

Tabla 26 y Gráfica 26

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de suero humano (HSLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón.

TABLA 26

Células: Médula ósea de ratón

HSLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPH)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
50	59332 \pm 6983	0,0 \pm 12,4
250	55797 \pm 559	0,5 \pm 0,9
500	59065 \pm 4112	0,0 \pm 7,3
1000	61634 \pm 98	0,0 \pm 0,2
CONTROL (MEDIO)	56089 \pm 4209	

GRAFICA 26

CELULAS: MEDULA OSEA DE RATON

INHIBICION (%)

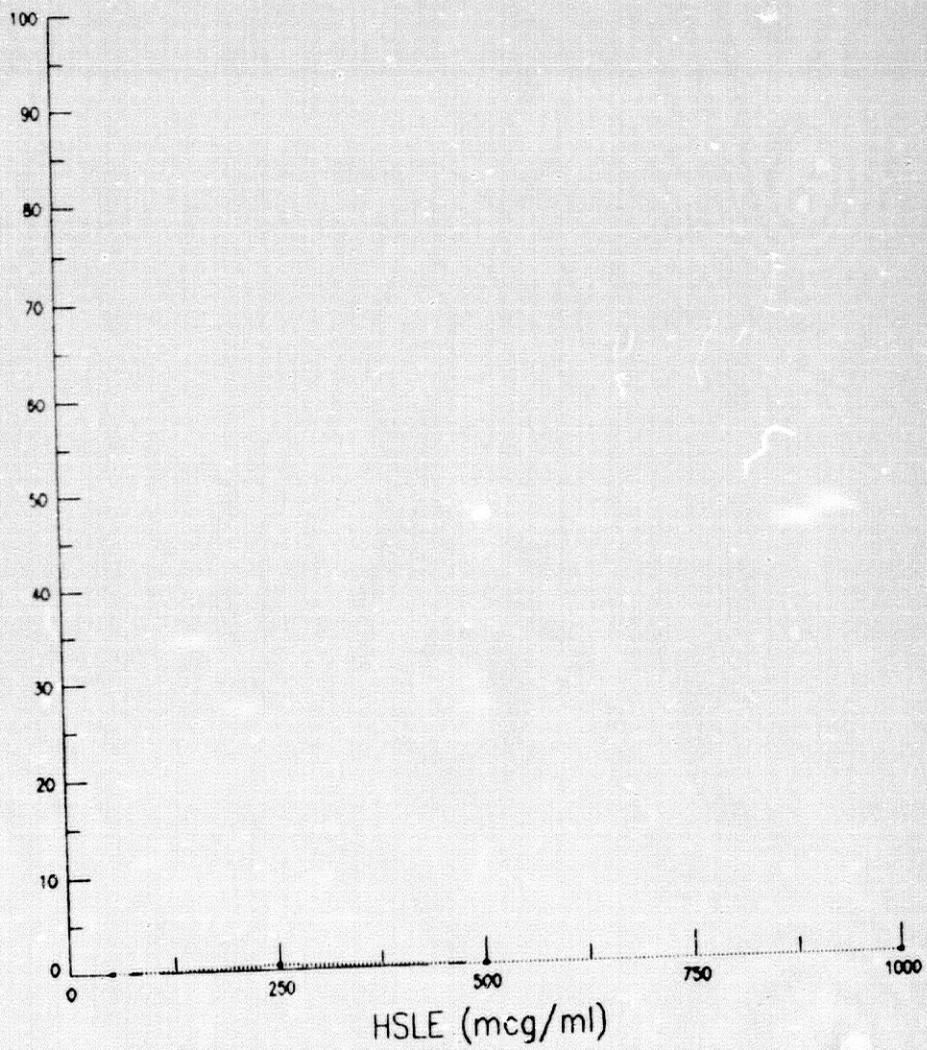


Tabla 27 y Gráfica 27

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de suero humano (HSLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células del mastocitoma de ratón P815X2.

TABLA 27

Células: P815X2

HSLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
50	650780 \pm 34417	0,0 \pm 7,7
250	603177 \pm 31528	5,1 \pm 4,9
500	594896 \pm 82134	6,4 \pm 12,9
1000	573681 \pm 18540	9,7 \pm 2,9
CONTROL (MEDIO)	635793 \pm 29591	

GRAFICA 27

CELULAS: P815X2

INHIBICION (%)

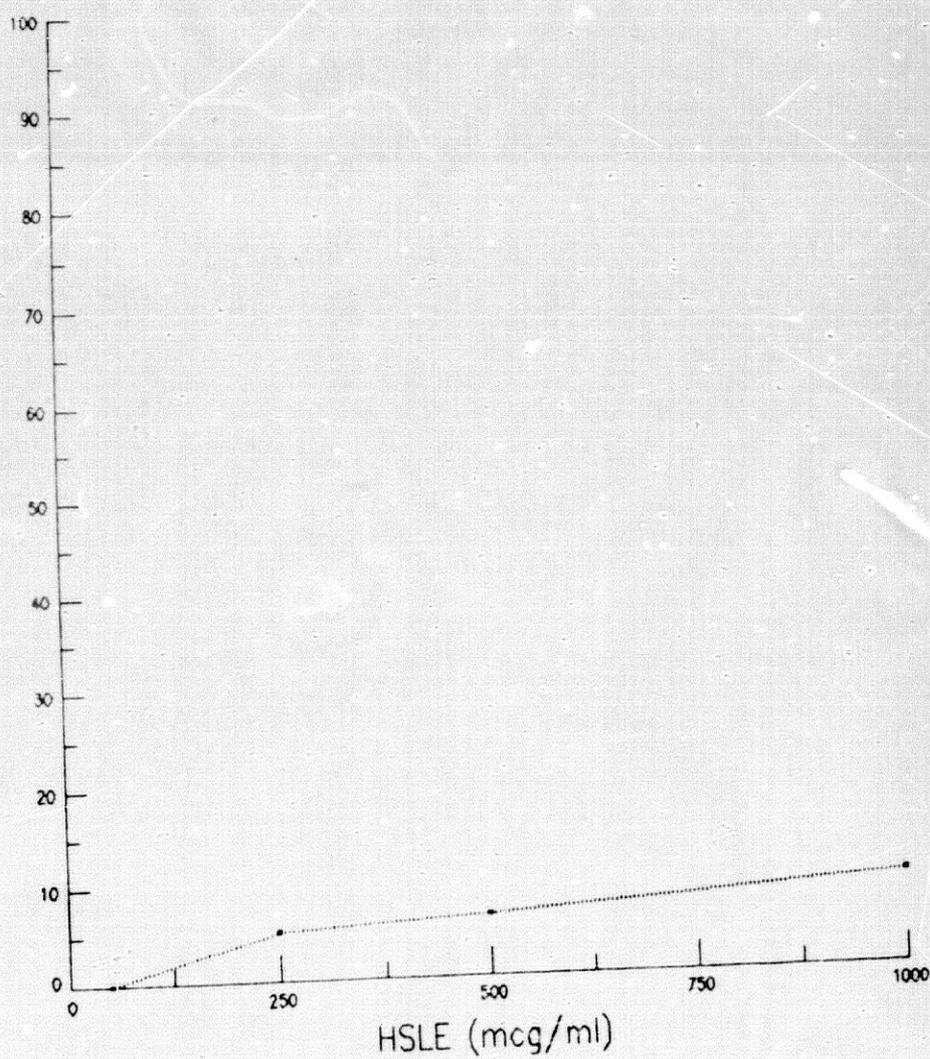


Tabla 28

Dosis I_{50} y C_{50} del efecto inhibitor del extracto lipidico de suero humano (HSLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón y por parte de células del mastocitoma de ratón P815X2.

Gráfica 28

Dosis C_{50} del efecto inhibitor del extracto lipidico de suero humano (HSLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón y por parte de células del mastocitoma de ratón P815X2.

TABLA 28

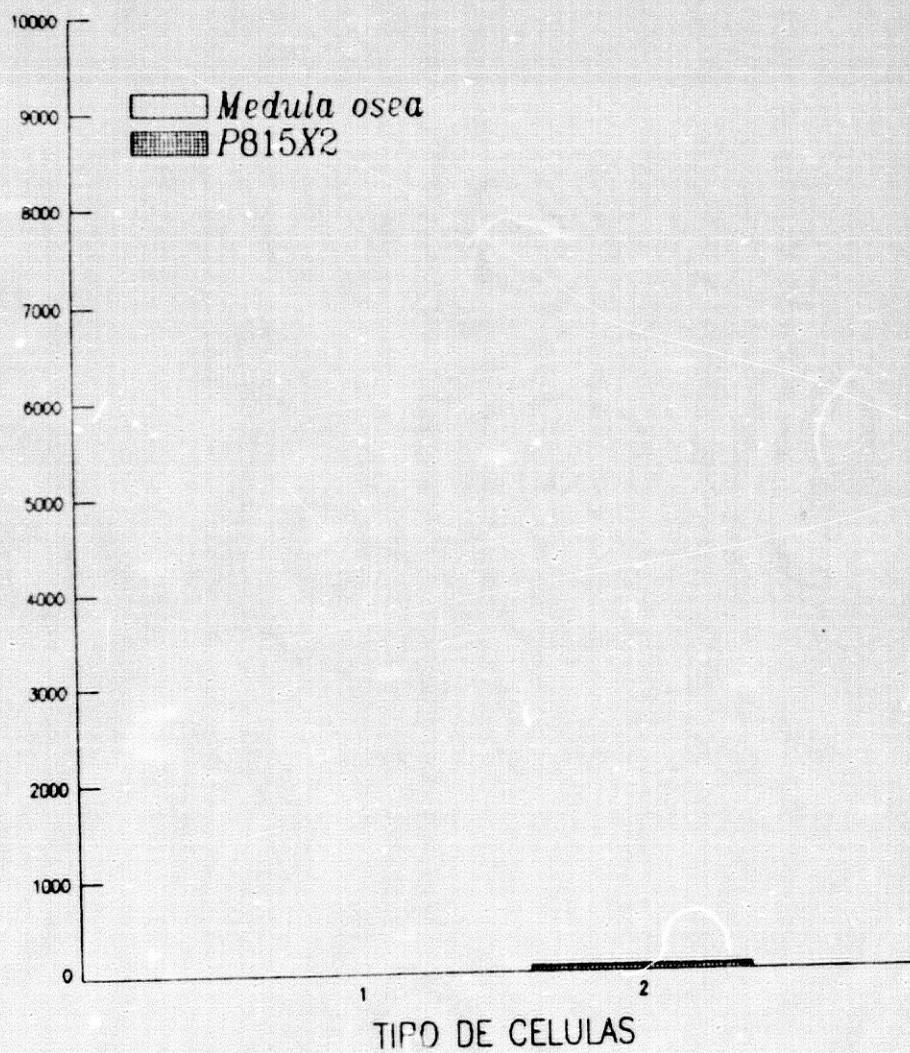
HSLE

TIPO DE CELULAS	I ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$	C ₅₀ ($\text{cel}/\mu\text{g}$) $\bar{Y} \pm \text{SD}$
- MEDULA OSEA	$\infty \pm 0,0$	0 ± 0
- P815X2	$4683,0 \pm 597,6$	54 ± 7

GRAFICA 28

HSLE

C-50 (cel/mcg)



3.2. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE LOS EXTRACTOS LIPIDICOS DE CITOSOL Y MEMBRANAS DE LOS TUMORES EHRLICH Y SL2 (ECLE, EMLE, SL2CLE Y SL2MLE)

Se separaron por cromatografía en capa fina aquellos extractos que mostraron capacidad de inhibir la proliferación celular, es decir, ECLE, EMLE, SL2CLE y SL2MLE.

Al igual que en la caracterización del AFLE, se utilizó un sistema de disolvente polar, cloroformo: metanol:agua (60:38:8).

En los radioanálisis en los que se probó la actividad inhibidora de la proliferación celular por parte de las distintas fracciones de los extractos lipídicos, se utilizó medio de cultivo con una concentración de suero fetal de ternera de un 5%.

En la tabla y gráfica 29 quedan reflejados los resultados obtenidos al revelar la cromatografía de separación de los extractos lipídicos ECLE y EMLE, así como de los distintos estándares utilizados.

Se enumeraron las distintas manchas obtenidas para los extractos y se calculó su valor de R_f 100, comparándolo con el correspondiente a los distintos estándares.

En las tablas y gráficas 30 y 31, se representa el efecto inhibidor de las distintas fracciones del extracto lipídico ECLE (obtenidas mediante la cromatografía separativa en capa fina), sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón (tabla y gráfica 30) y de células tumorales P815X2 (tabla y gráfica 31).

En ambas gráficas, se observa la aparición de un pico claro de inhibición con valor de R_f 100 entre 24,3 y 35,1, y otro pico con actividad inhibidora menor, con un valor de R_f 100 entre 89,2 y 100.

Igualmente, en ambas gráficas se representan las diferentes bandas que aparecen al revelar la cromatografía preparativa conteniendo el extracto lipídico ECLE y los distintos estándares.

En las tablas y gráficas 32 y 33 se representa el efecto inhibidor de las diferentes fracciones del extracto lipídico EMLE sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células de médula

ósea de ratón (tabla y gráfica 32) y sobre las células tumorales P815X2 (tabla y gráfica 33).

Se observa, para las células de médula ósea (tabla y gráfica 32), la aparición de dos picos de actividad inhibidora, con valor de Rf100 entre 45,9 y 62,2 y entre 89,2 y 100, respectivamente, y para las células P815X2 (tabla y gráfica 33), otros dos picos de actividad inhibidora, con valor de Rf100 muy próximo a los anteriores, concretamente, entre 51,4 y 62,2 y entre 89,9 y 100, respectivamente.

Al igual que ocurría con el extracto lipídico ECLE, en ambas gráficas se representan las diferentes bandas que aparecen al revelar la cromatografía preparativa.

En la tabla y gráfica 34 quedan reflejados los resultados obtenidos al revelar la cromatografía de separación de los extractos lipídicos SL2CLE y SL2MLE, así como de los distintos estándares utilizados.

También se enumeraron las distintas manchas obtenidas para los extractos y se calculó su valor de Rf100, comparándolo con el correspondiente a los distintos estándares.

En las tablas y gráficas 35 y 36, se representa el efecto inhibitor de las diferentes fracciones del extracto lipídico SL2CLE sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células de médula ósea de ratón y de células tumorales P815X2.

En la tabla y gráfica 35 (médula ósea de ratón) se observa la aparición de dos picos de actividad inhibidora, con valor de Rf100 entre 45,9 y 62,2 y entre 94,6 y 100, mientras que en la tabla y gráfica 36 (P815X2) aparecen también dos picos de inhibición, con valor de Rf100 entre 56,8 y 62,2 y entre 94,6 y 100, respectivamente.

En ambas gráficas se representan las diferentes bandas obtenidas al revelar la cromatografía preparativa, tanto para el extracto SL2CLE como para los distintos estándares.

Por último, en las tablas y gráficas 37 y 38 se representa el efecto inhibitor de las diferentes fracciones del extracto lipídico SL2MLE sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células de médula ósea de ratón y de las células tumorales P815X2.

En ambas gráficas se observa la aparición de dos picos de actividad inhibidora, con valor de R_f 100 entre 45,4 y 62,2 y entre 89,2 y 100, respectivamente.

Al igual que con los extractos anteriores, se representan las diferentes bandas obtenidas al revelar la cromatografía preparativa.

En estos resultados se puede apreciar que para todos los extractos aparecen dos picos de actividad inhibidora, con valor de R_f 100 parecido.

Asimismo, estos picos de inhibición tienen un valor de R_f 100 muy próximo al de aquéllos obtenidos al separar la actividad inhibidora del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE).

Tabla 29 y Gráfica 29

Valor de R_f 100 de las distintas manchas observadas en la cromatografía en capa fina, para el extracto lipídico de citosol y de membranas de EHRLICH (ECLE y EMLE), y para los estándares utilizados.

TABLA 29

MUESTRAS	Rf100
<i>ECLE:</i>	
1	(91,9-93,0)
2	(94,0-95,1)
<i>EMLE:</i>	
1	(35,7-36,7)
2	(39,5-40,5)
3	(41,6-42,7)
4	(47,6-49,2)
5	(50,8-51,9)
6	(53,0-54,0)
7	(67,0-69,2)
8	(74,0-75,7)
9	(77,3-78,4)
10	(92,0-92,9)
11	(94,0-95,1)
<i>Estándares:</i>	
- ESFINGOMIELINA (E)	(36,2-38,4) (41,1-42,7)
- FOSFATIDIL-COLINA (FC)	(44,1-50,0) (91,4-92,4) (94,6-95,7)
- FOSFATIDIL-ETANOLAMINA (FE)	(72,1-76,6) (92,9-94,0) (94,6-95,7)
- FOSFATIDIL-INOSITOL (FI)	(53,2-55,8)
- GANGLIOSIDOS (GS)	(50,9-52,9)
- PROSTAGLANDINA E ₂ (PG E ₂)	(79,5-81,6)
- PROSTAGLANDINA F _{2α} (PG F _{2α})	(69,2-70,8)
- ACIDOS GRASOS (AG)	(12,4-14,0) (90,3-91,9) (93,0-94,6)

Tabla 30 y Gráfica 30

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipídico de citosol de EHRLICH (ECLE), separadas por cromatografía en capa fina, sobre la incorporación de ³H-Timidina por parte de células de médula ósea de ratón.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipídico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografía.

TABLA 30

ECLE

Células: Médula ósea de ratón

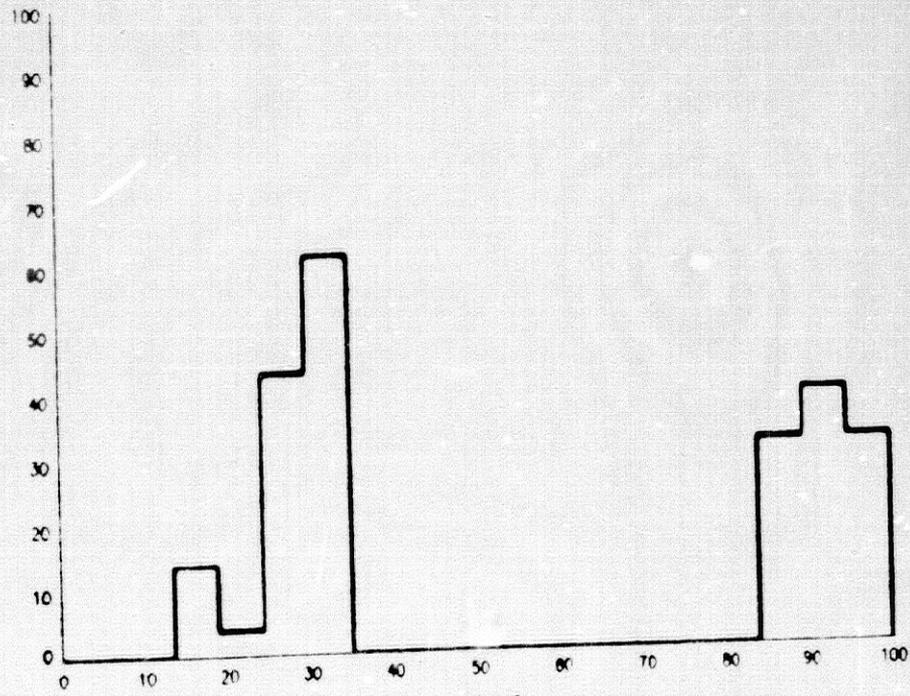
Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{Y} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{Y} \pm SD$
(0,0- 2,7)	36874 ± 3873	0,0 ± 11,5
(2,7- 8,1)	41505 ± 7215	0,0 ± 21,4
(8,1- 13,5)	42778 ± 2365	0,0 ± 7,0
(13,5- 18,9)	28992 ± 2990	14,0 ± 8,9
(18,9- 24,3)	32427 ± 1606	3,8 ± 4,8
(24,3- 29,7)	19049 ± 3048	43,5 ± 9,0
(29,7- 35,1)	12901 ± 1404	61,7 ± 4,2
(35,1- 40,5)	33814 ± 892	0,0 ± 2,6
(40,5- 45,9)	39992 ± 616	0,0 ± 1,8
(45,9- 51,4)	37715 ± 2207	0,0 ± 6,5
(51,4- 56,8)	37257 ± 796	0,0 ± 2,4
(56,8- 62,2)	33745 ± 2258	0,0 ± 6,7
(62,2- 67,6)	35850 ± 1124	0,0 ± 3,3
(67,6- 73,0)	35552 ± 1441	0,0 ± 4,3
(73,0- 78,4)	41718 ± 2508	0,0 ± 7,4
(78,4- 83,8)	40085 ± 3697	0,0 ± 10,9
(83,8- 89,2)	22959 ± 513	31,9 ± 1,5
(89,2- 94,6)	20295 ± 1148	39,8 ± 3,4
(94,6-100,0)	22891 ± 2099	32,1 ± 6,2
CONTROL (MEDIO)	33713 ± 4286	

GRAFICA 30

ECLE (CELULAS: MEDULA OSEA DE RATON)

AG
PGF₂B
PGE₂
OS
FI
FE
FC
E
ECLE

INHIBICION (%)



Rf100

Tabla 31 y Gráfica 31

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipídico de citosol de EHRLICH (ECLE), separadas por cromatografía en capa fina, sobre la incorporación de ^3H -Timidina por parte de células del mastocitoma de ratón P815X2.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipídico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografía.

TABLA 31

ECLE

Células: P815X2

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
(0,0- 2,7)	374628 ± 17094	0,0 ± 4,7
(2,7- 8,1)	449788 ± 189	0,0 ± 0,1
(8,1- 13,5)	461078 ± 15630	0,0 ± 4,3
(13,5- 18,9)	412766 ± 21924	0,0 ± 6,1
(18,9- 24,3)	409154 ± 15982	0,0 ± 4,4
(24,3- 29,7)	235444 ± 3343	34,7 ± 0,9
(29,7- 35,1)	25016 ± 2923	93,0 ± 0,8
(35,1- 40,5)	380416 ± 27695	0,0 ± 7,7
(40,5- 45,9)	442002 ± 20935	0,0 ± 5,8
(45,9- 51,4)	450394 ± 8680	0,0 ± 2,4
(51,4- 56,8)	374761 ± 43691	0,0 ± 12,1
(56,8- 62,2)	362419 ± 23836	0,0 ± 6,6
(62,2- 67,6)	366993 ± 37398	0,0 ± 10,4
(67,6- 73,0)	440186 ± 44650	0,0 ± 12,4
(73,0- 78,4)	385912 ± 15435	0,0 ± 4,3
(78,4- 83,8)	412975 ± 5158	0,0 ± 1,4
(83,8- 89,2)	379254 ± 12977	0,0 ± 3,4
(89,2- 94,6)	218303 ± 4652	39,5 ± 1,3
(94,6-100,0)	153354 ± 6845	57,5 ± 1,9
CONTROL (MEDIO)	360832 ± 29657	

GRAFICA 31
ECLE (CELULAS: P815X2)

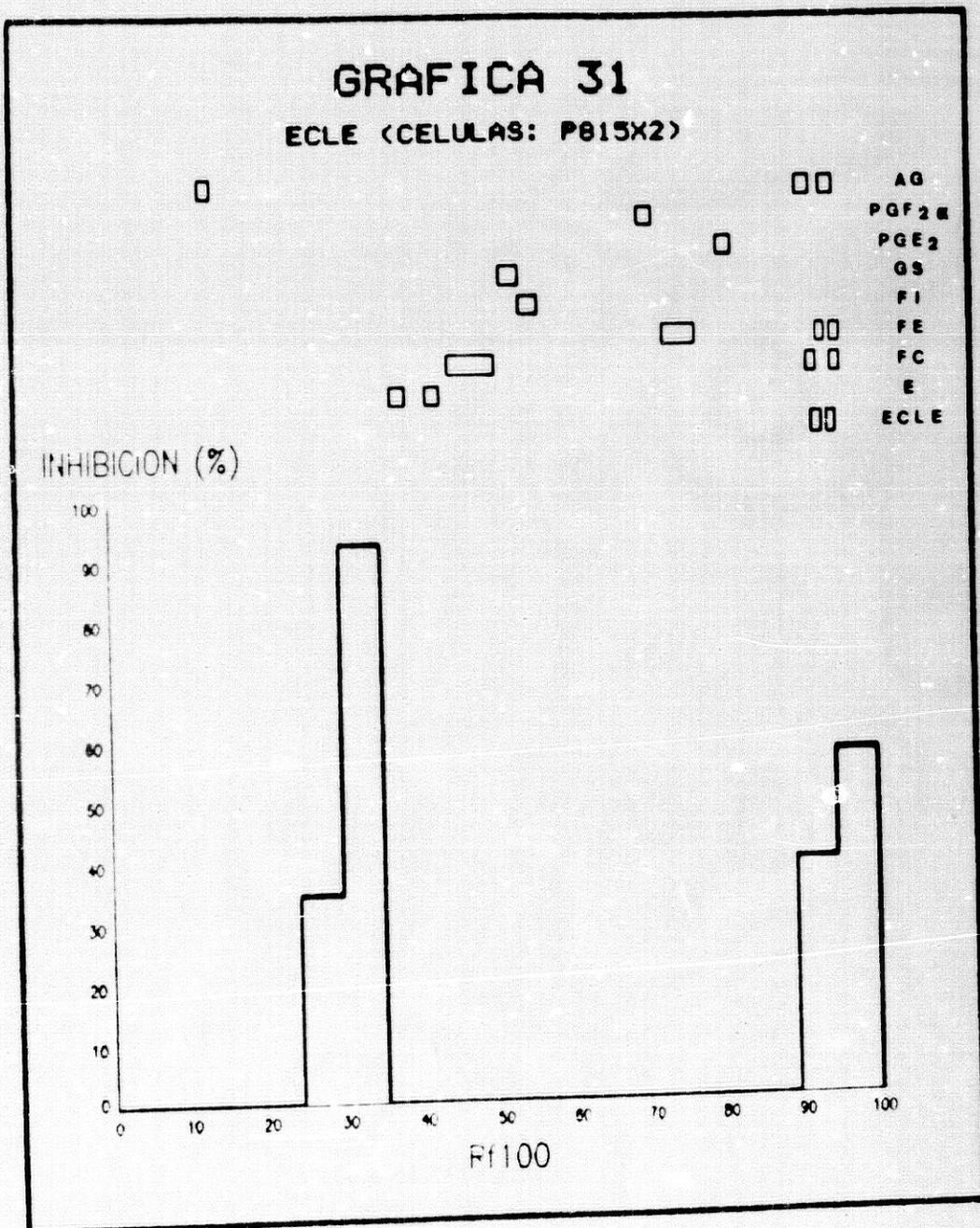


Tabla 32 y Gráfica 32

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipídico de membranas de EHRLICH (EMLE), separadas por cromatografía en capa fina, sobre la incorporación de ^3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipídico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografía.

