

Células sanas y de cáncer: efecto del ultrasonido en ellas, arquitectura y sus propiedades mecánicas.

Una revisión y propuesta de direcciones futuras de la investigación

Julio Gómez Girón

Centro Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CENIDET)

RESUMEN:

En este trabajo se presentan, con base a la literatura, las fuerzas mecánicas que actúan en el microambiente tumoral de cáncer y en las células cancerosas, se explica el comportamiento de algunos elementos subcelulares como los filamentos de actina, las nesprinas y los microtúbulos que son los que proporcionan a las células sus principales propiedades mecánicas. Se describe la forma en que se han modelado los filamentos de actina ya que por su abundancia y geometría son los más significativos al determinar sus propiedades mecánicas como el módulo de Young (E), coeficiente de amortiguamiento (c), relación de Poisson (RP) y su frecuencia natural (wn); existen claras diferencias entre las células sanas y cancerosas en cuanto a las propiedades mecánicas, esta última información se puede usar para hacer nuevos tratamientos contra el cáncer como el uso de ultrasonidos (US) para tratamiento del cáncer. Este trabajo explica las bondades del ultrasonido para combatir el cáncer haciendo uso de las vibraciones y el calor que genera y sus efectos con base a las propiedades mecánicas de las células sanas y malignas. En los trabajos reportados se observó que el US de alta y baja intensidad reduce el volumen de tumores malignos y benignos, sin embargo, para tumores metastásico el US se aplica junto con inmunoterapia por su alta peligrosidad, algunos experimentos prueban que el US no favorece la metástasis, sin embargo, no se tienen experimentos en humanos. Por lo tanto, el US es un tratamiento viable para el cáncer, pero aún es necesario hacer más estudios para asegurar resultados positivos en humanos, esto implica comprender mejor el efecto térmico y vibratorio del US en las células de cáncer ya que está directamente relacionado con el comportamiento mecánico de las células. Por último, se propone un modelo físico con las fuerzas mecánicas presentes sobre el núcleo celular.

1 INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las enfermedades que ha cobrado la vida de las personas en todo el mundo, por esto, se sigue en la búsqueda de nuevos tratamientos para combatir esta enfermedad con la idea de eliminar las células malignas que forman el cáncer sin hacer daño a las células sanas, una alternativa es el uso de ultrasonido (US) de alta y baja intensidad. En la literatura científica se observa que el medio por el cual hace daño es por las vibraciones mecánicas del US que a su vez genera fenómenos de aumento de temperatura y cavitación. Las propiedades mecánicas de los tejidos excitados con US determinan el daño que se les genera; por esta razón es importante conocer las propiedades mecánicas de las células cancerosas para fijar parámetros correctos del US.

2 OBJETIVO GENERAL

Conocer los efectos ultrasónicos, la arquitectura y propiedades mecánicas de células sanas y de cáncer

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Mostrar las fuerzas en el microambiente tumoral.
- 2 Conocer los elementos que presentan fuerzas en el citoesqueleto.
- 3 Mostrar métodos de análisis de las propiedades mecánicas de células y elementos subcelulares.
- 4 Conocer las frecuencias naturales de algunas células sanas y de cáncer.

6 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PROPIEDADES MECÁNICAS DE CÉLULAS Y ELEMENTOS CELULARES

- **Microscopía de fuerza atómica:** Se usa un indentador en voladizo para penetrar la membrana nuclear (MN) o membrana plasmática (MP), se mide la deformación y se calcula las propiedades con el modelo de contacto de Hertz.
- **Aspiración de micropipetas:** Se aplica una presión negativa para succionar parcialmente una célula en una micropipeta, se mide la longitud de la celda extruida en la micropipeta y se usa el modelo matemático adecuado para determinar las propiedades mecánicas de la célula.
- **Pinzas ópticas:** Utilizan un rayo láser altamente enfocado atrapa y manipula una partícula dieléctrica microscópica, basándose en la discordancia del índice de refracción entre la partícula y la solución circundante. Al atrapar una micropipeta con el láser, se pueden usar pinzas ópticas para realizar mediciones de indentación o estiramiento en las células para determinar las propiedades mecánicas.
- **Pinzas magnéticas:** Se integra la espectroscopia Brillouin con microfluidos para utilizar la dispersión de luz como parámetro para medir las propiedades mecánicas nucleares, proporcionando un método sin contacto y altamente sensible para detectar la rigidez nuclear.

