

Implicación de PGE₂ intracelular en cáncer de próstata.

Antonio Madrigal Martínez*, F. Javier Lucio Cazaña, Ana Belén Fernández Martínez.

Dpto Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona km 33,6. 28871, Alcalá de Henares, Madrid.

Resumen

El cáncer de próstata es la segunda causa de muerte por cáncer en varones y hasta la fecha, no existe ningún tratamiento eficaz en los estadios más avanzados de la enfermedad, haciendo necesaria la búsqueda de nuevas estrategias de tratamiento. En el presente trabajo se analiza la acción de la PGE₂ en el desarrollo del cáncer de próstata. Estudios previos de nuestro grupo de investigación han demostrado que la PGE₂ intracelular induce el aumento de la expresión de VEGF a través del factor inducible por hipoxia o HIF-1 α en células HK-2, estos dos factores tienen una gran importancia en desarrollo tumoral, por ello nos propusimos analizar las acciones de la PGE₂ en cáncer de próstata. Los resultados indican que la PGE₂ intracelular induce la proliferación y migración de las células PC3, la expresión del factor inducible por hipoxia o HIF-1 α y del principal factor proangiogénico VEGF, promoviendo la supervivencia celular y la angiogénesis, por este motivo proponemos una nueva terapia basada en inhibir el acceso de PGE₂ al interior celular, lo que supondría eliminar únicamente la actividad tumorigénica de PGE₂, preservando sus efectos fisiológicos.

Palabras clave: cáncer próstata, PGE₂ intracelular HIF-1 α , VEGF, proliferación celular, migración..

Cita: Madrigal A, Lucio F J, Fernández A B (2013) Implicación de PGE₂ intracelular en cáncer de próstata Dianas 2(1): e20130307. ISSN 1886-8746 dianas.20130307 URI

Editores: María José Carmena y Alberto Domingo, Departamento de Biología de Sistemas, Unidad de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España.

Recibido: 6 de julio, 2012

Copyright: © 2013 Madrigal et al. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported. http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.es_ES

***E-mail:** antoniomadrigalmartinez@gmail.com



Introducción

El cáncer de próstata (CP) es la segunda neoplasia más frecuente a nivel mundial, y una de las más comunes de mortalidad específica del cáncer en los hombres; además supone hasta un 10% de las muertes por cáncer en España, por lo que representa una enfermedad de gran impacto social, sanitario y económico [1]. Existen múltiples factores de riesgo que contribuyen a la alta incidencia y prevalencia en este tipo de cáncer, como son la edad, raza, antecedentes familiares y otros factores [2]. Actualmente las modalidades de tratamiento para esta enfermedad en estadio localizado o dependiente de andrógenos dan muy buenos resultados en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, la progresión hacia la independencia androgénica hace que los tratamientos sean básicamente paliativos. Por este motivo, en esta etapa el desarrollo de nuevos tratamientos es un objetivo prioritario para el CP [1].

Diversos estudios apuntan a la implicación de procesos inflamatorios en la patogénesis del (CP) [3], ya que un microambiente inflamatorio podría suponer el desarrollo de la malignidad de las células tumorales [4], así como la expresión de proteínas relacionadas con la inflamación como la ciclooxigenasa también conocida como prostaglandina H sintasa. Esta es una enzima bifuncional que cataliza la conversión del ácido araquidónico en eicosanoides cíclicos como los tromboxanos y la prostaglandinas y hasta la fecha se han identificado tres isoformas de COX: COX-1, COX-2 y COX-3 [5]. Un solo tipo de prostaglandina como la PGE₂ puede activar 4 subtipos de receptores (EP1, EP2, EP3, EP4), localizados en la membrana plasmática acoplados a proteína G. La unión de su ligando hace que los receptores EPs activen distintas vías de señalización [6]. Recientemente se han demostrado que los EPs también se localizan en el interior de las células de cáncer colorectal, principalmente a nivel nuclear [7]. La PGE₂ regula funciones fisiológicas diversas como la secreción gástrica, la temperatura corporal, la presión intraocular, la presión arterial, contracción uterina, la actividad de las vías aéreas y la vasodilatación de la arteria eferente del riñón [6]. En diferentes tipos de cáncer se ha demostrado que una sobreexpresión de COX-2, provocando diferentes efectos patológicos como la inhibición de la diferenciación celular y la apoptosis, promoción de la proliferación celular a través de la PGE₂ [8], además de aumentar la invasión y angiogénesis a través de la PGE₂, por la síntesis de los principales mediadores responsables de cada uno de estos procesos

