

EXPRESIA DOPAMINEI ÎN MELANOMUL MALIGN DOPAMINE EXPRESSION IN MALIGNANT MELANOMA

ILINCA NICOLAE*, CORINA DANIELA NICOLAE**, SORINA SCHIPOR***

Rezumat

Introducere. Rapoarte recente explorează rolul catecolaminelor în proliferarea celulelor maligne și controlul răspunsului imunitar la pacienții cu boală neoplazică. Epinefrina și norepinefrina suprareglează sinteza unor factori proangiogenici în celulele maligne și induc angiogeneza în țesuturile tumorale. În schimb, dopamina inhibă angiogeneza prin supresia acțiunii VEGF în celulele endoteliale. La nivel cutanat, au fost detectate sisteme enzimatice care asigură sinteza și degradarea catecolaminelor precum și receptorii corespunzători. Pornind de la aceste considerente, scopul autorilor a fost stabilirea profilului dopaminei la pacienții cu melanom.

Material și Metodă. Studiul a fost realizat pe o perioadă de 2 ani, având la bază monitorizarea a 64 pacienți cu melanom în diferite faze de evoluție, 5 pacienți cu melanoză precanceroasă circumscrișă Dubreuihl, 40 subiecți cu tumori nevice și 40 voluntari sănătoși.

Probe biologice (sânge, urină, țesut tumoral/sănătos) au fost prelevate înainte de începerea tratamentului. Determinarea dopaminei s-a făcut prin metoda ELISA.

Rezultate. Pacienții cu melanom prezintă un model diferit al expresiei dopaminei comparativ cu celelalte situații clinice studiate. La aceștia, s-a detectat o concentrație scăzută a dopaminei în plasmă ($48,2 \pm 16,1$ pg/ml versus $58,5 \pm 25,3$ pg/ml la control, respectiv $64,1 \pm 39,7$ pg/ml în nevi și $53,6 \pm 21,8$ pg/ml în melanoza circumscrișă) și urină ($148,5 \pm 91,6$ ug/24 h versus $201,6 \pm 160,7$ ug/24 h la control, respectiv $207,4 \pm 147,8$ ug/24 h în nevi și $210,1 \pm 37,2$ ug/24 h în melanoza circumscrișă).

Summary

Introduction. Recent reports explore the role of catecholamines in malignant cells proliferations and the control of immune response in patients with neoplastic disease. Epinephrine and norepinephrine overregulates proangiogenic factors synthesis in malignant cells and induce angiogenesis in tumoral tissues. Dopamine inhibits angiogenesis by suppressing VEGF action in endothelial cells. There were detected enzymatic systems in the skin that assure the synthesis and degradation of catecholamines and of its correspondent receptors. Taking into account these data, the aim of the study was to establish dopamine profile in melanoma patients.

Material. Methods. The study was made during two years based on the prospective analysis of 64 patients with melanoma in different stages of evolution, 5 patients with Dubreuihl melanosis, 40 individuals with nevi and 40 healthy subjects.

The biological samples (blood, urine collected in 24 hours) were taken before treatment. Dopamine determination was made by ELISA method.

Results. Melanoma patients have a different model of dopamine expression compared with other studied clinical situations. In melanoma patients, dopamine has low plasmatic values ($48,2 \pm 16,1$ pg/ml versus $58,5 \pm 25,3$ pg/ml in control, respectively $64,1 \pm 39,7$ pg/ml in nevi and $53,6 \pm 21,8$ pg/ml in circumscribed melanosis) and urinary values ($148,5 \pm 91,6$ ug/24h versus $201,6 \pm 160,7$ ug/24 h in control, respectively $207,4 \pm 147,8$ ug/24 h in nevi and $210,1 \pm 37,2$ ug/24 h in circumscribed melanosis).

* Centrul de Cercetări Dermatovenerologice, București/ Spitalul Clinic de Dermatovenerologie „Prof. Dr. Scarlat Longhin”. Dermatovenerological Research Centre, Bucharest/ Clinical Hospital of Dermatology “Scarlat Longhin” .

** Doctorand U.M.F. „Carol Davila”, Medic Rezident, București. PhD student UMF Carol Davila, Medical Resident, Bucharest.

*** Institutul Național de Endocrinologie “C.I.Parhon”, Departamentul de Cercetare, București. National Institute of Endocrinology “C.I.Parhon”, Research Department, Bucharest.

În plus, dopamina tisulară este mai abundentă în proliferările benigne ale melanocitelor în comparație cu țesuturile maligne ($712,0 \pm 81,5$ pg/g proteină în nevi, $501,7 \pm 171,4$ pg/g proteină în melanom, respectiv $602,7 \pm 106,1$ pg/g proteină în țesutul sănătos peritumoral), indicând implicarea acesteia în proliferarea celulară.

Concluzii. Scăderea dopaminei tinde să se asocieze cu stadiile avansate ale neoplaziei.

Aceste rezultate susțin ideea conform căreia catecolaminele sunt factori esențiali în dezvoltarea tumorală, îndeosebi în procesul de metastazare.

Cuvinte cheie: dopamină, angiogeneză, melanom.

In addition, tissue dopamine is higher in melanocytic benign proliferations versus malignant tissues ($712,0 \pm 81,5$ pg/g protein in nevi, $501,7 \pm 171,4$ pg/g protein in melanoma, respectively $602,7 \pm 106,1$ pg/g protein in peritumoral healthy tissue) indicating dopamine involvement in cellular proliferation.

Conclusions. The dopamine decrease tends to be associated with advanced stages of neoplasia. These results sustain the idea that catecholamines are essential factors for tumoral development, especially for metastasis.

Keywords: dopamine, angiogenesis, melanoma.

