

2011 Octubre, 2(3): 1-1

DETECCIÓN EN TUMORES DE MAMA DE LA ENZIMA INDOLAMINO-2,3-DIOXIGENASA INVOLUCRADA EN MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA.

Isla Larrain, MT; Rabassa, ME; Blas, Y; Barbera, A; Cretón, A; Terrier, F; Segal-Eiras, A; Croce, MV.

Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (CINIBA). Fac. de Cs. Médicas. UNLP. Cátedra de Biología. Fac. de Cs. Médicas. UNLP

E-mail: marinaislarrain@hotmail.com

Introducción

La Indolamino-2,3-dioxigenasa (IDO) es una enzima de 45 kD aproximadamente que cataliza la degradación del Triptofano a quinureína. Existen evidencias de que está asociada a mecanismos de tolerancia inmunológica tales como los que se presentan en la interfase materno-fetal durante el embarazo. Esta enzima está vinculada con la inducción de linfocitos T regulatorios (Treg) y la disminución de la activación de linfocitos T citotóxicos. Asimismo, los tumores malignos liberan vesículas o exosomas que han sido relacionados con la tolerancia inmunológica anti-tumoral. Se ha sugerido que la enzima IDO estaría relacionada con mecanismos de evasión de los tumores a la inmunovigilancia del huésped.

Objetivos

Determinar si la presencia de IDO en muestras procedentes de carcinoma de mama y en líneas celulares mamarias es significativa en relación a muestras controles.

Materiales y Métodos

Se analizaron 72 muestras tisulares y séricas: 50 de pacientes con cáncer de mama (tipos: 90% de tipo ductal NOS, 6% de tipo lobulillar y 4% de tipos medular y mucinoso; estadíos: 33% de estadío I, 41% de estadío II, 12% de estadío III y 14% de estadío IV) y 16 tumores benignos y 6 controles normales.

Líneas celulares de cáncer de mama: Se emplearon las líneas de cultivo MCF7 y T47D.

Extracción de sangre periférica: Se separó el plasma de sangre heparinizada de pacientes y controles.

Anticuerpo monoclonal: Se utilizó anticuerpo monoclonal anti-IDO (Millipore).

Inmunohistoquímica: Se utilizó una técnica estándar de inmunoperoxidasa con recuperación antigénica con buffer citrato pH 6,0.

Cultivo celular: Las líneas celulares se mantuvieron en cultivo con medio RPMI 1640 y las células se sembraron en cubreobjetos, posteriormente se fijaron con formol al 10% en PBS.

Inmunocitoquímica: Se adaptó la técnica de inmunoperoxidasa sin recuperación antigénica para observar la reacción de las células crecidas en cubreobjetos.

Obtención de exosomas de plasma mediante cromatografía en columna de exclusión molecular y ultracentrifugación diferencial: Se utilizó esta técnica para obtener fracciones enriquecidas en exosomas a partir de plasma pacientes con cáncer de mama y líquido ascítico tumoral (control de la presencia de exosomas).

Western blot: Se estudió la presencia de IDO en las fracciones enriquecidas en exosomas.

Resultados

Las muestras de carcinoma mamario presentaron reacción inmunohistoquímica positiva en el 44% (22/50) de las muestras de pacientes con cáncer de mama. Sólo algunas de las células en cada campo presentaban reacción con un patrón citoplasmático. Cuatro de 16 de las muestras benignas presentaron reacción positiva. Las muestras de estadíos I, II, III y IV reaccionaron positivamente en el 29%, 47 %, 100% y 33 % de los casos. Las células de líneas tumorales presentaron reacción con un patrón citoplasmático. Los controles normales no presentaron reacción. En 4/11 de las muestras de las fracciones enriquecidas en exosomas obtenidos de plasma de pacientes se observó una banda de 42 kD compatible con la presencia de IDO como así también en una muestra de líquido ascítico tumoral.

2011 Octubre, 2(3): 2-2

Conclusiones

La presencia de esta enzima en los tumores de mama, en las células de líneas de cáncer de mama como así también en exosomas liberados por el tumor permitirían inferir su papel preponderante en la generación de tolerancia inmunológica del huésped al tumor. Debido a su rol clave en la tolerancia inmunológica, esta enzima constituiría un estratégico blanco terapéutico.