

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



Expresión Diferencial de Transportadores de Vitamina C en Cáncer de Mama

Tesis de Magister presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción como parte de los requisitos para optar al Grado de Magister en Ciencias Mención Fisiología

por

Eduardo Andrés Peña Alarcón

CONCEPCIÓN - CHILE

2011

RESUMEN

La vitamina C es un agente antioxidante que participa en la neutralización de radicales libres, incluyendo las especies reactivas del oxígeno (ROS) producto del metabolismo celular mitocondrial. En patologías como el cáncer existe una mayor producción de ROS, asociado a la generación de un estado de estrés oxidativo aumentado. En cáncer de mama, los estrógenos y sus receptores (RE) participan en la mantención del equilibrio redox, siendo capaz de aumentar o disminuir la expresión de distintas enzimas y proteínas antioxidantes localizadas en la mitocondria, además de activar la transcripción de genes que desencadenan la proliferación celular. Los cánceres de mama RE positivos (RE(+)) son generalmente de buen pronóstico y dependen de la acción de los estrógenos para proliferar, por lo cual reaccionan positivamente a tratamiento hormonal. Nos preguntamos si la vitamina C modula la fisiopatología de la célula cancerosa, incluyendo un posible papel en la resistencia al estrés oxidativo, y si esto estaría relacionado con la expresión del RE y la acción de los estrógenos.

En esta tesis se analizó la expresión y localización subcelular de los transportadores de ácido ascórbico, SVCTs, y su relación con la expresión de RE, en tejido mamario humano normal y tumoral. Además se estudió el efecto de tratamiento con estrógenos en tres líneas celulares de cáncer de mama, ZR-75, MCF-7 y MDA 231. Estudios de inmunocitoquímica en las líneas celulares permitieron establecer una localización intracelular de los SVCTs, sin evidencia de localización a nivel de la membrana plasmática. Inmunocitoquímica de doble marcaje con anticuerpos contra SVCT2 y contra tres marcadores para organelos, COX IV (mitocondria), PDI (retículo endoplásmico) y Golgi 58k (aparato de Golgi), reveló que SVCT2 es un transportador de localización mitocondrial, ya que se observó colocalización con COX IV pero no con PDI o Golgi 58k.

Estudios de inmunohistoquímica realizados en tejido de mama normal y de cáncer de mama demostraron una escasa presencia SVCT1 en ambos tipos de tejido. En relación a SVCT2, se observó escasa expresión en tejido mamario normal y expresión aumentada en muestras de cáncer mamario, con un claro patrón de tinción intracelular y ausencia de tinción a nivel de la membrana plasmática. Al asociar la expresión de SVCT2 con la expresión de distintos marcadores tumorales (receptor de estrógeno, receptor de progesterona y p53) encontramos que existía una fuerte correlación entre expresión de SVCT2 y los tumores de mama que no expresaban el receptor de estrógeno (RE(-)).

Finalmente se analizó la expresión de SVCT2, utilizando inmunocitoquímica, western blot y RT-PCR, en las líneas celulares de cáncer de mama tratadas con estrógeno. En los tres tipos de células estudiadas, ZR-75 y MCF-7 que son RE(+) y MDA 231 que es RE(-), no se observaron grandes cambios en la expresión de SVCT2 luego del tratamiento con estrógeno.

De los resultados obtenidos en este trabajo se puede inferir que la expresión mitocondrial del transportador de ácido ascórbico SVCT2 en cáncer de mama sería independiente de la presencia o ausencia de estrógenos. Esto podría ser interpretado como un indicador de que la expresión diferencial de SVCT2 en tumores de mama RE(-), caracterizados por ser de peor pronóstico, más agresivo e invasores, podría estar relacionado con una mayor protección de las células tumorales a la acción de ROS producidos principalmente a nivel de la mitocondria, aumentando el potencial antioxidante y confiriendo a la célula tumoral una ventaja competitiva promoviendo su sobrevivencia independiente de la respuesta hormonal de la célula mediada a través del RE, representando así un posible blanco farmacológico independiente del receptor de estrógeno.