

Evaluación del potencial citotóxico y antiangiogénico de *Croton urucurana* en el modelo de membrana corion alantoidea (MCA) del embrión de pollo



Gross E.^{*1}, González F.¹, Olea G.^{1,2}, Aguirre M.², Flores-Quintana C.¹, Lombardo D.³

¹Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. ²Cátedra de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNNE. ³Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

eduen.grossmuller@gmail.com

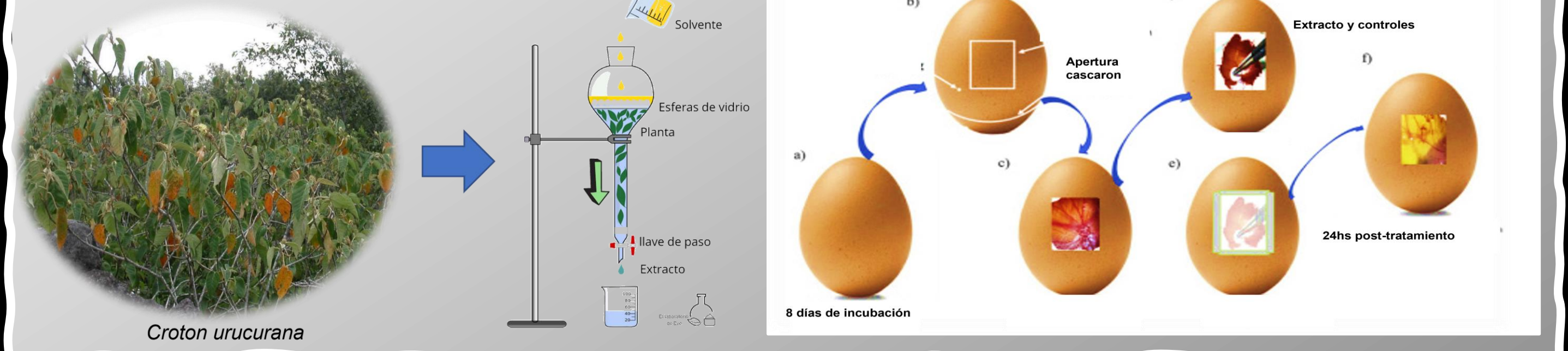


INTRODUCCIÓN

Las plantas son una fuente rica de metabolitos activos como citotóxicos, antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos. Estos compuestos pueden interactuar en diversas vías, modulando procesos celulares y moleculares críticos. *Croton urucurana* es una especie arbórea empleada por sus efectos antiinflamatorios, analgésicos y cicatrizante. La membrana corioalantoidea (MCA) del embrión de pollo es una membrana extraembrionaria rica en vascularización, comúnmente utilizada como modelo experimental *in vivo* en las pruebas generales de nuevos fármacos, crecimiento tumoral y metástasis. El objetivo del presente trabajo fue analizar a partir del modelo de MCA el potencial citotóxico y antiangiogénico de *C. urucurana*, evaluando los procesos de vasculogénesis en diferentes condiciones experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se probaron seis grupos al día 8 del desarrollo de la MCA por triplicado: (1) control SF, solución fisiológica como control de desarrollo; (2) DMSO al 0,5% como control de disolvente; (3) latex de *C. urucurana* 1 µg/mL; (4) 5 µg/mL; (5) 10 µg/mL; (6) 50 µg/mL. *In ovo* se aplicaron volúmenes de 1 mL/huevo de todas las dosis en MCA. A las 24hs se tomaron imágenes de la MCA y fijaron en formol 10%. Se procedió a la extracción y cultivo de explantos de MCA para estudio *in vitro*. 48hs post-adhesión de los explantos, se aplicaron las mismas dosis que en el estudio *in ovo*. 24hs post-tratamiento se tomaron imágenes de MCA y fijaron en formol 10%.



RESULTADOS

24hs post-tratamiento, tanto *in ovo* como *in vitro*, se observó que concentraciones de 1 y 5 µg/mL no provocaron cambios morfológicos en vasos sanguíneos, manteniendo la viabilidad del embrión, sugiriendo que estas dosis no son citotóxicas y no afectan los procesos de vasculogénesis. A partir de 10 µg/mL se visualizaron cambios en la arquitectura de la MCA, con una reducción del movimiento del embrión. La concentración de 50 µg/mL resultó citotóxica, basada en observaciones de cambios morfológicos en la MCA y la muerte del embrión. Lo cual concuerda con diversos autores (1,2,3,4,5,6).

