

Células madre/progenitoras en hipófisis normales y patológicas de ratón.

Cristina C, Luque GM, Willems C, Ramirez MC, Zubeldia Brenner L, Ornstein AM, Pérez Millán MI, Rubinstein M, Becu-Villalobos D y Vankelecom H.

Cita:

Cristina C, Luque GM, Willems C, Ramirez MC, Zubeldia Brenner L, Ornstein AM, Pérez Millán MI, Rubinstein M, Becu-Villalobos D y Vankelecom H (2013). *Células madre/progenitoras en hipófisis normales y patológicas de ratón. LVIII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Mar del Plata.*

Dirección estable: <https://www.aacademica.org/lautaro.zubeldia.brenner/5>

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



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>.

Células madre/progenitoras en hipófisis normales y patológicas de ratón.

AGENCIA



I B Y M E



CONICET
FIBYME

Cristina C^{1*}, Luque GM^{2*}, Willems C⁴, Ramirez MC², Zubeldia Brenner L², Ornstein AM², Pérez Millán MI², Rubinstein M³, Becu-Villalobos D^{2*} y Vankelecom H^{4*}.

1-UNNOBA. Bs As. 2-IByME. CABA. 3-INGEBI. CABA. 3-University of Leuven, KU-LEUVEN. Bélgica.

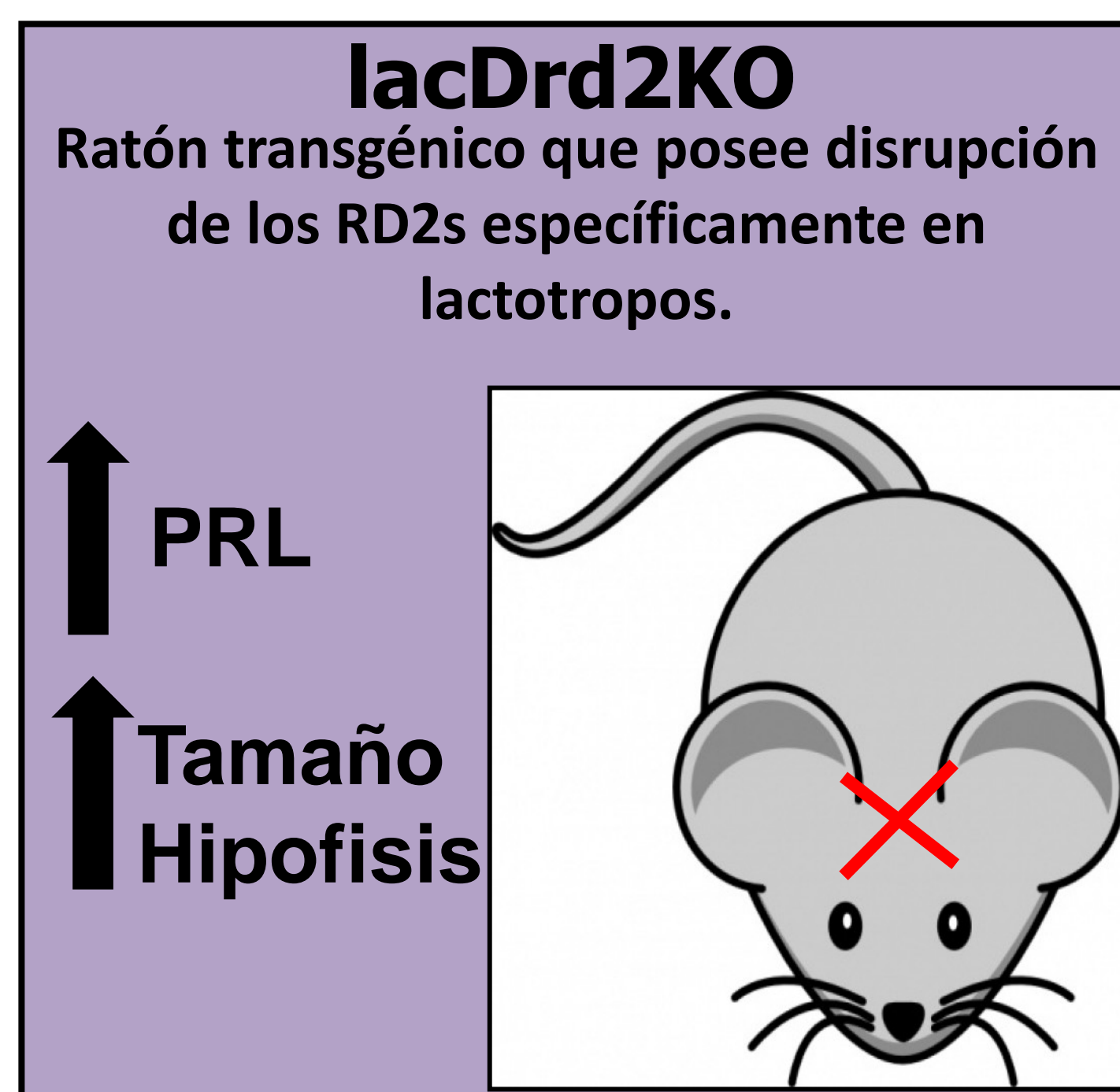
CONICET. Argentina. carolina.cristina@nexo.unnoba.edu.ar

*contribución equitativa.



