

ANÁLISIS DEL EFECTO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA EL TRATAMIENTO DE TUMORES DE MAMA RESISTENTES A LAS TERAPIAS CONVENCIONALES

Riarte, Valeria; Martínez, Lucas; Torbidoni, Vanesa

1-Laboratorio de Biología Celular y Molecular (BioCyM), Instituto Argentino de Veterinaria, Ambiente y Salud (IAVAS), Universidad Juan Agustín Maza. Argentina.

Contacto: vtorbidoni@umaza.edu.ar

INTRODUCCIÓN

- En las mujeres, el cáncer de mama es la causa principal de mortalidad por cáncer.
- La mayoría de los tumores contienen áreas hipóxicas que serían responsables de la multiresistencia a las drogas.
- Las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro (NPMs) poseen un alto contenido de hierro superficial lo que en presencia del microambiente tumoral facilita la producción de radicales libres.
- Los radicales libres favorecen la inducción de muerte celular sobre las células.

OBJETIVOS

- El objetivo fue analizar el efecto sensibilizador de las NPMs en combinación con Doxorubicina sobre esferoides de células de cáncer de mama en normoxia e hipoxia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para desarrollar los esferoides: sembramos 4.000 células 4t1 de cáncer de mama murino, en una placa de 96 pocillos recubierta con 50µl de agarosa, en DMEM-F12 con 10%SFB. A las 72hs se observó la formación de esferoides. Para inducir **hipoxia** se agregó a la mitad de los esferoides CoCl_2 (100uM).

Tratamiento: Se agregó Doxorrubicina o Doxorrubicina + NPMs (5 y 10uM de DOXO y con 25ug/ml de NPMs).

Para el estudio del tamaño se tomaron microfotografías de los esferoides a 24 y 48hs de iniciado el tratamiento y se calculó el área usando el programa Image J.

Para el estudio de la viabilidad, se uso el ensayo colorimétrico de la fosfatasa ácida y se evaluó la IC50 en cada caso, usando el programa GraphPad Prism.

Para el estudio de la muerte celular se usó la técnica de coloración con Ioduro de propidio y Naranja de acridina (IP y AO).

