

La Inhibición de la activación de la vía Notch disminuye el crecimiento y la producción hormonal de los tumores somatotropos en ratones nude/nude.

Zubeldia Brenner L, Santiago Ribuffo, Sofia Perrone, Carolina Cristina y Damasia Becú-Villalobos.

Cita:

Zubeldia Brenner L, Santiago Ribuffo, Sofia Perrone, Carolina Cristina y Damasia Becú-Villalobos (2014). *La Inhibición de la activación de la vía Notch disminuye el crecimiento y la producción hormonal de los tumores somatotropos en ratones nude/nude*. LIX Annual Meeting of the Argentinean Society for Clinical Research (SAIC), Mar del Plata.

Dirección estable: <https://www.aacademica.org/lautaro.zubeldia.brenner/4>

ARK: <https://n2t.net/ark:/13683/ptoZ/cp1>



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons.
Para ver una copia de esta licencia, visite
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>.

Acta Académica es un proyecto académico sin fines de lucro enmarcado en la iniciativa de acceso abierto. Acta Académica fue creado para facilitar a investigadores de todo el mundo el compartir su producción académica. Para crear un perfil gratuitamente o acceder a otros trabajos visite: <https://www.aacademica.org>.

La Inhibición de la activación de la vía Notch disminuye el crecimiento y la producción hormonal de los tumores somatolactotropos en ratones nude/nude.

Lautaro Zubeldia-Brenner¹, Santiago Ribuffo¹, Sofía Perrone², Carolina Cristina² y Damasia Becú-Villalobos¹.

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET). ²Departamento de Cs. Básicas y Experimentales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA).

