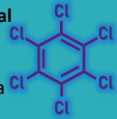


## INTRODUCCIÓN

El **cáncer mamario triple negativo (TN)** se suele tratar con drogas quimioterápicas como el **paclitaxel (PX)**. La **quimioterapia convencional** indica la administración del PX en la **dosis más alta posible tolerada por el paciente**, lo que causa numerosos efectos adversos, requiriendo de intervalos prolongados entre dosis para su recuperación. Para reducir la toxicidad surge la **quimioterapia metronómica**, que consiste en administrar menores dosis de drogas, con períodos entre dosis reducidos. En este sentido, hemos demostrado la eficacia antitumoral de una combinación metronómica de PX con el agonista colinérgico muscarínico **carbacol (Carb)** en células tumorales mamarias humanas. Por otro lado, la **eficacia de los tratamientos antitumorales** puede ser condicionada por la presencia de **contaminantes ambientales**. Entre ellos, el fungicida **hexaclorobenceno (HCB)** es capaz de reducir la eficacia de la doxorubicina en el tratamiento del cáncer de colon humano.



## OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue evaluar si el **HCB** modula de manera diferencial la eficacia de la **quimioterapia convencional con PX (TC)** respecto de la **quimioterapia metronómica con PX y Carb (TM)** en células tumorales mamarias humanas TN MDA-MB231.

## MATERIALES Y MÉTODOS

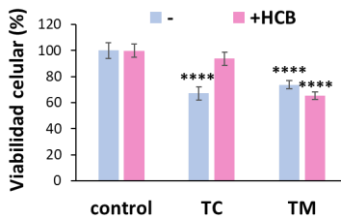
**CULTIVO CELULAR** Se utilizaron células tumorales mamarias humanas triple negativas MDA-MB231, cultivadas en DMEM:F12 suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) a 37 °C y 5% CO<sub>2</sub>.

**VIABILIDAD CELULAR** Las células fueron tratadas con la TC (PX 10<sup>-7</sup> M) o con la TM (PX 10<sup>-8</sup> M + Carb 10<sup>-11</sup> M) en ausencia o en presencia de HCB (10<sup>-8</sup> M) y se midió la viabilidad celular mediante ensayo colorimétrico con MTT. La sensibilidad de las células residuales a los tratamientos se determinó mediante curvas concentración-respuesta de PX sobre la viabilidad celular.

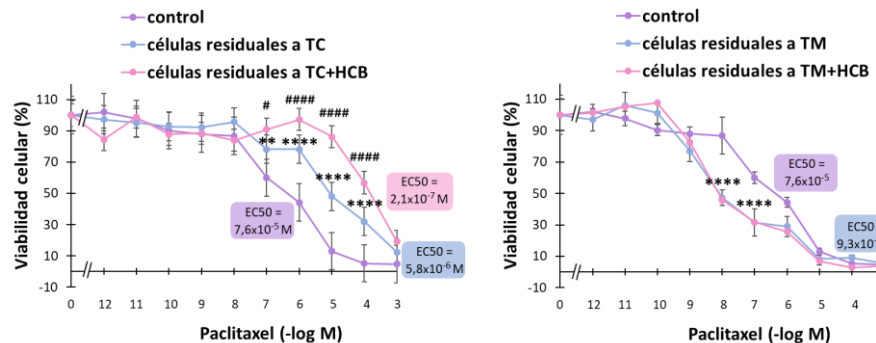
**WESTERN BLOT** Las células fueron tratadas con la TC o TM en ausencia o en presencia de HCB y del inhibidor de NF-κB IMD. Se realizaron lisados celulares, que se sometieron a electroforesis, se transfirieron a membranas de nitrocelulosa, que se incubaron *overnight* con anticuerpos primarios monoclonales anti **ATP-binding cassette transporter G2 (ABCG2)**, una **bomba extrusora de drogas que media la resistencia al PX**, y luego con anticuerpos secundarios acoplados a HRP. Se usó GAFDH como control de carga. Se visualizaron las bandas por ECL y se analizaron por densitometría con el programa ImageJ (NIH).

