PHCbi

LiCellMo™

Nota de aplicación

Solo con fines de investigación

# Visualización del perfil metabólico de células inmunitarias con inhibidores metabólicos mediante el analizador metabólico de células vivas

## Introducción

Existe una diversidad de perfiles metabólicos en las células cancerosas, y estos perfiles pueden diferir ampliamente incluso dentro del mismo cáncer.[1] También se sabe que la dependencia de la glucólisis aeróbica, uno de los diversos perfiles metabólicos, es común en las células inmunitarias.[2] Esta dependencia genera competencia por las fuentes de energía entre las células cancerosas y las células inmunitarias en el microambiente tumoral, y se ha implicado en la disfunción de las células inmunitarias.[3] Las células también alteran su metabolismo en respuesta al entorno. El análisis del metabolismo celular es, por tanto, un factor clave para comprender la función celular. Existen métodos para evaluar el metabolismo celular mediante el análisis de los componentes de los medios de cultivo, pero los métodos convencionales basados en un máximo de unas pocas muestras al día son inadecuados para observar los cambios en el metabolismo celular a lo largo del tiempo. Teniendo en cuenta estos antecedentes, PHC diseñó un analizador metabólico de células vivas con sensores electroquímicos en línea y estableció un método para medir continuamente las concentraciones de glucosa y lactato en el medio de cultivo. En este estudio, intentamos visualizar los perfiles metabólicos celulares midiendo continuamente los cambios en el metabolismo celular utilizando un inhibidor de la glucólisis y un inhibidor del metabolismo mitocondrial.

## Método

En este estudio se utilizaron células THP-1 de una línea celular de leucemia monocítica aguda (obtenidas del Banco de células JCRB: JCRB0112.1), y células NB-4 de una línea celular de leucemia promielocítica aguda (obtenidas de CLS - Servicio de líneas celulares GmbH: 300299). Se sabe que las líneas celulares THP-1 y NB-4 dependen del metabolismo de los ácidos grasos y de la glucólisis, respectivamente.[4] Ambas líneas celulares se cultivaron durante 72 horas en medio RPMI 1640 suplementado con un 10 % de FBS, durante las cuales se midieron continuamente las concentraciones de glucosa y lactato utilizando el analizador metabólico de células vivas.

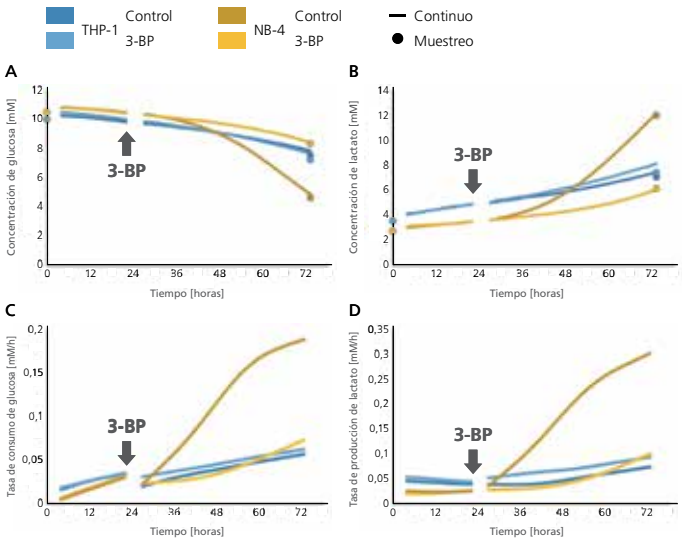
En el Experimento 1, se añadió el inhibidor de la hexoquinasa 3-bromopiruvato (3-BP) a una concentración final de 12,5 µM, 24 horas después de la siembra celular. Esto nos permitió examinar el tipo de cambios metabólicos que se producen cuando se inhibe la glucólisis en líneas celulares con diferentes propiedades metabólicas.

En el Experimento 2, se añadió el inhibidor de la ATP sintasa, oligomicina (Oligo), a una concentración final de 0,25 µM (0,1 % DMSO), 24 horas después de la siembra celular, lo que nos permitió examinar el tipo de cambios metabólicos que se producen en ambas líneas celulares cuando se inhibe el metabolismo mitocondrial.

En los Experimentos 1 y 2, se compararon las concentraciones de glucosa y lactato en el medio de cultivo al final de las mediciones continuas basándose en los resultados del analizador metabólico de células vivas y del análisis colorimétrico.

