

Titolo: Prospettive della comunicazione cellulare attraverso il tunneling dei nanotubi nelle cellule tumorali e la implicazioni per gli effetti delle radiazioni - Perspectives of cellular communication through tunneling nanotubes in cancer cells and the connection to radiation effects

Codice: MUT007

Autore: Matejka e Reindl

Data: 2019

Rivista: Radiation Oncology 14, 218

Argomento: mutagenesi

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.1186/s13014-019-1416-8>

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31796110/>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2022/03/08/mut007-matejka-e-reindl-2019/>

Parole chiave: cancro, comunicazione cellulare, radioresistenza, tunnelling (formazione di tunnel) di nanotubi

Tumore: n/a

Traduzione: traduzione dell'intero articolo con minime semplificazioni

Punti di interesse

Durante la vita e lo sviluppo cellulare, è fondamentale che le cellule abbiano la possibilità di comunicare tra loro. Senza questo strumento essenziale, le cellule non sono in grado di coordinarsi e organizzarsi in sistemi cellulari complessi come tessuti, organi e/o organismi. Soprattutto in situazioni di stress, che influenzano la sopravvivenza cellulare sia direttamente danneggiando il DNA, sia indirettamente limitando la funzionalità degli organelli cellulari, la comunicazione gioca un ruolo chiave per la sopravvivenza di un composito cellulare come già noto da diversi decenni. Inoltre, il trasferimento di organelli cellulari, proteine o segnali da cellule sane a cellule non sane può portare a una maggiore capacità di sopravvivenza cellulare allo stress.

La comunicazione cellulare gioca un ruolo chiave in diversi tipi di cancro. Come è noto infatti il potenziale invasivo e la resistenza alla chemioterapia sono legati a una maggiore attività di comunicazione nelle cellule tumorali. La comunicazione tra cellule, indotta ad esempio dalla radioterapia causa effetti non mirati, ovvero effetti in cellule sane non necessariamente irradiate. Gli effetti non mirati, chiamati anche effetti Bystander, sono effetti tali che le cellule non irradiate mostrano una risposta alle radiazioni, mostrano cioè instabilità genomica, aumento dell'apoptosi e aumento del danno al DNA. Queste risposte in queste cellule sono state attribuite al trasferimento diretto di una informazione attraverso giunzioni gap o tramite fattori chimici come vescicole simili a esosomi, che vengono rilasciate dalle cellule irradiate nell'ambiente circostante. I meccanismi molecolari di base che innescano questi effetti, e in particolare il modo in cui la comunicazione

cellulare svolga un ulteriore ruolo nel potenziamento indotto dalle radiazioni del potenziale invasivo e migratorio di alcuni tipi di tumore, è ampiamente sconosciuto e un obiettivo importante della ricerca attuale.

La comunicazione cellulare può essere suddivisa in due gruppi, di contatto e non di contatto. La comunicazione di contatto fornisce un trasferimento di segnali e molecole più rapido e diversificato rispetto alla comunicazione senza contatto. La formazione di tunnel di nanotubi (TNT) rappresentano un nuovo tipo di strumento di comunicazione di contatto diretto tra le cellule. I TNT sono strutture di membrana sottili e diritte, che connettono cellule su lunghe distanze. Negli ultimi 15 anni, la ricerca ha rivelato una grande diversità per quanto riguarda la morfologia, la composizione e la funzione di queste connessioni di membrana. È generalmente accettato che facilitino il trasferimento diretto da cellula a cellula di carichi come organelli, virus e segnali. Questo meccanismo consente alle cellule di comunicare direttamente tra loro in modo molto rapido ed efficace.

I TNT sono sottili ponti di membrana citoplasmatica che interconnettono le cellule su lunghe distanze fino a diversi diametri cellulari. Ciò consente il trasferimento diretto da cellula a cellula di segnali e composti cellulari. Grazie alla loro forma flessibile, i TNT sono anche in grado di collegare le cellule anche se la distanza più vicina tra loro è bloccata. Tra le linee cellulari o anche nella stessa linea cellulare la morfologia e la composizione citoscheletrica dei TNT variano. Possono essere composti da actina, come nella maggior parte dei TNT, ma i TNT più spessi e stabili contengono microtubuli o filamenti di citocheratina. Anche la connessione di un TNT al corpo cellulare varia tra i diversi tipi cellulari. Alcuni TNT sono aperti ad entrambe le estremità e quindi mostrano una continuità di membrana, ma ci sono anche TNT chiusi contenenti una giunzione. I TNT si formano o da sporgenze che via via si accrescono, o si formano al distacco di cellule dopo un loro contatto diretto.

I TNT possono essere utilizzati come autostrade per trasferire e scambiare composti cellulari da una cellula all'altra. Organelli e particelle, che si osservano essere scambiati tra le cellule sono i mitocondri, le vescicole, componenti citoplasmatici, nanoparticelle e altro. È stato dimostrato che i TNT hanno un ruolo di primo piano nella propagazione dei segnali. Ad esempio, i segnali Ca^{2+} possono essere trasferiti tramite TNT tra celle remote. Di solito, i segnali elettrici vengono trasmessi attraverso sinapsi neuronali o giunzioni gap, queste ultime necessitano di una stretta vicinanza per la comunicazione cellula-cellula. Al contrario, questi tipi di segnali possono essere trasferiti rapidamente su lunghe distanze quando le celle sono collegate da TNT.