Introducere

Angiogeneza este o manifestare frecventă în cancerul cutanat. Principalii stimuli ai switchului angiogenic sunt: hipoxia, pH scăzut, hipoglicemia, inflamația. Multă vreme, intervenția sistemului nervos în reglarea neovascularizației tumorale a fost privită cu multă rezervă. În prezent, recunoașterea impactului negativ al stresului neurogen asupra progresiei tumorale a condus la o evaluare atentă a rolului catecolaminelor asupra supraviețuirii și proliferării celulelor tumorale. (1, 2, 3, 4, 5)

Catecolaminele reprezintă o clasă majoră de neuromediatori endogeni (1, 6, 7, 8, 9) sintetizați din tirozina, cu intervenția unor enzime (tirozin-hidroxilază, DOPA decarboxilază, dopamin-beta-hidroxilază, N-metil-transferază) și cofactori enzimatici (tetrahydrobiopterina, O_2 , Fe^{2+} , NADPH, piridoxal-fosfat, ascorbat, Cu^{2+} , Ca^{2+} , S-adenozil-metionina). Catecolaminele sunt sintetizate în neuronii catecolaminergici la nivel cerebral, neuronii dopaminergici și adrenergici din retină, țesut cardiac, vascular, intestinal, neuronii noradrenergici din ganglionii simpatici, celule adrenergice și noradrenergice din medulosuprarenală, leucocite. Catecolaminele, complexate cu cromogranină A, Ca^{2+} și ATP, sunt stocate în vezicule localizate la nivelul terminațiilor nervoase. Blocarea efectului catecolaminelor eliberate din terminațiile nervoase, se realizează prin procesul de recaptare pre-, post- și extrasinaptică prin mecanisme de transport activ specifice pentru fiecare tip de catecolamină, prin difuziune și metabolizare. Metabolizarea catecolaminelor se face prin intermediul a 2 enzime:

Introduction

Angiogenesis is a common manifestation in skin cancer. The main stimuli of the angiogenic switch are hypoxia, low pH, hypoglycemia, inflammation. Long time, nervous system intervention in tumor neovascularisation regulation was seen with great reserve. Today, recognizing the negative impact of neurogenic stress in tumor progression, has led to a careful evaluation of catecholamine role in survival and proliferation of tumor cells (1, 2, 3, 4, 5).

Catecholamine are a major class of endogenous neuromediators (1, 6, 7, 8, 9) synthesized from tyrosine with the intervention of some enzymes (tyrosine-hydroxylase, DOPA decarboxylase, dopamine-beta-hydroxylase, N-methyl-transferase) and enzyme cofactors (tetrahydrobiopterin, O_2 , Fe^{2+} , NADPH, pyridoxal-phosphate, ascorbate, Cu^{2+} , Ca^{2+} , S-adenosyl-methionine). Catecholamines are synthesized in catecholaminergic neurons in the brain, dopaminergic and adrenergic neurons in retina, cardiac, vascular, and intestinal tissue, noradrenergic neurons of sympathetic ganglia, adrenergic and noradrenergic cells in medulosuprarenalian gland, leukocytes. Catecholamines, complexed with cromogranin A, Ca^{2+} and ATP are stored in vesicles in nerve endings. The effect of catecholamines blockage, released from nerve endings, is achieved by pre-, post- and extrasynaptic reuptake. The uptake process is made by active transport mechanisms for each type of catecholamine, by diffusion and metabolism. Catecholamine metabolism is via

MAO (monoaminoxidază) și COMT (catecol-O-metil-transferază).

Cercetările efectuate cu agonști și blocați specifici au permis descrierea a 4 subtipuri de receptori adrenergici (α_2 care inhibă adenilat ciclaza, α_1 care activează fosfolipaza C, β_1 care stimulează adenilat ciclaza, β_2 care stimulează producerea de cAMP) și 2 subtipuri de receptori dopaminergici (D1 like –D1, D5- care stimulează adenilat ciclaza membranară cu acumulare de cAMP și D2 like –D2,D3,D4 – care inhibă adenilat ciclaza și reduc concentrația de cAMP). (5, 6, 7, 10). Caracteristicile și distribuția receptorilor sunt modificate în funcție de vârstă, alterări ale proteinelor Gs sau Gi, variații ale hormonilor tiroidieni, estrogeni, progesteron, corticosteroizi, diferite stări patologice (boli cardiovasculare, astm, alcoolism cronic, boli psihice, endocrinopatii, boli neoplazice). (2, 7, 8, 9)

Rapoarte recente explorează rolul catecolaminelor în proliferarea celulelor maligne și controlul răspunsului imun la pacienții cu boală neoplazică (2, 6, 11, 12, 13). Epinefrina și norepinefrina suprareglează sinteza unor factori proangiogenici în celulele maligne și amplifică angiogeneza în țesutul tumoral. În schimb, dopamina inhibă angiogeneza prin supresia acțiunii VEGF în celulele endoteliale. Epinefrina și norepinefrina, produse prin activarea axei hipotalamo-hipofizo-adrenala și a sistemului nervos simpatic adrenomedular (7), induc angiogeneza tumorală prin: stimularea sintezei VEGF (8, 14, 15), a MMP-2 și MMP-9 (15, 16, 17) și a IL6 (17, 18) în celule tumorale, celule endoteliale și celule progenitoare endoteliale din măduva osoasă (figura 1, figura 2). Dopamina, care acționează prin intermediul receptorilor D2 situați în celulele endoteliale, reduce proliferarea celulară prin inhibarea fosforilării VEGF-R2, MAPK, FAKC. În plus, dopamina inhibă mobilizarea celulelor progenitoare endoteliale din măduva osoasă prin modularea căii de semnalizare ERK1/ERK2 (figura 1, figura 2). Prin urmare, în condiții patologice, acești neuro-mediatori ar putea acționa ca un comutator angiogenic în micromediul tumoral. De notat că, pacienții tratați cu betablocați au incidența mai mică de cancer (8,19,20). De asemenea, studii clinice recente experimentează utilizarea agonștilor dopaminergici în tratarea pacienților cu

two enzymes: MAO (monoamine oxidase) and COMT (catechol-O-methyl-transferase).

Research performed with specific agonists and blockers of dopamine allowed the description of four subtypes of adrenergic receptors (α_2 inhibit adenylate cyclase, α_1 activate phospholipase C, β_1 stimulate adenylate cyclase, β_2 stimulate the production of cAMP) and two subtypes of dopaminergic receptors (D1-like –D1, D5 – stimulate membranous adenylate cyclase, and so, with cAMP accumulation, and D2 like receptors- D2, D3, D4- inhibit adenylate cyclase and reduce cAMP concentration) (5,6,7,10). The characteristics and distribution of receptors are modified by age, Gs or Gi protein alterations, variations of thyroid hormone, estrogen, progesterone, corticosteroids, various pathological conditions (cardiovascular disease, asthma, chronic alcoholism, mental illness, endocrinopathies, neoplastic diseases) (2, 7, 8, 9).

