

## Citotoxicidad de 1-O-decilglicerol y 1-O-dodecilglicerol Sintéticos sobre Carcinoma Humano de Mama MCF-7

Hélade Sotomayor PÉREZ <sup>1\*</sup>, Mohammad Ibrahim KASEM <sup>1</sup>, Víctor Brito NAVARRO <sup>1</sup>,  
Julio C. GARCÍA <sup>2</sup>, José L. León ÁLVAREZ <sup>1</sup>,  
Francisco Merchán GONZÁLEZ <sup>1</sup> & Yolanda C. Valdés RODRÍGUEZ <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.

5ta. A N° 8207 entre 82 y 84. Playa. Ciudad de la Habana, Cuba

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas. Ciudad de la Habana, Cuba.

**RESUMEN.** Los Éteres Lipídicos (EL) introducen un nuevo concepto terapéutico en el tratamiento de afecciones humanas. Éstos resultan específicos contra el desarrollo y expansión de diferentes tipos de tumores malignos. Los 1-O-Alquilgliceroles (AQGs), análogos estructurales de los EL, presentan el grupo 1-O-alquilo de cadena larga al que se atribuyen la mayoría de los efectos farmacológicos de éstos. Teniendo en consideración la homología estructural, se estudiaron los efectos citotóxicos de los AQGs sintéticos: 1-O-decilglicerol y 1-O-dodecilglicerol, sobre el carcinoma humano de mama, MCF-7. Ambos compuestos presentaron efectos citotóxicos dependientes de la concentración de AQG y de la densidad celular de MCF-7; sin embargo, mostraron un comportamiento diferencial en función de la longitud de cadena alquímica.

**SUMMARY.** "Cytotoxicity of synthetic 1-O-decylglycerol and 1-O-dodecylglycerol against human breast carcinoma MCF-7". Ether lipids (EL) introduce a new therapeutic concept in the treatment of several human diseases. They are selective against malign tumors. 1-O-alkylglycerols are analogues of EL. Taking into consideration this structural similarity we evaluated the cytotoxicity of synthetic 1-O-decylglycerol (DeG) and 1-O-dodecylglycerol (DDG) against human breast carcinoma MCF-7. DeG and DDG exhibited cytotoxic effects against this tumor line. These effects were cellular density-dependent and AQG concentration-dependent.

### INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo. Desde el punto de vista médico, es definido como un crecimiento tisular patológico producido como consecuencia de la proliferación continua de células transformadas, con capacidad de expansión local, invasión, colonización y destrucción de otros tejidos <sup>1</sup>. Ésta no es una única entidad patológica sino que abarca más de 100 formas, según el tejido afectado; incluso en un mismo tejido se puede encontrar una amplia variedad de cánceres con distinta morfología y grado de malignidad <sup>2</sup>.

Las medidas terapéuticas tradicionales contra el cáncer incluyen la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, en dependencia del estadio de éste al momento del diagnóstico. Esta última ha alcanzado gran desarrollo; sin embargo, la mayoría de los antitumorales son poco selectivos, pues afectan la viabilidad de las células sanas; además poseen una alta toxicidad, por lo que

empeoran la calidad de vida de los pacientes. Por otra parte, se ha detectado que una gran variedad de tumores malignos muestran resistencia a la poliquimioterapia.

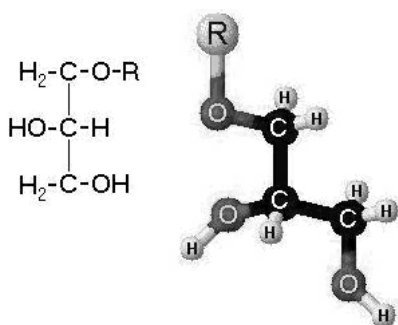
En este sentido, una alternativa terapéutica ha sido el empleo de los éteres lipídicos (EL), los que muestran especificidad contra el desarrollo y expansión de tumores malignos <sup>3,4</sup>. Además de estos efectos, tienen actividad inmunomoduladora <sup>5,6</sup>, promotora de la absorción <sup>7</sup> y antiinflamatoria <sup>8,9,10</sup>, entre otras.

