

2016 Diciembre, 6(5): 1-1

## Efecto de células madre mesenquimales derivadas de cordón umbilical sobre el crecimiento y desarrollo tumoral

Martínez MM; Palma MB; Fernández NA; Miriuka S; Luzzani C; Andrini LB; Inda AM; Errecalde AL; García MN.

Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A". Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. Laboratorio de Investigación Aplicada a las Neurociencias, LIAN. FLENI, Escobar. CONICET.

[mmartinez@med.unlp.edu.ar](mailto:mmartinez@med.unlp.edu.ar)

### Introducción

Las células madres mesenquimales (CMM) obtenidas de la gelatina de Wharton de cordón umbilical (CMM-CU) poseen propiedades similares a las obtenidas desde otras fuentes. Por otro lado, el desarrollo y crecimiento tumoral presenta la necesidad de un desarrollo angiogénico importante a fin de proveer las necesidades metabólicas del tejido. Para ello, las células tumorales expresan el principal inductor, el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF). Las CMM son un importante componente del microambiente tumoral, por lo cual en los últimos años se han realizado estudios acerca de su utilización clínica. Los resultados publicados sobre el efecto que las CMM podrían tener sobre un tumor son controvertidos. Tomando en cuenta estas consideraciones previas nos hemos interesado en analizar el efecto que las CMM-CU podrían ejercer sobre el desarrollo de un carcinoma mamario murino.

### Objetivos

1) Evaluar la presencia *in vivo* del carcinoma mamario en ratones machos adultos C3H/S mediante la inyección SC células tumorales (CT); 2) Analizar las curvas de crecimiento del carcinoma mamario en un modelo *in vivo*, al co-inyectar las CT con diferentes dosis de CMM-CU y 3) Determinar la variación de la proliferación celular y expresión de VEGF.

### Materiales y métodos

**Animales:** Ratones machos adultos de la cepa C3H/S. Estos se mantuvieron en una sala de ritmos bajo condiciones de estandarización para análisis de periodicidad.

**Obtención de CMM-CU:** Se aislaron CMM primarias de la gelatina de Wharton de cordones umbilicales humanos. La caracterización de las CMM-CU se realizó por medio de la marcación de superficie para antígenos típicos de CMM (CD90, CD73, CD105, CD166, CD271, etc) mediante citometría de flujo y la diferenciación de las mismas hacia adipocitos, osteoblastos y miocitos *in vitro*.

**Obtención de CT:** Se utilizó el tumor murino TN60. Es un carcinoma mamario indiferenciado de crecimiento rápido. Utilizamos CT aisladas y expandidas a partir de un cultivo primario del TN60.

**Diseño experimental:** Los animales se dividieron en 4 lotes de 6/8 animales cada uno, se les realizó una co-inyección SC de CMM-CU y CT. Lotes: **I)** inyección de  $1 \times 10^6$  CT, (grupo control); **II)** 250.000 CMM-CU y  $1 \times 10^6$  CT; **III)**  $1 \times 10^6$  CMM-CU y  $1 \times 10^6$  CT y **IV)**  $2 \times 10^6$  CMM-CU y  $1 \times 10^6$  CT. Se realizó el seguimiento del crecimiento de los tumores, a días alternados, desde el momento en que se hacen visibles macroscópicamente. Se registró el crecimiento hasta un volumen promedio de  $4 \text{ cm}^3$ . Se calculó el volumen tumoral mediante la fórmula:  $(\text{largo} \times \text{ancho})^2 / 2$ .

**Proliferación celular:** se analizó por medio de la detección de BrdU, previa inyección *in vivo*.

**Expresión de VEGF:** análisis inmunohistoquímico utilizando el Ac primario VEGF clone VG1 monoclonal de ratón.

**Tratamiento estadístico:** A partir de los valores de volumen tumoral obtenidos se calculó la  $X \pm ES$  de cada lote. Mediante la observación de los preparados a través del software ImageJ se calculó el índice de ADNs y de expresión de VEGF. Los datos se analizaron estadísticamente mediante Anova.

### Resultados

Hemos observado que las CT obtenidas e inyectadas a partir de las células previamente congeladas generan un tumor SC similar al que se obtiene por el método tradicional de trasplante seriado SC. Al realizar la co-inyección de éstas CT (TN60) con diferentes dosis de CMM-CU, en todos los casos, se produce la aparición y el crecimiento tumoral. Al comparar los volúmenes tumorales finales entre los diferentes lotes, no hallamos diferencias significativas ( $p=0,66$ ). Si comparamos el día de aparición de los tumores en los diferentes lotes, vemos que hay diferencias significativas entre los días 9 y 12 ( $p=0,017$ ). Al comparar los días necesarios para llegar a un mismo volumen final tumoral, en todos los lotes estudiados, observamos que el lote 2 alcanza este volumen al día 16, mientras que los demás lotes llegan al mismo volumen final a partir del día 20. Al analizar los índices de proliferación celular, no hemos hallado diferencias significativas entre los lotes ( $p=0,51$ ), en cambio se observó una mayor expresión de VEGF en el lote 2 al compararlo con el resto de los lotes ( $p<0,05$ ).

### Conclusiones

Si bien observamos crecimiento tumoral en todos los lotes analizados, el lote 2, en el cuál usamos la dosis de 250.000 CMM-CU, se disminuyó el tiempo de latencia de aparición del tumor, se observó una mayor expresión del VEGF, y los tumores alcanzaron su tamaño máximo de desarrollo en menor tiempo que el resto, por lo que podríamos decir que esta dosis estimula el desarrollo tumoral.