



ISSN: 1697-090X

Inicio Home

Indice del
volumen Volume
index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific
Committee

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON OXALIPLATINO SOBRE LOS NIVELES DE TIORREDOXINA Y DE LA MOLÉCULA IDO (INDOLAMINA 2,3 DIOXIGENASA) EN LINEAS CELULARES DE CÁNCER COLORRECTAL.

¹Mónica Cavia PhD, ¹Susana Gonzalez-Mateo,
¹Carlos García Giron PhD, ²Pilar Muñiz PhD

¹Unidad de Investigación del Hospital General Yagüe.
Complejo Asistencial Universitario de Burgos.

²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Burgos.
Burgos. España

[cavia @ hgy.es](mailto:cavia@hgy.es)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;1:37-40

[Comentario de la revisora Dra Victoria Valls Belles.](#) Investigadora del Departamento de Pediatría, Ginecología y Obstetricia de la Universidad de Valencia. Valencia. España.

[Comentario de la revisora Ana Sofía López González PhD.](#) Doctora en Farmacia, Licenciada en Bioquímica y especialista en Bioquímica Clínica. Miranda de Ebro. Burgos. España.

RESUMEN:

Incrementos en la actividad de la enzima indoleamine-2-3-dioxigenasa (IDO) y cambios en estado redox celular están implicados en las distintas etapas de la evolución del cáncer. Sin embargo, su relación con los tratamientos quimioterápicos todavía no son conocidos. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta al tratamiento con oxaliplatino de líneas celulares de cáncer colorrectal (Caco-2 y SW480) sobre la molécula inmunosupresora IDO y su relación con los niveles de Trx. Resultado de este estudio se observa una mayor actividad de la enzima IDO en las células Caco-2 que en las células metastásicas SW480 asociado a niveles más bajos del sistema tiorredoxina.

PALABRAS CLAVE: IDO. Tiorredoxina. Tiorredoxina reductasa. Cáncer

SUMMARY:

Increases in indoleamine-2-3-dioxygenase activity and changes in redox state have been reported in cancer. However, their relationship with chemotherapy remains unknown. The aim of the present study was to evaluate the oxaliplatin treatment in colorectal cancer cell lines (Caco-2 and SW480) on the immunosuppressive molecule IDO and its relationship with the Trx/TrxR system. Results of this study was a higher IDO enzyme activity in Caco-2 cells than in SW480 cells associated with lower levels of the thioredoxin.

KEYWORDS: IDO. Thioredoxin. Thioredoxin reductase. Cancer

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal es una de las lesiones neoplásicas más frecuentes y entre los diferentes mecanismos implicados en el desarrollo y avance tumoral se incluyen el escape de las células tumorales a la respuesta del sistema inmune y cambios en el estado redox celular^{1,2}. El oxaliplatino (cis (1R,2R)-1,2,-ciclohexanedimine-N-N') oxalato (2)-O,O'-platino tiene una fuerte actividad antiproliferativa especialmente en líneas de cáncer de colon. Entre los mecanismos de la acción tóxica del oxaliplatino está el estrés oxidativo, pudiendo interactuar sobre grupos tiólicos de proteínas recién sintetizadas haciéndolas sensibles a las especies oxigénicas reactivas³⁻⁴.

La tiorredoxina (Trx) es una proteína tiólica que elimina dichas especies además de actuar como regulador de proteínas reguladoras de la apoptosis⁵⁻⁷ mientras que la IDO está sobreexpresada en células tumorales estando implicada en la metástasis celular⁸. Por ello objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del oxaliplatino sobre los niveles de la actividad IDO y sobre la TRx/TRxR en dos líneas celulares de cáncer colorrectal (Caco-2 y SW480).

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivos celulares: Las líneas celulares SW480 y Caco-2 fueron cultivadas con DMEN y 10% de suero fetal bovino, 1% de Penicilina (50U/ml)- Estreptomicina (50mg/ml) y 1% L-glutamina 2mM. Las células (30000 células/cm²) se mantuvieron a 37°C y 5% CO₂. Se estimuló la producción de IDO con interferón- γ (750U/ml) y se incubaron en presencia y ausencia de oxaliplatino (5 μ M).

Determinación de la actividad IDO en cultivos celulares⁹: La concentración de quinureína se determinó mediante HPLC usando una columna Symetry Shiel RP (3.9 mm x 15 cm). Como fase móvil se utiliza tampón acetato de sodio 15 mM pH: 4 y acetonitrilo 2.7%. La absorbancia se midió a 360 nm y la concentración de quinureína se expresa en μ M.

Determinación de los niveles de Trx/TRxR: Los niveles de tiorredoxina se determinó utilizando la técnica de ELISA (Redox Bioscience)¹⁰ usando anticuerpos monoclonales (mAb) anti-trx clone 2G11 y anti-Trx biotinilado como indicador del anticuerpo.

