

## Resúmenes de Congreso

---

### VI Jornadas de Bioquímica y Biología Molecular de Lípidos y Lipoproteínas

---

#### Auspiciado por:

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

#### Comité Organizador

Lombardo, Yolanda B. (FBCB–UNL)  
Bernal, Claudio (FBCB–UNL)  
Chicco, Adriana (FBCB–UNL)  
González, Marcela (FBCB–UNL)

#### Comité Científico

Aveldaño, Marta (INIBIBB–CONICET, Universidad Nacional del Sur)  
Sterin–Speziale, Norma (IQUIFIB–CONICET, Universidad de Buenos Aires)  
Gimenez, María Sofía (IMBIOSL–CONICET, Universidad Nacional de San Luis)  
Caputto, Beatriz (CIQUIBIC–CONICET, Universidad Nacional de Córdoba)  
Pasquaré, Susana (INIBIBB–CONICET, Universidad Nacional del Sur)

## CONFERENCIAS PLENARIAS

---

### 1. Determinantes de localización de proteínas de membrana en compartimentos de la vía secretoria de células eucariotas. El rol de los dominios transmembrana

*Determinants for localization of membrane proteins in compartments of the secretory pathway in eukaryotic cells. The role of trans-membrane domains*

Corona, E. D. • Ambroggio, E. • Gonzalez

Montoro, A. • Quiroga, R. • Valdez–Taubas J. • Maccioni H. J.

CIQUIBIC (UNC–CONICET), Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

La identidad de los compartimentos de la vía secretoria de células eucariotas (retículo endoplásmico, complejo de Golgi, membrana plasmática, etc.) se define por la presencia de proteínas y lípidos que se

concentran en el compartimiento a pesar del constante flujo anterógrado y retrogrado que caracteriza la dinámica de la vía.

Para el caso de las glicosiltransferasas (proteínas de membrana que catalizan la transferencia de azúcares a aceptores proteicos o lipídicos), si bien se sintetizan en el retículo endoplásmico, se concentran en el Golgi ejerciendo allí su función en la glicosilación de lípidos y proteínas. En el retículo endoplásmico, la “carga” de glicosiltransferasas y otras proteínas de membrana Tipo II (de paso único, N-terminal citoplásmico) destinadas al Golgi o a la membrana plasmática es mediada directa o indirectamente por la interacción entre motivos aminoácidos evolutivamente conservados en sus tallos citoplásmicos con alguna de las proteínas de la cubierta proteica de la vesícula de transporte (1, 2). En contraposición, no se han descrito señales aminoácidas confiables que expliquen porque algunas de estas proteínas, que iniciaron el tránsito vesicular en el retículo endoplásmico a través de la vía secretoria, resultan retenidas en el Golgi mientras que otras continúan su viaje hasta la membrana plasmática (3).

Para el caso particular de proteínas transmembrana tipo II, (p. ej. Glicosiltransferasas o SNARES) se asigna importancia al dominio transmembrana (TMD) para la localización de proteínas residentes en el Golgi. Mas aún, se ha atribuido esta capacidad de retención en el Golgi (o en otras organelas) a algunos aminoácidos en particular del TMD o al largo del TMD (4).

Los análisis bioinformáticos muestran que existen propiedades organela-específica de los TMDs que podrían mediar un mecanismo de retención en el Golgi, y además muestran que a diferencia con lo que se observa para los TMD de proteínas de la membrana plas-

mática, en los TMD de proteínas del Golgi la concentración de aminoácidos voluminosos (en especial residuos aromáticos) es mayor en la hemicapa extra-citoplásmica que en la hemicapa citoplásmica (5, 6).

Resultados experimentales recientes de nuestro laboratorio, revelan que efectivamente la geometría molecular de los dominios transmembrana puede determinar la localización de estas proteínas en el complejo de Golgi o en la membrana plasmática tanto en levaduras como en células de mamíferos, posiblemente por optimización de interacciones con dominios lipídicos más o menos fluidos o de mayor o menor curvatura (6) (Fig. 1).

