

Estudio de la señalización Notch como mecanismo de generación de Prolactinomas.

Perrone, S, Zubeldía Brenner L, Gazza E., Bonadeo, N, Baccarini, L, Becú-Villalobos, D y Cristina, Carolina.

Cita:

Perrone, S, Zubeldía Brenner L, Gazza E., Bonadeo, N, Baccarini, L, Becú-Villalobos, D y Cristina, Carolina (2016). *Estudio de la señalización Notch como mecanismo de generación de Prolactinomas. Ganando la Guerra contra el Cancer. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Buenos Aires.*

Dirección estable: <https://www.aacademica.org/lautaro.zubeldia.brenner/41>

ARK: <https://n2t.net/ark:/13683/ptoZ/9PG>



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>.

*Perrone Sofía¹, *Zubeldía Brenner Lautaro², Gazza Elías¹, Bonadeo Nadia¹, Baccarini Leticia¹, Becú-Villalobos Damasia² y Cristina Carolina¹ carolina.cristina@nexo.unnoba.edu.ar

¹Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Bs As (CITNOBA, UNNOBA-CONICET); ²Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).

Introducción

Los adenomas hipofisarios representan el 15% de los tumores intracraneales y causan sintomatología relacionada con secreción hormonal y/o efectos de compresión de estructuras cerebrales. Entre los adenomas hipofisarios secretores, los prolactinomas son los más frecuentes.

La vía de señalización Notch se ha vinculado a diversos tipos de tumores, sin embargo se desconoce su rol en el desarrollo de adenomas hipofisarios. La señalización Notch se inicia cuando el receptor (Notch1-4) interacciona con el ligando expresado en una célula vecina (Jagged1, Jagged2, Delta1, Delta3 y Delta4) liberando al dominio intracelular del receptor, el cual es translocado al núcleo activando la transcripción de genes blanco. El estudio de esta vía en adenomas hipofisarios podría posicionarla como posible blanco terapéutico.

En este trabajo, nos propusimos determinar la expresión de componentes de la vía Notch en modelos de prolactinomas de ratas en comparación con hipófisis normales, y evaluamos su acción *in vitro* modulando su activación en líneas celulares de prolactinoma.

Materiales y métodos

Evaluamos mediante qRT-PCR y Western blot (WB) la expresión de componentes de la vía Notch comparativamente en líneas celulares de prolactinoma de rata: MMQ y GH3, hipófisis de ratas normales y tumores xenograft generados en ratones nude por inoculación de células GH3. Además generamos prolactinomas *in vivo* mediante implantación subcutánea de dietilstilbestrol (DES) en ratas Sprague-Dawley y analizamos la expresión de los receptores Notch por Inmunohistoquímica (IHQ) en comparación con hipófisis normales.

Evaluamos también el efecto del inhibidor de la vía de Notch, DAPT (10 μ M), a distintos tiempos de tratamiento, en la proliferación celular, secreción de prolactina y migración celular en las líneas MMQ y GH3.

Resultados

Expresión de componentes de la vía Notch en modelos de prolactinomas de ratas e hipófisis normales