La actividad tiorredoxina reductasa se determinó usando el método de reducción de la insulina descrito por Holmgren y Bjornstedt¹¹, siguiendo la actividad de la enzima espectrofotométricamente a 412 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar evaluamos el tratamiento de ambas líneas celulares con oxaliplatino, en las condiciones descritas en material y métodos, sobre la viabilidad celular. Los resultados muestran una disminución de la viabilidad celular en ambas líneas, de un 54% en las células Caco-2 y de un 57% en las células SW680 independiente de la presencia de interferón en el medio.

La actividad IDO expresada como niveles de quinureína en presencia y ausencia de oxaliplatino se muestra en la Figura 1. Los resultados muestran que los niveles de quinureína en el medio de células metastásicas SW480 son más altos que en las células Caco-2 y el tratamiento con interferón incrementa significativamente la actividad de la enzima en ambas líneas celulares, destacando el incremento en la línea Caco-2. Estos resultados apoyan la idea de que en las células tumorales la actividad de la IDO está relacionado con el ambiente inmunosupresor y sus niveles pueden estar relacionados con el potencial metastásico de las células.

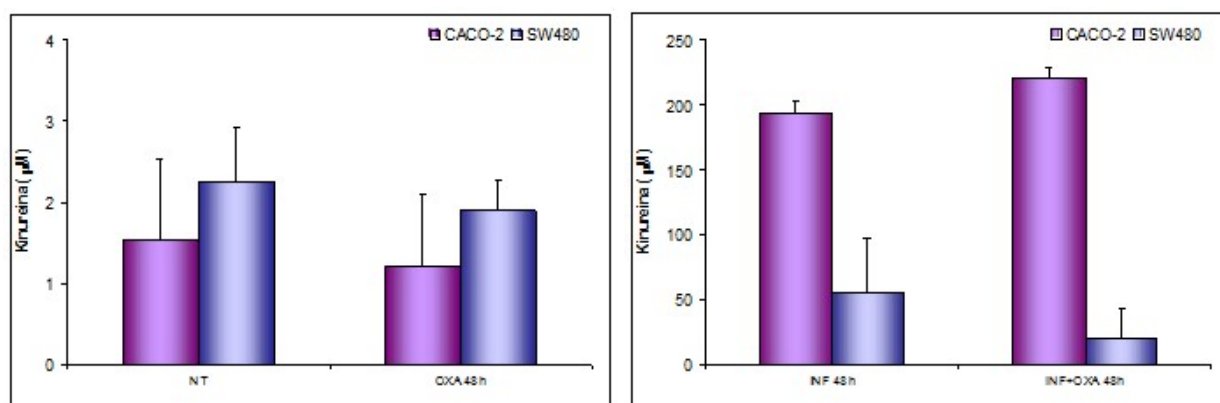


Figura 1. Actividad IDO en cultivos celulares Caco-2 y SW-680 en células no tratadas y tratadas con Oxaliplatino en presencia y ausencia de. Los resultados son media \pm SD de n=3. *p < 0.005

La proteína tiólica tiorredoxina (Trx) es un biomarcador que opera en sinergia con la enzima tiorredoxina reductasa (TrxR) jugando un papel en el mantenimiento del estado redox celular. La proteína tiorredoxina es liberada al medio en respuesta a un incremento del estrés oxidativo, actuando como regulador del crecimiento y/o apoptosis celular. Los niveles de tiorredoxina (figura 2 A) y los niveles de tiorredoxina reductasa (figura 2B) en el medio de las células SW480 al ser células en metástasis fueron significativamente más altos que las células Caco-2.

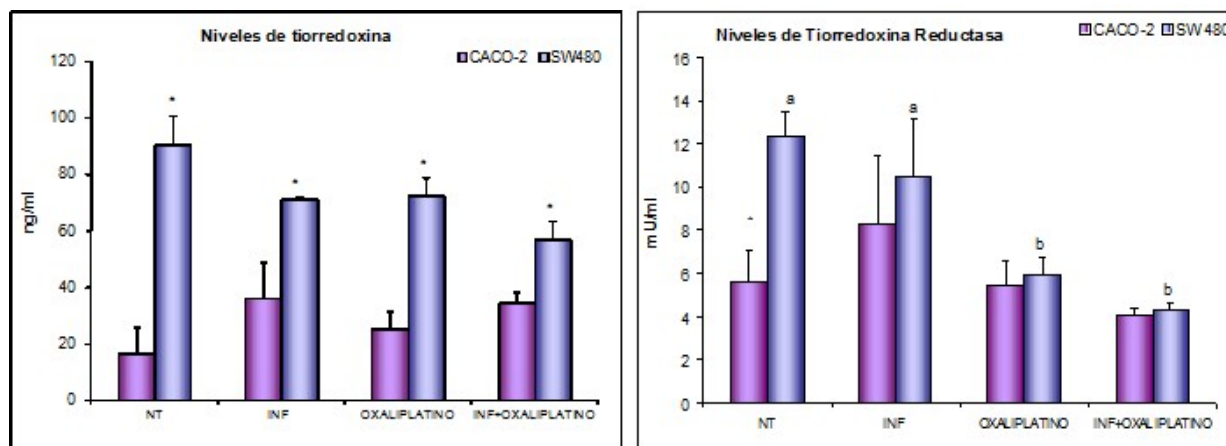


Figura 2. Niveles de tiorredoxina (A) y tiorredoxina reductasa (B) extracelular en las líneas Caco-2 y SW480 tratadas con oxaliplatino y en presencia y ausencia de interferón.

