

Efecto del tratamiento con ácido fólico y carboplatino sobre la viabilidad de células no tumorales

Effect of folic acid and carboplatin treatment on the viability of non-tumoral cells

Efeito do tratamento com ácido fólico e carboplatina na viabilidade de células não tumorais

REVISTA ARGENTINA DE
ANTROPOLOGÍA BIOLÓGICA

Volumen 27, Número 1, Artículo 094
Enero-Junio 2025

Editado y aceptado por la editora asociada María Laura Bergel Sanchis, Centro de Estudios en Nutrición Infantil, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Departamento de Salud Comunitaria, Universidad Nacional de Lanús, Argentina.

*Correspondencia a: Gisel Padula, Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, calle 118 y 60 s/n, CP. 1900, La Plata, Argentina. E-mail: giselpadula@yahoo.com.ar

RECIBIDO: 15 de Agosto de 2024

ACEPTADO: 25 de Noviembre de 2024

PUBLICADO: 21 de Febrero de 2025

<https://doi.org/10.24215/18536387e094>

Financiamiento: Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento de la Universidad Nacional de La Plata (Programa de Incentivos No. 11/V288).

e-ISSN 1853-6387

<https://revistas.unlp.edu.ar/raab>

Entidad Editora
Asociación de Antropología Biológica
Argentina

 Sasha T. Manso González^{1,2} |  Rocío C. Gambaro¹ |  Analía I. Seoane^{1,3} |  Gisel Padula^{1,3,4*}

1) Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. **2)** Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA), Argentina. **3)** Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. **4)** Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Resumen

Las células cancerígenas están muy adaptadas y suelen ser resistentes a los agentes antitumorales, lo cual impide una terapia efectiva contra el cáncer. Sin embargo, en estas células se encuentran factores que pueden modificar la respuesta al tratamiento quimioterapéutico. Resultados previos, obtenidos en células tumorales HeLa, demostraron que el ácido fólico (AF) combinado con el carboplatino (CBP) permitía bajar la dosis de CBP utilizada y aumentar la actividad del compuesto platinado. En este sentido, es imprescindible evaluar los efectos de dicho tratamiento en las células sanas. Por este motivo, se analizó el efecto del tratamiento combinado de AF y CBP *in vitro* sobre la viabilidad celular (ensayo MTT) utilizando sangre periférica de mujeres sanas. Los cultivos se realizaron por 48 horas a 37°C, durante las últimas 24 horas se efectuaron los tratamientos: 1. control negativo (CN); 2. control AF (900 nM); 3. control CBP (40,4 mM); 4. control de manitol (ML 40,4 mM); 5. combinado AF-CBP (900 nM-40,4 mM); 6. combinado AF-ML (900 nM-40,4 mM); 7. control positivo (CP etanol 10%). Los cultivos que recibieron la combinación AF-CBP presentaron una viabilidad similar a la observada para el CN. Por el contrario, en los cultivos que recibie-

ron el tratamiento sólo con CBP la viabilidad disminuyó de manera estadísticamente significativa respecto de dicho control. Estos hallazgos podrían resultar un aporte explorando el uso del AF en protocolos basados en agentes platinados, con el fin de reducir las dosis en el tratamiento de pacientes y la aparición de efectos secundarios. Rev Arg Antrop Biol 27(1), 094, 2025. <https://doi.org/10.24215/18536387e094>

Palabras Clave: micronutrientes; agentes quimioterapéuticos; viabilidad celular

Abstract

Cancer cells are highly adaptive and often resistant to antitumor agents, which prevents effective cancer therapy. However, in these cells there are factors that can modify the response to chemotherapy treatment. Previous results, obtained in HeLa tumor cells, demonstrated that folic acid (FA) combined with carboplatin (CBP) allowed lowering the dose of CBP used and increasing the activity of the platinum compound. In this sense, it is essential to evaluate the effects of such treatment on healthy cells. For this reason, the effect of combined FA and CBP treatment *in vitro* on cell viability (MTT assay) in peripheral blood of healthy women was analyzed. Cultures were carried out for 48 hours at 37°C, during the last 24 hours the treatments were carried out: 1. negative control (NC); 2. FA control (900 nM); 3. CBP control (40.4 mM); 4. mannitol control (ML 40.4 mM); 5. combined FA-CBP (900 nM-40.4 mM); 6. combined FA-ML (900 nM-40.4 mM); 7. positive control (PC ethanol 10%). The cultures that received the FA-CBP combination showed a similar viability to that observed for NC. On the contrary, in the cultures that received treatment with CBP only, viability decreased in a statistically significant manner compared to the control. These findings could be a contribution to exploring the use of FA in protocols based on platinum agents, in order to reduce doses in the treatment of patients and the appearance of side effects. Rev Arg Antrop Biol 27(1), 094, 2025. <https://doi.org/10.24215/18536387e094>