Estas posibilidades son examinadas *in vitro* utilizando vesículas unilamelares gigantes (GUVs) de composición lipídica definida, en las cuales se han incorporado proteínas recombinantes fluorescentes que difieren sólo en la secuencia aminoácida del TMD, que en un caso es representativa de las proteínas residentes del Golgi y en el otro caso de las proteínas residentes en membrana plasmática (7). Las proteínas con ambos tipos de segmentos transmembranales particionaron preferencialmente a la fase líquido desordenada en GUVs con presencia de fases lipídicas ordenadas y desordenadas. La generación de nanotubos a partir de las GUVs permitió observar que existe alguna tendencia de los transmembranas cortos y con aminoácidos voluminosos en su mitad exoplásmica a concentrarse en regiones altamente curvadas (Fig. 2). Estas propiedades de los TMD podrían mediar *in vivo* la partición diferencial a dominios lipídicos altamente curvados ricos en esfingolípidos, o poco curvados ricos en glicerofosfolípidos del Golgi. Una partición diferencial podría mediar la incor-

poración en las vesículas de transporte que se forman principalmente a partir de regiones de distintas curvaturas del Golgi, y de

esta manera determinar la retención o la salida del Golgi de las proteínas según las propiedades físico-químicas de sus TMDs.

Figura 1.

