



Modulação farmacológica da melatonina na resistência a drogas em neoplasia mamária canina

Modulación farmacológica de melatonina sobre la resistencia a drogas en la neoplasia mamaria canina

Dania Cataldo¹, Andrea Ehijo¹, Guillermo Aravena¹, Francisco Carrasco¹, Nancy Ampuero², Galaxia Cortés-Hinojoza³, Oscar A. Peralta¹, Cristian G. Torres^{1,2}

¹Laboratorio centralizado de Investigación Veterinaria-LaCIV, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET), Universidad de Chile (UCH)

²Laboratorio de Biomedicina, Departamento de Ciencias Clínicas, FAVET-UCH

³Escuela de Medicina Veterinaria, Pontificia Universidad Católica de Chile

Resumen

El cáncer mamario es una enfermedad de frecuente presentación en perras. Dentro de la masa tumoral, hay una subpoblación de células neoplásicas con características de troncalidad (CSCs), que forman estructuras esféricas que crecen libres de anclaje (esferas), y resisten quimioterapia, explicando en parte la recurrencia de algunos cánceres. Melatonina ha mostrado efectos antitumorales sobre células tumorales mamarias; sin embargo, sus efectos han sido poco estudiados en CSCs mamarias caninas. Células CF41.Mg y REM 134 se cultivaron bajo condiciones standard. Esferas derivadas de estas células se cultivaron en placas de ultra baja adherencia, en ausencia de suero fetal bovino y conteniendo diferentes factores de crecimiento. Esferas de ambas líneas celulares mostraron quimioresistencia. Melatonina indujo un efecto antiproliferativo solo en CSC-CF41.Mg, siendo este efecto de mayor magnitud que en células parentales no troncales, sin embargo, no indujo un efecto aditivo con doxorrubicina y mitoxantrona. La invasión celular se redujo en respuesta a concentraciones no citotóxicas de la hormona. Además, resultados preliminares muestran que melatonina no modula la expresión génica de MDR1, molécula clave en el fenómeno de resistencia a drogas. Estos resultados indican que melatonina modula la actividad proliferativa e invasiva de CSCs, efecto que es dependiente del tipo celular.

Palabras clave: cáncer mamario canino, células neoplásicas troncales, melatonina

Resumo

O câncer de mama é uma doença comum em cadelas. Dentro da massa tumoral existe uma subpopulação de células neoplásicas com características de tronco (CSCs), que formam estruturas esféricas que crescem livres de ancoragem (esferas) e resistem à quimioterapia, explicando em parte a recorrência de alguns cânceres. A melatonina mostrou efeitos antitumorais em células tumorais mamárias; entretanto, seus efeitos têm sido pouco estudados em CSCs mamárias caninas. As células CF41.Mg e REM 134 foram cultivadas sob condições padrão. Esferas derivadas dessas células foram cultivadas em placas de ultra baixa aderência, na ausência de soro fetal bovino e contendo diferentes fatores de crescimento. As pérolas de ambas as linhas celulares mostraram quimioresistência. A melatonina induziu um efeito antiproliferativo apenas em CSC-CF41.Mg, sendo este efeito maior do que em células não-tronco parentais, no entanto, não induziu efeito aditivo com doxorrubicina e mitoxantrona. A invasão celular foi reduzida em resposta às concentrações não citotóxicas do hormônio. Além disso, resultados preliminares mostram que a melatonina não modula a expressão gênica de MDR1, uma molécula chave no fenômeno de resistência a drogas. Esses resultados indicam que a melatonina modula a atividade proliferativa e invasiva das CSCs, um efeito que é dependente do tipo celular.