Keywords: micronutrients; chemotherapeutic agents; cell viability

Resumo

As células cancerígenas são altamente adaptadas e muitas vezes resistentes a agentes antitumorais, o que impede uma terapia eficaz contra o câncer. Porém, nessas células existem fatores que podem modificar a resposta ao tratamento quimioterápico. Resultados anteriores, obtidos em células tumorais HeLa, demonstraram que o ácido fólico (AF) combinado com a carboplatina (CBP) permitiu diminuir a dose de CBP utilizada e aumentar a atividade do composto de platina. Nesse sentido, é fundamental avaliar os efeitos do referido tratamento nas células saudáveis. Por esta razão, o efeito do tratamento combinado com AF e CBP *in vitro* na viabilidade celular (ensaio MTT) foi analisado utilizando sangue periférico de mulheres saudáveis. Os cultivos foram realizados por 48 horas a 37°C, e nas últimas 24 horas foram realizados os tratamentos: 1. controle negativo (CN); 2. controle de AF (900 nM); 3. controle de CBP (40,4 mM); 4. controle de manitol (ML 40,4 mM); 5. AF-CBP combinado (900 nM-40,4 mM); 6. AF-ML combinado (900 nM-40,4 mM); 7. controle positivo (etanol CP 10%). As culturas que receberam a combinação AF-CBP apresentaram viabilidade semelhante à observada para CN. Pelo contrário, nas culturas que receberam tratamento apenas com CBP, a viabilidade diminuiu de forma estatisticamente significativa em comparação com o referido controle.

Esses achados poderiam ser uma contribuição ao explorar o uso de AF em protocolos baseados em agentes de platina, a fim de reduzir doses no tratamento de pacientes e o aparecimento de efeitos colaterais. *Rev Arg Antrop Biol* 27(1), 094, 2025. <https://doi.org/10.24215/18536387e094>

Palavras-Chave: micronutrientes; agentes quimioterápicos; viabilidade celular

El cáncer es un conjunto de enfermedades que se pueden originar en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo, cuando un grupo de células anormales crecen y se multiplican de forma descontrolada (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2024a). Las células cancerígenas tienen una gran capacidad de adaptación, por eso suelen desarrollar resistencia a los agentes antitumorales, lo cual es un impedimento para una terapia efectiva contra el cáncer.

Los pacientes con cáncer pueden experimentar malnutrición asociada a la enfermedad, no solo en relación a los macronutrientes que proporcionan energía (carbohidratos, proteínas y grasas), sino también a los micronutrientes biocatalíticos e inmunomoduladores. A su vez, el requerimiento de micronutrientes puede verse aumentado debido a los efectos adversos de los tratamientos de quimio o radioterapia (Gröber *et al.*, 2016). A causa de la importancia de los micronutrientes, se han llevado a cabo numerosos estudios específicos para comprender su rol durante el desarrollo de la enfermedad e implementar la suplementación con los mismos como una línea de apoyo en el tratamiento contra el cáncer. En este contexto, la terapia nutricional resulta vital en el cuidado integral del tratamiento de la enfermedad, tanto para procurar compensar la deficiencia de nutrientes como para beneficiar el curso del tratamiento (Gröber *et al.*, 2016; Ströhle *et al.*, 2010; Whiteside *et al.*, 2004).

El ácido fólico (AF) es una vitamina del complejo B (B9) derivada de la pteridina, unido a través de un puente metileno a una molécula de ácido paraaminobenzoico conjugado con una o varias moléculas de ácido glutámico. Los mamíferos pueden sintetizar todos los componentes de esta vitamina, pero no poseen las enzimas precursoras capaces de unir sus componentes, por ello deben adquirirlo a través de la dieta. Se ha observado que los niveles de AF son bajos en pacientes con cáncer, especialmente en aquellos con cáncer avanzado (Concha-Cisternas *et al.*, 2020).

El cáncer del cuello del útero (CCU) es el cuarto cáncer más frecuente entre las mujeres de todo el mundo (OMS, 2024b). A pesar de los avances, el CCU recurrente, persistente o avanzado es un mal respondedor a las modalidades de tratamiento actual. Este tipo de neoplasia se origina de manera escalonada a partir de lesiones precursoras displásicas que son iniciadas por infecciones persistentes por ciertos tipos del virus del papiloma humano (HPV) (Zur Hausen, 1996). En las lesiones cervicales precursoras, el HPV existe principalmente en forma episomal, mientras que en los carcinomas cervicales el ADN viral se encuentra principalmente de forma integrada al genoma celular. Estos eventos de integración se dan en secuencias específicas del genoma viral, principalmente en su región E2, interrumpiendo la secuencia de este gen, que actúa como regulador negativo de la expresión de los oncogenes virales (Pett y Coleman, 2007).

El carboplatino (CBP) es una droga de segunda generación introducida a finales del siglo XX como agente quimioterapéutico; sus ventajas con respecto al cisplatino consisten en que posee menos efectos secundarios y baja neurotoxicidad, pero también menor

efectividad (Cohen y Lippard, 2001; Ji *et al.*, 2015). El CBP puede entrar a las células por difusión pasiva o por endocitosis a través de un transportador de cobre (Shen *et al.*, 2012). Una vez dentro de la célula su principal blanco celular es el ADN, allí se une al nitrógeno de las bases generando puentes cruzados intracadena y bloqueando la replicación y transcripción (Szeffler *et al.*, 2021). A pesar de que el cisplatino es el tratamiento estándar para CCU, los efectos adversos significativos limitan su uso en ciertos pacientes (Keys *et al.*, 1999; Morris *et al.*, 1999; Rose *et al.*, 1999; Whitney *et al.*, 1999). Por su parte, el CBP ha demostrado una actividad antitumoral y un espectro de acción similares al cisplatino cuando se utiliza combinado con otros compuestos (Ho *et al.*, 2016; Lokich y Anderson, 1998; Moore *et al.*, 2007; Muggia, 1989).

