



## Antiproliferative and Apoptotic Effects of Campesterol in HCT-116 Human Colon Carcinoma Cells are Mediated Via Mitochondrial Disruption and Inhibition of Cell Migration

Jing-Jing ZHU<sup>1\*</sup>, Song-Peng YANG<sup>2</sup>, Chen JING<sup>3</sup> & Hai-Yan LI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, China

<sup>2</sup> Department of Gastrointestinal Vascular Surgery, Central Hospital of Zhengzhou City, Gastrointestinal Vascular Surgery, Zhengzhou, 450000, China

<sup>3</sup> Department of Neurology, Seventh People's Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou 450000, China

<sup>4</sup> Department of Geriatrics, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

**SUMMARY.** The objective of the current investigation was to assess the antiproliferative activity of campesterol in HCT-116 human colon carcinoma cells and to evaluate its effect on apoptosis induction, cell migration and mitochondrial membrane potential loss ( $\Delta\Psi_m$ ). The cytotoxic effect of campesterol was evaluated by sulforhodamine B (SRB) as well as clonogenic assays. Its effect on apoptosis was studied by fluorescence and transmission electron microscopic techniques. *In vitro* wound healing assay using inverted light microscope was used to evaluate its effect on cell migration while as flow cytometry was used for assessing its effect on  $\Delta\Psi_m$ . Cell viability assay results show that campesterol exhibits significant cytotoxic effect in HCT-116 cells indicating  $IC_{50}$  values of 45.5, 32.2, and 22.4  $\mu\text{M}$  at 24, 48, and 72 h time intervals, respectively. Fluorescence microscopy and TEM results indicate that campesterol induces early as well as late apoptotic effects in these cell lines characterized by chromatin condensation, membrane blebbing, apoptotic body formation, appearance of vacuoles, swelling of mitochondria and endoplasmic reticulum. Campesterol also induced dose-dependent loss of mitochondrial membrane potential as well as suppression of cancer cell migration.

**RESUMEN.** El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antiproliferativa del campesterol en células HCT-116 de carcinoma de colon humano y su efecto sobre la inducción de la apoptosis, la migración celular y la pérdida potencial de la membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ). El efecto citotóxico de campesterol se evaluó por sulforrodamina B (SRB), así como por ensayos clonogénicos. Su efecto sobre la apoptosis fue estudiado por fluorescencia y técnicas microscópicas de transmisión electrónica. El ensayo de curación *in vitro* de la herida usando microscopio de luz invertida se utilizó para evaluar su efecto sobre la migración celular, mientras que se utilizó citometría de flujo para evaluar su efecto sobre  $\Delta\Psi_m$ . Los resultados del ensayo de viabilidad celular demuestran que el campesterol exhibe significativo efecto citotóxico en células HCT-116, como indican los valores de  $IC_{50}$  de 45,5, 32,2 y 22,4  $\mu\text{M}$  a las 24, 48 y 72 h, respectivamente. La microscopía de fluorescencia y los resultados de TEM indican que campesterol induce efectos apoptóticos tempranos, así como finales, en estas líneas celulares caracterizadas por condensación de la cromatina, formación de ampollas en la membrana, formación de cuerpos apoptóticos, el aspecto de vacuolas, hinchazón de las mitocondrias y del retículo endoplásmico. El campesterol también indujo pérdida del potencial de membrana mitocondrial dependiente de la dosis, así como la supresión de la migración de células de cáncer.

**KEY WORDS:** apoptosis, campesterol, colon cancer, flow cytometry, membrane potential.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mails: zhjj\_happy@hotmail.com, jingjingzhu775@yahoo.com