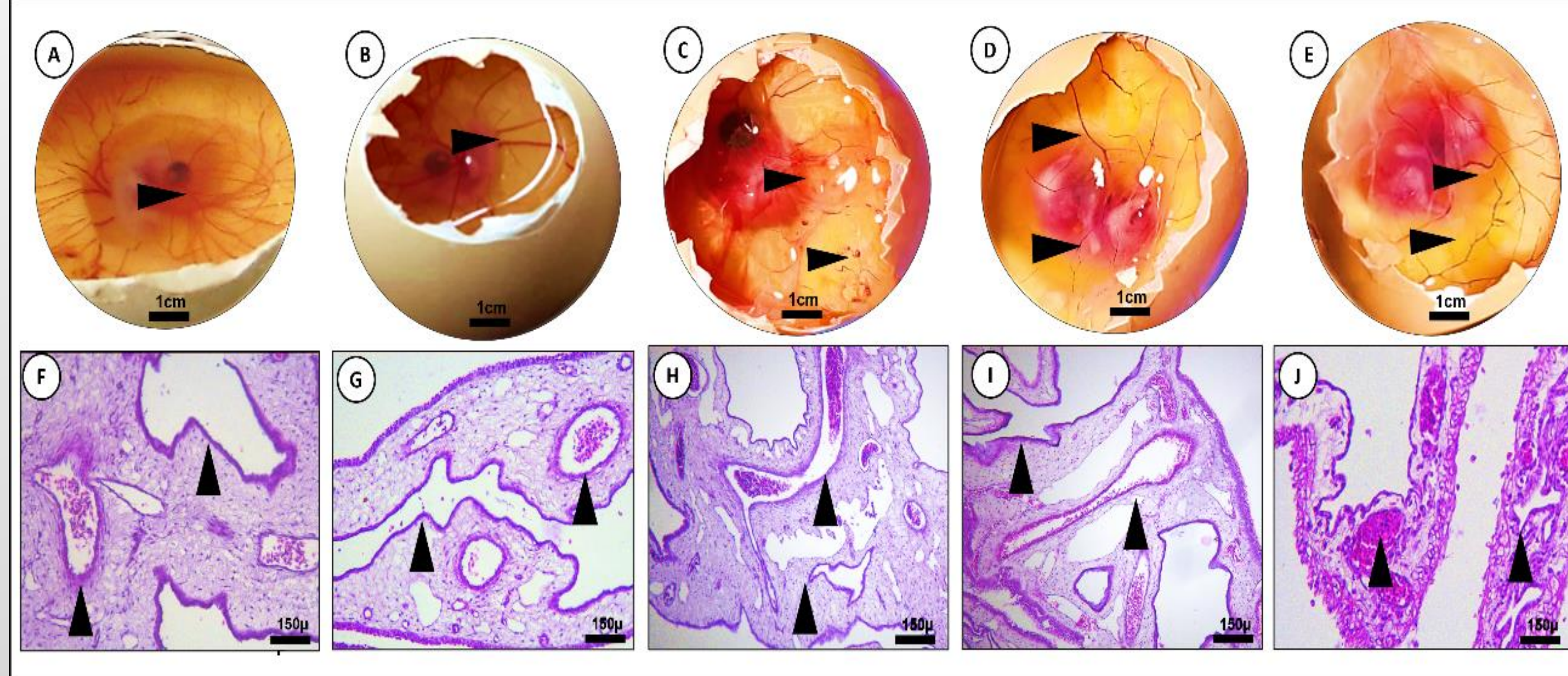


Figura 1: A-E macrofotografía de embriones de pollo con los distintos tratamientos (control, 1, 5, 10 y 50 µg/ml). F-J microfotografía de embriones de pollo con los distintos tratamientos (control, 1, 5, 10 y 50 µg/ml). Referencias: punta de flecha vasos sanguíneos.