como el factor inducible por hipoxia (HIF-1 α) y el factor de crecimiento vascular (VEGF) [9]. HIF-1 α está regulado al alza en muchos cánceres humanos, donde media la respuesta transcripcional a la disminución de oxígeno (hipoxia) resultante de un excesivo crecimiento del tumor en relación al de vasos sanguíneos. Dicha respuesta implica la inducción, entre otros, de genes asociados al metabolismo hipóxico, la proliferación celular, el aumento de la capacidad invasiva y la metástasis, así como la angiogénesis ya que HIF-1 α induce a VEGF [10].

Por estos motivos la ciclooxigenasa apuntaba a ser una prometedora diana terapéutica, pero el uso de inhibidores de esta enzima dio lugar a efectos secundarios y riesgos para la salud por la inhibición de sus efectos fisiológicos. Tres ensayos clínicos publicados en el "New England Journal of Medicine" en 2005 mostraron que los pacientes que habían recibido este tipo de tratamiento incrementaron el riesgo de desarrollar un infarto de miocardio y de padecer otras complicaciones cardiovasculares, debido a la inhibición de las funciones fisiológicas de PGE₂ [11-13]. Teniendo en cuenta los antecedentes del grupo de investigación que demostraron que la PGE₂ intracelular aumentaba en células HK-2 y otras líneas celulares VEGF a través del aumento de la expresión de HIF-1 transcripcionalmente activo, además de ver la localización intracelular de los receptores EPs en células HK-2 [14], por esta razón nos planteamos establecer el papel de la PGE₂ intracelular sobre distintos fenotipos y moléculas implicadas en el desarrollo tumoral y el nivel terapéutico de su control terapéutico farmacológico.

Objetivos

El propósito de este trabajo es establecer el papel de la prostaglandina E₂ intracelular en la progresión del CP. Para ello desarrollaremos los siguientes objetivos particulares:

Estudiar la implicación de PGE₂ en la proliferación celular.

Analizar el efecto de la PGE₂ en la proliferación celular.

Examinar el papel de la PGE₂ en la regulación de HIF-1.

Material y métodos

Reactivos.

16,16 dimetil prostaglandina E-2, (1 μ M) análogo sintético de la PGE₂ (Cayman) (PG) se trata a distintos tiempos indicados en los resultados, verde de bromocresol (50 mM) (Sigma) (Br) se realiza un pretratamiento de 1 hora, agonistas EPs: EP1 (ONO D1-004 10 μ M), EP2 (ONO-AE1-259-01, 10 μ M) EP3 (ONO-AE-248, 10 μ M) EP4 (ONO-AE1-329, 10 μ M) se tratan a los tiempos indicados en los resultados. Antagonistas EPs: EP1,2,3 (AH6809, 10 μ M) (AH) Cayman y antagonista EP4 GW (627368X, 10 μ M) Cayman (GW) se realiza un pretratamiento de 1 hora, 1 μ g luciferase reporter plasmid que contiene p9HIF-Luc cedido generosamente por Dr Manuel Ortiz de Landázuri, Hospital La Princesa y 1 μ g de Renilla luciferasa reporter como control interno. Anticuerpos: HIF-1 α (BD Biosciense) (1:1.000), β -actina (Sigma) (1:4.000), anti-ratón (Sigma) (1:4.000), EP1, EP2, EP3, EP4 de Cayman (1:500), Alexa Fluor 647 anti-mouse (1:2.000) y Alexa Fluor 488 anti-rabbit (Invitrogen).

Línea celular.

Se utilizan una línea celular protática humana: PC3, representativa de un estadio andrógeno-independiente de cáncer de próstata, obtenidas de ATCC (American Type Culture Collection) y cedidas amablemente por el grupo de investigación del Dr. Prieto del departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la universidad de Alcalá. Las células PC3 se mantienen en medio RPMI-1640 Invitrogen con 10% de suero fetal bovino (FBS) y suplementado con un 1% de antibiótico y antimicótico (penicilina/estreptomicina/anfotericina). Las células se conservan a 37°C en ambiente húmedo y con un 5% de CO₂.

Inmunocitoquímica.