Los 1-O-Alquilgliceroles (AQGs) son una familia de EL que presentan la estructura 1-O-Alquilo de cadena larga (Fig. 1) a la que se le atribuye las propiedades farmacológicas que tienen éstos <sup>8</sup>. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza, siendo particularmente abundantes en fuentes de origen marino <sup>11,12,13</sup>, en especial, en el aceite de hígado de tiburón donde se presentan en forma de mezclas de diferentes longitudes de cadena <sup>12,13</sup>.

**PALABRAS CLAVE:** alquilgliceroles, citotoxicidad, MCF-7.

**KEY WORDS:** alkylglycerols, cytotoxic effects, MCF-7.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: hshotomayor@infomed.sld.cu



**Figura 1.** Estructura de los AQGs.

Desde 1989, en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana se trabaja en la obtención de los AQGs por síntesis química, así como en la caracterización y evaluación farmacológica de éstos. Los principales efectos encontrados *in vitro* han sido: los inmunoadyuvantes <sup>8</sup>, citotóxicos, inductores de apoptosis y de diferenciación celular en líneas tumorales <sup>14</sup>; e *in vivo* han sido: antitumorales directos e indirectos, antinvasivos, inductores de apoptosis y adyuvantes de poliquimioterapia en diferentes tumores experimentales murinos <sup>8,15,16</sup>, antiinflamatorios <sup>8,9,10</sup> y antiangiogénicos <sup>17</sup>.

El presente trabajo comprende la evaluación de los efectos citotóxicos de los AQGs sintéticos 1-O-deciliglicerol (DeG) y el 1-O-dodeciliglicerol (DDG) sobre la línea de células tumorales MCF-7, de carcinoma humano de mama.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Células

Las células MCF-7, de carcinoma humano de mama, procedentes del Centro de Inmunología Molecular (La Habana, Cuba) fueron cultivadas en frascos Costar de 25 cm<sup>2</sup> con medio RPMI 1640 enriquecido con suero bovino fetal (FCS) (Gibco BRL) al 10%, HEPES y bicarbonato. Adicionalmente, el medio se suplementó al 1% con solución antibiótica de Penicilina G, Estreptomina y Anfotericina B (Sigma, Saint Louis, USA). El medio fue reemplazado cada 3 días. Una vez que alcanzó la confluencia, el cultivo fue sometido a solución de tripsina-EDTA en proporción 9:1 (v:v) y las células fueron pasadas a nuevos frascos. La línea fue mantenida a 37 °C en atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub>, en incubadora KEBO ASSAB AB (Suecia).

### Alquilgliceroles

Los AQGs, DeG y DDG, fueron obtenidos en el Departamento de Química Básica del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana, mediante la técnica modificada de síntesis de Williamson a partir del 1,2-O-isopro-

pilidenglicerol y utilizando como derivado halogenado el correspondiente cloruro de alquilo. Su pureza resultó mayor del 90% <sup>18</sup>.

Los AQGs fueron disueltos en etanol absoluto (Riedel-de Haën) para una concentración de trabajo de 10 mg/mL, a partir de la cual se realizaron las diluciones necesarias en el mismo medio de cultivo de las células para obtener las concentraciones empleadas, que fueron: 5, 10, 20, 40, 50, 60 y 80 µg/mL, rango en el cual se han informado efectos citotóxicos de estos compuestos en otras líneas tumorales <sup>14</sup>.

### Ensayo de citotoxicidad

Previo al ensayo de citotoxicidad, el cultivo de MCF-7 en fase exponencial fue tratado con una solución de tripsina-EDTA como se describió anteriormente. Las células fueron centrifugadas y redispersadas en medio de cultivo. Se trabajó a las densidades celulares 2x10<sup>3</sup> y 4x10<sup>3</sup> células por pozo. Para preparar éstas se determinó viabilidad celular empleando la tinción de exclusión de tripán azul. Se tiñeron 100 µL del cultivo con 100 µL de tripán azul y se realizó el conteo celular en cámara de Neubauer.

