



ORIGINAL

Implicación del colesterol de membrana en la proliferación, ciclo y diferenciación de las células leucémicas humanas HL-60

Carolina Carmen Sánchez-Martín^{a,b,1}, Linder Figueroa Salvador^{c,1},
Gema de la Peña Martín^d y Miguel Angel Lasunción Ripa^{d,e,*}

^aFisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, España

^bFundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario Ramón y Cajal (FIBio-HRC), Madrid, España

^cFundación Carolina, Madrid, España

^dServicio de Bioquímica-Investigación, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^eDpto. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Alcalá, Madrid, España

Recibido el 3 de noviembre de 2009; aceptado el 18 de enero de 2010

Disponible en Internet el 18 de mayo de 2010

PALABRAS CLAVE

Colesterol;
Proliferación;
Ciclo celular;
Diferenciación;
Metil- β -ciclodextrina

Resumen

Introducción: El metabolismo del colesterol está alterado en células leucémicas, existiendo controversia acerca del uso combinado de estatinas y agentes quimioterapéuticos en el tratamiento contra el cáncer. En nuestro laboratorio habíamos demostrado con anterioridad cómo la deficiencia de colesterol mediante el uso de inhibidores distales de su biosíntesis inducía la diferenciación de las células humanas HL-60 hacia granulocitos. Se desconoce hasta la fecha si la extracción del colesterol de la membrana de estas células es capaz de producir un proceso de diferenciación similar, lo que podría abrir una vía más hacia nuevas líneas terapéuticas.

Material y métodos: Las células HL-60 se mantuvieron en un medio libre de colesterol y se extrajo el colesterol de membrana mediante el uso de metil- β -ciclodextrina. Tras los distintos tratamientos, se analizó la disminución del contenido total de colesterol mediante HPLC, la proliferación celular por conteo de células vivas y el ciclo celular por citometría de flujo. A continuación se evaluó la diferenciación celular por la expresión del marcador temprano de diferenciación CD11c por citometría de flujo y expresión de componentes de la NADPH oxidasa mediante Western blot.

Resultados: El tratamiento con metil- β -ciclodextrina redujo el contenido celular de colesterol, detuvo la proliferación celular e indujo la expresión de CD11c, al tiempo que se incrementó la expresión de los componentes p47^{phox} y p67^{phox} de la enzima NADPH oxidasa. Con dosis altas de metil- β -ciclodextrina, también se observó la formación de células poliploides y muerte celular, más notables cuanto más se prolongó la incubación.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: miguel.a.lasuncion@hrc.es (M.A. Lasunción Ripa).

¹Estos autores han contribuido por igual al trabajo y deben ser considerados como primeros autores

KEYWORDS

Cholesterol;
 Cell proliferation;
 Cell cycle;
 Cell differentiation;
 Methyl- β -cyclodextrin

Conclusiones: La extracción del colesterol de membrana en las células de la línea HL-60 desencadena la parada del ciclo celular y, seguidamente, las células que escapan a la muerte se diferencian, como lo avalan la expresión de CD11c y de los componentes de la NADPH oxidasa p47^{phox} y p67^{phox}.

© 2009 Elsevier España, S.L. y SEA. Todos los derechos reservados.

Membrane cholesterol involvement in HL-60 human leukaemia cell proliferation, cycle and differentiation

Abstract

Introduction: Cholesterol metabolism is increased in leukaemia cells and, accordingly, the use of chemotherapeutic agents in combination with statins for cancer treatment is being evaluated. In our laboratory, we demonstrated that cholesterol deficiency, as produced by distal inhibitors of the cholesterol biosynthesis pathway, induces the differentiation of HL-60 human leukaemia cells through the granulocytic pathway. The aim of the present work was to determine whether the selective extraction of cholesterol from the cell membrane induces cell differentiation, which may open new possibilities in cancer therapy and other proliferative processes.

Material and methods: Promyelocytic HL-60 cells were maintained in a cholesterol-free medium. Cholesterol was extracted by incubating the cells in the presence of methyl- β -cyclodextrin. Cholesterol cell content was measured by HPLC; cell proliferation was assessed by cell counting; cell cycle distribution was analysed by flow cytometry. Cell differentiation was assessed by measuring CD11c expression by flow cytometry and NADPH oxidase components by Western blot.

Results: Treatment with methyl- β -cyclodextrin reduced the cholesterol content in cells, and resulted in cell proliferation inhibition, the induction of CD11c expression and the synthesis of p47^{phox} and p67^{phox}.

Conclusions: Selective extraction of membrane cholesterol in HL-60 cells triggers cell differentiation, as indicated by the expression of both CD11c and NADPH oxidase components.

Results: Treatment with methyl- β -cyclodextrin reduced the cell cholesterol content and inhibited cell proliferation in a dose-dependent manner. As this treatment is prolonged, part of the cells die but a substantial proportion of cells survives and acquire differentiation markers, such as CD11c, p47^{phox} and p67^{phox}.

Conclusions: Selective extraction of membrane cholesterol in HL-60 cells induces cell cycle arrest, which is followed by cell death and, alternatively, cell differentiation, as indicated by the expression of both CD11c and NADPH oxidase components.

© 2009 Elsevier España, S.L. and SEA. All rights reserved.

Introducción

La homeostasis del colesterol está alterada en células tumorales. Las células leucémicas presentan una mayor demanda de colesterol, con aumentada expresión del receptor de LDL actividad de HMG-CoA reductasa respecto a las células normales, lo que puede ser reflejo de la alta tasa proliferativa que presentan estas células cancerosas¹⁻³. Dado el aumento de actividad de la HMG-CoA reductasa, se han utilizado estatinas a fin de reducir la capacidad proliferativa de estas células tumorales^{4,5}, aunque con resultados contradictorios. En roedores se ha podido observar que el tratamiento con altas dosis de estatinas inhibe el crecimiento de algunos tipos de tumores^{6,7}. En humanos, algunos resultados muestran que pacientes tratados con agentes hipocolesterolemiantes presentan una menor incidencia de cáncer de mama y colorectal^{8,9}. Sin embargo, otros estudios clínicos no han sido capaces de establecer una relación clara entre el uso de estatinas y el riesgo de cáncer¹⁰⁻¹⁴.

A nivel celular se conoce que el tratamiento con estatinas sensibiliza las células mieloides a la radioquimioterapia¹⁵. La lovastatina es capaz de inducir la diferenciación en células de meduloblastoma y células mieloides^{16,17}, pero en otros tipos celulares solo induce apoptosis¹⁸. Un inhibidor de la mevalonato (5) pirofosfatodescarboxilasa, el fenilacetato, se ha demostrado que es eficaz frenando la proliferación en diversas líneas celulares, pero sus efectos en diferenciación celular no son concluyentes^{18,19}.

La aparente controversia entre los resultados de estos estudios puede deberse a la distinta sensibilidad de las células a los distintos inhibidores y a la mayor o menor demanda de los derivados isoprenoides de los distintos tipos celulares. A este respecto, en nuestro laboratorio hemos observado que los distintos inhibidores de la síntesis de colesterol afectan de manera diversa a la progresión del ciclo celular²⁰⁻²³. Además, hemos demostrado que la deficiencia experimental de colesterol en las células HL-60 producida por el uso de inhibidores distales de la biosíntesis de colesterol, inducía su diferenciación²⁴. Con estos

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2839927>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2839927>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)