Las células PC3 se siembran en placas de 24 pocillos a razón de 100.000 células/pocillo sobre cristales estériles de 12 mm². Se fijan con paraformaldehído al 2%, durante 10 min, a temperatura ambiente. Se lavan con PBS y se permeabiliza la membrana con tritón 0.1%, durante 10 min, a temperatura ambiente. Se lavan con PBS, y se bloquean con 5% de albumina de suero bovino de durante 1 h, a temperatura ambiente. Se lavan con PBS, se incuba toda la noche a 4 °C con los anticuerpos primarios, HIF-1 α (1:100) y EP1, EP2, EP3, EP4 (1:50). Se lava con PBS y se incuba con el anticuerpo secundario, anti-ratón y anti-conejo respectivamente durante 1 h a 37 °C en oscuridad. En el caso de utilizar como anticuerpo primario la faloidina 1,5 μ M se incuba a 37 °C sin luz. Finalmente se vuelve a lavar y se procede al montaje Prolong Gold antifade reagent with DAPI de los cristales sobre portas, que posteriormente se visualizan en el microscopio confocal (LEICA TCS-SP).

Western Blot.

Las células PC3 se siembran en placas de 6 pocillos a razón de 300.000 células/pocillo. Se lisan las células con tampón lisis buffer (Promega), se mantienen 30 min en hielo, se centrifugan las muestras a 500 xg 10 min a 4 °C, recoge el sobrenadante, se añade el tampón de carga (glicerol 50 % SDS 15%, β mercaptoetanol 3,5 M, 25%, Azul de bromofenol 0,125 % y se incuban 5 minutos a 95°C. Las proteínas se separan por electroforesis en gel de acrilamida/bisacrilamida 10% en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE), a temperatura ambiente y se transfieren a una membrana de nitrocelulosa 45 min a 11 V. La membrana se bloquea, con leche desnatada al 5% y Tween-20 al 0,05% en PBS durante 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente se incuba a 4 °C durante toda la noche con el anticuerpo primario correspondiente. Transcurrido ese tiempo se lava 3 veces la membrana con PBS, y se incuba 1 h con el anticuerpo secundario, anti-ratón, acoplado a peroxidasa. Se vuelve a lavar con PBS y se incuba 1 minuto con el sustrato que proporciona quimioluminiscencia amersham ECL Western Blotting Detection Reagents. Tras la exposición, se revela con autorradiografías.

Proliferación, actividad metabólica.

Las células PC3 se siembran en placas de 96 pocillos a razón de 10.000 células/pocillo. Se realizan los tratamientos y se mide la actividad metabólica de las células vivas añadiendo 5 mg/ml del sustrato Bromuro 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazol [MTT] (Sigma), se reduce a cristales de formazán, de color azul oscuro, gracias a las deshidrogenasas mitocondriales. Tras 2 h el precipitado formado se solubiliza con dimetil sulfoxido (DMSO). Se lee la absorbancia a 596 nm.

Ensayo de migración.

Las células PC3 se siembran en placas de 24 pocillos a razón de 150.000 células/pocillo y se dejan hasta que alcancen la confluencia. Se realiza el pretratamiento y tratamiento de 24 horas indicados. Se realiza una incisión con el raspador manual. En un microscopio invertido acoplado a una cámara Nikon, se realizan fotos de la “herida” de la monocapa celular a distintos tiempos (0-48 h).

Viabilidad y Ciclo celular.

Las células PC3 se siembran en placas de 6 pocillos a razón de 250.000 células/pocillo. Se realizan los distintos los tratamientos. Se levantan las células con Tripsina, se centrifuga a 500 x g durante 5 min. Para los estudios de de viabilidad se resuspende el pellet celular en PBS, se añade 12 µg yoduro de propidio y para los estudios de ciclo celular se resuspende el pellet celular en NP-40 al 1%, RNAsa 0,5 mg/ml y el resto PBS hasta alcanzar un volumen final de 475 µl por tubo y se añade yoduro de propidio 25 µg. Las células se analizan en el citómetro de flujo (FaCSCalibur, Beckton dickinson) y los resultados se representan en histograma en los que la abcisas recogen la intensidad de fluorescencia en escala logarítmica y las ordenadas, el tamaño del evento contado.

Purificación del plásmido.

Se incuba a 37 °C toda noche las bacterias transformadas con los distintos vectores (HRE o Renila) en agitación en medio LB con ampicilina. El aislamiento y purificación de cada una de las secuencias se realiza a través del kit “Endofree Plasmid Maxi kit” (quiagen) siguiendo el protocolo del fabricante. Las concentraciones finales se obtienen midiendo las muestras en el Nanodrop (Centro de Biología Molecular de la Universidad de Alcalá).