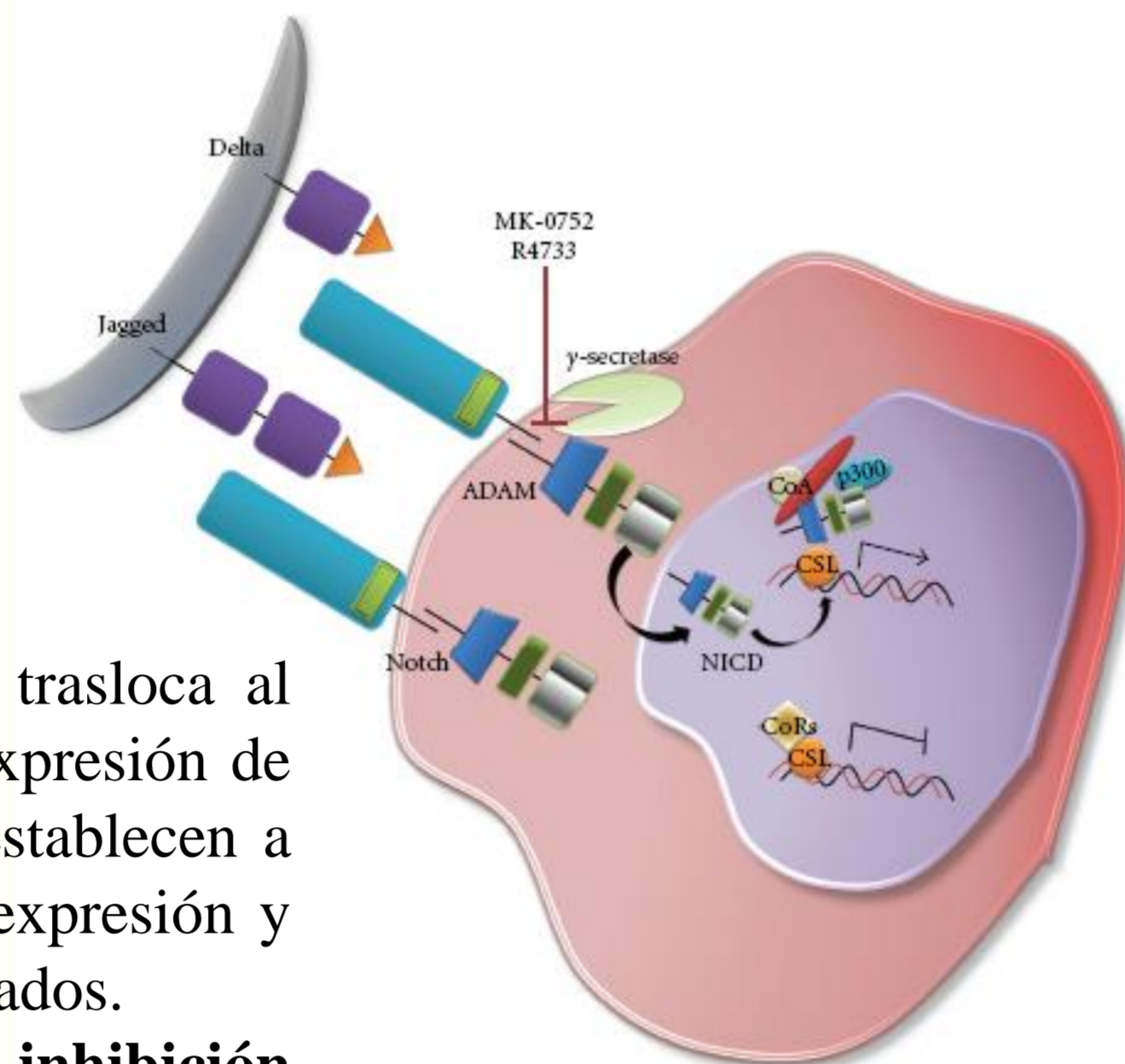


Introducción

La vía de señalización de los receptores Notch regula diversos procesos durante el desarrollo de células eucariotas como proliferación, migración, diferenciación y apoptosis. La familia de Notch, que consta de cuatro receptores (1,2,3 y 4) se encuentra involucrada en la autorrenovación de células madre y determinando el destino celular. Los receptores Notch son proteínas de un paso transmembrana con un dominio extracelular, uno transmembrana y uno intracelular (NICD).

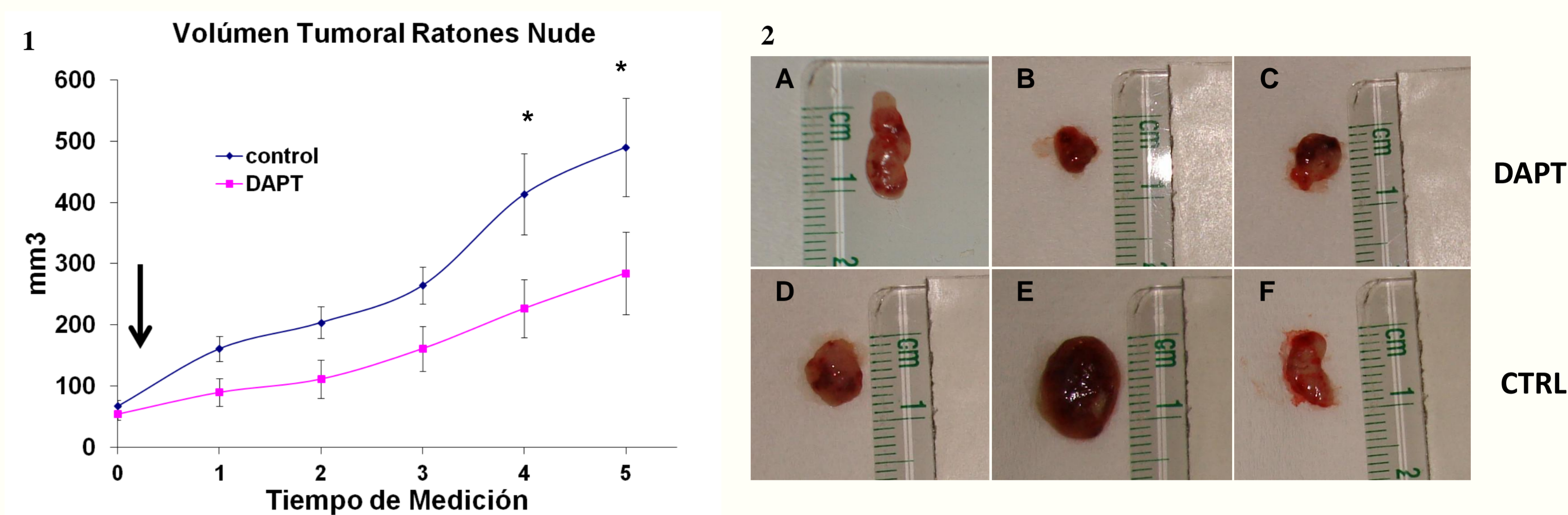
Cuando se activa la vía por ligando, el NICD se cliva, trasloca al núcleo y activa factores de transcripción que llevan a la expresión de genes blanco, entre ellos el Hes-1. Existen reportes que establecen a Notch como oncogén en tumores de distintos tejidos. Su expresión y activación en adenomas hipofisarios no han sido bien estudiados.