Introducción

Las células madre tumorales (CSC) son importantes en el crecimiento, angiogénesis, invasión y resistencia a terapia y/o recurrencia de numerosos tumores. Nuestro objetivo es la caracterización de este tipo celular en hipófisis de ratones normales, y en un modelo de prolactinoma resistente a agonistas dopaminérgicos, el ratón con mutación nula del receptor dopaminérgico D2 específicamente en lactotrofos (lacDrd2KO). Para los experimentos se utilizaron ratones hembra de 11 meses de edad lacDrd2KO y *Drd2^{loxP/loxP}* (controles).



Hiperplasia Hipofisaria

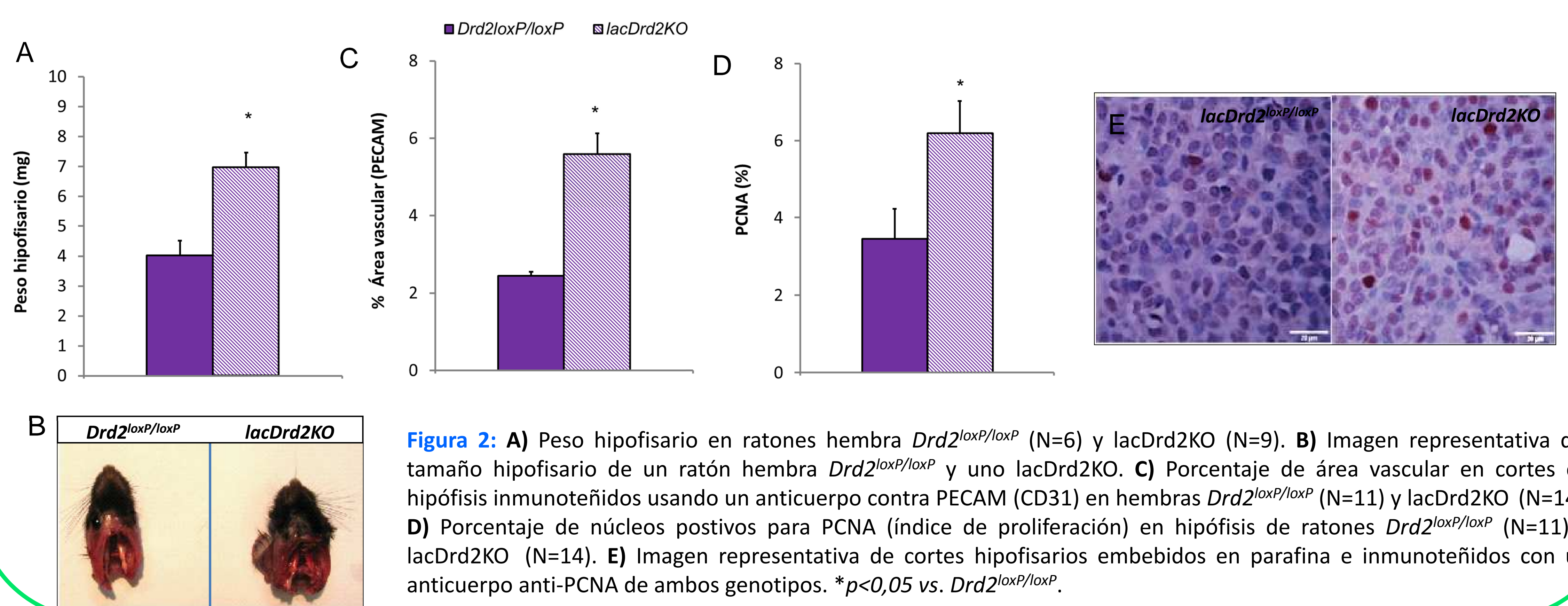


Figura 2: A) Peso hipofisario en ratones hembra *Drd2^{loxP/loxP}* (N=6) y lacDrd2KO (N=9). B) Imagen representativa del tamaño hipofisario de un ratón hembra *Drd2^{loxP/loxP}* y uno lacDrd2KO. C) Porcentaje de área vascular en cortes de hipófisis inmunoteñidos usando un anticuerpo contra PECAM (CD31) en hembras *Drd2^{loxP/loxP}* (N=11) y lacDrd2KO (N=14). D) Porcentaje de núcleos positivos para PCNA (índice de proliferación) en hipófisis de ratones *Drd2^{loxP/loxP}* (N=11) y lacDrd2KO (N=14). E) Imagen representativa de cortes hipofisarios embebidos en parafina e inmunoteñidos con un anticuerpo anti-PCNA de ambos genotipos. * $p < 0,05$ vs. *Drd2^{loxP/loxP}*.