Ensayo de luciferasa.

Las células PC3 se siembran en placas de 6 pocillos a razón de 300.000 células/pocillo y se incuban 24 horas. Se transfecta preparando el Mix A con 100 µl Optimen y 10 µl de lipofectamina por pocillo o muestra. Se incuba durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se prepara el Mix B con 100 µl Optimen y 10 µg de HRE más 0,5 de Renila por muestra. Se añade el Mix A al B se incuba a temperatura ambiente durante 20 minutos, mientras tanto se realizan 3 lavados de medio RPMI sin antibiótico. Se añade 1800 µl de Optimen y 200 µl del Mix, se deja incubando toda la noche a 37 °C. Al día siguiente se realiza los distintos tratamientos, pasado el tiempo de incubación se lisan las células, se centrifuga y se recoge el sobrenadante. Se mide la actividad de las luciferasas de HRE y Renila con el Kit Dual-luciferase Reporter Assay System (Promega) en el luminómetro Berthhold detection Systems FB12 Luminometer.

Resultados.**Efecto de PGE₂ en la proliferación de células PC3.**

Con objeto de valorar el efecto de PGE₂ sobre la proliferación celular, se estudia el efecto de la PGE₂ sobre la proliferación de las células PC3. Para ello se realiza un estudio de la actividad mitocondrial en

ausencia o presencia de 16,16 dimetil prostaglandina E-2, (16,16 PGE₂) a distintos tiempos (12-24 horas). En la figura 1.A se aprecian aumentos significativos de la proliferación celular de manera tiempo dependiente. El siguiente paso fue analizar si el efecto de la PGE₂ sobre la proliferación depende de receptores EPs. Por ello, se realizó un tratamiento de 24 horas con los distintos agonistas EPs y por otro lado se realizó un pretratamiento de 1 hora con los antagonistas AH (EP1, 2, 3) y GW (EP4), seguido del tratamiento de 24 horas con 16,16 PGE₂. Los resultados figura 1.B-1 muestran que los agonistas de los EPs aumentan significativamente la proliferación por los receptores EP2, EP3, EP4 y la figura 1.B-2 nos indica que al utilizar el antagonista GW (EP4) disminuye significativamente los efectos proliferativos de la PGE₂ sobre la proliferación. La localización intracelular de los EPs en algunos sistemas celulares [7] nos llevo a preguntarnos si la acción de la PGE₂ sobre la proliferación de células PC3, la realizaba a través de la unión a los receptores de membrana o a la unión a receptores intracelulares. Para ello, utilizamos el agente verde de bromocresol como inhibidor del transporte de PGE₂ al interior celular, realizando un pretratamiento de 1 hora verde bromocresol 50 μM y un tratamiento de 24 horas con 16,16 PGE₂. Los resultados figura 1.C indican que el verde bromocresol disminuye significativamente los efectos proliferativos de la PGE₂ sobre la proliferación, además el verde bromocresol y el antagonista GW disminuyen la proliferación celular respecto al control

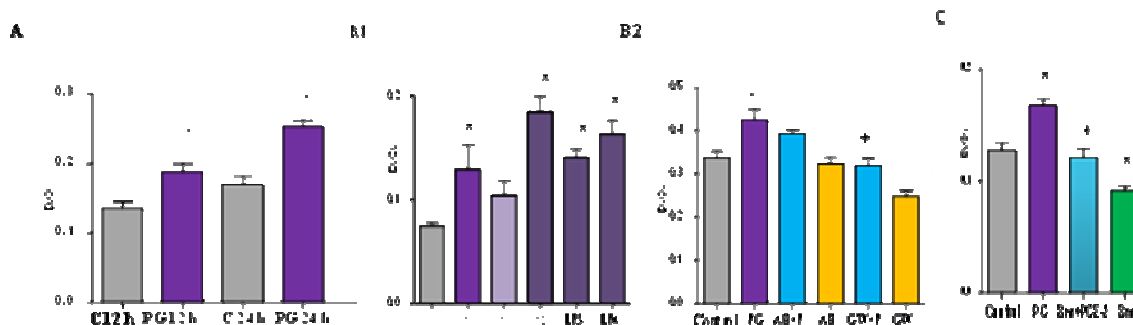


Figura 1. Efecto de la PGE₂ (A) de los agonistas EPs y antagonistas de los receptores EPs (B.1 y B.2) y de la PGE₂ intracelular sobre proliferación en células PC3. Los valores representan la media ± SEM (n=3). *, P≤0,01 respecto al control; +, P≤0,01 respecto al tratamiento con PGE₂