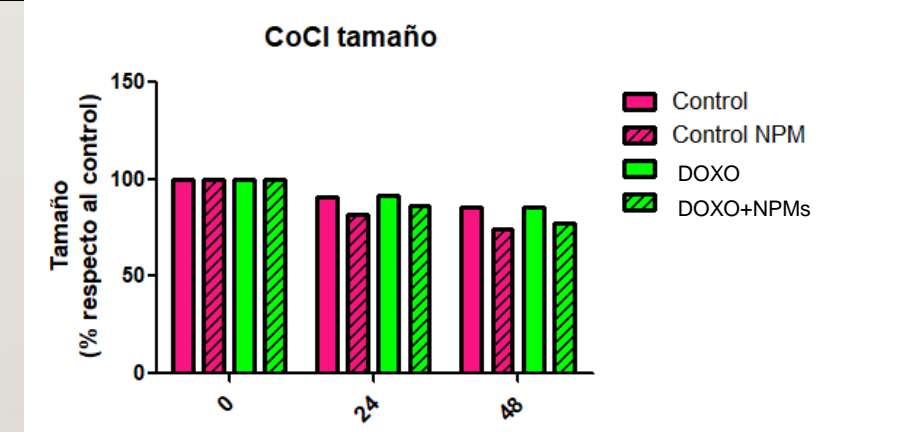
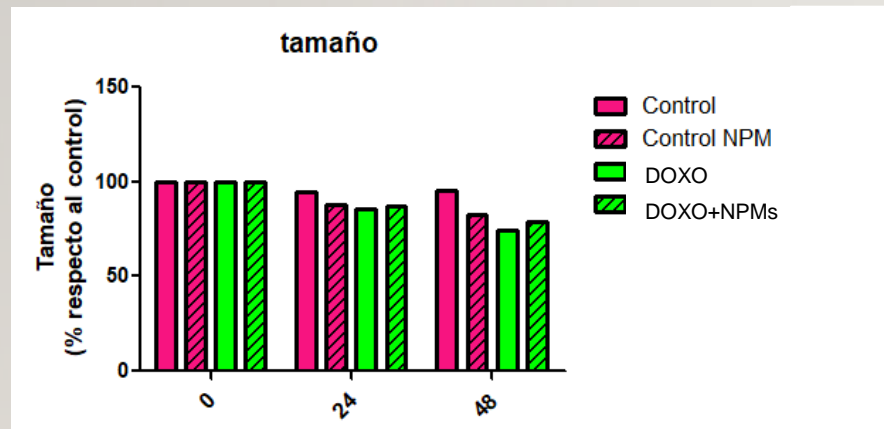
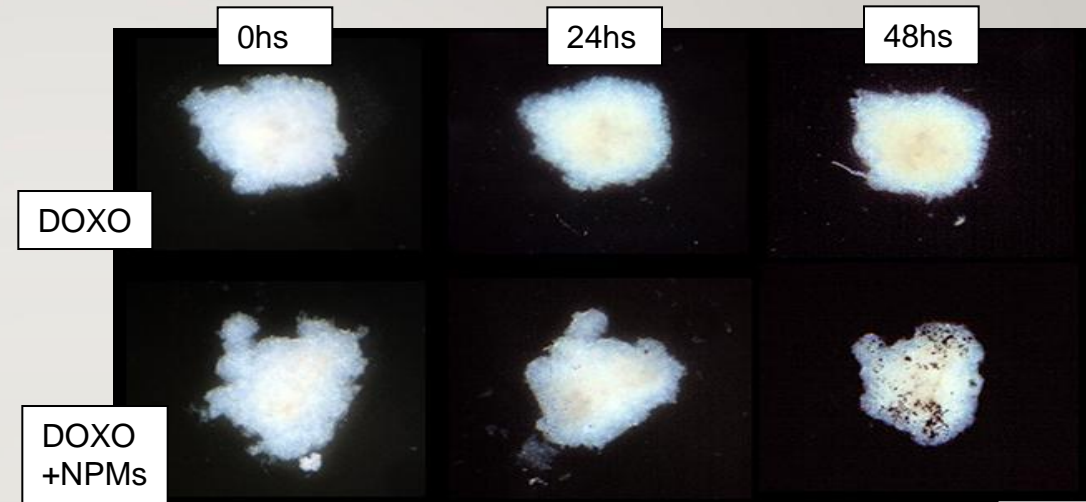
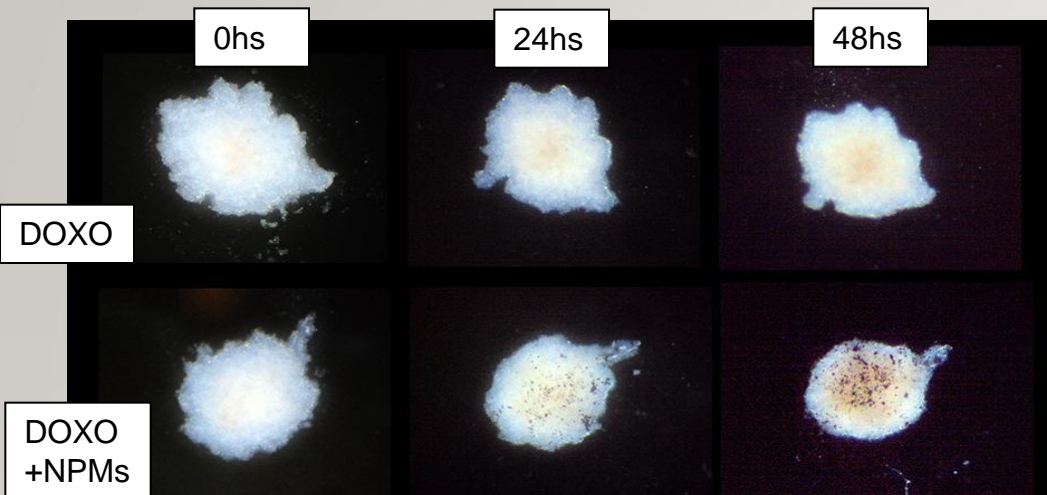