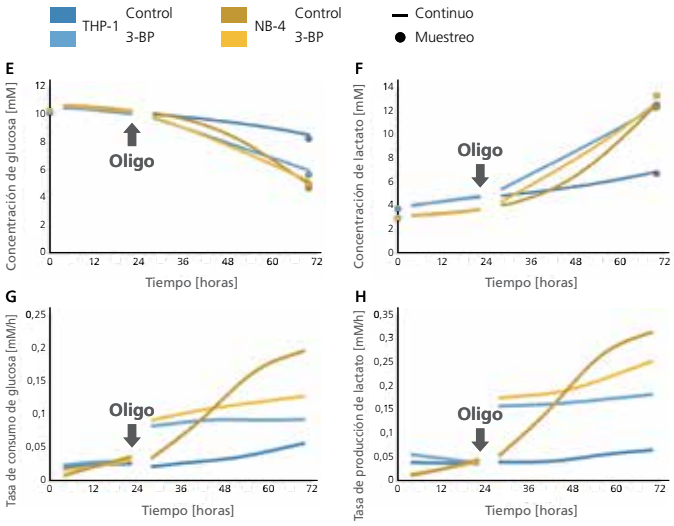
## Resultado 1

Inicialmente se evaluó la precisión de los resultados de las mediciones continuas. Cuando se compararon los resultados del analizador metabólico de células vivas con los del análisis colorimétrico para las concentraciones de glucosa y lactato en el medio de cultivo al final de las mediciones continuas, la discrepancia máxima fue del 9 %. Por consiguiente, se concluyó que las mediciones eran suficientemente precisas (A y B). A continuación, se calcularon la tasa de consumo de glucosa y la tasa de producción de lactato a partir de los cambios en las concentraciones de glucosa y lactato determinados mediante mediciones continuas (C y D). La comparación de estos valores mostró que la tasa metabólica tanto de la glucosa como del lactato en las células NB-4 aumentaba considerablemente, pero el aumento disminuía 60 horas después de la siembra celular. Además, la tasa metabólica de las células NB-4 se inhibió inmediatamente después de añadir 3-BP, y esta inhibición continuó durante el resto del experimento. Por el contrario, las células THP-1 mostraron solo un pequeño cambio en la tasa metabólica, y ningún cambio en respuesta a 3-BP.



## Resultado 2

Cuando se compararon los resultados del analizador metabólico de células vivas con los del análisis colorimétrico para las concentraciones de glucosa y lactato en el medio de cultivo al final de las mediciones continuas, la discrepancia máxima fue del 6 % (E y F). Cuando la tasa de consumo de glucosa y la tasa de producción de lactato se calcularon a partir de las concentraciones de glucosa y lactato determinadas por mediciones continuas, las tasas metabólicas de ambas líneas celulares mostraron un aumento espectacular en respuesta a Oligo (G y H). Sin embargo, aunque la tasa metabólica de las células NB-4 aumentó como resultado del tratamiento con Oligo, fue mayor en el grupo DMSO 45 horas después de la siembra celular.




## Debate

La inhibición de la glucólisis mediante el tratamiento con 3-BP solo afectó a las células NB-4, y las mediciones continuas demostraron que las células NB-4 tienen propiedades dependientes de la glucólisis. Además, se produjo un cambio en la tasa metabólica 60 horas después de la siembra, lo que sugiere que también se produjo un cambio en el estado de las células en ese momento.

Puede haberse producido un cambio metabólico porque el tratamiento con Oligo promovió la glucólisis en las células THP-1 y se inhibió la producción mitocondrial de ATP. De este modo, las mediciones continuas permitieron demostrar que las células THP-1 tienen propiedades dependientes del metabolismo mitocondrial. El cambio en la tasa metabólica tras el tratamiento con Oligo difirió entre las células THP-1 y las células NB-4, lo que sugiere que la capacidad de respuesta a los inhibidores metabólicos cambia con el tiempo en función del tipo celular.

## Conclusión

Desarrollamos un método para medir continuamente las concentraciones de glucosa y lactato utilizando un analizador metabólico de células vivas con sensores en línea. También confirmamos que las mediciones continuas eran suficientemente precisas independientemente de si se utilizaba un inhibidor.

Las mediciones continuas del medio de cultivo permitieron visualizar los cambios en el metabolismo celular en respuesta al entorno, en lugar de limitarse a proporcionar una instantánea del metabolismo celular. La evaluación de la diferente capacidad de respuesta de cada tipo celular a los inhibidores metabólicos a lo largo del tiempo mediante mediciones continuas también resultó útil para dilucidar las propiedades metabólicas de las células.

Entender el metabolismo de las células inmunitarias es importante para dilucidar las propiedades de dichas células.[5] También es bien sabido que las células inmunitarias cambian dinámicamente su propio metabolismo durante las fases de activación, proliferación y agotamiento.[6] La estrecha relación entre la función celular y el metabolismo ha sido el centro de la investigación sobre terapias de células inmunitarias, en particular las dirigidas contra el cáncer. Esperamos que el uso del analizador metabólico de células vivas con monitorización en línea contribuya a nuevos descubrimientos en la investigación sobre las propiedades metabólicas de las células inmunitarias.

## Referencia

1. Chen P-H, Cai L, Huffman K, et al. Metabolic diversity in human non-small cell lung cancer cells. Mol Cell. 2019;76:838-851.
2. Pearce EL, Poffenberger MC, Chang CH, Jones RG. Fueling immunity: Insights into metabolism and lymphocyte function. Science. 2013;342:124254.
3. Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression. Cell. 2015;162:1229-1241.
4. Miwa H, Shikami M, Goto M, et al. Leukemia cells demonstrate a different metabolic perturbation provoked by 2-deoxyglucose. Onco Rep. 2013;29:2053-2057.
5. Buck MD, O'Sullivan D, Pearce EL. T cell metabolism drives immunity. J Exp Med. 2015;212:1345-1360.
6. Jones RG, Thompson CB. Revving the engine: signal transduction fuels T cell activation. Immunity. 2007;27:173-178.

*Los datos son el resultado de la verificación de PHC y no constituyen una garantía de los datos del cliente.



PHC Europe
A Member of PHC Group
Eikdonk 1 | 4825 AZ Breda | Netherlands
T: +31 (0) 76 543 3833 | biomedical.nl@eu.phchd.com
www.phchd.com/eu/biomedical

Versión: 291124