

Estudio de la expresión de proteínas proinflamatorias y muerte celular en células mesoteliales pleurales sometidas a los efectos de la hipertermia



Introducción:

Se ha utilizado la hipertermia en el tratamiento de diversos procesos neoplásicos, incluidos los tumores pleurales malignos, pero sus efectos celulares no están claramente definidos

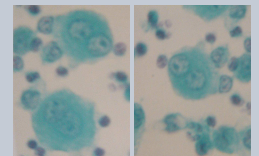
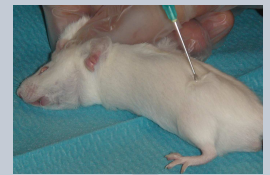
Objetivo:

Determinar en un modelo experimental murino la respuesta proinflamatoria a la hipertermia de las células mesoteliales pleurales y su relación con la producción de apoptosis y necrosis celular

Material y métodos:

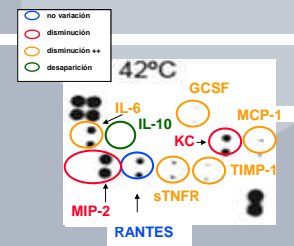
Diseño experimental:

Se han utilizado 45 ratones albinos machos de raza Swiss OF1, eufímicos e inmunocompetentes, de seis semanas de edad y 40 a 50 gramos de peso
 Anestesia con pentobarbital sódico (0,5 mg/100 gr) y bromuro de pancuronio (0,1 mg/100 gr)
 Apertura y exposición de la cavidad pleural derecha
 Perfusión de la cavidad con solución fisiológica tamponada con fosfato (PBS 0,15M)
 Agitado mecánico de la solución en la cavidad para facilitar el descamado celular mesotelial pleural
 Aspirado de la solución. Aislamiento de las células mesoteliales y preservación a 4 °C
 Resuspensión celular en DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) suplementado con antibióticos (penicilina 100 U/ml, estreptomycin 100 µg/ml y gentamicina 50 µg/ml) y glutamina 2 mM
 El número medio de células recogidas por cada experimento fue de 20 millones



Determinaciones:

1ª Detección de citocinas usando RayBio® Mouse Inflammation Antibody Array II de RayBiotech Inc.: citocinas proinflamatorias (KC, RANTES, G-CSF, MIP-2) y citocinas protectoras (IL-6, IL-10, sTNFr)
 Cuantificación mediante Amerzham Enhanced Chemiluminescence (ECL)
 2ª Células en apoptosis usando fosfatidil-anexina serina V-FICT
 3ª Necrosis celular mediante tinción con yoduro de propidio
 Cuantificación con FACScan y el programa Cellquest (Becton Dickinson)



Grupos experimentales:

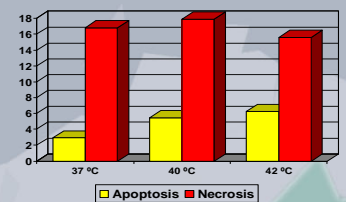
3 de 15 ratones cada grupo
 Cultivo de las células mesoteliales durante 120 minutos a temperaturas (T) de 37 °C, 40 °C y 42 °C

Tratamiento estadístico:

U Mann Whitney y Kruskal-Wallis. Significación p<0,05

Resultados:

Los porcentajes de expresión de citocinas, apoptosis y necrosis se muestran en la tabla y el gráfico:



Temperatura	KC	RANTES	G-CSF	MIP-2	IL-6	IL-10	sTNFR	Apoptosis	Necrosis
37°C	100	100	100	100	100	40	70	2.9	16.81
40°C	100	100	30	90	80	-	40	5.46	17.90
42°C	40	90	30	70	30	-	10	6.27	15.59
p(37/42°C)	0.005	0.005	0.006	0.006	0.006	0.001	0.001	0.041	0.762

Conclusiones:

La hipertermia induce cambios significativos en la expresión de algunas citocinas relacionadas con los mecanismos que regulan la actividad de las células mesoteliales pleurales. También se observa un incremento significativo en el porcentaje de apoptosis celular cuando la temperatura alcanza los 40 °C