

Resumen #739

Efectos antiproliferativos de melatonina y menadiona sobre células tumorales de colon

¹Kohan R, ²Collin A, ²Areco V, ³Luque Fessia A, ²Tolosa de Talamoni N, ²Picotto G

¹Cátedra de Biología Celular, Facultad de Odontología; Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC.; ²Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC; INICSA (CONICET-UNC).; ³Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC.

Persona que presenta:

Kohan R, romina.kohan@unc.edu.ar

Área:

Básica

Resumen:

El cáncer de colon es una de las causas de muerte más importantes en el mundo. Se buscan continuamente nuevas estrategias farmacológicas para su tratamiento. Hemos reportado previamente que drogas antioxidantes como menadiona (MEN) o D,L-buthionine-S,R-sulfoximina (BSO) aumentan la sensibilidad de las células tumorales tanto in vitro como in vivo debido a su reconocida capacidad de reducir el contenido de glutatión intracelular (GSH). Por otro lado, melatonina (MEL) una hormona que regula el ritmo circadiano, inhibe el crecimiento de células tumorales en altas dosis. Nuestro objetivo fue evaluar los efectos de MEN y MEL sobre la proliferación de las células de adenocarcinoma de colon humano en cultivo (Caco-2) que fueron tratadas con MEN (2-30µM), MEL (500-1250µM), ambos o vehículo (etanol).

Se evaluó la proliferación celular por tinción de cristal violeta; niveles de anión superóxido, GSH y óxido nítrico (NO), por espectrofotometría; morfología nuclear, por tinción de Hoechst y migración celular con el ensayo de la herida (0-24h). Análisis estadístico: test ANOVA de una vía y Bonferroni.

MEN y MEL inhibieron el crecimiento de las células Caco-2 y este efecto fue dependiente de la dosis y el tiempo de tratamiento. De acuerdo a los perfiles de dosis, para los siguientes experimentos se eligieron 20µM y 750µM para MEN y MEL, respectivamente. La combinación inhibió de la proliferación celular mayor que los tratamientos individuales. Comenzó a las 48h (37%) y el efecto fue máximo a las 96h (49%). Los niveles de GSH total disminuyeron (6h) con MEN, lo cual fue bloqueado por MEL. El anión superóxido aumentó con MEN y la combinación de drogas. La producción de NO se incrementó con todos los tratamientos resultando significativamente mayor con la combinación (96h). A ese mismo tiempo, el tratamiento conjunto produjo cambios en la morfología nuclear. La migración celular disminuyó con todos los tratamientos (entre 3 y 6h).

En conclusión, el tratamiento combinado incrementó el efecto antiproliferativo de MEN mediante la generación de NO y produjo cambios morfológicos a nivel nuclear compatibles con una muerte celular mediada por apoptosis. Esta combinación podría ser útil como una herramienta para la terapia del cáncer de colon.

Palabras Clave:

neoplasias de colon, vitamina K3, melatonina, Proliferación Celular, estrés nitrosativo.

Antiproliferative effects of melatonin and menadione on colon tumoral cells

¹Kohan R, ²Collin A, ²Areco V, ³Luque Fessia A, ²Tolosa de Talamoni N, ²Picotto G

¹Cátedra de Biología Celular, Facultad de Odontología; Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC.; ²Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC; INICSA (CONICET-UNC).; ³Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC.

Persona que presenta:

Kohan R, romina.kohan@unc.edu.ar

Abstract:

Colon cancer is one of the most important causes of death in the entire world. New pharmacological strategies are always needed. We have previously reported that oxidant drugs such as menadione (MEN) or D,L-buthionine-S,R-sulfoximine (BSO) increase the sensibility of tumor cells both *in vitro* and *in vivo*, due to their well-known ability to reduce intracellular glutathione (GSH) content. Besides, melatonin (MEL), a hormone regulating circadian rhythms, inhibits the growth of cancer cells at high doses. Our aim was to evaluate the effects of MEN and MEL on the proliferation of cultured colon adenocarcinoma cells (Caco-2), that were treated with MEN (2-30 μ M), MEL (500-1250 μ M), both or vehicle (ethanol).

Cell proliferation was evaluated by crystal violet staining; superoxide anion, GSH, and nitric oxide (NO) levels were measured by spectrophotometry; nuclear morphology by Hoechst staining, and cell migration by the wound healing assay (0-24h). Statistically analyses: one way ANOVA and Bonferroni as a post-hoc test.

MEN and MEL inhibited Caco-2 cells growth and this effect resulted to be time and dose-dependent. According to the concentration profiles, for the following experiments, 20 μ M and 750 μ M were chosen for MEN and MEL, respectively. Cell proliferation was inhibited at higher levels when MEN and MEL were used in combination, starting at 48h (37%) and increasing at 96h (49%). Total GSH levels decreased (6h) only with MEN and this effect was blocked by MEL. Superoxide anion increased by MEN and the drug combination. NO production was also augmented by all treatments, resulting significantly higher with MEL+MEN (96h). At the same time, the combined treatment also caused morphological nuclear changes. Cell migration was decreased by all treatments (between 3 and 6h).

In conclusion, the combined treatment increased the antiproliferative effect of MEN mainly by NO generation and produced morphological changes compatible with apoptotic cell death. This combination might be useful as a tool for intestinal cancer therapy.

Keywords:

Colorectal neoplasm, vitamin K3, melatonin, Cell Proliferation, nitrosative stress