Recent reports explore the role of catecholamines in malignant cell proliferation and in control of immune response in patients with neoplastic disease (2, 6, 11, 12, 13). Epinephrine and norepinephrine adjust the synthesis of proangiogenic factors in malignant cells and enhance angiogenesis in tumor tissue. In contrast, dopamine inhibits angiogenesis by suppressing VEGF action in endothelial cells. Epinephrine and norepinephrine produced by activating the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and adrenomedullar sympathetic nervous system (7), induce tumoral angiogenesis by: stimulating the synthesis of VEGF (8, 14, 15), MMP-2 and MMP-9 (15, 16, 17) and IL-6 (17, 18) in tumoral cells, endothelial cells, endothelial progenitor cells from bone marrow (figure 1, figure 2). Dopamine, which acts through D2 like receptors, reduces cells proliferation by inhibiting VEGF-R2, MAPK, FAKC phosphorylation. In addition, dopamine inhibits endothelial progenitor cell mobilization from bone marrow by modulating the ERK1/ERK2 signaling pathway (Figure 1, Figure 2). Therefore, in pathological conditions, these mediators could act as an angiogenic switch in tumor microenvironment. Note that, in patients treated with beta-blockers the incidence of cancer is lower (8, 19, 20). Also, recent clinical studies evaluated the use of dopamine agonists in

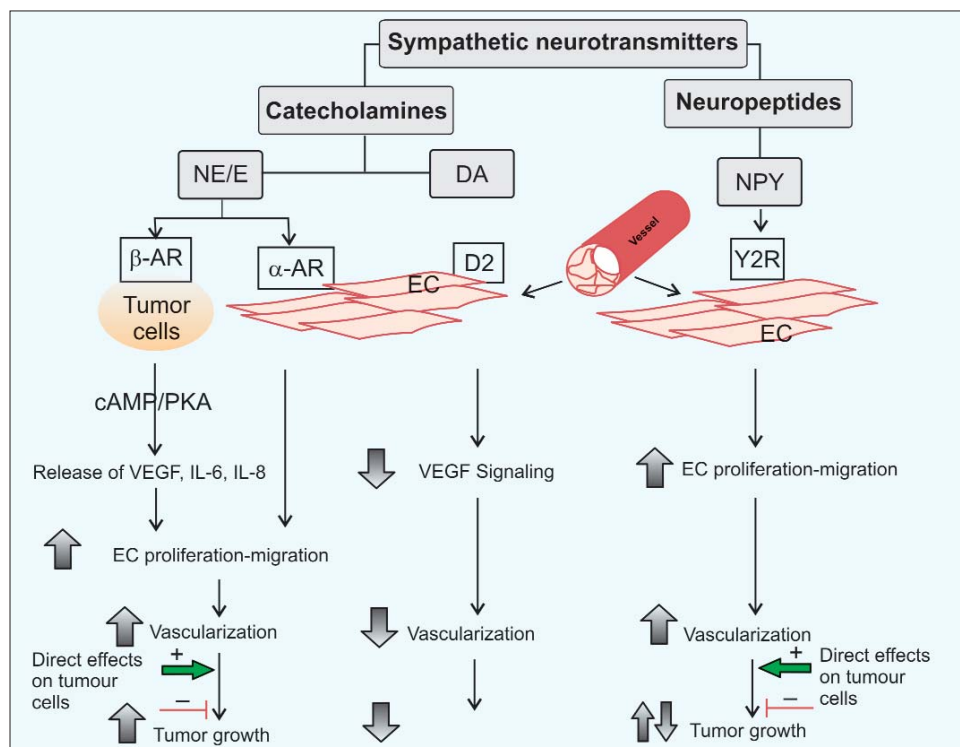
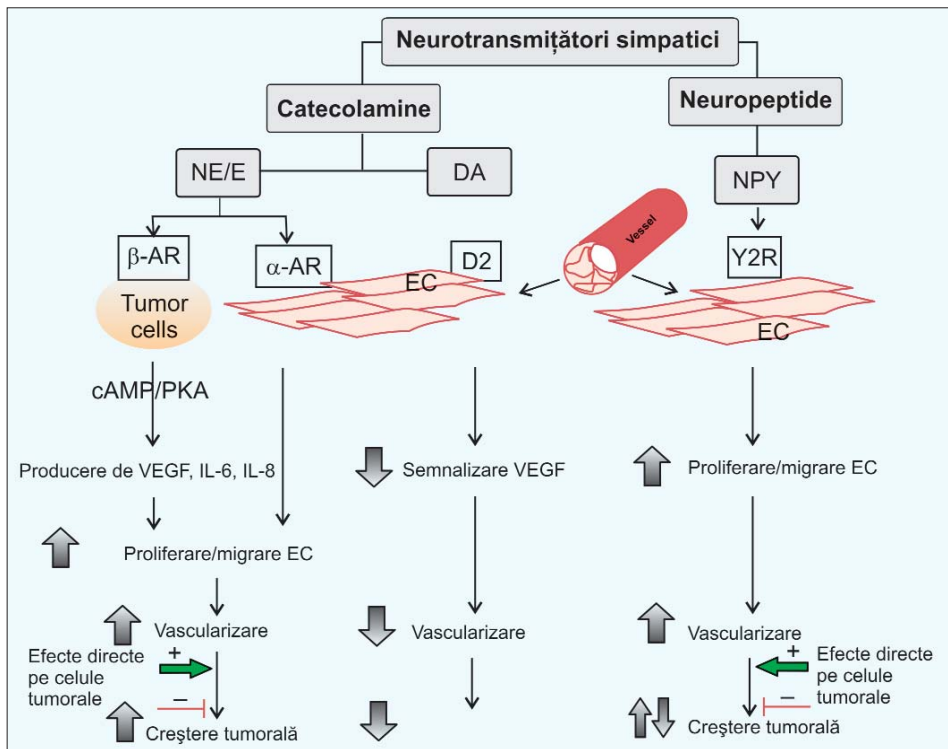


Figura 1. Interacțiunea neurotransmițători-factori angiogenici (12)
 Figure 1. Neurotransmitters – angiogenic factors interactions (12)