TABLA 32

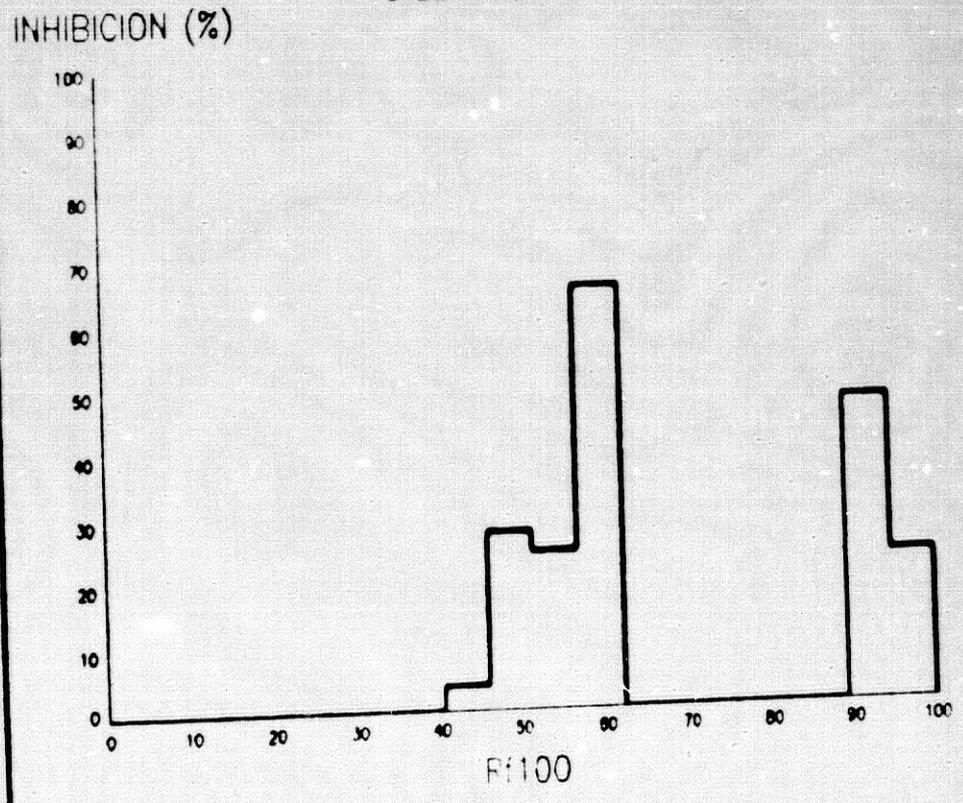
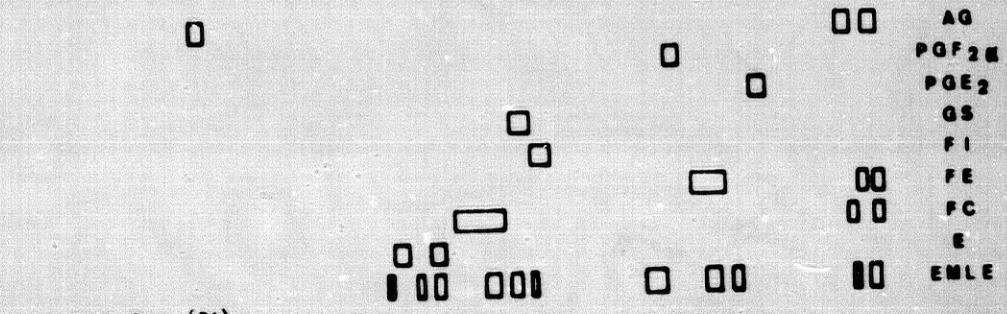
EMLE

Células: Médula ósea de ratón

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
(0,0- 2,7)	37369 ± 1574	0,0 ± 5,6
(2,7- 8,1)	28704 ± 1853	0,0 ± 6,6
(8,1- 13,5)	36108 ± 2382	0,0 ± 8,4
(13,5- 18,9)	36303 ± 1175	0,0 ± 4,2
(18,9- 24,3)	29887 ± 1149	0,0 ± 4,1
(24,3- 29,7)	29803 ± 2037	0,0 ± 7,2
(29,7- 35,1)	28693 ± 3438	0,0 ± 12,2
(35,1- 40,5)	29150 ± 854	0,0 ± 3,0
(40,5- 45,9)	27129 ± 3243	3,8 ± 11,5
(45,9- 51,4)	20357 ± 406	27,8 ± 1,4
(51,4- 56,8)	21274 ± 125	24,5 ± 0,4
(56,8- 62,2)	9661 ± 963	65,7 ± 3,4
(62,2- 67,6)	28914 ± 223	0,0 ± 0,8
(67,6- 73,0)	34480 ± 918	0,0 ± 3,3
(73,0- 78,4)	33774 ± 5590	0,0 ± 19,8
(78,4- 83,8)	28878 ± 4786	0,0 ± 17,0
(83,8- 89,2)	28960 ± 1956	0,0 ± 6,9
(89,2- 94,6)	14766 ± 595	47,6 ± 2,1
(94,6-100,0)	21661 ± 135	23,2 ± 0,5
CONTROL (MEDIO)	28194 ± 223	

GRAFICA 32

EMLE (CELULAS: MEDULA OSEA DE RATON)



Rf100

Tabla 33 y Gráfica 33

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipidico de membranas de EHRLICH (EMLE), separadas por cromatografia en capa fina, sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células del mastocitoma de ratón P815X2.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipidico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografia.

TABLA 33

EMLE

Células: P815X2

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
(0,0- 2,7)	512017 ± 12500	0,0 ± 2,9
(2,7- 8,1)	514259 ± 11539	0,0 ± 2,6
(8,1- 13,5)	528575 ± 11488	0,0 ± 2,6
(13,5- 18,9)	527530 ± 6449	0,0 ± 1,5
(18,9- 24,3)	553750 ± 10464	0,0 ± 2,4
(24,3- 29,7)	482095 ± 5624	0,0 ± 1,3
(29,7- 35,1)	559940 ± 30763	0,0 ± 7,0
(35,1- 40,5)	526305 ± 18130	0,0 ± 4,2
(40,5- 45,9)	478025 ± 23727	0,0 ± 5,4
(45,9- 51,4)	442050 ± 11237	0,0 ± 2,6
(51,4- 56,8)	298530 ± 20225	31,6 ± 4,6
(56,8- 62,2)	108950 ± 11473	75,0 ± 2,6
(62,2- 67,6)	487341 ± 4504	0,0 ± 1,0
(67,6- 73,0)	449620 ± 2386	0,0 ± 0,5
(73,0- 78,4)	502660 ± 8846	0,0 ± 2,0
(78,4- 83,8)	557865 ± 18439	0,0 ± 4,2
(83,8- 89,2)	575585 ± 16079	0,0 ± 3,7
(89,2- 94,6)	136295 ± 11143	68,8 ± 2,6
(94,6-100,0)	121470 ± 14512	72,2 ± 3,3
CONTROL (MEDIO)	436705 ± 51518	

GRAFICA 33

DLE (CELULAS: P015X2)

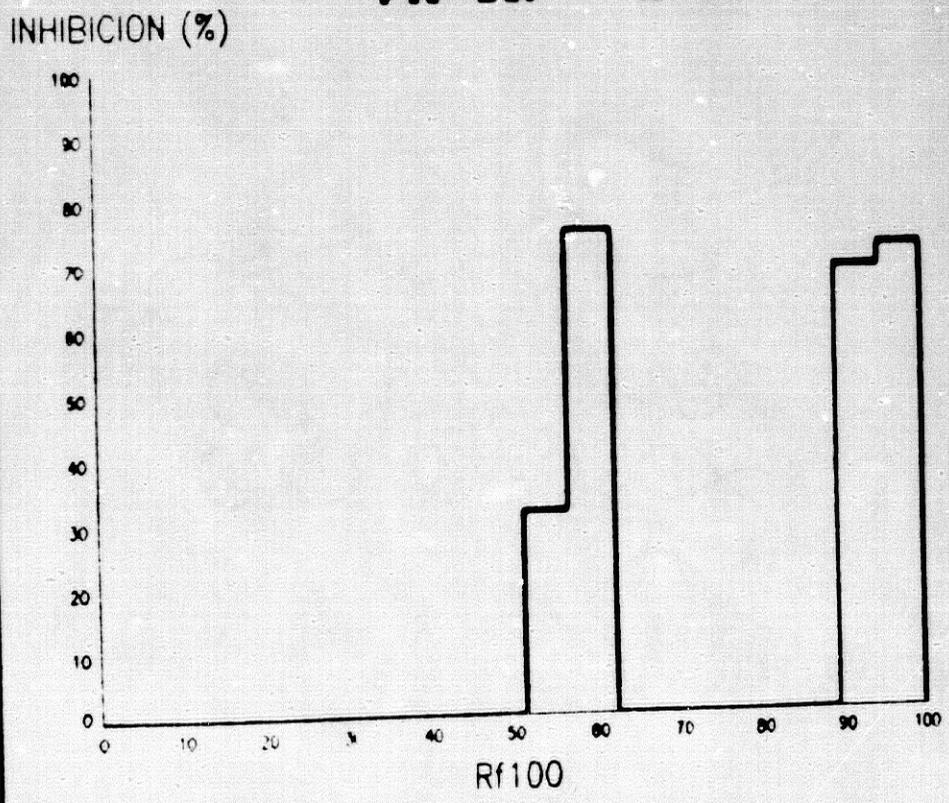
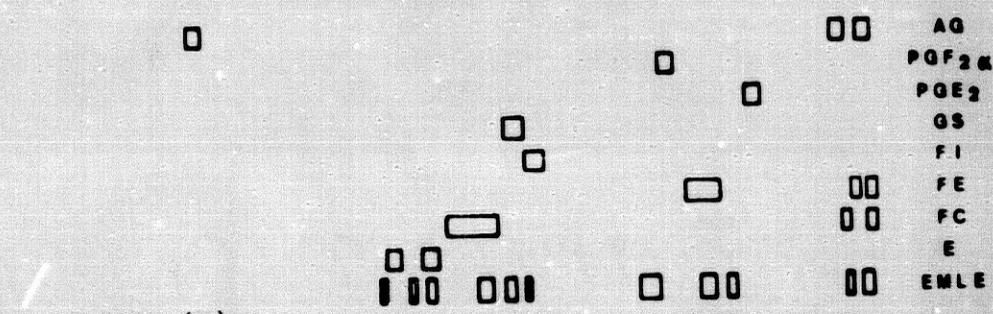


Tabla 34 y Gráfica 34

Valor de R_{f100} de las distintas manchas observadas en la cromatografía en capa fina, para el extracto lipídico de citosol y de membranas de SL2 (SL2CLE y SL2MLE), y para los estándares utilizados.

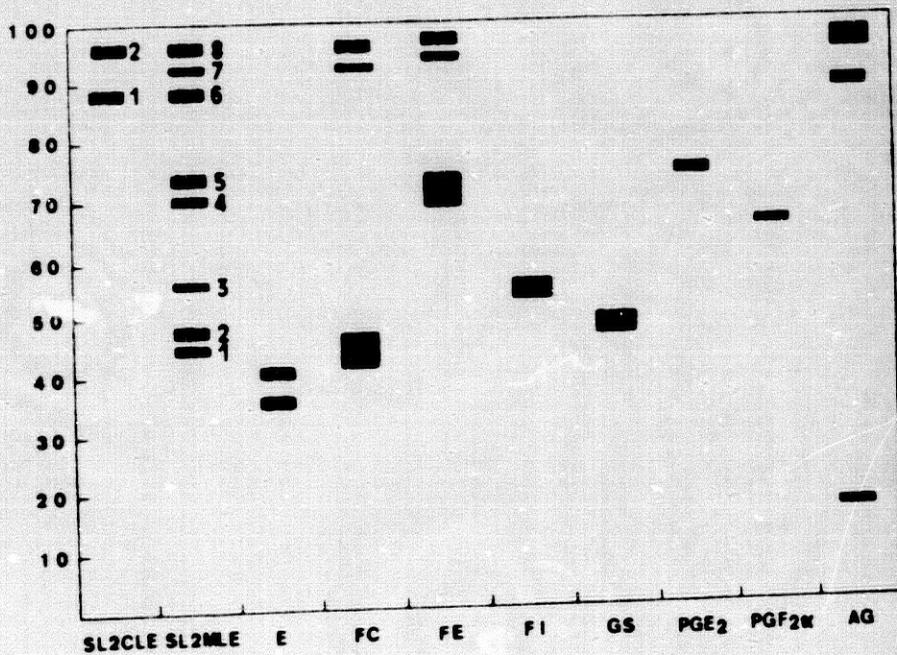
TABLA 34

MUESTRAS	Rf100
<i>SL2CLE:</i>	
1	(88,1-89,7)
2	(93,5-95,1)
<i>SL2MLE:</i>	
1	(45,4-46,5)
2	(47,6-49,2)
3	(55,7-56,7)
4	(70,3-71,4)
5	(72,4-74,0)
6	(88,1-89,7)
7	(91,3-92,4)
8	(93,5-94,6)
<i>Estándares:</i>	
- ESFINGOMIELINA (E)	(35,7-37,3) (38,9-40,5)
- FOSFATIDIL-COLINA (FC)	(41,9-46,8) (90,8-91,9) (92,9-94,6)
- FOSFATIDIL-ETANOLAMINA (FE)	(68,9-74,0) (91,9-92,9) (93,5-95,1)
- FOSFATIDIL-INOSITOL (FI)	(53,6-56,3)
- GANGLIOSIDOS (Gs)	(50,5-52,7)
- PROSTAGLANDINA E ₂ (PG E ₂)	(75,1-76,7)
- PROSTAGLANDINA F _{2α} (PG F _{2α})	(66,5-67,6)
- ACIDOS GRASOS (AG)	(14,0-15,1) (89,2-90,9) (92,9-95,9)

GRAFICA 34

CROMATOGRAFIA (SL2CLE y SL2MLE)

Rf 100



MUESTRAS

Tabla 35 y Gráfica 35

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipídico de citosol de SL2 (SL2CLE), separadas por cromatografía en capa fina, sobre la incorporación de ^3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipídico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografía.

TABLA 35

SL2CLE

Células: Médula ósea de ratón

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
(0,0- 2,7)	42964 ± 1747	0,0 ± 4,8
(2,7- 8,1)	44185 ± 352	0,0 ± 1,0
(8,1- 13,5)	42540 ± 841	0,0 ± 2,3
(13,5- 18,9)	43011 ± 3669	0,0 ± 10,1
(18,9- 24,3)	44283 ± 1544	0,0 ± 4,3
(24,3- 29,7)	43280 ± 1138	0,0 ± 3,1
(29,7- 35,1)	45901 ± 2853	0,0 ± 7,9
(35,1- 40,5)	42485 ± 373	0,0 ± 1,0
(40,5- 45,9)	39683 ± 1751	0,0 ± 4,8
(45,9- 51,4)	30220 ± 1877	16,5 ± 5,2
(51,4- 56,8)	30351 ± 1375	16,2 ± 3,8
(56,8- 62,2)	11537 ± 1227	68,1 ± 3,4
(62,2- 67,6)	37007 ± 2305	0,0 ± 6,4
(67,6- 73,0)	36517 ± 1318	0,0 ± 3,6
(73,0- 78,4)	41455 ± 399	0,0 ± 1,1
(78,4- 83,8)	38785 ± 2356	0,0 ± 6,5
(83,8- 89,2)	39921 ± 4331	0,0 ± 11,9
(89,2- 94,6)	41626 ± 4015	0,0 ± 11,1
(94,6-100,0)	12071 ± 966	66,6 ± 2,7
CONTROL (MEDIO)	36214 ± 1649	

GRAFICA 35

SL2CLE (CELULAS: MEDULA OSEA DE RATON)

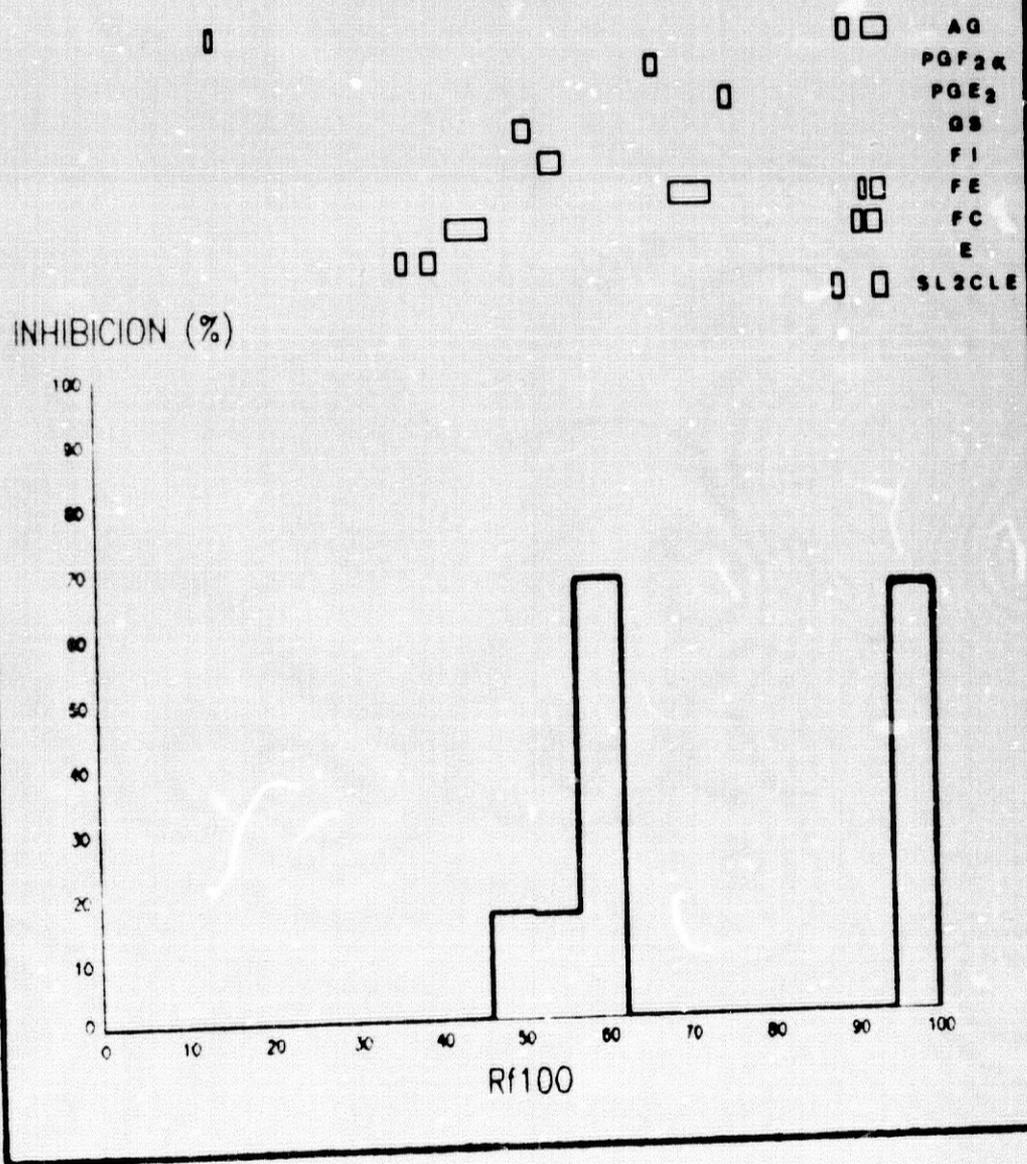


Tabla 36 y Gráfica 36

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipídico de citosol de SL2 (SL2CLE), separadas por cromatografía en capa fina, sobre la incorporación de ^3H -Timidina por parte de células del mastocitoma de ratón P815X2.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipídico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografía.