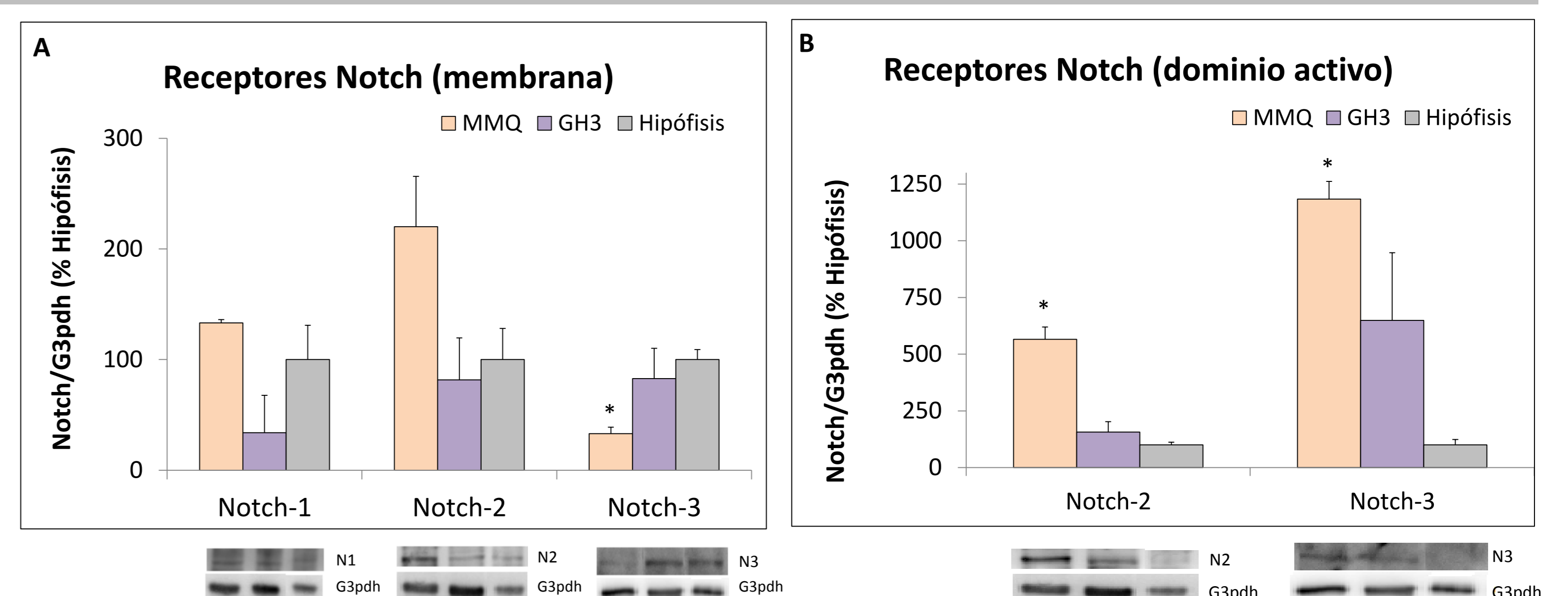