La citotoxicidad fue medida en placas Costar de 96 pozos mediante el ensayo colorimétrico con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) <sup>19</sup>. Las placas fueron incubadas con el AQG correspondiente durante 48 h a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> (KEBO ASSAB AB, Suecia). Cada concentración fue evaluada por triplicado, añadiendo 100 µL de solución celular y 100 µL de AQG por pozo. Posteriormente se añadió MTT a cada pozo para una concentración final de 0.5 mg/mL. Se incubó 4 horas en las condiciones antes descritas. Se solubilizaron los cristales de formasano añadiendo 100 µL de solución de solubilización (10% SDS en 0,01 M HCl), se incubó durante la noche y después se leyó la absorbancia en un lector de placas (SUMA, Cuba), a una longitud de onda de 580 nm.

### Análisis estadístico

El procesamiento estadístico se realizó utilizando el paquete de programas Statistica Versión 5.0 (StatSoft Inc., 1995) para Windows. Los experimentos se realizaron por triplicado y los valores se procesaron de forma independiente. Los gráficos de citotoxicidad fueron construidos mediante el Excel 97 (Microsoft Corp.) y las EC<sub>50</sub> (concentración citotóxica media), fueron calculadas utilizando el CurveExpert 1.34 (Microsoft Corp., 1997), por una regresión no lineal de dosis - respuesta. Se realizó un ANOVA factorial y posteriormente se compararon las me-

días entre los grupos mediante un Test de Duncan. El nivel de  $P < 0.05$  fue considerado como estadísticamente significativo.

**RESULTADOS**

**Efectos citotóxicos de los AQGs DeG y DDG sobre MCF-7**

En la Fig. 2 se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los efectos del DeG y el DDG sobre MCF-7. Los efectos citotóxicos del DeG y el DDG en esta línea tumoral pudieron ser apreciados desde la primera concentración, y fueron esencialmente dependientes de este parámetro para ambos AQGs a las dos densidades celulares en estudio. No obstante, en las curvas de citotoxicidad del DDG, tanto a  $2 \times 10^3$  como a  $4 \times 10^3$  células/pozo, se obtiene una meseta entre los valores de 40 y 80  $\mu\text{g/mL}$ , lo que indica que en este rango el efecto es independiente de la concentración de AQG. En el caso del DeG, esta independencia con respecto a la concentración se obtiene a partir de 50  $\mu\text{g/mL}$  a las dos densidades celulares.

Por otra parte, para ambos AQGs los efectos citotóxicos fueron dependientes de la densidad celular, siendo superiores a  $2 \times 10^3$  células/pozo. A esta densidad los dos compuestos mostraron

un comportamiento altamente citotóxico, lo que se expresa en una  $EC_{50}$  igual a 12,33  $\mu\text{g/mL}$  y 4,23  $\mu\text{g/mL}$ , para el DeG y el DDG respectivamente. El crecimiento del porcentaje de citotoxicidad es mucho menor a  $4 \times 10^3$  células/pozo, lo que es una medida de que a bajas dosis de DeG y DDG a esta densidad hay menos muerte celular que a iguales dosis de ambos AQGs a  $2 \times 10^3$  células/pozo. No obstante, los efectos citotóxicos de estos compuestos se hacen independientes de la densidad celular de MCF-7 a partir de 40  $\mu\text{g/mL}$  y 50  $\mu\text{g/mL}$  para el DDG y el DeG respectivamente (Fig. 2).