3 FUERZAS MECÁNICAS QUE ACTÚAN EN EL MICROAMBIENTE TUMORAL DE CÁNCER

La evolución de las fuerzas mecánicas en el tumor es, 1 a medida que las células tumorales proliferan generan tensiones como resultado del crecimiento tumoral, 2 estas tensiones se transmiten a la matriz extracelular que generan fuerzas de compresión radiales y fuerzas de tracción circunferenciales, 3 la matriz extracelular se vuelve más rígida y densa, 4 la matriz se reorganiza favoreciendo la invasión de las células tumorales, 5 a medida que aumenta la presión del líquido en el tumor debido al aumento de la angiogénesis asociada al tumor, aumenta el flujo intersticial y el drenaje linfático, 6 las células tumorales pueden utilizar este flujo para generar gradientes autólogos, 7 al mismo tiempo, el flujo intersticial induce la diferenciación de miofibroblasto, 8 el flujo intersticial induce la secreción de quimiocinas linfáticas, ver fig. 1.

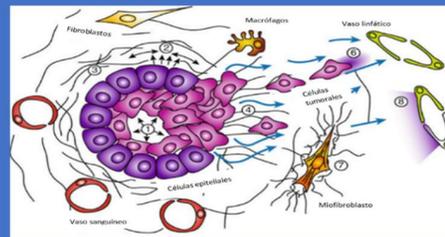


Fig. 1. Esquema de las fuerzas biomecánicas en el microambiente tumoral (Shieh, 2011).

4 FUERZAS PRESENTES EN LAS CÉLULAS

El núcleo de una célula eucariota se mantiene fija por los enlaces de nucleoesqueleto y citoesqueleto, sobre la membrana nuclear está el péptido KASH, este péptido se conecta con proteínas gigantes llamadas nesprinas de tipo 1,2,3 y 4. Las nesprina 1 se enlaza con los filamentos de actina, nesprina 2 con alfa actinina, nesprina 3 con plectina y filamentos intermedios, nesprina 4 con microtúbulos (fig. 2). Según varios autores, los elementos que fijan con fuerza significativa al núcleo celular son el KASH, la nesprina 1 y los filamentos de actina. A su vez una de las diferencias más importantes entre una célula sana y una maligna es en el número de filamentos de actina, mientras más maligno es una célula menos filamentos de actina tiene y viceversa (fig. 3).

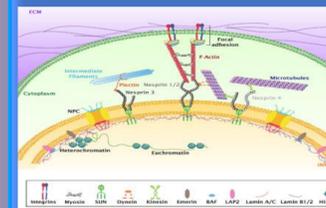


Fig. 2. Elementos del núcleo (Modificada de Song et al., 2019).

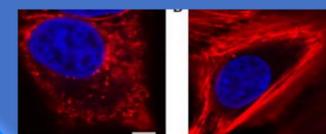


Fig. 3. F-actina (rojo) en células MCF-7 (der) y MCF-10a (izq) (Li et al., 2008).

5 MODELADO DEL CITOESQUELETO

Los péptidos KASH, las nesprinas y filamentos de actina se presentan como un cable extendido al exterior de la membrana nuclear. Sin embargo, a distancias más lejanas del núcleo los filamentos de actina forman una red muy compleja, las maneras en que se analiza son: 1 El enfoque continuo describe una sola célula como un citoplasma continuo cubierto por una membrana cortical, 2 el citoesqueleto como red interconectada de cables que representan los filamentos de actina a tensión y puntales que representan a los microtúbulos a compresión, 3 enfoque híbrido que combina enfoque continuo con el enfoque de tensegridad. En la fig. 4 se observa un ejemplo de tensegridad celular.

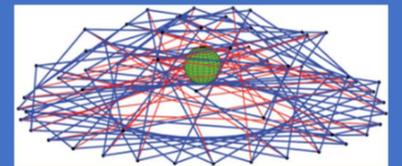


Fig. 4. Modelo de actinas y microtúbulos (Wang et al., 2020).

7 FRECUENCIA NATURAL DE CÉLULAS

Geltmeier et al., 2015 calcularon las frecuencias naturales (Wn) de células MCF-7 (cancerosa) y MCF-10a (sana), en 21 KHz y 34 KHz, respectivamente. Irradiaron con ultrasonido (US) a ambas líneas celulares con 24.5 KHz de frecuencia y 1.65 W/cm² de intensidad del US, con estos parámetros murieron células MCF-7, pero las células MCF-10a no sufrieron daño; con 29.4 KHz a 1 W/cm² de intensidad, las células MCF-10a murieron en gran número, dañando muy poco a las células MCF-7. A frecuencias superiores a 51.2 KHz no se observaron daños en ambas líneas celulares. Un reciente estudio da valores significativamente diferentes, ver tabla1, considerando a las células como sistemas homogéneos (M1) y no homogéneos (M2).

Se debe considerar el tiempo de exposición del US en el tejido, ya que el tiempo prolongado de US, los tejidos se pueden dañar severamente, fig. 6.

Tabla 1. Frecuencias naturales de célula MCF-7 y MCF-10a (Mubeen et al. 2020).