TABLA 36

SL2CLE
Células: P815X2

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
(0,0- 2,7)	664969 ± 23383	0,0 ± 4,2
(2,7- 8,1)	624469 ± 15075	0,0 ± 2,7
(8,1- 13,5)	568962 ± 52393	0,0 ± 9,5
(13,5- 18,9)	581604 ± 14525	0,0 ± 2,6
(18,9- 24,3)	571867 ± 51766	0,0 ± 9,3
(24,3- 29,7)	611217 ± 65634	0,0 ± 11,8
(29,7- 35,1)	559086 ± 57867	0,0 ± 10,5
(35,1- 40,5)	600288 ± 15019	0,0 ± 2,7
(40,5- 45,9)	651532 ± 14650	0,0 ± 2,6
(45,9- 51,4)	556069 ± 13930	0,0 ± 2,5
(51,4- 56,8)	586035 ± 32583	0,0 ± 5,9
(56,8- 62,2)	287697 ± 7847	48,0 ± 1,4
(62,2- 67,6)	623783 ± 54773	0,0 ± 9,9
(67,6- 73,0)	553987 ± 39753	0,0 ± 7,2
(73,0- 78,4)	590644 ± 46788	0,0 ± 8,5
(78,4- 83,8)	579160 ± 8497	0,0 ± 1,5
(83,8- 89,2)	575901 ± 82064	0,0 ± 14,8
(89,2- 94,6)	572957 ± 16309	0,0 ± 2,9
(94,6-100,0)	275716 ± 3017	50,2 ± 0,5
CONTROL (MEDIO)	553680 ± 13712	

GRAFICA 36

SL2CLE (CELULAS: P815X2)

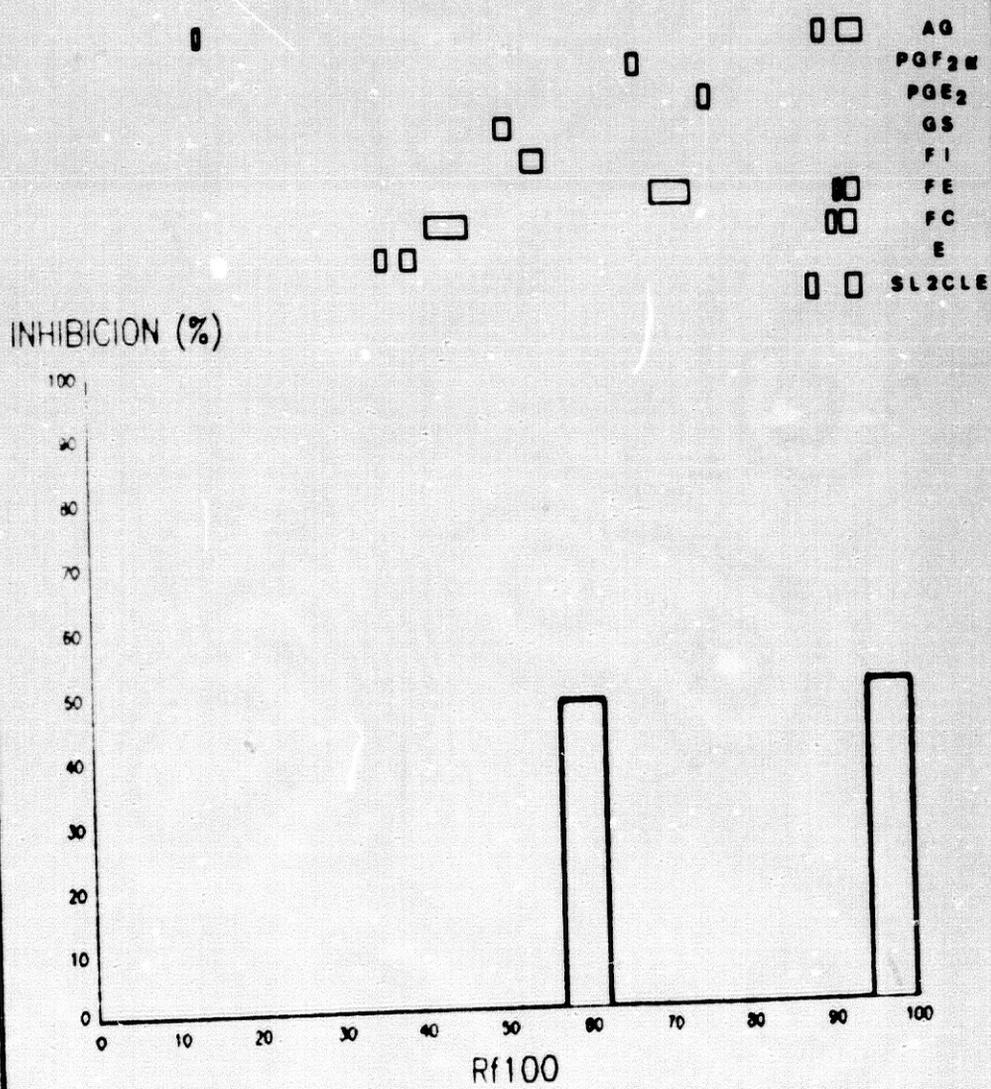


Tabla 37 y Gráfica 37

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f) del extracto lipídico de membranas de SL2 (SL2MLE), separadas por cromatografía en capa fina, sobre la incorporación de ^3H -Timidina por parte de células de médula ósea de ratón.

Se representan también las bandas obtenidas para el extracto lipídico y para los estándares utilizados, al revelar la cromatografía.

TABLA 37

SL2MLE

Células: Médula ósea de ratón

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{Y} \pm SD$
(0,0- 2,7)	37716 ± 185	0,0 ± 0,5
(2,7- 8,1)	37463 ± 4	0,0 ± 0,0
(8,1- 13,5)	37607 ± 1304	0,0 ± 3,5
(13,5- 18,9)	38381 ± 6157	0,0 ± 16,6
(18,9- 24,3)	44960 ± 637	0,0 ± 1,7
(24,3- 29,7)	42255 ± 1499	0,0 ± 4,1
(29,7- 35,1)	48558 ± 112	0,0 ± 0,3
(35,1- 40,5)	41600 ± 936	0,0 ± 2,5
(40,5- 45,9)	35572 ± 4316	3,8 ± 11,7
(45,9- 51,4)	13461 ± 1442	63,4 ± 3,9
(51,4- 56,8)	28003 ± 1284	24,2 ± 3,5
(56,8- 62,2)	24515 ± 3032	33,7 ± 8,2
(62,2- 67,6)	42745 ± 612	0,0 ± 1,7
(67,6- 73,0)	36991 ± 550	0,0 ± 1,5
(73,0- 78,4)	45636 ± 5946	0,0 ± 16,1
(78,4- 83,8)	37347 ± 1020	0,0 ± 2,8
(83,8- 89,2)	26367 ± 5496	28,7 ± 14,8
(89,2- 94,6)	21522 ± 3697	41,8 ± 10,0
(94,6-100,0)	16641 ± 1020	55,0 ± 2,8
CONTROL (MEDIO)	36980 ± 1987	

GRAFICA 37

SL2MLE (CELULAS: MEDULA OSEA DE RATON)

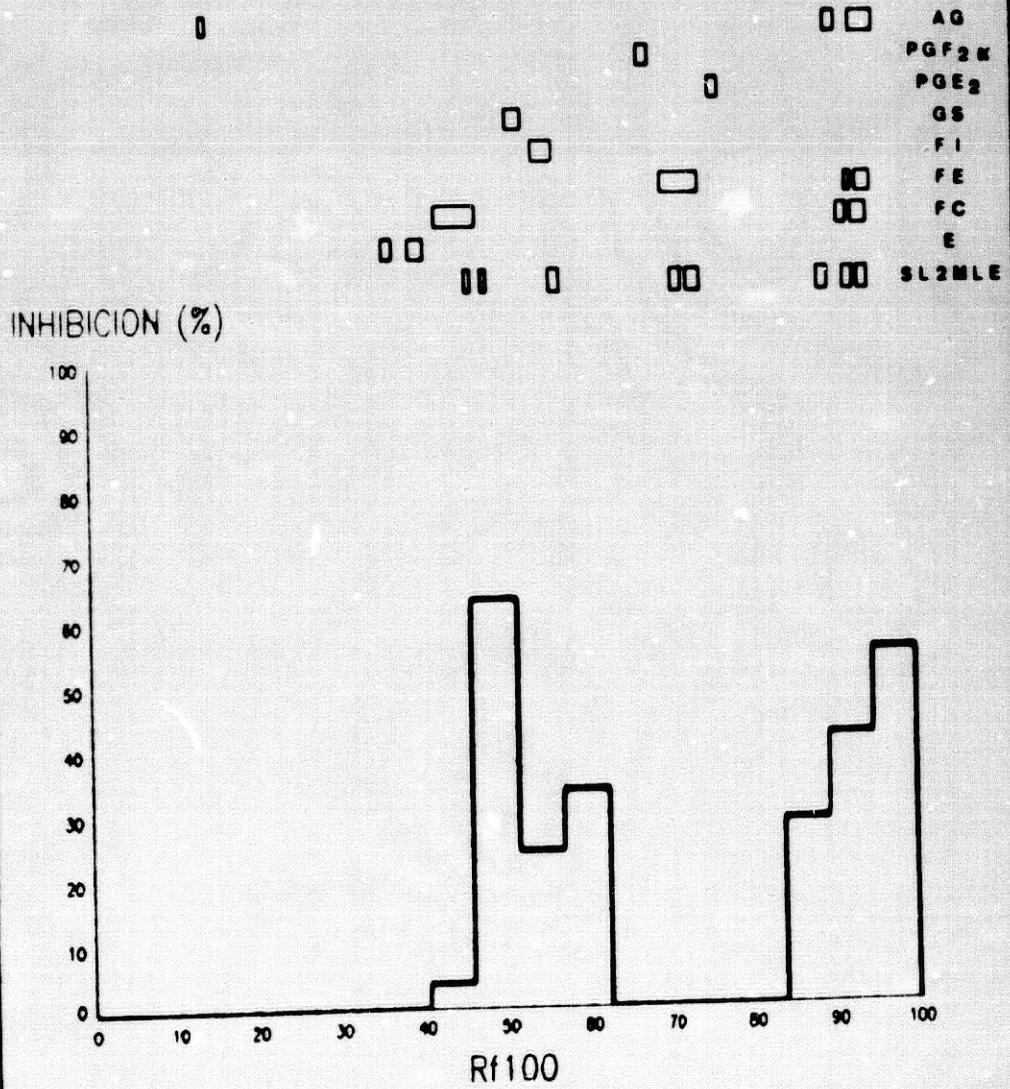


Tabla 38 y Gráfica 38

Efecto inhibitor de las distintas fracciones (con distinto valor de R_f 100) del extracto lipidico de membranas de SL2 (SL2MLE), separadas por cromatografia en capa fina, sobre la incorporacion de 3H -Timidina por parte de celulas del mastocitoma de raton P815X2.

Se representan tambien las bandas obtenidas para el extracto lipidico y para los estandares utilizados, al revelar la cromatografia.

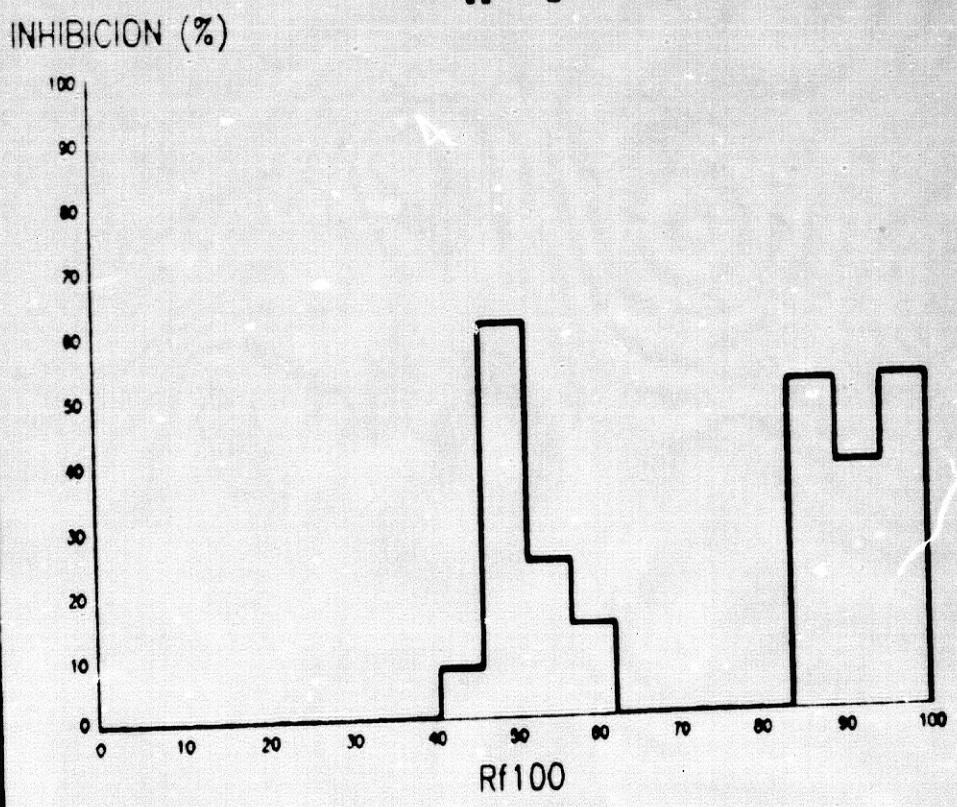
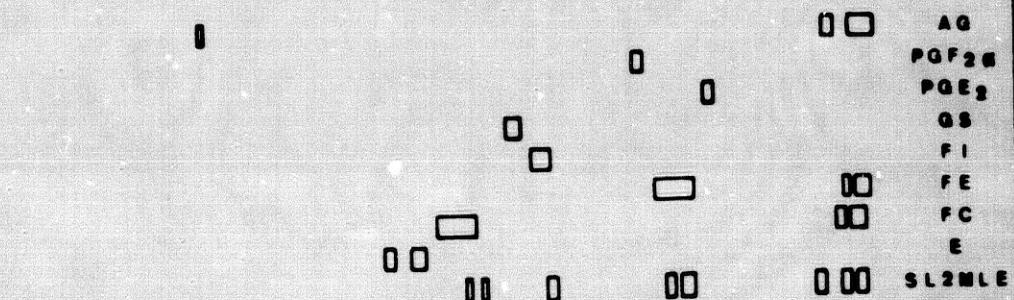
TABLA 38

SL2MLE
Células: P815X2

Rf100	CAPTACION DE ³ H-TIRIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
(0,0- 2,7)	541859 ± 48290	0,0 ± 9,4
(2,7- 8,1)	589383 ± 42260	0,0 ± 8,3
(8,1- 13,5)	536710 ± 51705	0,0 ± 10,1
(13,5- 18,9)	560546 ± 28139	0,0 ± 5,5
(18,9- 24,3)	603131 ± 38918	0,0 ± 7,6
(24,3- 29,7)	602549 ± 23740	0,0 ± 4,6
(29,7- 35,1)	553769 ± 44782	0,0 ± 8,7
(35,1- 40,5)	524655 ± 41021	0,0 ± 8,0
(40,5- 45,9)	471695 ± 17664	7,8 ± 3,5
(45,9- 51,4)	199201 ± 4259	61,0 ± 0,8
(51,4- 56,8)	388023 ± 41240	24,2 ± 8,1
(56,8- 62,2)	438531 ± 36051	14,3 ± 7,0
(62,2- 67,6)	599143 ± 65756	0,0 ± 12,8
(67,6- 73,0)	511947 ± 7635	0,0 ± 1,5
(73,0- 78,4)	541272 ± 28104	0,0 ± 5,5
(78,4- 83,8)	590057 ± 19776	0,0 ± 3,9
(83,8- 89,2)	250306 ± 47741	51,1 ± 9,3
(89,2- 94,6)	315826 ± 25417	38,3 ± 5,0
(94,6-100,0)	246723 ± 16494	51,8 ± 3,2
CONTROL (MEDIO)	511874 ± 58722	

GRAFICA 38

SL2MLE (CELULAS: P815X2)



4. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION CELULAR EN LA ACCION INHIBIDORA DE DISTINTOS EXTRACTOS LIPIDICOS

Para la obtención de estos resultados se utilizó el extracto lipídico obtenido a partir de las segundas 50 muestras de líquido amniótico, es decir, el AFLE II.

Por otra parte, en todos los radioanálisis realizados con los distintos extractos, se utilizó medio de cultivo con una concentración de suero fetal de ternera de un 1%.

En estas experiencias se expresó la concentración celular en términos de células / μg de extracto lipídico, ya que la concentración de este último permanecía constante.

Los distintos extractos utilizados fueron: AFLE (extracto lipídico de líquido amniótico), HSLE (extracto lipídico de suero humano), EMLE (extracto lipídico de membranas del tumor EHRlich) y SL2MLE (extracto lipídico de membranas del tumor SL2).

En las tablas y gráficas 39 a 42, podemos observar el efecto inhibidor de una cantidad fija de cada extracto sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células tumorales P815X2, para distintas concentraciones de las mismas.

Se puede comprobar, que para todos los extractos, conforme aumenta la concentración celular, la acción inhibidora de los mismos disminuye. Esto se debe, probablemente, a que si aumenta la concentración celular, manteniendo fija la concentración de extracto lipídico, aumenta la proporción de células correspondiente a cada μg de extracto presente en el cultivo.

Por otra parte, hay que señalar que el HSLE que, para una concentración de células P815X2 de 250000 cel/ml y para una concentración de suero fetal de ternera en el medio de cultivo de un 5%, tenía una acción inhibidora de la proliferación de dichas células prácticamente nula (tabla y gráfica 27), en las condiciones de estos experimentos (tabla y gráfica 42) de una concentración de suero fetal de un 1%, presenta una inhibición cercana a un 40% para una concentración de 250 cel/ μg (equivalente a la concentración de

250000 cel/ml, utilizada en la experiencia de la tabla y gráfica 27), y dicha inhibición aumenta si disminuye la concentración celular.

Por tanto, es posible que existan también lípidos inhibidores en el suero humano, pero que su acción inhibidora se vea contrarrestada por los factores del suero fetal de ternera que estimulan la proliferación celular.

Igualmente, y al igual que ocurre para los otros extractos, su acción inhibidora depende de la proporción células / μ g de extracto lipídico, siendo mayor cuanto menor sea esta proporción.

Tabla 39 y Gráfica 39

Efecto inhibidor de una cantidad fija de extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células del mastocitoma de ratón P815X2, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

TABLA 39

Células: P815X2
 AFLE: 1000 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
50	AFLE	5562 ± 1569	94,9 ± 1,4
	MEDIO	109658 ± 6356	
250	AFLE	68153 ± 5307	89,0 ± 0,8
	MEDIO	619183 ± 10228	
500	AFLE	133797 ± 18330	83,9 ± 2,2
	MEDIO	834720 ± 14719	
1000	AFLE	354703 ± 17079	60,0 ± 1,9
	MEDIO	885704 ± 30638	

GRAFICA 39

CELULAS: P815X2 (AFLE: 1000 mcg/ml)

INHIBICION (%)

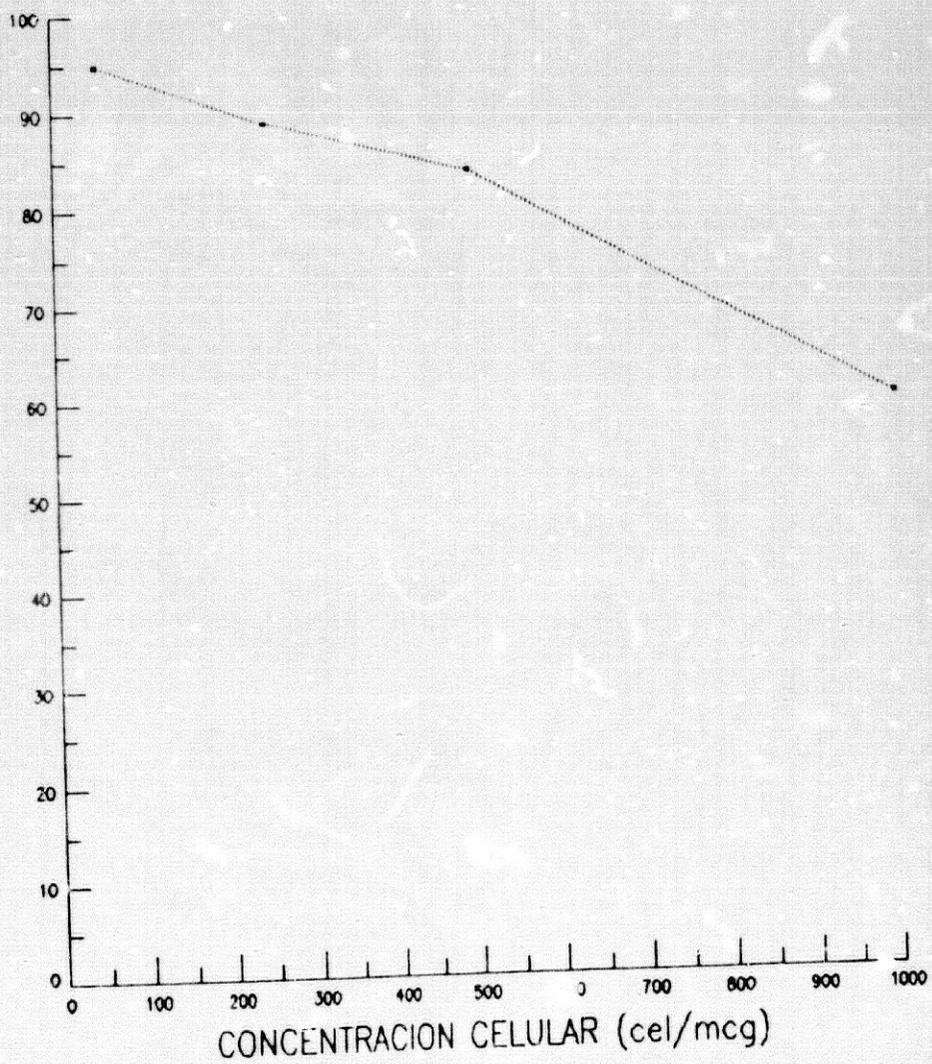


Tabla 40 y Gráfica 40

Efecto inhibitor de una cantidad fija de extracto lipídico de membranas de EHRLICH (EMLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células del mastocitoma de ratón P815X2, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

TABLA 40

Células: P815X2

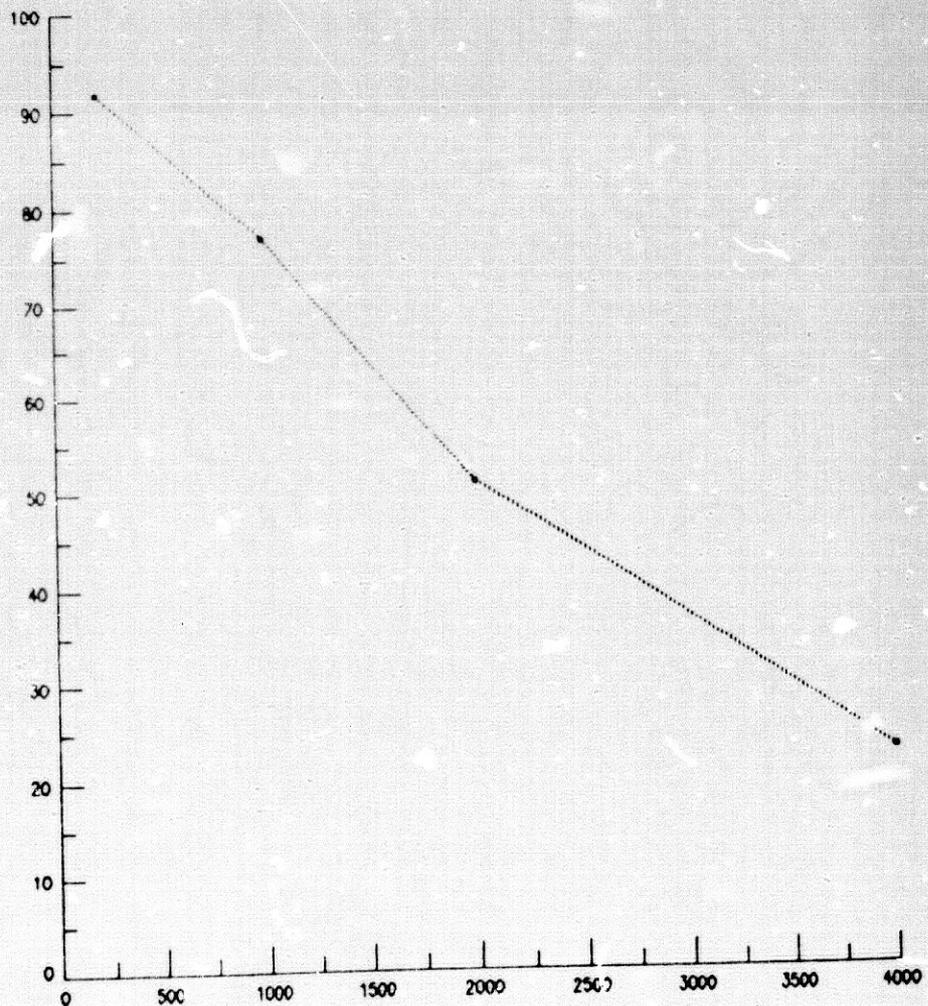
EMLE: 250 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPK) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
200	EMLE	8996 ± 587	91,8 ± 0,5
	MEDIO	109658 ± 6356	
1000	EMLE	141679 ± 12984	77,1 ± 2,1
	MEDIO	619183 ± 10228	
2000	EMLE	408108 ± 3155	51,1 ± 0,4
	MEDIO	834720 ± 14719	
4000	EMLE	683718 ± 4238	22,8 ± 0,5
	MEDIO	885704 ± 30638	

GRAFICA 40

CELULAS: P815X2 (EMLE: 250 mcg/ml)

INHIBICION (%)



CONCENTRACION CELULAR (cel/mcg)

Tabla 41 y Gráfica 41

Efecto inhibitor de una cantidad fija de extracto lipídico de membranas de SL2 (SL2MLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células del mastocitoma de ratón P815X2, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