Con respecto a la influencia del parámetro estructura química, es decir, longitud de la cadena 1-O-alkilo de los AQGs en la actividad citotóxica de los mismos, el estudio arrojó resultados diferentes en dependencia de la densidad celular. A  $2 \times 10^3$  células/pozo los efectos citotóxicos sobre MCF-7 fueron dependientes de la longitud de cadena, siendo significativamente superiores ( $P < 0.05$ ) los del DDG ( $EC_{50} = 4,23 \mu\text{g/mL}$ ) que los del DeG ( $EC_{50} = 12,13 \mu\text{g/mL}$ ). Sin embargo, a  $4 \times 10^3$  células/pozo la  $EC_{50}$  del DeG (20,67  $\mu\text{g/mL}$ ) fue ligeramente menor que la del DDG ( $EC_{50} = 22,01 \mu\text{g/mL}$ ), aunque no mostraron diferencias estadísticamente significa-

Efecto de DeG y DDG sobre MCF-7

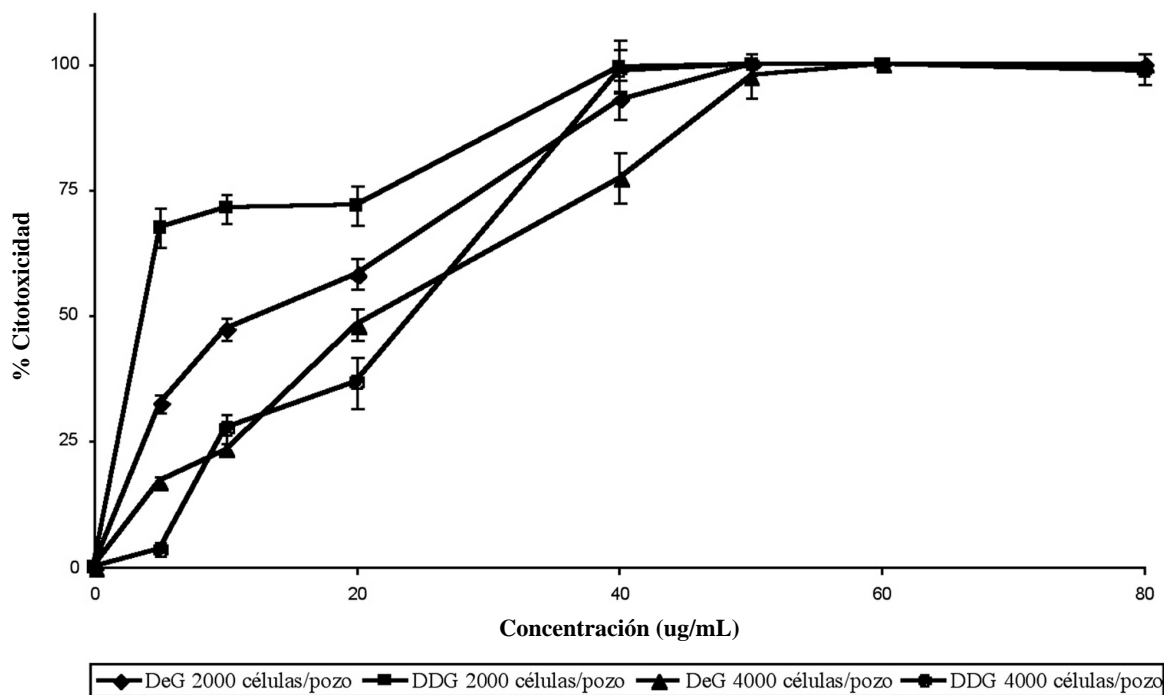


Figura 2. Efecto del DeG y el DDG (0-80  $\mu\text{g/mL}$ ) sobre la línea tumoral MCF-7, de carcinoma humano de mama, cultivada en medio RPMI 1640, a  $2 \times 10^3$  y  $4 \times 10^3$  células/pozo. Cada valor representa la media  $\pm$  D.E. (desviación estándar) de tres experimentos independientes.

tivas ( $P < 0.05$ ) y se alcanzó el 100% de citotoxicidad a menor concentración de DDG que de DeG. No obstante, los efectos citotóxicos a esta densidad fueron independientes de la longitud de la cadena alquílica.