Nanotubuli e stress

Diversi studi sottolineano che la presenza di TNT è correlata a diversi fattori di stress come l'esposizione al perossido di idrogeno (H_2O_2), l'ipossia, i raggi UV, i raggi X e le radiazioni di particelle, limitazione sierica, temperatura, tossina B, infezioni o infiammazione. Inoltre, è stato rivelato che le cellule sane sono in grado di salvare le cellule apoptotiche mediante lo scambio di mitocondri funzionali tramite TNT. Questi risultati suggeriscono che i TNT hanno una relazione speciale con lo stress. Le cellule stressate trasmettono segnali di "richiesta di aiuto" all'ambiente circostante. Secondo questo modello, i TNT saranno formati da cellule non stressate al fine di stabilire un canale di comunicazione aperto con la cellula stressata. Segue lo scambio di particelle

come i mitocondri per salvare la cellula apoptotica o l'isolamento e la rimozione delle cellule il cui livello di ROS è troppo eccessivo. Sulla base di questo modello, i TNT sono uno strumento di comunicazione utilizzato per l'organizzazione cellulare e la sopravvivenza durante lo stress.

Nanotubuli e cancro

TNT sono stati trovati in diverse linee cellulari tumorali in vitro, tra cui glioblastoma, carcinomi, cancro ovarico, cancro al seno, cancro alla vescica, HeLa, neuroblastoma umano e linee cellulari di mesotelioma. Le cellule del mesotelioma maligno mostrano da 20 volte a 80 volte più TNT rispetto alle normali cellule. Pertanto, i TNT sono un meccanismo di comunicazione preferito nella crescita delle cellule maligne. Evidenze di TNT sono state trovate non solo in colture di cellule tumorali, ma anche in vivo in pazienti con mesotelioma e adenocarcinoma polmonare, osteosarcoma e pazienti con cancro ovarico. Nei tumori cerebrali è stato evidenziato che i nanotubuli di membrana sono congiuntamente responsabili dell'elevata resistenza e della progressione dei tumori cerebrali quando agiscono come una rete multicellulare funzionale. È stato riportato che il traffico dei mitocondri attraverso i TNT supporta l'invasività delle cellule tumorali della vescica o modula la chemioresistenza. Inoltre, si sospetta anche che i TNT trasferiscano la glicoproteina P nelle cellule tumorali, una proteina che può causare resistenza multifarmaco. La chemioresistenza può essere ottenuta anche mediante il trasferimento di materiale genetico come microRNA attraverso TNT.

Radioterapia e TNT

La radioterapia è uno dei quattro pilastri della terapia del cancro in quanto circa il 50% di tutti i tumori nel mondo viene trattato mediante radioterapia. In particolare, i pazienti con tumori del sistema nervoso centrale, della mammella, dell'esofago, del polmone, della testa e del collo ricevono frequentemente la radioterapia durante il decorso della malattia. Sebbene si sappia poco sul ruolo dei TNT dopo l'irradiazione, i primi studi indicano da un lato un effetto protettivo dei TNT dopo l'irradiazione di raggi X e dall'altro una diminuzione delle connessioni dopo l'irradiazione di particelle alfa. I TNT sono stati trovati in diverse linee cellulari che hanno origine dai tipi di tumore trattati con la radioterapia. Tumori come il glioblastoma, che sono ben noti per essere altamente migratori e invasivi, mostrano una bassa risposta al trattamento con conseguente basso tasso di sopravvivenza a 5 anni. Inoltre, il potenziale invasivo di questi tumori è aumentato dal trattamento radiante convenzionale mediante raggi X, ma non dopo il trattamento con particelle alfa. È noto che la radiazione fotonica induce stress cellulare attraverso l'induzione di ROS (specie reattive dell'ossigeno, radicali dell'ossigeno) come il perossido di idrogeno (H_2O_2) che si sospetta possano innescare la formazione di TNT. La radiazione particellare d'altra parte interagisce prevalentemente direttamente con il DNA e quindi l'induzione di ROS potrebbe essere ridotta.

Nuovi approcci innovativi di radioterapia che utilizzano particelle come protoni e ioni carbonio vengono utilizzati per migliorare la normale protezione dei tessuti mantenendo il controllo del tumore. Questi approcci terapeutici si basano su un'uccisione cellulare più efficiente interagendo direttamente con il DNA piuttosto che inducendo ROS. La ricerca sugli effetti di salvataggio basati sul TNT rende ancora più importante che il trattamento uccida tutte le cellule tumorali, nel più breve tempo possibile poiché le cellule danneggiate ma sopravvissute potrebbero comunicare e essere guarite dal tessuto circostante. Inoltre, ci sono indizi in letteratura che la radiazione di

particelle, in contrasto con la radiazione di fotoni, riduca la quantità di TNT nel glioblastoma. Pertanto, considerare l'uso di particelle piuttosto che di fotoni per la terapia di alcuni tumori ridurrebbe ulteriormente la capacità delle cellule tumorali di aggirare la morte. Vogliamo anche sottolineare che lo studio dei meccanismi molecolari non ancora conosciuti, attraverso i quali le radiazioni innescano la formazione o l'interruzione del TNT, deve essere sfruttato anche per poter scegliere il giusto metodo di radioterapia per ogni singolo tumore. Concludiamo quindi che i TNT sono un obiettivo cruciale che deve essere studiato per comprendere l'esito della terapia e per essere in grado di trovare un nuovo e più efficace trattamento del tumore. Questa opinione è condivisa da molti ricercatori.

