

Titolo: “Sensibilità di cellule dell'osteosarcoma e condrosarcoma umano in coltura all'acido retinoico - Sensitivity of Cultured Human Osteosarcoma and Chondrosarcoma Cells to Retinoic Acid”.

Codice: RET007

Autore: Thein e Lotan

Data: 1982

Rivista: Cancer Research 42: 4771-4775

Argomento: retinoidi

Accesso libero: si

DOI: PMID: 6957261

URL: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/42/11/4771/486125/Sensitivity-of-Cultured-Human-Osteosarcoma-and>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2023/02/24/ret007-thein-e-lotan-1982/>

Parole chiave: acido retinoico, condrosarcoma, osteosarcoma, morfologia cellulare, crescita cellulare

Tumore: osteosarcoma, condrosarcoma

Traduzione: Tradotte in modo fedele le sezioni “Introduzione” e “Discussione”. Presentata per punti la sezione “Risultati”, non tradotta la sezione “Materiali e Metodi”.

**Punti di interesse: gli autori di questo articolo presentano i risultati di un trattamento con acido retinoico ( $\beta$ -all-trans-acido retinoico) su colture di linee cellulari di osteosarcoma e condrosarcoma umani. Il trattamento con acido retinoico ha determinato in queste cellule cambiamenti morfologici e diminuzione dei tassi di crescita. Tutte le 5 linee cellulari testate sono sensibili all'acido retinoico; il loro tasso di crescita esponenziale è ridotto, la loro densità di saturazione è ridotta e la loro capacità di formare colonie in terreno semisolido è stata soppressa. Questi risultati dimostrano che l'acido retinoico può sopprimere in queste cellule tumorali mesenchimali l'espressione delle proprietà morfologiche e di crescita frequentemente associate alle cellule trasformate. Gli effetti di inibizione della crescita dell'acido retinoico sono stati osservati a concentrazioni che possono essere raggiunte farmacologicamente nei pazienti oncologici, quindi questi risultati suggeriscono che alcuni condrosarcomi e osteosarcomi possono rispondere al trattamento con retinoidi nell'uomo. Inoltre è stata dimostrata anche un'azione differenziale dei retinoidi in cellule tumorali e normali.**

Traduzione articolo

### Riassunto

**La capacità del  $\beta$ -all-trans-acido retinoico (RA) di inibire la crescita di tre linee cellulari (Te85, Hs781 e Hs791) derivate da osteosarcomi umani e due linee cellulari (Hs705 e Hs819) derivate da condrosarcomi umani è stata studiata in coltura. L'esposizione a  $10^{-5}$  M RA ha provocato, entro 4 giorni, cambiamenti sia nella morfologia cellulare che nella crescita cellulare. Le cellule trattate con RA apparivano piatte e si diffondevano sul substrato più delle**

**cellule non trattate, i loro tassi di crescita esponenziale diminuivano e le loro densità di saturazione erano marcatamente ridotte. Tutti questi effetti potevano essere invertiti rimuovendo l'acido retinoico dal mezzo di crescita. Le varie linee cellulari hanno mostrato una suscettibilità differenziale all'effetto di inibizione della crescita del RA. Il più sensibile è stato il condrosarcoma Hs705. La proliferazione di queste cellule è stata inibita al 50% da  $10^{-9}$  M RA ed è stata completamente bloccata da  $10^{-5}$  M RA. Al contrario, le concentrazioni di RA richieste per il 50% di inibizione di Hs791, Te85, Hs819 e Hs781 erano rispettivamente  $10^{-7}$ ,  $2 \times 10^{-7}$ ,  $2,5 \times 10^{-7}$  e  $2 \times 10^{-6}$  M. Solo le cellule di osteosarcoma Te85 e Hs781 e le cellule derivate da una biopsia di condrosarcoma sono state in grado di formare colonie in un mezzo semisolido e questa crescita è stata drasticamente inibita dall'acido retinoico. Questi risultati dimostrano che l'acido retinoico può sopprimere in queste cellule tumorali mesenchimali l'espressione delle proprietà morfologiche e di crescita frequentemente associate alle cellule trasformate.**