## DISCUSIÓN

Los efectos antitumorales de los EL en general, y de los AQGs en particular, han sido descritos anteriormente <sup>3,4,8,15,20</sup>. En específico algunos autores han mencionado los efectos citotóxicos de éstos compuestos sobre diferentes líneas tumorales <sup>14,21</sup>, por lo que los resultados de este trabajo coinciden con lo que aparece en la literatura sobre el tema.

Muchos son los mecanismos que se han mencionado como los posibles responsables de la actividad antitumoral de los EL y en específico de los AQGs <sup>21-24</sup>. Por una parte, se han referido los efectos directos de los EL sobre las células tumorales <sup>25</sup>, lo que también ha sido descrito para los AQGs. Por otra, se han involucrado los efectos inmunomoduladores en la actividad antitumoral de EL y AQGs <sup>8,26</sup>, específicamente los relacionados con la activación de macrófagos, los que atacan y lisan la célula tumoral <sup>8,27</sup>. Adicionalmente, se ha sugerido que parte de la acción antitumoral de estos compuestos pudiera ser debida a sus efectos en la inhibición de la angiogénesis, lo que ha sido demostrado para los EL edelfosina <sup>28,29</sup>, s-fosfonato <sup>30</sup>, los AQGs hexadecilglicerol, octadecilglicerol y también para el DDG <sup>17</sup>.

Sin embargo, teniendo en cuenta que los efectos evaluados en este trabajo son *in vitro*, lo que los hace directos sobre las células tumorales (MCF-7), pueden eliminarse los mecanismos indirectos, como los que implican la activación de macrófagos y la inhibición de la angiogénesis. Por ello consideramos que los resultados obtenidos deben estar mediados por la acción de los AQGs sobre la membrana celular.

Existen evidencias de que, en dependencia de su concentración, los EL pueden lisar la membrana plasmática de las células tumorales o acumularse interfiriendo así en el recambio de los fosfolípidos de ésta; con lo que afectan diferentes propiedades como la fluidez y procesos como la señalización celular y otros que dependen de esta acumulación.

En este estudio se demostró que el DeG y el DDG tienen efectos citotóxicos sobre la línea de carcinoma humano de mama MCF-7, dependientes de la concentración en un rango amplio aunque llega el momento en que se hace esencialmente independiente de ésta.

En relación con la dependencia de la concentración, de cualquier modo, no debe descartarse que existan intervalos de concentraciones en los que estos AQGs tengan un efecto citostático más que citotóxico, lo cual ha sido descrito anteriormente <sup>21,14</sup>.

Adicionalmente, se demostró que los efectos citotóxicos del DeG y el DDG sobre esta línea tumoral son dependientes de la densidad celular a bajas concentraciones. Teniendo en cuenta la hipótesis, bastante bien documentada de que uno de los mecanismos de acción de los EL, es que se incorporan en la membrana plasmática de las células tumorales <sup>25</sup>, al haber una mayor densidad celular y bajas concentraciones de partida de AQGs, son muy bajas las concentraciones de éstos que se alcanzan en la membrana y por consiguiente, menores los efectos que producen en la misma.

Por otra parte, la acumulación en la membrana de las células tumorales, afecta algunas propiedades de la membrana y por consiguiente, algunas de sus funciones. Por tanto, es lógico esperar diferencias en el comportamiento de los AQGs en dependencia de su longitud de cadena alquílica. Según los resultados obtenidos, a  $2 \times 10^3$  células/pozo el DDG es más citotóxico que el DeG sobre MCF-7, lo cual concuerda con lo referido en la literatura sobre la longitud de la cadena alquílica de EL, donde se plantea que mientras mayor sea ésta, mayor será la actividad citotóxica <sup>31</sup>. Sin embargo, los efectos citotóxicos observados en éste estudio sólo fueron dependientes de la longitud de cadena lateral a esta densidad celular, no siendo así a  $4 \times 10^3$  células/pozo. No obstante, se debe tener en consideración que la diferencia entre estos AQGs es sólo de dos grupos  $-CH_2$  en su cadena alquílica.

