

CER DE MAMA HUMANO IN VITRO. LF Castillo, A Bruzzone, C Pérez Piñero, IA Luthy

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires, Argentina.

El diagnóstico y tratamiento de cáncer de mama provocan estrés y hasta depresión en muchas pacientes. Durante el estrés agudo se libera compuestos adrenérgicos y prolactina (Prl). Hemos demostrado la expresión de receptores adrenérgicos en células tumorales mamarias humanas, asociados a un efecto mitogénico. El objetivo del presente trabajo fue verificar si dicho efecto mitogénico podía estar mediado en parte por la liberación de Prl. Para ello utilizamos el agonista adrenérgico natural epinefrina (Epi) y el agonista específico alta2-adrenérgico dexametasona (Dex). Se utilizaron varias líneas celulares de cáncer de mama humano cultivadas con medio DMEM-F12 complementado con 10% SFB. Los medios condicionados (MC) fueron obtenidos al incubar células al 80% de confluencia en medio libre de suero durante 48 hs con Epi o Dex 0.1nM, 1nM y 10nM. Se determinó la concentración de Prl en los MC mediante el bioensayo de células Nb2: se incubaron estas células con los MC al 25% durante 2 días y se midió incorporación de timidina-[3H]. En todos los casos Epi estimuló significativamente la concentración de Prl liberada al medio de cultivo: Ejemplo: Epi 1 nM: MCF-7=0.36ng/ml vs 6.85pg/ml control; T47D=0.26ng/ml vs 85.5pg/ml control; IBH-4=599ng/ml vs 74.9 ng/ml control; IBH-6=172ng/ml vs 2.6ng/ml control ($p<0.001$ respecto del control $\pm SD$ en todos los casos). En las dos primeras líneas celulares el agonista específico Dex tuvo el mismo efecto, por ejemplo: Dex 1 nM: MCF-7=6.8ng/ml vs 0.62ng/ml; T47D=0.17ng/ml vs 38.7pg/ml ($p<0.001$ en ambos casos). En cambio en la línea celular IBH-4 Dex 1 nM inhibió esta liberación: IBH-4=0.63ng/ml vs 0.94ng/ml ($p<0.001$); por otro lado en para IBH-6 no hubo ningún efecto: IBH-6=0.28ng/ml vs 0.3ng/ml. La estimulación de la liberación de Prl por Epi en células MCF-7 y T47D estaría mediada por un efecto alfa2-adrenérgico, mientras que en las otras células se debería a una estimulación diferente, probablemente beta adrenérgica.

0049. (0505) PAPEL DE LA HISTAMINA EN LA REGULACIÓN DE LA CARCINOGÉNESIS MAMARIA. VA Medina¹, NA Massari¹, MA Nuñez¹, GP Cracco¹, GA Martín¹, N Mohamad¹, E JV Crescenti², RM Bergoc¹, ES Rivera¹

¹ Laboratorio de Radiosíntesis, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, Buenos Aires, Argentina, ² Instituto de Inmunocarcinología, Corrientes 3200, Buenos Aires, Argentina.

La histamina (HA) modula la proliferación de la línea tumoral mamaria MDA-MB-231 en forma dosis dependiente. La HA no sólo disminuye la proliferación y este efecto se asocia con un arresto del ciclo celular, diferenciación y apoptosis. La HA 0.01 μM incrementa la proliferación y migración celular. En este trabajo caracterizamos el patrón de expresión génica asociado a la angiogénesis (OHS-024) y a las principales vías de señalización intracelular (OHS-044) empleando microarray (SuperArray) identificando numerosos genes modulados por la HA 10 μM. Los resultados fueron confirmados por otras metodologías: RT-PCR, western blot y ELISA. Empleando agonistas y antagonistas específicos de los receptores H3 y H4 (RH3 y RH4) se determinó la participación de los mismos en las respuestas biológicas mediadas por HA. Los resultados indican que la HA regula positivamente la expresión de genes relacionados con la apoptosis y la regulación del crecimiento: IFNα, β, γ; CDKN1C (p57); BCL-XS, caspase-3 (3.6; 24.7; 2.1; 2; 2.3; 25.0-veces). Por otra parte, incrementa la expresión de genes asociados a la migración y la angiogénesis: CAMTS1;8; RNASE4; EDG1; ET-1; FGFR; VEGFR; TGFB2; TGFB1 (41.3; 84.5; 30.8; 42.2; 8; 40.4; 2.3; 9.0; 24.0-veces) mientras que disminuye la expresión de TGFB3; TGF-β; EGFR. El aumento de la proliferación y migración celular mediado por el RH3 mientras que ambos procesos son inhibidos por el RH4 así como también la inducción de la apoptosis demostrada por ensayo de TUNEL y Anexin-V ($p<0.01$).

El presente estudio demuestra que la HA ejerce un papel dual en la tumorigénesis mamaria, actuando no sólo como antioncogénico disminuyendo la proliferación e induciendo la apoptosis y diferenciación celular, sino también favoreciendo la oncogénesis a través del incremento de la proliferación y migración celular y modulando la angiogénesis. Los RH3 y RH4 son los principales receptores involucrados en la regulación de la carcinogénesis mamaria mediada por HA.