Teniendo en cuenta que la resistencia a los agentes antitumorales es uno de los impedimentos principales para una terapia efectiva contra el cáncer, es importante considerar la acción de factores moduladores de esta respuesta. Existen evidencias clínicas y experimentales que muestran que en células tumorales humanas se encuentran factores que modulan la respuesta al tratamiento quimioterapéutico (Singh *et al.*, 2019). Entre ellos, se ha visto que un aumento en la internalización de AF puede participar en el control de la proliferación celular modificando la respuesta de los agentes quimioterapéuticos (Liu *et al.*, 2016). De hecho, los conjugados entre AF y agentes quimioterapéuticos se están utilizando como prometedores agentes en terapia anticancerígena (Choi y Mason, 2000; Singh *et al.*, 2019). Algunos autores observaron que el receptor de folato esta sobreexpresado en varias células de cáncer epitelial humano y casi no se expresa en células sanas; la línea celular HeLa, en particular, presenta una fuerte expresión del receptor de folato (Ji *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2006). En general, los tipos agresivos de cáncer poseen mayores cantidades de este receptor (Hansen *et al.*, 2015).

En la terapia contra el cáncer, los agentes dirigidos molecularmente tienen el potencial de maximizar la eficacia antitumoral mientras minimizan la toxicidad relacionada con el tratamiento, bajo esta línea se estudia la posibilidad del uso de algunos micronutrientes como agentes dirigidos, aunque equilibrar la necesidad de destruir células cancerosas y preservar el tejido sano y los procesos fisiológicos normales es un desafío (Ledermann *et al.*, 2015). Resultados previos obtenidos en nuestro grupo de trabajo, sobre células tumorales HeLa, demostraron que el AF (900 nM) combinado con CBP (40,4 mM) aumentó la actividad del compuesto platinado, incrementando su efecto sobre la muerte celular cerca de un 20% (Nikoloff *et al.*, 2016). Dada la importancia de encontrar agentes tumorales que actúen sobre las células anormales sin dañar el tejido sano, el objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del AF como modulador del agente quimioterapéutico CBP sobre la viabilidad celular en células de sangre periférica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo celular

El trabajo se desarrolló utilizando sangre periférica entera cultivada *in vitro*. Luego del consentimiento informado, se obtuvo una muestra de sangre de mujeres donantes sanas, de entre 30 y 50 años de edad, por punción venosa con jeringa heparinizada. Los protocolos *in vitro* no han establecido un número mínimo de donantes, pero considerando el volumen sanguíneo necesario para llevar a cabo las experiencias se muestrearon 10 individuos para desarrollar el estudio preclínico. La sangre entera se cultivó a 37°C durante 48 hs en frascos con medio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), suplementado

con 10% de suero bovino fetal (NATOCOR, Córdoba), antibióticos (60 UI Penicilina y 50 µg/ml Estreptomina) (Bagó Laboratorio, Buenos Aires, Argentina) y fitohemaglutinina (100 µg/ml) (GibcoThermo Fisher Scientific, Buenos Aires, Argentina).

Diseño experimental

Los ensayos *in vitro* proveen información rápida acerca de los efectos de un determinado compuesto o agente. En particular, el modelo *in vitro* de cultivo de sangre periférica es muy eficaz para determinar el efecto de los micronutrientes sobre el daño genómico y la citotoxicidad (Fenech, 2010; Kimura *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2009). Este modelo es esencial para definir la concentración óptima y el límite superior más seguro de los micronutrientes (Fenech, 2010).

A las 24 hs de iniciados los cultivos, según las especificaciones mencionadas en el apartado anterior, se realizaron los tratamientos como se detalla a continuación: 1. control negativo (CN): cultivo sin tratar; 2. control AF: 900 nM de AF; 3. control CBP: 40,4 mM de CBP; 4. control manitol (ML): 40,4 mM de ML; 5. combinado AF-CBP: 900 nM de AF y 40,4 mM de CBP; 6. combinado AF-ML: 900 nM de AF y 40,4 mM de ML; 7. control positivo (CP): etanol 10%. La viabilidad celular se analizó a través del ensayo MTT.

Ensayo de viabilidad celular: *thiazolyl blue tetrazoliumbromide 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide* MTT

Se trata de un ensayo colorimétrico donde, bajo determinadas condiciones, la enzima NAD(P)H puede reflejar el número de células viables. Esta enzima es capaz de reducir el colorante *thiazolyl blue tetrazoliumbromide* MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, un compuesto perteneciente a la familia de sales de tetrazolio soluble en agua y con color amarillo, a su forma reducida que es insoluble y se denomina formazán, la cual es de color púrpura. Cuanto más oscura sea la disolución, mayor será el número de células metabólicamente activas viables y mayor será el valor referido de la absorbancia. Para la cuantificación se adiciona un disolvente orgánico, como DMSO (dimetilsulfóxido), y se mide por espectrofotometría a 550 nm. La actividad metabólica de las células incluye la de las enzimas deshidrogenasas. Se considera que la acción sobre el MTT se debe principalmente a las deshidrogenasas mitocondriales, en particular la enzima succinato deshidrogenasa, pero también pueden intervenir reductasas citosólicas o de otros compartimentos subcelulares. Este método ha sido muy utilizado para medir supervivencia y proliferación celular; y se utiliza también para evaluar citotoxicidad (pérdida de viabilidad celular) o actividad citostática (paso del estado proliferativo al de descanso) de agentes o sustancias potencialmente tóxicas (Gambaro *et al.*, 2022).

