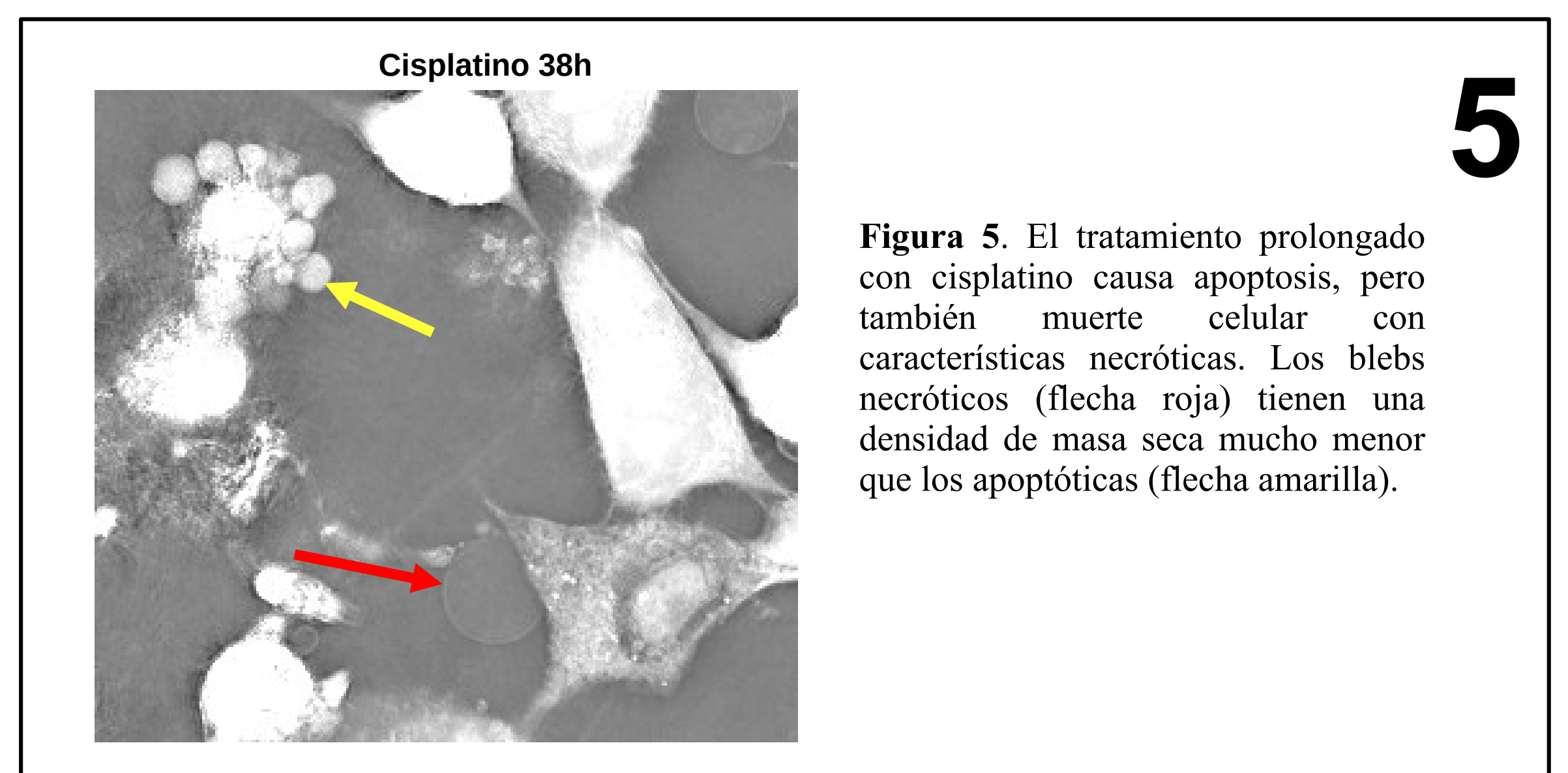
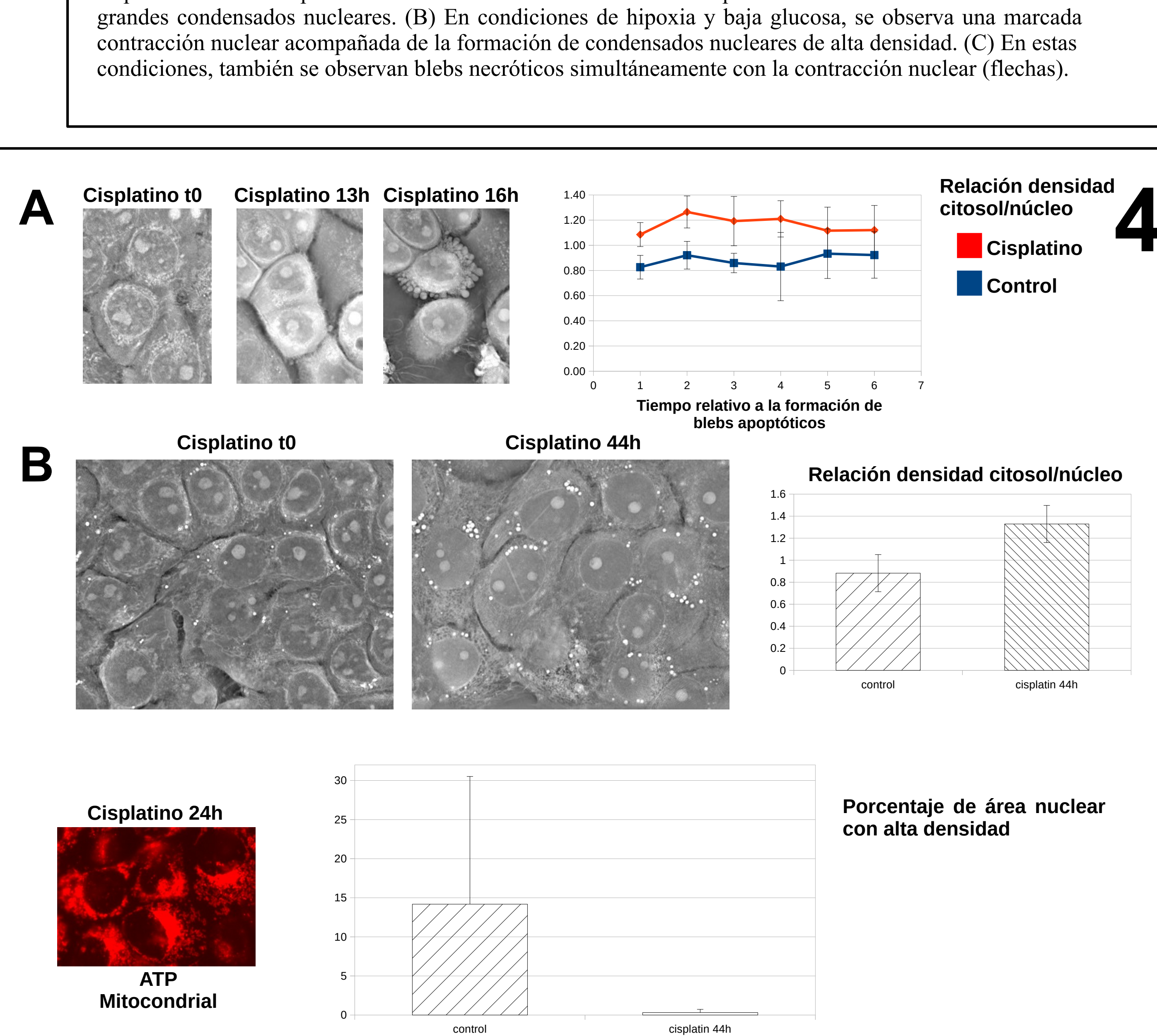
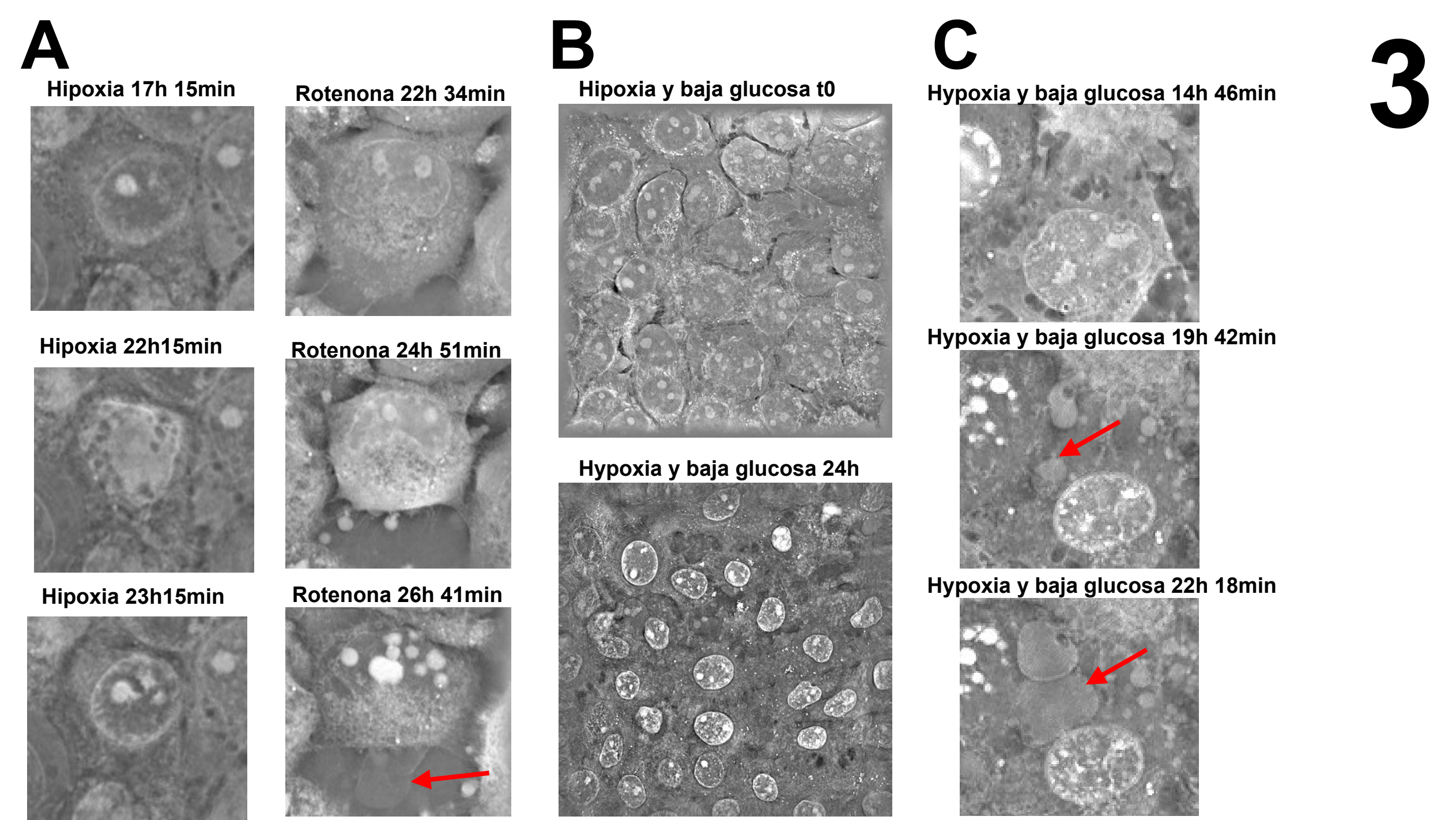
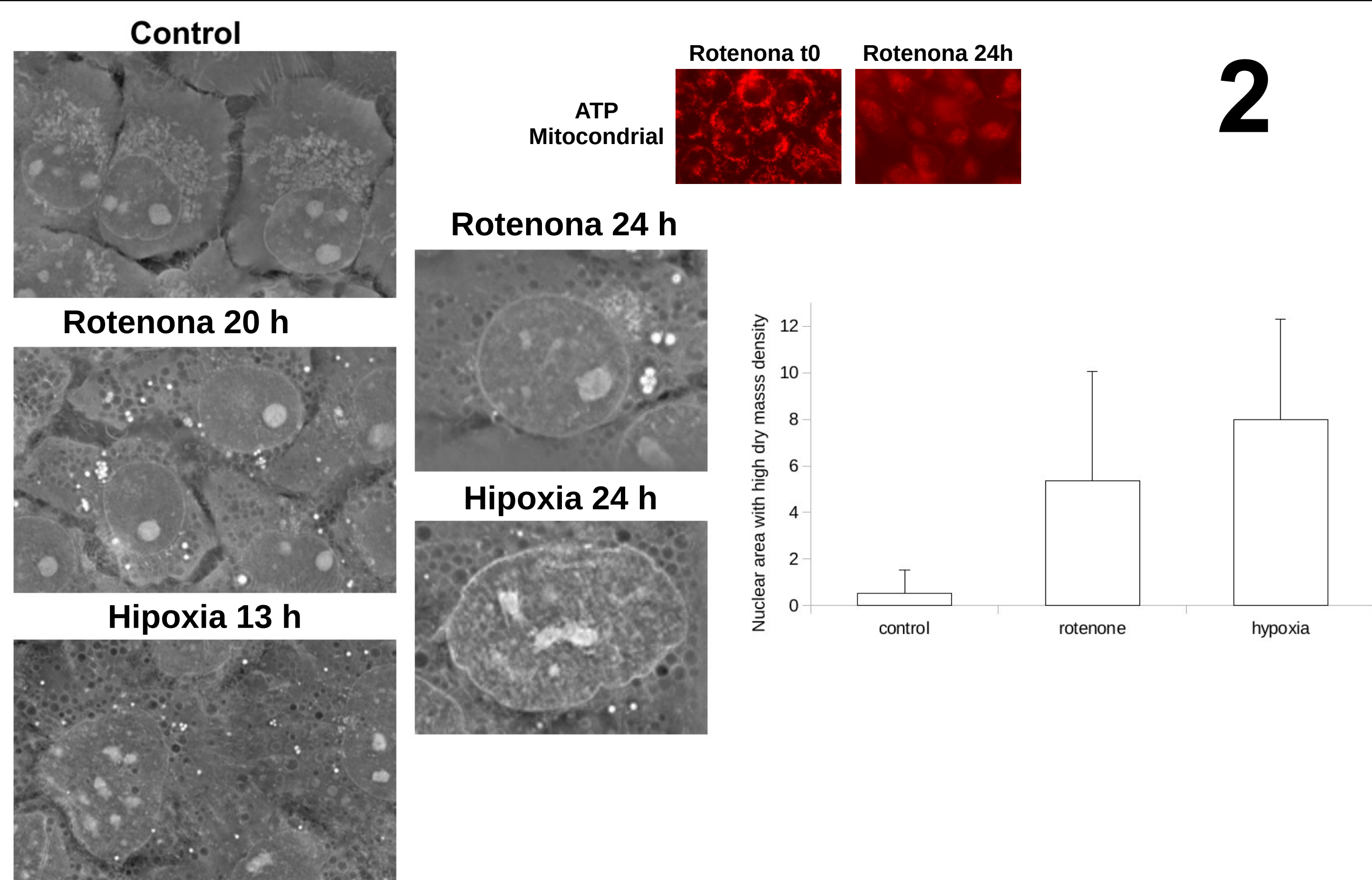
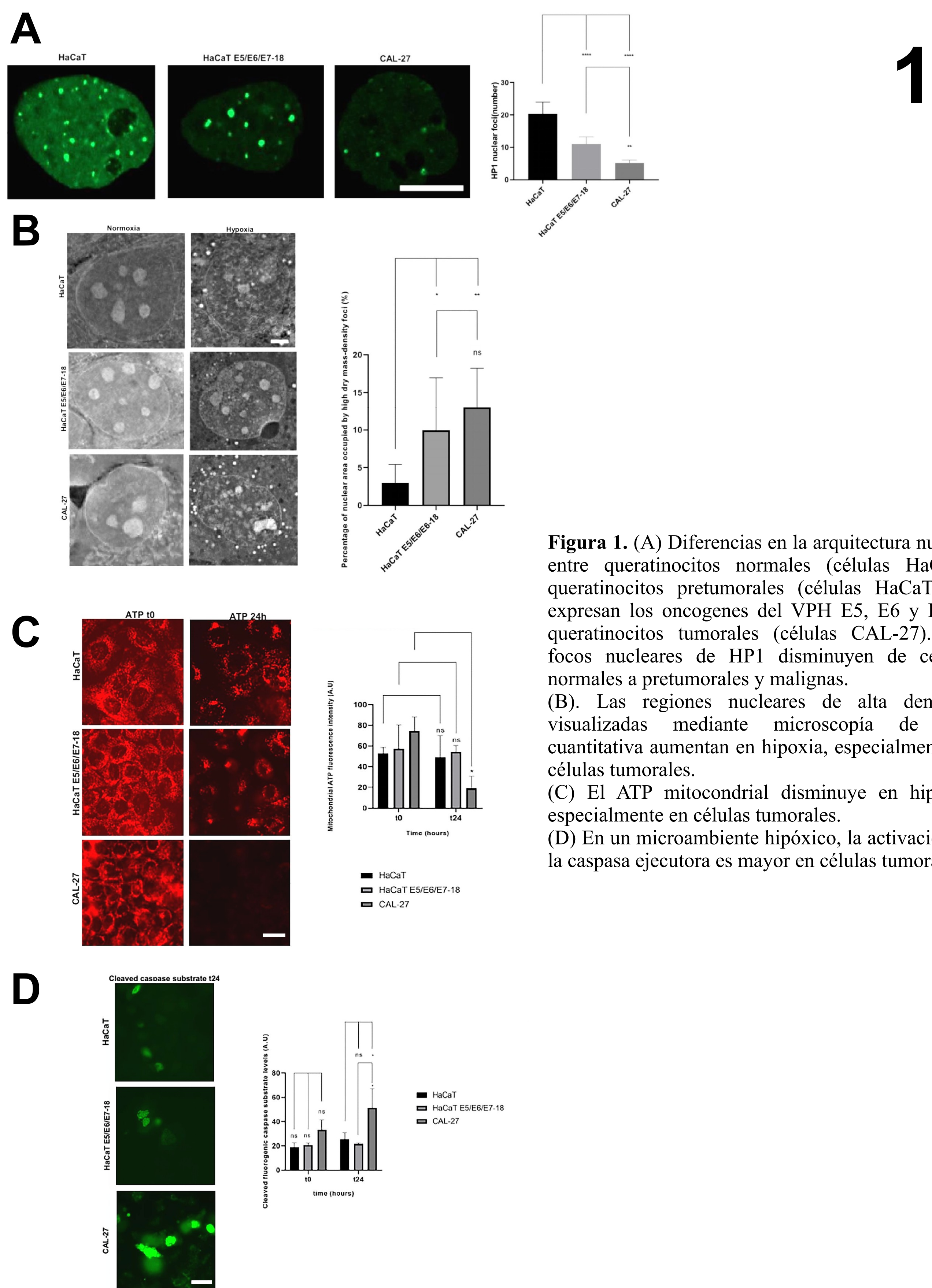


Felipe Parietti¹, Miguel Arocena¹, Magdalena Millán¹, María Cecilia De Rossi², Valeria Levi², Jimena Hochmann³

¹Departamento de Biología Odontológica, Facultad de Odontología, Universidad de la República ²Laboratorio de Dinámica Intracelular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina

³Departamento de Diagnóstico en Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de la República
feparietti@gmail.com

El microambiente tumoral es un entorno alterado que impone múltiples presiones selectivas que conducen a la supervivencia y diseminación de subpoblaciones de células tumorales agresivas que posteriormente