

2012 Noviembre, 3(2): 1-2

## TERAPIA FOTODINÁMICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS DE FIBROSARCOMA DE RATÓN Y ESTUDIOS PREVIO EN MODELO ANIMAL BALBC.

Autores: GUTIÉRREZ Anabella<sup>3</sup>, ETCHEVERRY María Eugenia<sup>1</sup>, GALARZA Celeste<sup>1</sup>, PASQUALE Miguel Angel<sup>2</sup>, BIBÉ Solange<sup>3</sup>, PONZINIBBIO Carlos<sup>3</sup>, POTECA Horacio<sup>4</sup>, GARAVAGLIA Mario<sup>1,5</sup>

Lugares de Trabajo: <sup>1</sup> Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. <sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) (CCT CONICET La Plata, UNLP y CIC). <sup>3</sup> Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. <sup>4</sup> Centro Médico Láser, La Plata. <sup>1,5</sup> Centro de Investigaciones Ópticas (CIOp) (CCT CONICET La Plata, y CIC)

E-mail de contacto: me\_etcheverry@hotmail.com; nani\_gutierrez90@hotmail.com

### Introducción

Si bien se conoce desde hace más de un siglo, la terapia fotodinámica (TF) se comenzó a utilizar como un tratamiento efectivo contra ciertos tipos de neoplasias con el advenimiento del láser en 1960. En este trabajo se presentan resultados de TF sobre cultivos de colonias de células tumorales HeLa y células tumorales de un fibrosarcoma (TMC) inducido químicamente en ratones Balb-C. Se agrega información preliminar de estudios de TF en el modelo animal TMC in vivo.

### Objetivos

Determinar la dosis precisa de droga fotosensible útil para la TF y determinar la dosis de irradiación óptica en 652nm en cultivos de células tumorales HeLa y TMC. Determinar por medio de espectrofluorometría la evolución de la concentración de la droga fotosensible en el modelo TMC en animales in vivo.

### Materiales y Métodos

Las células HeLa (pasaje 48) y TMC (pasaje 3-7) se cultivaron en medio RPMI conteniendo 10% de suero fetal bovino sembrando 7500 células por cm<sup>2</sup> y manteniendo la temperatura a 37 °C y una atmósfera de 5% en CO<sub>2</sub> y 97% de humedad. Como fuente de radiación se utilizó una lámpara LED que emite con una potencia de 2 W y un Láser Medlighth FD1 de 0,9 W, ambos emitiendo en 652 nm. Se utilizó la temoporfirina Foscan<sup>R</sup>, Cloruro de (meta-tetra(hidroxifenilo)). Luego de la siembra los cultivos se incubaron durante 24 hs y se utilizaron para los estudios fotodinámicos. Una vez incorporado el fotosensibilizador, los cultivos fueron manipulados en cajas opacas para evitar el efecto de la luz natural. La concentración de Foscan<sup>R</sup> (c<sub>F</sub>) se varió entre 0,05 ≤ c<sub>F</sub> ≤ 1 µg/ml con un tiempo de incubación, t<sub>F</sub>= 24 hs y la dosis de radiación se aplicó durante 2 ≤ t<sub>R</sub> ≤ 12 min en forma continua.

Los tumores del modelo TMC en ratón se obtuvieron por pasaje de células tumorales inoculadas en el flanco. Luego de dos semanas, la droga se suministró a los ratones por inyección intravenosa, en la porción medial de la cola, con una dosis de 1,5 µg/kg disuelta en etanol. Se midió la fluorescencia durante 2 y 15 días en: punto de inyección de la droga, partes proximal y distal de la cola, axila, zonas laterales y apical del tumor, usando un TF-fluorómetro (JETI Technische Intrumente GmbH) provisto de una fibra óptica que permite medidas locales. Ocasionalmente las superficies tumorales se rasuraron para evitar la interferencia en la medida. Algunos animales fueron sacrificados para el estudio histológico del tumor luego de la TF.

### Resultados

El estudio de distintas concentraciones de Foscan<sup>R</sup> mostró que para c<sub>F</sub> > 40 µg/ml la droga presenta toxicidad natural hacia las células en cultivo, aún en ausencia de radiación. Para las otras concentraciones ensayadas las células permanecen viables mientras no son sometidas a las dosis de radiación. Para c<sub>F</sub> < 0,05 µg/ml, ya no se observó efecto sobre las células y el cultivo continuó en proliferación. Para concentraciones de droga superiores a 0,05 µg/ml se logra un mayor deterioro con el aumento de t<sub>R</sub>. Para las concentraciones c<sub>F</sub> más altas ensayadas los daños celulares se observaron incluso durante la aplicación de la radiación: en las células comenzaron a aparecer vacuolas al tiempo que disminuía su área de adherencia con el sustrato. Luego de 24 hs del tratamiento la cantidad de células muertas aumentó para todas las concentraciones donde es efectiva la concentración de la droga. Se observó que la cantidad de células viables en cultivos HeLa resultó significativamente mayor que en cultivos de células TMC. En los ratones los espectros de emisión mostraron un aumento de la concentración de droga en el tumor hasta alcanzar un valor máximo a las 48 hs, mientras que en los distintos puntos de la

2012 Noviembre, 3(2): 1-2

cola el aumento fue más pronunciado. En la axila los valores medidos resultaron menores que en los del tumor. La medida de fluorescencia en el tumor depende la posición de la fibra óptica y del tiempo a partir del momento de inyección. Algunos ratones, se irradiaron con la lámpara aplicando 20J y a los 5 días se observó una disminución de la masa tumoral en relación al animal control y formación de escara.

### **Conclusión**

La TF con la fuente de radiación propuesta en este trabajo, resulta ser efectiva en estudios *in vitro* para valores de concentración de droga y dosis de radiación adecuadas. El pasaje a modelos de ratón mostró la eficiencia del tratamiento aunque con estos datos preliminares no se puede asegurar la eliminación de las células tumorales. En el futuro se espera determinar un conjunto de parámetros que permitan optimizar la terapia.