Nuestro objetivo en el presente trabajo fue evaluar si la inhibición farmacológica de Notch comprometía el crecimiento y la actividad secretora de tumores somatolactotropos generados en ratones nude/nude. Asimismo evaluamos los efectos del DAPT en células GH3 somatolactotropas cultivadas in vitro.

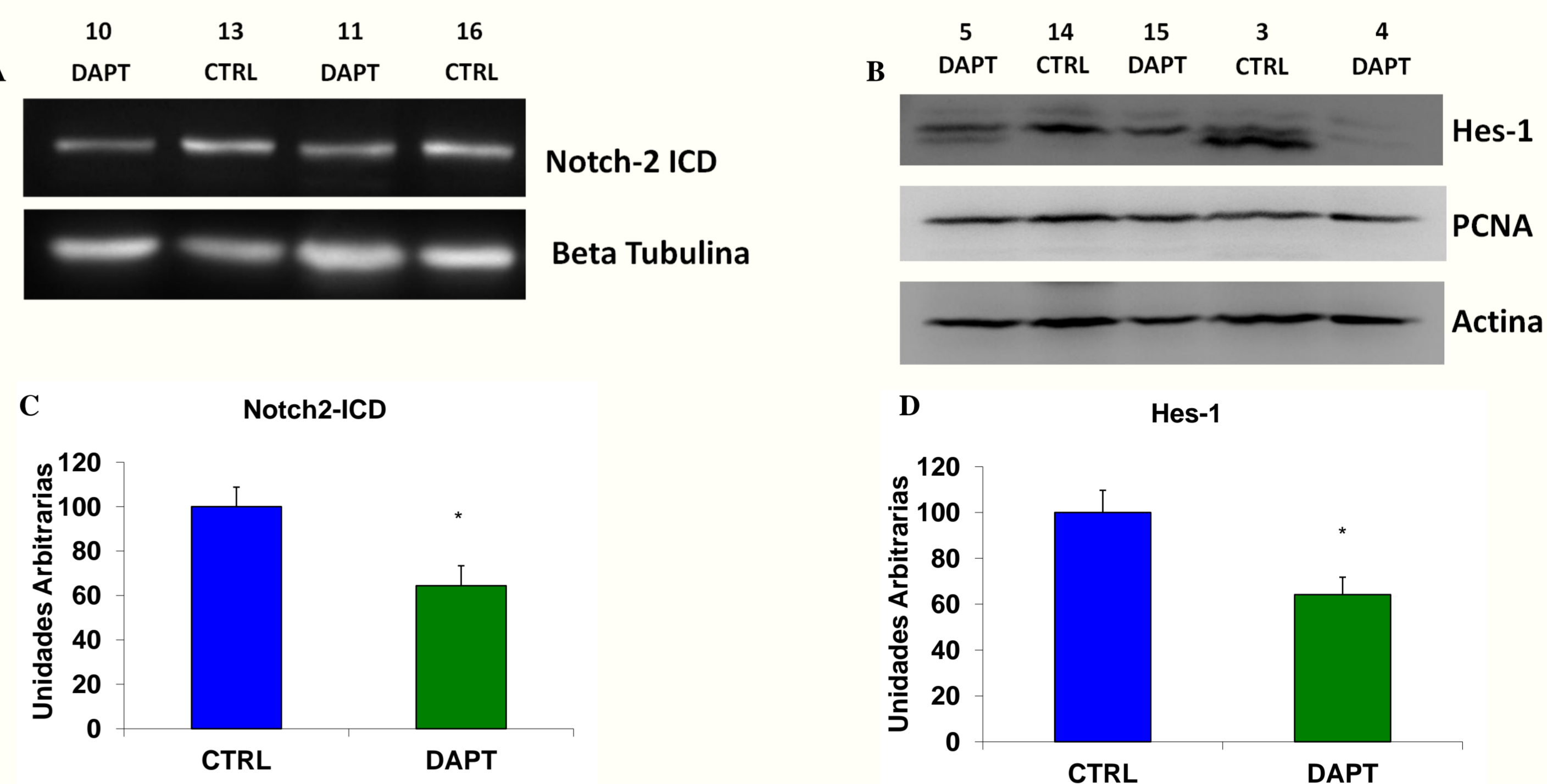


Resultados

Figura 2: La vía de Notch tiene un papel determinante en el crecimiento tumoral.