Los resultados son media \pm SD de n=3. *p < 0.005. Letras diferentes indica diferencia significativa dentro de la misma línea celular.

El tratamiento con oxaliplatino no modifica los niveles de tiorredoxina ni TrxR en las células Caco-2, sin embargo en la línea celular SW480 los niveles de ambas son más bajos aunque la diferencia solo es significativa para la actividad tiorredoxina reductasa independiente de la presencia o no de interferón en el medio.

Estos resultados nos permiten concluir que el tratamiento con oxaliplatino reduce los niveles de quinureína y de la relación Trx/TrxR en las células metastásicas.

REFERENCIAS

- Cavia M, Muñoz P, DeSantiago R, Herreros-Villanueva M., García-Giron C., López AS, Coma MJ, Changes in the levels of thioredoxin and indoleamine-2,3-dioxygenase activity in plasma patients with colorectal cancer treated with chemotherapy. *Biochem Cell Biol* 2012; 90: 1-7.
- Uyttenhove C. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med* 2003; 9: 1269-1274.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:44-84.
- Oliva MR, Ripoll F, Muñoz P, Iradi A, Trullenque R, Valls V, Drehmer E, Sáez GT. Genetic alterations and oxidative metabolism in sporadic colorectal tumors from a Spanish community. *Mol Carcinog.* 1997;18:232-243.
- Biaglow JE, Miller RA. The thioredoxin reductase/thioredoxin system: novel redox targets for cancer therapy. *Cancer Biol Ther.* 2005;4:6-13.
- Fujino G, Noguchi T, Takeda K, Ichijo H. Thioredoxin and protein kinases in redox signaling. *Semin Cancer Biol.* 2006;16:427-435.
- Lu J, Chew EH, Holmgren A. Targeting thioredoxin reductase is a basis for cancer therapy by arsenic trioxide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:12288-12293.
- Munn DH. Indoleamine 2,3-dioxygenase, tumor-induced tolerance and counter-regulation. *Curr Opin Immunol* 2006; 18:220-225
- Alegre E, López AS, González A. Tryptophan metabolites interfere with the Ehrlich reaction used for the measurement of kynurenine. *Analytical Biochemistry* 2005;339:188-9
- Soderberg A, Sahaf B, Rosen A. Thioredoxin reductase, a redox-active selenoprotein, is secreted by normal and neoplastic cells: presence in human plasma. *Cancer Res* 2000; 60: 2281-2289.
- Holmgren A, Björnstedt M. Thioredoxin and thioredoxin reductase. *Methods Enzymol* 1995; 252: 191-208.

CORRESPONDENCIA:

Monica Cavia Saiz
 Unidad de Investigación del Complejo Asistencial Universitario de Burgos
 Burgos. España
 Email: cavia@hgy.es

Comentario de la revisora Dra Victoria Valls Belles. Investigadora del Departamento de Pediatría, Ginecología y Obstetricia de la Universidad de Valencia. Valencia. España.

El interés de este trabajo es el estudio conjunto del estado redox y de la quinureina por la influencia de ambas moléculas en la evolución de las células cancerosas, en respuesta al tratamiento con oxaliplatino.

Sería interesante el profundizar más en los mecanismos de acción de estas biomoléculas con el objetivo de evaluar el diferente comportamiento en ambas líneas celulares.

Comentario del revisor Comentario de la revisora Ana Sofía López González PhD. Doctora en Farmacia, Licenciada en Bioquímica y especialista en Bioquímica Clínica. Miranda de Ebro. Burgos. España

El presente trabajo trata de evaluar el efecto del oxaliplatino sobre los niveles de la actividad IDO y sobre la TRx/TRxR en dos líneas celulares de cáncer colorrectal.

Los autores del estudio observan una mayor actividad y expresión de la IDO en uno de los tipos celulares (Caco-2), independientemente de la viabilidad celular y concluyen que el tratamiento con oxilaplatino reduce la actividad de la IDO y la relación Trx/TRxR en las células metastásicas.

Tanto la actividad inmunosupresora de la enzima IDO, como la función en el mantenimiento del estado redox celular de la tiorredoxina y tiorredoxina reductasa, pueden estar implicados en los mecanismos responsables de la resistencia de determinados pacientes al tratamiento con oxaliplatino, que es considerado uno de los fármacos de referencia en el tratamiento del cáncer colorrectal.

Recibido, 20 de abril de 2012.
Publicado, 30 de abril de 2012