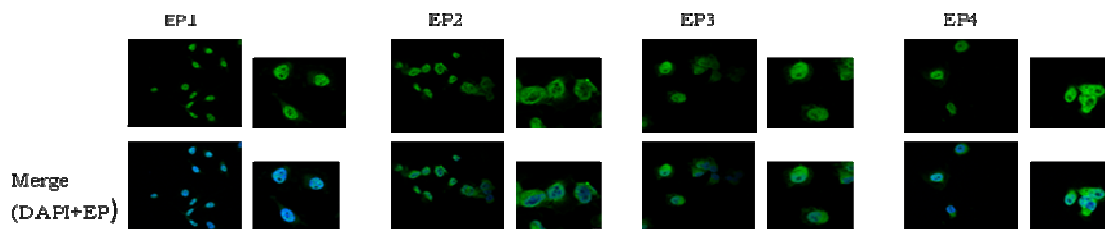


Figura 2. Localización por inmunocitoquímica de los receptores EPs en células PC3. La figura es representativa de al menos dos experimentos realizados.

Estudio de la localización de los receptores EPs en células PC3

Con el objetivo de estudiar y comparar la localización de los distintos receptores EPs en la línea celular PC3, se realizan estudios de inmunocitoquímica utilizando anticuerpos específicos para EP1, EP2, EP3, EP4. La visualización de las preparaciones mediante microscopía confocal muestra la fluorescencia debida a la unión de cada anticuerpo a su receptor específico. El análisis de las imágenes revela para los receptores EPs una presencia mayoritariamente nuclear aunque también se aprecia localización en membrana plasmática y citoplasma.

Análisis de citotoxicidad y ciclo celular del verde bromocresol y los antagonistas EPs en la línea celular PC3.

Tras analizar los efectos del verde bromocresol y los antagonistas EPs sobre la proliferación celular, se planteó si la disminución de la proliferación celular en las células PC3 se debe a un posible efecto citotóxico de este agente. Para aclararlo, se realizaron ensayos de viabilidad celular mediante citometría de flujo. El análisis de los resultados figura 3.A muestra que la viabilidad de las células no varía con el tratamiento del verde de bromocresol y los antagonistas EPs, descartando así que la disminución de la proliferación sobre el nivel basal se deba a un efecto tóxico del compuesto. Por ello los efectos citotóxicos, analizamos si hubiese una posible parada del ciclo celular realizamos estudios por citometría de flujo. El análisis de los resultados figura 3.B) muestra que los diferentes tratamientos producen la parada del ciclo celular en G1/G0.

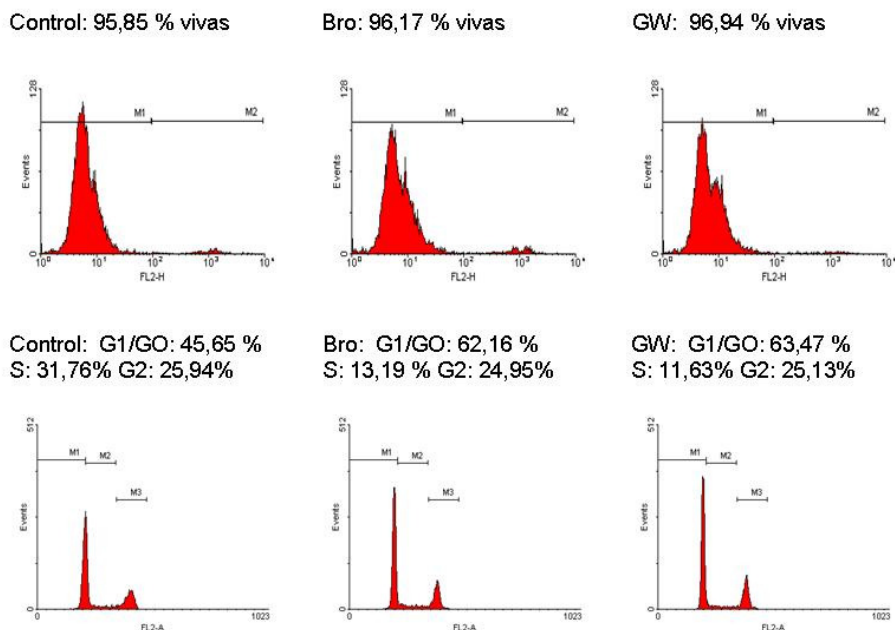


Figura 3. Efecto del verde de bromocresol y el antagonista GW sobre la viabilidad celular (fila superior) y del ciclo celular (fila inferior) en células PC3 La figura es representativa de un experimento realizado.

