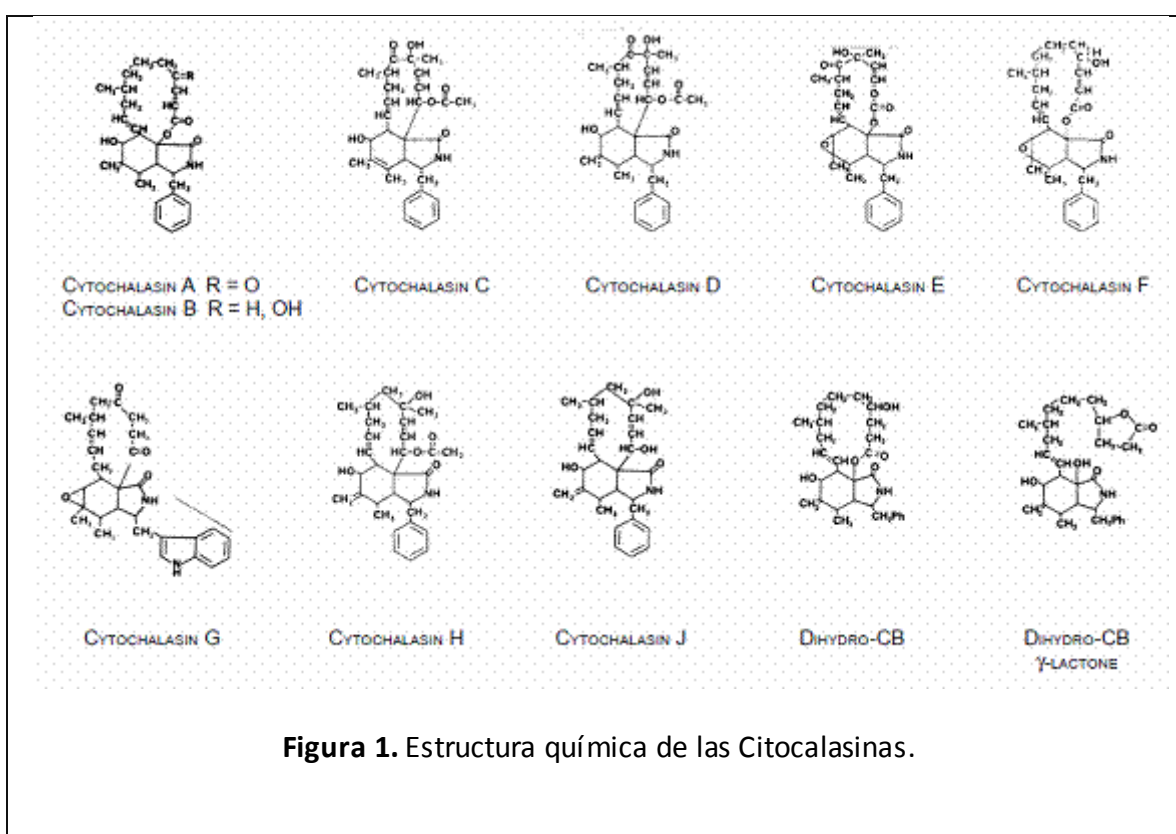
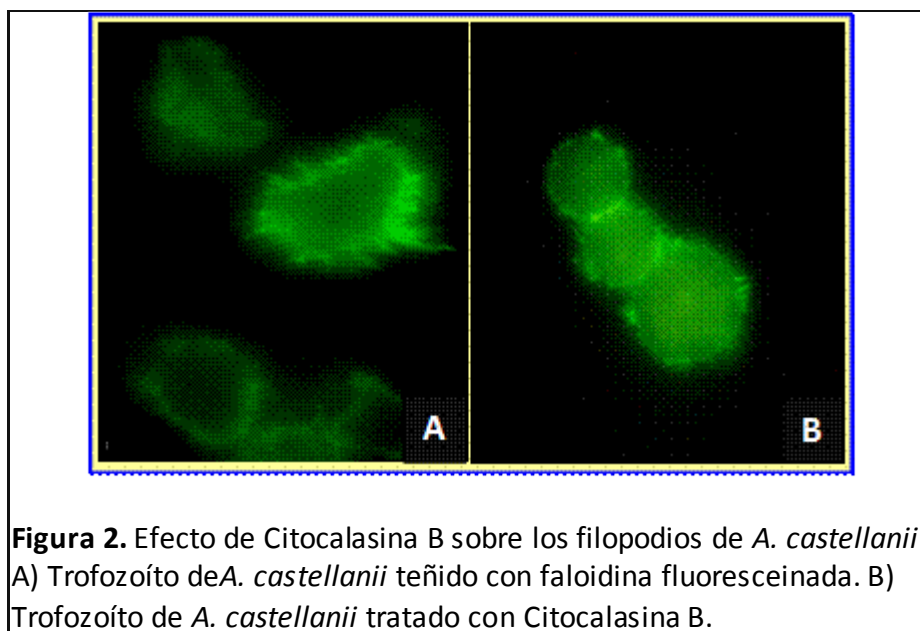


Figura 1. Estructura química de las Citocalasinas.

