



M<sup>a</sup> José Alegría Marcos, Irene López Ruiz y Ana María Dólera Pertusa. IES-Alcántara (Alcantarilla, Murcia). Tutor-IES: Jesualdo Ibáñez.

Tutores-investigadores: Dr. Juan Carlos Espín y Dr. Antonio González-Sarrías. Ciencia y Tecnología de Alimentos (CEBAS-CSIC); Espinardo (Murcia).

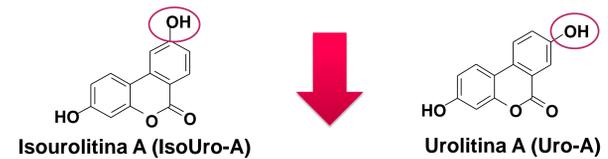
## INTRODUCCIÓN

- Evidencias científicas sugieren el papel protector de los polifenoles de alimentos vegetales en la prevención de enfermedades degenerativas como el cáncer colorrectal (1).
- Alimentos como granada, fresas o nueces contienen elagitaninos, unos polifenoles que no se absorben en el organismo sino que son transformados por la microbiota intestinal en urolitinas, metabolitos biodisponibles que ejercen efectos anticancerígenos y anti-inflamatorios (2).
- Las personas, debido a su diferente microbiota intestinal, pueden clasificarse en tres grupos principales según su capacidad para producir urolitinas: Fenotipo 0 (no producen urolitinas), Fenotipo A (producen Uro-A) y Fenotipo B (además de Uro-A, también producen IsoUro-A y Uro-B) (3).
- Uro-A e IsoUro-A son las más relevantes. Sin embargo, no se ha descrito la actividad anticancerígena para IsoUro-A, ni se ha comparado con la de Uro-A para ver si difieren debido a su estructura molecular.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### HIPÓTESIS

La diferencia en la estructura molecular de ambas urolitinas (posición del grupo hidroxilo, -OH, en posición 8 en Uro-A frente a posición 9 en IsoUro-A) podría reflejarse en una distinta acción anticancerígena.



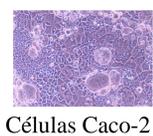
### OBJETIVO PRINCIPAL

Comparación de la actividad anticancerígena de Uro-A e IsoUro-A en un modelo celular de cáncer colorrectal.

## RESULTADOS

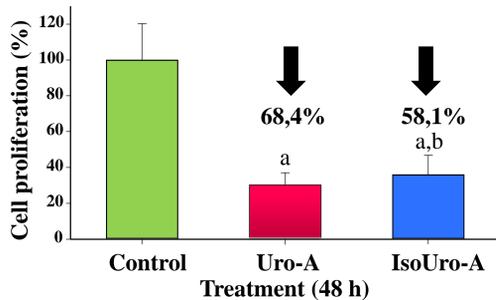
Se incubaron los metabolitos Uro-A e IsoUro-A (obtenidos por síntesis química), a concentraciones fisiológicamente relevantes (100 µM), en la línea celular de cáncer colorrectal Caco-2 y se evaluaron efectos en: proliferación, viabilidad y ciclo celular, apoptosis, expresión de 12 genes marcadores de cáncer colorrectal y metabolismo celular.

### Proliferación y viabilidad celular



Células Caco-2

→ Tripsinizar → Resuspender → Contaje (método de exclusión del azul tripano)



- ✓ Ni Uro-A ni IsoUro-A afectaron a la viabilidad celular.
- ✓ Ambas urolitinas inhibieron el crecimiento de las células.
- ✓ La inhibición con Uro-A fue significativamente mayor que con IsoUro-A.

### Expresión génica por RT-PCR

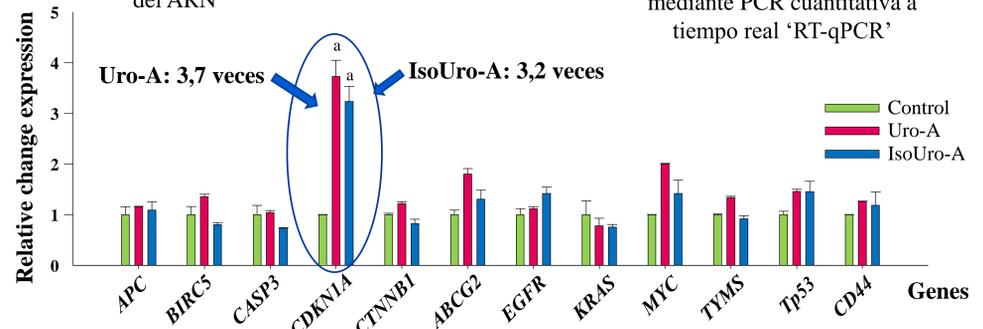


Extracción y cuantificación del ARN

→ Conversión del ARN a ADN complementario (retro-transcripción)



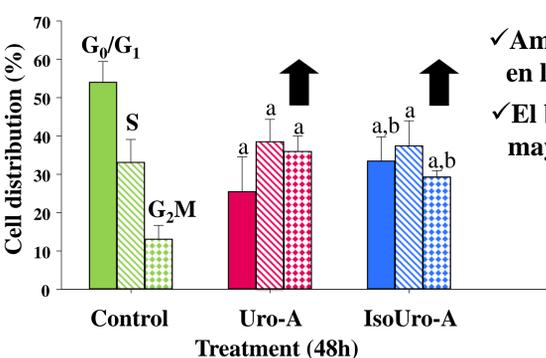
Medida de expresión génica mediante PCR cuantitativa a tiempo real 'RT-qPCR'



- ✓ Ambas urolitinas indujeron la expresión del gen CDKN1A, que codifica la proteína p21.
- ✓ Un aumento de su expresión bloquea la célula en fase S y G<sub>2</sub>/M.