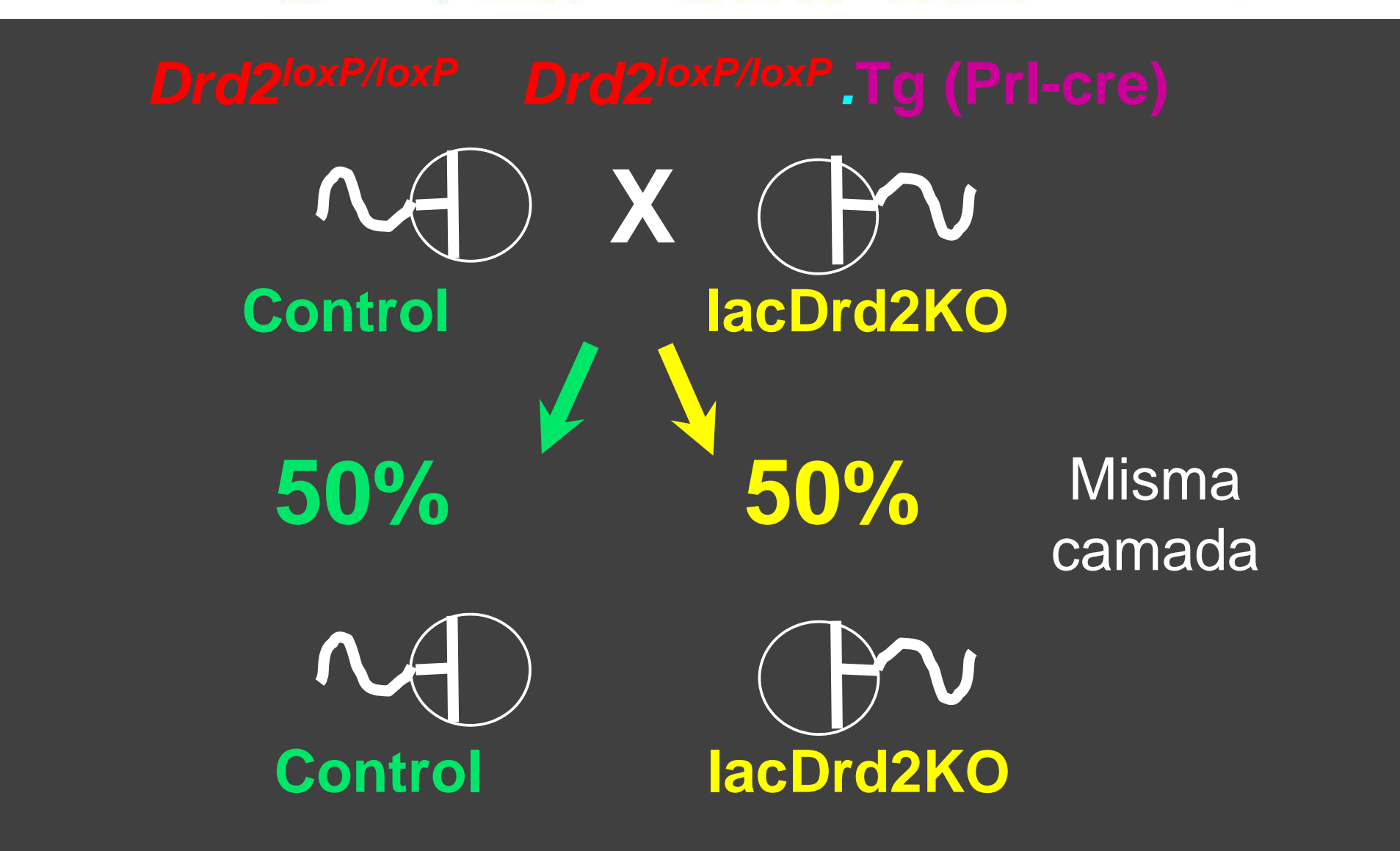
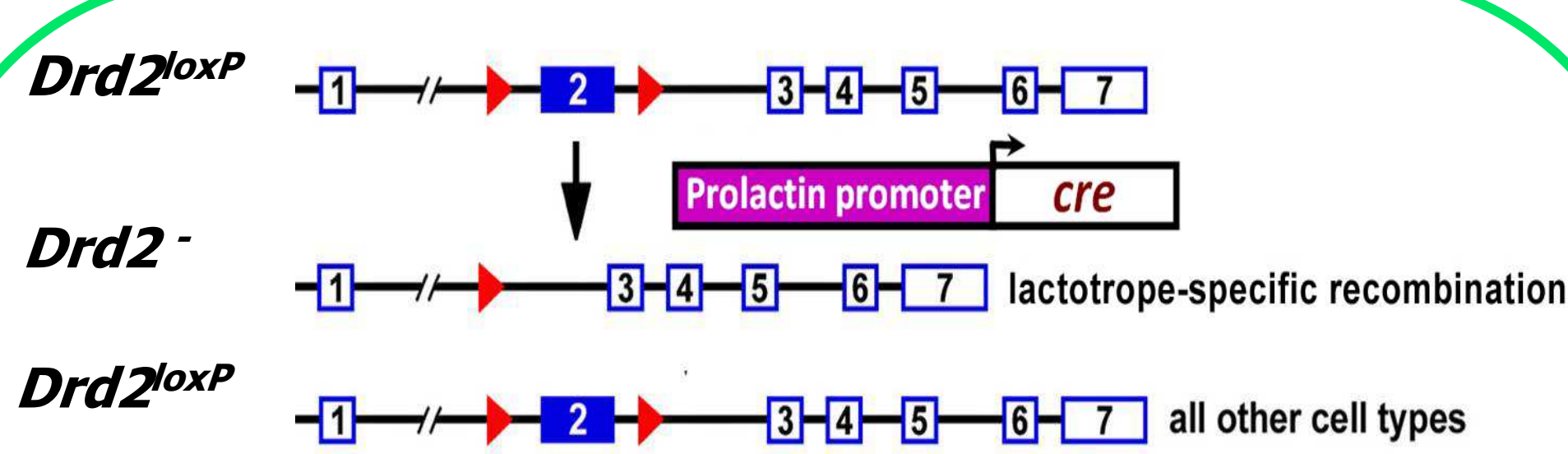


