

Resumen # 190

La expresión de beta-Galactosidasa asociada a senescencia en células adenohipofisarias está influenciada por las condiciones de cultivo

¹Grondona E, ¹Sabatino ME, ¹Genovese DM, ¹De Paul AL

¹Centro de Microscopía Electrónica - INICSA - CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. UNC

Área:

Básica

Resumen:

La senescencia celular (SC) está caracterizada por un arresto del ciclo celular que puede ser desencadenado por diferentes tipos de estrés y se la asocia a la supresión intrínseca del desarrollo tumoral. Uno de sus indicadores más extendidos es la detección citoquímica de beta-galactosidasa (SA-beta-Gal). Sin embargo, su especificidad como marcador de SC *in vitro* es controvertida. En un modelo *in vivo* de hiperplasia hipofisaria demostramos evidencias del proceso de SC a través de diversos marcadores, entre ellos, SA-beta-Gal. Para profundizar el estudio de SC *in vitro*, nos propusimos analizar la influencia de las condiciones de cultivo sobre la expresión de SA-beta-Gal en hipófisis normales. Adenohipófisis de ratas Wistar macho adultas en cultivo primario (n=8 por cultivo) fueron expuestas a las siguientes variables: tiempo (0, 24, 48, 72h), presencia/ausencia de suero (de caballo y fetal bovino, 11%), y antibióticos penicilina/estreptomicina (0%, 50%, 100%). Posteriormente, para cada condición experimental se analizó la expresión de SA-beta-Gal mediante la cuantificación del número de células positivas sobre el total de células contadas. Análisis estadístico: procedimiento logit link para datos con distribución binomial y Test de Fisher ($p < 0,05$). Luego de 24h de cultivo se observó un incremento significativo de células SA-beta-Gal-positivas con respecto a 0h tanto en presencia como en ausencia de suero, aunque los mayores valores fueron detectados bajo la primera condición. Sin embargo, hacia las 48h, la ausencia de suero en el medio de cultivo provocó una abrupta disminución en el número de células SA-beta-Gal-positivas en tanto que esta reducción fue leve en presencia de suero sugiriendo la existencia de factores inductores de la expresión de SA-beta-Gal *in vitro*. Además, presencia de antibióticos no afectó significativamente el número de células SA-beta-Gal positivas en los tiempos analizados. Estos resultados indican que el tiempo de cultivo como la presencia de suero en el medio de incubación afectan la expresión de SA-beta-Gal en células hipofisarias por lo que su empleo como único indicador de SC *in vitro* debe ser considerado. Los datos exponen la necesidad de valorar las condiciones de cultivo para cada tipo celular así como emplear múltiples marcadores para el estudio de la SC *in vitro*.

Palabras Clave:

Senescencia, SA-beta-Gal, Hipófisis, Cultivo primario

Senescence associated beta-galactosidase expression in adenohipophyseal cells is influenced by the culture conditions

¹Grondona E, ¹Sabatino ME, ¹Genovese DM, ¹De Paul AL

¹Centro de Microscopia Electrónica - INICSA - CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. UNC

Abstract:

Cellular senescence (SC) is characterized by a cell cycle arrest which can be triggered by different types of stress, being also associated with an intrinsic suppression of tumor development. One of most common SC indicators is the cytochemical detection of beta-galactosidase (SA-beta-Gal). However, its specificity as a marker for *in vitro* SC is controversial. In an *in vivo* experimental pituitary hyperplasia model we have shown evidences for the SC process by using several markers, including SA-beta-Gal. For further study the *in vitro* SC, we analysed the influence of the culture conditions on the SA-beta-Gal expression in normal pituitaries. Adenohipophysis from adult male Wistar rats in primary culture (n = 8 per culture) were s to the following conditions: time (0, 24, 48, 72hs), presence/absence of serum (horse and foetal bovine, 11%), and antibiotics penicillin/streptomycine (0%, 50%, 100%). Subsequently, for each experimental condition, the SA-beta-Gal expression was determined by quantifying the number of positive cells to total cells counted. Statistical analysis: logit procedure for data link with binomial distribution and Fisher test (p <0.05). After 24hs of culture, a significant increase of SA-beta-Gal-positive cells was observed when compared to 0h, in both, with or without serum, although higher values were detected for the first condition. However, at 48 hs, the absence of serum in the culture medium caused a remarkable diminution in SA-beta-Gal-positive cell number, while this reduction was slight in presence of serum, suggesting the existence of inducing factors of SA-beta-Gal expression *in vitro*. In addition, the presence of antibiotics did not significantly affect the SA-beta-Gal positive cell number along the periods of time analysed. These results indicate that both, culture time and the presence of serum in the medium could affect the SA-beta-Gal expression in pituitary cells, so its use as individual indicator for SC *in vitro* must be considered. Our data expose the requirement to assess the culture conditions for each cell type as well as the use of multiple markers for the study of SC *in vitro*.

Keywords:

Senescence, SA-beta-Gal, Pituitary, Primary culture