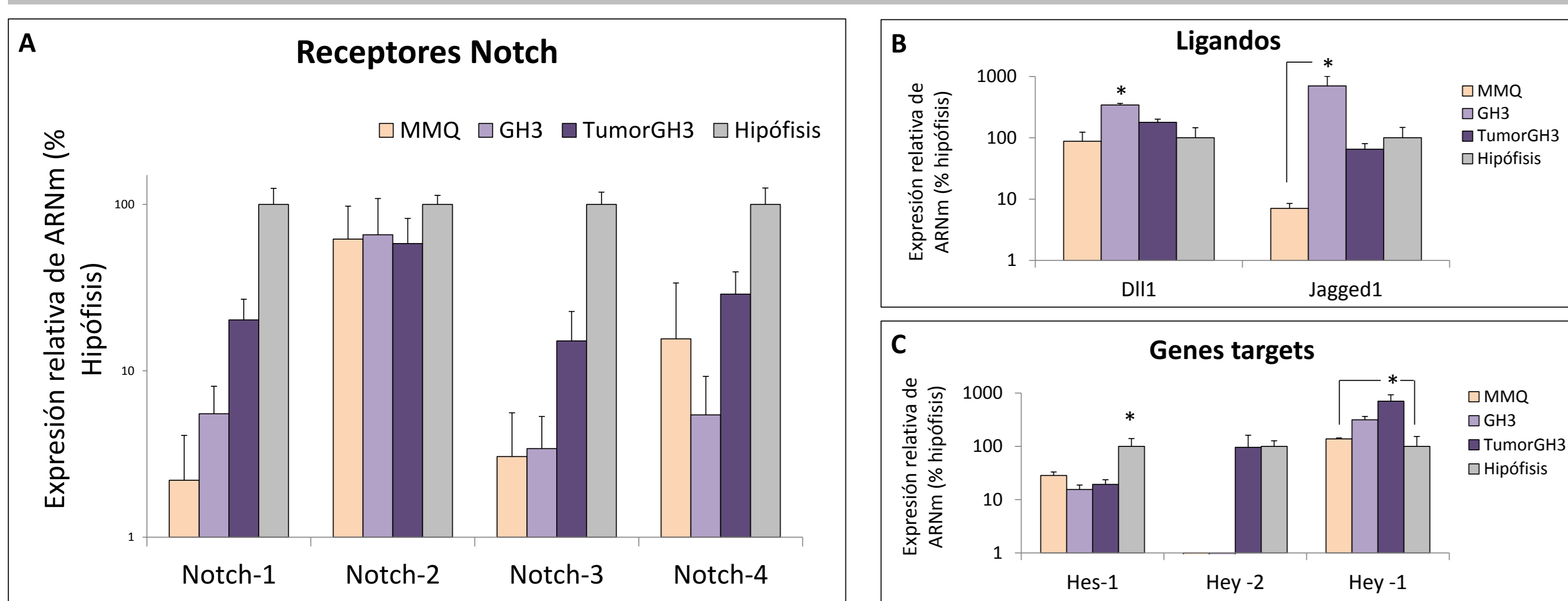


