

# Estudio de respuestas microambientales diferenciales en modelos celulares pretumorales y tumorales

INVESTIGACIÓN








## Resumen

**Objetivos:** Comparar los cambios inducidos por un microambiente hipóxico en células normales, pre tumorales y malignas.

**Métodos:** Se utilizaron: la línea celular HaCaT de queratinocitos humanos no tumorales, una sublínea HaCaT pre-tumoral transducida con los oncogenes E5, E6 y E7 del virus del papiloma humano 18, y la línea celular de carcinoma oral CAL-27. Fueron sometidas a un microambiente hipóxico mediante hipoxia inducida por cubreobjetos y visualizadas con el microscopio Nanolive 3D Cell Explorer Fluo y también con microscopía confocal. Para analizar cambios metabólicos y procesos de muerte celular se usaron sondas fluorescentes específicas para ATP mitocondrial y activación de caspasas ejecutoras, respectivamente.

**Resultados:** En normoxia, las células tumorales mostraron menos focos de heterocromatina, y en hipoxia mostraron un aumento muy marcado de focos de alta densidad en comparación con células pre tumorales y normales. En cambio, los niveles de ATP mitocondrial en hipoxia decayeron más en células tumorales que en pre-tumorales y normales. Por último, en hipoxia hubo un aumento significativo en la activación de caspasas ejecutoras en células tumorales en comparación con células pre-tumorales y normales.

**Conclusiones:** En conjunto, nuestros resultados muestran que las células tumorales sufren cambios más dramáticos frente a un microambiente alterado que las células pre-tumorales y normales, cambios que podrían tener roles muy importantes en determinar la evolución futura del tumor.

-  Arocena Miguel
-  Millán Magdalena
-  Parietti Felipe
-  Lamela Florencia
-  Martins Manoela
-  Bologna-Molina Ronell
-  Jimena Hochmann



**Palabras clave:** microambiente hipóxico, células tumorales y pre-tumorales

# A study of differential microenvironmental responses of pretumoral and tumoral cellular models

INVESTIGACIÓN








## Resume

**Objective:** To compare the changes induced by a hypoxic microenvironment in normal, pre-tumoral and malignant cells.

**Methods:** We used the human non-malignant keratinocyte cell line HaCaT, a HaCaT subline transduced with the E5, E6 and E7 oncogenes of human papillomavirus 18, and the oral carcinoma cell line CAL-27. Cells were subjected to a hypoxic microenvironment by coverslip-induced hypoxia, and were visualized with the Nanolive 3D Cell Explorer Fluo microscope, as well as by confocal microscopy. To analyze metabolic changes and cell death processes, specific fluorescent probes for mitochondrial ATP and for executioner caspase activation were used, respectively.

**Results:** In normoxia, tumor cells showed less heterochromatin foci, and in hypoxia they showed a marked increase in high density foci compared to pre-tumoral and normal cells. Conversely, mitochondrial ATP levels decayed markedly in tumor cells compared to pre-tumoral and normal cells. Lastly, in hypoxia there was a marked increase in activation of executioner caspases in tumor cells compared to pre-tumoral and normal cells.

**Conclusions:** Taken together, our results show that tumor cells undergo more dramatic changes when exposed to an altered microenvironment than pre-tumoral and normal cells, changes which could play very important roles in determining future tumor evolution.

-  Arocena Miguel
-  Millán Magdalena
-  Parietti Felipe
-  Lamela Florencia
-  Martins Manoela
-  Bologna-Molina Ronell
-  Jimena Hochmann



**Key words:** hypoxic microenvironment, tumor cells and pre-tumoral cells