

Resumen #635

ACTIVACIÓN DE LA RESPUESTA AL DAÑO CELULAR CAUSADO POR ESTRÉS OXIDATIVO DURANTE EL DESARROLLO DEL TUMOR HIPOFISARIO EXPERIMENTAL

¹Grondona E, ¹Mongi Bragato B, ¹Carreño L, ²Sabatino E, ¹Sosa LDV, ¹Torres A, ³Latini A, ¹De Paul AL

¹Centro de Microscopía Electrónica, INICSA-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas. UNC; ²Centro de investigación en bioquímica clínica e inmunología. Cibici-Conicet. Fc. de Cs Químicas. UNC; ³Laboratorio de Bioenergética y Estrés Oxidativo, Centro de Ciencias Biológicas, Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

Persona que presenta:

Grondona E, egrondona@cmebcm.unco.edu

Área:

Básica

Resumen:

Es sabido que incrementos en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) son capaces de promover daño celular, por lo que controlar sus niveles resulta crucial para garantizar la supervivencia. Empleando un modelo de tumor hipofisario experimental, previamente demostramos el surgimiento de la senescencia como mecanismo de arresto proliferativo, proceso acompañado por alteraciones en el metabolismo y dinámica mitocondrial. Considerando que esta organela es la principal fuente de ROS y que la disfunción mitocondrial ha sido asociada a la senescencia, bajo un contexto tumoral hipofisario nos propusimos analizar los mecanismos de activación de respuesta al daño celular para contrarrestar las lesiones promovidas por estrés oxidativo. El desarrollo tumoral se indujo en ratas Wistar macho adultas (n=6) mediante la incorporación subcutánea de cápsulas de silástico conteniendo benzoato de estradiol (10mg) por 10, 20, 40 y 60 días. Grupo control: animales tratados con cápsulas vacías. Posteriormente se analizó: generación de ROS por citometría de flujo (CF) y determinación de proteínas carboniladas por espectrofotometría; expresión proteica de γ -H2AX; 8OHdG, Nrf2 total y forforilado (p) y hemoxigenasa (HO-1) por inmunohistoquímica y western blot y de OGG1 por PCR. Los niveles de glutatión se analizaron por colorimetría. Análisis estadístico: ANOVA-Fischer ($p < 0,05$). Desde los primeros periodos del desarrollo tumoral experimental se detectó un aumento progresivo (duplicando los valores basales) en los niveles de ROS acompañado por incrementos de proteínas carboniladas y de la expresión proteica de los marcadores de daño al ADN: γ -H2AX y de 8OHdG exponiendo signos de estrés oxidativo. Asimismo, se observaron aumentos significativos en la expresión de los marcadores de respuesta a estrés oxidativo: OGG1, Nrf2, Nrf2-p y HO-1, así como fluctuaciones en los niveles de glutatión, revelando una temprana activación antioxidante en respuesta al daño oxidativo. Estos hallazgos permiten señalar que, en el curso del desarrollo tumoral, se desencadena la activación de la respuesta al estrés oxidativo, con mecanismos detoxificantes y de reparación del daño en el ADN, favoreciendo así la recuperación del equilibrio redox y la supervivencia celular. Estos eventos respaldarían la emergencia de la senescencia hipofisaria garantizando la funcionalidad glandular para evitar el descontrol del crecimiento tumoral hipofisario.

Palabras Clave:

Hipófisis, ROS, estrés oxidativo, RESPUESTA AL DAÑO DEL ADN

ACTIVATION OF CELL DAMAGE RESPONSE CAUSED BY OXIDATIVE STRESS DURING THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL PITUITARY TUMOR

¹Grondona E, ¹Mongi Bragato B, ¹Carreño L, ²Sabatino E, ¹Sosa LDV, ¹Torres A, ³Latini A, ¹De Paul AL

¹Centro de Microscopia Electrónica, INICSA-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas. UNC; ²Centro de investigación en bioquímica clínica e inmunología. Cibici-Conicet. Fc. de Cs Químicas. UNC; ³Laboratorio de Bioenergética y Estrés Oxidativo, Centro de Ciencias Biológicas, Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

Persona que presenta:

Grondona E, egrondona@cmefcm.unco.edu

Abstract:

It is well known that the increase in reactive oxygen species (ROS) production is capable of promoting cellular damage, so their control is crucial to guarantee cellular survival. Using a model of experimental pituitary tumor, we have previously demonstrated the emergence of senescence as a mechanism of proliferative arrest, a process accompanied by alterations in mitochondrial metabolism and dynamics. Considering that this organelle is the main ROS source and that mitochondrial dysfunction has been associated with senescence, under a pituitary tumor context, we were aim to analyze the activation of cellular damage response mechanisms in order to counteract the lesions caused by oxidative stress. Tumor development was induced in adult male Wistar rats (n=6) by the subcutaneous implanting of silastic capsules containing estradiol benzoate (10mg) for 10, 20, 40 and 60 days. Control group: animals were treated with empty capsules. Afterwards, ROS analysis was performed by flow cytometry (FC) and the carbonylated proteins determination was made by spectrophotometry; the γ -H2AX; 8OHdG, Nrf2 total and phosphorylated (p) and hemoxygenase (HO-1) protein expression was assessed by immunohistochemistry and western blot and OGG1 levels by PCR. Glutathione levels were analyzed by colorimetry. Statistical analysis: ANOVA-Fischer ($p < 0.05$). Starting from early stages of experimental tumoral development, a progressive increase in ROS levels was detected (doubling basal values) accompanied by increases in carbonylated proteins and protein expression of DNA damage markers: γ -H2AX and 8OHdG, exposing signs of oxidative stress. Significant increases in expression of oxidative stress response markers were also observed: OGG1, Nrf2, p-Nrf2 and HO-1, as well as fluctuations in glutathione levels, revealing early antioxidant activation in response to oxidative damage. These findings reveal that, the activation of oxidative stress response is triggered during the course of tumoral development, accompanied by detoxifying mechanisms and DNA damage repair, thus favoring the redox balance recovery and cell survival. These results would support the emergence of pituitary senescence mechanism, so ensuring the glandular functionality to avoid the pituitary tumor growth dysregulation.

Keywords:

Pituitary, mitochondria, ROS, oxidative stress, DNA Damage