0050. (0785) PAPEL DE LA HISTAMINA EN PROCESOS INVOLUCRADOS EN LA PROGRESIÓN TUMORAL MAMARIA. F Genra¹, NA Mohamad², MA Nuñez¹, E Valli², LA Sambuco², AS Gutiérrez², VA Medina¹, NA Massari¹, ES Rivera¹, RM Bergoc¹, GP Cracco¹, GA Martín¹

¹ Laboratorio de Radiosíntesis, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Beca de la Fundación Avon., ² Laboratorio de Radiosíntesis, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

La progresión de las células epiteliales transformadas hacia un estado metastásico se caracteriza por una menor adhesión celular y un aumento en la motilidad celular y en la expresión de proteasas extracelulares que degradan la matriz extracelular. Nuestro objetivo fue estudiar la acción de la HA sobre la adhesión celular, la expresión y actividad de las gelatinas (MMP2 y MMP9) en cultivos de líneas celulares mamarias MDA-MB-231 (tumorigénica) y HBL100 (no tumorigénica). La adhesión celular se evaluó por el método de adhesión a placa de cultivos, con la posterior coloración de las células adheridas y medición espectrofotométrica. Los niveles de las MMP2 y MMP9 se evaluaron por RT-PCR e inmunocitoquímica y la actividad gelatinolítica por zimografía. Además se determinaron por RT-PCR los niveles de la metaloproteasa MMP7 y los inhibidores tisulares de MMPs (TIMP1 y TIMP2). La línea HBL100 presentó niveles basales de actividad gelatinolítica menores respecto de la otra línea. En las HBL100 la actividad basal de la MMP2 fue mayor que la de MMP9, mientras que en las MDA predominó la actividad de la MMP9. El tratamiento con HA produjo una disminución significativa de aproximadamente el 25% ($p<0.05$) en la actividad de la MMP2 en ambas líneas, mientras que la MMP9 sólo disminuyó en las MDA en el mismo porcentaje ($p<0.01$). Estos resultados se corroboraron por RT-PCR revelando la capacidad de la histamina para modular la actividad de las MMPs a través de sus distintos receptores en las dos líneas celulares. Con respecto a la adhesión celular, la histamina la disminuyó en un 30% ($p<0.05$) en las MDA, mientras que la aumentó en las HBL100 en un 25% ($p<0.05$). Por RT-PCR se observó que los niveles de MMP7 fueron mayores en las HBL100 respecto de las MDA; mientras que los niveles de TIMP1 y TIMP2 fueron muy altos en ambas líneas celulares. Estos resultados señalan un posible rol de la HA en los procesos involucrados en la progresión del carcinoma mamario.

0051. (0127) RESISTENCIA A LA TERAPIA FOTODINÁMICA EN CELULAS TRANSFECTADAS CON EL ONCOGEN H-RAS. L Rodríguez¹, G Di Venosa¹, S Schickinger¹, A Battile¹, A MacRobert², A Casas¹

¹ Centro de Investigaciones sobre Porphirinas y Porphirinas (CIPYP), CONICET-UBA-Hta. de Clínicas José de San Martín, Buenos Aires, ² National Medical Laser Centre, Royal Free and University College Medical School, University College London, Londres, UK

La Terapia Fotodinámica (TFD) es un tratamiento antineoplásico que se basa en la acumulación preferencial de un sensibilizante (FS) en el tejido maligno luego de su administración. La iluminación con una luz de longitud de onda adecuada da lugar a una reacción fotoquímica que produce la destrucción selectiva del tejido tumoral. El objetivo del presente trabajo es comparar la eficiencia de la TFD con FSs de distinta localización subcelular sobre un par de líneas celulares tumoral/normal. Para ello se emplearon células HB4a de epitelio lumbar mamario normal y su derivada transfundida con el oncogen H-Ras (VAL/

12 Ras). (dimetil-1-oxo-2-aminohidroxietanolina 54%) y se microscopió en tiempos de exposición de la TFD con tiempos variables que varían entre 1 min para 12 Ras y 4.2 a 0.5 min para 1 ras. Se obtiene una disminución de 21.5% en la translocación de la TFD a la membrana plasmática al tratar con 12 Ras.

De los resultados se observa que tanto la expresión de H-Ras como la actividad de la proteína se incrementa con la expresión del oncogen.

Con el aumento de la actividad de amiodarona y la undecapentaenoato fotodinámica se incrementa la actividad de la histamina. La actividad de la histamina se incrementa con la actividad de la histamina.

Con el aumento de la actividad de la histamina y la undecapentaenoato fotodinámica se incrementa la actividad de la histamina. La actividad de la histamina se incrementa con la actividad de la histamina.

Con el aumento de la actividad de la histamina y la undecapentaenoato fotodinámica se incrementa la actividad de la histamina. La actividad de la histamina se incrementa con la actividad de la histamina.

Con el aumento de la actividad de la histamina y la undecapentaenoato fotodinámica se incrementa la actividad de la histamina. La actividad de la histamina se incrementa con la actividad de la histamina.

Con el aumento de la actividad de la histamina y la undecapentaenoato fotodinámica se incrementa la actividad de la histamina. La actividad de la histamina se incrementa con la actividad de la histamina.