

# Papel de p38 MAPK en los efectos de la inhibición de la biosíntesis de colesterol en la progresión del ciclo celular en la línea promielocítica humana HL-60

Beatriz Ledo<sup>a</sup>, Covadonga Martín<sup>b</sup>, Carolina C. Sánchez<sup>b</sup>, Gema de la Peña<sup>a</sup>, Sara Blanco<sup>a</sup>, Linder J. Figueroa<sup>a</sup>, Diego Gómez-Coronado<sup>a,b</sup> y Miguel A. Lasunción<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

<sup>b</sup>CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN). España.

<sup>c</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

---

**Introducción.** El colesterol es necesario para la proliferación y la correcta progresión del ciclo celular. La inhibición sostenida de la biosíntesis de colesterol inhibe la citocinesis y da lugar a la aparición de células poliploides, efectos que pueden implicar la participación de las vías de estrés.

**Objetivo.** Estudiar el efecto de la inhibición terminal de la biosíntesis de colesterol sobre la vía de p38 MAPK y su papel en la progresión del ciclo celular.

**Metodología.** La inhibición de la biosíntesis de colesterol en las células promielocíticas humanas HL-60 se llevó a cabo con SKF 104976. En determinados casos, junto a este inhibidor, se inhibieron las vías de p38 MAPK y ERK1/2 empleando SB 203580 y PD 98059, respectivamente. El ciclo celular se estudió por marcaje con yoduro de propidio e incorporación de

bromodesoxiuridina y análisis por citometría de flujo, y la expresión de proteínas se analizó por *Western blot*.

**Resultados.** La inhibición de la biosíntesis de colesterol produjo la acumulación de células en G2/M y una activación transitoria de p38 MAPK, efectos que fueron revertidos por las lipoproteínas de baja densidad (LDL), demostrando que se debían a la deficiencia de colesterol. En aquellas condiciones, la adición de SB 203580 aceleró la replicación del ADN acompañada de un aumento de la poliploidía. Contrariamente, la adición de PD 98059 inhibió la síntesis de ADN. Ni la inhibición de p38 MAPK ni la de ERK impidieron la división de las células previamente tratadas con SKF 104976 tras suplementarlas con LDL, ni de las células previamente sincronizadas en prometafase con nocodazol.

**Conclusiones.** La inhibición de la biosíntesis de colesterol activa la vía de p38 MAPK a fin de impedir la poliploidía pero no tiene efecto sobre la culminación de la mitosis.

**Palabras clave:**

Colesterol. p38 MAPK. Ciclo celular. HL-60. Poliploidía.

---

Este trabajo ha sido realizado gracias, en parte, a una Beca FEA/SEA 2005 de Investigación Básica y al proyecto SAF2005-07308 del Ministerio de Educación y Ciencia. CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición es una iniciativa del ICSIII. L.J.F. ha recibido una beca de la Fundación Carolina.

Correspondencia: Dr. M.A. Lasunción.  
Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal.  
Ctra. de Colmenar, km 9,100.  
28034 Madrid. España.  
Correo electrónico: miguel.a.lasuncion@hrc.es

Recibido el 19 de mayo de 2008 y aceptado el 17 julio de 2008.

ROLE OF p38 MAPK IN THE EFFECTS OF CHOLESTEROL BIOSYNTHESIS INHIBITION ON CELL CYCLE PROGRESSION IN HL-60 CELLS

**Introduction.** Cells require cholesterol for proliferation and correct progression of the cell

cycle. In the absence of cholesterol, the cells fail to undergo cytokinesis and polynucleated cells are generated. These effects could be mediated by stress signal transduction pathways.

**Objective.** To study the effects of cholesterol biosynthesis inhibition on the activity of p38 MAPK and to evaluate the role of this pathway on cell cycle progression.

**Methodology.** Human leukemia cells (HL-60) were incubated in the presence of SKF 104976, an inhibitor of cholesterol biosynthesis. In some cases inhibitors of p38 MAPK and ERK1/2, namely SB 203580 and PD 98059, were added to the medium. Cell cycle progression was studied by flow cytometry, both DNA content and bromodeoxyuridine incorporation into DNA, and protein expression of p38 MAPK was analyzed by western blot.

