



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**Unidad Xochimilco**

1



Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica  
UNIDAD XOCHIMILCO

**DIVISIÓN:**

Ciencias Biológicas y de la Salud

**DEPARTAMENTO:**

Sistemas Biológicos

**CARRERA:**

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

**Proyecto del servicio social:**

**“Desarrollo de un modelo de xenoinjerto tumoral con la línea celular de cáncer de próstata LNCaP en ratones atímicos”**

**Alumna:** Mancilla Galicia Gabriela

**Matrícula:** 2202030673

**Asesora:**

Dra. Marisa Cabeza Salinas No. Eco. 2683

**Lugar de realización:** Laboratorio de Hormonas, UAM Xochimilco

**Julio 2024**

## 1. Introducción

El cáncer de próstata es una de las neoplasias más comunes en la población masculina y representa una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. La investigación sobre el cáncer ha avanzado considerablemente con el desarrollo de diversos modelos experimentales que permiten dilucidar los mecanismos celulares que producen esta patología y de esta forma desarrollar nuevas terapias. En este contexto, las células LNCaP (Lymph Node Carcinoma of the Prostate) derivadas de una metástasis de cáncer de próstata humano en un ganglio linfático, son una herramienta *in vitro* valiosa para el estudio de la progresión del padecimiento y la evaluación de nuevos tratamientos ya que son células andrógeno-dependentes. Los ratones “*NUDE*” o desnudos debido a su estado inmunodeficiente, permiten el crecimiento de las células tumorales humanas con menor rechazo, proporcionando un modelo *in vivo* ideal para los estudios del crecimiento tumoral y metástasis.

Al implantar estas células en un modelo animal, se busca observar cómo se comportan y progresan los tumores en un entorno biológico controlado. Este tipo de estudios es fundamental para comprender mejor la progresión del cáncer, identificar nuevas dianas terapéuticas y evaluar nuevos tratamientos por lo que el objetivo de esta investigación es desarrollar un modelo de crecimiento tumoral con la línea celular de cáncer de próstata LNCaP en ratones desnudos atímicos.

## 2. Planteamiento del problema y justificación

El cáncer de próstata (CaP) es una enfermedad de alta prevalencia y mortalidad en la población masculina. A nivel mundial, alrededor del 21% de los hombres han desarrollado cáncer de próstata, de los cuales, el 16.5% muere por metástasis (Cabeza *et al.*, 2023). La progresión del CaP suele ser lenta y, en etapas tempranas, el tumor responde bien a tratamientos como la privación de andrógenos y puede ser curado quirúrgicamente. Sin embargo, en etapas avanzadas, el CaP a menudo hace metástasis principalmente en los huesos y ganglios linfáticos, volviéndose resistente a la castración (Wang, 2011).

El CaP metastásico puede ser mortal, y a pesar de los avances en el desarrollo de tratamientos, aun no se ha desarrollado una terapia que lo erradique en aquellos que la padecen (Wang, 2011). En México, siete de cada diez casos se detectan en etapas avanzadas, lo que disminuye significativamente la probabilidad de curación (secretaría de salud, 2022). Debido al

pronóstico fatal de esta enfermedad, es fundamental desarrollar nuevos fármacos o tratamientos para aumentar la supervivencia de los pacientes.

El principal desafío en la investigación es el desarrollo de modelos animales que reproduzcan con precisión las características del carcinoma prostático humano. Para poder desarrollar nuevos tratamientos, se han utilizado modelos como los ratones genéticamente modificados (GEMM) y químicamente transformados. Sin embargo, estos, no han sido eficaces para desarrollar xenoinjertos de células humanas, como las células LNCaP (de Souza *et al.*, 2021; Jain *et al.*, 2021).

Para superar esta limitación, los ratones inmunodeficientes, como los ratones “*NUDE*” (desnudos), han sido de gran utilidad en el estudio de diversos tipos de cáncer, incluyendo el CaP, por su baja tasa de rechazo a los xenoinjertos de células humanas (de Souza *et al.*, 2021; Jung *et al.*, 2017). En este contexto, en el laboratorio se busca desarrollar un modelo para el crecimiento tumoral utilizando la línea celular LNCaP en ratones desnudos.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo general**

Desarrollar un modelo de crecimiento tumoral mediante el xenoinjerto subcutáneo de células LNCaP en ratones desnudos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

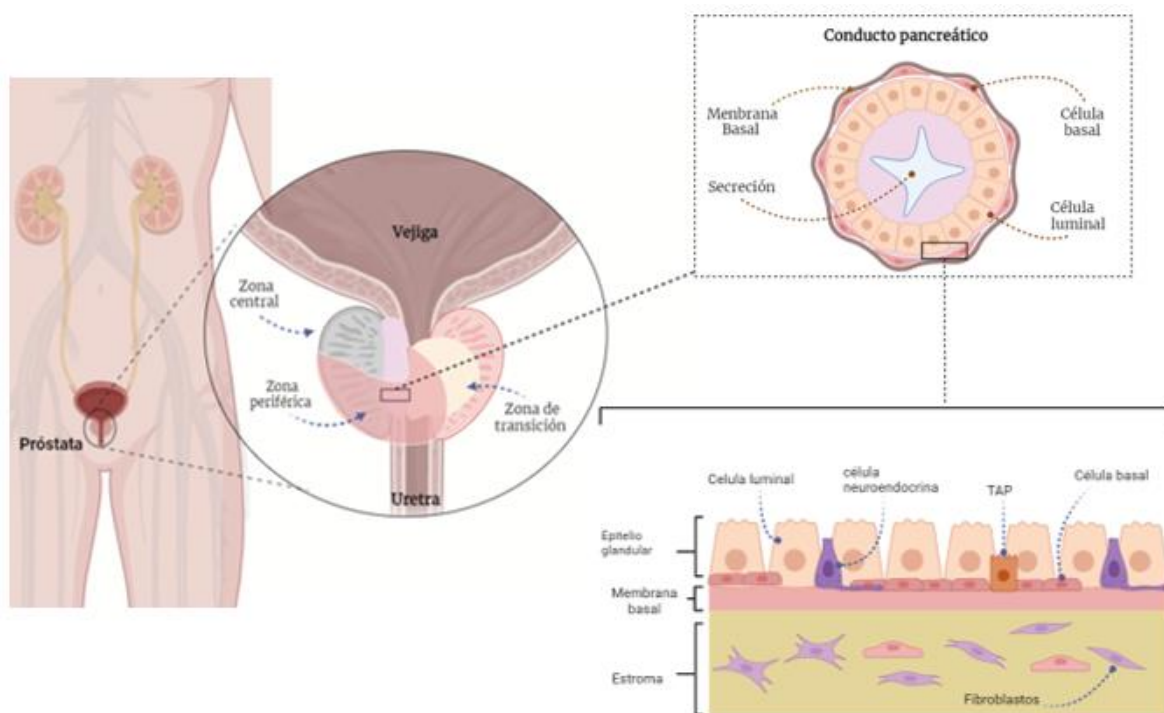
- 3.2.1. Cultivar células LNCaP para el desarrollo de xenoinjertos en ratones desnudos.
- 3.2.2. Preparar esponjas de gelatina hemostática cargadas con células LNCaP, para inducir el desarrollo de tumores subcutáneos en un grupo de ratones atímicos.
- 3.2.3. Elaborar inyectables que contengan células LNCaP utilizando Matrigel®, para inducir el desarrollo tumoral en la próstata de ratones atímicos.
- 3.2.4. Administrar los inyectables directamente en la próstata de ratones atímicos, para inducir el crecimiento tumoral en el sitio ortotópico.
- 3.2.5. Implantar las esponjas cargadas con células LNCaP por vía subcutánea en la región de la escápula derecha de ratones atímicos jóvenes y adultos, para inducir el crecimiento de protuberancias tumorales.
- 3.2.6. Medir el volumen de las protuberancias y calcular la incidencia tumoral en ratones jóvenes y adultos.
- 3.2.7. Analizar el impacto de la edad en el desarrollo y crecimiento tumoral en los ratones desnudos.

## 4. Marco teórico

### 4.1. La próstata

La próstata es una glándula fibromuscular intrínseca del sistema reproductor masculino, ubicada debajo de la vejiga (**Figura 1**). Su principal función es producir líquido prostático, componente esencial del semen, que regula la eyaculación y promueve la maduración de los espermatozoides (Garg *et al.*, 2021; Gogola *et al.*, 2024)

La próstata se distingue en el epitelio glandular y el estroma prostático. El epitelio glandular, que constituye la mayor parte de la masa prostática, está dividido en tres zonas: de transición, central y periférica, siendo esta última, el lugar de origen más común de adenocarcinomas (Gogola *et al.*, 2024; Lee *et al.*, 2011)



**Figura 1.** Anatomía e histología de la glándula prostática. Creada con BioRender.

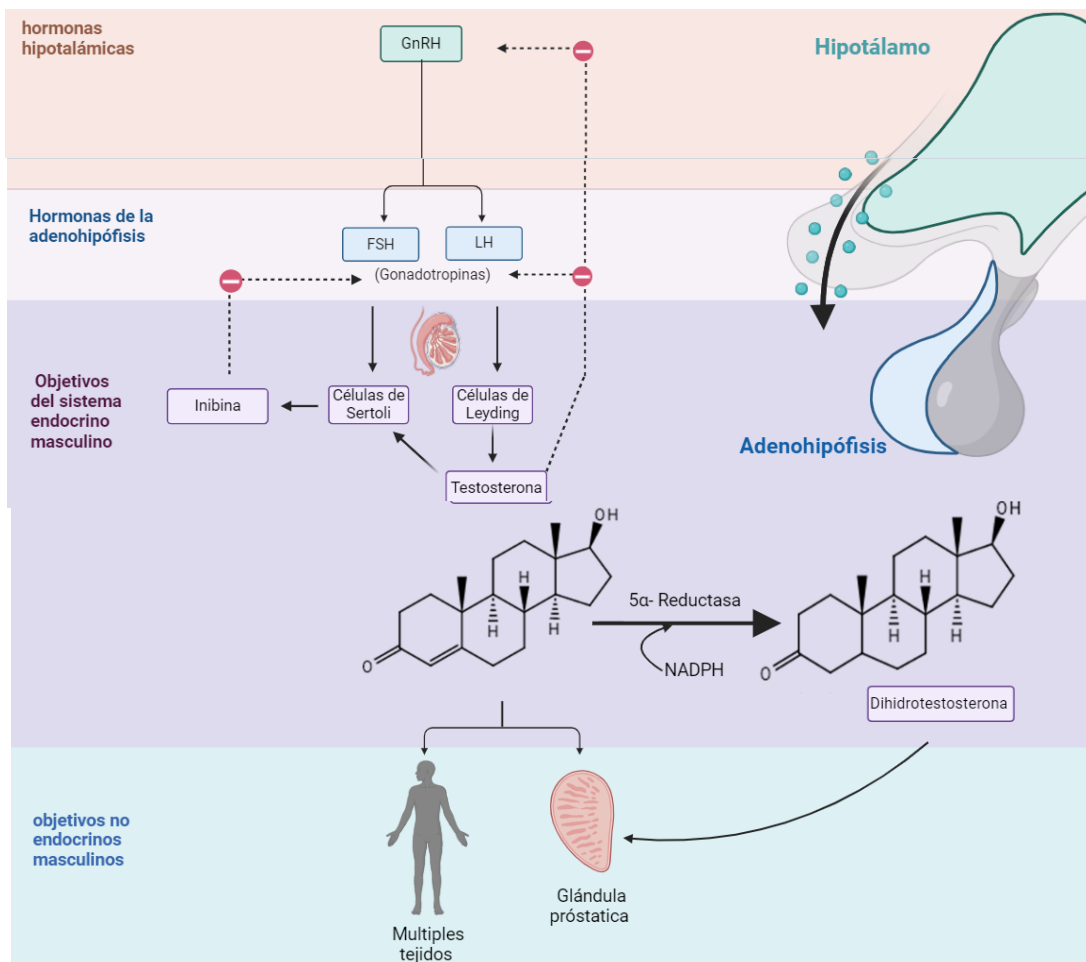
El epitelio glandular contiene acinos y conductos revestidos por células luminales, basales y neuroendocrinas (Ittmann, 2018). Las células luminales producen líquido y antígeno prostáticos específico (PSA), una proteasa utilizada en el diagnóstico de enfermedades prostáticas (Gogola *et al.*, 2024; Rebello *et al.*, 2021). Las células basales mantienen a las células luminales y, las neuroendocrinas responden a estímulos secretando neuropéptidos y citocinas para la homeostasis epitelial (Ittmann, 2018). Durante el desarrollo de la próstata,

las células luminales derivan de la diferenciación de las células basales en respuesta a los andrógenos (Lee *et al.*, 2011).

El estroma prostático contiene células de musculo liso, fibroblastos, miofibroblastos y fibras de colágeno (Rebello *et al.*, 2021). Estas células expresan receptores androgénicos (RA), receptores de estrógeno y 5 $\alpha$ -reductasa (SRD5A), y factores de crecimiento esenciales para el desarrollo y mantenimiento del epitelio glandular (Isaacson *et al.*, 2020).

#### 4.1.1. Control hormonal

El crecimiento y desarrollo de la próstata dependen de los andrógenos, hormonas esteroidales sintetizadas en testículos, piel, próstata y glándulas suprarrenales (Gogola *et al.*, 2024). La testosterona (T), producida por las células de Leydig es la principal hormona sexual en los hombres, promoviendo el desarrollo de las características sexuales secundarias.

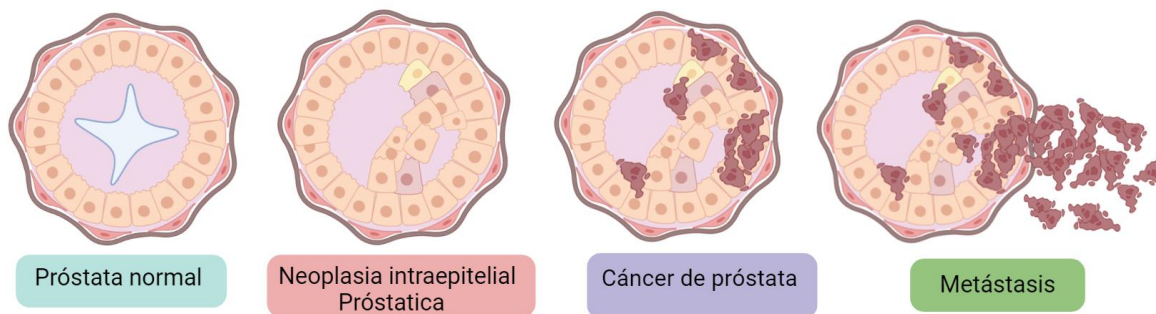


**Figura 2.** La síntesis de T está regulada por la hormona luteinizante producida por la adenohipófisis. En la próstata, la T, es convertida a DHT, metabolito que se une con mayor afinidad al RA. Creada con BioRender.

En la próstata, la T se convierte en su metabolito más activo, la dihidrotestosterona (DHT) mediante la acción de la enzima SRD5A (**Figura 2**) (M. Cabeza *et al.*, 2023; Gogola *et al.*, 2024; Zhu & Imperato-McGinley, 2009). La DHT es importante para la diferenciación de la próstata y los genitales masculinos externos. En consecuencia, la DHT ha sido implicada en la patogénesis de varias afecciones prostáticas (Cabeza *et al.*, 1999; Costanzo, 2021; De Falco & Laforgia, 2021).

## 4.2. Cáncer de próstata

El cáncer de próstata (CaP) es una de las neoplastias que afecta con mayor frecuencia a la población masculina y representa la segunda causa de muerte por cáncer a nivel mundial (Rebello *et al.*, 2021; Testa *et al.*, 2019). El CaP es causado por la acumulación de mutaciones en genes de la vía de señalización del RA y en la metabolización de la testosterona. Estas mutaciones pueden convertir a las células prostáticas en cancerosas al desactivar genes supresores de tumores y activar oncogenes, lo que conduce a una proliferación celular descontrolada (**Figura 3**) (Sekhoacha *et al.*, 2022). Las mutaciones más comunes incluyen fusiones y amplificaciones en los oncogenes *C-MYC* y en *AR* (Cascardo & Cotignola, 2023; Rebello *et al.*, 2021)



**Figura 3.** Progresión de los tumores prostáticos. Creada con BioRender.

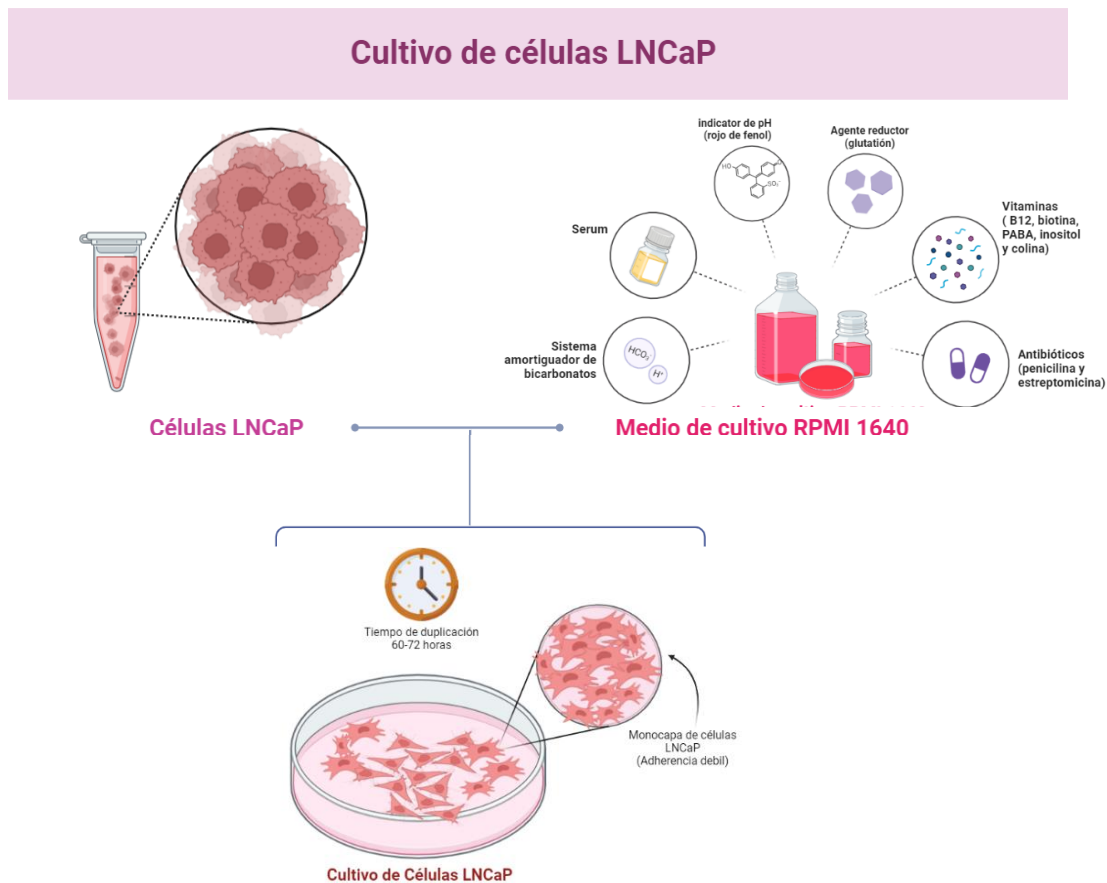
Aunque el mecanismo exacto de la carcinogénesis no está completamente definido, se cree que el CaP se origina a partir de células madre o de la población amplificadora de tránsito (TAP) en la capa basal (Lee *et al.*, 2011). Las mutaciones provocan, la expresión simultánea de marcadores de células luminales y basales, alterando la diferenciación celular normal. Durante la progresión de tumores prostáticos, se observa pérdida de células basales, expansión del compartimento luminal y un cambio en la composición de la membrana basal (Lee *et al.*, 2011; Testa *et al.*, 2019).

El crecimiento y progresión del CaP son mediados por la señalización de andrógenos a través de los RA, por lo que la principal terapia es la privación de andrógenos (Gogola *et al.*, 2024;

Kmetová *et al.*, 2018). Si la enfermedad se encuentra localizada puede tratarse mediante radioterapia, prostatectomía y quimioterapia. Si no se trata a tiempo, puede metastatizar a otros órganos como los ganglios linfáticos, y los huesos, volviéndose resistente a la castración, en el cual el crecimiento y desarrollo del CaP se vuelve independiente de los andrógenos (Garg *et al.*, 2021; Gogola *et al.*, 2024).

### 4.3. Células LNCaP

La línea celular LNCaP son ampliamente utilizadas en la investigación del CaP, fueron aisladas de una biopsia de un ganglio linfático supraclavicular con metástasis de CaP (Lim *et al.*, 1993; Sobel & Sadar, 2005). Estas células son sensibles a los andrógenos, especialmente a la  $5\alpha$ -DHT y, presentan un cariotipo aneuploide (Horoszewicz *et al.*, 1983; Sobel & Sadar, 2005). Asimismo, conservan muchas características de las células prostáticas normales, incluyendo la expresión de marcadores como el RA, PSA y fosfatasa acida prostática (Lim *et al.*, 1993; Sobel & Sadar, 2005).



**Figura 4.** Componentes del medio de cultivo para el crecimiento de células LNCaP. Creada con BioRender.

### 4.3.1. Condiciones del cultivo

El cultivo de células LNCaP requiere condiciones ambientales y nutricionales específicas para mantener su viabilidad y características biológicas (**Figura 4**). El medio de cultivo más utilizado es el RPMI- 1640, enriquecido con suero fetal bovino (FBS) en concentraciones de 2.5% a 10%, suministrando así los factores de crecimiento esenciales para la proliferación celular (Horoszewicz *et al.*, 1983; Sobel & Sadar, 2005).

Además, se adicionan antibióticos como penicilina y estreptomina para prevenir la contaminación (Larrán López *et al.*, 2000; Muñoz, 2023; Venera *et al.*, 2022). Las condiciones ambientales óptimas incluyen incubar las células en una atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C (M. Cabeza *et al.*, 2023; Muñoz, 2023; Venera *et al.*, 2022).

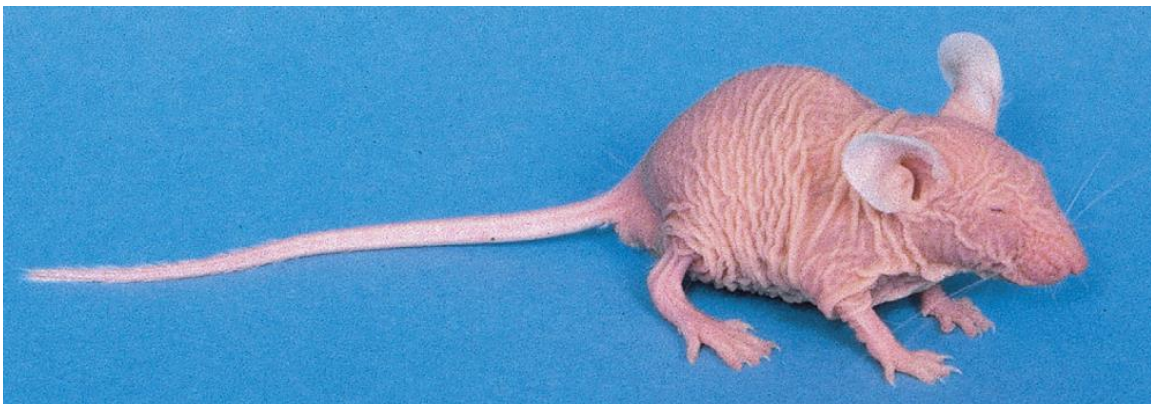
## 4.4. Ratones Nude

Los ratones inmunodeficientes como los ratones “nude”, son modelos *in vivo* adecuados para estudiar el CaP, debido a su capacidad de aceptar tejidos humanos con bajo rechazo (Lim *et al.*, 1993; Punt *et al.*, 2020).

### 4.4.1. Características

Descubiertos en 1966, los ratones desnudos presentan inmunodeficiencia debido a una mutación recesiva en el cromosoma 11, caracterizándose por la ausencia de pelo (**Figura 5**) y un timo rudimentario que impide la generación de linfocitos T funcionales (Costales, 2012; Okada *et al.*, 2018; Punt *et al.*, 2020; Reth, 1995).

El gen defectuoso, *FOXN1*, codifica un factor de transcripción crucial para la diferenciación y supervivencia celular en el epitelio tímico y la piel, causando la pérdida de pelo e inmunodeficiencia (Costales, 2012; Punt *et al.*, 2020).



**Figura 5.** Fotografía de ratón desnudo (*nu/nu*) (Punt *et al.*, 2020).

#### 4.4.2. Desarrollo de tumores

En la investigación oncológica, los ratones desnudos se utilizan para el desarrollo de tumores (**Figura 6**) a través de la implantación de células cancerosas humanas o tejidos tumorales, de manera heterotópica u ortotópica (Nowicki, 2021).

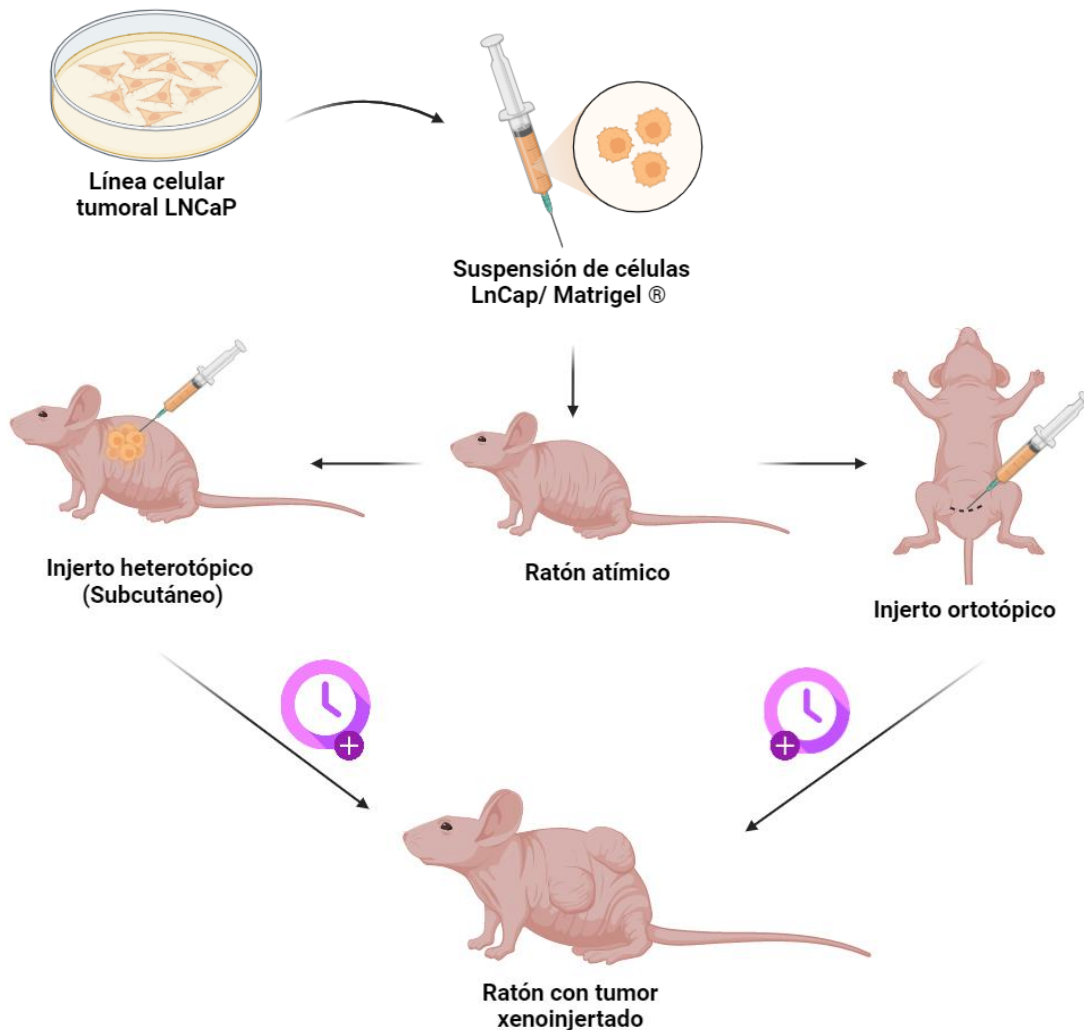
Los xenoinjertos heterotópicos son utilizados con mayor frecuencia, consisten en la inyección de células cancerosas en un sitio anatómico distinto al del tumor original, generalmente de forma subcutánea. Este modelo permite inyectar una gran cantidad de células para asegurar el crecimiento tumoral, es adecuado para muchos tipos de cáncer y facilita la observación del desarrollo tumoral y la evaluación de la respuesta al tratamiento (Costales, 2012; de Souza *et al.*, 2021). La limitación de este modelo es la pérdida de interacción entre células cancerosas y el microambiente específico del tumor (de Souza *et al.*, 2021; Jain *et al.*, 2021).

Los xenoinjertos ortotópicos, consiste en inyectar células cancerosas en el mismo sitio donde se produjo el tumor en humanos (Rubio-Manzanares Dorado, 2017). En este modelo el microambiente se asemeja al del tumor humano y genera capacidad metastática, aunque la cirugía para la implantación de las células puede disminuir la supervivencia de los ratones y requiere mayor tiempo para observar el crecimiento tumoral (de Souza *et al.*, 2021; Nowicki, 2021).

Para mejorar la viabilidad del injerto, se usan ratones desnudos jóvenes de entre 5 y 10 semanas de edad, los cuales carecen de un sistema inmune adaptativo, aunque con la edad acumulan algunos linfocitos T activos. Además, conservan el sistema inmune innato, incluyendo las células asesinas naturales (NK), que pueden afectar el desarrollo tumoral al eliminar células cancerosas (de Souza *et al.*, 2021; Fidler, 1986).

El microambiente tumoral cumple un papel fundamental en el mantenimiento del tumor, proporcionando señales supresoras o promotoras de crecimiento (de Souza *et al.*, 2021). Es por ello por lo que utilizar proteínas de membranas basales fisiológicas, como Matrigel®, derivado del tumor EHS, que contiene Proteoglicanos de heparán sulfato, colágeno tipo IV, entactina, aminina y factores de crecimiento, ha demostrado mejorar el éxito del xenotrasplante al promover la diferenciación celular, mejorar la supervivencia del injerto y aumentar el crecimiento tumoral en ratones. (Benton *et al.*, 2014; de la Fuente, 2021; de Souza *et al.*, 2021; Kleinman & Martin, 2005; Passaniti *et al.*, 2022).

## Modelo de xenoinjerto derivado de línea celular (CDX)



**Figura 6.** Desarrollo de un Xenoinjerto derivado de la línea celular LNCaP en ratones “nu/nu” utilizando Matrigel. Creada con BioRender.

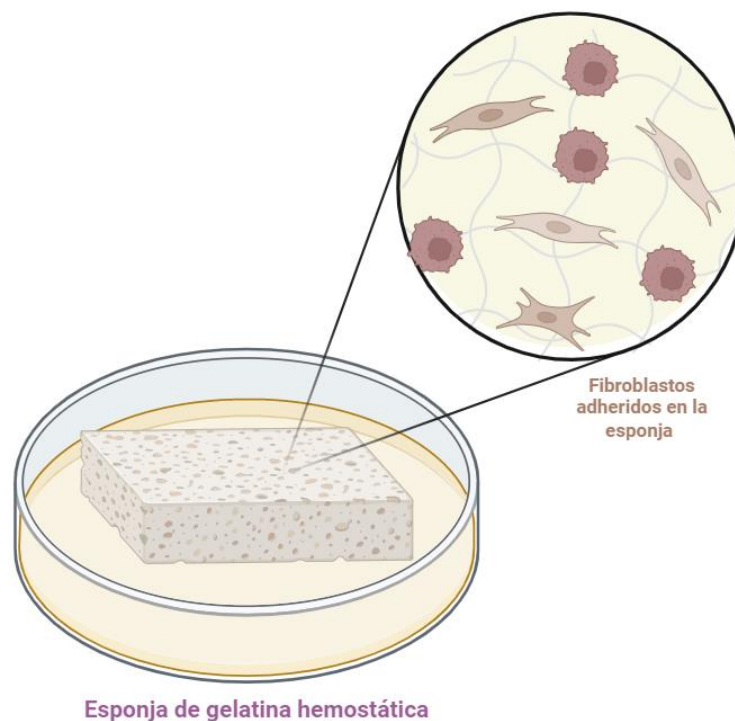
Tradicionalmente, Matrigel ha sido el estándar para crear el microambiente necesario para el crecimiento tumoral en xenoinjertos. Sin embargo, a pesar de sus beneficios, Matrigel presenta varias limitaciones por la variabilidad en su composición y la presencia de contaminantes xenogénicos lo que puede interferir en los resultados de los estudios en los que se utilice. Por lo que se han buscado alternativas a Matrigel, entre las que destacan las esponjas de gelatinas hemostáticas (Aisenbrey & Murphy, 2020; Kleinman & Martin, 2005).

### 4.4.3. Esponjas de gelatina hemostática

Las esponjas hemostáticas de gelatina son dispositivos médicos ampliamente utilizados para controlar el sangrado en procedimientos quirúrgicos y en manejo de heridas traumáticas. Están compuestas de gelatina porcina o bovina, una proteína natural derivada del colágeno, lo que les permite proporcionar un entorno tridimensional que simula la matriz extracelular (Aisenbrey & Murphy, 2020; Zhang *et al.*, 2018).

Gracias a sus propiedades estériles, insolubles en agua, flexibles, absorbibles y biocompatibles, estas esponjas no solo son efectivas en la hemostasia, sino que también representan una excelente opción como soporte para cultivos celulares y modelos de xenoinjertos (**Figura 7**). Su capacidad para absorber fluidos y mantener una estructura porosa favorece la adhesión y proliferación celular (Aisenbrey & Murphy, 2020; Rohanizadeh *et al.*, 2008).

Actualmente, existen diversas marcas comerciales en el mercado, entre ellas VETSPON® y Gelfoam®, las cuales han sido empleadas en investigaciones biomédicas e ingeniería de tejidos como andamios para el crecimiento celular y regeneración tisular (Cui *et al.*, 2012; Rohanizadeh *et al.*, 2008; Sakai *et al.*, 2001).



**Figura 7.** Cultivo celular sobre una esponja de gelatina hemostática. Creada con BioRender.

## **5. Materiales y métodos**

### **5.1. Preparación del injerto de las células LNCaP**

#### **5.1.1. Cultivo celular**

Las células LNCaP se sembraron en matraces de tejidos con medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI- 1640) complementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y 1% de antibiótico (penicilina/estreptomocina). Las células se mantuvieron en condiciones controladas a 37 °C en una atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> hasta su uso.

#### **5.1.2. Tripsinización de las células**

Cuando el cultivo celular alcanzó una confluencia entre un 80% y un 100%, las células se lavaron con una solución tampón de fosfato (PBS), y se disociaron de la superficie del matraz empleando una solución de tripsina/EDTA. Posteriormente, se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos. El pellet celular obtenido se resuspendió en una cantidad adecuada de medio RPMI-1640, y se realizó el conteo celular empleando una cámara de Neubauer y tinción con azul de tripano.

#### **5.1.3. Preparación y Siembra de células LNCaP en esponjas de gelatina**

Se cortaron discos de esponja de gelatina Surgispon® de 0.3 cm de espesor y 0.6 cm de diámetro utilizando un perforador. Estos discos se depositaron en una placa de 96 pocillos y se inyectaron 20 µL de una suspensión celular que contenía 2x10<sup>6</sup> células LNCaP en medio RPMI 1640 suplementado con 10% de SFB. Tras una incubación de 1 hora para permitir la adhesión celular, se añadió medio suplementado en cantidad suficiente para cubrir los discos. Las esponjas se mantuvieron en incubación bajo las mismas condiciones de cultivo hasta su implantación.

#### **5.1.4. Preparación del inyectable biológico**

Se prepararon inyectables biológicos que contenían una suspensión celular de 2 x 10<sup>6</sup> células LNCaP en 10 µL de medio RPMI- 1640 suplementado con 10% de SFB. Previamente, se descongeló Matrigel® a 4°C, y se mezcló con la suspensión celular en una proporción 1:1. Los inyectables se mantuvieron en hielo durante todo el proceso para evitar la solidificación del Matrigel® y garantizar su viabilidad hasta el momento de su uso.

## **5.2. Preparación del Modelo *in vivo***

### **5.2.1. Adquisición y manejo de los animales.**

Se utilizaron 20 ratones atímicos *nu/nu* machos, adquiridos de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Los ratones se dividieron en dos lotes: el primero se consistió en 12 ratones adultos de 8 a 9 semanas de edad, y en el segundo incluyó 9 ratones púberes de 27 días. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la UPEAL, bajo el número de aprobación 259.

Los ratones se alojaron en jaulas individuales equipadas con filtros HEPA en un ambiente libre de patógenos en las condiciones de bioterio. Se les proporcionó alimento y agua esterilizada *ad libitum*, con un ciclo de luz/ oscuridad de 12 horas. Todos los procedimientos se realizaron bajo condiciones de asepsia.

### **5.2.2. Procedimiento de implantación**

La implantación se realizó bajo anestesia general con isoflurano al 3.5%, verificando la profundidad de la anestesia mediante la ausencia de reflejos podales. Una vez alcanzado el plano anestésico adecuado, se administró Tramadol por vía subcutánea a una dosis de 10 mg/kg como analgesia preoperatoria. Posteriormente, se procedió con el protocolo quirúrgico.

#### **5.2.2.1. Implantación ortotópica**

De manera paralela, se realizaron implantaciones ortotópicas mediante la inyección directa de células LNCaP en la próstata del animal. Tras la inducción anestésica y la administración del analgésico, el ratón se colocó en posición de decúbito dorsal. Se realizó un embrocado en la pared abdominal con Estericide®, seguido de una incisión transversal en la línea media del abdomen, utilizando tijeras finas para exponer los órganos abdominales.

Con pinzas, se retrajo la vejiga hacia adelante e inferiormente para visualizar los lóbulos prostáticos. Se introdujo la aguja del inyectable biológico en un ángulo oblicuo, evitando perforar el órgano y se inyectó el contenido. La incisión se cerró con una sutura absorbible de ácido poliglicólico 4-0 y se aplicó Aluspray® como cicatrizante y desinfectante tópico.

### 5.2.2.2. Implantación heterotópica

El ratón se colocó en posición de decúbito ventral, y se realizó un embrocado con una solución antiséptica (Estericide®) en el área de la pared torácica dorsal. Se hizo una incisión de aproximadamente 0.7 cm por debajo de la escápula derecha. Con ayuda de unas pinzas, se creó una cavidad subcutánea donde se depositó un disco de esponja Surgispon® cargado con células LNCaP. La incisión se cerró con una sutura de ácido poliglicólico 4-0 y se aplicó Aluspray® (vetoquinol) como cicatrizante y desinfectante tópico.

### 5.2.2.3. Cuidado post-operatorio

Al término de las cirugías, los ratones se mantuvieron en observación hasta su completa recuperación anestésica, bajo un tapete térmico para evitar la hipotermia.

## 5.3. Monitoreo y medición del desarrollo tumoral

Después del injerto, los ratones se monitorearon diariamente durante toda la investigación para evaluar el crecimiento de las protuberancias y su estado de salud general. A partir de la cuarta semana, a los ratones implantados subcutáneamente se les midieron semanalmente las protuberancias utilizando un calibrador digital (vernier), y se calculó su volumen mediante la fórmula:

$$V = \frac{L \times W^2}{2}$$

Donde  $V$  es volumen,  $L$  la longitud y  $W$  el ancho del tumor.

El tiempo de espera para el crecimiento tumoral en las implantaciones heterotópicas y ortotópicas fue de 8 semanas considerando el periodo necesario para el desarrollo del xenoinjerto.

## 5.4. Sacrificio y Punto final humanitario (PFH)

Cuando fue necesario, se aplicó el PFH, que consiste en la eutanasia del animal cuando se observa un deterioro irreversible de su salud, como la pérdida de movilidad o incapacidad para alimentarse. Esta decisión se tomó en base a los criterios establecidos en el protocolo No. 259 autorizado por el CICUAL. Al finalizar el estudio, los ratones que no desarrollaron tumores fueron sacrificados mediante asfixia en una cámara de CO<sub>2</sub>.

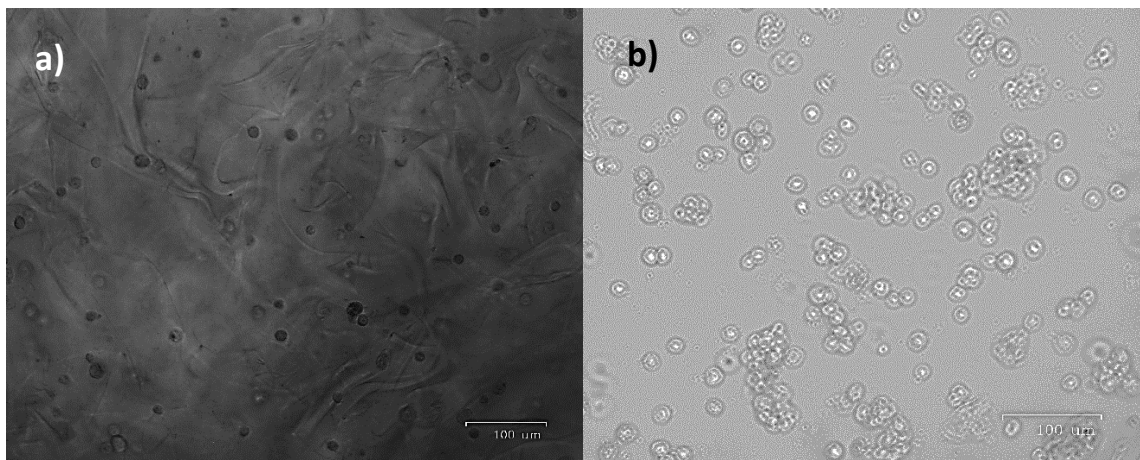
## 5.5. Análisis estadísticos

Para la organización y visualización de los datos, se utilizaron gráficos de dispersión y tablas comparativas elaboradas en Microsoft Excel.

## 6. Resultados

### 6.1. Sembrado de células LNCaP

Para realizar los xenoinjertos se sembraron células LNCaP en esponjas de gelatina Surgispon®. Se observó que las células se distribuyeron de manera uniforme y homogénea a lo largo de la matriz como se muestra en la **Figura 8**. Asimismo, se detectó que un número considerable de células permaneció en la caja de cultivo en las que se mantenían las esponjas, de modo que la población celular implantada en el animal fue menor de la inicialmente colocada en la esponja.

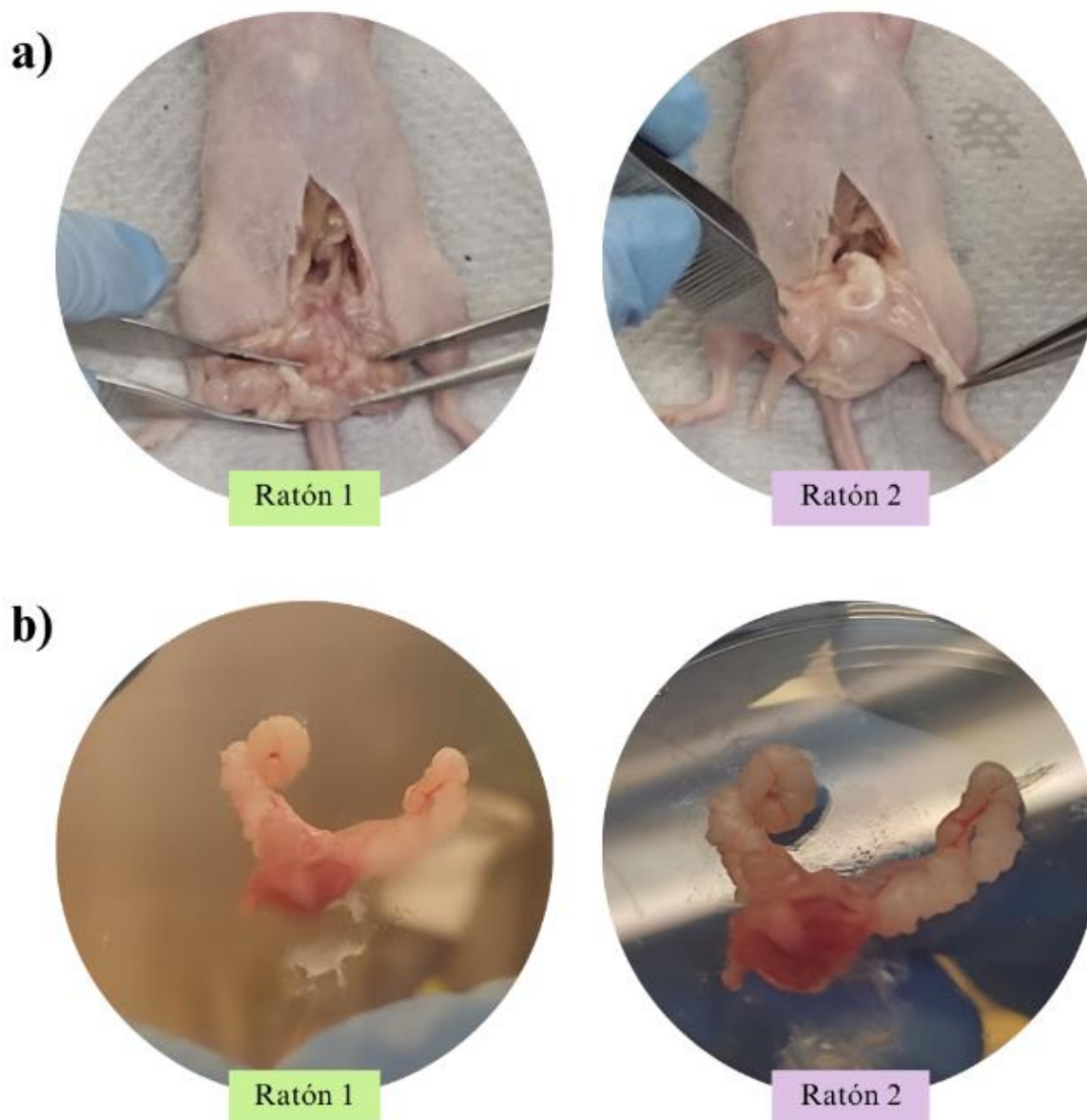


**Figura 8.** a) Disco de esponja Surgispon® cargada con células LNCaP visto bajo un generador de imágenes de células fluorescentes. b) células LNCaP en la caja de cultivo después de retirar la esponja.

### 6.2. Desarrollo tumoral en el modelo *in vivo*

#### 6.2.1. Incidencia tumoral en implantaciones ortotópicas

Después de ocho semanas de la inoculación con células LNCaP directamente en la próstata de los ratones *nu/nu*, no se detectaron tumores en la zona prostática en ninguno de los ratones inoculados, lo que corresponde a una incidencia del 0% como se puede apreciar en la **Figura 9**. Además, se registró una tasa de mortalidad del 33% antes de completar el estudio.



*Figura 9. Exposición de la próstata de ratones inoculados con células LNCaP de manera ortotópica.*

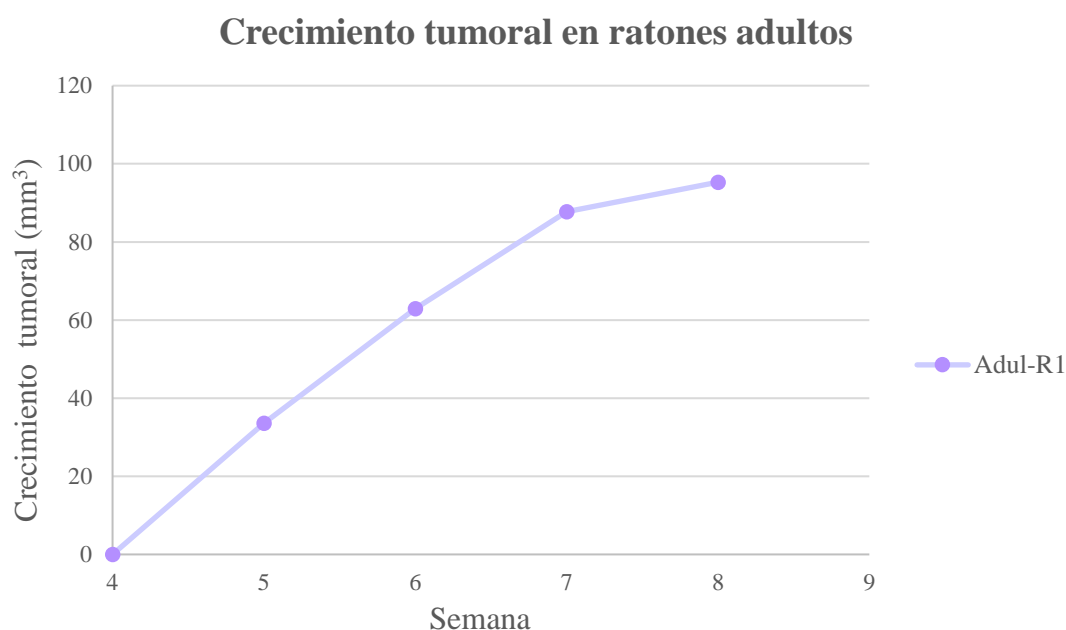
### 6.2.2. Incidencia tumoral en implantaciones heterotópicas

Después de cuatro semanas de la implantación subcutánea de la esponja a los ratones *nu/nu*, se comprobó que ésta se degradó completamente, **Tabla 1**. Además, se detectó evidencia de crecimiento tumoral en solo uno de los nueve ratones que fueron implantados, lo que representa una incidencia del 17%.

**Tabla 1.** Seguimiento de crecimiento tumoral en ratones Adultos de 8 y 9 semanas

Ratón		Volumen de protuberancia por semana (mm <sup>3</sup> )							
Grupo	Número de ratón	1	2	3	4	5	6	7	8
		08/10/2024	18/10/2024	25/10/2024	01/11/2024	08/11/2024	15/11/2024	22/11/2024	25/11/2024
Control n=3	1	Implantación de esponjas	Reportó inflamación <i>in situ</i>	N.M.	0	0	0	0	0
	2		Reportó inflamación <i>in situ</i>	N.M.	0	0	0	0	0
	3		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
Adul- R1 n=3	1		N.M.	N.M.	0	33.6	62.96	87.73	95.29
	2		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	3		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
Adul- R2 N=3	1		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	2		N.M.	N.M.	0	S	S	S	S
	3		N.M.	N.M.	0	S	S	S	S

N.M= no se midió  
S= sacrificado



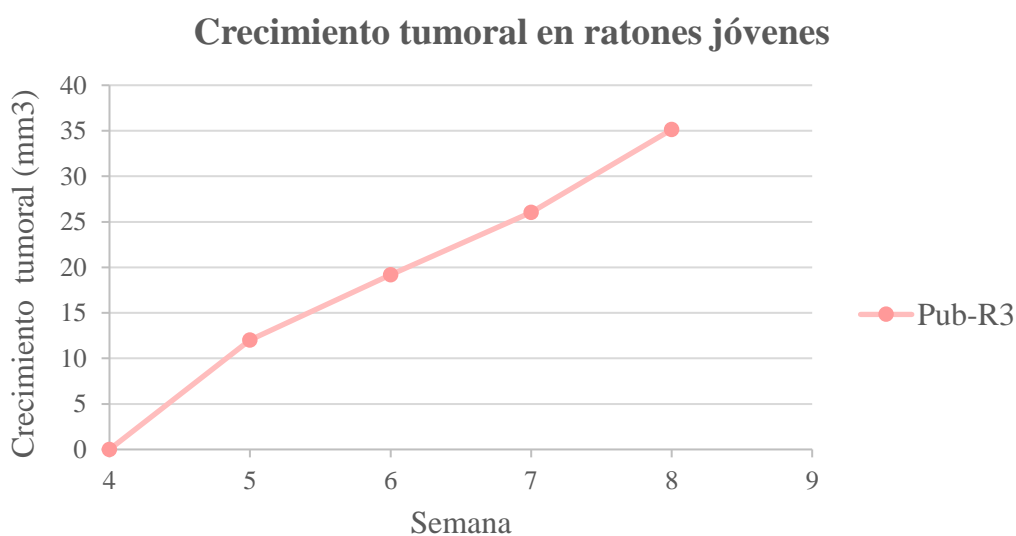
**Gráfico 1.** Progreso del crecimiento tumoral en ratones adultos de 8 a 9 semanas de edad, a partir de la cuarta semana post-implantación.

En el caso del grupo de los ratones púberes, se pudo observar que la esponja se degradó en la cuarta semana, **Tabla 2**. Además, solamente uno de los nueve ratones *nu/nu* inoculados, desarrolló el crecimiento tumoral esperado, lo que deriva en una tasa tumoral del 17% en los ratones de 27 días.

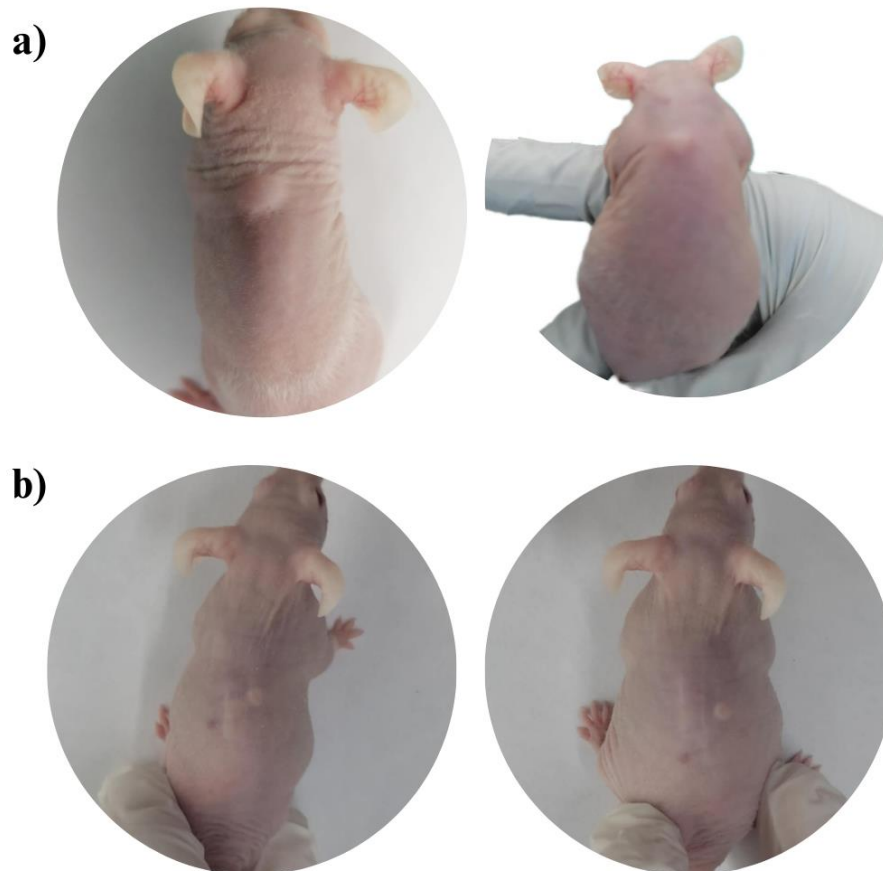
**Tabla 2.** Seguimiento de crecimiento tumoral en ratones púberes de 27 días

Ratón		Volumen de protuberancia por semana (mm <sup>3</sup> )							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Grupo	Número de ratón	19/11/2024	29/11/2024	06/12/2024	13/12/2024	20/12/2024	27/12/2024	03/01/2025	10/01/2025
Control n=3	1	Implantación de esponjas	N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	2		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	3		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
Pub- R1 n=3	1		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	2		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	3		<b>N.M.</b>	<b>N.M.</b>	<b>0</b>	<b>12.01</b>	<b>19.17</b>	<b>26.05</b>	<b>35.13</b>
Pub- R2 N=3	1		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	2		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0
	3		N.M.	N.M.	0	0	0	0	0

N.M= no se midió  
S = sacrificado



**Gráfico 2.** Evolución del crecimiento tumoral en ratones jóvenes de 27 días, evidenciando un incremento progresivo a partir de la cuarta semana post-implantación.



**Figura 10.** Fotografías de los ratones nu/nu con crecimiento tumoral. a) tumor desarrollado en el ratón adulto. b) tumor desarrollado en el ratón joven.

## 7. Discusión y análisis de resultados

En la investigación oncológica, los modelos de xenoinjertos desempeñan un papel fundamental en la comprensión de la biología del cáncer y en la evaluación de nuevas terapias. Entre los modelos preclínicos más utilizados para el estudio del cáncer de próstata destaca el xenoinjerto de células LNCaP en ratones desnudos, ya que recapitula diversas propiedades del cáncer de próstata humano (Szadvari *et al.*, 2016).

En el establecimiento de xenoinjertos se ha recurrido al uso de matrices extracelulares para facilitar el desarrollo del tumor. Tradicionalmente se ha utilizado Matrigel®, sin embargo, su uso no muestra una tasa de crecimiento predecible y a menudo conduce a variaciones significativas en los volúmenes de los tumores. Por lo que una alternativa, como matriz

extracelular, son las esponjas hemostáticas de gelatina (Aisenbrey & Murphy, 2020; Cui *et al.*, 2012).

Los implantes de esponja preparados para los xenoinjertos demostraron, una distribución uniforme de las células LNCaP a lo largo de la estructura porosa. Esta característica es fundamental para favorecer la interacción celular con el entorno dentro del animal. Además, su composición a base de gelatina permite que el disco se hinche, lo que podría facilitar el flujo de fluidos corporales a través de sus canales. Esto puede aumentar su probabilidad de supervivencia tras la implantación debido a que, favorecería el transporte de nutrientes hacia las células.

Estos hallazgos concuerdan con el estudio de Cui *et al.* (2012), quienes obtuvieron resultados similares al emplear la esponja de gelatina VETSPON® en xenoinjertos. Sus resultados indican que, las células además de distribuirse uniformemente en la superficie de la esponja se benefician del entorno proporcionado por la esponja y/o los fluidos corporales absorbidos en ella, lo que promueve su supervivencia y la angiogénesis. Por lo que, la esponja VETSPON® facilita el desarrollo y progresión tumoral en modelos preclínicos, mostrando ventajas frente a otros materiales utilizados como matriz extracelular, como Matrigel®.

Asimismo, varios estudios han empleado esponjas de gelatina Gelfoam®, como andamios para la proliferación y diferenciación celular (Ponticiello *et al.*, 2000; Rohanzadeh *et al.*, 2008). Por ejemplo, se utilizaron esponjas Gelfoam® para el cultivo de cardiomiocitos fetales y neonatales, observando que su estructura porosa favoreció el crecimiento celular al permitir una adecuada perfusión de nutrientes y oxígeno durante el cultivo (Sakai *et al.*, 2001).

Aunque la esponja demostró una adecuada absorción celular, se observó que, tras la cirugía de implantación en los ratones, una parte de las células permaneció en la caja de cultivo donde se mantenían (**Figura 8b**). Esto podría deberse a un tiempo de incubación insuficiente para permitir la adherencia celular, o a que se colocó un volumen de suspensión celular mayor al límite de absorción de la esponja.

En este estudio se realizaron dos tipos de xenoinjertos. En el caso de los xenoinjertos ortotópicos, se registró una tasa de mortalidad del 33% tras el procedimiento quirúrgico. Esta mortalidad podría relacionarse con la naturaleza invasiva de la cirugía, o con un posible daño en algún órgano durante la implantación.

Al respecto, algunos autores como de Souza *et al.* (2021) y Rubio-Manzanares Dorado (2017), han señalado que este tipo de implantación es bastante compleja debido al reducido

tamaño de los órganos en los ratones, lo que aumenta el riesgo de daño tisular y, en consecuencia, reduce la supervivencia de los ratones.

Además, el xenoinjerto mediante implantación ortotópica no resultó exitoso, ya que la incidencia fue del 0% (**Figura 9**). Este resultado podría atribuirse a problemas técnicos, tales como la dificultad para identificar la próstata durante la cirugía, lo que pudo haber impedido la adecuada implantación de las células. Asimismo, es posible que el periodo de dos meses propuesto para el crecimiento tumoral fue insuficiente, ya que, de acuerdo con Morton & Houghton (2007) han indicado que el crecimiento tumoral suele manifestarse entre dos y cuatro meses después del injerto, mientras que otros estudios sugieren que el periodo de latencia puede oscilar entre dos y 12 meses (Jung *et al.*, 2017; Morton & Houghton, 2007).

Por otro lado, con los xenoinjertos heterotópicos se planteó observar si la incidencia tumoral se ve influenciada por la edad de los ratones. En ratones adultos se observó una incidencia tumoral del 17%. Esta baja incidencia podría explicarse debido a que la cantidad de células implantadas fue menor a la que inicialmente se sembró en el parche como se mencionaba anteriormente. Para abordar esta problemática en los ratones púberes se optó por sembrar las células en la esponja durante 24 horas antes de la implantación. Esta modificación redujo la cantidad de células que quedaban en la caja de cultivo; Sin embargo, al término del periodo de desarrollo tumoral, la incidencia en los ratones púberes también fue igual al de la de los adultos. Esta incidencia obtenida utilizando la esponja Surgispon® difiere con lo reportado por Cui *et al.* (2012) quienes señalan en su estudio que la incidencia de crecimiento tumoral fue del 100% usando la esponja VETSPON® como matriz extracelular.

El volumen tumoral en los ratones adultos fue mayor que en los jóvenes, lo que podría atribuirse a el tiempo de incubación de la esponja. En los ratones jóvenes, la esponja fue incubada durante 24 horas, lo que pudo afectar la viabilidad celular y limitar el crecimiento tumoral. En contraste, en los ratones adultos, las células fueron incubadas en la esponja por solo una hora antes de la implantación, lo que podría haber favorecido una mayor supervivencia celular y, en consecuencia, un mayor desarrollo tumoral.

Nuestros resultados sugieren que la edad no influye en el éxito del xenoinjerto de cáncer de próstata. Sin embargo, otros estudios han demostrado que la edad es un factor determinante en la tasa de éxito de crecimiento tumoral en diversos tipos de cáncer, ya que se asocia a cambios en los mecanismos de defensa inmunológica, particularmente en aquellos independientes del timo, como la citotoxicidad mediada por células NK (Klein *et al.*, 1979; Manohar *et al.*, 2008; Romijn, 1985). Marincola *et al.* (1989) señala que los ratones desnudos

adultos (mayores de 8 semanas) presentan una mayor actividad de células NK en comparación con los ratones más jóvenes. En ratones menores de 4 semanas, la actividad de estas células es baja y alcanza su pico alrededor de las 8 semanas, lo que podría explicar por qué algunos estudios observan una mayor aceptación tumoral en ratones jóvenes.

En general, la frecuencia de crecimiento exitoso de xenoinjertos tumorales en ratones desnudos atímicos es variable. Se ha informado que muchos tumores heterotrasplantados, como los carcinomas prostáticos, solo logran establecerse ocasionalmente (Romijn, 1985). La baja incidencia tumoral observada en nuestros resultados podría deberse a factores adicionales ajenos a la esponja y a la edad de los animales.

Por ejemplo, Jung *et al.* (2017) señalan que las tasas de éxito pueden estar influenciadas por la agresividad de la línea celular, ya que células más agresivas suelen formar tumores con mayor rapidez. En este sentido, se han desarrollado varias sublíneas de LNCaP mediante el pase seriado de las células a través de la próstata de ratones, lo que se ha demostrado un incremento en la capacidad tumorigénica y potencial metastásico (McLean *et al.*, 2017). Además, la cantidad de células, la vascularización del sitio de implantación, las variaciones genéticas entre ratones de la misma cepa, así como el microambiente que rodea a las células una vez implantadas, son factores que pueden interferir en el establecimiento del crecimiento tumoral (Jung *et al.*, 2017; Khairani *et al.*, 2025).

## 8. Conclusión

El desarrollo de un modelo de xenoinjerto presenta desafíos tanto técnicos como biológicos. En este estudio, no fue posible establecer con éxito un modelo ortotópico con células LNCaP en ratones desnudos atímicos. Este tipo de modelo requiere un conocimiento detallado de la próstata del ratón, así como el perfeccionamiento de la técnica quirúrgica para reducir la mortalidad y garantizar una implantación precisa de las células tumorales. La complejidad del procedimiento y precisión en la localización del injerto podrían haber influido en el desarrollo tumoral.

En contraste, los xenoinjertos subcutáneos lograron inducir el crecimiento tumoral, aunque con una incidencia limitada. La edad de los ratones no mostró un impacto significativo en la tasa de éxito del injerto, aunque no fue posible evaluar su influencia en el crecimiento tumoral, ya que se empleó un método diferente para sembrar las células en la esponja hemostática de cada grupo. Lo que sugiere que otros factores, como la cantidad de células

implantadas, la vascularización del sitio de implantación o el tiempo de incubación de las células en la esponja, podrían haber influido en los resultados.

Si bien, el uso de esponjas hemostáticas como matriz extracelular permitió una distribución uniforme de las células, y pudo haber favorecido su supervivencia inicial, la baja tasa de crecimiento tumoral resalta la necesidad de optimizar el modelo. Estrategias como, el ajuste de densidad celular y el uso de una variante celular de LNCaP con mayor agresividad, podrían ser clave para incrementar la eficiencia del xenoinjerto y su utilidad en estudios preclínicos de cáncer de próstata.

## 9. Referencias

- Aisenbrey, E. A., & Murphy, W. L. (2020). Synthetic alternatives to Matrigel. *Nature Reviews Materials* 2020 5:7, 5(7), 539–551. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0199-8>
- Benton, G., Arnaoutova, I., George, J., Kleinman, H. K., & Koblinski, J. (2014). Matrigel: From discovery and ECM mimicry to assays and models for cancer research. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 79–80, 3–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.06.005>
- Cabeza, M., Menes, L. A., Fuentes, E., Bahena, I., & Heuze, Y. (2023). Novel type 1 5 $\alpha$ -reductase Inhibitors with Antiproliferative Potential on LNCaP cells. *Oriental Journal Of Chemistry*, 39(3), 523–532. <https://doi.org/10.13005/ojc/390301>
- Cabeza, M. S., Gutiérrez, E. B., García, G. A., Avalos, A. H., & Hernández, M. A. H. (1999). Microbial transformations of testosterone to 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone by two species of *Penicillium*: *P. chrysogenum* and *P. crustosum*. *Steroids*, 64(6), 379–384. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(98\)00115-9](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(98)00115-9)
- Cascardo, F., & Cotignola, J. (2023). *Identificación de biomarcadores asociados a la progresión del cáncer de próstata*. [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n7397\\_Cascardo.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n7397_Cascardo.pdf)
- Costales, M. (2012). “Desarrollo de modelos murinos con líneas celulares de carcinomas nasosinuales” [Universidad de Oviedo]. <http://hdl.handle.net/10651/13460>
- Costanzo, L. (2021). *Costanzo Physiology E-Book: Costanzo Physiology E-Book*. [https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=lkdFEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=rz0uk35gQu&sig=sBg6jkkqIsV\\_j7E\\_mwDURszWoHU4](https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=lkdFEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=rz0uk35gQu&sig=sBg6jkkqIsV_j7E_mwDURszWoHU4)

- Cui, L., Chen, P., Tan, Z., Li, W., & Dong, Z. (2012). Hemostatic gelatin sponge is a superior matrix to Matrigel for establishment of LNCaP human prostate cancer in *nu/nu* mice. *The Prostate*, 72(15), 1669. <https://doi.org/10.1002/PROS.22520>
- De Falco, M., & Laforgia, V. (2021). Combined Effects of Different Endocrine-Disrupting Chemicals (EDCs) on Prostate Gland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(18). <https://doi.org/10.3390/IJERPH18189772>
- de la Fuente, N. (2021). *Generación de modelos murinos de adenocarcinoma pancreático con mayor eficiencia metastásica para el estudio de agentes antitumorales* [Universidad Autónoma de Barcelona ]. <http://hdl.handle.net/10803/673338>
- de Souza, J. C., Miguita, L., Gomez, R. S., & Gomes, C. C. (2021). Patient-derived xenograft models for the study of benign human neoplasms. *Experimental and Molecular Pathology*, 120, 104630. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104630>
- Fidler, I. J. (1986). Rationale and methods for the use of *nu/nu* mice to study the biology and therapy of human cancer metastasis. *CANCER AND METASTASIS REVIEW*, 5(1), 29–49. <https://doi.org/10.1007/BF00049529/METRICS>
- Garg, A., Garg, S., & Swarnakar, N. K. (2021). Chapter 11 - Nanoparticles and prostate cancer. In A. K. Yadav, U. Gupta, & R. Sharma (Eds.), *Nano Drug Delivery Strategies for the Treatment of Cancers* (pp. 275–318). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819793-6.00012-6>
- Gogola, S., Rejzer, M., & Poppiti, R. (2024). Prostate gland anatomy and hormonal factors contributing to cancer development. *Therapy Resistance in Prostate Cancer*, 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-16032-5.00011-7>
- Horoszewicz, J. S., Leong, S. S., Kawinski, E., Karr, J. P., Rosenthal, H., Chu, T. M., Mirand, E. A., & Murphy, G. P. (1983). LNCaP Model of Human Prostatic Carcinoma1. In *ICANCER RESEARCH* (Vol. 43). <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/43/4/1809/2415783/cr0430041809.pdf>
- Isaacson, A., Bagla, S., Raynor, M., & Yu, H. (2020). *Prostatic artery embolization*. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-030-23471-3.pdf>
- Ittmann, M. (2018). Anatomy and Histology of the Human and Murine Prostate. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(5). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A030346>
- Jain, S., Raza, K., Agrawal, A. K., & Vaidya, A. (2021). Chapter 28 - *In vivo* animal models for cancer: What have we learned from chemical-induced and xenograft models?. In S. Jain, K. Raza, A. K. Agrawal, & A. Vaidya (Eds.), *Nanotechnology*

- Applications for Cancer Chemotherapy* (pp. 611–630). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817846-1.00028-X>
- Jung, J., Seol, H. S., & Chang, S. (2017). The Generation and Application of Patient-Derived Xenograft Model for Cancer Research. *Cancer Research and Treatment : Official Journal of Korean Cancer Association*, 50(1), 1–10. <https://doi.org/10.4143/CRT.2017.307>
- Khairani, A. F., Harmonia, S., Chou, Y., Alfarafisa, N. M., & Ramadhanti, J. (2025). Optimizing Xenograft Models for Breast Cancer: A Comparative Analysis of Cell-Derived and Patient-Derived Implantation Techniques in Pre-Clinical Research. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 17, 1–10. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S490532>
- Klein, A. S., Plata, F., Jackson, M. J., & Shin, S. (1979). Cellular Tumorigenicity in *Nu/nu* Mice. Role of Susceptibility to Natural Killer Cells. *Pathobiology*, 47(6), 430–445. <https://doi.org/10.1159/000162961>
- Kleinman, H. K., & Martin, G. R. (2005). Matrigel: Basement membrane matrix with biological activity. *Seminars in Cancer Biology*, 15(5), 378–386. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2005.05.004>
- Kmetová, M., Kaplán Peter, Tatarková Zuzana, Lichardusová Lucia, Ušenka Róbert, & Jurečeková Jana. (2018). *Androgen receptor and soy isoflavones in prostate cancer (Review)*. <https://www.spandidos-publications.com/mco/10/2/191>
- Larrán López, J., Patino, J. A., López Muñoz, A., & Troya, J. V. (2000). *Actas urológicas españolas noviembre/diciembre 2000 influencia de los neuropéptidos, bombesina y calcitonina, sobre el crecimiento de las líneas celulares prostáticas, pc-3, du 145 y lncap trabajo experimental*. In *Actas Urol Esp* (Vol. 24, Issue 10).
- Lee, C. H., Akin-Olugbade, O., & Kirschenbaum, A. (2011). Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* (Vol. 40, Issue 3, pp. 565–575). <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2011.05.012>
- Lim, D. J., Liu, X.-T., Sutkowski, D. M., Braun, E. J., Lee, C., & Kozlowski, J. M. (1993). Growth of an Androgen-Sensitive Human Prostate Cancer Cell Line, LNCaP, in *Nu/nu* Mice. In *The Prostate* (Vol. 22).
- Manohar, M., Orrison, B., Peden, K., & Lewis, A. M. (2008). Assessing the tumorigenic phenotype of VERO cells in adult and newborn *nu/nu* mice. *Biologicals*, 36(1), 65–72. <https://doi.org/10.1016/J.BIOLOGICALS.2007.06.002>
- Marincola, F. M., Drucker, B. J., Siao, D. Y., Hough, K. L., & Holder, W. D. (1989). The *nu/nu* mouse as a model for the study of human pancreatic cancer. *Journal of Surgical Research*, 47(6), 520–529. [https://doi.org/10.1016/0022-4804\(89\)90130-3](https://doi.org/10.1016/0022-4804(89)90130-3)

- McLean, D. T., Strand, D. W., & Ricke, W. A. (2017). Prostate cancer xenografts and hormone induced prostate carcinogenesis. *Differentiation*, 97, 23–32. <https://doi.org/10.1016/J.DIFF.2017.08.005>
- Morton, C. L., & Houghton, P. J. (2007). Establishment of human tumor xenografts in immunodeficient mice. *Nature Protocols* 2:2, 2(2), 247–250. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.25>
- Muñoz, M. (2023). *Efecto del ergosterol y su peróxido en la proliferación celular de las líneas celulares LNCaP, DU-145 y C6*. Universidad Veracruzana .
- Nowicki, S. (2021). *Participación del ácido 20-hidroxicosatotetraenóico (20-hete) en las vías de señalización en células de cáncer de próstata*. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/136638>
- Okada, S., Vaeteewoottacharn, K., & Kariya, R. (2018). Establishment of a Patient-Derived Tumor Xenograft Model and Application for Precision Cancer Medicine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 66(3), 225–230. <https://doi.org/10.1248/CPB.C17-00789>
- Passaniti, A., Kleinman, H. K., & Martin, G. R. (2022). Matrigel: history/background, uses, and future applications. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 16(4), 621–626. <https://doi.org/10.1007/s12079-021-00643-1>
- Ponticiello, M. S., Schinagl, R. M., Kadiyala, S., & Barry, F. P. (2000). *Gelatin-based resorbable sponge as a carrier matrix for human mesenchymal stem cells in cartilage regeneration therapy*. <https://doi.org/10.1002/1097-4636>
- Punt, J., Stranford, S. A., Jones, P. P., & Owen, J. A. (2020). Enfermedades por inmunodeficiencia. In *KUBY. Inmunología, 8e*. McGraw-Hill Education. [accessmedicina.up.elogim.com/content.aspx?aid=1177499219](https://accessmedicina.up.elogim.com/content.aspx?aid=1177499219)
- Rebello, R. J., Oing, C., Knudsen, K. E., Loeb, S., Johnson, D. C., Reiter, R. E., Gillessen, S., Van der Kwast, T., & Bristow, R. G. (2021). Prostate cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>
- Reth, M. (1995). Immunodeficiency: Trapping the *nu/nu* mouse gene. *Current Biology*, 5(1), 18–20. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(95\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(95)00006-6)
- Rohanizadeh, R., Swain, M. V., & Mason, R. S. (2008). Gelatin sponges (Gelfoam®) as a scaffold for osteoblasts. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(3), 1173–1182. <https://doi.org/10.1007/S10856-007-3154-Y/FIGURES/8>
- Romijn, J. C. (1985). Growth of Tumor Cells with Different Sensitivities for Murine Natural Killer Cells in Young and Adult Athymic *Nu/nu* Mice. *Pathobiology*, 53(1), 24–31. <https://doi.org/10.1159/000163292>

- Rubio-Manzanares Dorado. (2017). *Estudio de la viabilidad de los xenoinjertos de adenocarcinomas y tumores periampulares de páncreas* [Universidad de Sevilla]. <https://idus.us.es/handle/11441/76071>
- Sakai, T., Li, R. K., Weise, R. D., Mickle, D. A. G., Joong Kim, E. T., Jia, Z. Q., & Yau, T. M. (2001). The fate of a tissue-engineered cardiac graft in the right ventricular outflow tract of the rat. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, *121*(5), 932–942. <https://doi.org/10.1067/MTC.2001.113600>
- Secretaria de salud. (2022, June 11). *En México, cada año se detectan más de 25 mil casos de cáncer de próstata*. <https://www.gob.mx/salud/prensa/278-en-mexico-cada-ano-se-detectan-mas-de-25-mil-casos-de-cancer-de-prostata>
- Sekhoacha, M., Riet, K., Motloug, P., Gumenku, L., Adegoke, A., & Mashele, S. (2022). Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. *Molecules*, *27*(17). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27175730>
- Sobel, R. E., & Sadar, M. D. (2005). Cell lines used in prostate cancer research: A compendium of old and new lines - Part 1. In *Journal of Urology* (Vol. 173, Issue 2, pp. 342–359). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000141580.30910.57>
- Szadvari, I., Krizanova, O., & Babula, P. (2016). Athymic *nu/nu* mice as an experimental model for cancer treatment. *Physiological Research*, *65*(Suppl 4), S441–S453. <https://doi.org/10.33549/PHYSIOLRES.933526>
- Testa, U., Castelli, G., & Pelosi, E. (2019). Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Prostate Cancer Development: Therapeutic Implications. *Medicines*, *6*(3). <https://doi.org/10.3390/medicines6030082>
- Venera, C., Graziano Adriana, C. E., Rosanna, A., Alejandro, M., & Alessandra, R. (2022). Physodic acid sensitizes LNCaP prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Toxicology in Vitro*, *84*, 105432. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2022.105432>
- Wang, F. (2011). Chapter 1 - Modeling Human Prostate Cancer in Genetically Engineered Mice. In K. T. Chang & K.-T. Min (Eds.), *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Vol. 100, pp. 1–49). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384878-9.00001-7>
- Zhang, L., Niu, X., Sun, L., She, Z., Tan, R., & Wang, W. (2018). Immune response of bovine sourced cross-linked collagen sponge for hemostasis. *Journal of Biomaterials Applications*, *32*(7), 920–931. [https://doi.org/10.1177/0885328217744080/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_0885328217744080-FIG8.JPEG](https://doi.org/10.1177/0885328217744080/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0885328217744080-FIG8.JPEG)

Zhu, Y. S., & Imperato-McGinley, J. L. (2009). 5 $\alpha$ -Reductase Isozymes and Androgen Actions in the Prostate. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1155(1), 43–56. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2009.04115.X>