Figura 1. Expresión relativa del ARNm de los receptores Notch y componentes de la vía en modelos de tumores hipofisarios de rata. **A.** Receptores Notch (N=3; 5; 6 en MMQ, GH3, Tumor GH3 e hipófisis normal, respectivamente). **B.** Ligandos Delta-1 y Jagged1 (N=3;3;3;3). **C.** Genes blanco Hes-1, Hey-2 y Hey-1 (N=3;3;3;3). Los niveles de ARNm fueron relativizados a G3pdh.

Figura 2. Expresión de los receptores Notch determinada por WB en líneas celulares de prolactinomas de ratas e hipófisis control. **A.** Receptores Notch en membrana (N=3;2;3 para MMQ, GH3 e Hipófisis) (* p<0,05). **B.** Niveles de expresión de las formas activas de los receptores Notch2 y Notch3 (N=3;2;3) (p=0,0008 y p=0,01 para Notch2 y Notch3 respectivamente). Los niveles de los receptores fueron normalizados a los niveles de G3PDH y expresados como porcentaje de las hipófisis control.

Modelo de prolactinoma de ratas DES *in vivo*

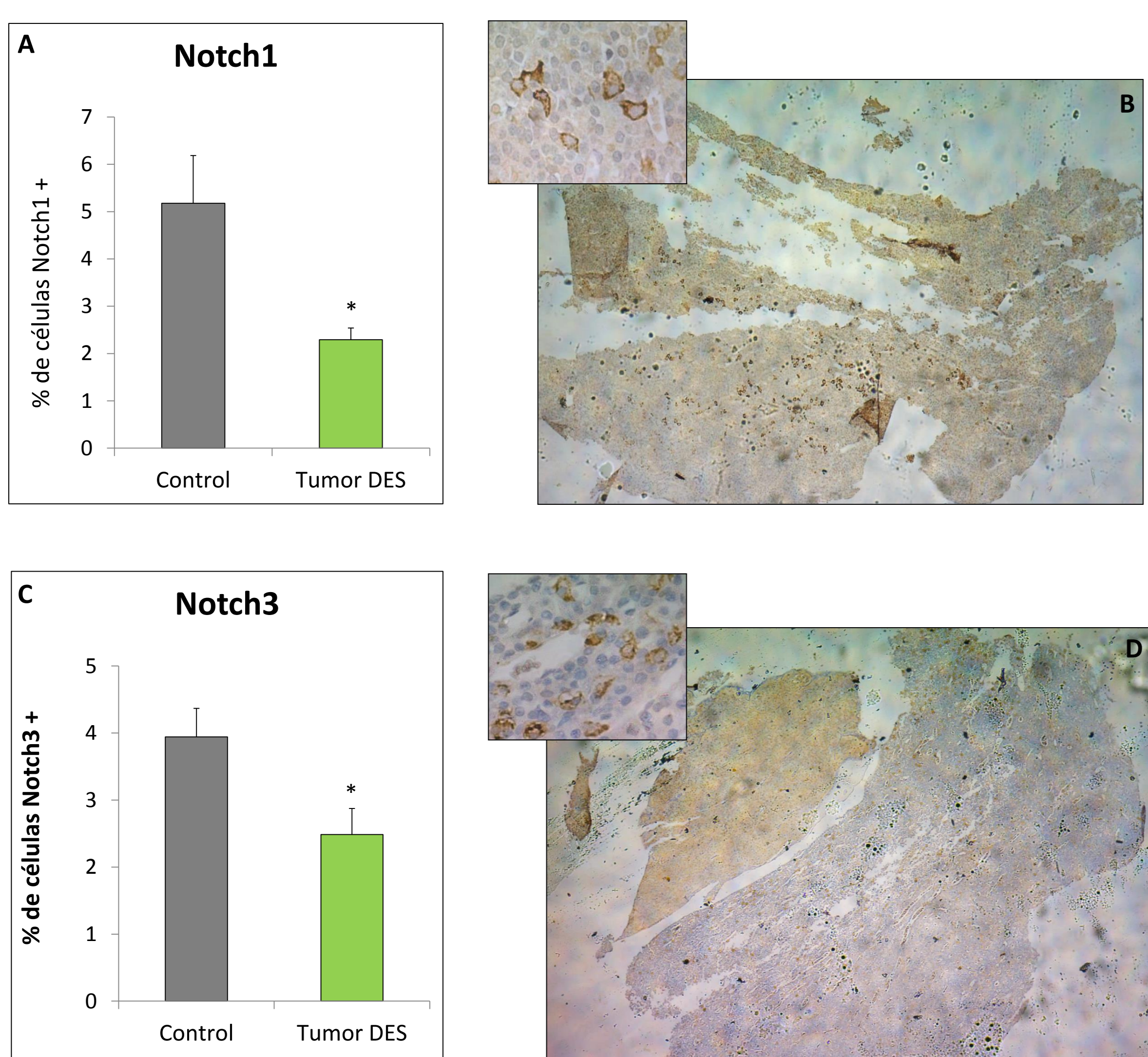


Figura 3. A. Células Notch1 positivas expresado como porcentaje de células totales en hipófisis de ratas DES y control (N=4;3) (p=0,06). B. Imagen representativa de la marca de Notch1 en un corte histológico de una hipófisis de rata control con aumento 10X y 40X. C. Porcentaje de células Notch3 positivas en hipófisis de ratas DES y control (N= 4;3) (p<0,05). D. Imagen representativa de la marca de Notch3 en un corte histológico de una hipófisis de rata control con aumento 10X y 40X.