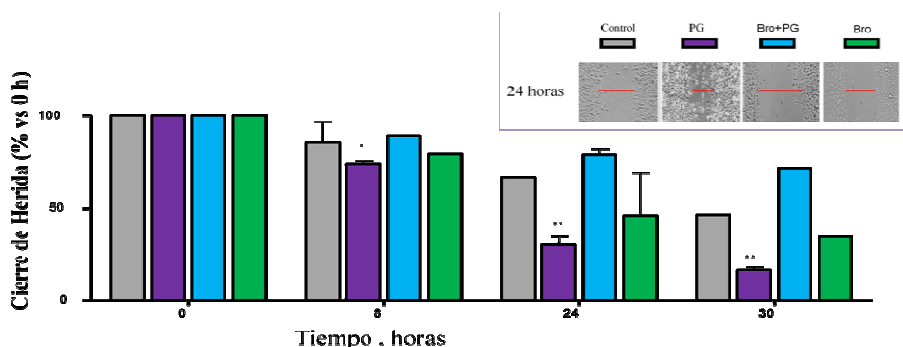


Figura 4. Efecto de la PGE₂ intracelular sobre la migración celular en células PC3. Los valores representan la media ± SEM (n=3). **, P<0,01; *, P<0,05 respecto al control. Inset: Foto representativa del “cierre de la herida” a 24 horas del tratamiento.

Efecto de la PGE₂ sobre la migración celular en PC3.

Las figura 4 muestran que la PGE₂ acelera el proceso de cierre de la herida, lo que significa un aumento en la migración celular. Mientras que el verde bromocresol produce una disminución en la migración celular al retrasar el proceso de cierre, ambos efectos se aprecian especialmente a las 24 y 30 horas del tratamiento.

Efecto de la PGE₂ sobre la expresión de HIF-1 α.

Se hacen estudios de inmunodetección con anticuerpo frente a HIF-1α sobre lisados celulares de PC3, en ausencia o presencia de 16,16 PGE₂ a distintos tiempos (0-8 horas). Los niveles máximos de HIF-1α se obtienen a las 6 horas y 8 horas de tratamiento como muestra la figura 5.A. Posteriormente se analiza el efecto sobre la expresión de HIF-1α con el verde bromocresol. La figura 5.B muestra que el verde bromocresol disminuye los efectos de la PGE₂ sobre la expresión de HIF-1α.

Efecto de la PGE₂ sobre el elemento de respuesta a HIF-1 α (HRE).

Al comprobar que la PGE₂ es capaz de aumentar la expresión del factor de transcripción HIF-1α, se propuso analizar si ese HIF-1α es transcripcionalmente activo. Para ello, medimos la actividad del elemento respuesta a HIF-1α (HRE) a través de la actividad luciferasa a distintos tiempos de tratamiento con 16,16 PGE₂ (0-6 horas). Como muestra la figura 6.A la PGE₂ aumenta la actividad del HRE significativamente a la hora y se mantiene en los tiempos estudiados. Posteriormente se analiza el efecto con verde de bromocresol para si este efecto se debe a PGE₂ intracelular. La figura 4.B nos indica que el verde de bromocresol anula el efecto de la PGE₂ sobre el elemento respuesta a HIF-1α.

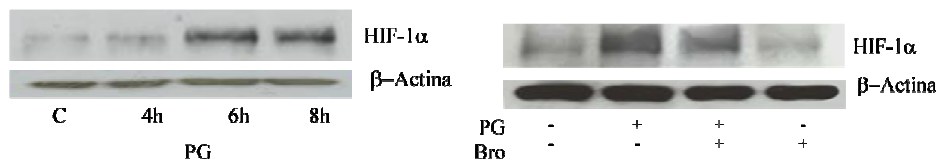


Figura 5. Efecto de PGE₂ sobre la expresión de HIF-1 α en células PC3. Panel izquierdo: tiempo-respuesta; Panel derecho: efecto del verde de bromocresol. La figura es representativa de varios experimentos realizados.