### Ciclo celular

La cuantificación del contenido de ADN de las células por citometría de flujo permite determinar la distribución de una población celular a lo largo de las distintas fases del ciclo. Esta técnica permite identificar si los tratamientos inducen un bloqueo del ciclo celular.

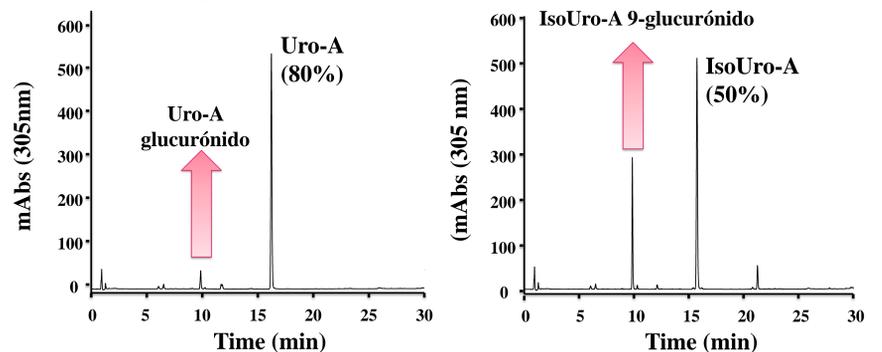


- ✓ Ambas urolitinas bloquearon el ciclo celular en las fases G<sub>2</sub>/M y S.
- ✓ El bloqueo en G<sub>2</sub>/M fue significativamente mayor con Uro-A.



### Metabolismo celular de urolitinas

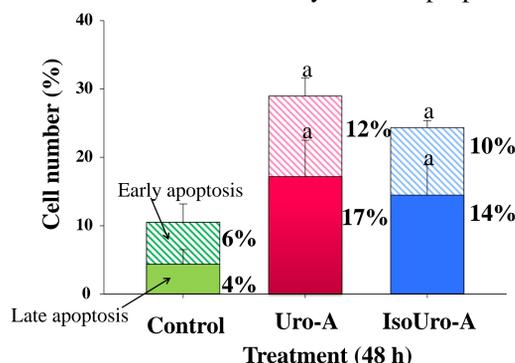
El posible metabolismo de Uro-A e IsoUro-A en Caco-2 se evaluó, tras 48 h, mediante el análisis del medio celular por HPLC-MS/MS.



- ✓ La mayor conversión de IsoUro-A a su derivado glucurónido podría explicar su menor actividad respecto a Uro-A.

### Apoptosis

La proporción de células apoptóticas se evaluó mediante citometría de flujo y usando el kit de la Anexina-yoduro de propidio.



- ✓ Tanto Uro-A como IsoUro-A indujeron apoptosis (temprana y tardía).

## CONCLUSIONES

- Uro-A e IsoUro-A, a concentraciones fisiológicamente relevantes, ejercen una potente acción antiproliferativa frente al modelo de línea celular de cáncer colorrectal Caco-2.
- Ambas urolitinas bloquean el ciclo celular en fase G<sub>2</sub>/M y S (el bloqueo en G<sub>2</sub>/M es mayor con Uro-A).
- Uro-A e IsoUro-A inducen apoptosis.
- El mecanismo de acción de ambas urolitinas parece estar mediado por un aumento de p21.
- La mayor transformación metabólica de IsoUro-A por estas células podría explicar su menor actividad respecto a Uro-A.

**Uro-A e IsoUro-A ejercen potente actividad anticancerígena en este modelo aunque el grupo hidroxilo en posición 9 de IsoUro-A facilita su metabolismo por las células, disminuyendo su actividad.**

## BIBLIOGRAFÍA

- Núñez-Sánchez et al. (2015). Dietary phenolics against colorectal cancer-From promising preclinical results to poor translation into clinical trials: Pitfalls and future needs. *Mol. Nutr. Food Res.* doi: 10.1002/mnfr.201400866.
- Espín et al. (2013). Biological significance of urolithins, the gut microbial ellagic acid-derived metabolites: the evidence so far. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013:270418.
- Tomás-Barberán et al., (2014). Ellagic acid metabolism by human gut microbiota: consistent observation of three urolithin phenotypes in intervention trials, independent of food source, age, and health status. *J Agric Food Chem.* 62:6535-8.

**AGRADECIMIENTOS:** Agradecemos el apoyo de la Fundación Séneca y la financiación del Proyecto AGL2011-22447 del grupo del CEBAS-CSIC que ha supervisado esta investigación.