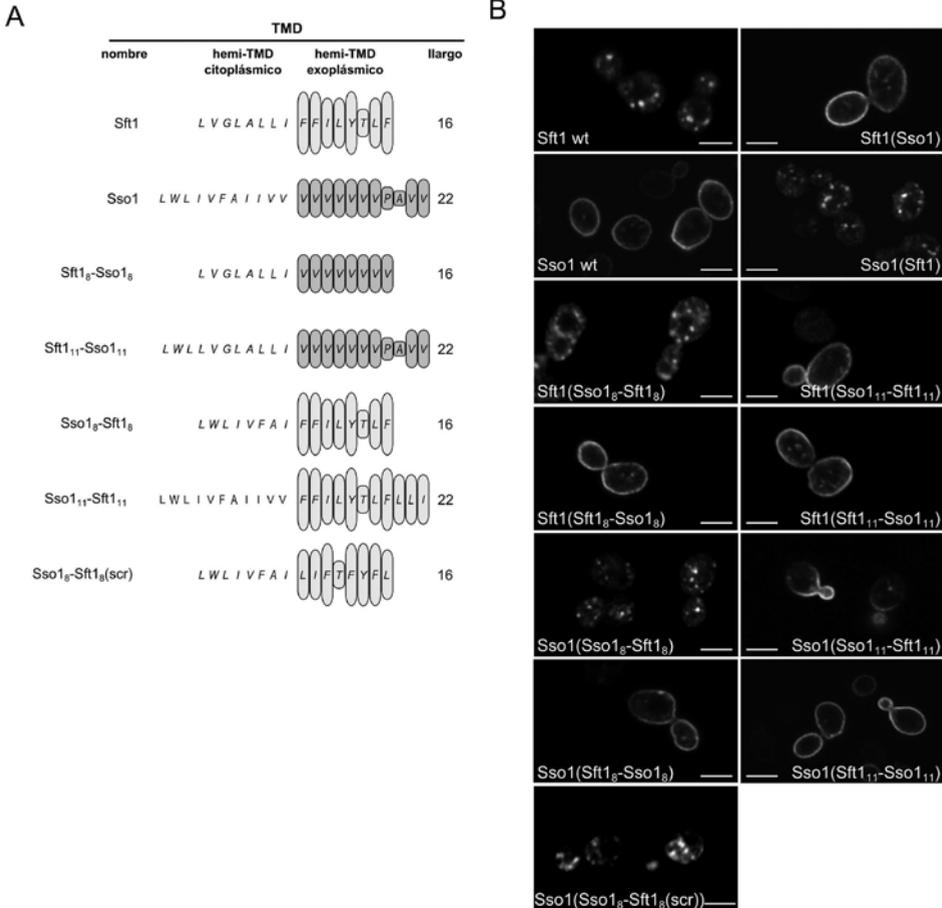
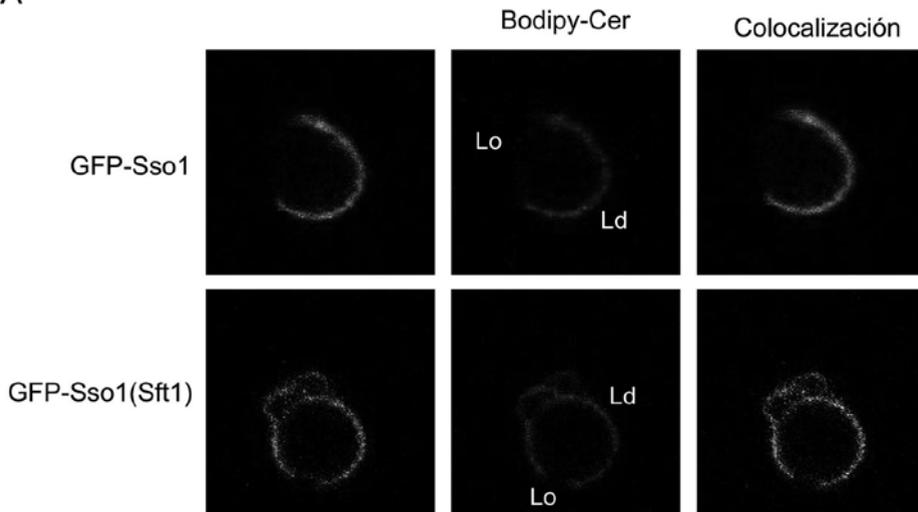
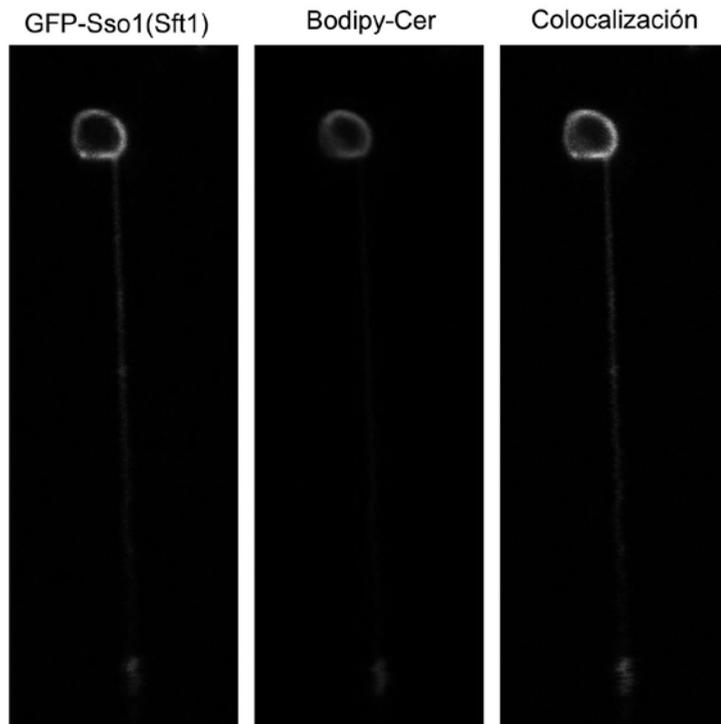


Figura 2.