Efecto del tratamiento con DAPT en las líneas MMQ y GH3 *in vitro*

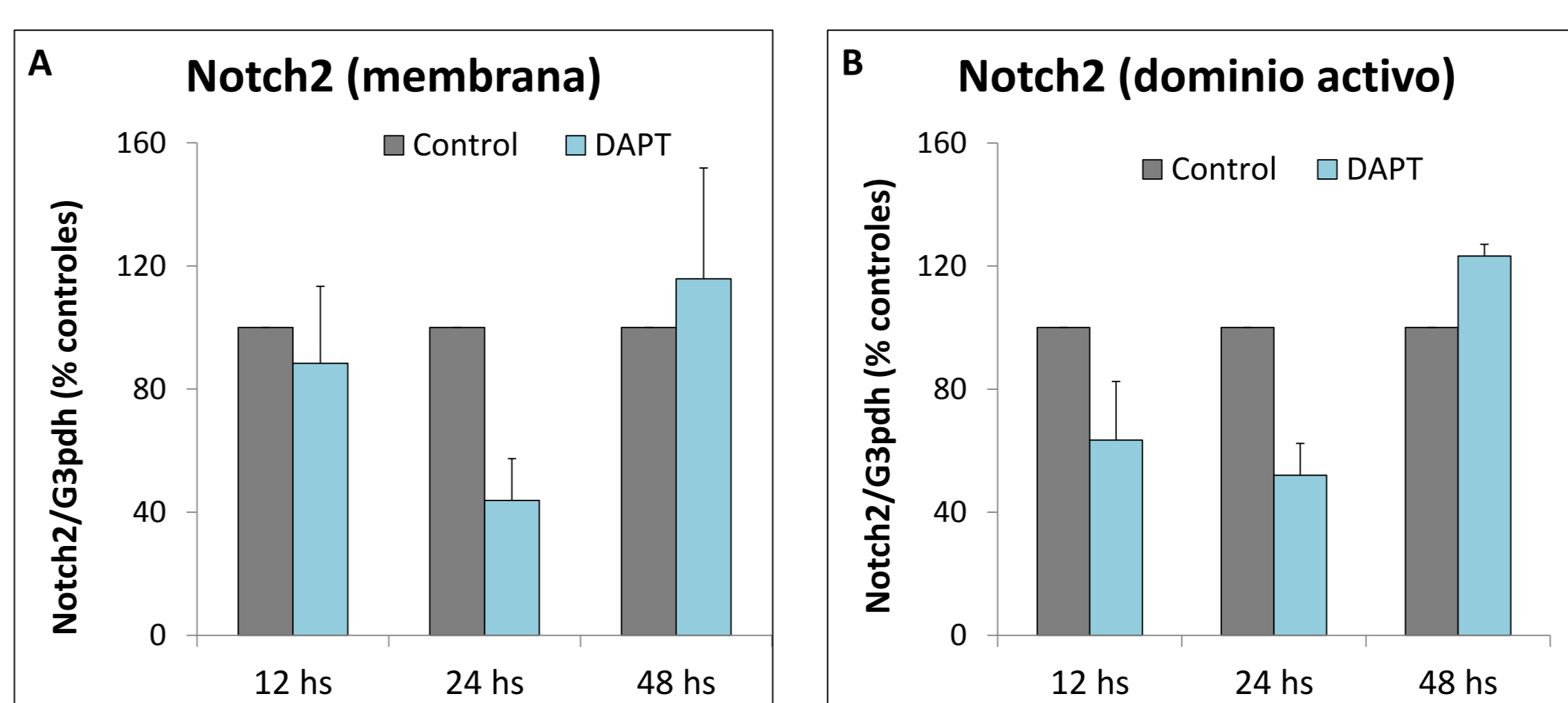


Figura 4. Expresión de NOTCH2 determinada por WB en MMQ bajo el tratamiento por 12, 24 y 48 hs con DAPT 10 μ M. **A.** Receptores Notch2 en membrana (N=2). **B.** Forma activa de Notch2 (N=2). Los niveles del receptor fueron normalizados a los niveles de G3PDH y expresados como porcentaje del control.