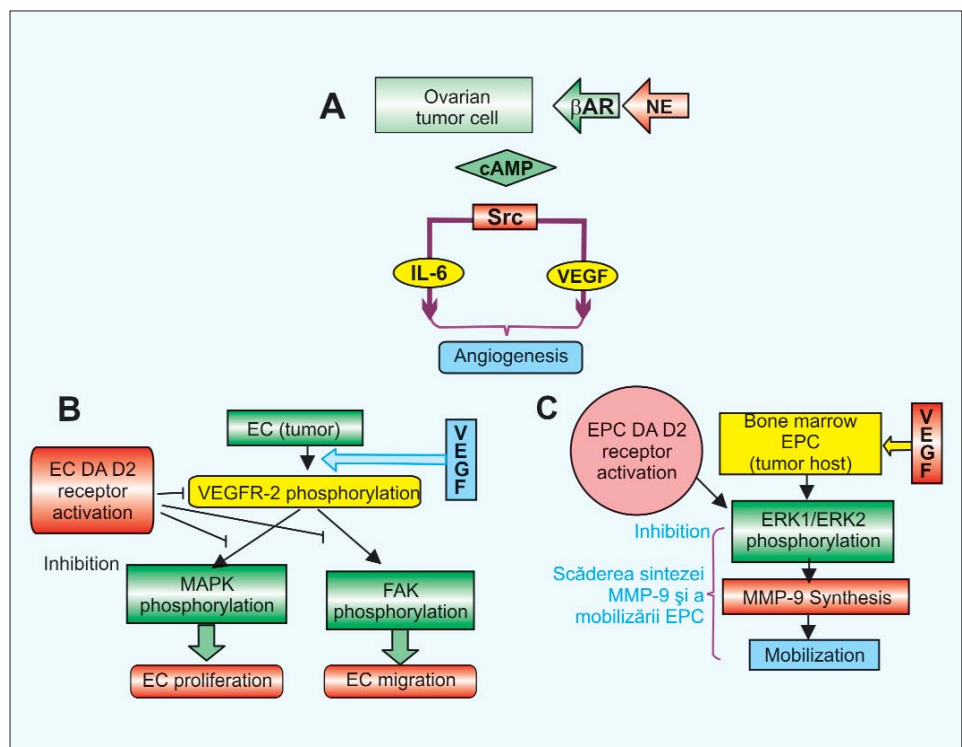
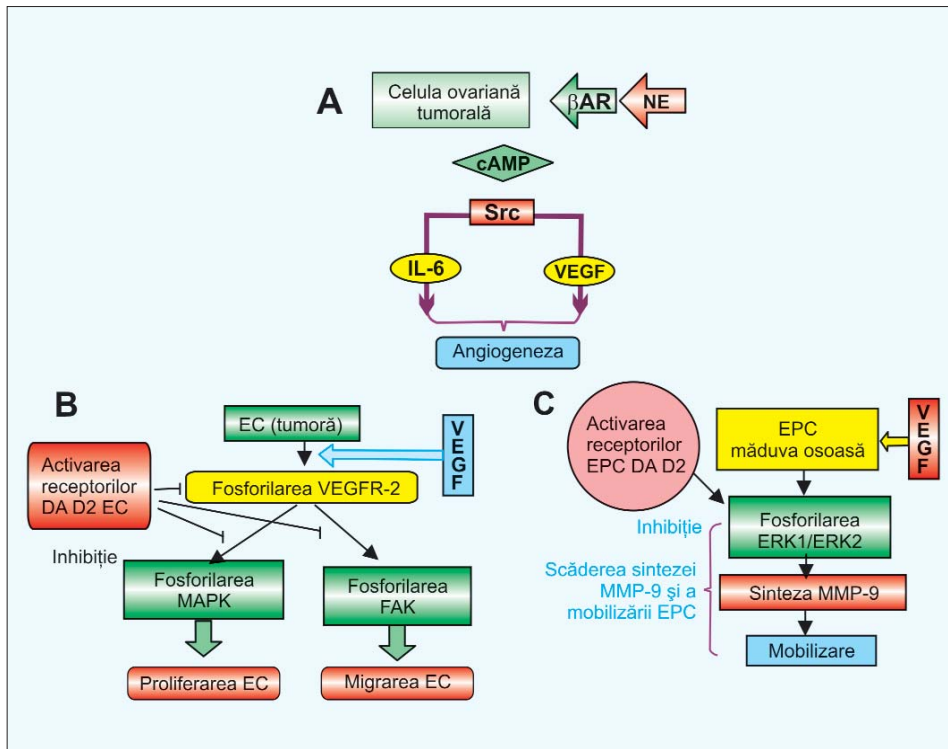


Figura 2. Catecolamine - căi de semnalizare în cancer (8)
 Figure 2. Catecholamines – signaling pathways in cancer (8)

afecțiuni neoplazice, (19, 20, 21) în care angiogeneza joacă un rol patogenic important. (17, 22). În mod cert, accesibilitatea dopaminei la receptorii săi, determină modificări funcționale în controlul progresiei tumorale și metastazării, însă mecanismele prin care își exercită aceste efecte nu sunt pe deplin elucidate.

Scopul

Scopul studiului este:

- analiza expresiei dopaminei, plasmatice și urinare, la pacienții cu melanom înainte de inițierea tratamentului, comparativ cu expresia dopaminei la subiecții cu leziuni preneoplazice ale melanocitelor (melanoză precanceroasă circumscrisă Dubreuihl), respectiv, leziuni benigne ale melanocitelor (nevi nevocelulari, nevi displazici) și subiecți de control, sănătoși.
- determinarea expresiei tisulare a dopaminei (melanom, nevi, țesut sănătos peritumoral). Acest studiu a fost conceput pentru a examina un posibil rol al dopaminei în diagnosticul timpuriu, prognosticul sau monitorizarea evoluției pacienților cu melanom. În acest context, rezultatele prezentului studiu ar putea îmbunătăți înțelegerea fiziopatologiei melanomului și ar putea facilita abordarea unor noi strategii terapeutice.