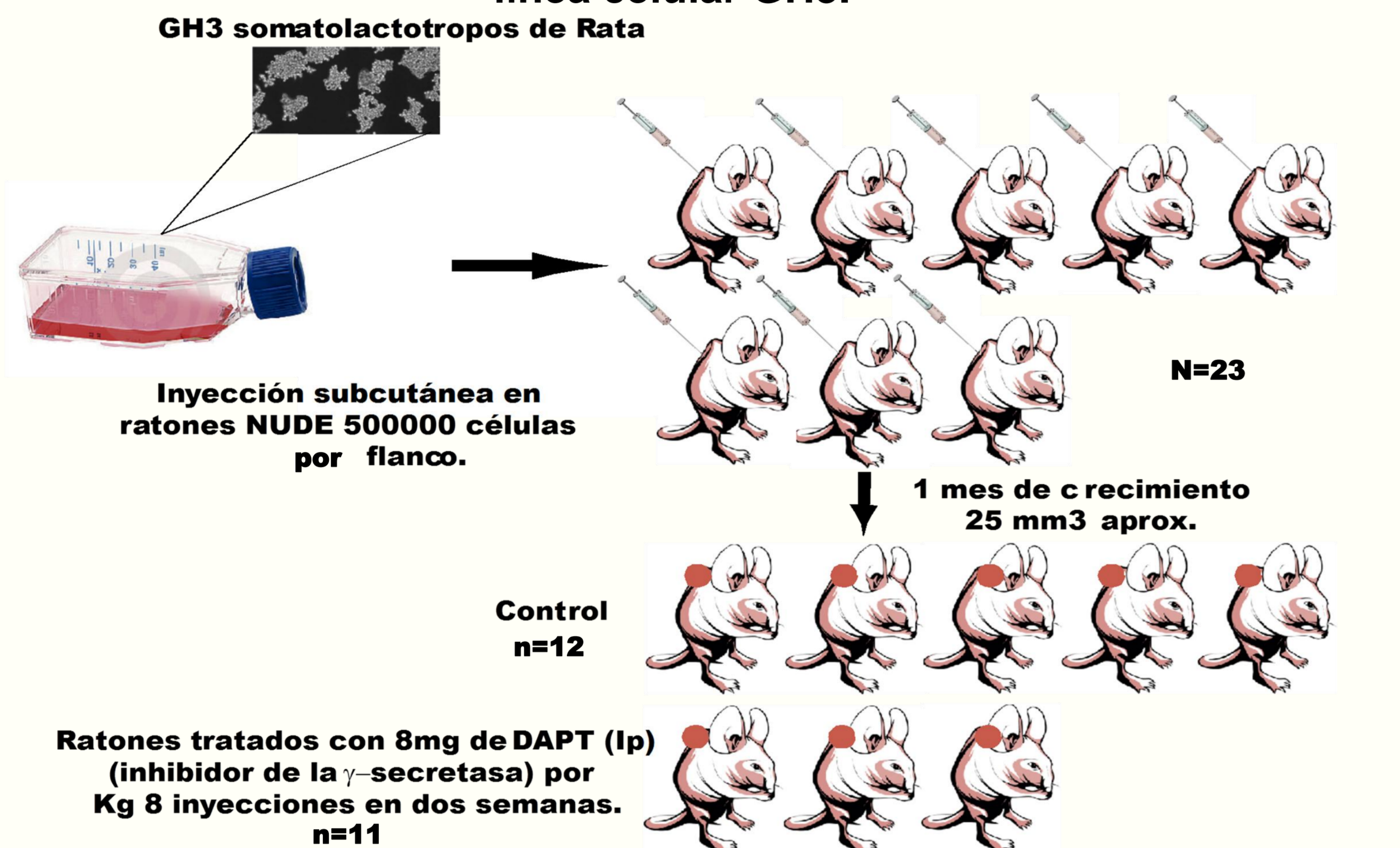


1) Volúmenes tumorales de animales Control (n=12) y de animales tratados (n=11) con DAPT en una dosis 8mg/Kg. La flecha negra indica el inicio del tratamiento. El volumen se calculó con la fórmula: (Lado mayor) X (Lado menor)² X 0.52=Volumen Tumoral. Se tomó la medida de cada tumor con un calibre cada tres días comenzando antes del tratamiento, (*p<0.05); 2) Imágenes representativas de 6 tumores, 3 pertenecientes a animales tratados (A, B y C) y 3 pertenecientes a animales controles (D, E y F) en el momento de su extirpación al final del tratamiento.