A



B



$$\frac{\text{Verde}_{\text{tubo}}/\text{Rojo}_{\text{tubo}}}{\text{Verde}_{\text{GUV}}/\text{Rojo}_{\text{GUV}}} = 1.22 \pm 0.44 \quad (n=30)$$

### Referencias bibliográficas

1. Giraud, C. G., and Maccioni, H. J. (2003). Endoplasmic reticulum export of glycosyltransferases depends on interaction of a cytoplasmic dibasic motif with Sar1. *Mol Biol Cell* **14**, 3753–376.
2. Miller, E. A., Beilharz, T. H., Malkus, P. N., Lee, M. C., Hamamoto, S., Orci, L., and Schekman, R. (2003). Multiple cargo binding sites on COPII subunit Sec24p ensure capture of diverse membrane proteins into transport vesicles. *Cell* **114**, 497–509.
3. Organization of the synthesis of glycolipid oligosaccharides in the Golgi complex. Maccioni, H. J. F., Quiroga, R., Spessott, W. 2011 *FEBS Letters* **585**, 1691–1698.
4. Munro, S. (1995). An investigation of the role of transmembrane domains in Golgi protein retention. *EMBO J* **14**, 4695–4704.
5. Sharpe, H. J., Stevens, T. J., and Munro, S. (2010). A comprehensive comparison of transmembrane domains reveals organelle-specific properties. *Cell* **142**, 158–169.
6. Quiroga R., Trenchi A., Gozalez Montoro A., Valdez Taubas J. and Maccioni H. J. F. Short transmembrane domains with high-volume cytoplasmic halves determine retention of Type II membrane proteins in the Golgi complex. *J. Cell Sci.* (2013) **126**, 5344–5349.
7. Corona, E. D., Ambroggio E., Gonzalez Montoro, A., Quiroga, R., Valdez-Taubas J., Maccioni H. J., Determinants for localization of membrane proteins in compartments of the secretory pathway in eukaryotic cells. The role of transmembrane domains (en preparación).

## 2. Acciones no genómicas del Receptor de Vitamina D (VDR) en la modulación de las vías de señalización por $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en células musculares

*Non genómic actions of the Vitamin D Receptor (VDR) in the modulation of signal transduction pathways by  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in muscle cells*

Ricardo L. Boland †

INBIOSUR – UNS/CONICET. Bahía Blanca, 8000, Argentina

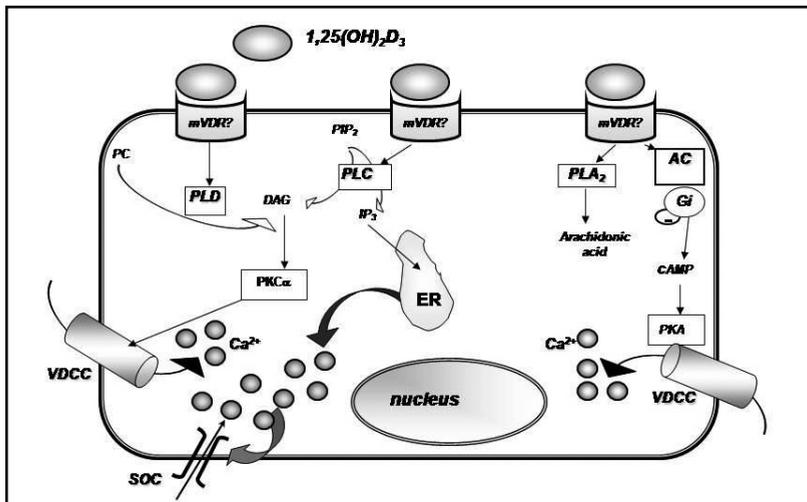
Antes de ejercer sus funciones, la vitamina  $\text{D}_3$  debe ser hidroxilada en las posiciones 25 y  $1\alpha$  en hígado y riñón, respectivamente, lo cual resulta en la síntesis de  $1,25$ -dihidroxi-vitamina  $\text{D}_3$  [ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ], la forma hormonalmente activa responsable de las acciones biológicas atribuidas al