Material și Metodă

Studiul a fost realizat pe o perioadă de 2 ani având la bază analiza prospectivă a 64 bolnavi cu melanom în diferite faze de evoluție (39 femei, 25 bărbați, cu vârste cuprinse între 28 și 84 ani), 5 pacienți cu melanoză Dubreuihl (4 femei, 1 bărbat, cu vârsta cuprinsă între 36 și 61 ani), 40 persoane cu nevi (24 femei, 16 bărbați, cu vârste între 26 și 89 ani) și 40 subiecți sănătoși (24 femei, 16 bărbați, cu vârste cuprinse între 27 și 81 ani).

Au fost excluși din studiu pacienții cu afecțiuni digestive, endocrinopatii, hipertensiune arterială, afecțiuni hepatice, insuficiență renală cronică, astm, boli mieloproliferative, neoplazii, afecțiuni neurologice, boli psihice, alcoolism cronic, infecții/inflamații cronice, femei însărcinate, pacienți cu tratament hormonal, antidepresiv, antioxidant, blocanți ai receptorilor

tratând pacienții cu neoplazie, (19, 20, 21), în care angiogeneza joacă un rol patogenic important (17, 22). Cert, accesibilitatea dopaminei la receptorii săi, determină modificări funcționale în controlul progresiei tumorale și metastazării, însă mecanismele prin care își exercită aceste efecte nu sunt pe deplin elucidate.

Purpose

The purpose of the study:

- the analysis of plasmatic and urinary dopamine expression, in patients with melanoma before treatment, compared with dopamine expression in subjects with preneoplastic lesions of melanocytes (precancerous circumscribed Dubreuihl melanosis), respectively benign lesions of melanocytes (nevocellular nevi, dysplastic nevi) and healthy control subjects.
- the determination of tissue dopamine expression (melanoma, nevi, peritumoral healthy tissue). This study was designed to examine a possible role of dopamine in early diagnosis, prognosis or monitoring the patients with melanoma. In this context, the results of this study could improve understanding of melanoma pathophysiology and could help to establish new therapeutical strategies.

Material and Methods

The study was made during two years based on the prospective analysis of 64 patients with melanoma in different stages of evolution (39 women, 25 men, aged between 28 and 84 years), 5 patients with Dubreuihl melanosis (4 women, 1 male, aged between 36 and 61 years), 40 individuals with nevi (24 women, 16 men, aged between 26 and 89 years) and 40 healthy subjects (24 women, 16 men, aged between 27 and 81 years). There were excluded from the study patients with digestive diseases, endocrinopathies, hypertension, liver disease, chronic kidney disease, asthma, myeloproliferative diseases, cancer, neurological disorders, mental illness, chronic alcoholism, chronic infection/inflammation, pregnant women, patients with hormone treatment, antidepressant,

dopaminergici, inhibitori de MAO. Pacienții au fost incluși în studiu după semnarea consimțământului liber informat conform Declarației de la Helsinki.

Pentru monitorizarea pacienților, s-au efectuat următoarele investigații:

- determinări hematologice și biochimice (metode standardizate de analiză);
- determinarea dopaminei (metoda ELISA);
- teste pentru hemoliză: (LDH, bilirubina indirectă, test Coombs);
- reactanți de fază acută (VSH, fibrinogen, CRP).

Probele biologice (sânge, urina colectată în 24 ore) au fost prelevate înainte de începerea tratamentului. Fragmentele tisulare prelevate au fost supuse extracției cu tampon fosfat salin (1:10) și concentrația dopaminei tisulare s-a exprimat prin pg/g proteina (proteina fiind determinată prin metoda Lowry).

Toate rezultatele au fost prelucrate statistic și au fost prezentate prin valoare medie ± deviație standard (DS). Grupurile de studiu au fost comparate prin testul t Student. Interpretarea statistică s-a făcut în concordanță cu pragul de semnificație acceptat de comunitatea științifică internațională ($p < 0,05$).

Rezultate

Valorile plasmatiche ale dopaminei prezentate în tabelul 1 au fost exprimate diferențiat prin valoarea medie ± DS pentru loturile luate în studiu. Din analiza datelor obținute, s-a observat o creștere a dopaminei față de control de 1,09 ori la persoanele cu leziuni benigne ale melanocitelor și o reducere de 0,91 ori la persoanele cu leziuni precanceroase, respectiv, de 0,82 ori la pacienții cu melanom. Modificările observate în nivelul dopaminei plasmatiche la pacienții cu leziuni melanocitare versus control au fost nereprezentative din punct de vedere statistic (figura 3 a).

Valorile urinare ale dopaminei au indicat o creștere față de control de 1,03 ori la persoanele cu tumori benigne, de 1,04 ori la persoanele cu melanoză Dubreuilh și o reducere de 0,74 ori la pacienții cu melanom (figura 3 b). Din analiza datelor rezultate, s-a constatat că scăderea cea mai severă a dopaminei urinare s-a înregistrat la pacienții cu melanom față de control, ceea ce se

antioxidants, dopaminergic receptors blockers, MAO inhibitors. Patients were included in the study, after signing the informed consent, according to the Declaration from Helsinki.

The following investigations were made?? for monitoring the patients:

- hematological and biochemical determinations (standard methods of analysis);
- the determination of dopamine (ELISA method);
- tests for hemolysis (LDH, indirect bilirubin, Coombs test);
- acute phase reactants (ESR, fibrinogen, CRP).

The biological samples (blood, urine collected in 24 hours) were taken before treatment. Tissue fragments obtained were analyzed by extraction with PBS (1:10) and dopamine concentration, was expressed by pg/g protein (protein assessed by Lowry method).

All results were statistically processed and presented by mean ± standard deviation (SD). The study groups were compared by t Student test. The statistical interpretation was made in accordance with the significance limit accepted by the international scientific community ($p < 0.05$).

Results

Plasma levels of dopamine shown in table 1 were expressed by the mean ± SD for the groups in the study. The analysis of the obtained data, showed an increase of dopamine versus control of 1.09 times in people with benign lesions of melanocytes and a decrease of 0.91 times in people with precancerous lesions, respectively, of 0.82 times in patients with melanoma. Changes observed in dopamine levels in patients with melanocytic lesions versus control had no statistical significance (figure 3a).