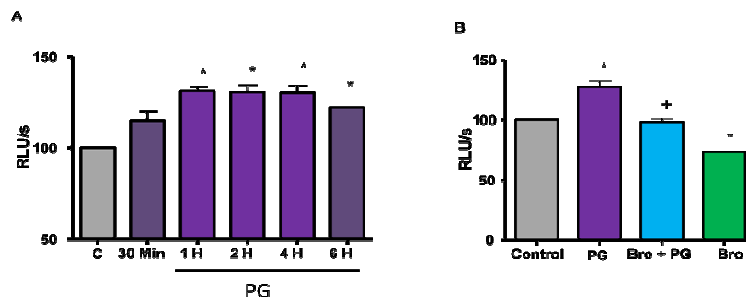


Figura 6. Efecto de PGE₂ (A, tiempo-respuesta) y (B, inhibición con verde de bromocresol) sobre el elemento respuesta a HIF-1 α en células PC3. Los valores representan la media \pm SEM (n=2). *, P \leq 0,01 respecto al control; +, P \leq 0,01 respecto al tratado con PGE₂.

Discusión.

La elevada incidencia del CP y la falta de tratamiento en estadios andrógeno-independientes, perfila a esta enfermedad como un buen candidato para la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas. Multitud de investigaciones apuntan a la implicación de procesos inflamatorios en la patogénesis del CP. Una posible diana terapéutica que proponemos en nuestro trabajo es la PGE₂ intracelular, capaz de incrementar la proliferación en queratinocitos y en miofibroblastos del subepitelio intestinal [7,15]. En la misma línea de estos estudios, nuestros resultados muestran el efecto proliferativo de PGE₂ sobre las células PC3. Los efectos de PGE₂ se producen a través de distintos receptores EPs (EP1, EP2, EP3, EP4), localizados en la membrana plasmática y acoplados a proteínas G. Los receptores EPs activan distintas vías de señalización: EP1, a través de PLC, activa PKC e IP₃, que moviliza el contenido de calcio intracelular. EP2 y EP4 activan la adenilato ciclasa, produciendo el AMPc que activa PKA. EP3 inhibe la adenilato ciclasa. Además EP4 activa AKT mediante la activación de PI3k. Pero estudios recientes muestran nuevas vías como la transactivación del factor de crecimiento epitelial (EGFR) [7], cuya señalización está implicada en mecanismos de desarrollo y progresión tumoral.

Nuestros resultados con agonistas y antagonistas de los receptores EP indican que el efecto proliferativo de PGE₂ sobre las células PC3 se debería a EP2, EP3 y EP4. La localización intracelular de los receptores EPs, estudiada en distintas líneas celulares como HK-2 [14], células de cáncer colorectal [7] y observada en nuestras células PC3 mediante inmunocitoquímica, nos llevó a plantearnos su papel en la proliferación inducida por PGE₂. Nuestros resultados indican que el verde de bromocresol, un inhibidor del transporte de PGE₂ al interior celular, revierte su efecto proliferativo. Por tanto, ello sugiere que PGE₂ intracelular (y, presumiblemente la consecuente activación del juego de receptores EP intracelulares, particularmente EP4, cuyo antagonismo inhibe la proliferación) es responsable del efecto sobre el ensayo de MTT. Para confirmar la interpretación de los resultados de este ensayo en términos de proliferación celular, se realizaron ensayos de viabilidad y de ciclo celular por citometría de flujo. Observamos que la viabilidad de las células no varía con los tratamientos, pero sí el ciclo celular, ya que las células tratadas sufren una parada en la fase G1/G0. Habría que verificar en estudios posteriores si esta parada inicia ulteriormente la muerte celular.

Otro fenómeno implicado en el desarrollo de un fenotipo metastásico es la invasión. Por esta razón, se planteó investigar si la PGE₂ intracelular puede alterar la capacidad invasiva de las células PC3, mediante el ensayo de "cierre de herida". Los resultados muestran que la PGE₂ es capaz de acelerar este proceso y coinciden con estudios realizados previamente en miofibroblastos del subepitelio intestinal que implicaban a los receptores EP2, EP3, EP4 [15] (nosotros también hemos comprobado que éstos son los receptores implicados, aunque no mostramos los resultados). Una vez más al tratar con verde bromocresol, se anularon los efectos de la PGE₂. Lo que implica a la PGE₂ intracelular como responsable de acelerar el proceso de cierre de herida, que se interpreta como un fenotipo más metastásico.