Traduzione dell'articolo

Riassunto

La comunicazione diretta da cellula a cellula è fondamentale per la sopravvivenza delle cellule in situazioni stressanti come durante o dopo l'esposizione alle radiazioni. Questa comunicazione può portare a effetti non mirati, in cui le cellule non trattate o non infette mostrano effetti indotti dalla trasduzione del segnale da cellule non sane o viceversa. Negli ultimi 15 anni, il tunneling (formazione di tunnel) di nanotubi (TNT) sono stati identificati come connessioni di membrana tra le cellule che facilitano il trasferimento di numerosi carichi e segnali. I TNT sono stati identificati in vari tipi cellulari e fungono da promotori della resistenza al trattamento, ad es. nel trattamento chemioterapico del cancro. Qui, discutiamo la nostra attuale comprensione di come differenziare i nanotubi da altre connessioni cellulari dirette e il loro ruolo nella reazione allo stress delle reti cellulari. Forniamo anche una prospettiva su come la capacità delle cellule di formare tali reti sia correlata alla capacità di superare lo stress e come questo possa essere utilizzato per studiare la radioresistenza delle cellule tumorali.

Background

Durante la sopravvivenza e lo sviluppo cellulare, è fondamentale che le cellule abbiano la possibilità di comunicare tra loro. Senza quello strumento essenziale non sono in grado di coordinarsi e organizzarsi in sistemi cellulari complessi come tessuti o organismi [1]. Soprattutto in situazioni di stress che influenzano la sopravvivenza cellulare, sia direttamente danneggiando il DNA, sia indirettamente limitando la funzionalità degli organelli cellulari, la comunicazione gioca un ruolo chiave per la sopravvivenza di un composito cellulare come già noto da diversi decenni [2, 3]. Inoltre, il trasferimento di organelli cellulari, proteine o segnali da cellule sane a cellule non sane può portare a una maggiore capacità di sopravvivenza cellulare [4,5,6,7]. Contemporaneamente, gli stessi meccanismi possono favorire la progressione di malattie come il Parkinson, l'Alzheimer, l'Huntington o l'HIV attraverso la trasduzione di virus, batteri e prioni [5, 8,9,10,11,12,13,14,15]. Inoltre, la comunicazione cellulare gioca un ruolo chiave in diversi tipi di cancro, come ad es. è noto che il potenziale invasivo e la resistenza alla chemioterapia sono legati a una maggiore attività di comunicazione nelle cellule tumorali [2, 16, 17] e anche la comunicazione è alterata nel tessuto canceroso [2]. Gli effetti principali, che sono causati dalla comunicazione cellulare correlata alla radioterapia sono effetti non mirati o effetti Bystander [18, 19], dove le cellule non irradiate

mostrano una risposta alle radiazioni che è espressa ad esempio con instabilità genomica, aumento dell'apoptosi e aumento del danno al DNA [20]. Queste risposte sono state attribuite al trasferimento diretto attraverso giunzioni gap [21] o fattori come vescicole simili a esosomi [22], che vengono rilasciate dalle cellule irradiate nell'ambiente circostante. I meccanismi molecolari di base che innescano questi effetti e in particolare il modo in cui la comunicazione cellulare svolga un ulteriore ruolo nel potenziamento indotto dalle radiazioni del potenziale invasivo e migratorio di alcuni tipi di tumore è ampiamente sconosciuto e un obiettivo importante della ricerca attuale.

In questo contesto, la comunicazione cellulare può essere suddivisa in due gruppi, di contatto e non di contatto. La comunicazione di contatto fornisce un trasferimento di segnali e molecole più rapido e diversificato rispetto alla comunicazione senza contatto. La formazione di tunnels di nanotubi (TNT) rappresentano un nuovo tipo di strumento di comunicazione a contatto diretto tra le cellule [1]. I TNT sono strutture di membrana sottili e diritte, che connettono cellule su lunghe distanze e sono stati scoperti mediante microscopia 3D di cellule vive in cellule PC12 di feocromocitoma di ratto in coltura nel 2004 [23]. Appaiono come rami allungati tra le cellule che li collegano alla distanza più vicina sopra il substrato. Dopo questa scoperta, sono stati fatti molti risultati simili in diverse linee cellulari [11, 24, 25] ed è stato riportato un diluvio di processi biologici in cui i TNT potrebbero essere coinvolti [24, 26,27,28]. Su questo, i TNT sono stati riportati in tessuto sano incluso il cuore del topo [29] e gli alveoli del topo [30]. Negli ultimi 15 anni, la ricerca ha rivelato una grande diversità per quanto riguarda la morfologia, la composizione e la funzione di queste connessioni di membrana. È generalmente accettato che facilitino il trasferimento diretto da cellula a cellula di carichi come organelli, virus e segnali [8]. Questo meccanismo consente alle cellule di comunicare direttamente tra loro in modo molto rapido ed efficace. Esistono diverse revisioni che riguardano la biologia dei TNT in varie linee cellulari [31,32,33,34,35].