## INTRODUZIONE

Un numero crescente di studi ha dimostrato che i retinoidi, un gruppo di analoghi naturali e sintetici della vitamina A, possono esercitare profondi effetti su processi cellulari fondamentali come la crescita e la differenziazione di cellule normali, trasformate e tumorali in vivo e in coltura (per revisioni recenti, vedere Rif. 3, 6, 10, 23, 30 e 42). La notevole capacità dei retinoidi di inibire la crescita delle cellule tumorali (8, 9, 17, 22-27, 32) e di migliorare la differenziazione di alcune cellule maligne (5, 10, 23, 25, 26, 41) ha portato alla loro considerazione come potenziali agenti antitumorali non citotossici (3, 23, 30, 31).

Sebbene gli studi iniziali con diversi tumori trapiantabili di animali da esperimento non siano riusciti a dimostrare alcun effetto inibitorio di RA sulla crescita tumorale (2), studi successivi con altri sistemi tumorali hanno prodotto risultati positivi. Pertanto, sono stati dimostrati significativi effetti terapeutici dei retinoidi contro tumori del topo come un melanoma (11), un carcinoma mammario (36), un carcinoma polmonare (16) e un sarcoma (7) e contro tumori del ratto come un condrosarcoma (33, 42) e un carcinoma epatocellulare (32). Anche la crescita di un carcinoma bronchiale umano trapiantato in topi nudi è stata inibita dai retinoidi (20). Risultati favorevoli sono stati ottenuti nel trattamento del carcinoma a cellule basali e del carcinoma a cellule squamose nell'uomo (4, 30, 35). Inoltre, gli studi clinici con l'acido 13-c/s-retinoico su lesioni epiteliali squamose precancerose e cancerose suggeriscono un'attività significativa (30).

Il più drammatico effetto antitumorale in vivo dei retinoidi, tra quelli descritti finora, è l'inibizione della crescita del condrosarcoma nel ratto poiché i retinoidi non solo hanno inibito la crescita tumorale ma hanno anche causato la regressione dei tumori consolidati a dosi tollerate (33, 42). Il meccanismo mediante il quale i retinoidi inibiscono la crescita del condrosarcoma in vivo non è noto. Tuttavia, è stato riscontrato che il trattamento di ratti portatori di condrosarcoma con retinoidi ha diminuito la sintesi di glicosaminoglicani da parte delle cellule tumorali (38). Questa scoperta ha portato a suggerire che la perdita di matrice extracellulare da parte delle cellule tumorali trattate possa averle rese suscettibili al rigetto immunologico (42). La possibilità che i retinoidi possano esercitare effetti diretti di inibizione della crescita sulle cellule del condrosarcoma non è stata studiata.

Noi (22-27) e altri (8, 9) abbiamo dimostrato la capacità di alcuni retinoidi di inibire la crescita dipendente dall'ancoraggio e la crescita indipendente dall'ancoraggio di varie cellule trasformate e tumorali. Tuttavia, esistevano diverse linee cellulari tumorali la cui crescita non era inibita dai retinoidi (9, 17, 23). La valutazione in vitro della sensibilità delle cellule tumorali umane ai farmaci antitumorali sembra fornire qualche indicazione sulla loro risposta in vivo (37). Data la sensibilità precedentemente dimostrata in vivo di un condrosarcoma di ratto ai retinoidi, il presente studio è stato intrapreso per valutare l'effetto dell'acido retinoico sulla crescita e sulla clonogenicità di

diverse linee cellulari derivate da condrosarcomi e osteosarcomi umani. Qui riportiamo che tutte le 5 linee cellulari testate sono sensibili all'acido retinoico; il loro tasso di crescita esponenziale è ridotto, la loro densità di saturazione è ridotta e la loro capacità di formare colonie in terreno semisolido è soppressa.