En lo que respecta a la señalización celular, la gran similitud estructural entre los AQGs y la Edelfosina lleva a pensar en un mecanismo semejante al mostrado por ésta sobre la línea MCF-7, ya que se ha descubierto que la Edelfosina inhibe la vía de las MAPK <sup>32,33</sup> en estas células tumorales. Éste efecto es potenciado por la inhibición de PKC, posible activador de la cascada MAPK <sup>33,34</sup>, pudiendo ser responsable de su acción inhibitoria sobre la proliferación celular <sup>35</sup>.

Además de esto, la Edelfosina reduce la cantidad de receptores para el EGF en células MCF-7 <sup>33,36</sup>, sin afectar la unión de éste a sus receptores, sino la internalización de los mismos <sup>37</sup>, lo cual quedó confirmado en 1996 <sup>32</sup>.

Se han descubierto otros efectos de la Edelfosina sobre MCF-7, pero no profundizaremos en ellos por ser éstos posiblemente los respon-

sables de su acción *in vivo*<sup>38,39</sup>. Hasta ahora no se conocen todos los mecanismos de acción de los EL que determinan sus efectos sobre la señalización celular.

Otra de las formas en que pueden actuar los EL frente a las células tumorales es como inductores de apoptosis<sup>40-42</sup> y de diferenciación celular, sin estar claros aún los mecanismos moleculares que median esta acción. Esto también ha sido descrito *in vitro*<sup>14</sup> e *in vivo*<sup>20</sup> para los AQGs.

El estudio realizado contribuye a ampliar los conocimientos sobre los efectos antitumorales del DeG y DDG, a la vez que sugiere la necesidad de seguir profundizando en los mismos.