Urinary dopamine indicated an increase compared to control of 1.03 times in people with benign tumors, 1.04 times in people with Dubreuilh melanosis and a reduction of 0.74 times in patients with melanoma (Figure 3b). Analyzing these results, it was shown that the most severe loss of urinary dopamine occurred in patients with melanoma compared to control,

soldează cu o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p < 0,05$).

Modificarea dopaminei în țesuturile tumorale versus control (tabelul 2) este în concordanță cu datele prezentate anterior, care reprezintă un argument în favoarea observației cu reducerea expresiei dopaminei în micromediul tumoral se asociază cu progresia malignă. S-a observat o creștere de 1,18 ori a dopaminei în tumorile benigne față de control ($p > 0,05$) și o reducere de 0,83 ori în melanom semnificativ statistic față de control ($p < 0,05$) (figura 3 c).

Discuții

Pe baza datelor experimentale obținute în studiul prezent, se poate constata o tendință generală de scădere a dopaminei în boala neoplazică. Concentrația dopaminei plasmatice are o evoluție asemănătoare cu a dopaminei urinare și tisulare (tabel 1 și tabel 2). Raportat la control, nivelul dopaminei crește în tumori melanocitare benigne (figura 3 a, b, c), probabil în încercarea de a compensa efectele factorilor proangiogenici supraexpresiți în cancer. Pe parcursul procesului de transformare malignă, dopamina scade treptat, ceea ce sugerează că factorii antiangiogenici fac față din ce în ce mai greu efectelor proangiogenice. În momentul în care sistemul antiangiogenic este depășit, echilibrul se rupe, și are loc formarea de vase de sânge anormale cu permeabilitate crescută. Utilizarea dopaminei în controlul angiogenezei tumorale deschide o nouă cale de cercetare în terapia antitumorală. În prezent, este bine stabilit că terapia antiangiogenică poate întârzia dezvoltarea și progresia tumorilor maligne. (2, 3, 4, 6, 13, 22.)

Diferite studii, au demonstrat că administrarea dopaminei inhibă creșterea în diferite tipuri de cancere (gastrice, ovarian, de sân, de colon, mielom) (2, 3, 4, 6, 13, 23). În cancerul gastric, valorile endogene ale dopaminei în țesutul tumoral au fost semnificativ mai scăzute decât în țesutul normal. (5, 6) Dopamina are efect direct antiangiogenic. În toate modele animale, tratamentul cu dopamină a condus la o reducere semnificativă a tumorii. Dopamina blochează proliferarea, migrația tumorală și permeabilitatea vasculară VEGF-indusă (3, 14, 23, 24).

which translates into a statistically significant difference ($p < 0.05$).

The changes of dopamine in tumoral tissue versus control (table 2) were in accordance with data presented above. This data sustain the idea that, reducing the expression of dopamine in the tumor microenvironment is associated with malignant progression. It was found a dopamine increase of a 1.18-fold in patients with benign tumors compared to control ($p > 0.05$) and 0.83 times reduction in melanoma statistically significant compared to control ($p < 0.05$) (figure 3 c).

Discussions

Based on experimental data obtained in the present study, we can observe a general decrease of dopamine in neoplastic disease. Plasma dopamine concentration has a similar evolution with urinary and tissue dopamine (table 1 and table 2). Compared to control, dopamine levels increase in benign melanocytic tumors (figure 3 a, 3 b, 3 c), probably in an attempt to offset the effects of proangiogenic factors, overexpressed in cancer. Dopamine decreases gradually during the process of malignant transformation, suggesting that antiangiogenic factors cope harder and harder to proangiogenic effects. When antiangiogenic system is exceeded, the balance is broken, and so, appear abnormal blood vessels with increased permeability. The use of dopamine for research in controlling tumor angiogenesis opens a new path in antitumoral therapy. It is now, well established, that antiangiogenic therapy can delay the development and progression of malignant tumors (2, 3, 4, 6, 13, 23).

Various studies have demonstrated that administration of dopamine inhibits the growth of various cancers like gastric, breast, ovarian, colon tumors and mieloma (2, 3, 4, 6, 13, 23). In gastric cancer, the endogenous levels of dopamine in tumor tissue, were significantly lower than in normal tissue.(5,6) Dopamine has direct antiangiogenic effect. In all animal models, treatment with dopamine determined a significant reduction of the tumor. Dopamine blocks the proliferation, migration and tumor VEGF-induced vascular permeability (3, 14, 23, 24).