Palavras-chave: câncer de mama canina, células-tronco neoplásicas, melatonina

Introducción

La neoplasia mamaria es una enfermedad que se presenta frecuentemente en perras reproductivamente enteras. Aproximadamente el 60% de estos tumores son malignos, lo que implica

capacidad de invasión local y metástasis. Actualmente, se utilizan terapias multimodales, incluida la quimioterapia. Sin embargo, los animales afectados pueden desarrollar resistencia a los medicamentos, progresando a una condición fatal. Es así como la quimiorresistencia puede potenciar la malignidad del tumor y los fracasos de los tratamientos contra este tipo de cáncer. Las células neoplásicas troncales (CSCs) representan un subconjunto de células tumorales que exhiben autorrenovación, expresan moléculas de troncalidad, muestran capacidad de iniciación de tumores y resistencia a la quimioterapia y la radioterapia, lo que puede explicar en parte la reaparición tumoral post-tratamiento. Nuestro grupo de investigación ha descrito que CSCs derivadas de células de carcinoma mamario canino exhiben auto-renovación, capacidad de formación de esferas y quimiorresistencia a diferentes drogas, incluyendo doxorubicina, mitoxantrona y paclitaxel. Sin embargo, hemos descrito que otras drogas como simvastatina y metformina, pueden modular su actividad y eventualmente tener un impacto sobre la quimiorresistencia. Melatonina es una hormona cronobiológica que ha mostrado efectos antitumorales *in vitro* en diferentes tipos de neoplasias, especialmente aquellas de origen mamario. Los mecanismos involucrados son diversos, sin embargo, el efecto de esta hormona sobre CSCs ha sido pobremente estudiado. En ese contexto, se ha descrito en células de cáncer mamario canino y humano, que melatonina modula negativamente la expresión de OCT4, un factor de transcripción clave en el desarrollo de troncalidad. De este modo, se hipotetiza que melatonina ejerce un efecto antitumoral *in vitro* sobre CSCs derivadas de carcinoma mamario canino. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de melatonina sobre CSCs derivadas de dos líneas de carcinoma mamario canino.

Resultados y Discusión

Melatonina exhibe un efecto antiproliferativo sobre CSCs derivadas de la línea CF41.Mg (representativa de tumores mamarios de alto grado histológico), efecto que es más potente que en células parentales. En CSCs, también gatilla una menor capacidad invasiva e inhibe la habilidad de formación de esferas. Este efecto es dependiente del tipo celular, ya que CSCs derivadas de la línea REM134 muestran resistencia a la hormona (efecto no observado en células REM134 parentales). Además, el efecto descrito no es dependiente de la unión de la hormona a sus receptores de membrana específicos MT1/MT2, pues luzindol -inhibidor farmacológico de ambos receptores- no bloqueó su efecto. Melatonina no indujo un efecto citotóxico aditivo al co-incubar CSC-CF41.Mg con drogas como doxorubicina y mitoxantrona, a las cuales estas células muestran resistencia. En ese contexto y en concordancia con esos resultados, datos preliminares sugieren que la expresión génica de MDR-1 no es modulada significativamente por la hormona. Análisis funcionales como la actividad de la proteína MDR1 (también llamada glicoproteína P) son necesarios para dilucidar si esta vía molecular de resistencia a drogas podría ser regulada por melatonina. Dado que melatonina ha mostrado efectos antitumorales pleiotrópicos sobre células tumorales mamarias, se vuelve necesario analizar otras vías asociadas a resistencia a drogas en CSCs de manera de establecer con mayor certeza las condiciones bajo las cuales la hormona podría modular este fenómeno. En conclusión, melatonina modula la actividad proliferativa e invasiva de CSCs, efecto que es dependiente del tipo celular. Además, melatonina no ejerce un efecto antitumoral aditivo con drogas citotóxicas como doxorubicina y mitoxantrona.

Agradecimientos

Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo-ANID CHILE, Proyectos Fondecyt 11110148 y 1201441

Referencias

- Torres CG, Olivares A, Stoore C.** Simvastatin exhibits antiproliferative effects on spheres derived from canine mammary carcinoma cells. *Oncology Rep*, 33, 2235-2244, 2015.
- Gonçalves Ndo N, Colombo J, Lopes JR, Gelaleti GB, Moschetta MG, Sonehara NM, Hellmén E, Zanon Cde F, Oliani SM, Zuccari DA.** Effect of Melatonin in Epithelial Mesenchymal Transition Markers and Invasive Properties of Breast Cancer Stem Cells of Canine and Human Cell Lines. *PLoS One*, 11(3), e0150407, 2016.
- Serrano C, Guzmán S, Arias JI, Torres CG.** Melatonin decreases *in vitro* viability and migration of spheres derived from CF41.Mg canine mammary carcinoma cells. *BMC Vet Res*, 15 (1), 390, 2019.