



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas -Programa de Doctorado

Adaptaciones moleculares del metabolismo de vitamina C en cáncer de próstata



KIRSTY JANE SOTOMAYOR MANSFIELD
CONCEPCIÓN-CHILE
2012

Profesor Guía: Coralia I. Rivas Rocco
Dpto. de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

5.- RESUMEN

El siguiente estudio está enfocado en dilucidar los mecanismos de transporte, acumulación y reciclaje de vitamina C en cáncer de próstata, y establecer una relación entre las variaciones en éstos procesos y el progreso tumoral. Para ello, se utilizaron diversas líneas celulares que fueron obtenidos de próstata normal, y diferentes etapas de metástasis de cáncer de próstata. Adicionalmente, se complementó el estudio con análisis histológicos.

Los resultados de los experimentos de transporte revelaron que las células de origen prostáticas transportan ambos estados redox de la vitamina C, con excepción de la línea LNCaP que solo transporta ácido deshidroascórbico. El análisis de las constantes cinéticas para el transporte de ácido ascórbico y ensayos de RT-PCR utilizando partidores específicos permitieron establecer que el transporte de ácido ascórbico en las líneas RWPE-1 y PC-3 es mediado por SVCT1 y SVCT2, en tanto que en las células DU-145 el transporte de ácido ascórbico es mediado principalmente por SVCT1. A excepción de la línea LNCaP, la capacidad para transportar ácido ascórbico es mayor en células tumorales y correlaciona con el grado del tumor primario de la cual se derivó cada línea.

Adicionalmente, ensayos de inmunocitoquímica en las líneas celulares mostraron una localización principalmente intracelular para SVCT2. Este resultado fue confirmado por ensayos de inmunocitoquímica doble con el marcador COX IV donde se estableció una localización mitocondrial para SVCT2.

El análisis de las constantes cinéticas para el transporte de ácido deshidroascórbico y desoxiglucosa, además de ensayos por RT-PCR, permitieron establecer que el transporte

de ácido deshidroascórbico es mediado por más de un transportador, entre las cuales se encuentra GLUT1. La capacidad para transportar ácido deshidroascórbico y desoxiglucosa es menor en células tumorales que en células RWPE-1.

Los ensayos de acumulación revelaron que las células benignas y tumorales de próstata acumulan elevadas concentraciones intracelulares de vitamina C. La acumulación de ácido ascórbico es llevada a cabo en las líneas celulares mediante enzimas dependientes de glutatión y enzimas dependientes de NADPH, con excepción de las células LNCaP que acumulan de manera independiente de glutatión. Los ensayos de RT-PCR y de western blot sugieren que la acumulación de ácido ascórbico es mediado por un gran número de reductasas, no obstante el análisis de las constantes cinéticas sugieren la participación principalmente de Grx1 y TrxR1.

Ensayos de acumulación y reciclaje en células HEK-293 sobreexpresadas con DHA reductasas dependientes de glutatión y dependientes de NADPH revelaron un efecto positivo de los niveles de reductasas sobre la velocidad de reducción intracelular de DHA, especialmente de TrxR1.

Por otra parte, análisis inmunohistoquímicos en tumores de próstata permitieron establecer la expresión de SVCT1 y SVCT2, y observar una correlación entre la expresión de SVCT2 y el grado Gleason. Mas aún, ensayos de doble inmunocitoquímica con anticuerpos para COX IV y SVCT2 permitieron establecer la localización mitocondrial de SVCT2 en estos tejidos tumorales. Análisis inmunohistoquímicos realizados para determinar la presencia de GLUT1 revelaron una expresión moderada en tejidos benignos y una expresión de moderada a alta en un 10 % de las muestras, la mayoría de grados

Gleason 4 y 5. Finalmente el análisis de la expresión de TrxR1 reveló una baja expresión de TrxR1 en tejido benigno y una alta expresión en un 20% de los tejidos tumorales.

Concluimos que las variaciones en el transporte, acumulación y reciclaje de la vitamina C asociados al progreso tumoral reflejan la adaptación de la célula tumoral para protegerse de los efectos del proceso fisiopatológico del cual forman parte y que se caracteriza por un alto nivel de estrés oxidativo.