Modos	Wn (Hz)			
	MCF-7		CMF-10A	
	M1	M2	M1	M2
1	9.61	5.76	22.94	14.24
2	9.65	5.79	22.99	14.28
3	12.85	8.71	30.56	21.04
4	16.46	9.40	36.47	21.79

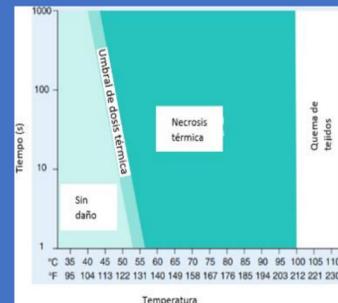


Fig. 5. Efectos por la exposición de calor en tejidos biológicos (Foley et al., 2013).

8 EXPERIMENTOS CON CÁNCER ALTAMENTE METASTÁSICOS

Yu et al., 2020, trataron tumores de cáncer altamente metastásicos de ratones con ultrasonido focalizado (HIFU) de alta intensidad, a doce días de tratamiento se redujo el número de células tumorales circundantes (CTC's) en los ratones, en los ratones sin HIFU las CTC's siguieron en aumento según avanzaban los días, HIFU también, reduce el volumen de los tumores de cáncer.

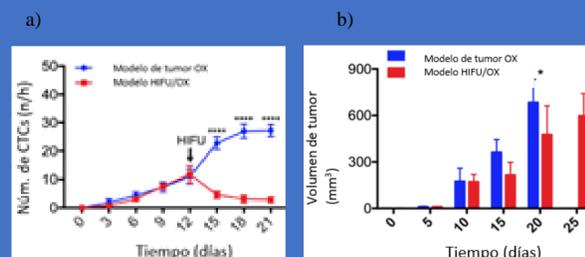


Fig. 6. Modelos de células con HIFU a) Gráfica del análisis de tasa de CTC's por hora b) Cambio de volumen del tumor con y sin HIFU (Yu et al., 2020).

10 CONCLUSIONES

1 Las células de cáncer tienen menor Módulo de Young (E) que sus homólogos sanas (ver tablas presentadas en el video). 2 Los filamentos de actina en contacto con la Nesprina son los que principalmente tensan y fijan al núcleo celular. 3 La cantidad de actina en la célula son en gran parte, las que determinan su módulo de elasticidad. 4 El tejido tumoral cancerígeno tiene mayor E que el tejido sano, por los elementos en tensión de la zona intersticial. 5 Las propiedades mecánicas (E, Wn etc.) de las células sanas y cancerosas son diferentes. 6 Los trabajos del año 2020 reportan que el tratamiento con US, no favorece a la metástasis. 8 La aplicación del US debe enfocarse a las Wn de las células de cáncer y verificar a que intensidades se les hace daño, sin dañar células sanas.

9 REPRESENTACIÓN DE LOS ELEMENTOS DE TENSIÓN EN EL CITOESQUELETO CELULAR

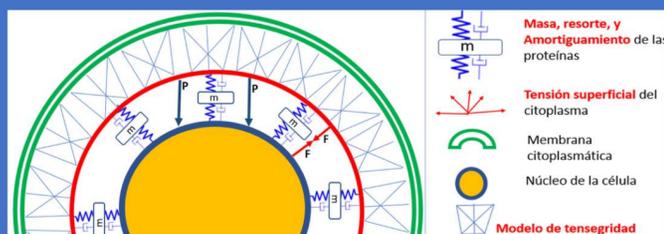


Fig. 7. Modelo físico que considera las fuerzas más significativas que tensa a la MN.

11 REFERENCIAS

- Shieh, A. C. (2011). Biomechanical forces shape the tumor microenvironment. *Annals of Biomedical Engineering*, 39(5), 1379–1389. <https://doi.org/10.1007/s10439-011-0252-2>
- Song, Y., Soto, J., Chen, B., Yang, L., & Li, S. (2020). Cell engineering: Biophysical regulation of the nucleus. *Biomaterials*, 234(January). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119743>
- Li, Q. S., Lee, G. Y. H., Ong, C. N., & Lim, C. T. (2008). AFM indentation study of breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 374(4), 609–613. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.07.078>
- Wang, X., Zhu, H., Lu, Y., Wang, Z., & Kennedy, D. (2020). The elastic properties and deformation mechanisms of actin filament networks crosslinked by filamins. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 112(November 2019), 104075. <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2020.104075>
- Coccano, M.S. Yousafzai, W. Ma, F. Ndoye, L. Venturelli, I. Hussain, S. Bonin, J. Niemela, G. Scoles, D. Cojoc, E. Ferrari, Investigation into local cell mechanics by atomic force microscopy mapping and optical tweezer vertical indentation, *Nanotechnology* 27 (2016) 065102, <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/6/065102>.
- Nyberg, K.H. Hu, S.H. Kleinman, D.B. Khismatullin, M.J. Butte, A.C. Rowat, Quantitative deformability cytometry: rapid, calibrated measurements of cell mechanical properties, *Biophys. J.* 113 (2017) 1574–1584, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.06.073>.