esteroide. Además de regular la homeostasis del calcio y fósforo, la hormona ejerce otros efectos no clásicos. Varios estudios clínicos y experimentales, y el descubrimiento del receptor de vitamina D (VDR) en músculo esquelético, han demostrado que la vitamina  $\text{D}_3$  desempeña un rol en este tejido. El  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  actúa en sus órganos *target* a través de un mecanismo genómico por el cual el complejo  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR regula la transcripción génica, y otro no-genómico que se inicia mediante la unión de la hormona a un receptor de membrana. Varias líneas de evidencia recientes indican que la acción del  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en músculo esquelético involucra este mecanismo activando vías de transducción de señales con la participación del VDR. En cultivos de la línea celular miogénica C2C12 y primarios de aves, la hormona induce respuestas rápidas no-transcripcionales asociadas

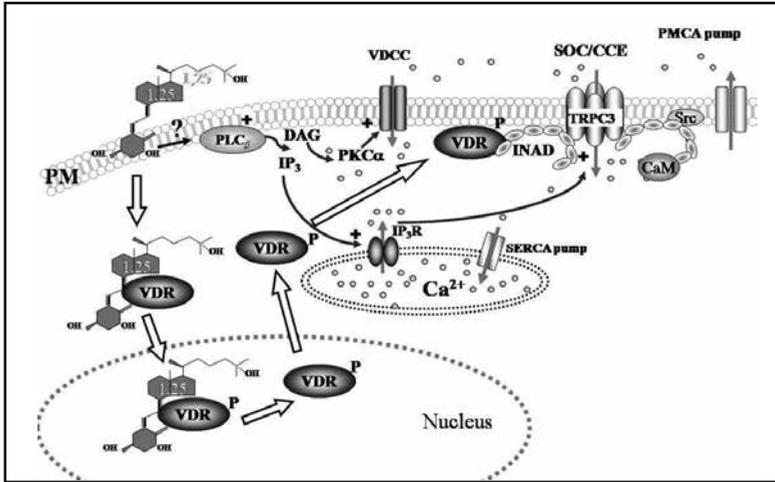
a la estimulación de los sistemas mensajeros transmembrana adenilil ciclasa/cAMP/PKA, PLC/DAG + IP<sub>3</sub>/PKC, PLA<sub>2</sub>, influjo extracelular de calcio a través de canales dependientes de voltaje (VDCC) y operados por la liberación de Ca<sup>2+</sup> de depósitos intracelulares (SOC o CCE= entrada capacitativa de calcio) (Figura 1). Tratamientos muy cortos (1–5 minutos) con 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inducen la translocación reversa del VDR desde el núcleo a la membrana plasmática. De acuerdo con esta observación, se detecta en las caveolas la formación de un complejo entre el VDR y TRCP3, una pro-

teína intrínseca que media la entrada capacitativa de Ca<sup>2+</sup> a la célula, sugiriendo una asociación entre ambas macromoléculas y un rol funcional del VDR en la activación de CCE por 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (Figura 2). La hormona también activa las cascadas de fosforilación en tirosina MAPK mediante la formación de complejos entre Src y el VDR, lo cual conduce a la estimulación de la proliferación celular (Figura 3). Los estudios sugieren que a través de estos mecanismos, el 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> cumple una función importante en la regulación de la contractilidad y miogénesis.

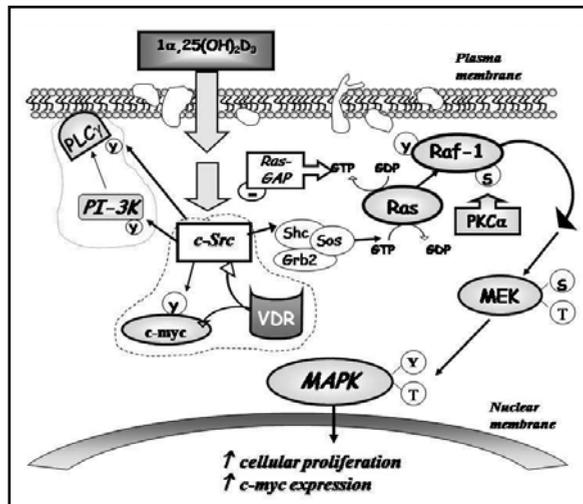
**Figura 1.** Cascadas de transducción de señales activadas por 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> en células de músculo esquelético y su relación con la regulación del Ca<sup>2+</sup> intracelular.