A-B) Niveles de la proteínas Notch-2 ICD, Hes-1 y PCNA medidos por Western Blot con anticuerpos específicos en tumores tratados con DAPT y Controles. Se muestran las imágenes representativas para cada una de las proteínas. C-D) Análisis densitométrico de las proteínas cuantificadas en A y en B, relativizadas a Beta tubulina y a Actina, respectivamente. C): Notch-2 ICD: DAPT n=9, CTRL n=8; *p=0,033. D) Hes-1: DAPT n=12, CTRL n=11; *p=0,033.

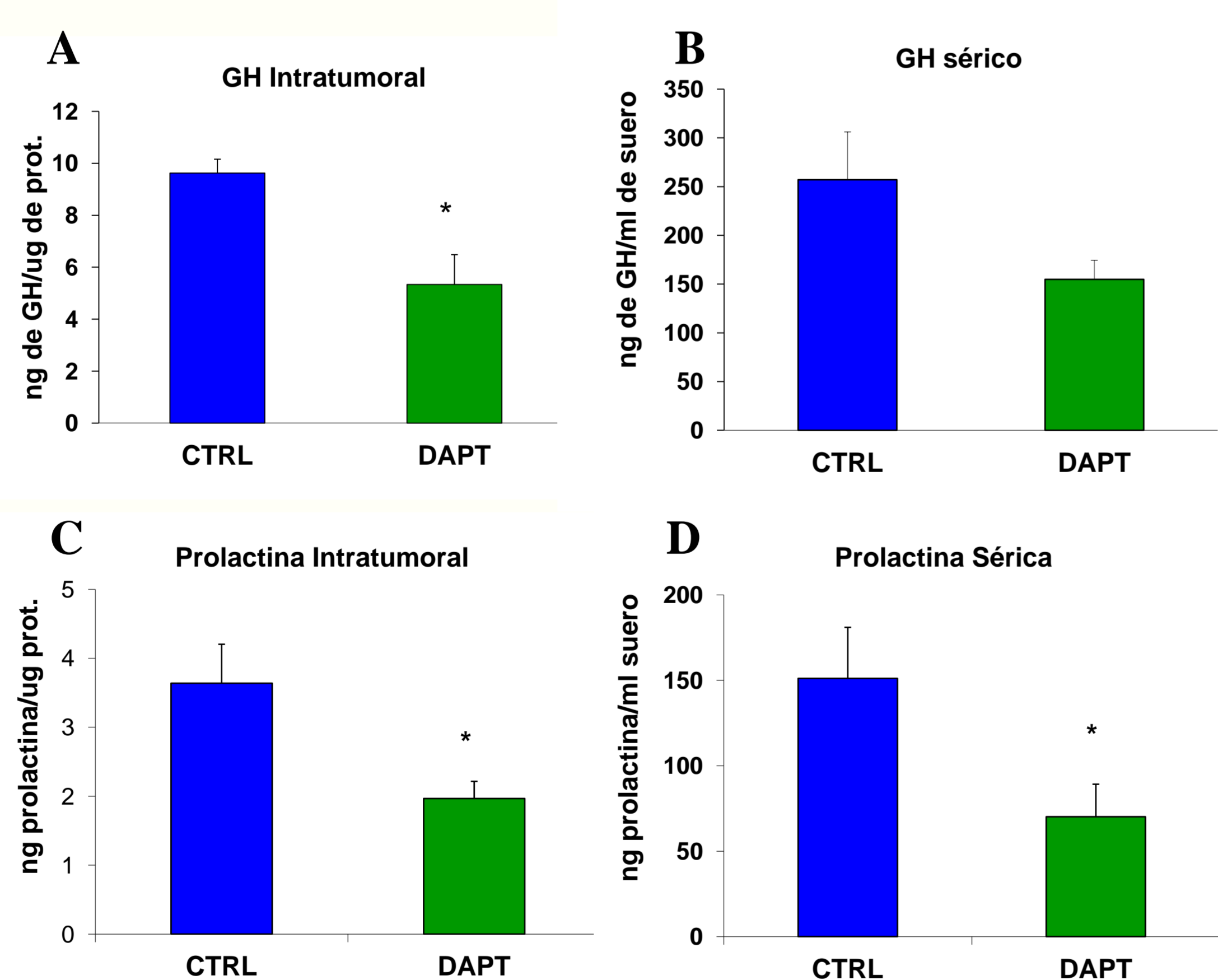
Materiales y Métodos: Tumores Xenotrópicos subcutáneos a partir de la línea celular GH3.