Se ha reportado, que el principal sitio de acción de las citocalasinas es la maquinaria celular contráctil, alterando la motilidad y la morfología celular. Estudios *in vitro* usando actina purificada, han mostrado que el mecanismo de acción principal de las citocalasinas, es la inhibición de la velocidad de polimerización de la actina. Este efecto, es causado por la inhibición de la unión de actina monomérica al extremo en crecimiento del filamento de actina (Beckerle, 1998).

Biológicamente la reacción de polimerización de la actina, es de particular importancia en la formación de estructuras como lamelipodios y filopodios; los cuales permiten la locomoción en protozoarios y participan en procesos de invasión a diversos tejidos (Beckerle, 1998; Schüler, 2006). En *Acanthamoeba castellanii*, un parásito oportunista de humanos, la formación de filopodios es de gran importancia en el proceso infeccioso. Se ha demostrado, que estas estructuras están conformadas principalmente de actina (González-Robles, 2008, Soto-Arredondo, 2010), ya que la faloidina, molécula del hongo *Amanita phalloides*, decora los filopodios (Figura 2A). Sin embargo, cuando el trofozoíto de *A. castellanii* es incubado en presencia de Citocalasina B (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) el filopodio del parásito la ameba sufre una desestructuración de los filamentos de actina (figura 2B); dicho proceso es de particular interés en el estudio de los determinantes que rigen la patogenia de las infecciones causadas por este protozoo.



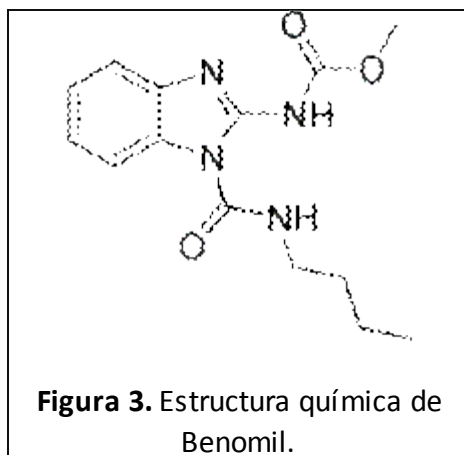
Por otra parte, las citocalasinas ejercen diversas actividades biológicas que no están relacionadas con su unión a la molécula de actina; como ejemplo, citocalasina B inhibe el transporte de glucosa, citocalasina H regula el crecimiento de plantas y citocalasina E inhibe la angiogénesis (Udagawa, 2000).

BENOMIL

La dinámica de los microtúbulos, juega un rol esencial en varias funciones celulares como la orientación y segregación de los cromosomas durante la mitosis, el transporte intracelular y la formación de la polaridad celular entre otras (Downing, 2000; Gupta, 2004). En la actualidad, la dinámica de la formación de los microtúbulos se ha convertido en el blanco potencial de drogas, que actúan contra enfermedades como el cáncer, enfermedades neuronales, micosis, parasitosis, etc.

A este respecto, existen agentes antimicrotúbulos cuyo efecto se refleja principalmente en la polimerización y despolimerización de los microtúbulos; entre ellos se encuentra el benomil.

Farmacológicamente, el benomil es un agente antifúngico, que pertenece al grupo de los bencimidazoles (Fig. 3). Particularmente, muestra una gran selectividad a la tubulina fúngica en comparación con la tubulina de mamíferos, por lo cual, es ampliamente usado en agricultura contra una gran variedad de hongos parásitos de plantas.



El mecanismo de acción del benomyl se basa en la inhibición del ensamble de microtúbulos y su despolimerización *in vitro* e *in vivo*. Estudios *in vitro* utilizando microtúbulos de cerebros bovinos, mostraron que mediante cambios conformacionales en

la molécula de tubulina, el benomil reduce la velocidad y el crecimiento de los microtúbulos (Gupta, 2004).