**Results.** Inhibition of cholesterol biosynthesis led to accumulation of cells in G2/M and a transient activation of p38 MAPK. These effects were reversed by supplementing the medium with LDL. The addition of SB 203580 accelerated DNA replication, which was accompanied by an increase of polyploidy. By contrast, the addition of PD 98059 inhibited DNA synthesis. Lastly, neither the inhibition of p38 MAPK nor ERK affected the division of cells treated with the cholesterol biosynthesis inhibitor following LDL provision, or mitosis completion from metaphase of cells previously synchronized with nocodazole.

**Conclusions.** Cholesterol deficiency induces p38 MAPK pathway activation in order to prevent polyploidy, but has no effect on mitosis completion.

**Key words:**

Cholesterol. p38 MAPK. Cell cycle. HL-60. Poliplody.

## Introducción

El colesterol es necesario para la proliferación celular. En este sentido, el colesterol no sólo es un componente integral de la membrana celular sino que también parece ejercer acciones reguladoras que permiten la correcta progresión del ciclo celular. En la línea promielocítica HL-60, hemos demostrado que la deficiencia de colesterol producida por inhibición de la biosíntesis de colesterol en células incubadas en un medio libre de colesterol, produce una serie de efectos que, en último término, impiden la división celular. Inicialmente se observa una retención de las células en G2/M, con inhibición de la citocinesis, que finalmente conduce

a la formación de células poliploides por un mecanismo de rerreplicación<sup>1</sup>. Todos estos efectos se evitan y revierten, al menos parcialmente, añadiendo colesterol al medio de cultivo, lo que demuestra que las acciones que ejerce el colesterol en esas etapas del ciclo celular son específicas<sup>2,4</sup>.

La progresión del ciclo celular se produce de una forma ordenada, lo que está mediado por la activación puntual de distintos complejos ciclina/Cdk y su desactivación posterior. Concretamente, la transición de G2 a mitosis está controlada por el complejo ciclina B1/Cdk1, cuya actividad está gobernada por expresión de la ciclina B1, su localización subcelular y la fosforilación de la Cdk1. Pues bien, hemos demostrado que la parada en G2/M producida por la deficiencia experimental de colesterol coincide con la disminución de la actividad de ciclina B1/Cdk1 y que la reposición de colesterol estimula la transcripción del gen de la ciclina B1 y, consiguientemente, la actividad del complejo<sup>3,4</sup>.

Las células que superan ese punto de control de G2, transcurren por mitosis hasta completar la cariocinesis, pero ven impedida la citocinesis<sup>1</sup>. El requerimiento de colesterol para que se produzca la abscisión celular ha sido confirmado por otros investigadores<sup>5</sup>. Estos autores observaron que en los momentos previos a la citocinesis, el colesterol de la membrana es reclutado hacia el anillo mitótico y que la extracción selectiva de colesterol mediante metil-beta-ciclodextina impide la citocinesis<sup>5</sup>.

Este papel del colesterol en la mitosis coincide con la estimulación de la biosíntesis de este lípido precisamente en esta etapa, como recientemente demostraron Bengoechea-Alonso et al<sup>6</sup>. Es interesante que la ciclina B1/Cdk1 es capaz de fosforilar SREBP en una zona próxima al dominio "phosphodegron", evitando su degradación por el proteasoma<sup>7</sup>, lo que explicaría la estimulación de la transcripción de los genes relacionados con la biosíntesis de colesterol y el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL) precisamente en mitosis.

La deficiencia de colesterol se puede considerar como un estrés ante el cual la célula puede responder activando algunas de las denominadas vías de estrés, entre las que se encuentra la de p38 MAPK (p38 *mitogen-activated protein kinase*). Esta vía se activa en respuesta a citocinas proinflamatorias y distintos tipos de estrés, como la radiación UV y los choques térmico y osmótico<sup>8-13</sup>. Por lo general, dichos estímulos son recogidos por las cinasas MKK3/6 que fosforilan a p38 en sendos residuos Thr y Tyr activándola. La activación de esta vía

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2840056>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2840056>

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