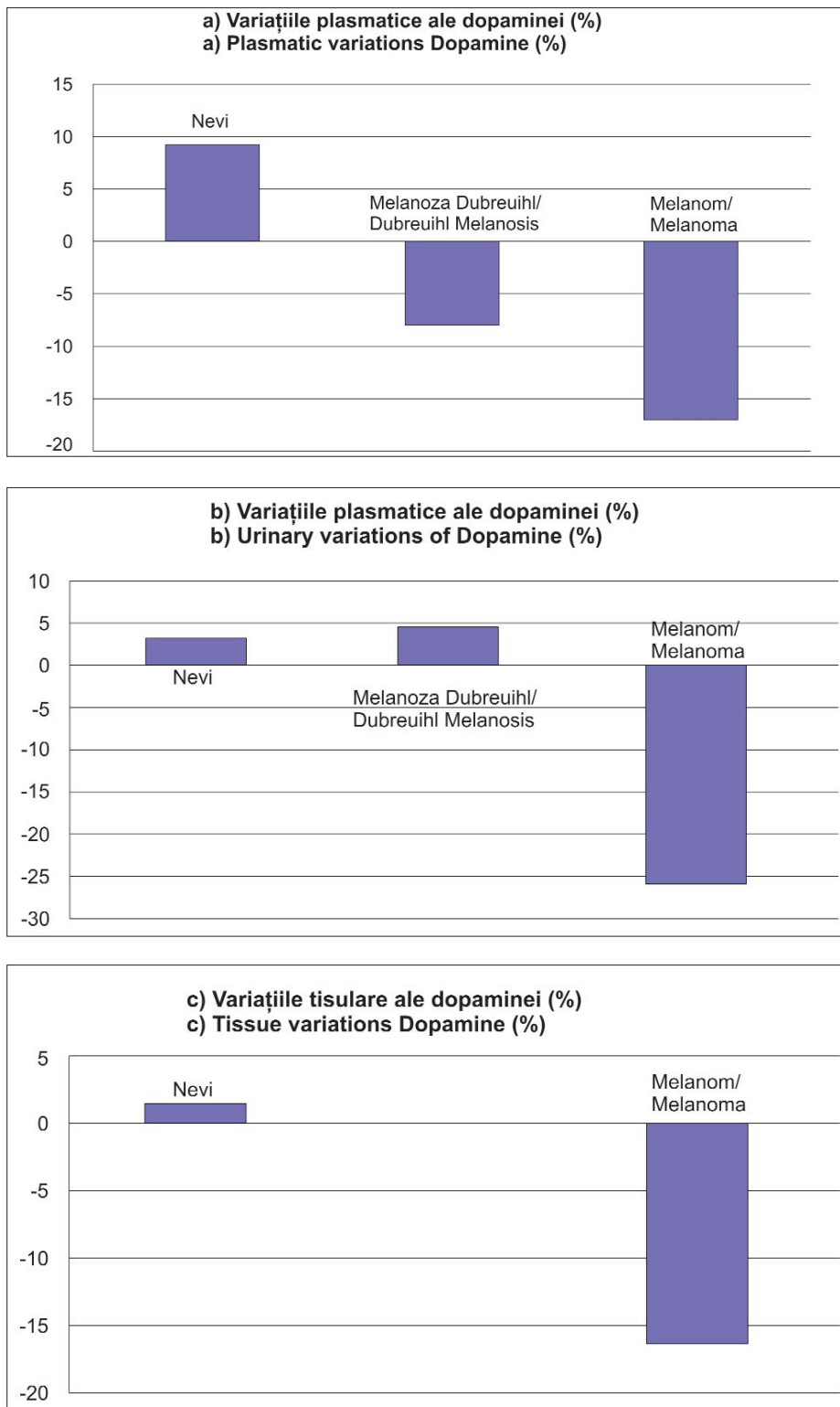


Figura 3. Variațiile dopaminei (%) plasmatice (a), urinare (b), tisulare (c) la pacienții cu leziuni cutanate melanocitare versus control
 Figura 3. Plasmatic (a), Urinary (b), Tissue (c) Dopamine variations (%) in patients with cutaneous melanocytic lesions versus control

Tabel 1. Concentrația dopaminei, în plasma și urină, la pacienți cu proliferați melanocitare și control

Condiții	Nr cazuri (n)	Dopamină (pg/ml plasmă)	Semnificație statistică (p)	Dopamină (ug/24h)	Semnificație statistică (p)
Control	40	58,8±25,3	-	201,6±160,7	-
Tumori benigne	40	64,1±39,7	>0.05	207,4±147,8	>0.05
Leziuni precanceroase	5	53,6±21,8	>0.05	210,1±37,2	>0.05
Melanom	64	48,2±16,1	>0.05	148,5±91,6	0.0382

Table 1. Dopamine concentration, in plasma and urine, in patients with melanocytic proliferations and control

Conditions	Cases (n)	Dopamine (pg/ml plasma)	Statistical significance (p)	Dopamine (ug/24h)	Statistical significance (p)
Control	40	58,8±25,3	-	201,6±160,7	-
Benign tumors	40	64,1±39,7	>0.05	207,4±147,8	>0.05
Precancerous Lesions	5	53,6±21,8	>0.05	210,1±37,2	>0.05
Melanoma	64	48,2±16,1	>0.05	148,5±91,6	0.0382

Tabel 2. Concentrația dopaminei în leziuni melanocitare și țesut normal peritumoral

Conditii	Nr cazuri (n)	Dopamina (pg/g proteina)	Semnificatie statistica (p)
Tesut sanatos	7	602,7±106,1	-
Nevi	4	712,0±81,5	>0.05
Melanom	8	501,7±171,4	0.0496

Table 2. Dopamine concentration in melanocytic lesions and peritumoral normal tissue

Conditions	Cases (n)	Dopamine (pg/g protein)	Statistical significance (p)
Healthy tissue	7	602,7±106,1	-
Nevi	4	712,0±81,5	>0.05
Melanoma	8	501,7±171,4	0.0496

Alte studii au arătat că dopamina care acționează pe receptorii D2 like îmbunătățește endocitoza și scade expresia membranală a VEGF-R2 (14, 22). În plus, față de efectele sale asupra celulelor endoteliale mature, s-a dovedit că dopamina blochează căile de semnalizare în celulele endoteliale progenitoare și recrutarea acestora din măduva osoasă. Valorile dopaminei sunt scăzute în măduva osoasă a șoarecilor cu tumori, astfel încât eliberarea acestora nu mai este blocată, iar ele ajung în circulația sistemică. Date recente, susțin ipoteza conform căreia celulele endoteliale progenitoare sunt implicate

Other studies have shown that dopamine stimulates D2 receptors, improves endocytosis and decreases membrane expression of VEGF-R2 (14, 22). In addition to its effects on mature endothelial cells, dopamine blocks the signaling pathways in endothelial progenitor cells from bone marrow and their recruitment. The levels of dopamine in the bone marrow of tumor mice are low. Their release is not blocked and they get into systemic circulation and become ready for neovascularization. Recent data support the hypothesis that endothelial progenitor cells are involved in neoangiogenesis. Dopamine in the

în neoangiogenează. Astfel, în angiogenează dopamină din măduva osoasă este supresată. (12, 23)

Dopamina este un factor inhibitor endogen al angiogenezei, care necesită inactivare pentru progresia și metastazarea tumorală. Ablatia nervilor periferici dopaminergici a crescut semnificativ angiogeneza, densitatea vaselor sangvine, permeabilitatea vasculară și ritmul de creștere al melanomului B16 la șoareci. (5) Astfel, agoniști ai receptorilor dopaminergici pot deveni ținte terapeutice în tratamentul antiangiogenic al cancerului.

Concluzii

Rezultatele obținute în acest studiu sprijină ipoteza că stresul psihologic poate influența progresia melanomului cutanat prin modularea expresiei factorilor proangiogenici și prometastatici. Este important de menționat faptul că, în acest studiu, s-au analizat diferite tipuri de proliferări melanocitare (nevi, melanoză precanceroasă, melanom primar, melanom metastatic) și s-a constatat că reducerea dopaminei se asociază cu stadii avansate ale neoplaziei. Valoarea dopaminei în controlul melanomului deschide o nouă cale de cercetare în terapeutică.