Transcurridas las 48 hs de cultivo se trasvasó el contenido del frasco a un tubo y se centrifugó por 10 minutos a 1200 rpm. Luego se retiraron los glóbulos rojos con un *buffer* de lisis ACK. Posteriormente, se realizó una nueva centrifugación y se efectuaron dos lavados con PBS. Se dejó 1 ml de suspensión celular, se agregaron 240 µl de la solución stock MTT y se incubó por 3 hs a 37°C en oscuridad. Luego se centrifugó y retiró el MTT, se adicionó 1 ml de DMSO y se sembraron 100 µl por pocillo en una placa de 96. Se realizó la lectura a 550 nm en un espectrofotómetro con lector de placas (*Multiskan™go - Thermo Fisher Scientific*). Con esta técnica, se valora al control negativo como punto de referencia con 100% de viabilidad.

Análisis estadístico

Se realizaron 3 repeticiones y se calcularon los promedios y desviaciones estándar de los porcentajes de viabilidad. Debido a que la viabilidad siguió una distribución normal, determinada por la curtosis, se utilizó la prueba de ANOVA simple para el análisis estadístico. Posteriormente, se realizó el contraste de múltiples rangos a través del método LSD de Fisher. Se empleó el programa Statgraphics® 5.1(1994) considerando un $p < .05$.

RESULTADOS

En la [Tabla 1](#) se observan las concentraciones de CBP, AF y ML, solos y en las combinaciones establecidas, así como los valores promedios de las absorbancias obtenidas en las 3 tandas experimentales. En la [Figura 1](#) se presentan los resultados correspondientes a los porcentajes de viabilidad promedio producto de los tratamientos con CBP, AF, ML y sus combinaciones.

Debido a que los datos presentaron una distribución normal (curtosis total 1,59266) se realizó el análisis de ANOVA Simple, encontrándose diferencias estadísticamente signifi-

TABLA 1. Concentraciones de ácido fólico, carboplatino, manitol y las respectivas combinaciones; valores promedio de absorbancia.

Tratamientos	Concentraciones	Absorbancia
CN	-	0,379
AF	900 nM	0,383
CBP	40,4 mM	0,353
ML	40,4 mM	0,378
AF-CBP	900 nM/40,4 mM	0,386
AF-ML	900 nM/40,4 mM	0,437
CP	etanol 10%	0,2

Control negativo (CN), Ácido Fólico (AF), Carboplatino (CBP), Manitol (ML), Ácido Fólico-Carboplatino (AF-CBP), Ácido Fólico-Manitol (AF-ML), Control Positivo (CP).

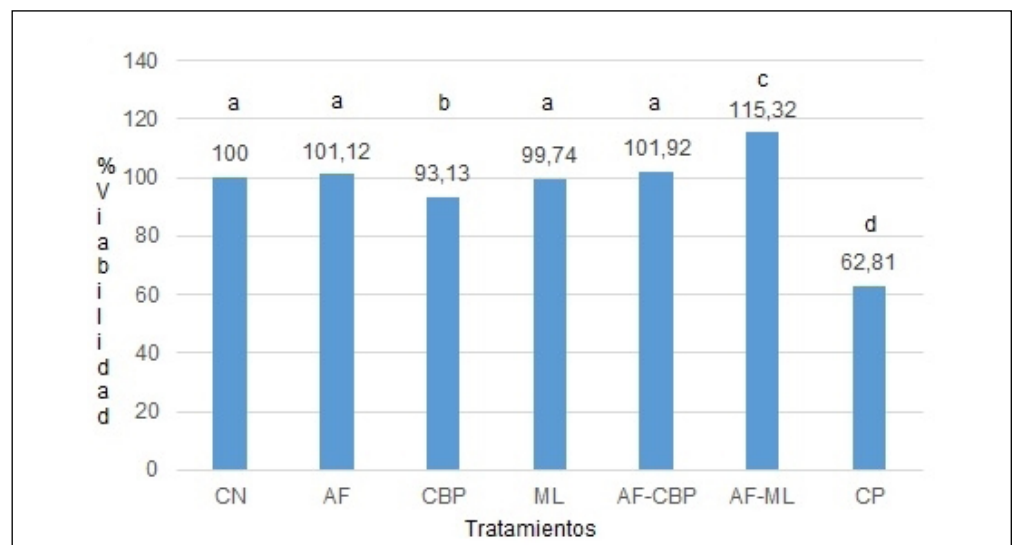


FIGURA 1. Porcentajes de viabilidad celular (%Viabilidad) en sangre periférica humana tratada con CBP (carboplatino), AF (ácido fólico) y su combinación. Se puede observar que quedaron conformados 4 grupos homogéneos, a través del método LSD de Fisher: a) CN (control negativo), AF-ML (control manitol) y AF-CBP; b) CBP; c) AF-ML; d) CP (control positivo).