Figura 1: Generamos un ratón transgénico que expresa la recombinasa Cre bajo el control transcripcional del promotor de prolactina (PrI-Cre). Estos ratones fueron cruzados con ratones de otra línea transgénica que posee alelos flox a ambos lados del gen RD2 (*Drd2^{loxP/loxP}* controles). La descendencia, que expresa tanto PrI-Cre como los alelos flox son denominados lacDrd2KO.

Prolactina

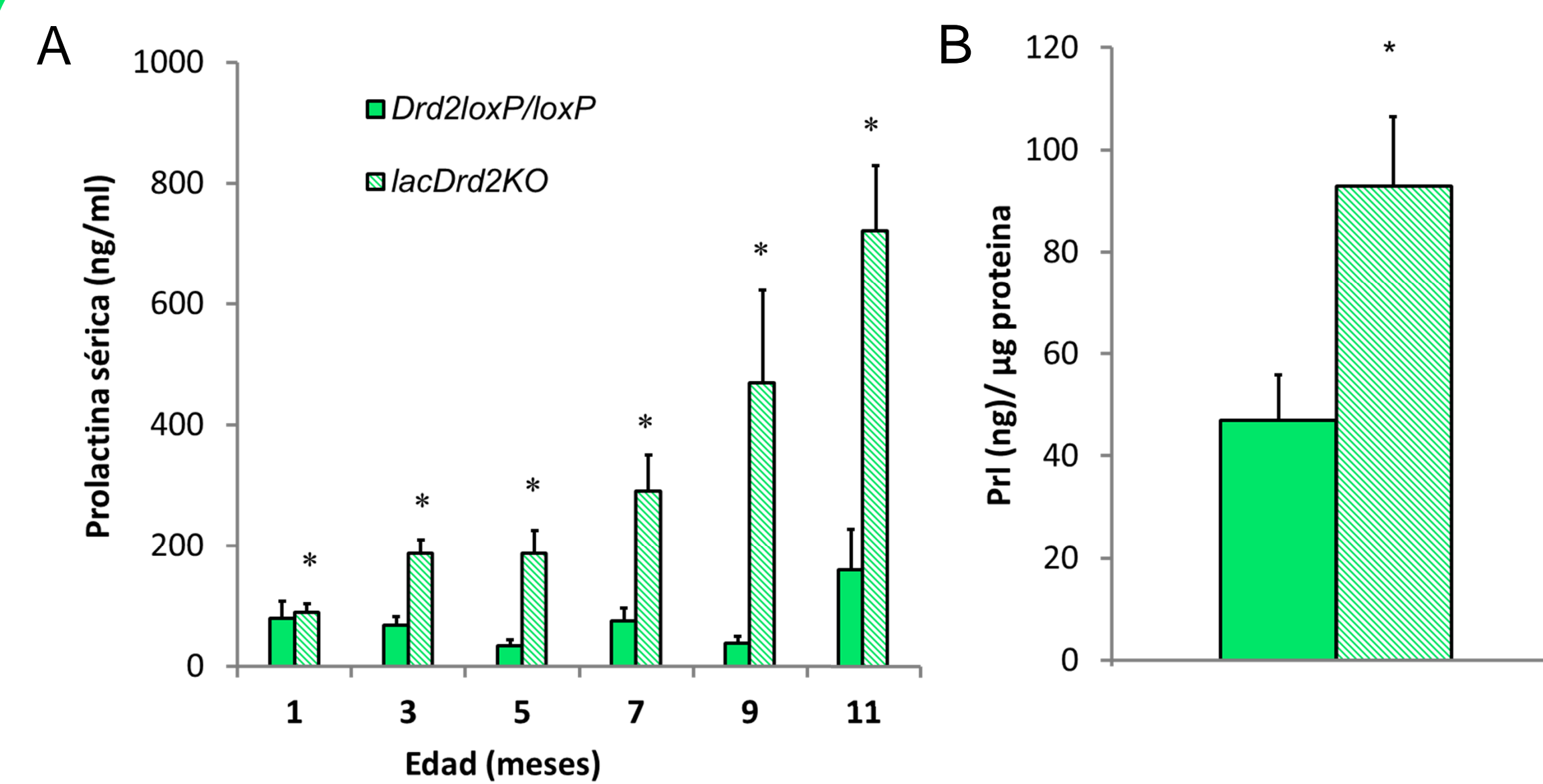


Figura 3: A) Niveles de prolactina séricos en ratones hembra lacDrd2KO (N=8) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=8). * $p < 0,05$ vs. *Drd2^{loxP/loxP}* de la misma edad. B) Contenido de prolactina hipofisaria en ratones hembra lacDrd2KO (N=6) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=9). * $p < 0,05$ vs. *Drd2^{loxP/loxP}*.

