

Titolo: Azione antiproliferativa dell'acido retinoico nelle cellule tumorali cerebrali umane in coltura GI-As-14(S) - Antiproliferative action of retinoic acid in cultured human brain tumor cells GI-As-14(S).

Codice: RET011

Autore: Mukherjee e Das

Data: 1990

Rivista: Cancer Letters 52(1):83-9

Argomento: retinoidi

Accesso libero: no

DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(90\)90081-8](https://doi.org/10.1016/0304-3835(90)90081-8)

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0304383590900818>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2023/05/25/ret011-mukherjee-e-das-1990/>

Parole chiave: acido retinoico, attività antiproliferativa, glioblastoma, attività differenziante

Tumore: glioblastoma

Traduzione: le sezioni “Riassunto”, “Introduzioni” e “Discussione” sono state tradotte tutte in modo fedele. La sezione “Materiali e metodo” è stata tradotta con semplicizzazioni, e la sezione “Risultati” presentata solo traducendo i titoli delle diverse sottosezioni.

Punti di interesse: In questo studio cellule di glioblastoma umano sono state trattate con acido all trans β retinoico (acido retinoico - AR). Gli autori avevano precedentemente effettuato studi simili con AR e osservato che l'AR determinava alterazioni morfologiche e migliorava l'adesività cellula-substrato. In questo ulteriore studio sono andati a osservare come l'acido all trans retinoico influenzava la crescita cellulare di queste colture, dimostrando l'effetto antiproliferativo dell'acido retinoico su questa linea cellulare di glioblastoma. L'inibizione è dipendente da tempo e dosaggio, ed è reversibile. Il trattamento con acido retinoico inoltre inibisce la crescita indipendente dall'ancoraggio e quindi il numero di colonie formate per piastra seminata. La crescita indipendente dall'ancoraggio è una caratteristica delle cellule trasformate che le rende capaci di migrare in altri tessuti e formare metastasi. A tutte le concentrazioni di siero fetale di bovino testate, la crescita delle cellule trattate con acido retinoico è stata significativamente ritardata. Questa riduzione è stata più drammatica a basse concentrazioni di siero bovino fetale indicando che le cellule trattate con acido retinoico hanno un fabbisogno di siero più elevato rispetto alle cellule non trattate. Il siero fetale bovino (FBS) è il supplemento per la crescita più utilizzato per i terreni di coltura cellulare per via dei livelli elevati di fattori che promuovono la crescita embrionale.

I risultati non solo hanno dimostrato che l'acido retinoico diminuisce la crescita di queste cellule tumorali (effetto antiproliferativo), ma anche che le trasforma (effetto differenziante). Hanno cioè evidenziato le proprietà differenzianti dell'acido retinoico. Le cellule trattate con acido retinoico infatti, non solo diminuiscono la loro crescita, ma cambiano: perdono la capacità di formare colonie, non crescono in soft agar, non agglutinano se trattate con la lecitina Con A. Il trattamento dell'acido retinoico ha invertito le caratteristiche tipiche di cellule trasformate.

Gli autori affermano che : “Pertanto i risultati sono coerenti con il trattamento dell'acido retinoico che inverte lo stato neoplastico delle cellule” e “l'acido retinoico potrebbe aver soppresso il fenotipo trasformato con conseguente espressione di determinate proprietà associate alle cellule normali.”

Traduzione articolo

Riassunto

Abbiamo impiegato la linea cellulare di tumore cerebrale umano Gl-As-14(S) per studiare l'azione antiproliferativa dell'acido retinoico (AR). L'acido retinoico (20 microM) ha causato una riduzione dipendente dal tempo, dalla dose e dalla densità di semina cellulare, della proliferazione cellulare nel mezzo liquido e ha inibito la crescita nell'agar. Gli effetti inibitori della crescita dell'acido retinoico sono stati influenzati anche dalla concentrazione di siero bovino fetale (FBS) nel terreno. Tutti questi effetti possono essere invertiti entro 48 ore dalla rimozione dell'acido retinoico dal mezzo di crescita. Le cellule trattate con acido retinoico hanno anche mostrato una ridotta capacità di legame della concanavalina A (Con A) mediante la tecnica del micro-emassorbimento. I risultati hanno dimostrato che l'acido retinoico può sopprimere in questa linea cellulare tumorale l'espressione di alcune proprietà frequentemente associate alle cellule trasformate.

Introduzione

È stato dimostrato che molti analoghi sintetici e naturali della vitamina A (retinoidi) hanno un valore potenziale come agenti chemiopreventivi [1] o chemioterapici [2] contro il cancro. In una varietà di studi è stato dimostrato che i retinoidi hanno la potenzialità di inibire la crescita delle cellule tumorali [3-10] e ci sono anche indicazioni che i retinoidi possono modificare i modelli di proliferazione cellulare in vitro. Poiché in precedenti studi abbiamo riferito che l'acido retinoico può indurre alterazioni morfologiche e può migliorare l'adesività cellula-substrato di una sottoclasse di cellule tumorali cerebrali umane, Gl-As-14(S) in coltura [11,121], gli studi attuali sono l'estensione dei nostri lavori precedenti e ora riportiamo che l'acido retinoico può inibire la crescita di queste cellule sia in monocoltura che in colture di agar in modi dipendenti dal tempo e dalla concentrazione. Viene inoltre considerata la rilevanza della concentrazione sierica nel mezzo di coltura e della densità di semina cellulare per gli effetti dell'acido retinoico sulla proliferazione cellulare. Anche l'alterazione delle superfici cellulari indotta dall'acido retinoico è stata studiata studiando il legame della concanavalina A (Con A) a queste cellule.