ficativas entre las medias ($F= 119,14; p < .001$). Posteriormente, a través del método LSD de Fisher, quedaron conformados 4 grupos homogéneos: a) CN, AF, ML y AF-CBP; b) CBP; c) AF-ML; d) CP. De este modo, se pudo observar que la viabilidad celular de los cultivos que recibieron la combinación de AF-CBP presentaron valores semejantes a los del CN. Es decir, no hubo una disminución de la viabilidad celular debido al tratamiento combinado AF-CBP ($p > .05$). Por el contrario, en los cultivos que recibieron el tratamiento sólo con CBP la viabilidad disminuyó de manera estadísticamente significativa, no sólo respecto de dicho control sino de casi todos los cultivos ($p < .05$), excepto del CP. El control de ML (edulcorante utilizado en la elaboración y comercialización del CBP) presentó una viabilidad semejante a la del CN ($p > .05$). Por su parte, el combinado AF-ML mostró una viabilidad significativamente aumentada respecto de todos los demás cultivos ($p < .05$).

DISCUSIÓN

El objetivo del presente trabajo consistió en la determinación de la viabilidad celular en linfocitos de sangre periférica tratados con AF (900 nM) y CBP (40,4 mM). Estas dosis fueron establecidas en un trabajo previo llevado a cabo por el mismo grupo de investigación, con ensayos realizados sobre células HeLa. En dicha investigación se demostró que el AF combinado con el CBP permitía, por un lado, bajar la dosis de CBP utilizada y, por el otro, aumentar la actividad del compuesto platinado en HeLa, incrementado su efecto sobre la muerte celular cerca de un 20% (Nikoloff *et al.*, 2016). Estos resultados fueron consistentes con los observados por otros autores en células HeLa utilizando nanopartículas conteniendo CBP y AF (Ji *et al.*, 2015; Wang, 2020). Esto se debe a la formación espontánea del complejo AF-CBP que ingresa fácilmente a la célula a causa de la sobreexpresión de los receptores de folato en las células tumorales, especialmente en HeLa (Luangwattanun *et al.*, 2022; Wang, 2020; Zhang *et al.*, 2006) y otros tumores agresivos (Hansen *et al.*, 2015). El AF puede unirse al receptor de folato con alta afinidad y entrar en las células malignas por endocitosis mediada por el receptor y, de esta manera, evita ser endocitado por aquellas células sanas que expresan un bajo nivel del receptor (Wang, 2020).

Para que dicho tratamiento sea efectivo es necesario corroborar que, además de actuar de manera eficiente sobre las células cancerosas, sea inocuo en tejidos sanos. En este sentido, al evaluar la viabilidad celular de los cultivos de sangre periférica *in vitro*, el tratamiento combinado AF-CBP presentó porcentajes semejantes a los del CN. De este modo, se puede corroborar que las células sanas no sufrieron una disminución de la viabilidad, a diferencia de lo que sucedió en las células tumorales que recibieron el tratamiento combinado en el estudio previo (Nikoloff *et al.*, 2016). Por el contrario, al realizar el tratamiento de los cultivos sólo con el quimioterapéutico (CBP), se observó una disminución significativa de la viabilidad celular respecto de los controles empleados (CN, AF, ML) y los combinados (AF-CBP y AF-ML). El control de ML presentó una viabilidad semejante a la del CN y significativamente aumentada respecto del control de CBP. De este modo, se puede apreciar que la disminución en la viabilidad provocada por el CBP se debe a la droga en sí y no al excipiente utilizado en su fabricación. Es importante destacar que la menor viabilidad se encontró en el CP, lo cual se corresponde con el daño esperado para dicho tratamiento control.

Las células HeLa muestran una expresión significativa del receptor de folato, pero esta distribución se ve restringida en células de tejido sano, debido a que la mayoría de las células de mamífero obtienen sus requerimientos normales de folato a través de un transportador de folato reducido de baja afinidad o un transportador de folato acoplado

a protones, y estos receptores se expresan normalmente en cantidades significativas sólo en células cancerosas, macrófagos activados y las células del túbulo proximal del riñón (Liu *et al.*, 2016). La sobreexpresión de este receptor puede haber evolucionado como consecuencia de su aumento en la necesidad de ácido fólico en las células tumorales, esencial en la síntesis de bases de nucleótidos para la proliferación celular. Debido a que el folato suele ser un nutriente limitante en el suero humano, la regulación al alza de un receptor de alta afinidad en las células cancerosas puede permitirles competir de manera más agresiva por la vitamina (Xia y Low, 2010; Zhang *et al.*, 2006). En distintos trabajos se utilizó al ácido fólico para dirigir una variedad de agentes terapéuticos destinados al tratamiento de diversas enfermedades malignas en una amplia gama de aplicaciones que incluyen toxinas proteicas, agentes quimioterapéuticos, inmunoterapia, terapia de genes, nanopartículas, liposomas y más (Barata, 2008; Batra y Devasagayam, 2009; Ceresoli *et al.*, 2006; Conklin, 2000; Garin *et al.*, 2008; Ledermann *et al.*, 2015; Simon *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2019; Young *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2010; Zinner *et al.*, 2005).