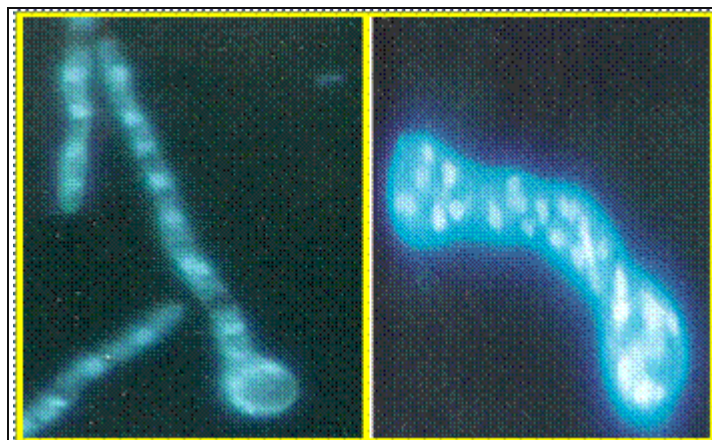


Figura 4. Efecto de Benomil en el hongo *Mucor rouxii*. A. Crecimiento polarizado y distribución de núcleos en las hifas. B. Crecimiento del hongo expuesto a benomil, note la inhibición del crecimiento y el aglomerado de núcleos.

Particularmente, en las células fúngicas (figura 4A), se presenta un crecimiento polarizado y un transporte de los núcleos a lo largo de la hifa. En estas células, la acción del benomil se refleja en la inhibición del crecimiento polarizado del hongo (Figura 4B) y, al no existir las estructuras microtubulares, no se presenta el transporte de los numerosos núcleos que presenta el hongo. A pesar de que el sitio exacto de unión del benomil a la tubulina no es del todo claro, se demostró que en *Sacharomices. cerevisiae* el sitio de unión de benomil está localizado en el núcleo de β -tubulina (Gupta, 2004; Richards, 2000). Además de los efectos anteriores, el benomil inhibe la progresión del ciclo celular a mitosis e induce la muerte celular por apoptosis.

En la época actual, damos por hecho que ya no hay más que descubrir. No obstante, al reflexionar sobre los productos naturales de hongos con estructuras químicas complejas y con la simetría que la naturaleza efectuó, podemos reflexionar que faltan nuevas moléculas sintéticas, inspiradas en la biosíntesis de los productos naturales.

BIBLIOGRAFÍA

Beckerle, M.C. (1998). Spatial Control of Actin Filament Review Assembly: Lessons from *Listeria*. *Cell*. 95: 741–748.

Cooper, J.A. (2004). Effects of Cytochalasin and Phalloidin on Actin. *J. Cell Biol.* 105:1473-1478.

Downing H.K. (2000). Structural basis for the interaction of tubulin with proteins and drugs that affect microtubule dynamics. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 16: 89-111

González-Robles, A., Castañón, G., Hernández-Ramírez, V.I., Salazar-Villatoro, L., González-Lázaro, M., Omaña-Molina, M., Talamás-Rohana, P., Martínez-Palomo, A. (2008). *Acanthamoeba castellanii*: Identification and distribution of actin cytoskeleton. *Exp. Parasitol.* 119:411–417.

Gupta, K., Bishop, J., Peck, A., Brown, J., Wilson, L., and Panda, D. (2004) Antimitotic antifungal compound benomyl inhibits brain microtubule polymerization and dynamics and cancer cell proliferation at mitosis, by binding to a novel site in tubulin. *Biochemistry.* 43:6645–6655.

Richards, K. L., Anders, K. R., Nogales, E., Schwartz, K., Downing, K.H., and Botstein, D. (2000). Structure-function relationships in yeast tubulins. *Mol. Biol. Cell.* 11:1887–1903.

Schüler H., Matuschewski K. (2006). Regulation of apicomplexan microfilament dynamics by a minimal set of actin-binding proteins. *Traffic.* 7:1433-14339

Soto-Arredondo, K J., Sandoval-Bernal, G., Shibayama, M., Serrano-Luna, J. J., Sabanero-López, M.(2010). Distribucion de microfilamentos de actina de *A. castellanii* durante la interacción con el huésped. *Enlace, Revista electrónica UG.* No.8 Vol.2

Yahara I., Harada F., Sekita S., Yoshihira K., Natori S. (1982). Correlation between effects of 24 different cytochalasins on cellular structures and cellular events and those on actin *in vitro*. *J. Cell. Biol.* 92:69-78

Udagawa, T., Yuan, J., Panigrahy, D., Chang, Y.H., Shah, J., D'Amato, R.J. (2000). Cytochalasin E, an epoxide containing *Aspergillus*-derived fungal metabolite, inhibits angiogenesis and tumor growth. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 294(2):421-7.