**Figura 2.** El  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  estimula en membranas de células musculares el influjo SOC a través de proteínas intrínsecas TRPC3 asociadas al VDR via translocación reversa desde el núcleo.



**Figura 3.** Cascadas de fosforilación en tirosina (MAPK) involucradas en los efectos mitogénicos del  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en músculo.



## COMUNICACIONES ORALES

---

### **C01 • Evolución temporal de la disfunción del tejido adiposo asociado a estrés oxidativo, inflamación y resistencia insulínica en ratas alimentadas con dieta rica en sacarosa (DRS)**

D'Alessandro, M. E. • Illesca, P. • Hein, G. • Lombardo, Y. B.

Lab. de Estudio de Enf. Metabólicas Relacionadas con la Nutrición. Dpto. de Cs. Biológicas. FBCB-UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios metabólicos del tejido adiposo (TA) epididimal y su asociación a estrés oxidativo, marcadores inflamatorios y resistencia insulínica en ratas alimentadas durante 3, 15 y 30 semanas con una DRS. Ratas machos Wistar se dividieron en dos lotes: control (DC) y experimental (DRS = 62.5% sacarosa, 8% aceite de maíz). Los animales fueron sacrificados luego de 3, 15 y 30 semanas de ingesta. En TA se determinaron: Actividades enzimáticas: 1- superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión reductasa (GR) y xantino oxidasa (XO). 2- Enzimas claves en la lipogénesis: acetilCoA-carboxilasa, enzima málica y G-6-PDH. En plasma: niveles de TBARS, IL-6, TNF $\alpha$  y adiponectina. La sensibilidad insulínica se midió por el clamp euglucémico-hiperinsulinémico. Resultados DRS vs DC: Las actividades CAT, GPX y GR disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) en los tres periodos analizados. La actividad SOD disminuyó ( $p < 0,05$ ) a las 15 y 30 semanas de ingesta de DRS, mientras que la actividad XO y enzimas lipogénicas incrementaron en los 3 periodos de tiempo ( $p < 0,05$ ) al igual que

los niveles de TBARS plasmáticos y tisulares. Se observó una disminución del estado redox del glutatión a las 15 y 30 semanas. Los niveles plasmáticos de TNF- $\alpha$  e IL-6 y el contenido de TNF- $\alpha$  en TA fueron significativamente mayores ( $p < 0,05$ ) solo a las 30 semanas de DRS. Una disminución de los niveles plasmáticos de adiponectina acompañó el curso del tiempo de deterioro de la sensibilidad insulínica en DRS. Los resultados sugieren que la depleción de las defensas antioxidantes y una mayor oxidación y estado proinflamatorio acompañan progresivamente la desregulación del TA.

---

### **C02 • Efectos de los ácidos grasos N-3 polinosaturados sobre adipocitoquinas Y marcadores de estrés oxidativo en ratas dislipémicas insulino resistentes**

Selenscig, D. • Chicco, A. • Lombardo, Y. B.  
Lab. de Estudio de Enf. Metabólicas Relacionadas con la Nutrición. Dpto. Cs. Biológicas. FBCB-UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