## RISULTATI

- Cambiamenti indotti da RA nella morfologia cellulare.
- Inibizione della proliferazione cellulare indotta da RA.
- Mancanza di citotossicità dell'acido retinoico.
- Dipendenza dalle dosi dell'inibizione della crescita indotta da RA.
- Inibizione indotta da RA della crescita indipendente dall'ancoraggio.

## DISCUSSIONE

I nostri dati mostrano chiaramente che cellule di osteosarcoma e di condrosarcoma umano rispondono all'acido retinoico in coltura. Tutte le linee cellulari di questi tipi che abbiamo esaminato, comprese le cellule tumorali derivate da una nuova biopsia di condrosarcoma, erano significativamente colpite dall'acido retinoico. L'esposizione di queste cellule all'acido retinoico ha provocato marcati cambiamenti nella crescita e nella morfologia; il tasso di crescita esponenziale è stato ridotto, le cellule hanno assunto un aspetto piatto, a causa della maggiore diffusione cellulare e della ridotta sovrapposizione; e la loro densità di saturazione è stata abbassata.

Tutte le linee cellulari tumorali che erano in grado di formare colonie nell'agarosio hanno perso questa indipendenza di ancoraggio dopo il trattamento con acido retinoico. Risposte simili all'acido retinoico sono state osservate in precedenza con diversi fibroblasti di roditori trasformati in coltura (1, 8, 17, 34). Tuttavia, alcuni fibroblasti trasformati viralmente (ad es. SV3T3 e MSV3T3) e le cellule di fibrosarcoma umano HT1080 non erano sensibili all'acido retinoico (9, 17, 27). Sebbene al momento non ci siano informazioni sugli effetti diretti dell'acido retinoico sui normali condroblasti o osteoblasti umani, potrebbe essere rilevante discutere i precedenti rapporti sugli effetti dei retinoidi sulle normali cellule mesenchimali nei roditori.

Studi con cellule mesenchimali da abbozzi embrionali precondrogenici di arti di topo e con condrociti di topo in coltura hanno indicato che l'acido retinoico non ha inibito la proliferazione cellulare in colture a bassa densità (14, 39) in contrasto con le nostre osservazioni con cellule di condrosarcoma umano. Anche le risposte all'acido retinoico di fibroblasti cutanei umani normali in coltura erano distinte dalle risposte delle cellule del condrosarcoma e dell'osteosarcoma. Mentre l'acido retinoico ha ridotto il tasso di crescita esponenziale nelle cellule normali e tumorali, non vi è stato alcun cambiamento nella morfologia dei fibroblasti cutanei trattati o nella loro densità di saturazione rispetto alle cellule non trattate (21). Pertanto, sembra che le risposte delle cellule tumorali siano diverse da quelle delle cellule normali di cui sopra.

Numerosi studi in vitro e in vivo hanno dimostrato che l'acido retinoico può modulare la condrogenesi e l'osteogenesi (12, 14, 15, 28, 29). La differenziazione delle cellule precondrogeniche degli abbozzi degli arti mesenchimali in condrociti è stata inibita dall'acido retinoico (12, 14) e la produzione di glicosaminoglicani da parte di condrociti di topo in coltura (39) e da cellule di condrosarcoma di ratto (33, 38) è stata ridotta. Un ulteriore effetto diretto dell'acido retinoico su queste cellule è un aumento del rilascio di proteoglicani presumibilmente attraverso l'induzione della sintesi di una proteinasi metallo-dipendente (18, 19). I risultati qui presentati implicano che

l'acido retinoico sopprime nelle cellule tumorali umane di osteosarcoma e condrosarcoma l'espressione di proprietà cellulari che sono spesso associate al fenotipo trasformato. Poiché gli effetti di inibizione della crescita dell'acido retinoico sono stati osservati a concentrazioni che possono essere raggiunte farmacologicamente nei pazienti oncologici (13), i nostri risultati suggeriscono che alcuni condrosarcomi e osteosarcomi possono rispondere al trattamento con retinoidi nell'uomo.