Qui, ci concentriamo sul ruolo dei TNT nelle cellule tumorali e sulla connessione alle reazioni cellulari allo stress, in particolare indotto dalle radiazioni. I TNT si formano più frequentemente in situazioni di stress e nelle cellule tumorali, specialmente nei tumori altamente invasivi come il glioblastoma. Ciò indica che i TNT possono svolgere un ruolo importante nella risposta cellulare diretta alle radiazioni. Pertanto, definiamo i TNT come un obiettivo importante per nuovi approcci alla terapia del glioblastoma.

Definizione TNT

Ad oggi non esiste una definizione chiara e totalmente condivisa di TNT. Questa è una conseguenza di numerose osservazioni di strutture simili che mostrano da un lato proprietà comparabili ma dall'altro diverse. Tuttavia, alcune caratteristiche chiave possono essere definite sui TNT.

I TNT sono sottili ponti di membrana citoplasmatica con un diametro compreso tra 50 nm e 1500 nm che interconnettono le cellule su lunghe distanze fino a diversi diametri cellulari [8] (vedi Fig 1). Ciò consente il trasferimento diretto da cellula a cellula di segnali e composti cellulari [8, 24]. Spesso appaiono come linee rette in vitro, ma nel tessuto o nella matrice extracellulare tridimensionale possono presentare una morfologia curva [11, 25, 36]. In Fig. 2 è mostrato un rendering 3D di una connessione TNT tra cellule di glioblastoma che presenta nodi e la sua parte centrale giace sul substrato. Grazie alla loro forma flessibile, i TNT sono anche in grado di collegare le cellule anche se la distanza più vicina tra loro è bloccata, ad esempio da altre cellule [11]. Tra le linee cellulari o anche nella stessa linea cellulare la morfologia e la composizione

citoscheletrica dei TNT variano [24]. Mentre la F-actina si trova nella maggior parte dei TNT, di solito solo i TNT più spessi contengono microtubuli [25] o filamenti di citocheratina [37]. La lunghezza varia da pochi a oltre 100 μm [11] e può essere regolata dinamicamente se le cellule interconnesse migrano fino a quando la distanza diventa troppo grande e il tubo scompare [24]. La durata varia da pochi minuti [11, 38] fino a diverse ore [12, 26].

Sia la lunghezza che il tempo di vita potrebbero essere determinati dai serbatoi di membrana disponibili e dalla velocità di migrazione [26, 39]. Inoltre, i TNT che contengono microtubuli possono essere più stabili di quelli composti solo da F-actina poiché i filamenti di microtubuli mostrano un grado di rigidità più elevato [24]. Oltre alle differenze riguardanti il contenuto del citoscheletro, anche la connessione di un TNT al corpo cellulare varia tra i diversi tipi cellulari. Alcuni TNT sono aperti ad entrambe le estremità e quindi mostrano una continuità di membrana [23, 40], ma ci sono anche TNT chiusi contenenti una giunzione [11, 41, 42, 43]. Uno disegno di TNT aperti e chiusi è mostrato in Fig. 3.

I TNT devono essere distinti da altre strutture di membrana simili come citonemi [44, 45] e filopodia [46] (vedi Fig. 1 e Fig. 2), che non hanno contatto cellula-cellula. Inoltre, ci sono connessioni di membrana che consentono anche la comunicazione cellula-cellula, ma sono strutturalmente distinte dai TNT, dalle giunzioni gap [47] e dai ponti epiteliali [48]. Le caratteristiche principali di queste connessioni e sporgenze sono mostrate nella Tabella 1.

Formazione TNT

Sulla base delle osservazioni sulla formazione di TNT nella ricerca sono state identificate due modalità di costituzione di TNT [49]. Il primo è la generazione de novo di nanotubi da sporgenze simili a filopodi mediante un processo guidato dall'actina entro alcuni minuti [10, 23, 38] (Fig. 4 lato sinistro). La principale differenziazione tra filopodia e TNT non ancora fusi in questo caso è che i filopodi sembrano essere più ramificati e con contatto con la superficie nella coltura cellulare, cosa che normalmente i TNT non hanno. Ma una chiara distinzione è difficile o addirittura impossibile (vedi Fig. 1), che fornisce un ulteriore suggerimento sulla complessità della funzione delle sporgenze della membrana cellulare. Qui, una sporgenza della membrana si allunga per polimerizzazione dell'actina. Se la punta della sporgenza raggiunge la cellula bersaglio o un'altra sporgenza, si stabilirà un contatto fisico mediante adesione e possibilmente fusione della membrana [23] (Fig. 4 lato sinistro). Tuttavia, non è chiaro se la crescita dei filopodi sia un processo stocastico o guidato da un chemioattrattivo.