TABLA 41

Células: P815X2
 SL2MLE: 250 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (ce) / µg	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
200	SL2MLE	7468 ± 274	93,2 ± 0,2
	MEDIO	109658 ± 6356	
1000	SL2MLE	103309 ± 2239	63,3 ± 0,4
	MEDIO	619183 ± 10228	
2000	SL2MLE	262019 ± 64664	68,6 ± 7,7
	MEDIO	834720 ± 14719	
4000	SL2MLE	553245 ± 56459	37,5 ± 6,4
	MEDIO	885704 ± 30638	

GRAFICA 41

CELULAS: P815X2 (SL.2MLE: 250 mcg/ml)

INHIBICION (%)

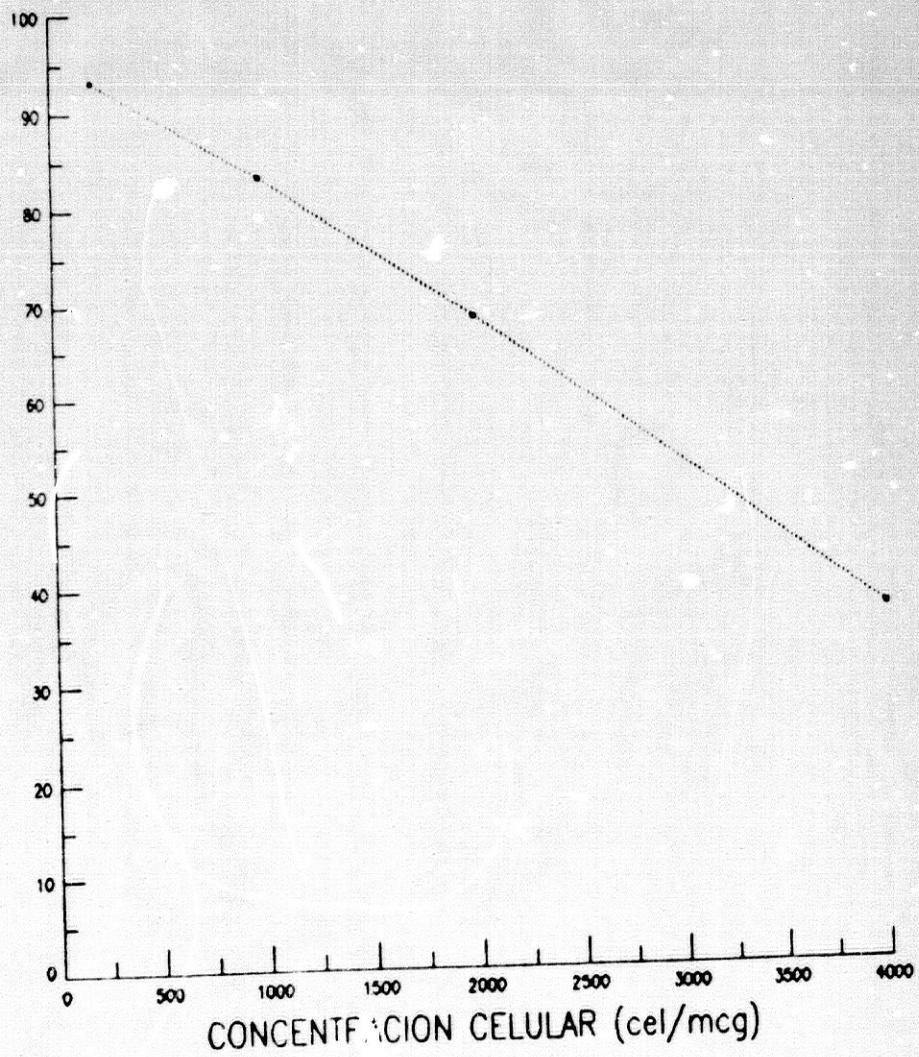


Tabla 42 y Gráfica 42

Efecto inhibidor de una cantidad fija de extracto lipídico de suero humano (HSLE) sobre la captación de ^3H -Timídina por parte de las células del mastocitoma de ratón P815X2, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

TABLA 42

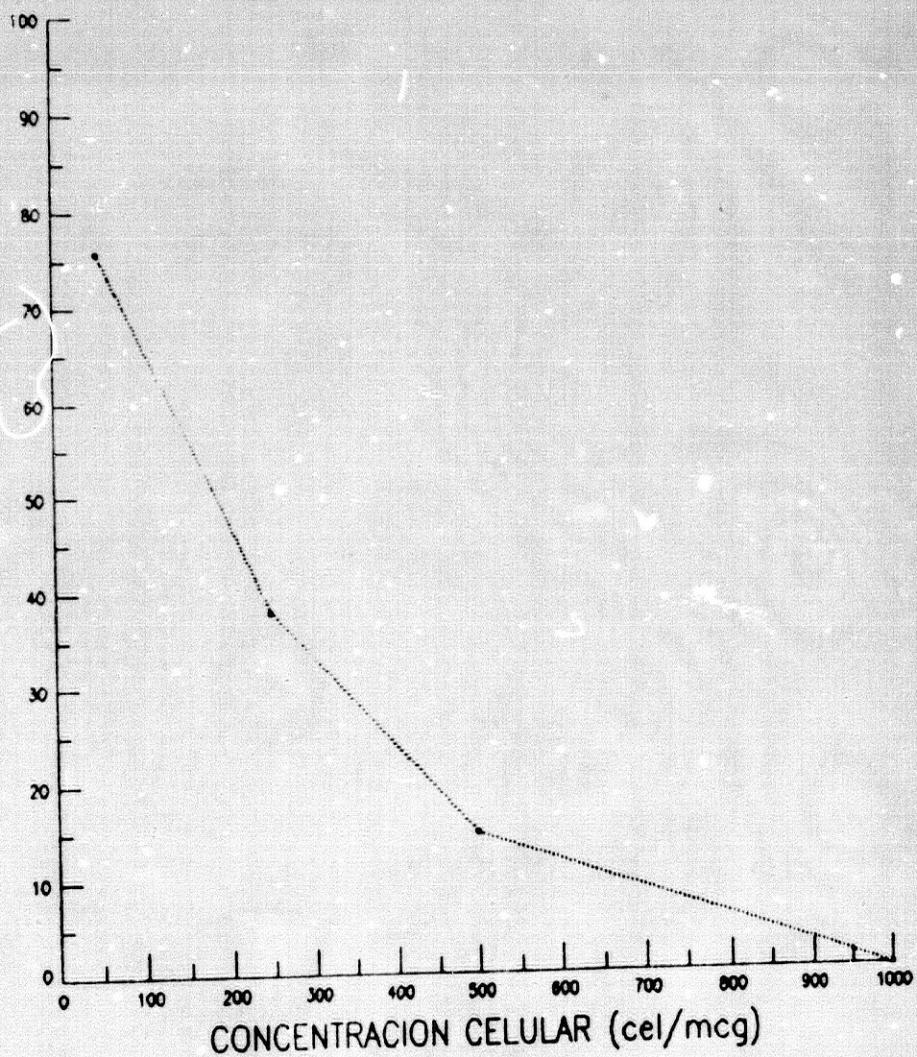
Células: P815X2
 HSLE: 1000 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
50	HSLE	26557 ± 9583	75,8 ± 8,7
	MEDIO	109658 ± 6356	
250	HSLE	384146 ± 106413	37,9 ± 17,2
	MEDIO	619183 ± 10228	
500	HSLE	710450 ± 77529	14,8 ± 9,3
	MEDIO	834720 ± 14719	
1000	HSLE	900795 ± 123927	0,0 ± 13,9
	MEDIO	885704 ± 30638	

GRAFICA 42

CELULAS: P815X2 (HSLE: 1000 mcg/ml)

INHIBICION (%)



5. ESTUDIO DE LA PROLIFERACION DE LA LINEA CELULAR DE FIBROBLASTOS DE RATON NIH 3T3

5.1. DIFERENCIAS DE PROLIFERACION ENTRE LAS CELULAS NIH 3T3 INICIADAS (NIH 3T3 I) Y LAS CELULAS NIH 3T3 TRANSFORMADAS (NIH 3T3 T)

La proliferación celular se determinó a través de la incorporación de ^3H -Timidina, y se expresó en términos de proliferación absoluta (DPM totales) y proliferación relativa (DPM / 1000 células).

Para estos experimentos se utilizó medio de cultivo con una concentración de suero fetal de ternera del 5%.

En las tablas y gráficas 43 a 45, podemos observar la proliferación absoluta para distintas concentraciones de las células NIH 3T3 iniciadas y transformadas, cultivadas durante un periodo de 24, 48 y 72 horas, respectivamente.

A las 24 horas de cultivo, tanto para las células NIH 3T3 I, como para las NIH 3T3 T, las cifras de proliferación absoluta se incrementan conforme es mayor la concentración inicial de células (tabla y gráfica 43). Asimismo, las cifras de proliferación absoluta, para una misma concentración inicial, son superiores para las células NIH 3T3 T con respecto a las células NIH 3T3 I.

A las 48 horas de cultivo, para las células NIH 3T3 T las cifras de proliferación absoluta siguen incrementándose conforme es mayor la concentración inicial de células, pero para las células NIH 3T3 I, se alcanza un pico para una concentración inicial de 100000 cel/ml, y a partir de ahí, aunque sea superior la concentración inicial de células, las cifras de proliferación absoluta son inferiores a las anteriores (tabla y gráfica 44).

Al igual que ocurría a las 24 horas de cultivo, aquí también las cifras de proliferación absoluta son superiores para las células NIH 3T3 T respecto a las células NIH 3T3 I.

A las 72 horas de cultivo (tabla y gráfica 45), las cifras de proliferación absoluta de las células NIH 3T3 I también alcanzan un

pico para una concentración inicial de 100000 cel/ml. En cuanto a las células NIH 3T3 T, a las 72 horas de cultivo las cifras de proliferación absoluta alcanzan también un pico para una concentración inicial de 200000 cel/ml.

Al igual que ocurría a las 24 y a las 48 horas de cultivo, aquí también las cifras de proliferación absoluta son superiores para las células NIH 3T3 T respecto a las células NIH 3T3 I.

En las tablas y gráficas 46 a 48, podemos observar las cifras de proliferación relativa, para distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, cultivadas durante un período de 24, 48 y 72 horas, respectivamente.

En las tres gráficas, se puede comprobar que dichas cifras son superiores para las células NIH 3T3 T respecto de las NIH 3T3 I.

A las 24 horas de cultivo (tabla y gráfica 46), las cifras de proliferación relativa ascienden (NIH 3T3 I) o se mantienen más o menos estabilizadas con tendencia a disminuir (NIH 3T3 T) conforme aumenta la concentración inicial de células.

En cambio, tras 48 y 72 horas de cultivo (tablas y gráficas 47 y 48), excepto para las concentraciones inferiores (10000 y 20000 cel/ml), las cifras de proliferación relativa descienden conforme se incrementa la concentración inicial, tanto de células NIH 3T3 I como de células NIH 3T3 T.

En las tablas y gráficas 49 a 56 se expresan las cifras de proliferación absoluta de las células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, tras 24, 48 y 72 horas de cultivo, para distintas concentraciones iniciales de células (10000, 20000, 50000, 100000, 150000, 200000, 250000 y 400000 cel/ml).

Podemos observar que en el caso de las células NIH 3T3 T, para todas las concentraciones, las cifras de proliferación absoluta son superiores conforme avanza el tiempo de cultivo, excepto para la concentración inicial de 400000 cel/ml, en que la proliferación absoluta a las 72 horas, es inferior que a las 48 horas de cultivo.

Para las células NIH 3T3 I, la proliferación absoluta es superior tras 48 horas que tras 24 horas de cultivo, excepto para las concentraciones iniciales superiores (250000 y 400000 cel/ml). Pero en cambio, a las 72 horas de cultivo la proliferación absoluta

es inferior que a las 48 horas de cultivo, excepto para las concentraciones iniciales inferiores (10000 y 20000 cel/ml).

En las tablas y gráficas 57 y 58, se representan los valores de la pendiente de la recta que une los puntos correspondientes a las cifras de proliferación absoluta (incorporación de ^3H -Timidina expresada en DPM) tras 24 y 48 horas de cultivo (tabla y gráfica 57) y tras 48 y 72 horas de cultivo (tabla y gráfica 58), para cada concentración inicial de células.

Entre 24 y 48 horas de cultivo (tabla y gráfica 57) para las células NIH 3T3 I el valor de la pendiente asciende conforme se incrementa la concentración inicial de células, alcanzando un pico para una concentración de 100000 cel/ml. A partir de ahí, el valor de la pendiente desciende conforme se incrementa dicha concentración, e incluso se hace negativa.

En cambio, para las células NIH 3T3 T, el pico se alcanza a una concentración inicial de células más alta (200000 cel/ml), y aunque a partir de ahí el valor de la pendiente disminuye, ésta no llega a hacerse negativa.

Entre 48 y 72 horas de cultivo (tabla y gráfica 58), para las células NIH 3T3 I, el valor de la pendiente desciende conforme se incrementa la concentración inicial de células, estabilizándose dicho valor en las concentraciones superiores. Además, el valor de la pendiente es negativo, excepto para las concentraciones iniciales inferiores (10000 y 20000 cel/ml).

En cambio, para las células NIH 3T3 T, el valor de la pendiente asciende conforme se incrementa la concentración inicial de células, alcanzando un pico para una concentración de 150000 cel/ml. A partir de esa concentración, el valor de la pendiente desciende, pero sólo se hace negativo para la concentración inicial superior (400000 cel/ml).

Finalmente, decidimos comparar la proliferación de células normales hematopoyéticas, como las células de médula ósea de ratón, con la de los fibroblastos NIH 3T3 I, cultivados ambos durante 24 horas.

Previamente, habíamos observado que, aunque en nuestros resultados a las 24 horas de cultivo, tanto la proliferación

absoluta (tabla y gráfica 43) como la relativa (tabla y gráfica 46) de las células NIH 3T3 I, se incrementaba conforme aumentaba la concentración celular, en otras experiencias realizadas con distinto suero fetal de ternera, a las concentraciones celulares más altas (250000 y 400000 cel/ml), estas células comenzaban a inhibirse, ya que tanto la proliferación absoluta (tabla 59 y gráfica 59 A) como la relativa (tabla 59 y gráfica 59 B) comenzaban a disminuir a partir de esas concentraciones. Esto podía deberse a que, por ser un suero fetal más rico, las células proliferarían más y, por tanto, se inhibirían antes por alcanzar unas tasas de proliferación muy altas y confluír en poco tiempo.

En cambio, en la experiencia realizada con células de médula ósea de ratón, se pudo comprobar que la proliferación absoluta (tabla 60 y gráfica 60 A) se incrementaba conforme aumentaba la concentración celular, incluso para concentraciones muy altas (3000000 de cel/ml). Asimismo, la proliferación relativa (tabla 60 y gráfica 60 B) era creciente para las concentraciones iniciales y luego se mantenía estabilizada (a partir de 200000 ó 250000 cel/ml) no disminuyendo, aún a concentraciones muy altas, en las cuales las células se encuentran totalmente confluentes.

Tabla 43 y Gráfica 43

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, cultivadas ambas durante 24 horas.

TABLA 43

Proliferación absoluta
 Tiempo de cultivo: 24 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
10000	1135 ± 117	44247 ± 7516
20000	4069 ± 376	70926 ± 5545
50000	11036 ± 1286	203635 ± 1027
100000	26552 ± 1395	351892 ± 1420
150000	47910 ± 11324	459524 ± 42985
200000	69121 ± 8217	560740 ± 29956
250000	93348 ± 1933	828085 ± 50050
400000	180127 ± 5590	951715 ± 48005

GRAFICA 43

PROLIFERACION ABSOLUTA (24 horas)

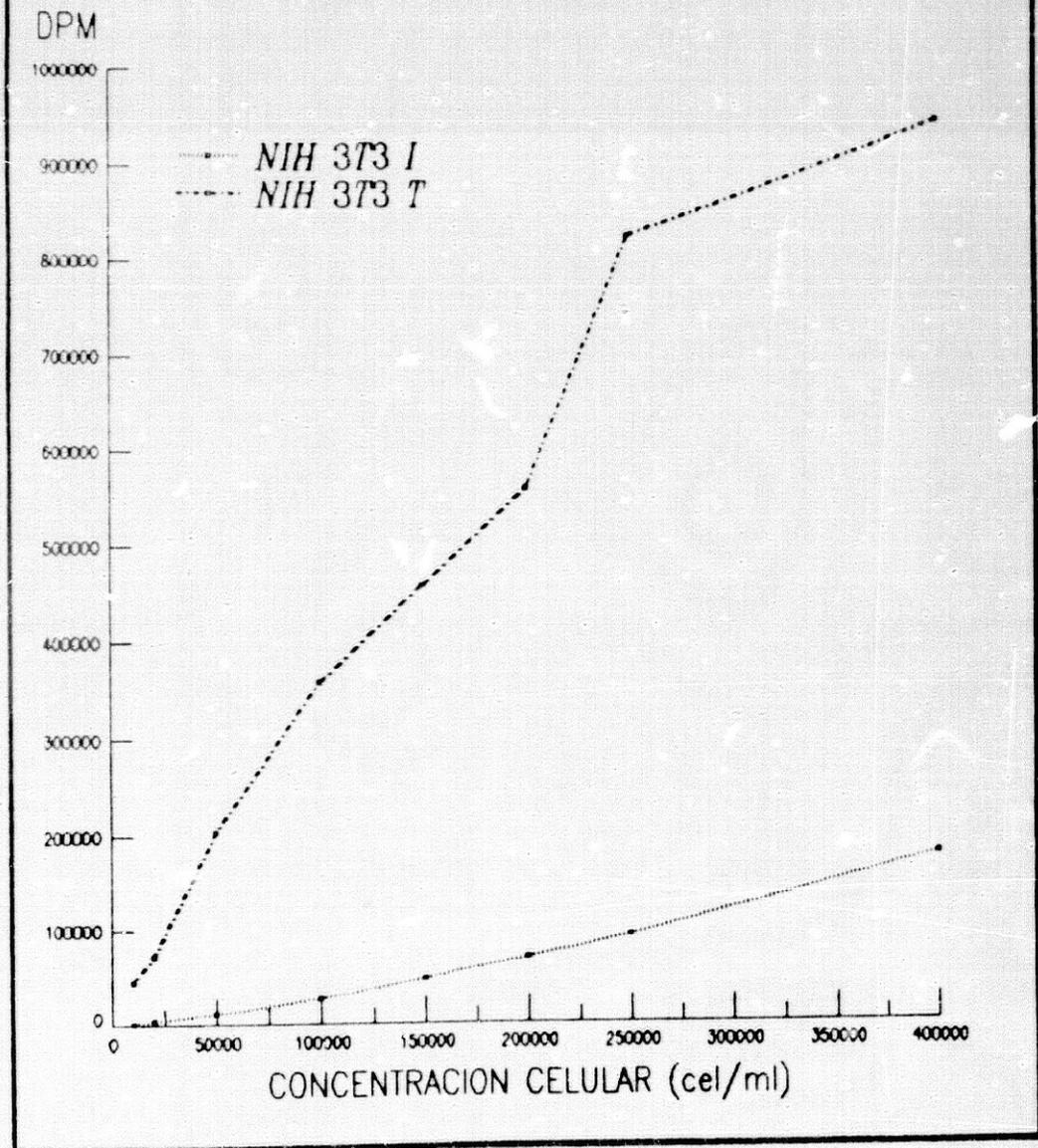


Tabla 44 y Gráfica 44

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NL 3T3 I y NIH 3T3 T, cultivadas ambas durante 48 horas.

TABLA 44

Proliferación absoluta
 Tiempo de cultivo: 48 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPH)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
10000	13538 \pm 1760	69814 \pm 8213
20000	48624 \pm 11076	152490 \pm 8696
50000	90410 \pm 15769	305587 \pm 13563
100000	157920 \pm 12026	508933 \pm 15289
150000	131280 \pm 26808	723440 \pm 90596
200000	126460 \pm 24332	892334 \pm 66690
250000	77900 \pm 7155	923900 \pm 49406
400000	34080 \pm 9282	990273 \pm 51075

GRAFICA 44

PROLIFERACION ABSOLUTA (48 horas)

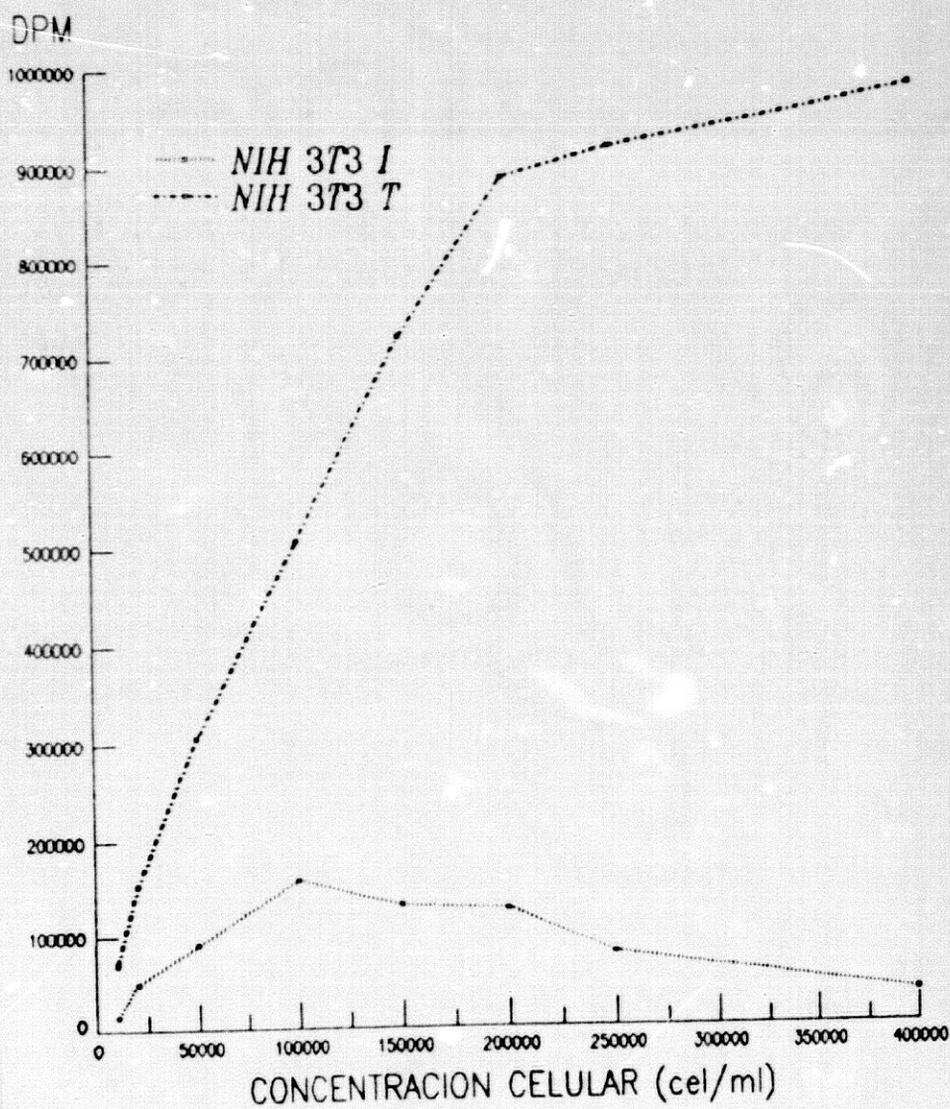


Tabla 45 y Gráfica 45

Incorporación de ³H-Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, cultivadas ambas durante 72 horas.