VEGF

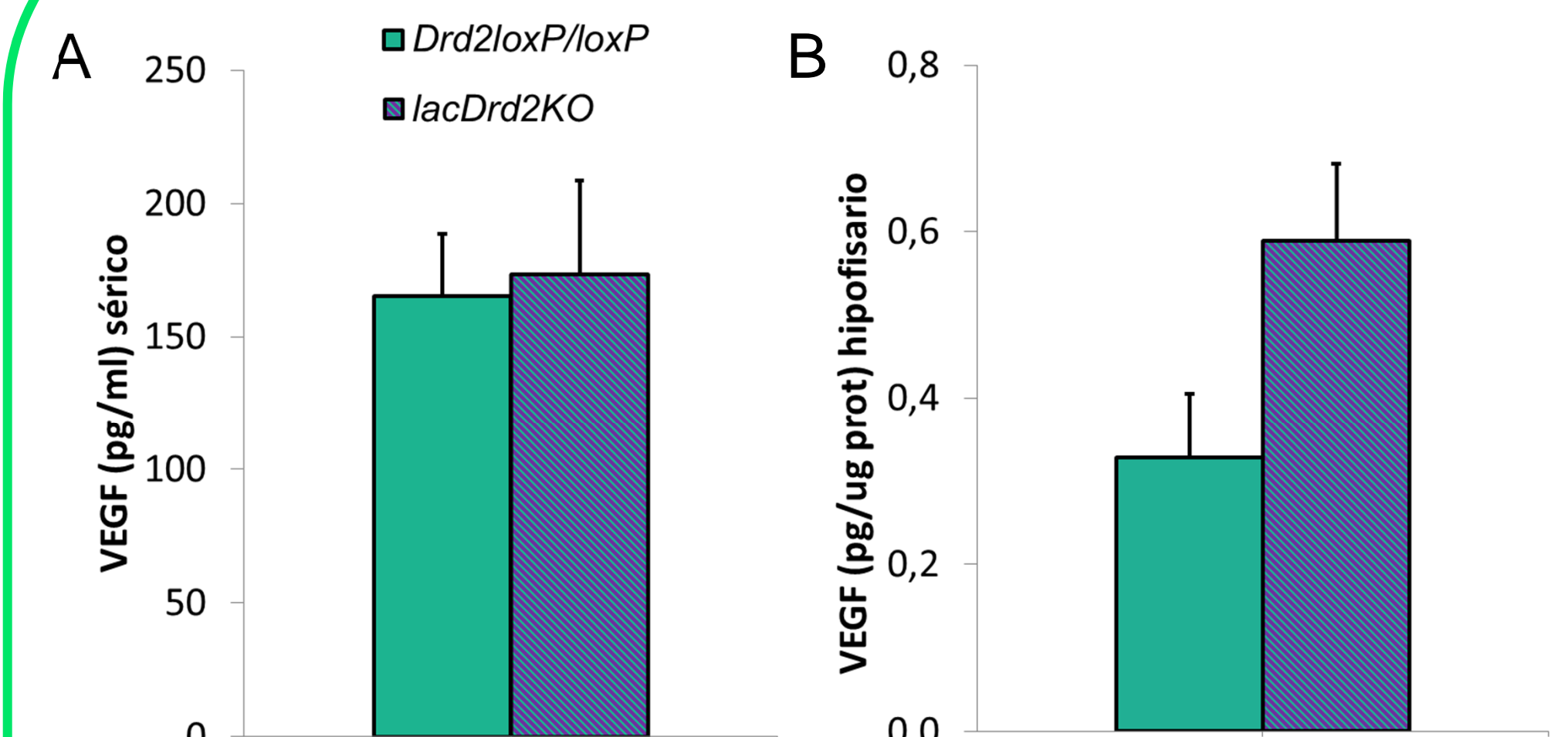


Figura 4: A) Niveles de VEGF séricos en ratones hembra lacDrd2KO (N=6) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=6). B) Contenido de VEGF hipofisario en