En este contexto, el uso de AF como modulador de la respuesta celular frente al CBP en cáncer del cuello del útero fue comprobado tanto *in vivo* como *in vitro* (Chaudhury *et al.*, 2012; Ji *et al.*, 2015; Nikoloff *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2019; Wang, 2020; Xia y Low, 2010). A pesar de estos avances, es importante destacar que la información sobre el uso del AF en combinación directa con CBP es inexistente en lo que respecta a su impacto en células sanas. Esto es particularmente relevante dado que la minimización del daño a las células sanas es crucial para mejorar la calidad de vida de los pacientes durante el tratamiento del cáncer. De esta manera, el presente trabajo es el primero donde se evalúa el efecto modulador del AF en el tratamiento con CBP sobre la viabilidad de linfocitos de sangre periférica humana. Este trabajo presenta las limitaciones inherentes a los estudios *in vitro*, por otra parte, como se trata de una investigación preliminar será necesario llevar a cabo otros estudios preclínicos donde se desarrollen técnicas que permitan evaluar el daño genético del tratamiento combinado en células sanas.

CONCLUSIONES

Estos hallazgos podrían resultar un aporte científico en relación a la utilización del AF en protocolos basados en quimioterapia con agentes platinados con el fin de reducir las dosis en el tratamiento de pacientes y, consecuentemente, la aparición de efectos secundarios que producen un daño sobre los tejidos sanos. De todos modos, es necesario continuar realizando estudios preclínicos *in vitro* donde se analicen los efectos cito y genotóxicos en células sanas para poder arribar a conclusiones más certeras respecto de la inocuidad del tratamiento AF-CBP. Estos estudios podrían ser el fundamento para que otros grupos de trabajo lleven adelante investigaciones clínicas que permitan definir la factibilidad y beneficios de la co-suplementación con AF en el tratamiento con CBP del cáncer del cuello del útero.

CONTRIBUCIONES DE LAS AUTORAS

Sasha T. Manso González: Análisis formal (principal); Investigación (principal); escritura – borrador original (igual). Rocío C. Gambaro: Análisis formal (colaboradora); Investigación (colaboradora). Analía I. Seoane: Conceptualización (directora); redacción – revisión y edición (apoyo). Gisel Padula: Conceptualización (directora); Escritura – borrador original (igual); Redacción – revisión y edición (principal).

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a la UNLP por el financiamiento recibido. Asimismo, agradecemos la colaboración técnica del Sr. César Bianchi.

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras declaran no tener ningún conflicto de intereses.

LITERATURA CITADA

- Barata, F. (2008). Pemetrexed em segunda linha no carcinoma do pulmão de não pequenas células [Pemetrexed de segunda línea en el carcinoma pulmonar de células no pequeñas]. *Revista Portuguesa de Pneumología*, 14(2), S21-26. [https://doi.org/10.1016/S0873-2159\(15\)30311-1](https://doi.org/10.1016/S0873-2159(15)30311-1)
- Batra, V. y Devasagayam, T. P. A. (2009). Interaction between cytotoxic effects of γ -radiation and folate deficiency in relation to choline reserves. *Toxicology*, 255(1-2), 91-99. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.10.008>
- Ceresoli, G. L., Zucali, P. A., Favaretto, A. G., Grossi, F., Bidoli, P., Del Conte, G., Ceribelli, A., Bearz, A., Morengi, E., Cavina, R., Marangolo, M., Soto Parra., H. J. y Santoro, A. (2006). Phase II study of pemetrexed plus carboplatin in malignant pleural mesothelioma. *Journal of Clinical Oncology*, 24(9), 1443-1448. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.3190>
- Chaudhury, A., Das, S., Bunte, R. M. y Chiu, G. N. C. (2012). Potent therapeutic activity of folate receptor-targeted liposomal carboplatin in the localized treatment of intraperitoneally grown human ovarian tumor xenograft. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 739-751. <https://doi.org/10.2147/IJN.S26172>
- Choi, S.-W. y Mason, J. B. (2000). Folate and carcinogenesis: An integrated scheme. *The Journal of Nutrition*, 130(2), 129-132. <https://doi.org/10.1093/jn/130.2.129>
- Cohen, S. M. y Lippard, S. J. (2001). Cisplatin: From DNA damage to cancer chemotherapy. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 67, 93-130. [https://doi.org/10.1016/s0079-6603\(01\)67026-0](https://doi.org/10.1016/s0079-6603(01)67026-0)
- Concha-Cisternas, Y., Martínez-Sanguinetti, M. A., Leiva, A. M., Garrido-Méndez, A., Matus-Castillo, C., Díaz-Martínez, X., Salas, C., Ramírez-Alarcón, K., Martorell, M., Cigarroa, I., Lassare-Laso, N., Troncoso, C., de Moraes Ferrari, G. L., Labraña, A. M., Parra, S., Petermann-Rocha, F. y Celis-Morales, C. (2020). Nivel de actividad física y sedentarismo en personas con diagnóstico de cáncer en Chile. *Revista Médica de Chile*, 148(2), 168-177. <http://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872020000200168>
- Conklin, K. A. (2000). Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: Impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutrition and Cancer*, 37(1), 1-18. https://doi.org/10.1207/S15327914NC3701_1
- Fenech, M. F. (2010). Dietary reference values of individual micronutrients and nutriones for genome damage prevention: current status and a road map to the future. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1438S-1454S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674D>
- Gambaro, R. C., Seoane, A. y Padula G. (2023). Vitamin E protective effects on genomic and cellular damage caused by pediatric preventive supplementation for anaemia: An experimental model. *British Journal of Nutrition*, 129(3), 468-477. <https://doi.org/10.1017/S0007114522001556>
- Garin, A., Manikhas, A., Biakhov, M., Chezhin, M., Ivanchenko, T., Krejcy, K., Karaseva, V. y Tjulandin, S. (2008). A phase II study of pemetrexed and carboplatin in patients with locally advanced or metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 110(2), 309-315. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9722-5>
- Gröber, U., Holzhauer, P., Kisters, K., Holick, M. F. y Adamietz, I. A. (2016). Micronutrients in oncological intervention. *Nutrients*, 8(3), 163. <https://doi.org/10.3390/nu8030163>
- Hansen, M. F., Greibe, E., Skovbjerg, S., Rohde, S., Kristensen, A. C. M., Jensen T. R., Stentford, C., Kjær, K. H., Kronborg, C. S. y Martensen, P. M. (2015). Folic acid mediates activation of the pro-oncogene STAT3 via the Folate Receptor alpha. *Cellular Signalling*, 27(7), 1356-1368. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2015.03.020>

