

2010 Diciembre, 2(2): 1-2

ESTUDIO DE LA DINÁMICA DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS DE CÉLULAS TRANSFORMADAS

Huergo MAC^{a,c}, Pasquale MA^a, González PH^b, Bolzán AE^a, Arvía AJ^a

^aInstituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA, UNLP, CONICET), Sucursal 4, Casilla de Correo 16, (1900) La Plata, Argentina; ^bCátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas (UNLP), La Plata, Argentina.

e-mail: ^c mahuergo@inifta.unlp.edu.ar

Introducción

Una de las enfermedades con mayor morbimortalidad es el cáncer. Los factores que determinan su aparición, su velocidad de crecimiento y su invasividad han sido objeto de estudio exhaustivo desde hace varias décadas y mucho se ha avanzado en el conocimiento biomolecular y genético de esta patología. Una de las características encontradas en los crecimientos tumorales es que ellos presentan superficies cuyos contornos exhiben una geometría de tipo fractal. En este trabajo proponemos estudiar la dinámica del proceso de crecimiento de células transformadas a partir del análisis de los contornos de tipo fractal que presentan las colonias de células transformadas durante su crecimiento. Desde esta perspectiva, es posible analizar el comportamiento de la desviación estándar o "rugosidad" de los contornos en función del tiempo de crecimiento y el tamaño de la colonia y obtener parámetros que caractericen el "modo" de crecimiento de las mismas. La determinación de parámetros o "exponentes característicos" de la dinámica de crecimiento de las colonias permitiría establecer correlaciones con procesos de crecimiento en sistemas inorgánicos y asociarlo con alguna de las denominadas "clases universales", esto es, sistemas de distinta naturaleza que, sin embargo, siguen las mismas leyes de crecimiento.

Objetivo

El objetivo de este trabajo es encontrar un modelo que permita explicar la dinámica de crecimiento de colonias de células transformadas y que ayude predecir y eventualmente modificar su comportamiento.

Materiales y métodos

Experimental: se cultivaron en cápsulas de Petri células de las líneas Vero y HeLa. Para ambas líneas los cultivos se realizaron de manera tal de permitir desarrollar dos geometrías diferentes de crecimiento: a) con frente lineal; b) con frente radial. Las colonias fueron fotografiadas diariamente y a partir de la composición y análisis de las imágenes, se trazaron sus contornos empleando una tableta digital. A partir del tratamiento estadístico de los contornos obtenidos, se determinaron la dimensión fractal, la altura (sistema lineal) o radio (sistema radial) medio, la velocidad media de avance del frente y la rugosidad del contorno en función del tiempo de crecimiento y el tamaño del frente de crecimiento. Asimismo, se analizaron los cambios de morfología de las células en función del tiempo de crecimiento, distribución de tamaños y simetrías, a partir de colonias fijadas y teñidas empleando May-Grünwald Giemsa. La viabilidad de las células fue controlada mediante el test de exclusión de Tripán Blue.

Resultados

El análisis de la morfología y distribución celular en el tiempo muestra que las colonias varían desde sistemas homogéneos hacia sistemas con células de diferentes tamaños, muy pequeñas en el centro y muy grandes, multi-nucleadas y filiformes en la periferia. El análisis de los contornos muestra que las colonias se expanden con una velocidad de crecimiento lineal de $0.22 \pm 0.09 \text{ } \mu\text{m}/\text{h}$ a excepción de los sistemas radiales pequeños que presentan velocidades menores. También se observa que la dimensión fractal alcanza un valor de 1.25 ± 0.05 que se mantiene en el tiempo, independientemente del sistema estudiado. A partir del análisis de la rugosidad de los contornos con el tiempo de crecimiento y el tamaño del frente de crecimiento considerado, se obtuvieron los parámetros de crecimiento $\alpha = 0.50 \pm 0.05$ y $\beta = 0.33 \pm 0.02$.

2010 Diciembre, 2(2): 2-2

Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que las colonias crecen con velocidad lineal y la rugosidad de su contorno aumenta con el tiempo y con el tamaño del sistema siguiendo una ley de potencias. Los parámetros de crecimiento obtenidos coinciden con los esperados para el mecanismo universal de crecimiento propuesto por Kardar, Parisi y Zhang, que para el caso del crecimiento fractal de la colonia significa que está gobernado por tres factores: i) la duplicación celular al azar; ii) la tensión superficial de la colonia que tiende a suavizar el contorno; iii) el crecimiento lateral del contorno por aparición o deformación de células aumentando la ramificación de la colonia.