Intrat în redacție: 10.12.2011

bone marrow is suppressed during neovessels formation (12, 23).

Dopamine is an endogenous inhibitory factor of angiogenesis, which requires inactivation for tumor progression and metastasis. Ablation of dopaminergic peripheral nerves increased significantly angiogenesis, the density of blood vessel, vascular permeability and the progression of B16 melanoma in mice (5). Thus, dopamine receptor agonists may become therapeutic targets in antiangiogenic treatment of cancer.

Conclusions

The results obtained in this study sustain the idea that psychological stress can influence the progression of cutaneous melanoma by modulating proangiogenic and prometastatic factors expression. It is important to mention, that in our study, we analyzed different types of melanocytic proliferations (nevi, precancerous melanosis, primary melanoma, metastatic melanoma). The conclusion was that dopamine decrease is associated with the development of neoplastic disease. The use of dopamine in controlling melanoma offers a new insight in therapeutics.

Received:10.12.2011

Bibliografie/Bibliography

1. Shome S., Rana T., Ganguly S. et al, "Dopamine Regulates Angiogenesis in Normal Dermal Wound Tissues", *Plos One*, September 2011, 6 (9) e25215.
2. Yang E.V., Kim S., Donovan L. et al, "Norepinephrine upregulates VEGF, IL-8, and IL-6 expression in human melanoma tumor cell lines: implications for stress-related enhancement of tumor progression", *Brain Behav Immun*. 2009, 23(2): 267-275.
3. Lynn K. D., Roland C. L., Brekken R. A., "VEGF and Pleiotrophin Modulate the Immune Profile of Breast Cancer", *Cancers* 2010, 2, 970-988
4. Strell C., Sievers A., Bastian P. et al, "Divergent effects of norepinephrine, dopamine and substance P on the activation, differentiation and effector functions of human cytotoxic T lymphocytes", *BMC Immunol*. 2009, 10-62
5. Basu S., Sarkar C., Chakroborty D., et al. "Ablation of Peripheral Dopaminergic Nerves Stimulates Factor/Vascular Endothelial Growth Factor-Mediated Malignant Tumor Growth by Inducing Vascular Permeability Angiogenesis", *Cancer Res* 2004, 64, 5551-5555.
6. Basu S., Dasgupta P.S. Decreased dopamine receptor expression and its second messenger cAMP in malignant human colon tumor tissue. *Dig Dis Sci* 1999; 44, 916-21.
7. Beck G.C., Brinkkoetter P., Hanusch C. et al, "Clinical review: Immunomodulatory effects of dopamine in general inflammation", *Critical Care* 2004, 8, 485-491
8. Chakroborty D., Sarkar C., Basu B., et al., "Catecholamines Regulate Tumor Angiogenesis", *Cancer Res* 2009; 69: 3727-3730.
9. Bergmann M, Sautner T: Immunomodulatory effects of vasoactive catecholamines. *Wien Klin Wochenschr* 2002, 114, 752-761.

10. Basic F., Uematsu S., McCarron R.M., Spatz M.: Dopaminergic receptors linked to adenylate cyclase in human cerebrovascular endothelium. *J Neurochem* 1991, 57, 1774-1780.
11. Basu S., Dasgupta P.S.: Dopamine, a neurotransmitter, influences the immune system. *J Neuroimmunol* 2000, 102, 113-124.
12. Tilan J., Kitlinska J.: "Sympathetic Neurotransmitters and Tumor Angiogenesis-Link between Stress and Cancer Progression", *Journal of Oncology* Volume 2010, ID 539706, 6 pages
13. Sarkar C., Chakroborty D., Chowdhury U.D. et al.: "Dopamine increases the efficacy of anticancer drugs in breast and colon cancer preclinical models", *Clinical Cancer Research*, 2008, 14 (8), 2502-2510.
14. Basu S., Nagy J.A., Pal S., et al.: The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor," *Nature Medicine*, 2001, 7 (5), 569-574.
15. Thaker P.H., Han L.Y., Kamat A.A., et al.: Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nat Med* 2006; 12: 939-44.
16. Yang E.V., Sood A.K., Chen M., et al.: Norepinephrine upregulates the expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase (MMP)-2, and MMP-9 in nasopharyngeal carcinoma tumor cells. *Cancer Res* 2006; 66: 10357-64.
17. Matalka K.Z., Attallah L, Qinna N.A. et al.: "Dopamine selectively modulates lipopolysaccharide-induced TNF-alpha, IFN-gamma and IL-10 within mice tissues", *Neuroendocrinology Letters* Volume 2011, 32(2), 176-186
18. Nilsson M.B., Armaiz-Pena G., Takahashi R., et al.: Stress hormones regulate interleukin-6 expression by human ovarian carcinoma cells through a Src-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2007; 282: 29919-26.
19. Sarkar C., Chakroborty D., Mitra R.B., et al.: "Dopamine in vivo inhibits VEGF induced phosphorylation of VEGFR-2, MAPK, and focal adhesion kinase in endothelial cells," *American Journal of Physiology*, 2004, 287, H1554-H1560.
20. Perron L., Bairati I., Harel F., Meyer F.: Antihypertensive drug use and the risk of prostate cancer (Canada). *Cancer Causes Control* 2004; 15: 535-41.
21. Alvarez C., Martí-Bonmatí L., Novella-Maestre E., et al.: Dopamine agonist cabergoline reduces hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2931-7.
22. Dvorak H.F. Angiogenesis: update 2005. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1835-42.
23. Chakroborty D., Sarkar C., Mitra R.B. et al.: "Depleted dopamine in gastric cancer tissues: dopamine treatment retards growth of gastric cancer by inhibiting angiogenesis," *Clinical Cancer Research*, 2004, 10(13), 4349-4356.
24. Chakroborty D., Chowdhury U.D., Sarkar C., et al.: "Dopamine regulates endothelial progenitor cell mobilization from mouse bone marrow in tumor vascularization," *Journal of Clinical Investigation*, 2008, 118(4),1380-1389.

Conflict de interese
NEDECLARATE

Conflict of interest
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: drnicolaeilina@yahoo.com
Correspondance address: