

Expresión de miR-21 y miR-let-7a en células estromales y vesículas extracelulares prostáticas de pacientes con hiperplasia prostática benigna



¹Roldán Gallardo FF, ¹Díaz AE, ¹Romero Humacata JF, ²López Seoane M, ¹Maldonado CA, ¹Quintar AA
¹Centro de Microscopía Electrónica – INICSA - CONICET - FCM - UNC; ²Sanatorio Allende

Persona que presenta: Roldán Gallardo FF, francoroldan.055@gmail.com **Área:** Básica **Disciplina:** Otra **Resumen:** Nuestro grupo demostró que células prostáticas de pacientes con hiperplasia prostática benigna (HPB) secretan vesículas extracelulares (EVs) con actividad pro-proliferativa, las cuales son incrementadas en contextos dislipidémicos. Uno de las principales cargas de las EVs, los microARNs (miRNAs), son elementos reguladores de la proliferación en distintas patologías, aunque su rol en la HPB en el entorno dislipidémico aún no está esclarecido. Por ello, evaluamos la expresión de dos miRNAs, con efectos opuestos descriptos, en células estromales prostáticas humanas (CEPH) en un contexto dislipidémico simulado por LDL-oxidada (OxLDL), y en EVs derivadas de las CEPH estimuladas con OxLDL.

Se establecieron cultivos primarios de CEPH de pacientes con HPB sin alteraciones metabólicas (n=3). Los miRNAs analizados fueron el miR-21, con un atribuido efecto pro-tumoral, y miR-let-7a, con efecto protector. Los ensayos se realizaron por triplicado y se aplicó la prueba t-Student, comparando tratados con OxLDL vs. controles tratados con vehículo. Primeramente, las CEPH fueron expuestas a OxLDL [20µg/mL] durante 24h y se evaluó la proliferación celular por inmunocitoquímica de Ki-67. Asimismo, se aislaron EVs de CEPH expuestas a OxLDL mediante ultracentrifugación diferencial (pellet 150K), se contabilizaron mediante microscopía electrónica de transmisión y se evaluó su participación en la proliferación sobre CEPH por Ki-67. OxLDL indujo un incremento en la proliferación celular y en el número de EVs liberadas.

Las EVs aisladas de CEPH tratadas con OxLDL aumentaron la proliferación celular (**p<0.01). A partir de las CEPH expuestas a OxLDL y las EVs obtenidas, se evaluó la expresión relativa por RT-qPCR utilizando el método $\Delta\Delta C_t$ para miR-21 y miR-let-7a. La expresión de miR-21, usualmente sobreexpresado en contextos pro-proliferativos, disminuyó para los 3 individuos (**p<0.01), mientras que miR-let-7a de respuesta contraria, disminuyó en 2 de ellos vs. el control (**p<0.01). Si bien la expresión de ambos miRNAs varió entre los individuos, estas fueron similares entre las muestras de CEPH y EVs, sugiriendo que la carga de las EVs está relacionado directamente al estímulo recibido por la célula.

En resumen, el papel del miR-21 no es concluyente en la HPB, mientras que la disminución del miR-let-7a inducida por OxLDL sugiere un papel protector para este miRNA en la proliferación de CEPH.

Palabras Clave: Hiperplasia Prostática Benigna, microARNs, vesículas extracelulares, células estromales  [Versión para impresión](#) |  [PDF](#)

Abstract #1763

Expression of miR-21 and miR-let-7a in prostate stromal cells and extracellular vesicles from patients with benign prostatic hyperplasia

¹Roldán Gallardo FF, ¹Díaz AE, ¹Romero Humacata JF, ²López Seoane M, ¹Maldonado CA, ¹Quintar AA
¹Centro de Microscopía Electrónica – INICSA - CONICET - FCM - UNC; ²Sanatorio Allende

Persona que presenta: Roldán Gallardo FF, francoroldan.055@gmail.com **Abstract:** Our group demonstrated that prostate cells from patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) secrete extracellular vesicles (EVs) with pro-proliferative activity, which are increased in dyslipidemic contexts. One of the main EV cargoes, microRNAs (miRNAs), are regulatory elements of proliferation in different pathologies, although their role in BPH in the dyslipidemic environment is still unclear. Therefore, we evaluated the expression of two miRNAs, with opposite effects described, in human prostatic stromal cells (HPSC) in a dyslipidemic context simulated by oxidized LDL (OxLDL), and in EVs derived from HPSC stimulated with OxLDL.

Primary cultures of HPSC from patients with BPH without metabolic alterations (n=3) were established. The miRNAs analyzed were miR-21, with an attributed pro-tumor effect, and miR-let-7a, with a protective effect. The assays were performed in triplicate and the Student t-test was applied, comparing those treated with OxLDL vs. vehicle-treated controls. First, the HPSC were exposed to OxLDL [20µg/mL] for 24h and cell proliferation was assessed by Ki-67 immunocytochemistry. Likewise, EVs were isolated from HPSC exposed to OxLDL by differential ultracentrifugation (150K pellet), were counted by transmission electron microscopy and their participation in proliferation on HPSC was assessed by Ki-67.

OxLDL induced an increase in cell proliferation and in the number of EVs released. EVs isolated from OxLDL-treated HPSC increased cell proliferation (**p<0.01). From OxLDL-exposed HPSC and the obtained EVs, the relative expression was evaluated by RT-qPCR using the $\Delta\Delta C_t$ method for miR-21 and miR-let-7a. The expression of miR-21, usually overexpressed in pro-proliferative contexts, decreased for all 3 individuals (**p<0.01), while miR-let-7a, with an opposite response, decreased in 2 of them vs. the control (**p<0.01). Although the expression of both miRNAs varied between individuals, they were similar between HPSC and EV samples, suggesting that the EV load is directly related to the stimulus received by the cell.

In summary, the role of miR-21 is inconclusive in BPH, while the OxLDL-induced decrease in miR-let-7a suggests a protective role for this miRNA in HPSC proliferation.

Keywords: Benign prostatic hyperplasia, microRNAs, extracellular vesicles, Stromal cells