Il secondo modo è la formazione di TNT al distacco delle cellule dopo il contatto diretto cellula-cellula (Fig. 4 a destra). Questo meccanismo è stato osservato nelle cellule immunitarie come le cellule T, le cellule natural killer o macrofagi così come nelle normali cellule renali di ratto [11, 12, 41, 42, 43]. Qui, le cellule formano una sinapsi immunitaria o si fondono quando entrano in contatto diretto. Con la rimozione delle cellule viene estratto un nanotubo (Fig. 4 c). Non è chiaro se una o entrambe le cellule contribuiscano alla creazione del TNT. Inoltre, il coinvolgimento dell'adesione, della fusione o della polimerizzazione dell'actina rimane sconosciuto in questo meccanismo di formazione [49]. Il tempo del contatto cellula-cellula sembra giocare un ruolo chiave, dal momento che i TNT sono appena stabiliti solo se il contatto cellula-cellula dura meno di 4 min nei linfociti T [11, 43]. Anche se questi due modelli possono sembrare molto distinti, non si escludono a vicenda

[49, 50]. Sono stati scoperti diversi stimoli della formazione di TNT [51, 52]. Le molecole coinvolte nel meccanismo di formazione del TNT sono le famiglie di piccole proteine responsabili del rimodellamento del citoscheletro di actina lungo le fasi di protrusione della formazione del TNT; per la stabilizzazione, per il tiraggio, per definire il contatto cellula-cellula, e determinare l'adesione [31, 34, 37, 49, 52, 53,54, 55, 56].

Scambio di organelli e particelle

I TNT possono essere utilizzati come autostrade per trasferire e scambiare composti cellulari da una cellula all'altra. Organelli e particelle, che si osservano essere scambiati tra le cellule sono i mitocondri [4,5,6, 12, 16, 29, 57,58,59,60], le vescicole [12, 23, 37, 38], anche la membrana come componenti citoplasmatici [12, 23, 40, 51], nanoparticelle [61,62,63,64] e anche di più [17, 28, 49, 57, 65]. Inoltre, la ricerca sui TNT ha evidenziato che esistono diversi meccanismi di trasporto che possono dipendere dal contenuto del citoscheletro, dal diametro e dalla continuità della membrana del nanotubo considerato. Ad esempio, nei macrofagi umani si trovano due diversi tipi di TNT. Qui, i componenti intracellulari inclusi endosomi, lisosomi e mitocondri vengono scambiati solo all'interno di spessi TNT contenenti microtubulina, mentre la navigazione dei batteri sulla superficie della membrana è rilevabile solo nei sottili TNT a base di actina [12].

Trasferimento del segnale

È stato dimostrato che i TNT hanno un ruolo di primo piano nella propagazione dei segnali. Ad esempio, i segnali Ca^{2+} possono essere trasferiti tramite TNT tra celle remote [29, 40,41,42, 52, 66]. Di solito, i segnali elettrici vengono trasmessi attraverso sinapsi neuronali o giunzioni gap, queste ultime necessitano di una stretta vicinanza per la comunicazione cellula-cellula. Al contrario, questi tipi di segnali possono essere trasferiti rapidamente su lunghe distanze quando le cellule sono collegate da TNT. Tale fenomeno è stato inizialmente segnalato nel 2005 [40]. Il trattamento con acido α -glicirretico, un inibitore della funzionalità delle giunzioni gap, non blocca il trasferimento del flusso di Ca^{2+} , suggerendo che le giunzioni gap non sono coinvolte in questa trasmissione. Studi recenti che utilizzano la sonda di potenziale di membrana [3] rivelano che diversi tipi cellulari possono essere accoppiati elettricamente da TNT, con giunzioni gap interposte all'interfaccia della membrana in un'estremità della connessione consentendo il passaggio bidirezionale di correnti elettriche in modo selettivo [41, 42]. La forza del segnale dipende dalla lunghezza e dal diametro dei nanotubi, dalla probabilità aperta di giunzioni gap presenti e dal numero di TNT coinvolti per connessione. Il fatto che ci siano trasmissioni elettriche sia indipendenti dalla giunzione gap che dipendenti dalla giunzione gap da parte dei TNT implica una significativa diversità di TNT con proprietà e funzioni diverse.

Oltre ai segnali elettrici, i segnali di morte possono essere trasferiti anche attraverso i TNT [43, 51]. Il coinvolgimento dei TNT nella segnalazione dell'apoptosi è stato riscontrato nelle cellule T, in cui i segnali di morte cellulare vengono propagati dai TNT e la stimolazione immunitaria porta a una maggiore formazione di TNT tra le cellule. In effetti, è stato dimostrato che i segnali della fagocitosi vengono trasferiti dalle cellule apoptotiche a cellule vitali per aiutare il sistema immunitario a rilevare una regione cellulare danneggiata [67]. Inoltre, è stato riportato che le cellule natural killer attivate formano più frequentemente TNT e le cellule bersaglio collegate tramite TNT sono più spesso lisate delle cellule non collegate [43]. Ciò suggerisce che i TNT possono aiutare il sistema

immunitario a trasferire sostanze chimiche citotossiche a cellule bersaglio distanti.

