

Resumen # 183

Efectos de los PUFAs omega-3 en el desarrollo tumoral: posible rol del ER alfa.

¹Vara-Messler M, ¹Pasqualini ME, ¹Silva RA, ¹Quiroga PL, ²Eynard AR, ³Valentich MA

¹Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad Nacional de Córdoba e Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA). Conicet, Argentina; ²Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad Nacional de Córdoba e Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA). Conicet, Argentina.; ³Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad Nacional de Córdoba e Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA). Conicet, Argentina ; Conicet, Argentina.

Área:

Básica

Resumen:

Introducción: El cáncer de mama (CM) es el más frecuente entre las mujeres y el 75% de los casos son estrógeno-dependiente (ER+). La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFAs omega-3), eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), está asociada a menor incidencia de CM, mientras que los PUFAs omega-6, como el ácido araquidónico (AA) se asocian a un aumento. Los PUFAs omega-3 generan eicosanoides y especies reactivas del oxígeno (ROS) que inducirían muerte celular y disminuirían la expresión de ER alfa. Nos propusimos evaluar si DHA disminuye la expresión del ER alfa como un mecanismo regulador de la carcinogénesis.

Materiales y Métodos: Se empleó una línea celular de CM ER+ (MCF-7) y se trató con EPA, DHA o AA (10-100µM). Para determinar el perfil lipídico de las membranas celulares, se utilizó cromatografía gaseosa. El efecto citotóxico se detectó mediante la reducción de bromuro de dimetil difenil tetrazolio (MTT) y para valorar apoptosis/necrosis se realizó una doble marcación de anexina/propidio yodado. La producción de ROS se detectó por citometría y la liberación de eicosanoides por cromatografía líquida de alta presión. La expresión de ER alfa en los lisados celulares se realizó mediante western-blotting.

Resultados: Las células tratadas con PUFAs omega-3 mostraron mayor incorporación de EPA o DHA en sus membranas. DHA disminuyó la vitalidad celular de modo dosis-tiempo dependiente a partir de 30 µM (-44±1,8% p<0,0001) e incrementó la producción de ROS respecto del AA (110±7,8 vs. 140±5,7% IFM p <0,005). Consistentemente, DHA indujo un significativo aumento de la apoptosis (p<0,05) y menor producción de eicosanoides derivados del AA, considerados pro-tumorales. Paralelamente, se observó menor expresión de ER alfa en las células tratadas con DHA de modo tiempo-dependiente, a las 24 y 48h (-10% y -63% respectivamente, p<0,05).

Conclusión: El tratamiento con DHA se asoció a una respuesta antitumoral. El aumento en la producción de ROS fue consistente con la disminución de la vitalidad celular y el aumento del porcentaje de células apoptóticas. A su vez, el DHA disminuyó la expresión de ER alfa. Estos datos sostienen un potencial rol para los PUFAs omega-3 en el tratamiento del CM asociado a la terapia antiestrogénica.

Palabras Clave:

PUFAs, Receptor Estrogeno, Cáncer de mama.

Effects of omega-3 PUFA on breast cancer growth: a possible role for ER alpha.

¹Vara-Messler M, ¹Pasqualini ME, ¹Silva RA, ¹Quiroga PL, ²Eynard AR, ³Valentich MA

¹Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad Nacional de Córdoba e Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA). Conicet, Argentina; ²Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad Nacional de Córdoba e Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA). Conicet, Argentina; Conicet, Argentina.; ³Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad Nacional de Córdoba e Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA). Conicet, Argentina ; Conicet, Argentina.

Abstract:

Background: Breast cancer (BC) is the most common tumour among women worldwide and 75% of them are estrogen receptor (ER)-dependent. Omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFAs) consumption, such as eicosapentaenoic acid (EPA) or docosahexaenoic acid (DHA), have been linked to lower incidence, while omega-6 PUFAs, as arachidonic acid (AA) showed an increase of BC. Based on substrate availability, these PUFAs give rise to different active biomolecules as eicosanoids and reactive oxygen species (ROS), which in turn could induce cell death and affect ER alpha expression. The aim of the study was to determine if DHA could decrease the ER alpha expression as a possible mechanism regulating BC.

Methods: The ER+ BC cell line (MCF-7) was treated with EPA, DHA or AA (10-100µM). PUFAs incorporation was determined by gas chromatography (GC); the cytotoxic effects by reduction of dimethylthiazol-diphenyltetrazolium bromide (MTT); apoptosis by a dual stain with annexin/propidium iodide. ROS generation was assessed by cytometry and eicosanoids release by high pressure liquid chromatography (HPLC) and ER alpha expression from cell lysates was determined by western-blotting (WB).

Results: Cell membranes from cells treated with omega-3 PUFAs, showed a higher percentage of EPA and DHA compared with those treated with omega-6 PUFAs. DHA decreased cell viability in a dose-dependent manner ($-44\pm 1.8\%$ $p<0.0001$), and ROS production was higher in cells challenged with omega-3 with respect to omega-6 PUFAs (110 ± 7.8 vs. $140\pm 5.7\%$ IFM $p<0.005$). Accordingly, a higher rate of apoptotic cells ($p<0.05$) was observed in DHA treatment and also it generated lower amounts of omega-6 pro-tumour eicosanoids. Finally, ER alpha amount was down-regulated by DHA in a time-dependent manner after 24 and 48h (-10% y -63% , respectively $p<0.05$).

Conclusion: DHA incorporation into cell membranes shifted lipid profile towards an anti-tumoral effect. In addition, DHA produced higher ROS amounts with respect to AA. Consistently, DHA decrease viability in a dose-dependent manner and increase apoptosis rates. Finally, DHA profoundly down-regulated ER alpha expression. These data support a potential role for dietary omega-3 PUFAs in BC treatment in association with antiestrogens.

Keywords:

PUFAs, Estrogen Receptor, Breast cancer.