Materiali e metodi

La linea cellulare di tumore cerebrale umano Gl-As-14(S) utilizzata in questo studio era una sottoclasse di Gl-As-14(ATCC-HTB-14). L'isolamento di questa linea cellulare è stato precedentemente descritto [11]. Le cellule sono state coltivate a 37°C con la soluzione di Hank contenente il 5% siero bovino fetale (FBS) e con aggiunta di glutammina, penicillina e streptomina. L'acido all trans β retinoico (AR) e Con A provenivano da Sigma Chemicals (USA). La valutazione dell'inibizione della crescita dipendente e indipendente dall'ancoraggio indotta dall'acido retinoico è stata effettuata con il metodo riportato in precedenza [13]. Gli effetti inibitori della crescita dell'acido retinoico in colture seminate a diverse densità cellulari ($0,5 \times 10^4$ - 4×10^4 cellule per piatto da 35 mm) sono stati studiati trattandole con 20 μ M di acido retinoico per 7 giorni. Il ruolo delle diverse concentrazioni sieriche nel mezzo di crescita sull'inibizione della crescita indotta da acido retinoico è stato studiato seminando 2×10^4 cellule in piastre di coltura da 35 mm in terreno contenente il 5% di siero bovino fetale (FBS). L'acido retinoico (20 μ M) è stato aggiunto 24 ore dopo la placcatura in terreni integrati con FBS dal 2 al 8 % e le cellule sono state contate dopo 7 giorni di trattamento.

L'agglutinabilità mediata da Con A delle cellule GI-As-14 (S) trattate e non trattate con acido retinoico è stata studiata utilizzando la tecnica dell'emoadsorbimento di Furmansky et al. [14]. Circa 1×10^4 cellule sono state seminate in una serie di piatti di coltura da 35 mm divisi in due gruppi, trattati con diverse concentrazioni di acido retinoico e Con A.

Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti in serie triplicate di piastre e ogni esperimento è stato ripetuto 3 volte. Tutti gli esperimenti sono stati condotti in condizioni di luce soffusa.

Risultati

Abbiamo precedentemente riportato che l'acido retinoico ha indotto alterazioni morfologiche quando le cellule sono state coltivate in terreno integrato con 15 μ M o 20 μ M di acido retinoico [11]. Questo effetto inibitorio è stato ulteriormente studiato e i risultati che abbiamo osservato sono:

- 1) Inibizione della crescita cellulare indotta da acido retinoico
- 2) Effetto dose-dipendente dell'inibizione della crescita indotta da acido retinoico
- 3) L'acido retinoico ha indotto l'inibizione della crescita a diverse densità di semina cellulare
- 4) Inibizione della crescita indipendente dall'ancoraggio
- 5) Il trattamento con acido retinoico ha invertito caratteristiche tipiche di cellule maligne (effetto differenziante)

Discussione

I nostri risultati indicano che il trattamento delle cellule tumorali del cervello umano con acido retinoico nella coltura tissutale ha indotto alterazioni morfologiche [11], inibizione della crescita, ridotta formazione di colonie in agar molle. Abbiamo già riferito che le cellule trattate con acido retinoico hanno assunto un aspetto piatto a causa della maggiore diffusione cellulare e anche della ridotta sovrapposizione [11]. Questi effetti, che potrebbero essere considerati come ripristino del controllo della crescita dipendente dalla densità, sono simili a precedenti scoperte con cellule murine trasformate L-929 e fibroblastiche NILpy [3,17] così come cellule di carcinoma orale umano [13]. Anche l'inibizione della crescita delle cellule tumorali cerebrali umane da parte dell'acido retinoico è simile a quella già riportata con melanomi murini e umani, carcinomi mammari e orali [7,5,13] in quanto è dipendente dal tempo, dipendente dalla dose ed è reversibile. Inoltre, abbiamo dimostrato che l'effetto inibitorio della crescita dell'acido retinoico dipende dalla densità ed è anche influenzato dalla concentrazione di siero presente nel terreno. Una simile inibizione della crescita indotta da acido retinoico dipendente dalla densità è stata riportata con cellule di fibroblasti murini L-929 trasformati [3]. Ma nessun effetto del genere è stato riportato con le cellule di fibroblasti umani F-4 [18]. L'aumento della densità di saturazione e il ridotto fabbisogno di siero sono spesso associati allo stato trasformato delle cellule e il trattamento dell'acido retinoico sembra aver invertito queste caratteristiche.

La capacità di crescere in soft agar è un marcatore affidabile per lo stato neoplastico e abbiamo dimostrato che le cellule non trattate crescevano con alta efficienza in soft agar in condizioni in cui le cellule trattate con acido retinoico, a seconda della concentrazione di acido retinoico, crescevano con bassa efficienza o non riuscivano a formare alcuna colonia. Pertanto i risultati sono coerenti con il trattamento dell'acido retinoico che inverte lo stato neoplastico delle cellule. In una varietà di sistemi cellulari, è stato riportato che Con A si lega preferenzialmente a cellule neoplastiche e trasformate [19-27]. Abbiamo anche dimostrato che Con A si lega alle cellule tumorali del cervello umano. Ma le cellule inibite dalla crescita indotta da acido retinoico hanno mostrato una ridotta capacità di legame di Con A, indicando che il trattamento con acido retinoico potrebbe aver causato alcune alterazioni dei siti di legame di Con A sulle superfici cellulari. Inoltre, sono necessarie indagini per scoprire il numero di siti di legame Con A sulla superficie cellulare e le costanti di associazione dei siti di legame Con A delle cellule trattate e non trattate. Tutti i risultati dimostrano

che la sottoclasse della linea di tumori cerebrali umani utilizzata in questo studio risponde al trattamento dell'acido retinoico che potrebbe aver soppresso il fenotipo trasformato con conseguente espressione di determinate proprietà associate alle cellule normali.