

# Rol dual de allopregnanolona en la proliferación y migración de células de cáncer de mama humano, T47-D.

Laura Tatiana Pelegrina<sup>1</sup>, María Magdalena Montt-Guevara<sup>2</sup>, Jorge Shortrede<sup>2</sup>, Julieta Ibañez<sup>1</sup>, Carolina Gonzalez<sup>1</sup>, Marcos Giai<sup>1</sup>, Tommaso Simoncini<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza. Argentina.

<sup>2</sup>Universidad de Pisa. Pisa. Italia.

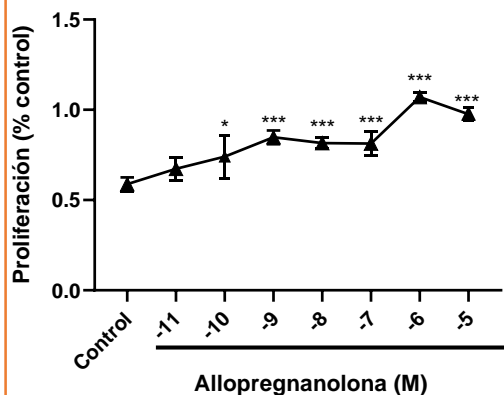


**Introducción:** El cáncer de mama es el de mayor incidencia y letalidad en mujeres, la progesterona (P4) y sus receptores han sido relacionados con este. La P4 puede ser metabolizada por acción irreversible de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa en dihidroprogesterona, que a su vez, puede transformarse en allopregnanolona (ALLO) por la acción de la 3 $\alpha$ -hidroxiesteroide oxidoreductasa. ALLO es un metabolito activo de la progesterona y su concentración en el suero fluctúa de manera similar a la progesterona. Previamente demostramos que ALLO regula la migración y la mielinización en células de Schwann a través de FAK y Src; y que ALLO promueve la proliferación, la capacidad clonogénica (efectos a largo plazo) y migración en células tumorales ováricas. Los efectos de ALLO en el cáncer de mama son desconocidos en la actualidad.

**Objetivos:** Evaluar los efectos de ALLO en la proliferación y migración de T47-D, una línea celular derivada de un tumor de mama humano hormonodependiente, en dos modelos *in vitro*, bidimensional (2D) y tridimensional (3D).

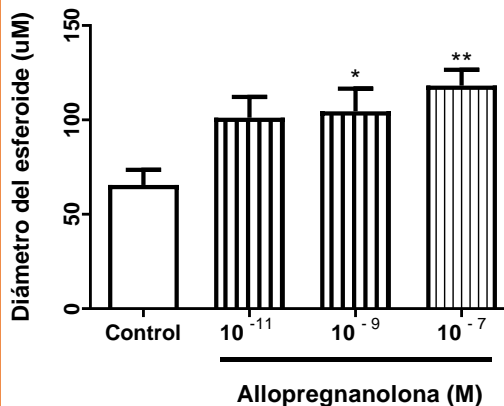
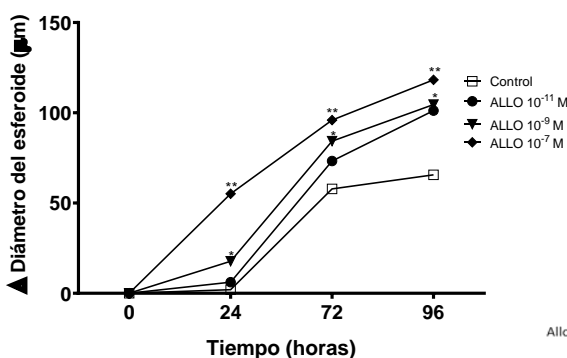
**Metodología:** Las células T47-D fueron tratadas con concentraciones crecientes de ALLO, 10<sup>-11</sup>-10<sup>-5</sup> M. En el modelo bidimensional (2D) se evaluó la proliferación por MTT y la migración fue medida utilizando un dispositivo de 2 insertos (culture-insert 2; Ibidi). Se generaron esferoides T47D, la proliferación fue determinada por el tamaño, que se cuantificó analizando microfotografías con el programa LeicaQ Win. La migración tridimensional (3D) se evaluó en placas pre-tratadas con matrigel, determinando el área cubierta con el programa Image J. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA + Tukey's Multiple Comparison Test.

## Efecto de ALLO sobre la proliferación de células T-47D.



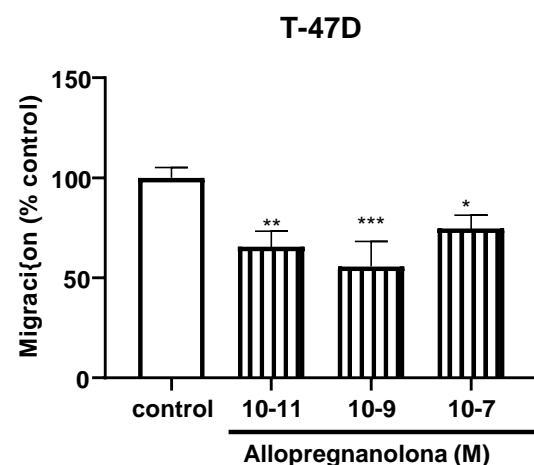
ALLO estimuló la proliferación en células T47D. Los valores son la media  $\pm$  SEM de dos experimentos realizados por triplicado. \*\*\* $p$ <0,001; \* $p$ <0,05 vs. control (células sin tratamiento) consideradas como 100 %.

## Efecto de ALLO sobre el diámetro de esferoides en células T-47D.



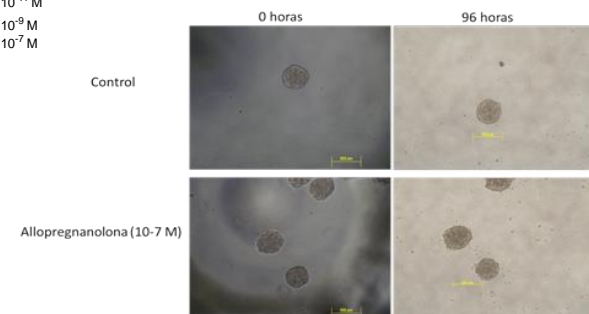
ALLO aumentó de manera tiempo-concentración dependiente el diámetro de los esferoides de células T-47D. Los valores son la media  $\pm$  SEM de dos experimentos realizados por triplicado. \*\*  $p$ <0,01, \*\* $p$ <0,05, vs. control (uM).

## Efecto de ALLO sobre la migración de células T-47D.



ALLO redujo la migración en células T-47D. Los valores son la media  $\pm$  SEM de dos experimentos realizados por triplicado. \*\*\* $p$ <0,001, \*\* $p$ =0,0048, \* $p$ =0,0266 vs. control (células sin tratamiento) consideradas como 100 %.

## Migración de esferoides de células T-47D.



ALLO no modificó de manera significativa la migración de esferoides a las 96 horas. Se observan imágenes de ALLO 10<sup>-7</sup> M vs control al tiempo 0 y a las 96 horas. La imagen se corresponde con un ensayo preliminar.

**Conclusión:** ALLO estimuló la proliferación tanto en un modelo 2D como 3D. A su vez, redujo significativamente la migración en el modelo 2D. Este trabajo representa una primera evidencia de ALLO como modulador de la progresión tumoral en el cáncer de mama. Consideramos importante continuar dilucidando el efecto de este esteroide en la carcinogénesis mamaria.