Meccanismi di trasporto

La ricerca sui TNT rivela una significativa diversità di processi di trasporto. Un meccanismo di trasporto osservato e sospetto è lo scambio di molecole da parte di motori molecolari [23, 27] poiché diverse molecole e particelle virali o vescicole lisosomiali mostrano una velocità simile a quelli dei motori molecolari guidati dall'actina [49]. I trasporti possono essere uni o bidirezionali. Il trasporto bidirezionale di carichi è stato osservato solo nei TNT che contengono inoltre microtubuli come contenuto citoscheletrico, suggerendo che un motore molecolare dei microtubuli potrebbe essere responsabile di questo comportamento [49]. È stato anche osservato che il trasferimento bidirezionale di carichi può trasformarsi in un trasporto unidirezionale dopo situazioni di stress come lesioni [28]. Potrebbe anche essere possibile che esistano meccanismi di trasporto indipendenti dal citoscheletro come il trasferimento tramite gondole [38]. Le gondole, sono rigonfiamenti in movimento nei TNT che possono indicare il trasporto di organelli chiusi che sono più grandi del diametro del rispettivo nanotubo stesso [69]. La formazione e la forza generatrice necessaria al loro movimento sono inesplorate. È possibile che il movimento sia guidato da differenze di potenziale chimico [37]. Ulteriori indagini devono essere eseguite per determinare come avviene il trasporto di carichi all'interno dei TNT e quali motori molecolari o altre proteine sono coinvolti in tale sistema di trasferimento. Tuttavia, molti rapporti dimostrano che il trasferimento di molecole e particelle avviene in modo attivo e non per diffusione. Ad esempio, studi con ATP rivelano un blocco del trasferimento di organelli tramite nanotubi, sottolineando che l'ATP è necessario per i rispettivi processi di trasferimento [10, 12, 26, 28]. Gli stessi risultati sono stati ottenuti considerando il trasferimento di segnali elettrici attraverso i TNT, qui le simulazioni hanno mostrato che un trasferimento passivo è inefficiente e gli esperimenti indicano che i segnali sono attivamente generati e propagati all'interno dei TNT [66].

Relazione con lo stress

Diversi studi sottolineano che la presenza di TNT come rete cellulare è correlata a diversi fattori di stress come l'esposizione al perossido di idrogeno (H₂O₂) [70], l'ipossia [71], i raggi UV [4], i raggi X [72] e le radiazioni di particelle [73]] così limitazione sierica [59], temperatura, tossina B [54], infezioni [14, 74] o infiammazione [36, 39, 56]. Inoltre, è stato rivelato che le cellule sane sono in grado di salvare le cellule apoptotiche mediante lo scambio di mitocondri funzionali tramite TNT [4, 5]. Questi risultati suggeriscono che i TNT hanno una relazione speciale con lo stress. Nel suo recente articolo, Amin Rustom ha utilizzato questi risultati per introdurre un nuovo modello meccanicistico di formazione di nanotubi dipendente dalla specie dell'ossigeno reattivo [75]. Descrive la formazione di TNT in base all'aumento del livello di specie reattive dell'ossigeno (ROS) nelle cellule stressate. Queste cellule stressate trasmettono segnali di "richiesta di aiuto" all'ambiente circostante. Secondo questo modello, i TNT saranno formati da cellule non stressate al fine di stabilire un canale di comunicazione aperto con la cellula stressata. Segue lo scambio di particelle come i mitocondri per salvare la cellula apoptotica o l'isolamento e la rimozione delle cellule il cui livello di ROS è troppo eccessivo. Sulla base di questo modello, i TNT sono uno strumento di comunicazione utilizzato per l'organizzazione cellulare e la sopravvivenza durante lo stress.

Tuttavia, il ruolo esatto dei TNT nelle situazioni di stress rimane oscuro. Sebbene vengano pubblicati sempre più rapporti di TNT in condizioni di stress, non è ancora chiaro in quali circostanze i TNT siano stabiliti dalle cellule non stressate a quelle stressate come nel modello di Rustom [75] o viceversa come riportato in altri studi [4, 76]. Wang et al. [76] hanno scoperto che il fattore di trascrizione p53 che regola diversi geni in risposta a vari segnali di stress dannosi tra cui danno al DNA e ipossia [77], svolge un ruolo importante per lo sviluppo di TNT negli astrociti dopo il trattamento con H₂O₂ e la deplezione sierica. Tuttavia, non è ancora noto quali meccanismi o segnali attivino le cellule per formare un canale di comunicazione aperto e quindi rispondere allo stress. Inoltre, il ruolo delle proteine dello stress come le proteine da shock termico nella formazione di TNT è ampiamente inesplorato. Uno studio recente ha mostrato che la proteina da shock termico legate alla membrana si trova sui TNT nel glioblastoma umano, nel glioma del topo e nelle linee cellulari del carcinoma mammario del topo [73]. Questa scoperta fornisce la prima evidenza della presenza di proteine dello stress come componente strutturale nella composizione lipidica dei TNT.

Collegamento al cancro

TNT sono stati trovati in diverse linee cellulari tumorali tra cui glioblastoma [72, 73, 78,79,80], carcinomi [38, 62, 63, 73], cancro ovarico [57, 71, 81,82,83,84], cancro al seno [17, 57, 59, 81, 82], cancro alla vescica [16, 54], HeLa [15, 52], neuroblastoma umano [17] e linee cellulari di mesotelioma [58, 59, 85,86,87]. Inoltre, Ady et al. [85] hanno mostrato che le cellule del mesotelioma maligno mostrano da 20 volte a 80 volte più TNT rispetto alle normali cellule mesoteliali dopo 72 h di coltura cellulare in vitro. Pertanto, i TNT sono un meccanismo di comunicazione preferito nella crescita delle cellule maligne. Inoltre, i TNT non si trovano solo nelle colture di cellule tumorali in vitro, ma anche in vivo [36]. Nel 2012 Lou et al. [59] dimostrano la presenza di TNT in campioni di tumore solido di pazienti con mesotelioma e adenocarcinoma polmonare. I TNT sono stati trovati anche in espianti tumorali di osteosarcoma e pazienti umani con cancro ovarico [57, 71, 83]. Osswald et al. [72] hanno scoperto che i tubi di membrana sono congiuntamente responsabili dell'elevata resistenza e della progressione dei tumori cerebrali quando agiscono come una rete multicellulare funzionale.