- Ho, G.-Y., Woodward, N. y Coward, J. I. G. (2016). Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 102, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.03.014>
- Ji, J., Zuo, P. y Wang, Y.-L. (2015). Enhanced antiproliferative effect of carboplatin in cervical cancer cells utilizing folate-grafted polymeric nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 10, 453. <https://doi.org/10.1186/s11671-015-1162-2>
- Keys, H. M., Bundy, B. N., Stehman, F. B., Muderspach, L. I., Chafe, W. E., Suggs, C. L., III, Walker, J. L. y Gersell, D. (1999). Cisplatin, radiation, and adjuvant hysterectomy compared with radiation and adjuvant hysterectomy for bulky stage IB cervical carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, 340(15), 1154-1161. <https://doi.org/10.1056/nejm199904153401503>
- Kimura, M., Umegaki, K., Higuchi, M., Thomas, P. y Fenech, M. (2004). Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. *The Journal of Nutrition*, 134(1), 48-56. <https://doi.org/10.1093/jn/134.1.48>
- Ledermann, J. A., Canevari, S. y Thigpen, T. (2015). Targeting the folate receptor: Diagnostic and therapeutic approaches to personalize cancer treatments. *Annals of Oncology*, 26(10), 2034-2043. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv250>
- Liu, Y., Pu, Y., Sun, L., Yao, H., Zhao, B., Zhang, R. y Zhang, Y. (2016). Folic acid functionalized γ -cyclodextrin C₆₀, a novel vehicle for tumor-targeted drug delivery. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 12(7), 1393-1403. <https://doi.org/10.1166/jbn.2016.2275>
- Lokich, J. y Anderson, N. (1998). Carboplatin versus cisplatin in solid tumors: an analysis of the Literature. *Annals of Oncology*, 9(3), 13-21.
- Luangwattananun, P., Chiraphaphaiboon, W., Thuwajit, C., Junking, M. y Yenchitsomanus, P.-T. (2022). Activation of cytotoxic T lymphocytes by self-differentiated myeloid-derived dendritic cells for killing breast cancer cells expressing folate receptor Alpha protein. *Bioengineered*, 13(6), 14188-14203. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2084262>
- Moore, K. N., Herzog, T. J., Lewin, S., Giuntoli, R. L., Armstrong, D. K., Rocconi, R. P., Spannuth, W. A. y Gold, A. M. (2007). A comparison of cisplatin/paclitaxel and carboplatin/paclitaxel in stage IVB, recurrent or persistent cervical cancer. *Gynecologic Oncology*, 105(2), 299-303. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.12.031>
- Morris, M., Eifel, P. J., Lu, J., Grigsby, P. W., Levenback, C., Stevens, R. E., Rotwan, M., Gershenson, D. M. y Mutch, D. G. (1999). Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *The New England Journal of Medicine*, 340(15), 1137-1143. <https://doi.org/10.1056/nejm199904153401501>
- Muggia, F. M. (1989). Overview of carboplatin: replacing, complementing, and extending the therapeutic horizons of cisplatin. *Seminars in Oncology*, 16(2 Suppl. 5), 7-13.
- Nikoloff, N., Ponzinibbio, M. V., Padula, G., De Luca, J. C., Golijow, C. D. y Seoane, A. (2016). Folic acid enhances the apoptotic and genotoxic activity of carboplatin in HeLa cell line. *Toxicology in Vitro*, 37, 142-147. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.09.019>
- Organización Mundial de la Salud. (10 de agosto de 2024a). *Cáncer*. https://www.who.int/es/health-topics/cancer#tab=tab_1
- Organización Mundial de la Salud. (10 de agosto de 2024b). *Cáncer cervicouterino*. https://www.who.int/es/health-topics/cervical-cancer#tab=tab_1
- Pett, M. y Coleman, N. (2007). Integration of high-risk human papillomavirus: A key event in cervical carcinogenesis? *The Journal of Pathology*, 212(4), 356-367. <https://doi.org/10.1002/path.2192>
- Rose, P. G., Bundy, B. N., Watkins, E. B., Thigpen, J. T., Deppe, G., Maiman, M. A., Clarke-Pearson, D. L. y In-salaco, S. (1999). Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *The New England Journal of Medicine*, 340(15), 1144-1153. <https://doi.org/10.1056/nejm199904153401502>