ratones hembra lacDrd2KO (N=6) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=5). $p = 0,079$ vs. *Drd2^{loxP/loxP}*.

SOX-2

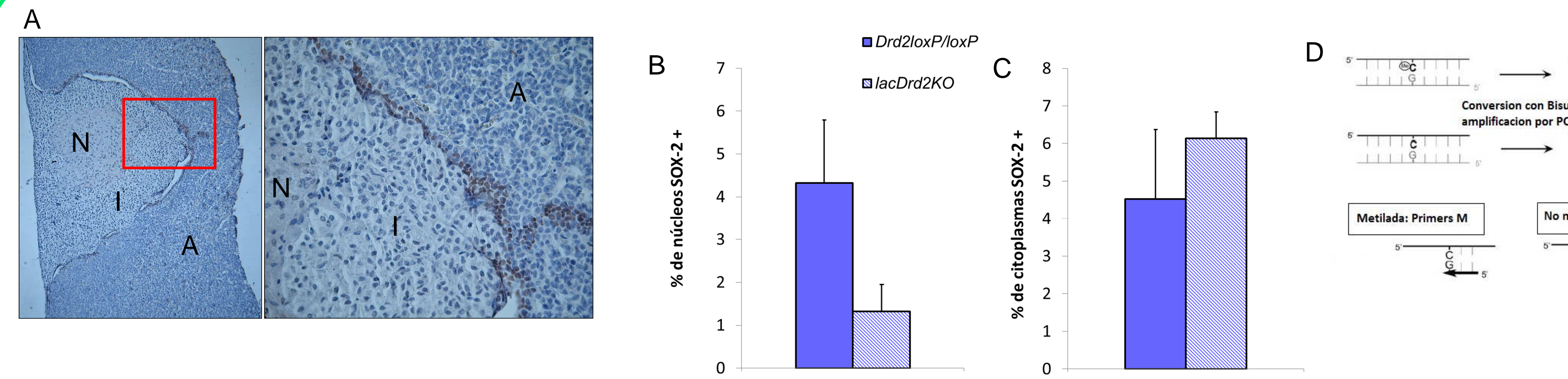
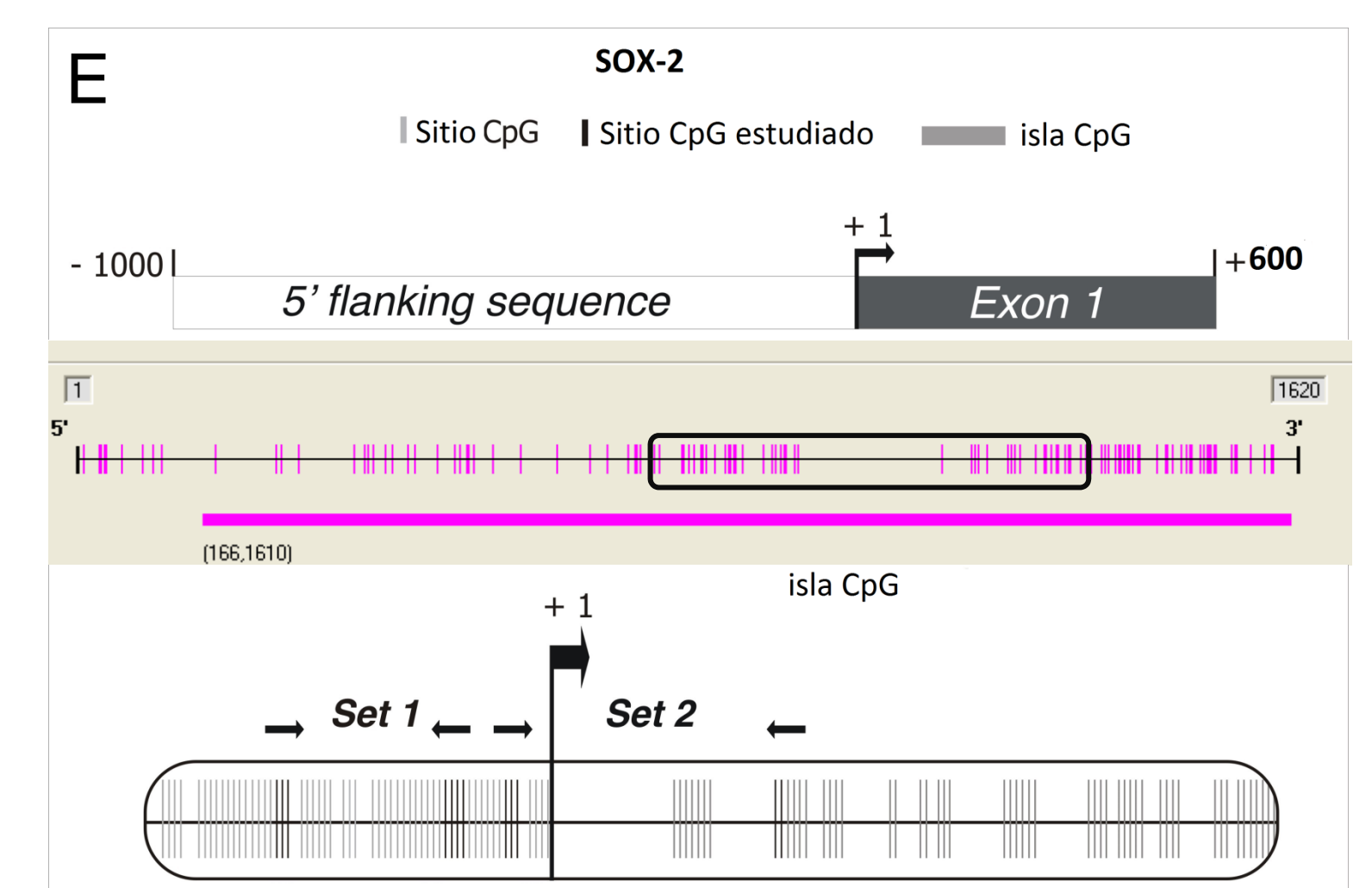