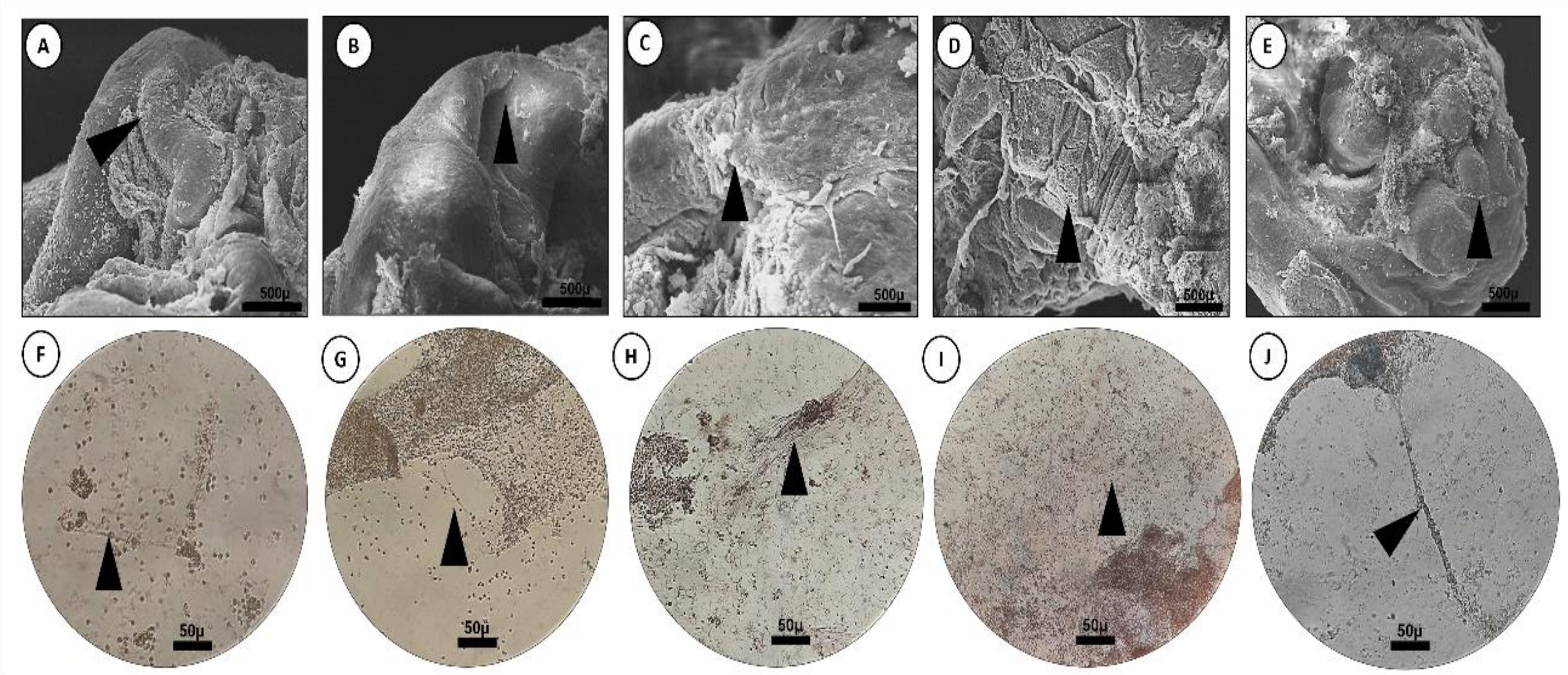


Figura 2: Fotografía de MEB de explantos de MCA con los distintos tratamientos (control, 1, 5, 10 y 50 µg/ml). Células de cultivo celular con los distintos tratamientos (control, 1, 5, 10 y 50 µg/ml). Referencias: vasos sanguíneos.

CONCLUSIONES

Un análisis comparativo de los seis grupos mostró que el extracto fue mejor tolerado sin modificaciones inducidas en el proceso de vasculogénesis entre las dosis 1 y 5 µg/mL. En comparación, la dosis 10 µg/mL provocó cambios morfológicos en los vasos de la MCA, y la concentración 50 µg/mL resultó en la desorganización de la MCA, infiriendo toxicidad en la arquitectura y funcionalidad vascular.

BIBLIOGRAFIA

1. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. Mech Dev. 2016;141:70-77.
2. Isachenko V, Isachenko E, Weiss JM, Todorov P, Kreienberg R, Zimmermann U, et al. Preservation of embryo viability after short-term storage at supra-zero temperatures: novel approach for assisted reproduction. Reprod Biomed Online. 2012;24(2):193-199.
3. Beck TN, Kaczorowski A, Han G, Coursey TG, Mahalingam M, Agarwal A, et al. Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Assay as an *in vivo* Model to Assess Perineural Invasion in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. J Vis Exp. 2020;(157).
4. Hossay C, De Vos WH, Vanhaecke T, Vanparys C. Application of the Chick Embryo Chorioallantoic Membrane as a Model for *in vivo* Safety and Efficacy Testing of Human Cells and Tissues. Methods Mol Biol. 2023;2455:175-184.
5. Vatanparast J, Janeczek M, Lewin-Kowalik J. Short-term preservation of human ovarian tissue: histological and functional assessment. Reprod Biol Endocrinol. 2023;21(1):8.
6. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. Life Sci. 2005;78(5):431-441.