puede sobrevivir a otras fuentes de estrés, como la quimioterapia y la radioterapia. En este trabajo, sometimos células pretumorales y tumorales a hipoxia inducida por cubreobjetos, que recapitula la hipoxia intracelular característica del microambiente tumoral temprano, y utilizamos una combinación de microscopía de fase cuantitativa y epifluorescencia para analizar diversas respuestas celulares a este entorno alterado. En normoxia, las células tumorales mostraron diferencias en la organización nuclear, evidenciadas por la disminución del número de focos HP1, y en hipoxia se observaron cambios importantes en la arquitectura nuclear, con un aumento significativo en el número de focos de alta densidad de masa seca en el núcleo de las células tumorales, en comparación con las células pretumorales y no tumorales. Por el contrario, en comparación con las células pretumorales y normales, los niveles de ATP mitocondrial disminuyeron notablemente en las células tumorales en hipoxia, mientras que la activación de las caspasas ejecutoras solo aumentó en las células tumorales en esta condición. Por lo tanto, en términos de organización celular, cambios metabólicos y activación de los procesos de muerte celular, las células tumorales mostraron respuestas más drásticas a un microambiente alterado que sus contrapartes pretumorales y normales. También hemos comenzado a estudiar las respuestas de las células tumorales y pretumorales al cisplatino y la radiación UV, demostrando que ambos tratamientos causan alteraciones marcadas en la arquitectura nuclear, que actualmente buscamos caracterizar con mayor profundidad.



CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

- Las células no tumorales, pretumorales y tumorales muestran respuestas distintas en un microambiente hipóxico.
- Tanto la hipoxia como la muerte celular necrótica inducida por rotenona muestran cambios drásticos en la densidad de masa seca, en consonancia con cambios marcados en la entrada y salida de agua. En las etapas finales, las células se hinchan y forman blebs necróticos de baja densidad, pero los núcleos se contraen, mientras que el área nuclear ocupada por condensados de alta densidad aumenta notablemente. Esto concuerda con la hipótesis de que los condensados nucleares liberan agua libre, que fluye del núcleo al citosol.
- La apoptosis causada por cisplatino muestra un fenómeno inverso, con contracción celular y aumento de la densidad de masa seca citosólica, formación de blebs de alta densidad y disminución de los condensados nucleares de alta densidad, que se mantiene en las células que sobreviven a una exposición prolongada al cisplatino. La disminución de los condensados nucleares podría ayudar a retener agua nuclear en condiciones de aumento de la densidad de masa seca citosólica.
- Las diferencias en la densidad de masa seca entre los blebs necróticos y apoptóticos podrían ayudar a distinguir ambos tipos de muerte celular mediante microscopía de fase cuantitativa.
- Se necesitan estudios futuros para abordar los mecanismos y el requerimiento energético de las disminuciones de los condensados nucleares causadas por el cisplatino.

REFERENCIAS

Millán M, Parietti F, Lamela F, De Rossi MC, Benítez B, Levi V, Domingues M, Bologna-Molina R, Arocena M, Hochmann J. Differential cell architecture and microenvironmental responses of pretumoral and tumoral cellular models exposed to coverslip-induced hypoxia. *Histochem Cell Biol.* 2025 Jan 3;163(1):23. doi: 10.1007/s00418-024-02350-5. PMID: 39751684.

Hochmann, J., Millán, M., Hernández, P., Lafon-Hughes, L., Aiuto, N., Silva, A., Llaguno, J., Alonso, J., Fernández, A., Pereira-Prado, V., Sotelo-Silveira, J., Bologna-Molina, R., & Arocena, M. (2023). Contributions of viral oncogenes of HPV-18 and hypoxia to oxidative stress and genetic damage in human keratinocytes. *Scientific reports*, 13(1), 17734.

D'Aiuto, N., Hochmann, J., Millán, M., Di Paolo, A., Bologna-Molina, R., Sotelo Silveira, J., & Arocena, M. (2022). Hypoxia, acidification and oxidative stress in cells cultured at large distances from an oxygen source. *Scientific reports*, 12(1), 21699.