- Shen, D.-W., Pouliot, L. M., Hall, M. D. y Gottesman, M. M. (2012). Cisplatin resistance: A cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes. *Pharmacological Reviews*, 64(3), 706-721. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005637>
- Simon, G. R., Manegold, C., Barker, S. S., Treat, J. A., Visseren-Grul, C. y Obasaju C. (2013). Pemetrexed use in the adjuvant setting for completely resectable non-small-cell lung cancer. *Clinical Lung Cancer*, 14(6), 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2013.06.001>
- Singh, N., Baldi, M., Kaur, J., Muthu, V., Prasad, K. T., Behera, D., Bal, A., Gupta, N. y Kapoor R. (2019). Timing of folic acid/vitamin B12 supplementation and hematologic toxicity during first-line treatment of patients with nonsquamous non-small cell lung cancer using pemetrexed-based chemotherapy: The PEMVITASTART randomized trial. *Cancer*, 125(13), 2203-2212. <https://doi.org/10.1002/cncr.32028>
- Stratgraphics (version 5.1). (1994). *Stratgraphics User Manual*. Manugistics Inc.
- Ströhle, A., Zänker, K. y Hahn, A. (2010). Nutrition in oncology: The case of micronutrients (Review). *Oncology Reports*, 24(4), 815-828. <https://doi.org/10.3892/or.2010.815>
- Szefler, B., Czeleń, P. y Krawczyk, P. (2021). The affinity of carboplatin to B-vitamins and nucleobases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3634. <https://doi.org/10.3390/ijms22073634>
- Wang, J. (2020). Combination treatment of cervical cancer using folate-decorated, pH-sensitive, carboplatin and paclitaxel co-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 823-832. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S235098>
- Whiteside, M. A., Heimburger, D. C. y Johannung, G. L. (2004). Micronutrients and cancer therapy. *Nutrition Reviews*, 62(4), 142-147. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2004.tb00036.x>
- Whitney, C. W., Sause, W., Bundy, B. N., Malfetano, J. H., Hannigan, E. V., Fowler, W. C. Jr., Clarke-Pearson, D. L. y Liao, S.-Y. (1999). Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage IIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: A Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology*, 17(5), 1339-1348. <https://doi.org/10.1200/jco.1999.17.5.1339>
- Wu, J., Lyons, G. H., Graham, R. D. y Fenech, M. F. (2009). The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutagenesis*, 24(3), 225-232. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen074>
- Xia, W. y Low, P. S. (2010). Folate-targeted therapies for cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(19), 6811-6824. <https://doi.org/10.1021/jm100509v>
- Young, O., Ngo, N., Lin, L., Stanbery, L., Creeden, J. F., Hamouda, D. y Nemunaitis, J. (2023). Folate receptor as a biomarker and therapeutic target in solid tumors. *Current Problems in Cancer*, 47(1), 100917. <https://doi.org/10.1016/j.currprobcancer.2022.100917>
- Zhang, Q. I., Xiang, G., Zhang, Y., Yang, K., Fan, W. O., Lin, J., Zeng, F. y Wu, J. (2006). Increase of doxorubicin sensitivity for folate receptor positive cells when given as the prodrug N-(phenylacetyl) doxorubicin in combination with folate-conjugated PGA. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95(10), 2266-2275. <https://doi.org/10.1002/jps.20714>
- Zhang, G.-Z., Jiao, S.-C. y Meng, Z.-T. (2010). Pemetrexed plus cisplatin/carboplatin in previously treated locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer patients. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 29, 38. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-29-38>
- Zinner, R. G., Fossella, F. V., Gladish, G. W., Glisson, B. S., Blumenschein, G. R. Jr., Papadimitrakopoulou, V. A., Pisters, K. M. W., Kim, E. S., Oh, Y. W., Peeples, B. O., Zhishen, Y., Curiel, R. E., Obasaju, C. K., Hong, W. K. y Herbst, R. S. (2005). Phase II study of pemetrexed in combination with carboplatin in the first-line treatment of advanced nonsmall cell lung cancer. *Cancer*, 104(11), 2449-2456. <https://doi.org/10.1002/cncr.21480>
- Zur Hausen, H. (1996). Papillomavirus infections—a major cause of human cancers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 1288(2), F55-F78. [https://doi.org/10.1016/0304-419x\(96\)00020-0](https://doi.org/10.1016/0304-419x(96)00020-0)