Se inyectaron 500000 células por flanco (subcutáneo) de la línea celular GH3 en ratones atímicos BALB/c Nude. Luego de dejar crecer los tumores hasta un volumen de 25 mm³, se trató a los animales de forma intraperitoneal con la droga DAPT, un inhibidor de la gamma-secretasa, o con vehículo.

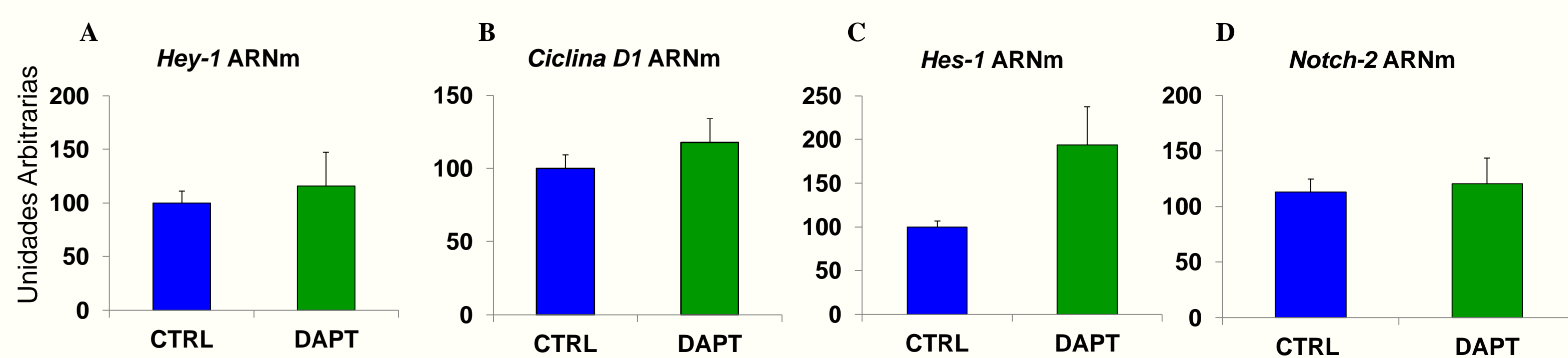
Resultados

Figura 1: El tratamiento con DAPT modifica la actividad secretora tumoral.



