

Resumen #1650

Efecto de la LDL-oxidada en la hiperplasia prostática benigna: rol de las vesículas extracelulares en la modulación de la proliferación celular

¹Roldán Gallardo FF, ¹Solla ED, ²López Seoane M, ¹Maldonado CA, ¹Quintar AA

¹Centro de Microscopía Electrónica (CME), FCM, UNC. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET; ²2. Sanatorio Allende



Resumen:
La Hiperplasia Prostática

Persona que presenta: Roldán Gallardo FF, francoroldan.055@gmail.com **Área:** Básica **Disciplina:** Otra Benigna (HPB) se caracteriza por la proliferación descontrolada de elementos principalmente estromales, resultado de la conjunción de múltiples factores fisiopatogénicos. Evidencias sugieren que un entorno pro-aterogénico contribuye al desarrollo y progresión de la HPB. Asimismo, el estado hiperproliferativo de la HPB requiere una coordinada comunicación entre los componentes celulares que mantienen un microambiente permisivo. En este sentido, evaluamos in vitro el efecto del estado pro-aterogénico, simulado por LDL-oxidada (OxLDL), sobre células estromales prostáticas humanas (CEPH) y el rol de vesículas extracelulares (EVs) en la modulación de la proliferación celular.

Para ello, se realizaron cultivos primarios de CEPH a partir de muestras de pacientes (n=4) del Sanatorio Allende de la ciudad de Córdoba y con aprobación del Comité de Bioética del Sanatorio Allende. Todos los ensayos realizados se llevaron a cabo por triplicado y se aplicó la prueba estadística t de Student para el análisis de resultados. Las CEPH fueron estimuladas durante 24h con OxLDL [20µg/mL] y se observó mediante incorporación de BrdU e inmunocitoquímica de Ki-67 que OxLDL aumentó significativamente la tasa de proliferación vs. vehículo en CEPH (p<0.001). Asimismo, se aislaron EVs derivadas de CEPH expuestas a OxLDL mediante ultracentrifugación diferencial (pellet 150K).

Tras su análisis y contabilización por microscopía electrónica de transmisión, y la confirmación de la identidad de EVs mediante inmunomarcación de CD63 conjugado a oro coloidal, se determinó que OxLDL incrementó hasta 10 veces la liberación de EVs; especialmente en la fracción de 15-60 nm que corresponde a exosomas vs. control (p<0.001). También, se estudió la participación de EVs en la proliferación celular utilizando como estímulo las EVs obtenidas de CEPH previamente tratadas con OxLDL [20µg/mL] por 24h vs. control, sobre CEPH y células epiteliales de la línea PC3. Posteriormente, se evaluó la proliferación inducida por EVs de manera autocrina y paracrina, respectivamente. EVs derivadas de CEPH en contextos pro-aterogénicos aumentaron significativamente la proliferación en CEPH y PC3, evaluadas mediante Ki-67 (p<0.01).

Estos resultados confirman el efecto patogénico de OxLDL sobre el crecimiento anómalo de la próstata, promoviendo una mayor liberación de EVs y un aumento en la tasa de proliferación celular.

Palabras Clave: vesículas extracelulares, Células estromales prostáticas, Proliferación Celular  [Versión para impresión](#) |  [PDF version](#)

Abstract #1650

Effect of oxidized-LDL in benign prostatic hyperplasia: role of extracellular vesicles in the modulation of cell proliferation

¹Roldán Gallardo FF, ¹Solla ED, ²López Seoane M, ¹Maldonado CA, ¹Quintar AA

¹Centro de Microscopía Electrónica (CME), FCM, UNC. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET; ²2. Sanatorio Allende

Abstract:
Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) is

Persona que presenta: Roldán Gallardo FF, francoroldan.055@gmail.com characterized by the uncontrolled proliferation of mainly stromal elements, the result of the conjunction of multiple physiopathogenic factors. Evidence supports that pro-atherogenic environment could contribute to the development and progression of BPH. Likewise, the hyperproliferative state of BPH requires coordinated communication between cellular components that maintain a permissive microenvironment. In this sense, we evaluated in vitro the effect of the pro-atherogenic state, simulated by oxidized-LDL (OxLDL), on human prostatic stromal cells (HPSC) and the role of extracellular vesicles (EVs) in the modulation of cell proliferation.

For this purpose, primary HPSC cultures were established from patient samples (n=4) collected at the Sanatorio Allende in the city of Córdoba, with the approval of the Sanatorio Allende Bioethics Committee. All the tests performed were carried out in triplicate and the Student's t statistical test was applied for the analysis of results. The HPSC were stimulated for 24h with OxLDL [20µg/mL] and it was observed by BrdU incorporation and Ki-67 immunocytochemistry that OxLDL significantly increased the proliferation rate vs. vehicle in HPSC (p<0.001). Likewise, EVs derived from HPSC exposed to OxLDL were isolated by differential ultracentrifugation (150K pellet).

After analysis and quantification by transmission electron microscopy, along with EVs identity confirmation by CD63 immunostaining conjugated with colloidal gold, it was determined that OxLDL increased the release of EVs by a factor of 10; particularly within the 15-60 nm fraction corresponding to exosomes vs. control (p<0.001). Also, the role of EVs in cell proliferation was studied using as a stimulus the EVs obtained from HPSC previously treated with OxLDL [20µg/mL] for 24h vs. control, on both HPSC and epithelial cells of the PC3 line. Subsequently, the autocrine and paracrine effects of EVs-induced proliferation were assessed. HPSC-derived EVs in pro-atherogenic contexts significantly increased proliferation in HPSC and PC3, as determined by Ki-67 (p<0.01).

These findings confirm the pathogenic effect of OxLDL on the abnormal growth of the prostate, promoting a greater release of EVs and an increase in the cell proliferation rate.

Keywords: extracellular vesicles, prostatic stromal cells, Cell Proliferation