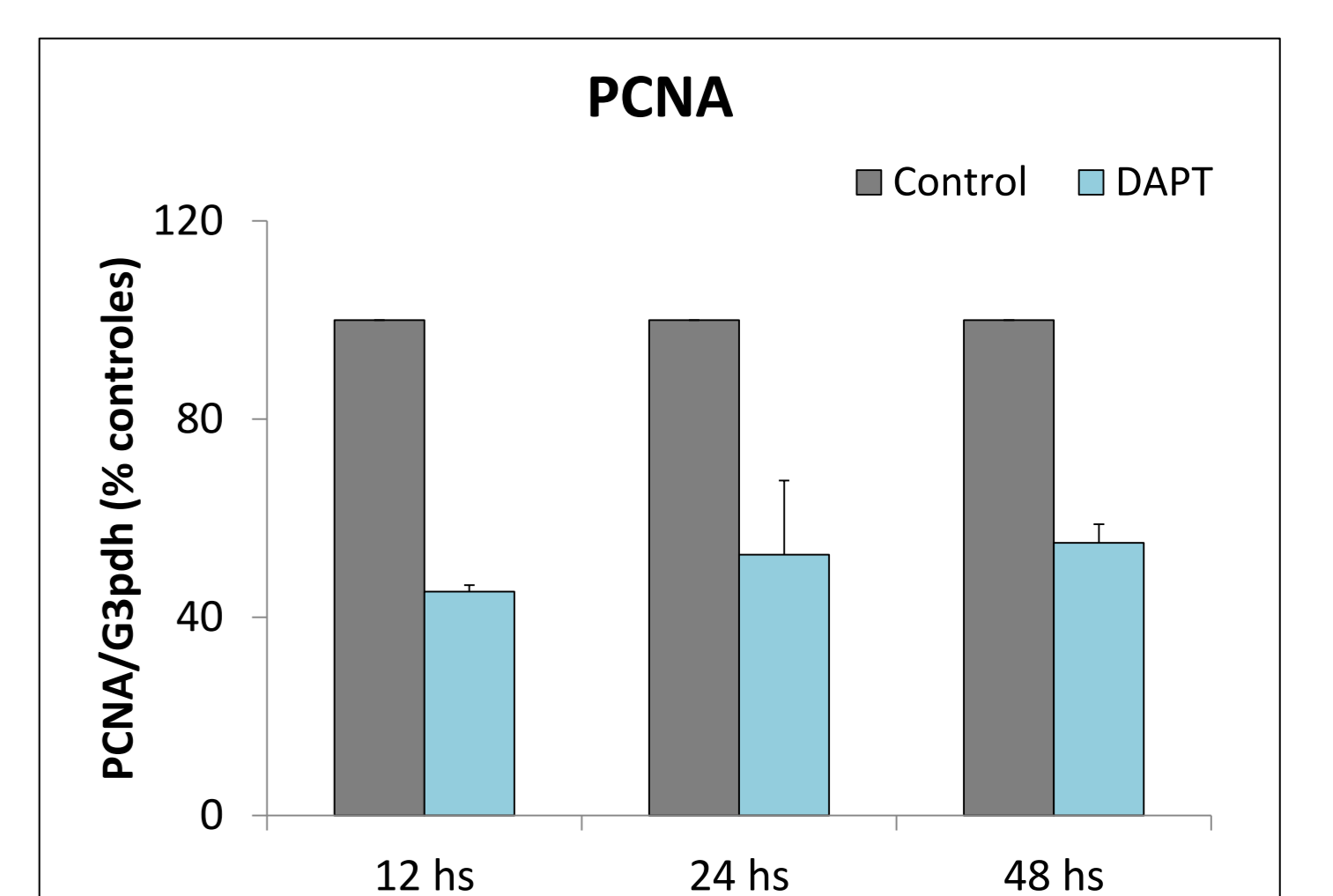


Figura 5. Niveles de PCNA determinados por WB en MMQ bajo el tratamiento por 12, 24 y 48 hs con DAPT 10 μ M. Los niveles fueron normalizados a los niveles de G3PDH y expresados como porcentaje del control.