TABLA 45

Proliferación absoluta
Tiempo de cultivo: 72 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{I} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{I} \pm SD$
10000	38508 ± 1532	105628 ± 12807
20000	71442 ± 713	256286 ± 70447
50000	84495 ± 2879	585154 ± 88588
100000	121150 ± 15067	857330 ± 26029
150000	91665 ± 23882	1084965 ± 78889
200000	84305 ± 11215	1145750 ± 33065
250000	47609 ± 15792	1049097 ± 81787
400000	19962 ± 17203	538535 ± 44461

GRAFICA 45

PROLIFERACION ABSOLUTA (72 horas)

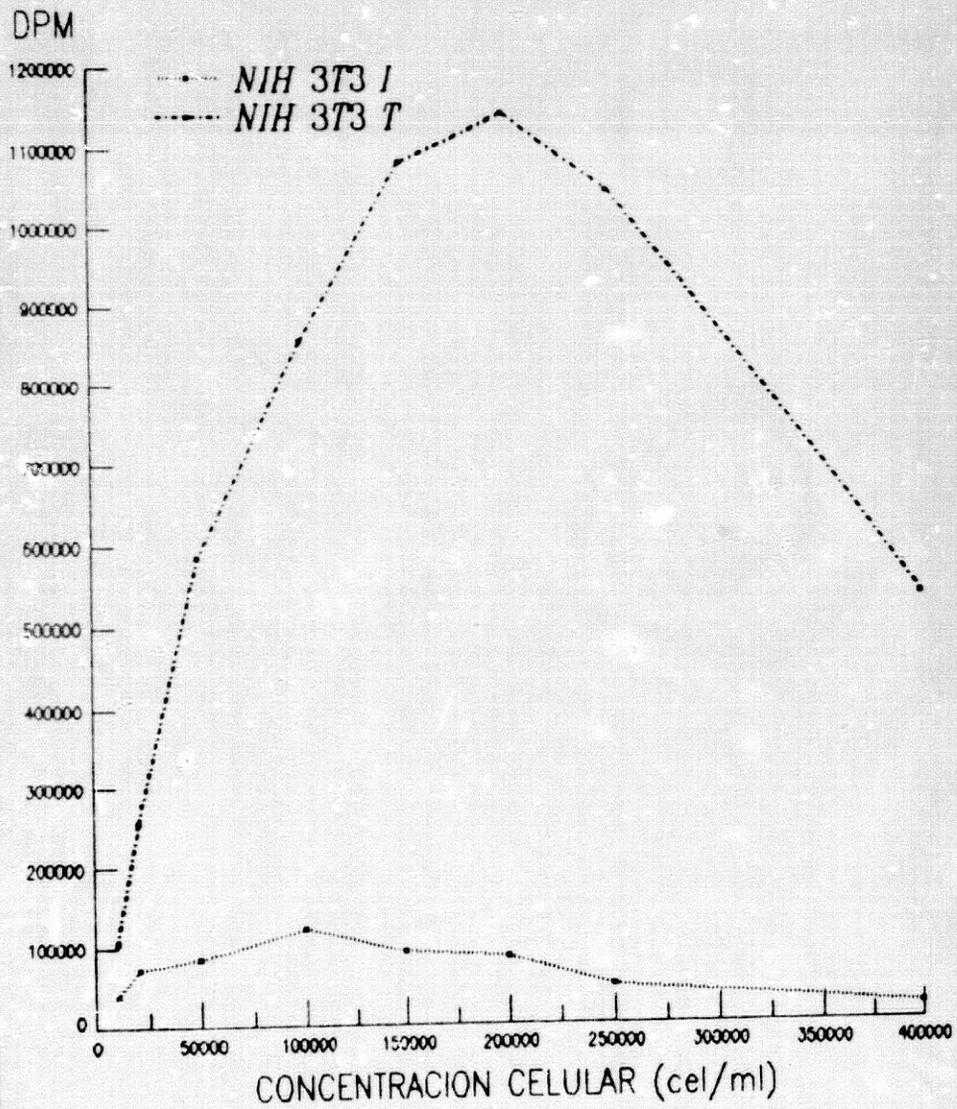


Tabla 4E y Gráfica 4E

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación relativa (DPM / 1000 células), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 I, cultivadas ambas durante 24 horas.

TABLA 46

Proliferación relativa
 Tiempo de cultivo: 24 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM/1000cel)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
10000	113,5 ± 11,7	4424,7 ± 751,6
20000	203,5 ± 18,8	3546,3 ± 277,3
50000	220,5 ± 25,7	4072,7 ± 20,5
100000	265,5 ± 14,0	3589,9 ± 14,2
150000	319,4 ± 75,5	3063,5 ± 286,6
200000	345,6 ± 41,1	2803,7 ± 149,8
250000	373,4 ± 7,7	3312,3 ± 200,2
400000	450,3 ± 14,0	2379,3 ± 120,0

GRAFICA 46

PROLIFERACION RELATIVA (24 horas)

DPM/1000cel

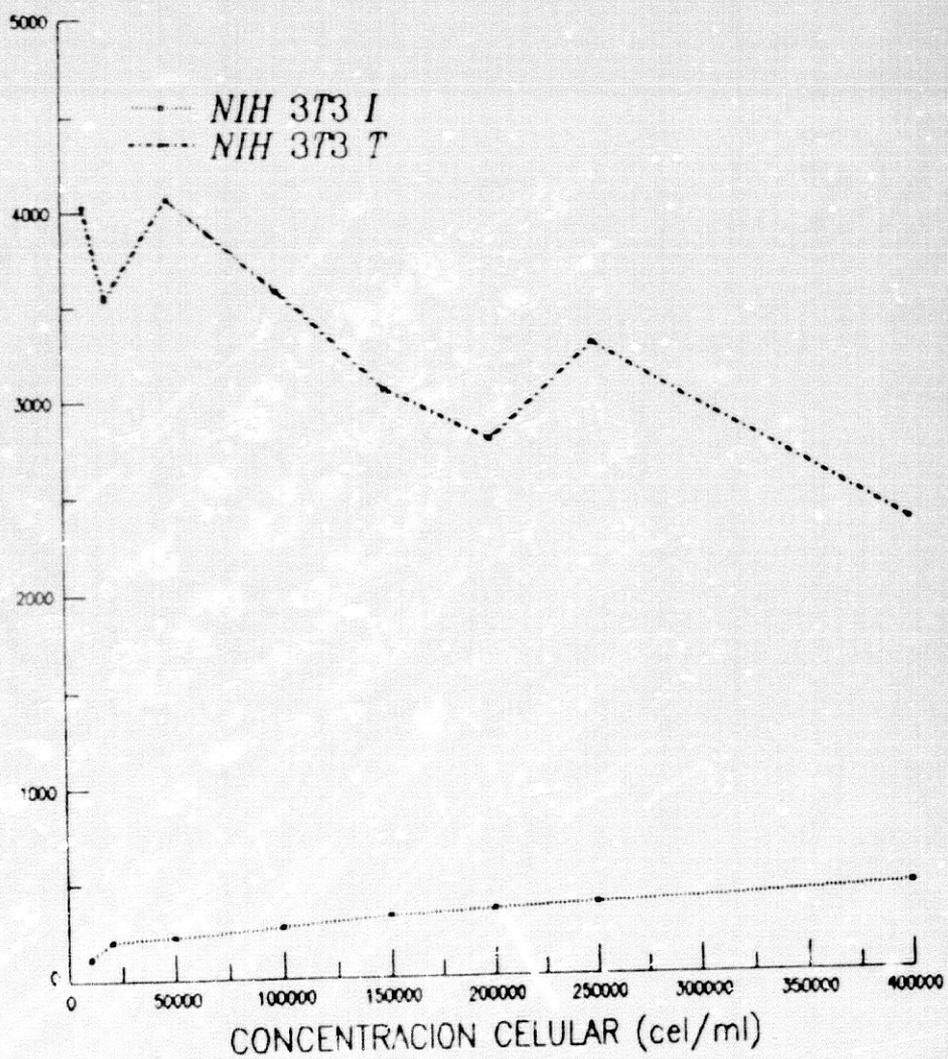


Tabla 47 y Gráfica 47

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación relativa (DPM / 1000 células), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, cultivadas ambas durante 48 horas.

TABLA 47

Proliferación relativa
Tiempo de cultivo: 48 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM/1000cel)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
10000	1353,8 ± 176,0	6981,4 ± 821,3
20000	2431,2 ± 553,8	7624,5 ± 434,8
50000	1808,2 ± 315,4	6111,7 ± 271,3
100000	1579,2 ± 120,3	5089,3 ± 152,9
150000	875,2 ± 178,7	4822,9 ± 604,0
200000	632,3 ± 121,7	4461,7 ± 333,5
250000	311,6 ± 28,6	3695,6 ± 197,6
400000	85,2 ± 23,2	2475,7 ± 127,7

GRAFICA 47

PROLIFERACION RELATIVA (48 horas)

DPM/1000cel

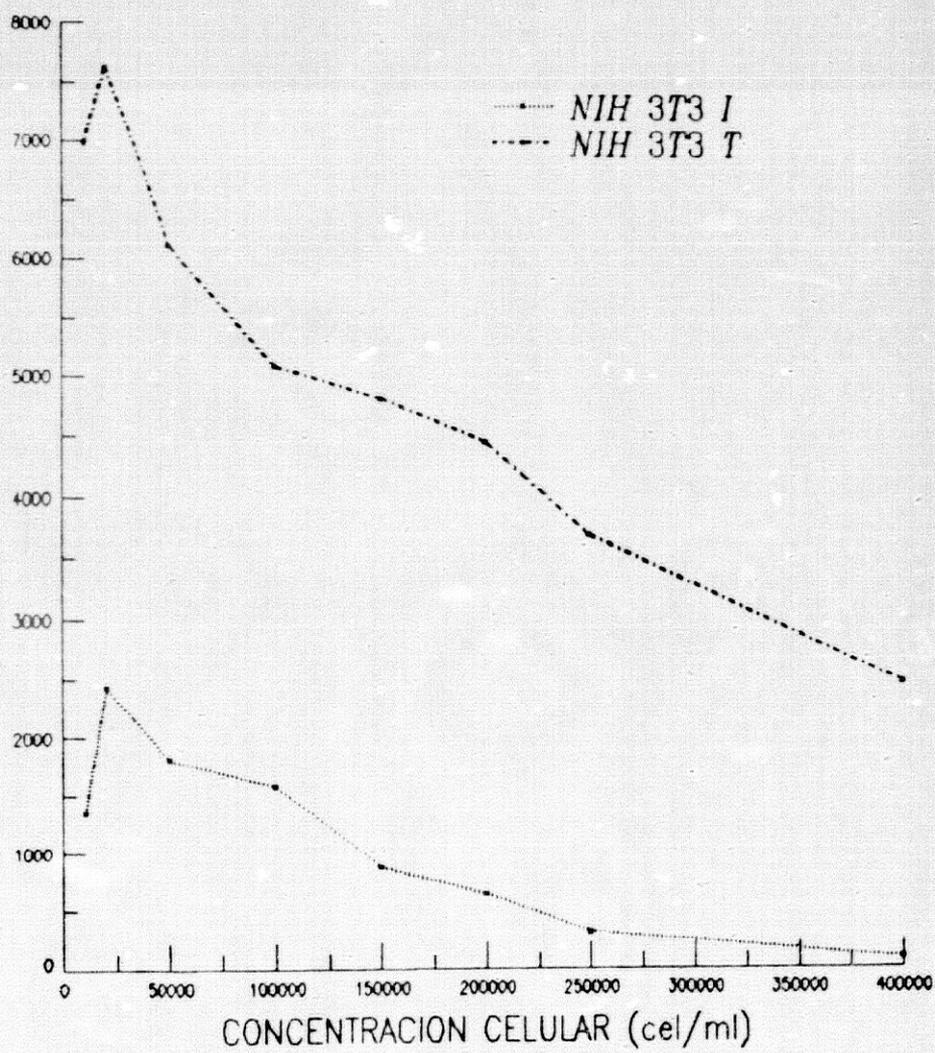


Tabla 48 y Gráfica 48

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación relativa (DPM / 1000 células), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, cultivadas ambas durante 48 horas.

TABLA 48

Proliferación relativa
Tiempo de cultivo: 72 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM/1000cel)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
10000	3850,8 ± 153,2	10562,8 ± 1280,7
20000	3572,1 ± 35,7	12814,3 ± 3522,4
50000	1689,9 ± 57,6	11703,1 ± 1771,8
100000	1211,5 ± 150,7	8573,3 ± 260,3
150000	611,1 ± 159,2	7233,1 ± 525,9
200000	421,5 ± 56,1	5728,7 ± 165,3
250000	190,4 ± 63,2	4196,4 ± 327,1
400000	49,9 ± 43,0	1346,3 ± 111,2

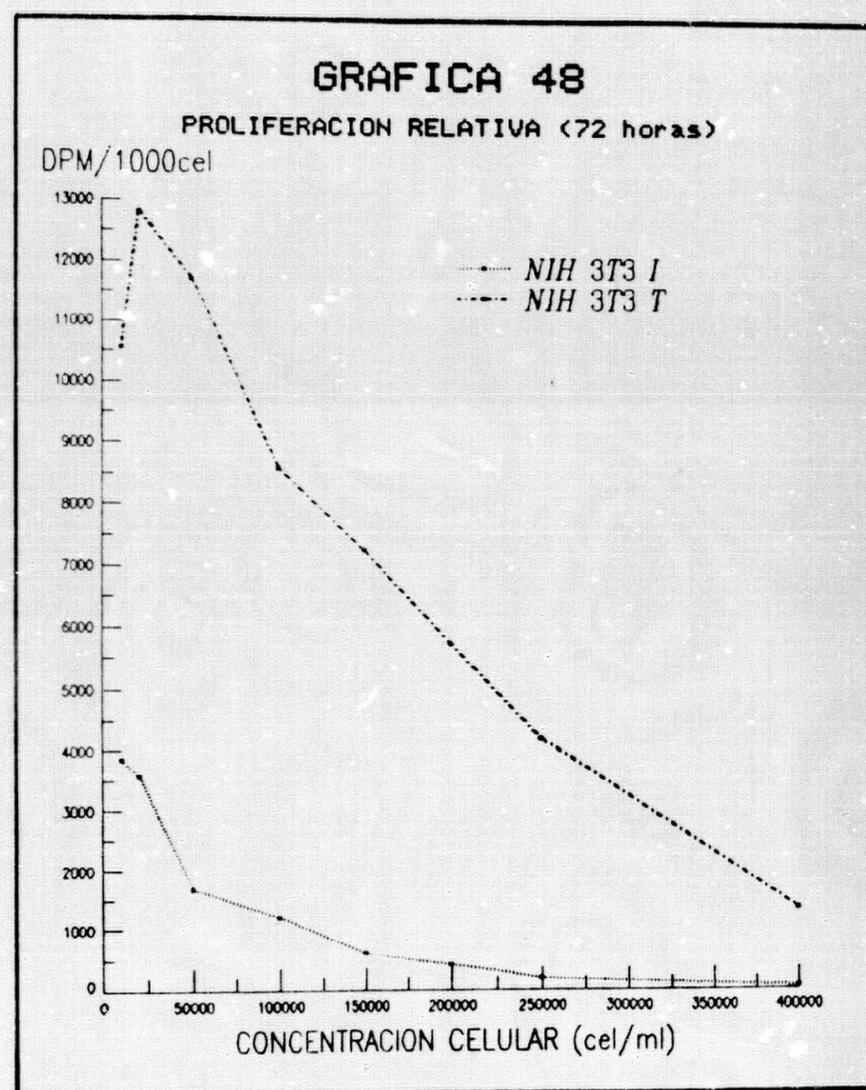


Tabla 49 y Gráfica 49

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 I, ambas a una concentración inicial de 10000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 49

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 10000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
24	1135 ± 117	44247 ± 7516
48	13538 ± 1760	69814 ± 8213
72	38508 ± 1532	105628 ± 12807

GRAFICA 49

PROLIFERACION ABSOLUTA (10000 cel/ml)

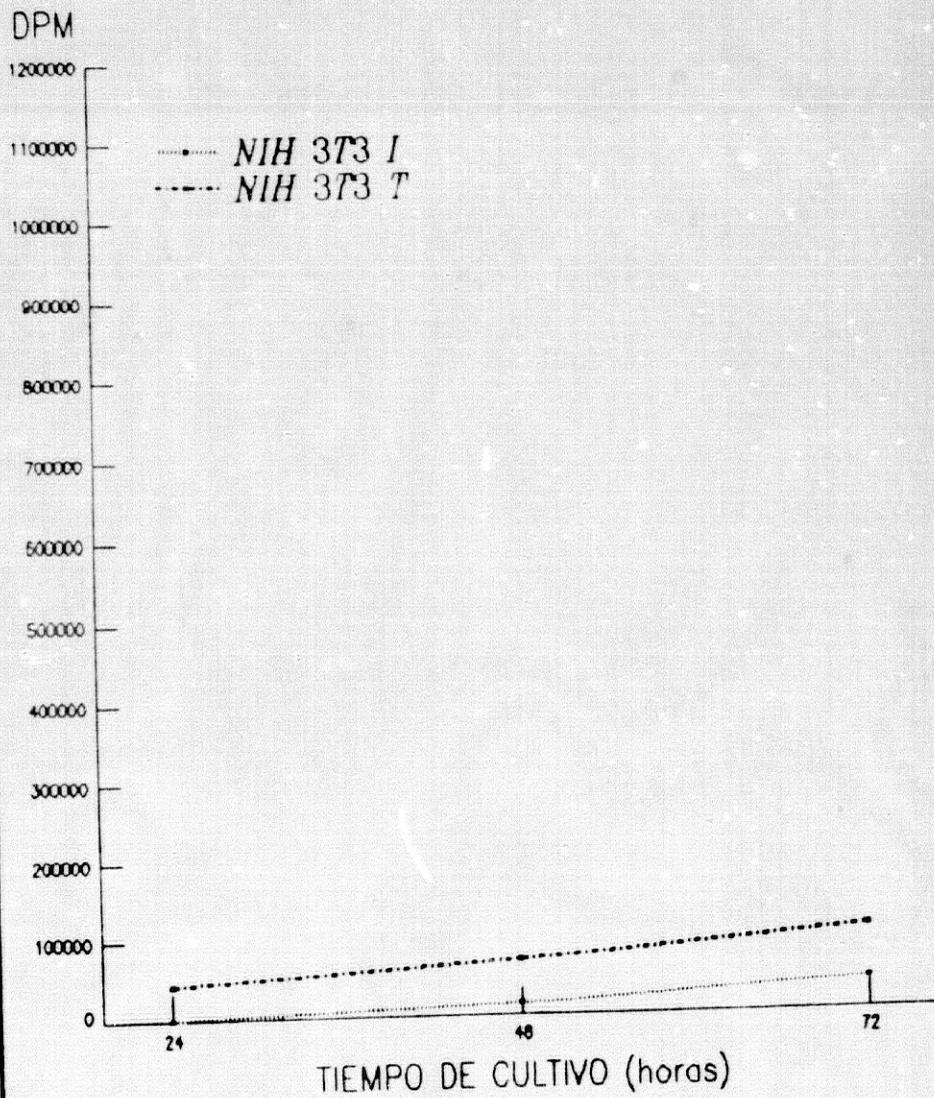


Tabla 50 y Gráfica 50

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, ambas a una concentración inicial de 20000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 50

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 20000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
24	4069 ± 376	70926 ± 5545
48	48624 ± 11076	152490 ± 8696
72	71442 ± 713	256286 ± 70447

GRAFICA 50

PROLIFERACION ABSOLUTA (20000 cel/ml)

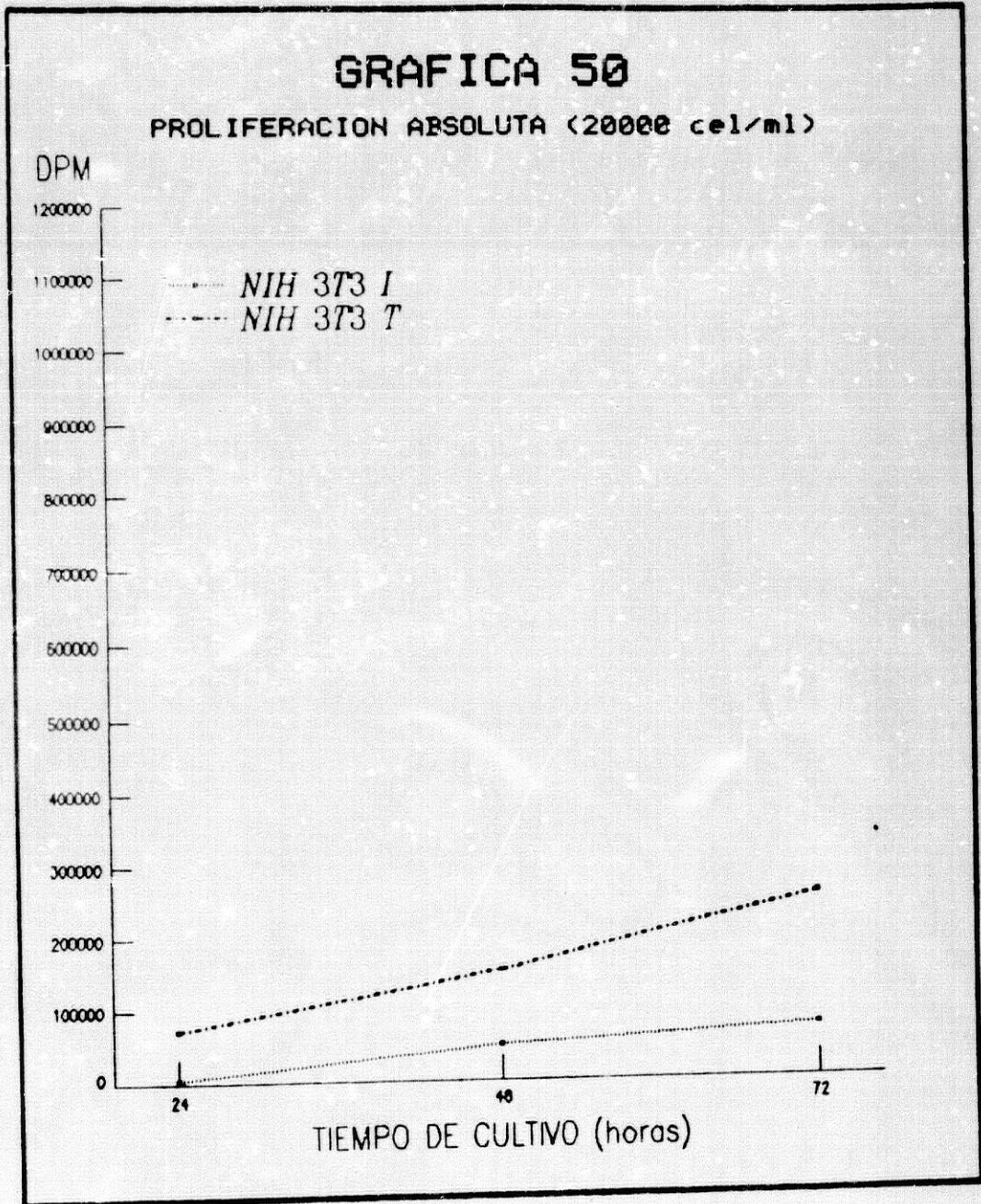


Tabla 51 y Gráfica 51

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, ambas a una concentración inicial de 50000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 51

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 50000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
24	11036 \pm 1286	203635 \pm 1027
48	90410 \pm 15769	305587 \pm 13563
72	84495 \pm 2879	585154 \pm 88588

GRAFICA 51

PROLIFERACION ABSOLUTA (50000 cel/ml)