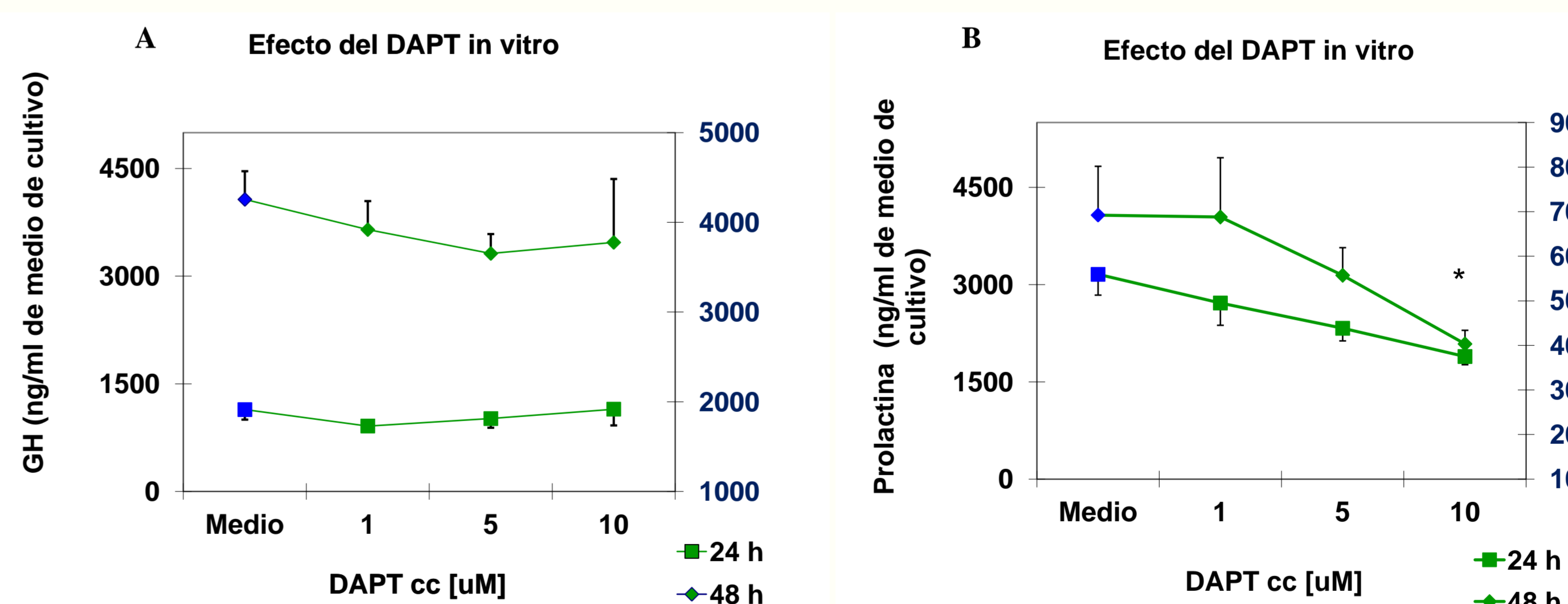
A-C) Concentración de GH y Prolactina intratumoral, Control (n=12) y Tratados con DAPT (n=11) (*p=0.005 y 0.021 respectivamente), medición por RIA. B-D) Niveles de GH y Prolactina séricos mediante RIA (*p=0.1 y 0.045, respectivamente). Muestras tomadas el día de sacrificio.

El tratamiento con DAPT no modificó los niveles de ARNm de la vía de Notch.



A-D) Niveles del mensajero de *Hey-1*, *Ciclina D1*, *Hes-1*, y *Notch-2* medidos por PCR en tiempo Real en tumores Tratados (n=11) y Controles (n=12). La expresión relativa de los transcritos evaluados se calculó usando *Gapdh* como control endógeno. La expresión matemática utilizada para calcular estas relaciones es: 2^{-ΔΔCt}.

Figura 3: El tratamiento con DAPT modifica la actividad secretora de células GH3 in vitro.



200000 células GH3 crecidas en placas de 24 pocillos fueron tratadas con distintas concentraciones de DAPT (1, 5 y 10 micromolar) durante 24 o 48 horas. Luego se midió por RIA la liberación al medio de cultivo de GH A) o Prolactina B) (*p<0.05).

Conclusiones

•El tratamiento de prolactinomas Xenotrópicos con DAPT produjo una disminución de Prolactina intratumoral y circulante, y una disminución del contenido de Hormona de crecimiento (GH). Asimismo, los tumores tratados presentaron una reducción significativa del tamaño tumoral respecto de los Controles. Se demostró que la vía de Notch está implicada en esta reducción, al cuantificar una menor expresión de del receptor Notch-2 activado (Notch-2 ICD), acompañado con una disminución del factor de transcripción Hes-1.

•El tratamiento con DAPT de la línea somatolactotrópica GH3, produjo una disminución significativa de los niveles de prolactina secretados al medio con la concentración 10uM a las 24 y 48 horas de estímulo. Sin embargo, en el caso de GH solo se observó una tendencia hacia la disminución.

•La vía de señalización de los receptores Notch regula diversos procesos durante el desarrollo de células eucariotas como proliferación, migración, diferenciación y apoptosis. Notch se encuentra involucrado en la autorrenovación de células madre determinando el destino celular. El papel de los receptores Notch en la progresión tumoral en varios tipos de Cáncer ha sido ampliamente descrita. En el presente trabajo observamos para los somato-prolactinomas experimentales un papel determinante de Notch-2 en relación al crecimiento y la actividad hormonal. Nuestro próximo objetivo es continuar con la caracterización de Notch-2 en su actividad tumorigénica con ensayos funcionales de proliferación, de migración transwell y apoptosis trabajando con células GH3 in vitro. También planeamos regular negativamente el ARN mensajero de este gen mediante la técnica de siRNA para estudiar su función en la génesis de estos tumores.