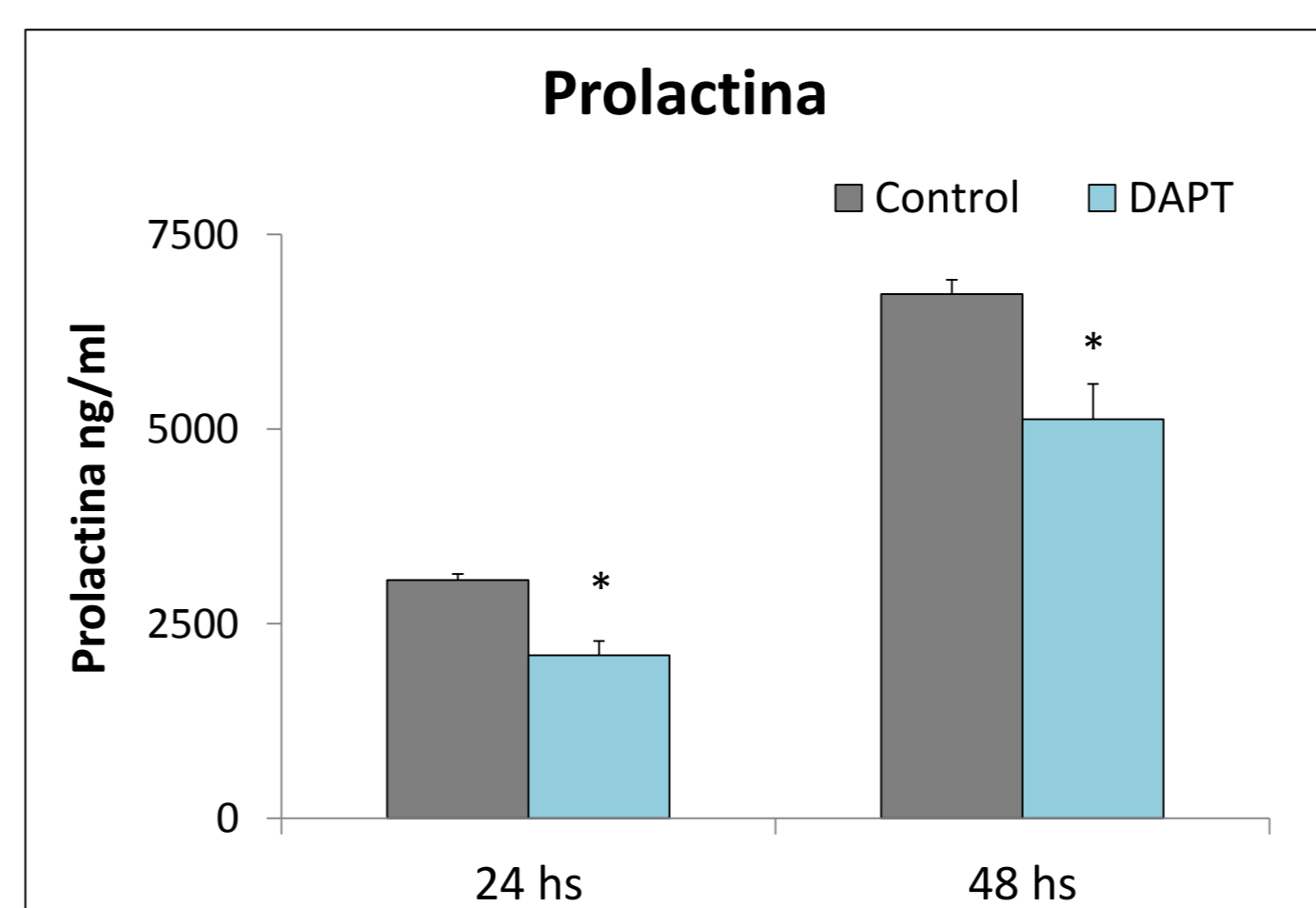


Figura 7. Niveles de secreción de Prolactina determinados por RIA en sobrenadantes de cultivo de células GH3 bajo el tratamiento por 24 (p=0,017) y 48 hs (p=0,003) con DAPT 10 μ M (N=3).