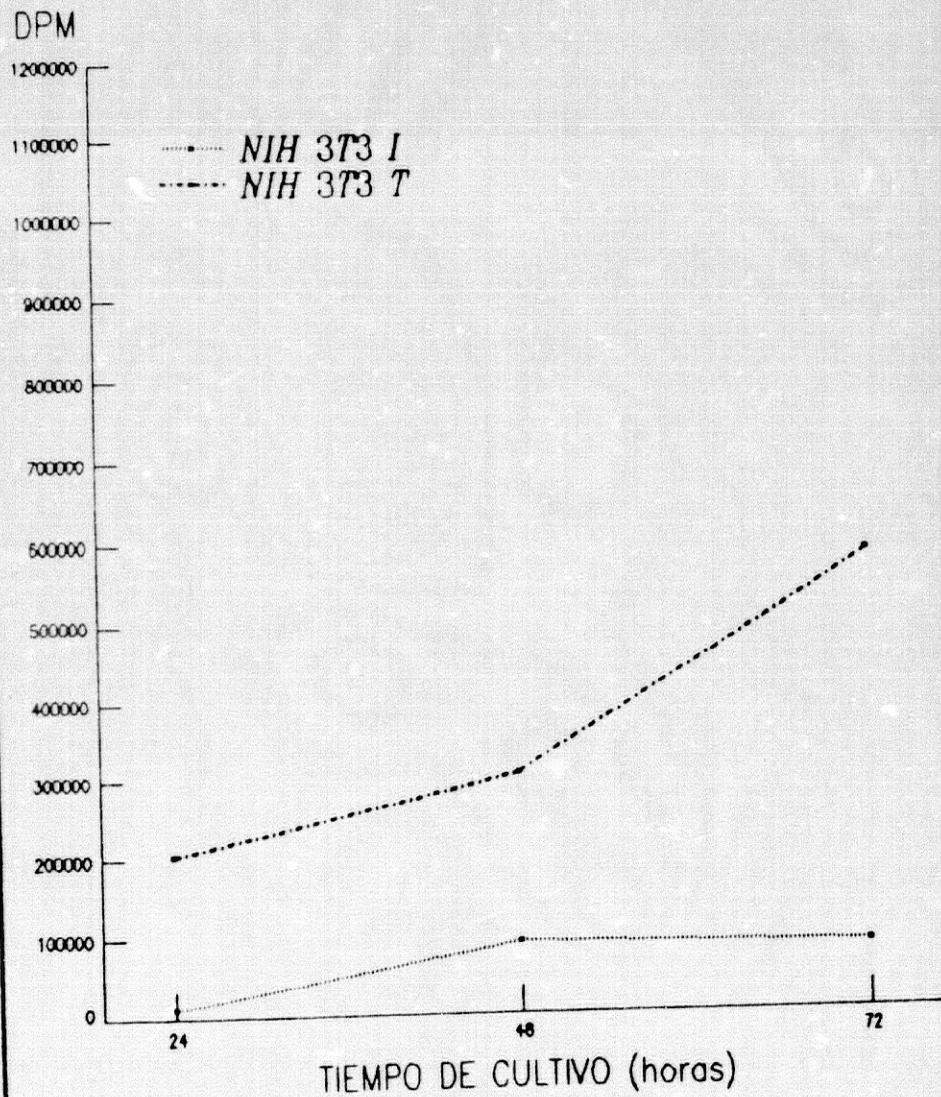


Tabla 52 y Gráfica 52

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, ambas a una concentración inicial de 100000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 52

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 100000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
24	26552 \pm 1395	358892 \pm 1420
48	157920 \pm 12026	508933 \pm 15289
72	121150 \pm 15067	857330 \pm 26029

GRAFICA 52

PROLIFERACION ABSOLUTA (100000 cel/ml)

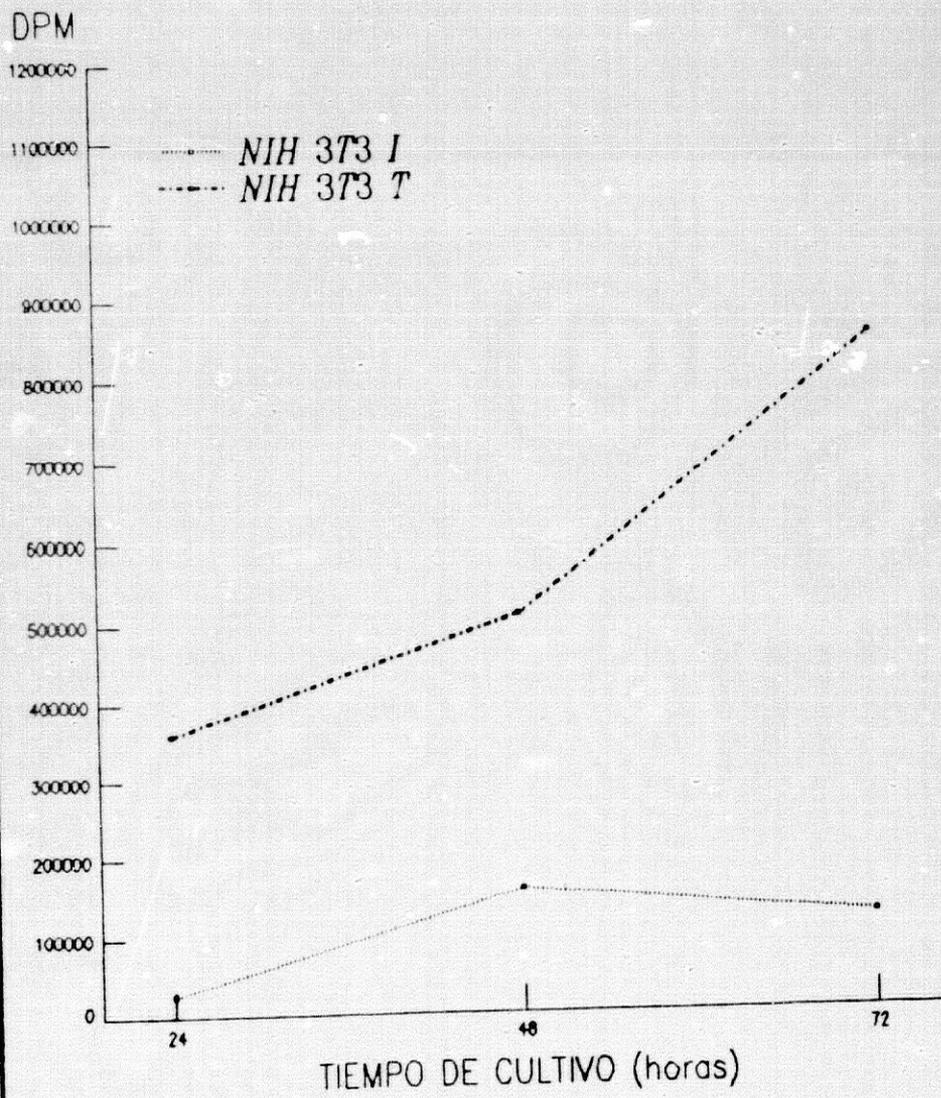


Tabla 53 y Gráfica 53

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, ambas a una concentración inicial de 150000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 53

Proliferación absoluta
Concentración celular: 150000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPM)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm \text{SD}$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm \text{SD}$
24	47910 \pm 11324	459524 \pm 42985
48	131280 \pm 26808	723440 \pm 90596
72	91665 \pm 23882	1084965 \pm 78889

GRAFICA 53

PROLIFERACION ABSOLUTA (150000 cel/ml)

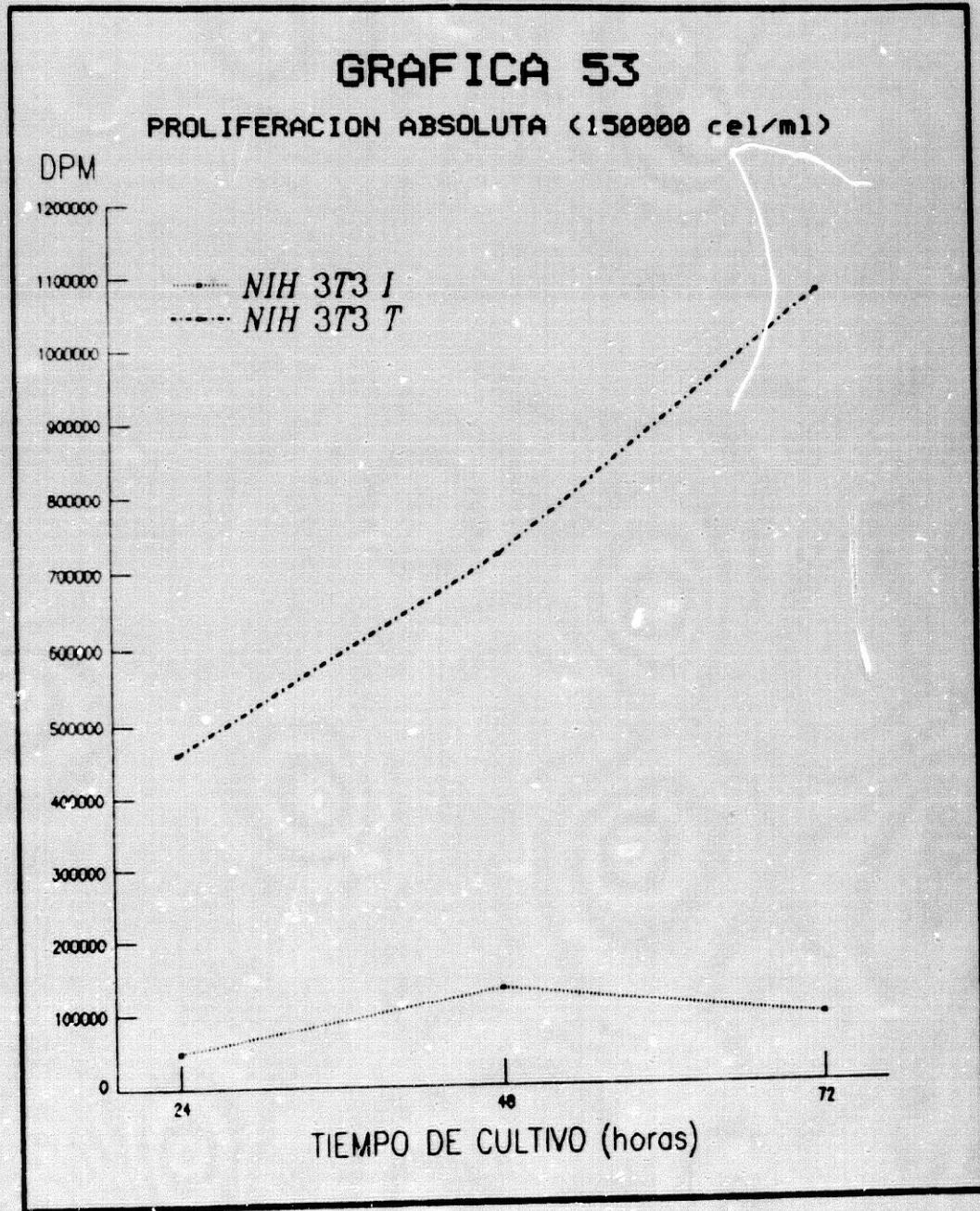


Tabla 54 y Gráfica 54

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 I, ambas a una concentración inicial de 200000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 54

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 200000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
24	69121 \pm 8217	560740 \pm 29956
48	126460 \pm 24332	892534 \pm 66690
72	84305 \pm 11215	1145750 \pm 33065

GRAFICA 54

PROLIFERACION ABSOLUTA (200000 cel/ml)

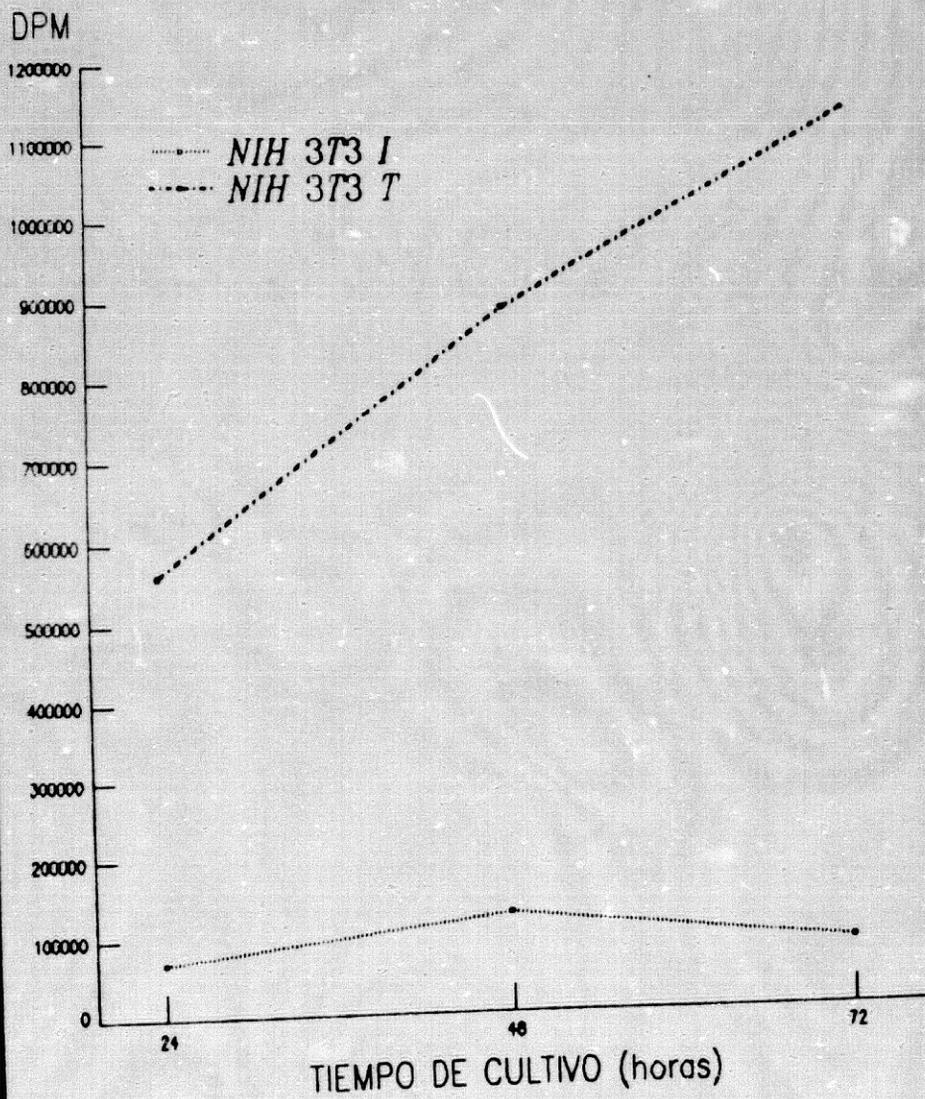


Tabla 55 y Gráfica 55

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, ambas a una concentración inicial de 250000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 55

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 250000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN)	
	CELULAS NIH 3T3 I	CELULAS NIH 3T3 T
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
24	93348 ± 1933	828085 ± 50050
48	77900 ± 7155	923900 ± 49406
72	47609 ± 15792	1049097 ± 81787

GRAFICA 55

PROLIFERACION ABSOLUTA (250000 cel/ml)

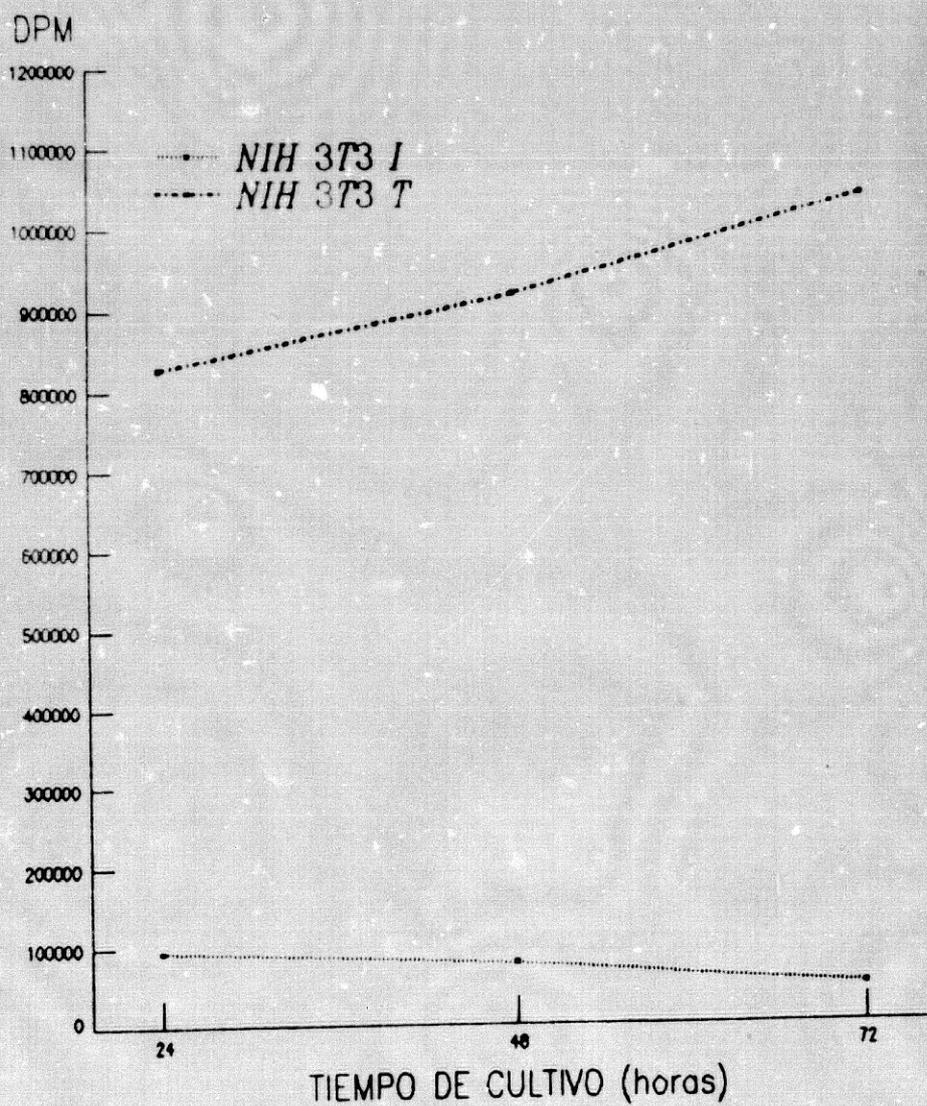


Tabla 56 y Gráfica 56

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM), por parte de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 I, ambas a una concentración inicial de 400000 cel/ml, y ambas cultivadas durante 24, 48 y 72 horas.

TABLA 56

Proliferación absoluta
 Concentración celular: 400000 cel/ml

TIEMPO DE CULTIVO (horas)	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPN)	
	CELULAS NIH 3T3 I $\bar{X} \pm SD$	CELULAS NIH 3T3 T $\bar{X} \pm SD$
24	180127 \pm 5590	951715 \pm 48005
48	34080 \pm 9282	990273 \pm 51075
72	19962 \pm 17203	538535 \pm 44461

GRAFICA 56

PROLIFERACION ABSOLUTA (400000 cel/ml)

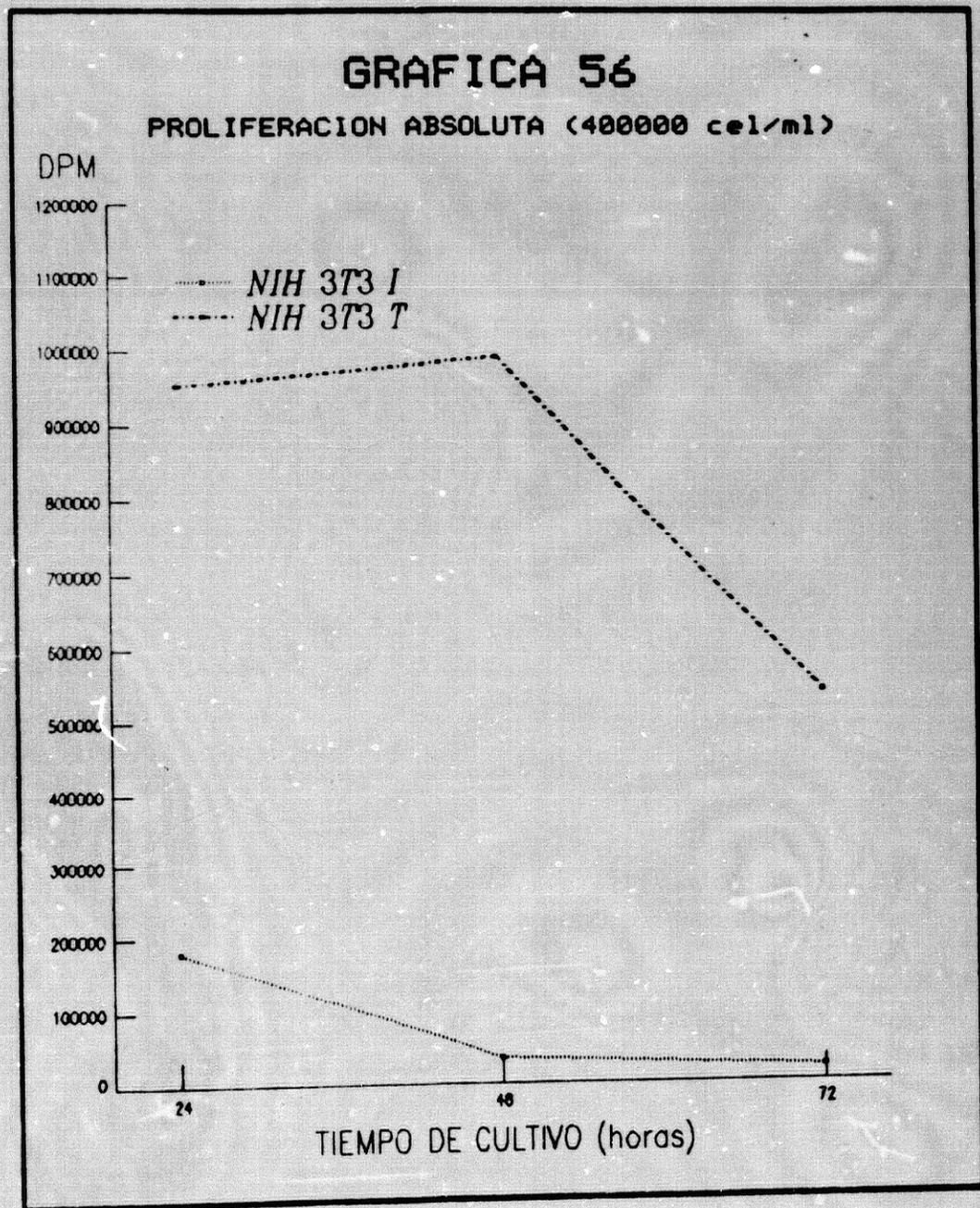


Tabla 57 y Gráfica 57

Valores de la pendiente de la recta que une los puntos correspondientes a las cifras de proliferación absoluta (incorporación de ^3H -Timidina expresada en DPM), para distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, tras 24 y 48 horas de cultivo.

TABLA 57

Pendiente
24-48 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	PENDIENTE	
	CELULAS NIH 3T3 I	CELULAS NIH 3T3 T
10000	516,8	857,0
20000	1856,5	3398,5
50000	3307,3	4248,0
100000	5473,7	6251,7
150000	3473,8	10996,5
200000	2389,1	13816,4
250000	- 643,7	3992,3
400000	- 6085,3	1606,6

GRAFICA 57

PENDIENTE (24-48 horas)

PENDIENTE

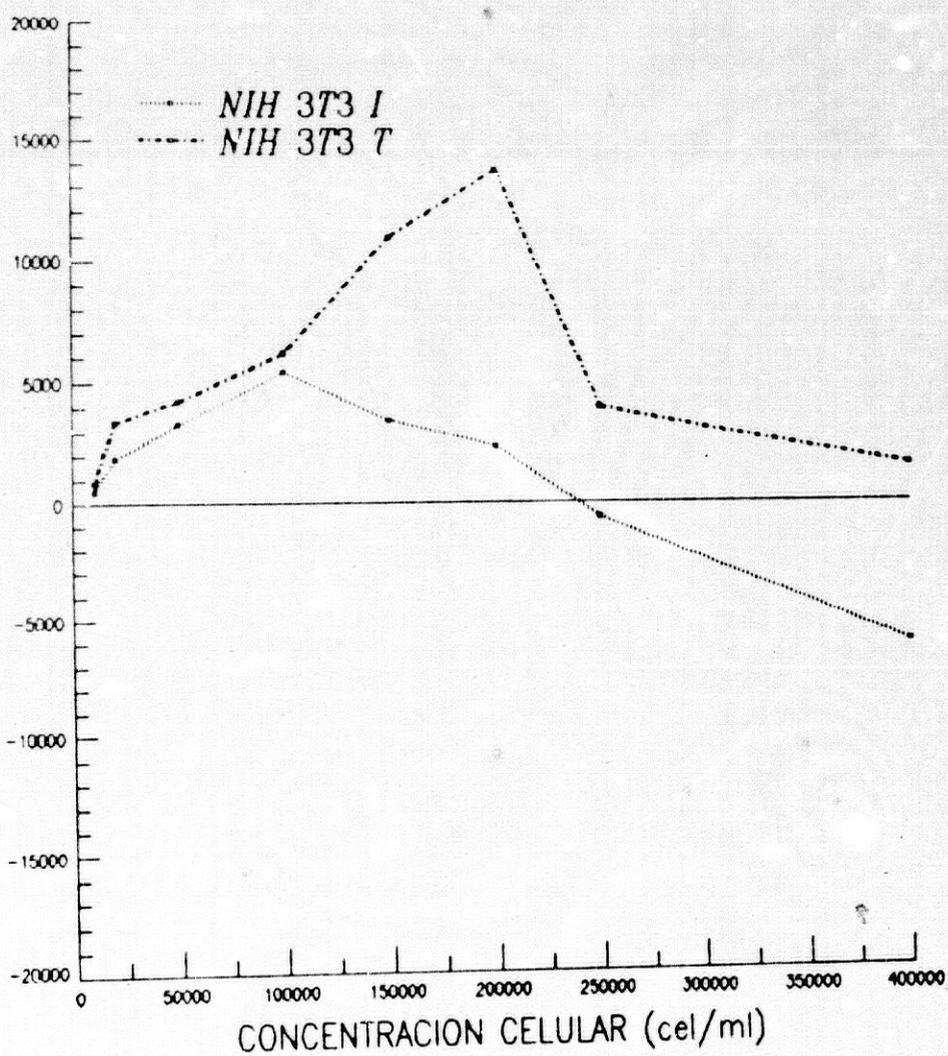


Tabla 58 y Gráfica 58

Valores de la pendiente de la recta que une los puntos correspondientes a las cifras de proliferación absoluta (incorporación de ^3H -Timidina expresada en DPM), para distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, tras 48 y 72 horas de cultivo.

