

Efecto de la compactación del tumor en la penetración de células del sistema inmune

Ismael Perisé-Badía¹, Clara Bayona¹, Teodora Randelović^{1,2}, Ignacio Ochoa^{1,2}

¹ Tissue Microenvironment Lab (TME Lab), IISA, Zaragoza, Spain
Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)
Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.
Tel. +34-976762707, e-mail: iperise@unizar.es

² Centro de Investigación Biomédica en red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Zaragoza, Spain

Resumen

El objetivo principal de este proyecto es comprender mejor los obstáculos que encuentran las células inmunes al combatir tumores de glioblastoma. Un ejemplo es el alto grado de compactación de estos tumores, que dificulta la penetración de células y fármacos. Este fenómeno puede revertirse con determinados compuestos, como la blebistatina.

Introducción

Glioblastoma: Importancia y dificultades

El glioblastoma es el tipo de cáncer de cerebro más común, y uno de los tipos de cáncer con mayor tasa de mortalidad, debido principalmente a la resistencia a los tratamientos, y a una gran capacidad de reparación tras la cirugía [1]. Además, los tumores de glioblastoma generan un ambiente muy desfavorable para las células del sistema inmune, limitando su acción, por lo que la inmunoterapia tradicional no es eficaz contra este tipo de cáncer [2].

El objetivo principal de este proyecto es comprender mejor los obstáculos que encuentran las células del sistema inmune al tratar de combatir el glioblastoma, para conseguir eliminar estos obstáculos y potenciar las defensas del propio paciente contra el tumor.

Técnicas avanzadas

Gracias al uso de cultivos celulares tridimensionales (esferoides) se pueden reproducir en el laboratorio las condiciones de estos tumores y su entorno, con el objetivo de comprender mejor los mecanismos de inhibición del sistema inmune y buscar nuevas estrategias que aumenten el efecto de las células que defienden nuestro organismo.

El cocultivo de dichos esferoides junto a células del sistema inmune extraídas de sangre periférica permite la observación y estudio de la acción de estas

células cuando se encuentran en presencia de estructuras tridimensionales tumorales, con la posibilidad de modular diversos parámetros tanto del propio esferoide como del entorno. ellas.

Nuestro enfoque

Para recrear microtumores de glioblastoma, se han usado células de la línea comercial U-251 MG y células primarias procedentes de pacientes de glioblastoma. El protocolo de generación de esferoides ha sido el mismo para los dos tipos celulares, y se basa en el método “non-adherent surface”, que consiste en sembrar las células en pocillos de fondo curvo pretratados con solución anti-adherente, y acumular todas esas células en el fondo del pocillo mediante centrifugación. Se han preparado esferoides con diferentes cantidades de células para poder estudiar las diferencias en la compactación dependiente del número de células que forman cada esferoide.

Como se había observado previamente [3], se ha confirmado que los esferoides formados por células de la línea U-251 MG, como, sobre todo, por células extraídas de pacientes de glioblastoma (primarias), van reduciendo su tamaño con el paso del tiempo, debido a potentes fuerzas intercelulares que causan la compactación del esferoide.

Para intentar reducir esta compactación se ha utilizado blebistatina, un inhibidor de la actividad de la miosina II, que reduce la contractilidad celular [4]. Este compuesto fue añadido a los esferoides previamente generados, tanto de células U-251 MG, como de células primarias procedentes de pacientes, en distintas concentraciones en un rango de entre 1 y 20 µg/mL.

La blebistatina a una concentración de 1 µg/mL no produjo efectos significativos relacionados con el grado de compactación de los esferoides, mientras que, a una concentración alta, de 20 µg/mL, causaba

su descompactación total, y consiguiente ruptura. A una concentración intermedia, de 10 $\mu\text{g/mL}$, sin embargo, este compuesto es capaz de reducir la fuerza de compactación de los esferoides de glioblastoma, tanto en el caso de la línea celular U-251 MG como en el caso de células primarias procedentes de pacientes (Fig. 1).

Conclusiones y trabajo futuro

La blebistatina ha demostrado ser un compuesto capaz de relajar las fuerzas intercelulares presentes en los esferoides de glioblastoma, reduciendo así el grado de compactación de estos esferoides.

Con el objetivo de cuantificar dicha compactación, se van a realizar ensayos de rigidez antes y después de la adición de blebistatina.

Además, al obtenerse esferoides más laxos, podría ser más factible el acceso de células inmunes y fármacos a su interior. Por esta razón, los siguientes pasos a llevar a cabo tras estos experimentos se basan en la adición de células inmunes, anticuerpos, y moléculas pequeñas rastreables, como la glucosa fluorescente, con el objetivo de comparar su

penetración en el interior del esferoide con y sin el efecto de la blebistatina.

REFERENCIAS

- [1]. TAN, A.C. et al., Management of Glioblastoma: State of the Art and Future Directions. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2020, 70 (4), 299-312. Available from: <https://doi.org/10.3322/caac.21613>
- [2]. LIM, M. et al., Current state of immunotherapy for glioblastoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2018, 15, 422–442. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0003-5>
- [3]. CARRASCO-MANTIS, A. et al., A mechanobiological model for tumor spheroid evolution with application to glioblastoma: A continuum multiphysics approach. *Computers in Biology and Medicine*. 2023, 159. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2023.106897>
- [4]. ROMAN, B.I., VERHASSELT, S., STEVENS, C.V., Medicinal Chemistry and Use of Myosin II Inhibitor (S)-Blebbistatin and Its Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2018, 61 (21), 9410-9428. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00503>

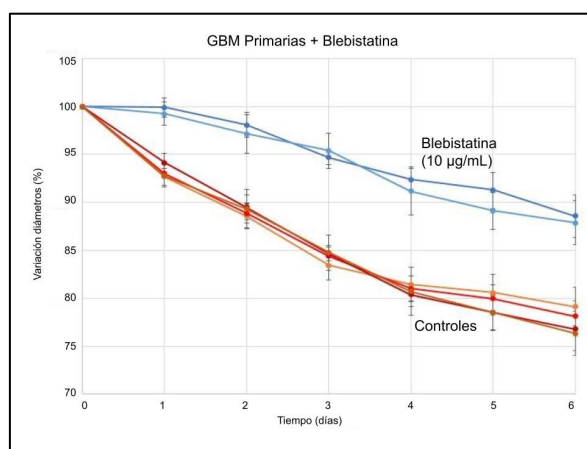


Figura 1: Evolución del diámetro de esferoides formados a partir de células tumorales de pacientes de glioblastoma.