**Agradecimientos.** Los autores desean agradecer al Centro de Inmunología Molecular, La Habana, Cuba, por el soporte económico de valiosa ayuda para la realización de este trabajo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bennett, J.C. & M.D.F. Plum (1996) "Oncología", en *"Tratado de medicina interna"*, pág. 1153.
- Orozco, E.O. & P.V. Gariglio (2000) "Bases moleculares del Cáncer", en *"Genética y Biomedicina Molecular"*, págs. 181-9.
- Berdel, W.E. (1988) *JACCS* **65**:1874-1880.
- Berger, M.R. P. Yanapirut, M. Reinhardt, T. Kleiner, H. Schert, H.H. Schneiser & H. Eibl (1992) *Prog. Exp. Tumor Res.* **34**: 98-115 .
- Andreesen, R. & P.G. Munder (1988) *New Trends Lipid Mediators Res.* **1**: 16-29.
- Pignol, B., S. Chaumeron, H. Coulomb, T. Maissonnet, B. Vandamme, C. Broquet, J.M. Mencia-Huerta & P. Braquet (1992) *Anticancer Drugs* **3**: 599-608.
- Fernández, E., C. Sedeño, Y. Valdés, M. Mamposo & E. Pérez (1993) *Rev. Cub. Farm.* **27**: 123-33.
- Valdés, Y. (1997) Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad de la Habana.
- Bilbao, M. (2001) Tesis para el título de Maestro en Ciencias. Universidad de la Habana.
- Bilbao, M., Y. Valdés, J.L. León, F. Merchán, I. Santana & Y. Peña (2002) *Rev. Cub. Farm.* **36**: 114-6.
- Sedeño, C. (1986) Tesis de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad de la Habana.
- Bordier, C.G., N. Sellier, A.P. Foucault & F. LeGoffic (1996) *Lipids* **31**: 521-8.
- Pugliese, P.T., K. Jordan, H. Cederberg & J. Brohult (1998) *J. Alternat. Complement. Med.* **4**: 87-9.
- Hernández, M. (2002) Tesis para el título de Maestro en Ciencias. Universidad de la Habana.
- Sotomayor, H. (1999) Tesis para el título de Maestro en Ciencias. Universidad de la Habana. págs. 31-49.
- Sotomayor, H., F.A. Primelles, J.L. León, F. Merchán, Y. Valdés, B. González & T. Mosquera (2002) en CD de *17<sup>ma</sup>. Conferencia de Química*. Universidad de Oriente, págs 86-8.
- Sotomayor, H., M. Bilbao, B. González, J. León, F. Merchán, T. Mosquera, I. Hernández, G. Garrido & Y. Valdés (2005) *Bioquímica* **118**: 5-12.
- León, J., F. Merchán, M. Bilbao & A. Nils (2002) *Rev. Cub. Farm.* **36**: 127-9.
- Mosmann, T. (1983) *J. Immunol. Methods* **65**: 55-63.
- Sotomayor, H., J.L. León, F. Merchán, A. Torres, M. Negret, R. Roperio, Y. Rigual & Y. Valdés (2001) *Rev. Cub. Química*. Vol. XIII, No 2.
- Houlihan, W.J., M. Lohmeyer, P. Workman & S. Cheon (1995) *Med. Res. Rev.* **15**:157-223.
- Geilen, C.C., T. Wieder & W.Reutter (1992) *J. Biol. Chem.* **267**: 6719-24.
- Powis, G., C. Gratas, D. Melder, J. Riebow & E. Modest (1992) *Cancer Res.* **52**: 2835-40.
- Diomede, L., E. Monzani, M.T. Tacconi & M. Salmona (1992) *Int. J. Cancer* **52**: 162-3.
- Berdel, W.E., U. Greiner, U. Stavrou, A. Reichert, J. Rastetter, D.R. Hoffman & F. Snyder (1983) *Cancer Res.* **43**: 541-5.
- Acevedo, R., D. Gil, J. del Campo, G. Bracho, Y. Valdés & O. Pérez (2005) *Vaccine* (Available online 6 February 2005).
- Valdés, Y., B. Pignol, H. Coulomb, C. Sedeño & P. Braquet (1991) *Abstract J. Biom.* **11**: 10-7.
- Candal, F.J., D.C. Bosse, W.R. Vogler & E.W. Ades (1994) *Cancer Chemother. Pharmacol.* **34**: 175-8.
- Vogler, W.R. (1998) *Cancer Invest.* **16**: 549-53.
- Jackson, J.K., H.M. Burt, A.M. Oktaba, W. Hunter, M.P. Scheid & F. Mouhajir (1998) *Cancer Chemother. Pharmacol.* **41**: 326-32.
- Konstantinov, S.M., Eibl, H. & M.R. Berger (1998) *Cancer Chemother. Pharmacol.* **41**: 210-16.
- Zhou, X., X. Lu, C. Richard, W. Xiong, D.W. Litchfield, R. Bittman & G. Arthur J. (1996) *Clin. Invest.* **98**: 937-44.
- Arthur, G. & R. Bittman (1998) *Biochem. Biophys. Acta* **1390**: 85-102.
- Schaefer, E., K. Hsaio & S. Guimond (1996) *Pro-mega Notes* **59**: 2-9.
- Van Iderstine, S.C., D.M. Byers, N.D. Ridgway & H.W. Cook J. (1997) *Lipid. Mediat. Cell Signal.* **15**: 175-92.
- Kosano, H. & O. Takatani (1988) *Cancer Res.* **48**: 6033-6.
- Kosano, H. & O. Takatani (1989) *Cancer Res.* **49**: 2868-70.
- Vodlinelich, L., R. Sutherland, C. Schneider, R. Newman & M. Graves (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **80**: 835-9.
- Kosano, H. & O. Takatani (1990) *J. Lipid Mediat.* **2**: 117-21.
- Mollinedo, F., R. Martínez-Dalmau & M. Modolell (1993) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **192**: 603-9.
- Diomede, L., G. Llamia, M. D'Incalci, L. Impesatory, M. Algeri & E.J. Modest (1994) *Int. J. Cancer.* **59**: 561-80.
- Boggs, K., C.O. Rock & S. Jackowski (1998) *Biochem. Biophys. Acta. Lip. Metab.* **1389**: 1-12.