



# Cirugía Española



[www.elsevier.es/cirugia](http://www.elsevier.es/cirugia)

## O-319 - Eficacia del uso de un sistema de filtración durante la recirculación del fármaco en un modelo de HIPEC cerrado con recirculación de CO<sub>2</sub>, para aislar células tumorales madre (CSC) en cáncer de ovario. Resultados preliminares

Sánchez García, Susana; Padilla Valverde, David; Villarejo Campos, Pedro; Palomino, Teodoro; Fernández, Esther; González, Lucía; Galán, Eva; Martín Fernández, Jesús

Hospital General, Ciudad Real.

### Resumen

**Introducción:** El cáncer de ovario recidiva en más de un 70%. Las células madre tumorales, CSC, son resistentes a quimioterápicos, permaneciendo en un estado de latencia y tras finalizar el tratamiento quimioterápico, vuelven a su actividad proliferativa. Hipótesis: la recidiva tras tratamiento con cirugía citorreductora e HIPEC, se debe a CSC no resecaadas, y resistentes al tratamiento mecánico, térmico y químico que supone la quimiohipertermia intrabdominal. Estas células sobreviven a la agitación del flujo de la recirculación del transportador y el fármaco quimioterápico, y se comportan como células iniciadoras tumorales.

**Objetivos:** Conocer eficacia (formación in vitro de esferoides tumorales celulares) del uso de un sistema de filtración durante la recirculación del fármaco hipertérmico en nuestro modelo cerrado de HIPEC con recirculación de CO<sub>2</sub>, respecto a las CSC, para evitar recidiva, caracterizar estas células y realizar terapia individualizada.

**Métodos:** Estudio clínico prospectivo observacional que incluye a 22 enfermas con cáncer ovárico en estadios II-IV, tratadas con cirugía citorreductora e HIPEC. Filtro en modelo de HIPEC: membrana sintética, hidrofóbica, biocompatible y alta permeabilidad. Cultivo celular: cultivo de líquido recirculante, filtrado, tras HIPEC, 1:1 con medio de cultivo DMEM: F12 1:1, suplementado con 10% de suero fetal bovino inactivado y 1% de penicilina/estreptomicina, a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, durante 72-96 horas. Tras aparecer células flotantes en el medio, centrifugamos a 4 °C, 5 minutos. Se eliminó sobrenadante y transferimos el pellet a flask "Ultra-Low attachment surface", con stem cell media. Los flasks se incubaron a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, en atmósfera humidificada. Las células se monitorizaron cada 2 o 3 días para observar la formación de esferoides. Caracterización CSC: inmunofluorescencia, antiCD133: Bloqueo con 3% de BSA en PBS durante 30 minutos, incubación con anticuerpo primario durante 60 minutos e incubación con anticuerpo secundario durante 60 min. Inmunohistoquímica: tinción de Papanicolau para la visualización morfológica y de malignidad. El líquido restante se introduce en solución de cytolyt. Marcadores inmunohistoquímicos epiteliales (citoqueratina 7 y citoqueratina 20 y Ber Ep4). Marcadores mesoteliales (mesotelio, calretinina, D2-40). Marcadores macrofágicos (CD68).

**Resultados y conclusiones:** Existió crecimiento de esferoides tras uso de filtro para aislamiento, en 10 enfermas con neoadyuvancia y 11 sin neoadyuvancia, que se mantuvieron hasta 21 días, para posteriormente no proliferar. Existió contaminación en circuito de cultivo en una enferma. Estas CSC fueron CD133-

posiblemente por fragilidad de este antígeno a quimioterapia hipertérmica previa. Existe capacidad de iniciar neoplasias de las células aisladas al crear estos esferoides con características citológicas de malignidad en tinción de Papanicolau e inmunohistoquímica con la expresión de marcadores epiteliales (CK7 y BerEp4 +, CK20-), y negatividad para marcadores macrofágicos (CD68) y mesoteliales (mesotelio, calretinina y D2-40). El Grupo control que incluyó tumores borderline tratados mediante HIPEC, presentó características de benignidad, CK7-, BerEp4-, CK20-, CD68+, calretinin+. El poder tumorogénico de estas células aisladas, podría ser la causa de recidiva de la enfermedad. Nuestro seguimiento respecto a la eficacia pronóstica es aún corto.