Questa affermazione diventa ancora più chiara se si considerano gli scambi finora osservati di carichi diversi tramite TNT nelle cellule tumorali. È stato riportato che il traffico dei mitocondri attraverso i TNT supporta l'invasività delle cellule tumorali della vescica o modula la chemioresistenza [16, 57]. Inoltre, si sospetta anche che i TNT trasferiscano la glicoproteina P nelle cellule tumorali, una proteina che può causare resistenza multifarmaco [17, 82]. La chemioresistenza può essere ottenuta anche mediante il trasferimento di materiale genetico come microRNA attraverso TNT [83, 88].

TNT e radioterapia

La radioterapia è uno dei quattro pilastri della terapia del cancro in quanto circa il 50% di tutti i tumori nel mondo viene trattato mediante radioterapia [90, 91]. In particolare, i pazienti con tumori del sistema nervoso centrale, della mammella, dell'esofago, del polmone, della testa e del collo ricevono frequentemente la radioterapia durante il decorso della malattia [90]. Sebbene si sappia poco sul ruolo dei TNT dopo l'irradiazione, i primi studi indicano da un lato un effetto protettivo dei

TNT dopo l'irradiazione di raggi X [72] e dall'altro una diminuzione delle connessioni dopo l'irradiazione di particelle alfa [73]. Ciò indica un ruolo versatile dei TNT nella risposta alle radiazioni di un composito cellulare. Inoltre, i TNT sono stati trovati in diverse linee cellulari che hanno origine dai tipi di tumore trattati con la radioterapia. Inoltre, tumori come il glioblastoma, che sono ben noti per essere altamente migratori e invasivi [92], mostrano una bassa risposta al trattamento con conseguente basso tasso di sopravvivenza a 5 anni [93, 94]. Inoltre, il potenziale invasivo di questi tumori è potenziato dal trattamento radiante convenzionale mediante raggi X [95, 96] ma non dopo il trattamento con particelle alfa [95]. Inoltre, è noto che la radiazione fotonica induce stress cellulare attraverso l'induzione di ROS come il perossido di idrogeno (H_2O_2) che si sospetta possano innescare la formazione di TNT [70, 75]. La radiazione particellare d'altra parte interagisce prevalentemente direttamente con il DNA e quindi l'induzione di ROS potrebbe essere ridotta [97].

Conclusioni

In questa breve recensione, riportiamo sulla comunicazione intercellulare tramite la formazione di tunnel di nanotubi. Queste connessioni a membrana possono essere caratterizzate in particolare dalle loro dimensioni, che vanno da 50 nm a 1500 nm di diametro e la loro lunghezza può essere regolata dinamicamente da pochi micron a oltre 100 μm . Facilitano una segnalazione veloce e diretta e il trasferimento di organelli tra cellule distanti. Stabilendo reti funzionali multicellulari è possibile migliorare sia la progressione cellulare che la risposta allo stress, ma anche la diffusione dei patogeni. Mostriamo che sebbene siano stati pubblicati molti rapporti sui TNT in vari tipi e situazioni cellulari, si sa poco sull'effettivo procedimento di lavoro dei meccanismi di trasporto visti nei TNT. Inoltre, l'innescamento e la regolazione della loro formazione o stabilità e la loro connessione al corpo cellulare sono principi ampiamente sconosciuti.

Tuttavia, si è già scoperto che le caratteristiche versatili dei TNT svolgono ruoli importanti in vari campi nelle malattie e in particolare nella ricerca sul cancro. I ruoli chiave sono riportati nel sistema di risposta immunitaria, nello sviluppo cellulare, nella riparazione e nella sopravvivenza, nella progressione del cancro e nella diffusione di agenti patogeni come batteri, virus o proteine mal ripiegate. Questo apre l'opportunità di speculare sul loro potenziale come promettente bersaglio terapeutico [98, 99]. Ad esempio, da un lato la formazione di TNT può essere attivamente bloccata per interrompere la diffusione di agenti patogeni e per inibire l'elevata resistenza terapeutica mediata da TNT. Soprattutto i farmaci che prendono di mira la polimerizzazione dell'actina o addirittura ne innescano la depolimerizzazione come la citocalasina B e la lactrunculin B [71] sembrano essere promettenti. D'altra parte, i TNT possono essere utilizzati come autostrade cellulari per la somministrazione di farmaci [8]. I TNT possono quindi aprire nuove possibilità per la diffusione o il trasporto selettivo di agenti terapeutici o organelli cellulari all'interno del sistema di comunicazione delle cellule bersaglio desiderate [28, 64]. I risultati di cui sopra mostrano anche che la comunicazione cellulare tramite TNT non avviene solo nella provetta, ma è anche rilevante per i tessuti e di conseguenza svolge un ruolo nella lotta contro il cancro. Ad esempio, lo scambio di farmaci potrebbe essere un obiettivo da studiare per la radiosensibilizzazione selettiva delle cellule tumorali, poiché attraverso la formazione potenziata di TNT la somministrazione del farmaco potrebbe essere più veloce rispetto al tessuto normale.