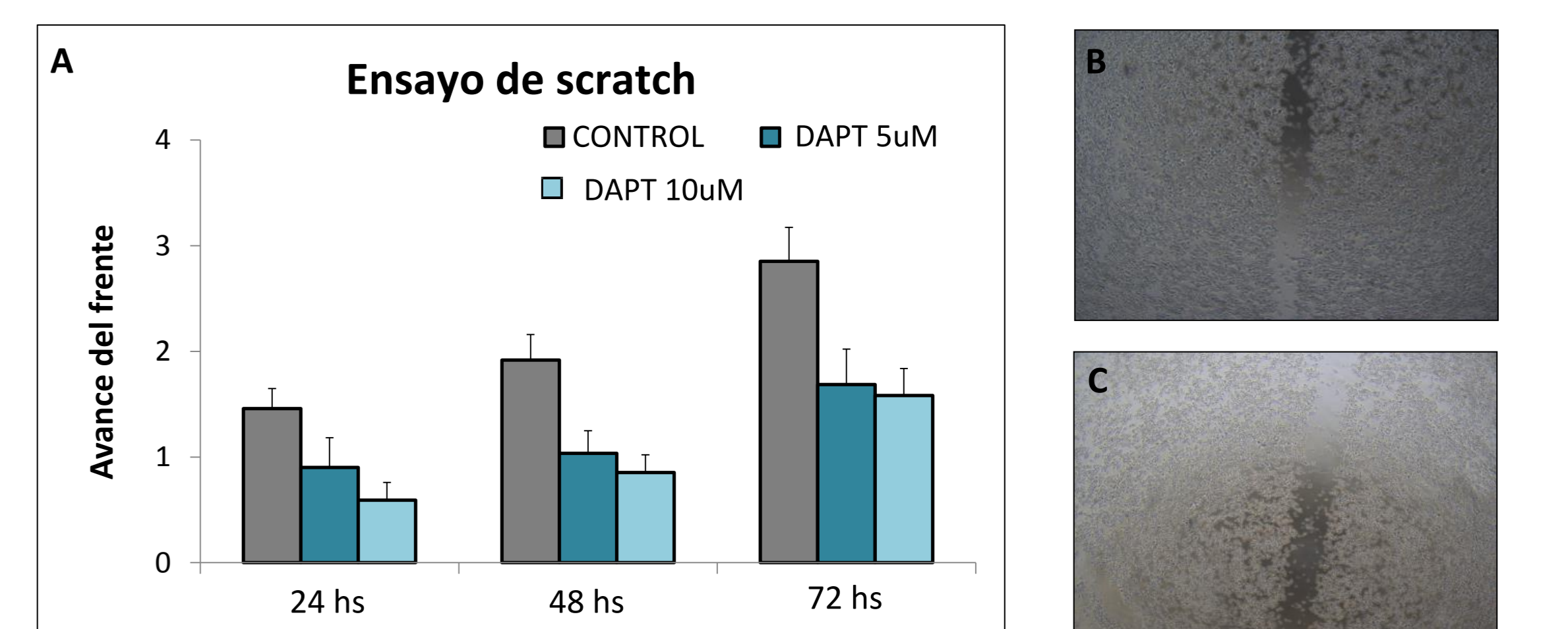


Figura 8. Avance del frente (cierre de la herida) en cultivo de células GH3 en presencia de 5 o 10 μ M de DAPT y controles a diferentes tiempos (24, 48 y 72 hs). **B.** Imagen representativa de control 10 μ M a las 24 hs. **C.** Imagen representativa de DAPT 10 μ M a 24 hs.

Conclusión

Nuestros resultados indicarían que la vía de señalización Notch ejercería un rol diferencial en hipófisis normal y prolactinomas, y modularía importantes procesos en el estado tumoral como son la proliferación celular, la secreción de PRL y la migración celular. El presente trabajo contribuye al entendimiento de la acción del sistema Notch en el desarrollo de los prolactinomas señalándolo como un potencial blanco terapéutico en este tipo de adenomas hipofisarios.