RESULTADOS

Tamaño

Normoxia

Hipoxia

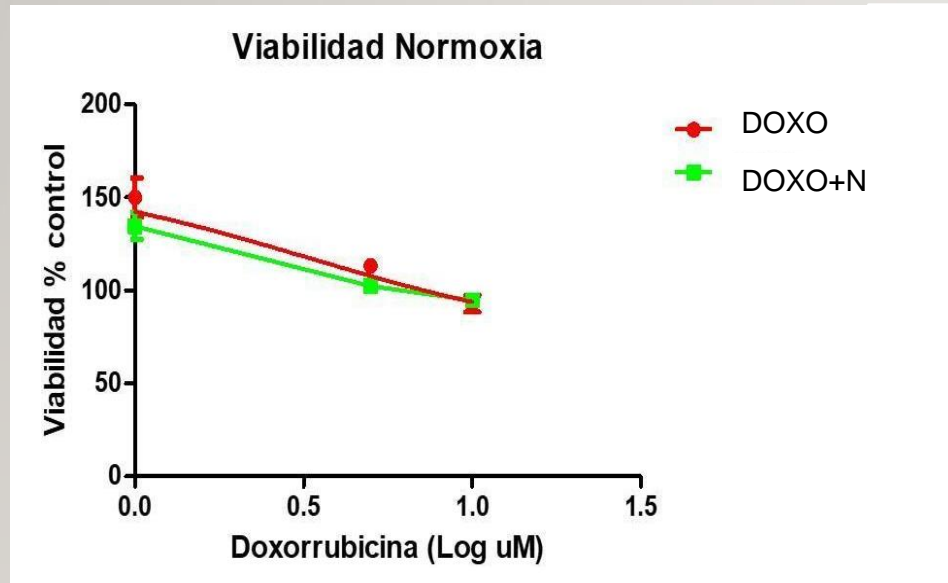


La combinación DOXO+NPMs no indujo mayor reducción a la observada con el tratamiento solo con DOXO (DOXO 10uM).

El tratamiento con DOXO+NPMs induce una reducción mayor a la observada con el tratamiento solo con DOXO (DOXO 10uM).

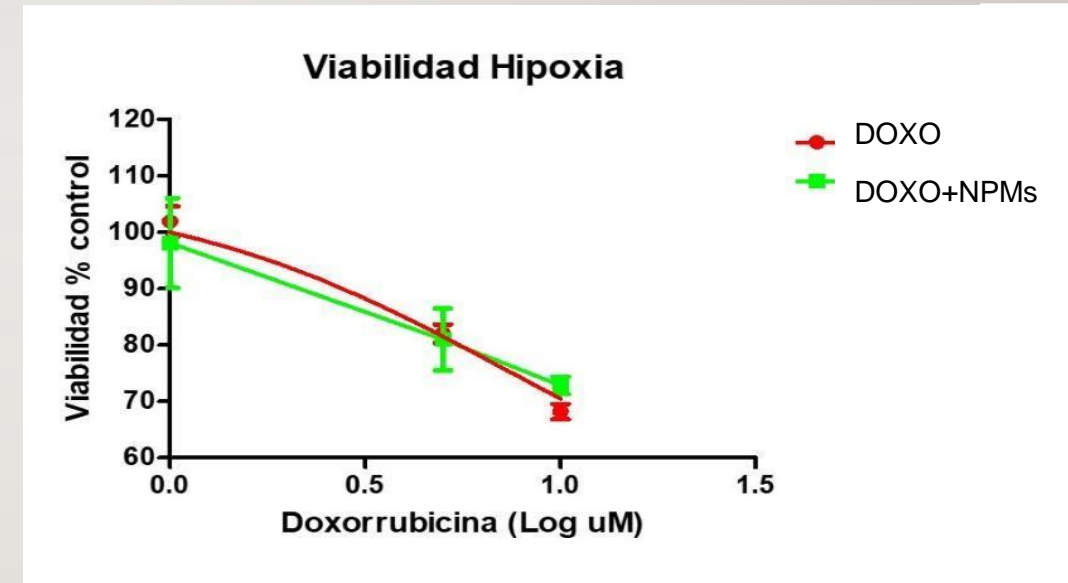
RESULTADOS

Análisis de viabilidad por ensayo de fosfatasa ácida



La combinación de DOXO+NPMs redujo la IC50 de DOXO, en comparación con aquellos solo tratados con DOXO.

(IC50 DOXO: 6uM vs IC50 DOXO+NPM: 1uM).



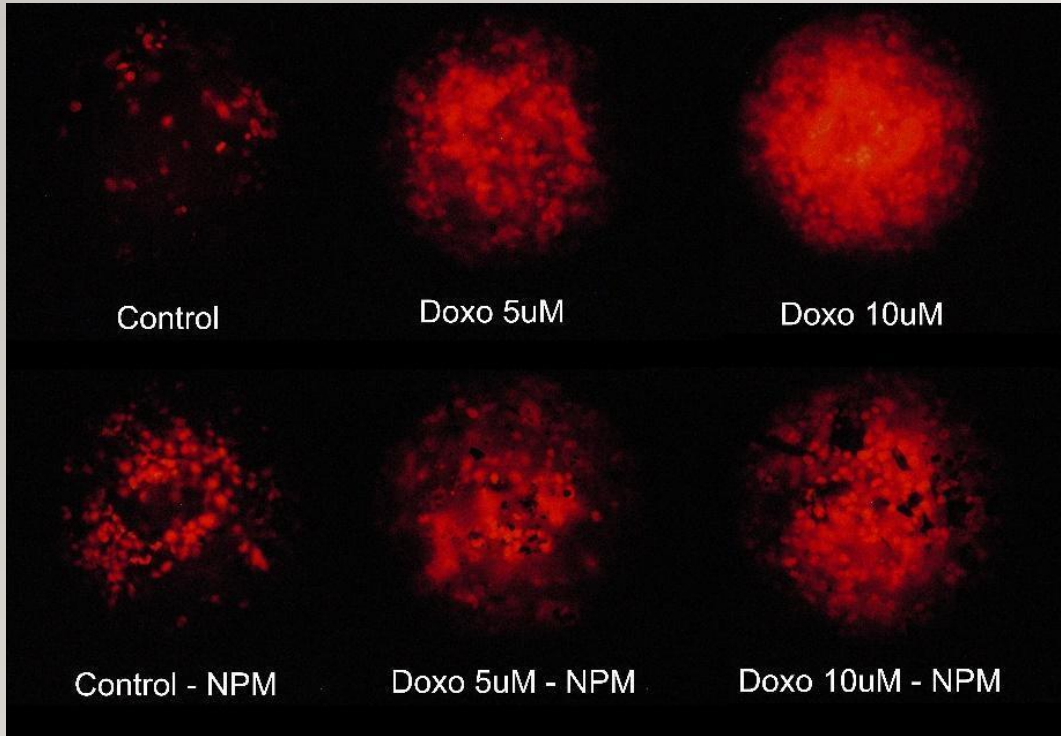
La combinación DOXO+NPMs redujo la IC50 de DOXO, en comparación con aquellos solo tratados con DOXO. (IC50 Doxorubicina: 10uM vs IC50 Doxorubicina + NPM: 4.6uM).