In questa recensione, ci siamo concentrati in particolare sulla relazione dei TNT con lo stress e la loro connessione con il cancro al fine di elaborare il loro potenziale per il loro utilizzo in relazione alla radioterapia. La presenza di certi tipi di TNT in condizioni di stress come l'ipossia [71], che è una situazione di stress caratteristica nel microambiente tumorale, così come la presenza di TNT in tipi di tumore trattati con radioterapia e soprattutto quelli con prognosi sfavorevole, implica l'importanza di TNT nel sistema di allarme delle cellule tumorali. A causa di questa distinta risposta allo stress, il tasso di sopravvivenza delle cellule tumorali può essere potenzialmente aumentato, quanto più cellule sono in grado di formare TNT, più segnali di stress si diffondono nell'ambiente circostante. Considerando tutto questo, i TNT dovrebbero essere considerati come una delle ragioni per la bassa efficienza della radioterapia convenzionale per ad es. cellule di glioblastoma altamente invasive.

Un'ulteriore caratteristica della comunicazione cellulare tramite TNT è la possibilità di scambiare carichi su lunghe distanze in modo molto diretto e selettivo. Nel microambiente tumorale, c'è una grande eterogeneità nella composizione di diversi tipi di cellule tra cui le cellule stromali, tumorali, globuli rossi e così via [79, 100]. A causa di questa elevata complessità, nella matrice cellulare di un tumore, la comunicazione cellulare senza contatto, mediante secrezione di molecole segnale, o la comunicazione cellulare a contatto mediante giunzioni gap che richiedono un'immediata vicinanza della cellula donatrice e ricevente, sono molto limitate. Le connessioni flessibili dei TNT possono rappresentare un'opportunità più promettente per le cellule di comunicare e fare rete tra loro.

Inoltre, il verificarsi di effetti sulle cellule non trattate, chiamati effetti non mirati o Bystander, sono ben noti nel trattamento con radiazioni delle cellule tumorali [18, 19]. I meccanismi alla base di questi non sono ancora chiari. Si ipotizza che le molecole di stress vengano trasferite tramite esosomi o connessioni dirette come giunzioni gap. Tuttavia, il ruolo dei TNT negli effetti non mirati è finora poco studiato e non ancora conosciuto.

Nel complesso, è indiscutibile che i TNT sono fortemente legati al cancro e quindi potrebbero anche essere un potenziale bersaglio per nuovi approcci terapeutici. Soprattutto se si considera la radioterapia, questo sembra essere promettente per due motivi. Nuovi approcci innovativi di radioterapia che utilizzano particelle come protoni e ioni carbonio vengono utilizzati per migliorare la normale protezione dei tessuti mantenendo il controllo del tumore o addirittura migliorando questo [101, 102]. A causa della distribuzione della dose delle particelle nel tessuto dopo il picco di Bragg, la dose viene ridotta nel tessuto sano mentre viene mantenuta nel tumore [103]. Inoltre, questi approcci terapeutici si basano su un'uccisione cellulare più efficiente interagendo direttamente con il DNA piuttosto che inducendo ROS. Mettendo insieme le due cose, si apre la possibilità di ipofrazionamento [104, 105], che ridurrebbe drasticamente il tempo impiegato per il trattamento del tumore. Ciò abbasserebbe di conseguenza il tempo necessario alle cellule tumorali per formare reti di TNT e quindi essere salvate. D'altra parte, la ricerca sugli effetti di salvataggio basati sul TNT rende ancora più importante che il trattamento uccida tutte le cellule tumorali, poiché le cellule danneggiate ma sopravvissute potrebbero essere guarite dal tessuto circostante. Inoltre, ci sono indizi in letteratura [63, 64] che la radiazione di particelle in contrasto con la radiazione di fotoni riduca la quantità di TNT nel glioblastoma. Pertanto, considerare l'uso di particelle piuttosto che di fotoni per la terapia di alcuni tumori ridurrebbe ulteriormente la capacità

delle cellule tumorali di aggirare la morte attraverso la radioterapia. In Fig. 5 riassumiamo i vari effetti dei TNT e sui TNT che possono verificarsi durante la radioterapia. La complessa interconnessione degli effetti relativi ai TNT qui illustrata mostra l'importanza dei TNT nella risposta cellulare alle radiazioni. Vogliamo anche sottolineare che lo studio dei meccanismi molecolari non ancora conosciuti, attraverso i quali le radiazioni innescano la formazione o l'interruzione del TNT, deve essere sfruttato anche per poter scegliere il giusto metodo di radioterapia per ogni singolo tumore. Concludiamo quindi che i TNT sono un obiettivo cruciale che deve essere studiato per comprendere l'esito della terapia e per essere in grado di trovare un nuovo e più efficace trattamento del tumore. Questa opinione è condivisa da molti ricercatori e negli ultimi anni sono state pubblicate diverse revisioni sul ruolo dei TNT nel cancro e sul paradigma per sfruttare la comunicazione intercellulare per curare meglio il cancro [58, 79, 80, 100, 106,107,108].