HIF-1 α está regulado al alza en muchos cánceres humanos, como en el cáncer de colorectal donde la inflamación tiene un papel crucial en la regulación de HIF-1 α [9]. HIF-1 α provoca la inducción, entre otros, de genes asociados al metabolismo hipóxico, la proliferación celular, el aumento de la capacidad invasiva y la metástasis, así como la angiogénesis (induce a VEGF [10]). Por ello, se decidió estudiar si la

PGE₂ es capaz de aumentar la expresión de HIF-1 α transcripcionalmente activo en células en PC3. Nuestros resultados confirmaron esta hipótesis. Como nuestro grupo ha demostrado en células renales que PGE₂ intracelular aumenta VEGF vía HIF-1 α [14], se decidió ver si es la PGE₂ intracelular la responsable de la regulación HIF-1 α en células PC3. Los resultados indican que el verde bromocresol revierte los efectos de la PGE₂ aumentando la expresión de HIF-1 α y su actividad transcripcional (activación del HRE), confirmando que la PGE₂ intracelular regula la expresión del factor inducible por hipoxia (HIF-1 α).

Gracias a estos resultados novedosos que nos muestran que la inhibición del transporte de PGE₂ al interior celular es capaz de revertir efectos implicados en el desarrollo de la malignidad del CP, se abre una nueva vía de regulación de la PGE₂, “la regulación de la PGE₂ intracelular”, más selectiva que las descritas anteriormente consiguiendo preservar las funciones fisiológicas de la PGE₂ (presumiblemente dependientes de su acción sobre los receptores EP presentes en la membrana celular).

Bibliografía

1. Kohli, M. y Tindall, D.J. New Developments in the Medical Management of Prostate Cancer. Mayo Clin. Proc. 85:77-86, 2010.
2. Lepor, H. y Lawson, R.K. 1994. Epidemiología e historia natural del cáncer de próstata. En: Enfermedades de la próstata. Primera edición. Madrid, Editorial Médica Panamericana. 313-29.
3. De Marzo, A. M., Nakai, Y., and Nelson, W. G. Inflammation, atrophy, and prostate carcinogenesis. Urol Oncol, 25:398-400, 2007.
4. Coussens, L. M. and Werb, Z. Inflammatory cells and cancer: think different! J Exp Med 193:F23-26, 2001.
5. Regan, W.J. EP2 y EP4 prostanoid receptor signaling. Life Science 74, pp. 143-153, 2003
6. Rundhaug J. E, et al. The role of the EP receptors for prostaglandin E2 in skinand skin cancer.Cancer Metastasis Rev 30:465–480, 2011,
7. Hawcroft G, KoCW, Hull MA. Prostaglandin E2-EP4 receptor signalling promotes tumorigenic behaviour of HT-29 human colorectal cancer cells. Oncogene. 26: 3006-19, 2007
8. Nilanjan, G, et al. Cox-2 as a target for cancer chemotherapy. Pharmacological Reports Rev: 62, 233-244,2010
9. Kaidi, A, et al. Direct transcriptional up-regulation of cyclooxygenase-2 by hypoxia-inducible factor (HIF)-1 promotes colorectal tumor cell survival and enhances HIF-1 transcriptional activity during hypoxia. Cancer Res. 1;66(13):6683-91. 2006
10. Liao D, Johnson RS. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer. Cancer Metastasis Rev: 26:281-90. 2007
11. Nussmier, N.A, et al. Complications of the COX-2 inhibitors parecoxib and valdecoxib after cardiac sugery. N Enngl J med, 352: 1081-1091, 2005
12. Solomon, S, D, et al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevetion. N Engl J Med, 352. 1071-1080,2005
13. Bresalier, R. S, et al. Cardiovascular risk associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention N Engl J Med, 352. 1061-1070,2005
14. Fernández-Martínez AB, Arenas MI, Lucio-Cazaña FJ. Retinoic acid increases hipoxia-inducible factor-1 α expression through intracrine prostaglandin E2 signalling in human renal proximal tubular cells HK-2. Biochem Biophys Acta 2012;doi:10.1016/j.bbaliip.2012.01.010
15. Iwanaga, K, et al. Prostaglandin E2 promotes wound-induced migration of intestinal subepithelial myofibroblasts via EP2, EP3, and EP4 prostanoid receptor activation. JPET 340:604–611, 2012