Los valores de IC50 de DOXO en condiciones de hipoxia, fueron marcadamente superiores a aquellos determinados en normoxia, demostrando el carácter resistente de los esferoides en estas condiciones

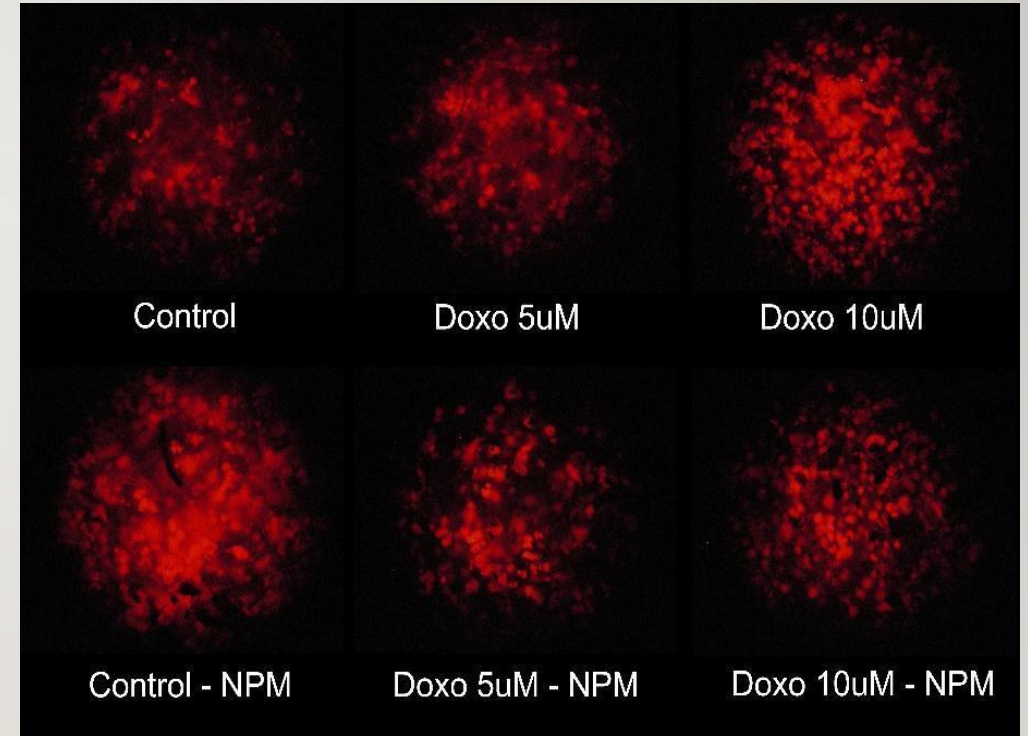
RESULTADOS

Análisis de la muerte celular por coloración con IP/AO

Normoxia



Hipoxia



Si bien se logró poner a punto la técnica con IP, es necesario realizar microfotografías con un microscopio confocal para poder realizar una cuantificación de la fluorescencia en cada caso.

CONCLUSIONES

- El uso de NPMs en tumores sólidos, principalmente en condiciones de hipoxia, favorecería el efecto de la quimioterapia, en lo referente a la reducción del tamaño tumoral.
- Por otro lado, el uso de NPMs en el tratamiento combinado con quimioterapia, sería beneficioso para reducir la dosis necesaria de la terapia convencional.
- Nos proponemos seguir evaluando la muerte celular con IP y producción de radicales libres entre otros aspectos.