Figura 5: A) Imagen representativa de una inmunohistoquímica realizada en un corte de hipófisis de un ratón hembra *Drd2^{loxP/loxP}* con un anticuerpo anti-SOX2. A la izquierda imagen obtenida con un objetivo 10X, y a la derecha con uno 40X. Se recuadra en rojo la porción magnificada. N= neurohipófisis; I= hipófisis intermedia; A= adenohipófisis. B) Porcentaje de núcleos positivos para SOX-2 en adenohipófisis de ratones hembra lacDrd2KO (N=5) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=5). $p = 0,13$ vs. *Drd2^{loxP/loxP}*. C) Porcentaje de citoplasmas positivos para SOX-2 en adenohipófisis de ratones hembra lacDrd2KO (N=5) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=5). D) El Bisulfito de sodio convierte las citosinas no metiladas en uracilo. Amplificación por PCR del ADN bisulfitado con primers M (para la secuencia metilada) y primers NM (para la secuencia no metilada). Adaptado de (Thomassin et al. 2004) y (Brassier & Elhadad 2007). E) CpGplot de la región promotora del gen SOX-2. En rosa isla CpG obtenida del programa Methyl-Primer Express. La parte inferior es una ampliación de la isla mostrando donde se pegan los primers utilizados.

Los ratones con prolactinomas presentaron una disminución de SOX-2 nuclear. Los sitios CpG estudiados del gen SOX-2 resultaron estar mayormente demetilados, lo que indica alta expresión del gen.