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO** Se evaluaron las diferencias entre grupos mediante ANOVA de 1 factor y test de Tukey con el software GraphPad Prism 6.0. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si p<0,05.

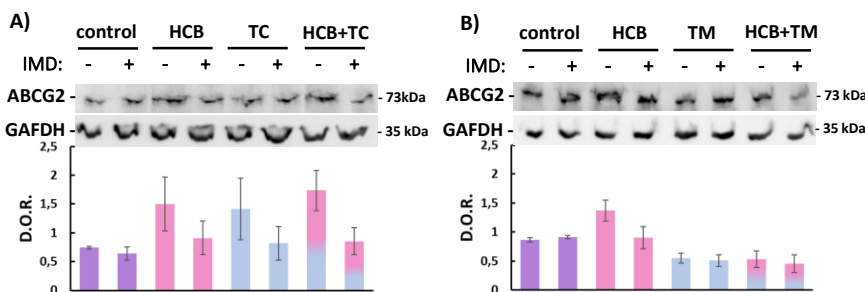
## RESULTADOS



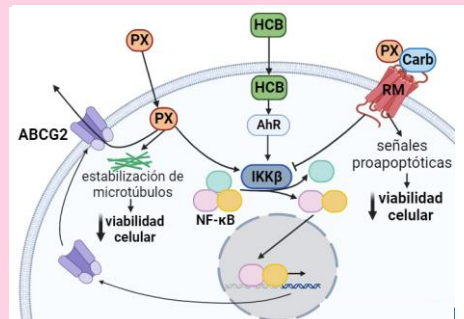
**Figura 1: Viabilidad celular** luego del tratamiento con quimioterapia convencional (TC) o con quimioterapia metronómica (TM) por 48 h, en ausencia o en presencia de hexaclorobenceno (HCB) administrado por 7 días. Se muestran los promedios±ES de 4 experimentos realizados por duplicado; \*\*\*\*p<0,0001 vs. control sin HCB.



**Figura 2: Curvas concentración-respuesta de células residuales al tratamiento con A) 2 ciclos de 48 h de quimioterapia convencional (TC) con un intervalo de 48 h libre de quimioterapia o B) 3 ciclos de 48 h de quimioterapia metronómica (TM), en ausencia o en presencia de hexaclorobenceno (HCB) administrado por 10 días.** Se muestran los promedios±ES de 4 experimentos realizados por duplicado. \*\*p<0,01; \*\*\*\*p<0,0001 vs. control; \*p<0,05; #####p<0,0001 vs. A) TC o B) TM.



**Figura 3: Expresión proteica de ABCG2** en células tratadas con hexaclorobenceno (HCB) por 7 días con A) quimioterapia convencional (TC) o B) quimioterapia metronómica (TM) por 48 h, en ausencia o en presencia de HCB administrado por 10 días, en ausencia o en presencia de IMD, inhibidor de IKKβ, activador de la vía de NF-κB. Se muestran imágenes representativas del ensayo y se indican los pesos moleculares a la derecha. El análisis densitométrico de las bandas se expresa como densidad óptica relativa (D.O.R.) a la expresión de GAFDH. Se grafican los promedios±ES de 3 experimentos.



**Figura 4: Modelo del mecanismo de acción** propuesto para el efecto del hexaclorobenceno (HCB) sobre la quimioterapia convencional con PX (TC) y la quimioterapia metronómica (TM). PX: paclitaxel - Carb: Carbacol - RM: receptores muscarínicos - AhR: receptor de hidrocarburos aromáticos

## CONCLUSIONES

El HCB ejerce un efecto modulador negativo sobre la respuesta a la TC mediado al menos en parte por el aumento de los niveles de ABCG2. Este efecto del HCB no se observa en el tratamiento con la TM, la que además induce *per se* una disminución de la expresión de ABCG2, sensibilizando a las células residuales a un posterior ciclo con PX.