TABLA 58

Pendiente
48-72 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	PENDIENTE	
	CELULAS NIH 3T3 I	CELULAS NIH 3T3 T
10000	1040,4	1492,3
20000	950,8	4324,8
50000	- 246,5	11648,6
100000	- 1532,1	14516,6
150000	- 1650,6	15063,6
200000	- 1756,5	10559,0
250000	- 1262,1	5216,6
400000	- 588,3	- 18822,4

GRAFICA 58

PENDIENTE (48-72 horas)

PENDIENTE

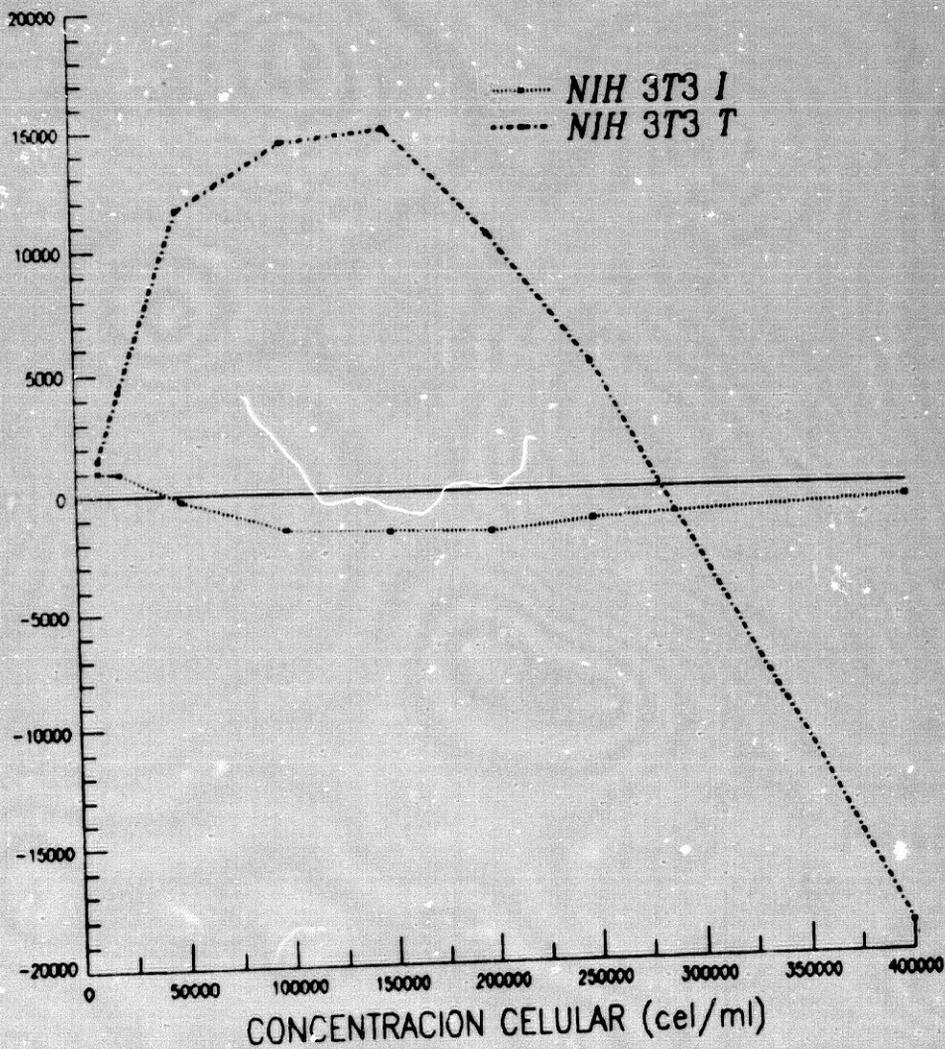


Tabla 59

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM) y en términos de proliferación relativa (DPM / 1000 células), por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I, cultivadas durante 24 horas, con distinto suero fetal de ternera en el medio de cultivo al utilizado en la experiencia correspondiente a las tablas 43 y 46.

Tabla 60

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM) y en términos de proliferación relativa (DPM / 1000 células), por parte de distintas concentraciones iniciales de células de médula ósea de ratón, cultivadas durante 24 horas.

TABLA 59

Células: NIH 3T3 I
 Tiempo de cultivo: 24 horas

CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	PROLIF. ABSOLUTA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	PROLIF. RELATIVA (DPM/1000cel) $\bar{X} \pm SD$
10000	4608 \pm 396	460,8 \pm 39,6
20000	10794 \pm 1586	539,7 \pm 91,3
50000	29940 \pm 4992	598,8 \pm 99,8
100000	65190 \pm 9393	651,9 \pm 93,9
150000	120465 \pm 2430	803,1 \pm 16,2
200000	181692 \pm 12639	908,5 \pm 63,2
250000	142053 \pm 16284	568,2 \pm 65,1
400000	129072 \pm 4644	322,7 \pm 11,6

TABLA 60

Células: Médula ósea de ratón
 Tiempo de cultivo: 24 horas

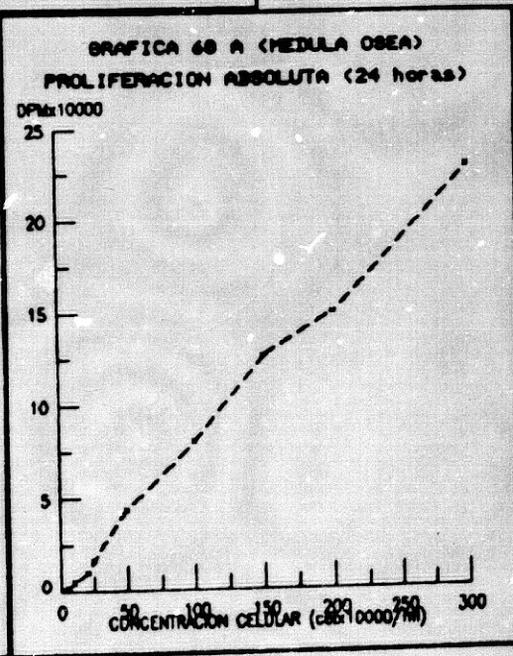
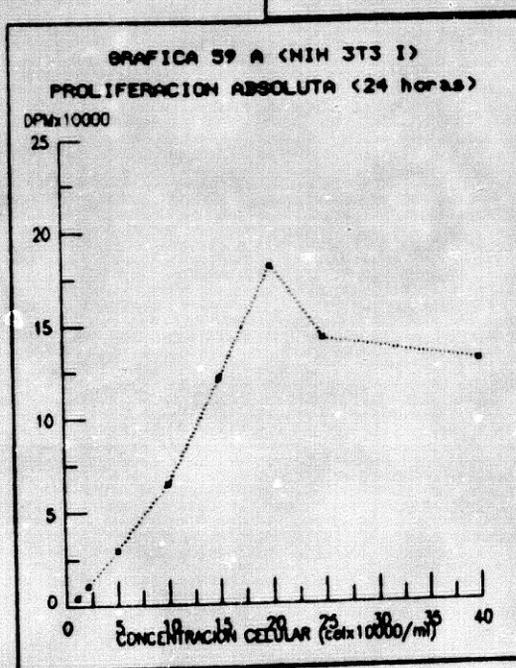
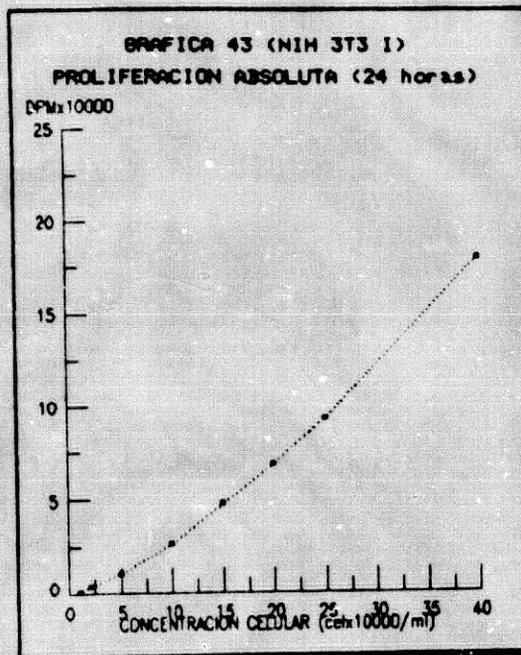
CONCENTRACION CELULAR (cel/ml)	PROLIF. ABSOLUTA (DPM)	PROLIF. RELATIVA (DPM/1000cel)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
20000	848 ± 129	42,4 ± 6,5
50000	2194 ± 162	43,9 ± 3,2
100000	5038 ± 368	50,4 ± 3,7
200000	10114 ± 1188	50,6 ± 5,9
250000	16904 ± 1626	67,6 ± 6,5
500000	44233 ± 4457	88,5 ± 8,9
1000000	80305 ± 3272	80,3 ± 3,3
1500000	125642 ± 1028	83,8 ± 0,7
2000000	149306 ± 11971	74,7 ± 6,0
3000000	228123 ± 9717	76,0 ± 3,2

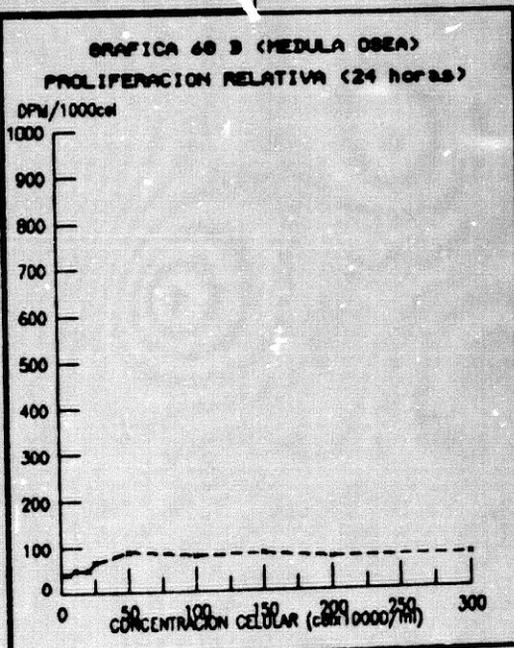
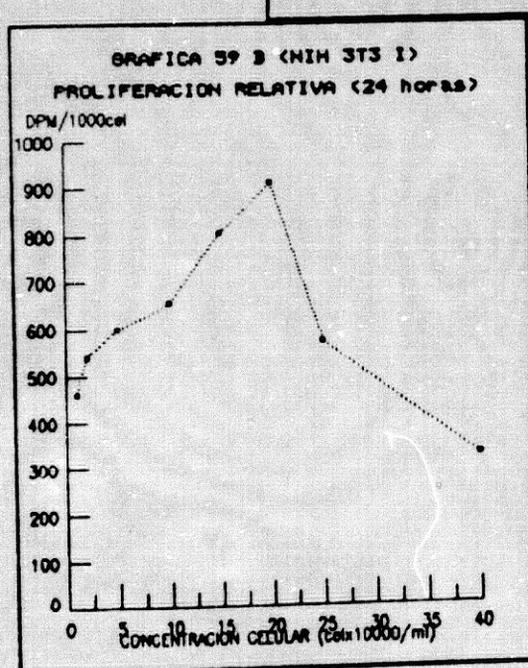
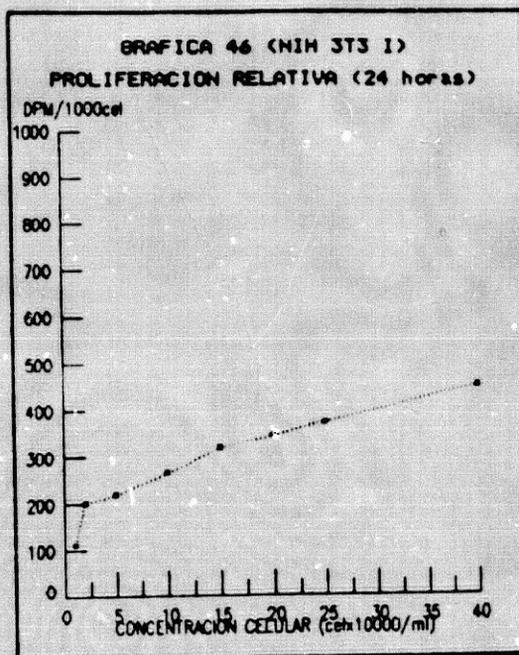
Gráfica 43, 59 A y 60 A

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación absoluta (DPM) por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I (Gráfica 43), de células NIH 3T3 I con suero fetal de ternera en el medio de cultivo distinto al anterior (Gráfica 59 A) y de células de médula ósea de ratón (Gráfica 60 A), todas ellas cultivadas durante 24 horas.

Gráfica 46, 59 B y 60 B

Incorporación de ^3H -Timidina, expresada en términos de proliferación relativa (DPM / 1000 células) por parte de distintas concentraciones iniciales de células NIH 3T3 I (Gráfica 46), de células NIH 3T3 I con suero fetal de ternera en el medio de cultivo distinto al anterior (Gráfica 59 B) y de células de médula ósea de ratón (Gráfica 60 B), todas ellas cultivadas durante 24 horas.





5.2. EFECTO INHIBIDOR DE LA PROLIFERACION DE CELULAS NIH 3T3 INICIADAS (NIH 3T3 I) Y DE CELULAS NIH 3T3 TRANSFORMADAS (NIH 3T3 T) PRODUCIDO POR EL EXTRACTO LIPIDICO DE LIQUIDO AMNIOTICO (AFLE)

Para la obtención de estos resultados se ha utilizado el extracto lipídico obtenido a partir de las segundas 50 muestras de líquido amniótico, es decir, el AFLE II.

En las tablas y gráficas 61 a 64, podemos observar el efecto inhibidor del AFLE sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células NIH 3T3 I, a distintas concentraciones. En estos experimentos se mantuvo constante la concentración de suero fetal de ternera del medio de cultivo (5%), y se utilizaron 4 concentraciones distintas de células NIH 3T3 I: 20000, 50000, 100000 y 200000 cel/ml (tablas y gráficas 61, 62, 63 y 64, respectivamente).

Se puede comprobar que la acción inhibidora del AFLE es superior conforme se incrementa la concentración celular, es decir, conforme aumenta la confluencia celular en el cultivo.

En la tabla y gráfica 65 se representan los valores de I_{50} y C_{50} correspondientes a la acción inhibidora del AFLE sobre la proliferación de las células NIH 3T3 I, a las concentraciones descritas anteriormente.

Podemos observar que el valor de C_{50} es mayor conforme aumenta la concentración celular, lo cual confirma la idea anterior.

En la tabla y gráfica 66 podemos observar el efecto inhibidor del AFLE sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de las células NIH 3T3 T, siendo la concentración de éstas de 200000 cel/ml y la concentración de suero fetal de ternera del medio de cultivo de un 5%.

Asimismo, en la tabla y gráfica 67 se representan los valores de I_{50} y de C_{50} correspondientes a la actuación inhibidora del AFLE sobre la proliferación de células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T, ambas en las condiciones de cultivo descritas anteriormente, es decir, una

concentración celular de 200000 cel/ml y una concentración de suero fetal de ternera de un 5%.

Podemos comprobar que el valor de C_{50} es mayor para las células NIH 3T3 I que para las NIH 3T3 T, lo cual concuerda con la idea, ya expresada anteriormente, de que, en idénticas condiciones, la acción inhibitoria del AFLE es menor sobre células tumorales que sobre células normales.

Ya que, al igual que ocurría con las células NIH 3T3 I, la concentración celular podría influir también en la acción inhibitoria del AFLE sobre la proliferación de las células NIH 3T3 T, decidimos montar la experiencia que se describe en las tablas 68 A y 68 B y en la gráfica 68.

En dicha experiencia, se expresó la concentración celular en términos de células / μg de extracto lipídico.

Se probó la acción de una misma cantidad de AFLE (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) sobre distintas concentraciones (40, 100, 200, 400 y 800 cel/ μg) de células NIH 3T3 I (tabla 68 A y gráfica 68) y de células NIH 3T3 T (tabla 68 B y gráfica 68).

Se puede comprobar que para las células NIH 3T3 I, la acción inhibitoria del AFLE era superior conforme se incrementaba la concentración celular, mientras que para las células NIH 3T3 T, ocurría el fenómeno inverso, quizás porque aumenta la proporción de células correspondiente a cada μg de extracto lipídico presente en el cultivo.

No obstante, para la concentración celular más alta (800 cel/ μg), a la cual, tanto las células NIH 3T3 I como las NIH 3T3 T se encuentran muy inhibidas, independientemente de la actuación del AFLE (ya que las DPM de los controles correspondientes a esta concentración celular son bastante menores que los correspondientes a la concentración inmediatamente inferior, de 400 cel/ μg) y, asimismo, la proporción células / μg de extracto lipídico es muy alta, la inhibición debida a la actuación de éste disminuye considerablemente. Por tanto, parece ser que una vez que las células frenan bruscamente su proliferación aún sin la actuación de nuestro extracto, la acción inhibitoria de éste disminuye considerablemente.

Según estos resultados, para las células NIH 3T3 I, al aumentar el número de células por μg de AFLE, se incrementa la acción inhibitoria de éste, por lo que parece ser que la confluencia celular interviene decisivamente en la actuación de dicho extracto. En cambio, para las células NIH 3T3 T, al igual que ocurre con otras células tumorales como las P815X2, la acción inhibitoria del AFLE es menor conforme se incrementa el número de células correspondiente a cada μg de extracto lipídico presente en el cultivo.

Sin embargo, existía la posibilidad de que, puesto que las células NIH 3T3 T proliferan mucho más que las NIH 3T3 I, alcanzaran la confluencia celular a concentraciones muy bajas (40 cel/ μg), y por tanto, el descenso en la acción inhibitoria del AFLE se podría deber a que las células ya se encuentran inhibidas, de forma similar a lo que ocurre con las células NIH 3T3 I entre las concentraciones de 400 y 800 cel/ μg .

Es por ello, por lo que decidimos montar una experiencia para observar la actuación de la misma cantidad de AFLE (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) sobre las células NIH 3T3 T a concentraciones muy bajas (2 a 40 cel/ μg) (tabla y gráfica 69).

Pudimos comprobar que la inhibición producida por el AFLE era muy alta para todas las concentraciones, y tendía a disminuir conforme aumentaba la concentración celular. Esto parecía deberse, al igual que ocurría antes, a que aumentaba el número de células correspondiente a cada μg de AFLE presente en el cultivo.

Por tanto, tras esto, parecía claro que el comportamiento de las células NIH 3T3 I y NIH 3T3 T es diferente en cuanto a la actuación del AFLE sobre las mismas se refiere, ya que para las primeras su acción inhibitoria es mayor conforme se incrementa la concentración celular, mientras que para las segundas ocurre el fenómeno inverso.

Finalmente, para comprobar el comportamiento del AFLE con células normales hematopoyéticas, decidimos montar una experiencia similar a la anterior con células de médula ósea de ratón.

En la tabla y gráfica 70, podemos observar que la acción inhibitoria del AFLE disminuía conforme aumentaba la concentración

celular, es decir, conforme se incrementa el número de células por μg de extracto, de forma similar a lo que ocurría con las células NIH 3T3 T y con las células P815X2.

Por tanto, parece ser que el AFLE tiene un comportamiento similar, en lo que a la influencia de la concentración celular sobre su acción inhibitoria se refiere, con las células normales hematopoyéticas y las células tumorales, y distinto del que presenta con los fibroblastos NIH 3T3 I.

Tabla 61 y Gráfica 61

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 20000 cel/ml.

TABLA 61

Células: NIH 3T3 I
 Concentración celular: 20000 cel/ml

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPN)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
100	74379 \pm 907	1,6 \pm 1,2
250	73004 \pm 1045	3,4 \pm 1,4
500	72336 \pm 1284	4,3 \pm 1,7
CONTROL (MEDIO)	75571 \pm 1272	

GRAFICA 61

CELULAS: NIH 3T3 I (20000 cel/ml)

INHIBICION (%)

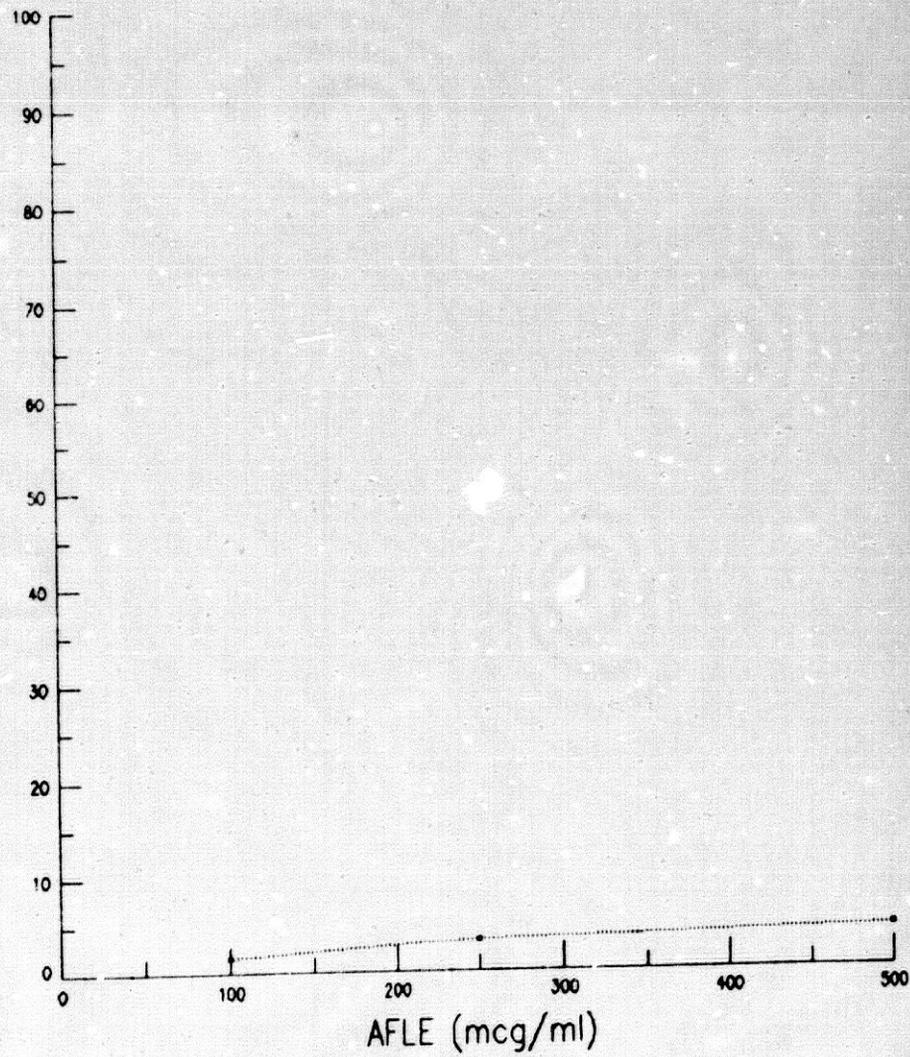


Tabla 62 y Gráfica 62

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ³H-Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 50000 cel/ml.