Población Celular: CD31-/CD45-/CD44+

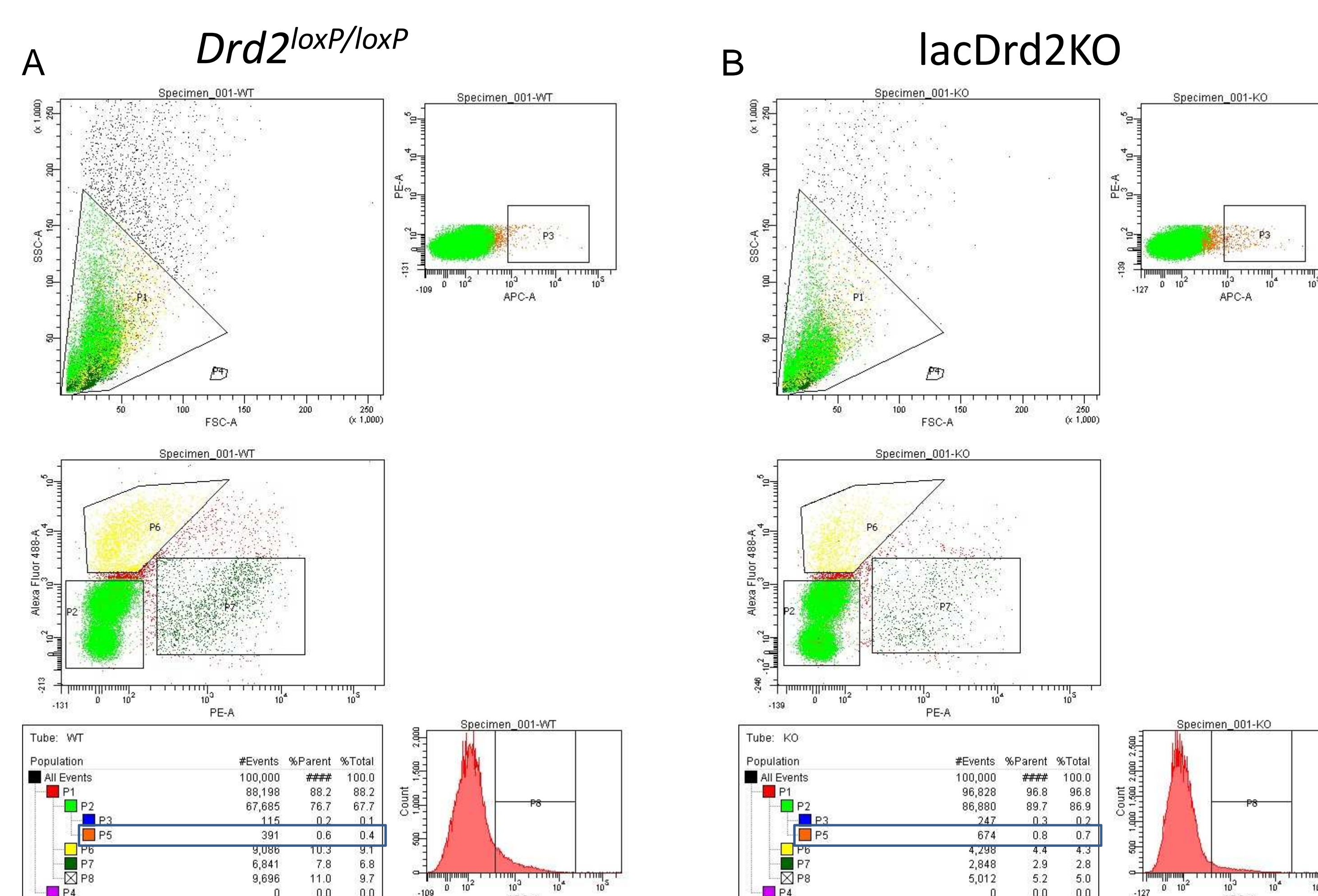


Figura 6: Imagen representativa. Análisis por citometría de flujo de la población celular CD31-/CD45-/CD44+ en hipófisis de ratones hembra lacDrd2KO (N=4) y *Drd2^{loxP/loxP}* (N=5). Los anticuerpos utilizados fueron: anti-mouse-CD31-FITC (0,5mg/ml), anti-mouse-CD45-PE (0,2mg/ml), anti-mouse-CD44-APC (0,2mg/ml). A) Resultado obtenido en las hipófisis de hembras *Drd2^{loxP/loxP}*. B) Resultado obtenido en hembras lacDrd2KO. El porcentaje de células CD31-/CD45-/CD44+ fue levemente superior en los ratones lacDrd2KO, sin significancia estadística.

Conclusiones

Nuestros resultados demuestran la presencia de factores asociados a CSC (SOX-2, VEGF y CD44) en hipófisis de ratón. No se obtuvieron diferencias significativas en la proporción de células CD31-/CD45-/CD44+ entre los prolactinomas resistentes del ratón lacDrd2KO y los controles.