TABLA 62

Células: NIH 3T3 I
 Concentración celular: 50000 cel/ml

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
100	88389 \pm 4698	0,0 \pm 6,1
250	62196 \pm 4318	18,7 \pm 5,6
500	38845 \pm 9514	49,2 \pm 12,4
CONTROL (MEDIO)	76526 \pm 16889	

GRAFICA 62

CELULAS: NIH 3T3 I (50000 cel/ml)

INHIBICION (%)

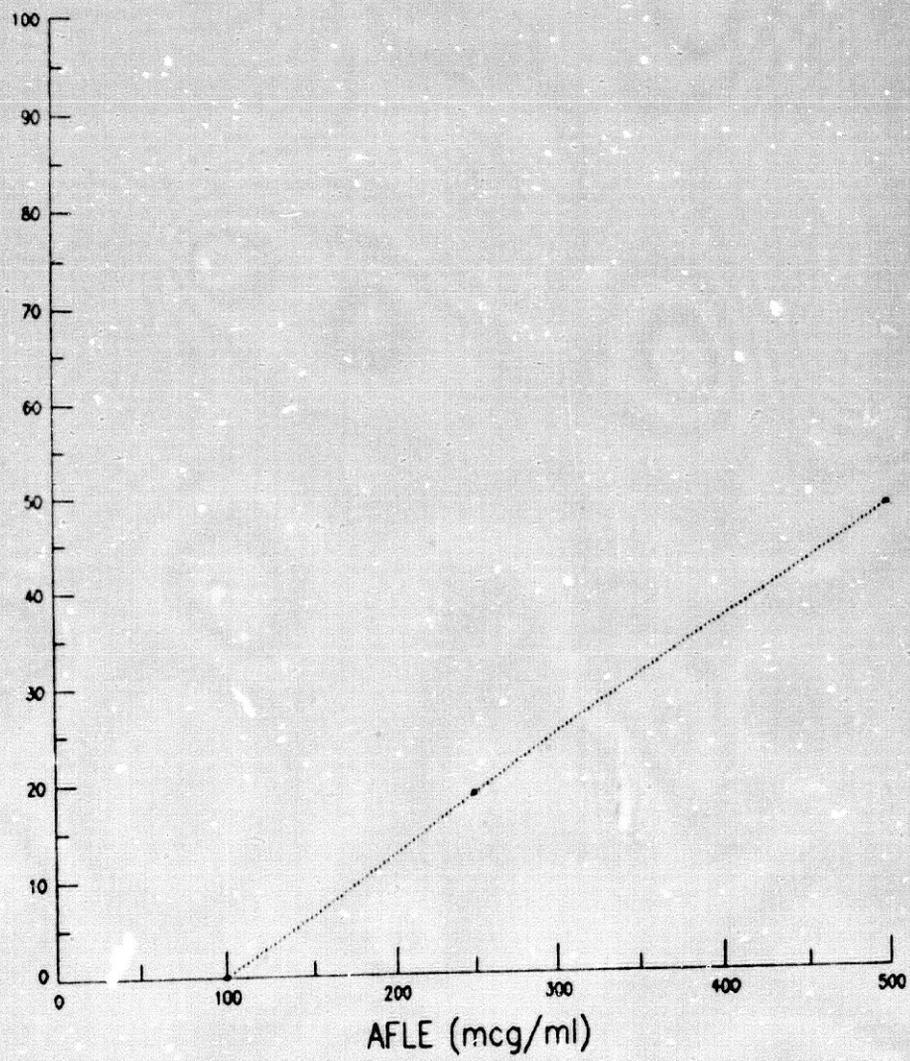


Tabla 63 y Gráfica 63

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 100000 cel/ml.

TABLA 63

Células: NIH 3T3 I
 Concentración celular: 100000 cel/ml

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPK) $\bar{X} \pm \text{SD}$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm \text{SD}$
100	119003 \pm 1982	0,0 \pm 1,9
250	51411 \pm 5621	50,6 \pm 5,4
500	21553 \pm 3606	79,3 \pm 3,5
CONTROL (MEDIO)	104037 \pm 9367	

GRAFICA 63

CELULAS: NIH 3T3 I (100000 cel/ml)

INHIBICION (%)

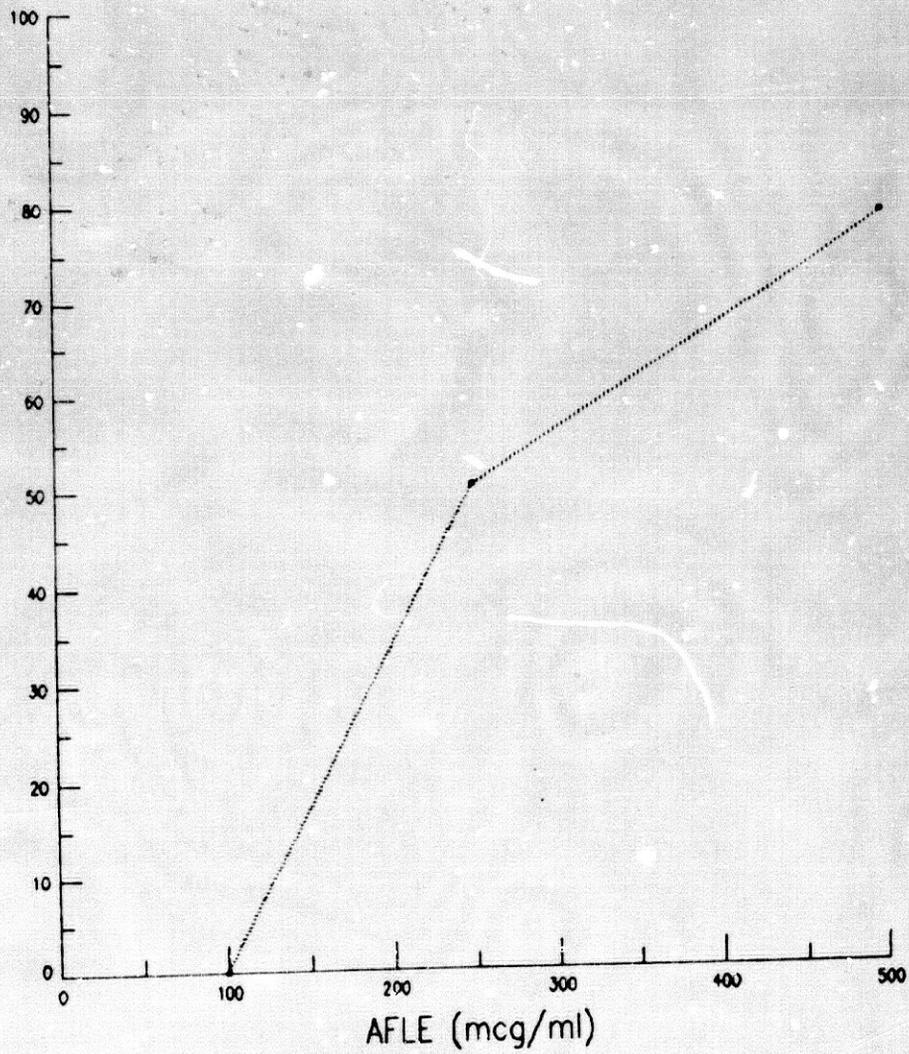


Tabla 64 y Gráfica 64

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ³H-Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a una concentración inicial de 200000 cel/ml.

TABLA 64

Células: NIH 3T3 I
 Concentración celular: 200000 cel/ml

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPN) $\bar{X} \pm \text{SD}$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm \text{SD}$
100	18629 \pm 4949	80,7 \pm 5,1
250	11337 \pm 1255	88,2 \pm 1,3
500	6901 \pm 693	92,8 \pm 0,7
CONTROL (MEDIO)	96421 \pm 22455	

GRAFICA 64

CELULAS: NIH 3T3 I (200000 cel/ml)

INHIBICION (%)

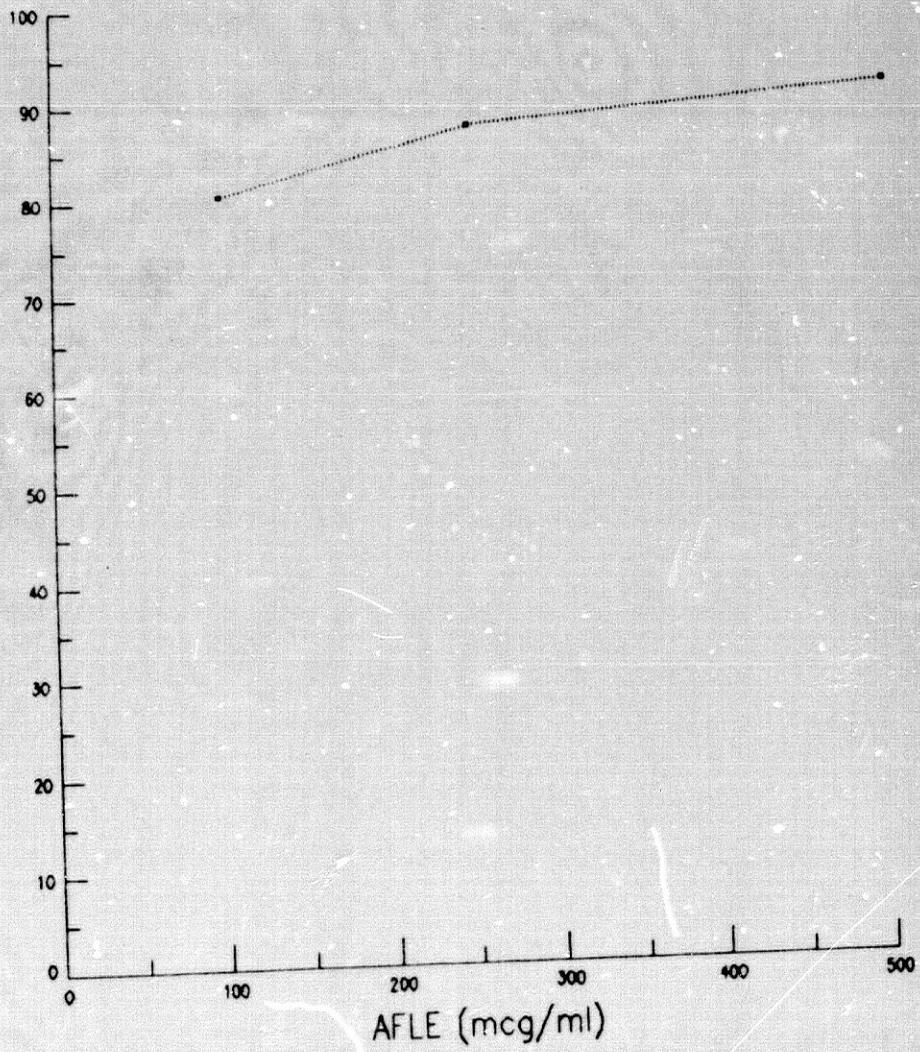


Tabla 65

Dosis I_{50} y C_{50} del efecto inhibitor del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a distintas concentraciones iniciales.

Gráfica 65

Dosis C_{50} del efecto inhibitor del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, a distintas concentraciones iniciales.

TABLA 65

AFLE
Células: NIH 3T3 I

CONCENTRACION CELULAR (cel./ml)	Iso ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	C ₅₀ (cel/ μg)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{Y} \pm \text{SD}$
20000	4944,7 \pm 46,5	4 \pm 0
50000	552,5 \pm 123,9	94 \pm 22
100000	255,2 \pm 19,8	393 \pm 30
200000	79,5 \pm 1,7	2518 \pm 54



GRAFICA 65

AFLE (CELULAS NIH 3T3 I)

C-50 (cel/mcg)

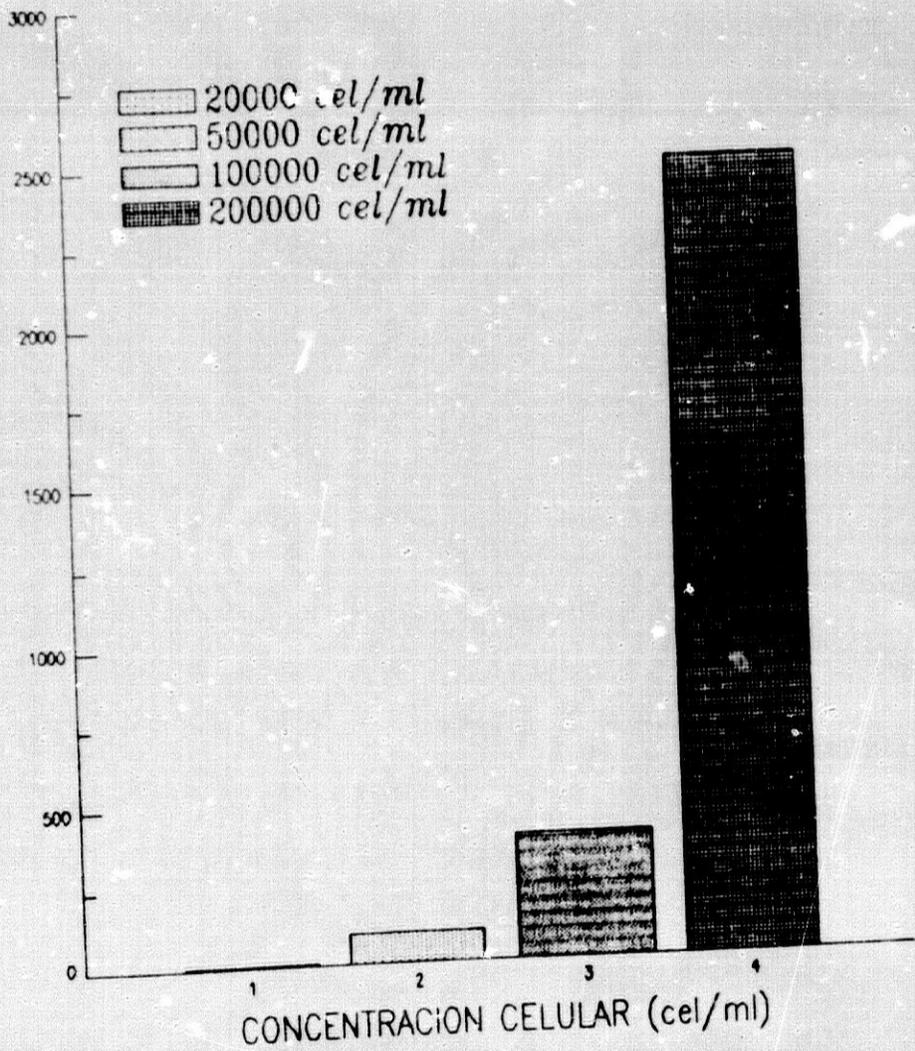


Tabla 66 y Gráfica 66

Inhibición producida por distintas concentraciones del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ³H-Timidina por parte de células NIH 3T3 T, a una concentración inicial de 200000 cel/ml.

TABLA 65

Células: NIH 3T3 T

AFLE ($\mu\text{g/ml}$)	CAPTACION DE ^3H -TIMIDINA (DPM)	INHIBICION (%)
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
100	825570 \pm 25654	9,4 \pm 2,8
250	662368 \pm 69102	27,3 \pm 7,6
500	523220 \pm 60378	42,6 \pm 6,6
CONTROL (MEDIO)	911586 \pm 8415	

GRAFICA 66

CELULAS: NIH 3T3 T

INHIBICION (%)

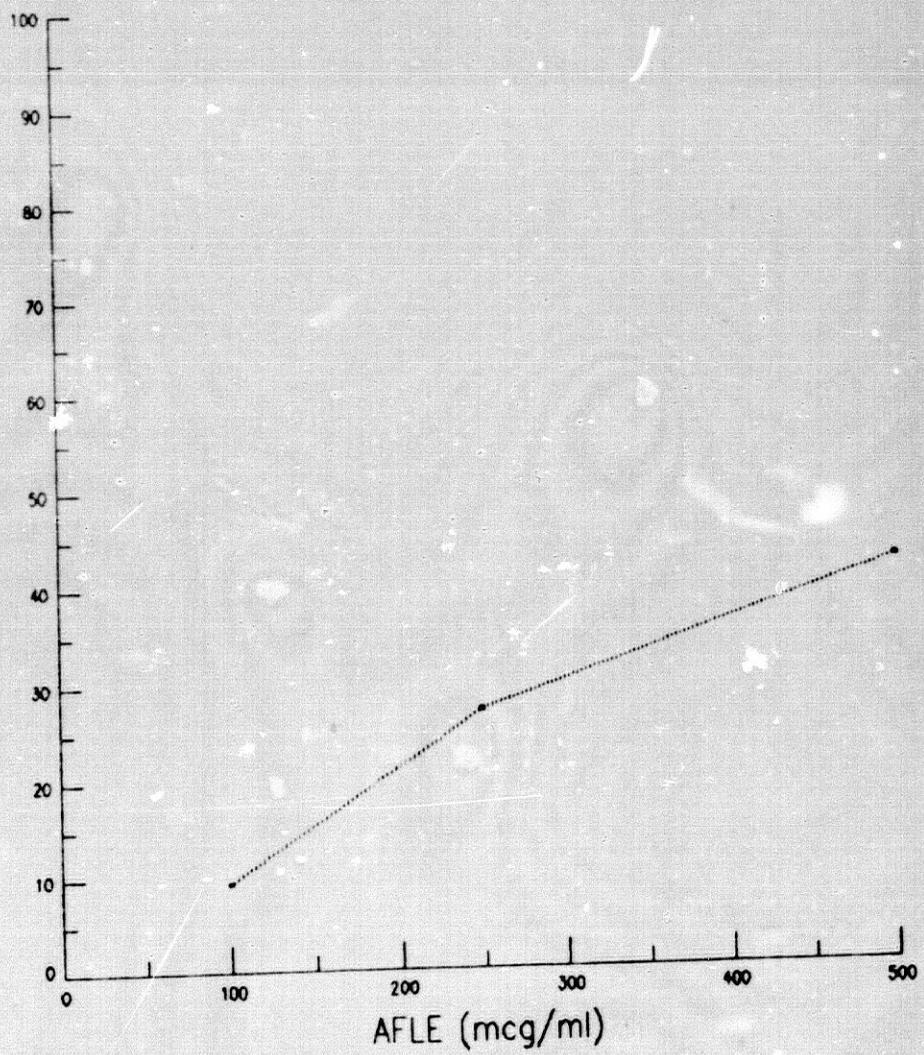


Tabla 67

Dosis I_{50} y C_{50} del efecto inhibidor del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I y por parte de células NIH 3T3 T.

Gráfica 67

Dosis C_{50} del efecto inhibidor del extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la incorporación de 3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I y por parte de células NIH 3T3 T.

TABLA 67

AFLE

TIPO DE CELULAS	I ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$	C ₅₀ ($\text{cel}/\mu\text{g}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$
- NIH 3T3 J	79,5 \pm 1,7	2518 \pm 54
- NIH 3T3 T	574,0 \pm 125,3	359 \pm 73

GRAFICA 67

AFLE

C-50 (ce¹/mcg)

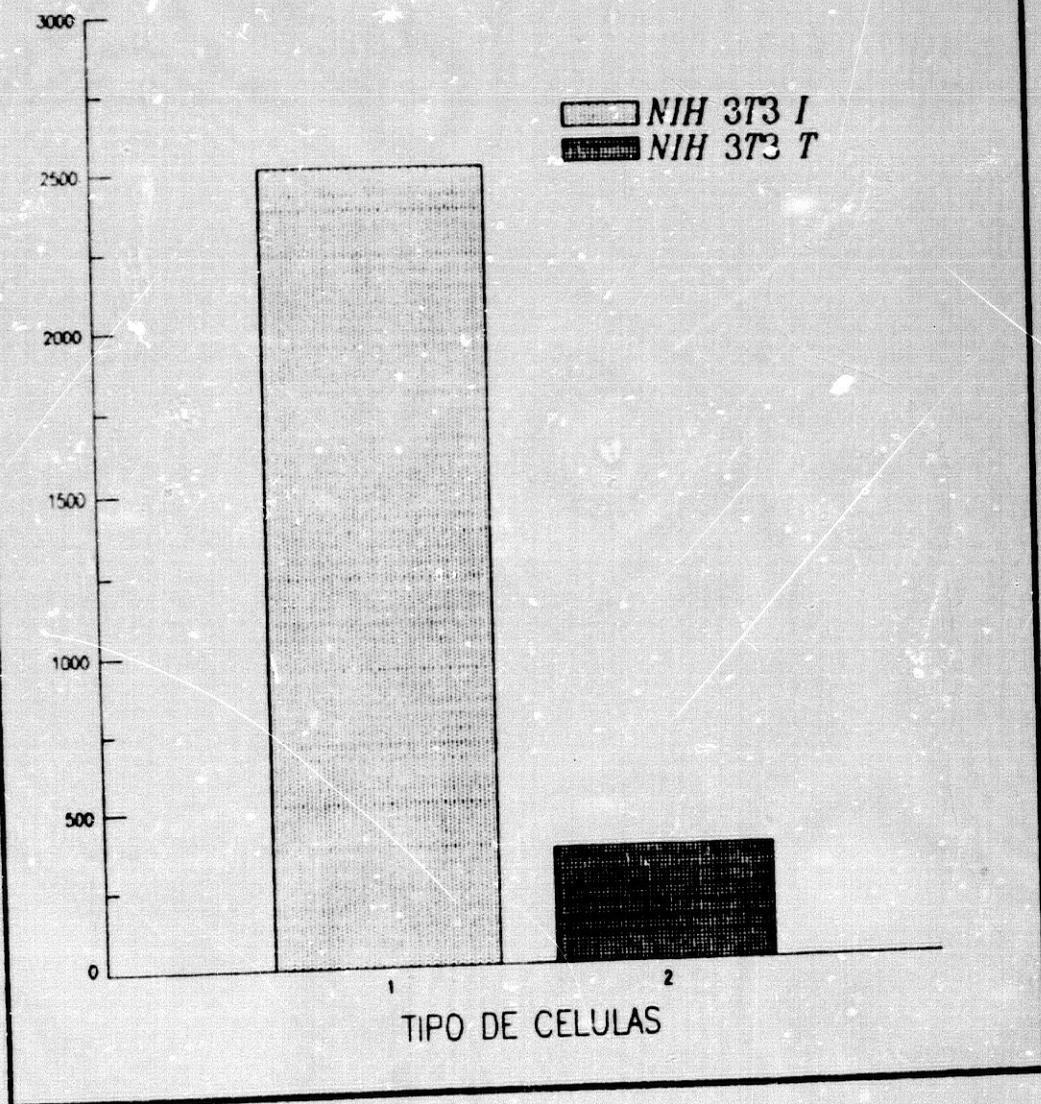


Tabla 68 A

Efecto inhibidor de una cantidad fija de extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

Tabla 68 B

Efecto inhibidor de una cantidad fija de extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 T, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

Gráfica 68

Efecto inhibidor de una cantidad fija de extracto lipídico de líquido amniótico (AFLE) sobre la captación de ^3H -Timidina por parte de células NIH 3T3 I y por parte de células NIH 3T3 T, para distintas concentraciones iniciales de las mismas (expresadas en términos de cel/ μg de extracto lipídico).

TABLA 68 A

Células: NIH 3T3 I
 AFLE: 500 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
40	AFLE	72336 ± 1284	4,3 ± 1,7
	MEDIO	75571 ± 1272	
100	AFLE	38845 ± 9514	49,2 ± 12,4
	MEDIO	76526 ± 16889	
200	AFLE	21553 ± 3606	79,3 ± 3,5
	MEDIO	104037 ± 9367	
400	AFLE	6901 ± 593	92,8 ± 0,7
	MEDIO	96421 ± 22455	
800	AFLE	45641 ± 6223	29,7 ± 9,6
	MEDIO	64963 ± 2615	

TABLA 68 B

Células: NIH 3T3 r

AFLE: 500 µg/ml

CONCENTRACION CELULAR (cel/µg)	PROBLEMA Y CONTROL	CAPTACION DE ³ H-TIMIDINA (DPM) $\bar{X} \pm SD$	INHIBICION (%) $\bar{X} \pm SD$
40	AFLE	3580 ± 1066	97,7 ± 0,7
	MEDIO	155097 ± 10220	
100	AFLE	13400 ± 4182	94,8 ± 1,6
	MEDIO	259894 ± 21387	
200	AFLE	145885 ± 26640	72,3 ± 5,1
	MEDIO	525810 ± 45408	
400	AFLE	338240 ± 42413	50,9 ± 5,4
	MEDIO	785533 ± 97853	
800	AFLE	414545 ± 16010	23,9 ± 2,9
	MEDIO	544380 ± 28580	