Objetivo: evaluar el efecto del cambio de grasa dietaria (aceite de maíz —AM— por aceite de hígado de bacalao —AHB— rico en n-3 PUFAs) sobre adipocitoquinas plasmáticas y enzimas oxidantes y antioxidantes, contenido de glutatión, y especies reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) en tejido adiposo (TA) de ratas dislipémicas insulino resistentes por alimentación crónica con una dieta rica en sacarosa (DRS). Métodos: Ratas machos Wistar recibieron durante 6 meses DRS (62,5 % sacarosa, 8 % AM). Luego la mitad de los animales continuó con DRS y en la otra mitad

se sustituyó el AM por AHB 7 % + AM 1 % (DRS + AHB) hasta los 8 meses de ingesta. Ratas controles recibieron dieta control (DC) durante los 8 meses. Determinaciones: en plasma: glucosa, TG, AGNE, IL-6, TNF- $\alpha$ , leptina, adiponectina e insulina. En TA: actividades enzimáticas xantino oxidasa (XO), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR); estado redox del glutatión y TBARS. Resultados: en el grupo DRS se observó un incremento de TBARS, IL-6 y TNF- $\alpha$  acompañado de una disminución de leptina y adiponectina en plasma. El estado redox del glutatión junto con las actividades SOD, CAT, GPx y GR disminuyeron significativamente en el TA del lote DRS junto con un incremento de la actividad XO y TBARS respecto al lote DC. La administración de AHB normalizó los niveles plasmáticos de IL-6, TNF- $\alpha$ , leptina y adiponectina y las actividades SOD, CAT, GPX y el estado redox del glutatión en TA, sin provocar cambios en TBARS y la actividad XO. Conclusión: Estos resultados sugieren que el reemplazo de AHB por AM como fuente de grasa dietaria normaliza/mejora el estrés oxidativo y la producción/secreción de adipocitoquinas provocados por la ingesta crónica de una DRS.

---

**C03 • Influencia de los conjugados del ácido linoleico en el metabolismo de la glucosa en músculo soleo de ratas alimentadas con dietas enriquecidas o deprivadas en ácido linoleico**

Fariña, A. C. • Hirabara, S. • Saín, J. • Latorre M. E. • González, M. A. • Curi, R. • Bernal, C. A.

Cátedra de Bromatología y Nutrición. FBCB-UNL,

Ciudad Universitaria, Santa Fe, Argentina – Universidad de San Pablo, Brasil. afarina@fbc.unl.edu.ar

Los conjugados del ácido linoleico (CLA) se han asociado a un mejoramiento del metabolismo de la glucosa, el cual podría depender de los niveles de ácido linoleico (AL). Objetivo: investigar el efecto de los CLA en la captación (C), incorporación (I) y oxidación (O) de la glucosa y síntesis (S) de glucógeno en músculo soleo de ratas alimentadas con dietas enriquecidas o deprivadas en AL en ausencia o presencia de insulina y/o palmitato. Ratas Wistar macho fueron alimentadas con dieta enriquecida en AL (+AL), deprivada en AL ( $\bar{A}L$ ), +AL o  $\bar{A}L$  suplementadas con aceite rico en CLA (+AL+CLA y  $\bar{A}L$ +CLA). En condiciones basales el grupo  $\bar{A}L$ +CLA incrementó la O, C e I de la glucosa: O: +AL 0,40 $\pm$ 0,06<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  0,46 $\pm$ 0,08<sup>a</sup>; +AL+CLA 0,71 $\pm$ 0,09<sup>b</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 0,95 $\pm$ 0,10<sup>b</sup>. C: +AL 1,88 $\pm$ 0,05<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  2,22 $\pm$ 0,17<sup>ab</sup>; +AL+CLA 2,21 $\pm$ 0,08<sup>ab</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 2,65 $\pm$ 0,15<sup>b</sup>. I: +AL 2,02 $\pm$ 0,09<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  2,18 $\pm$ 0,15<sup>ab</sup>; +AL+CLA 2,22 $\pm$ 0,13<sup>ab</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 2,62 $\pm$ 0,10<sup>b</sup>. Los CLA generaron menor respuesta a la insulina en la C, I, O de la glucosa y S de glucógeno respecto al valor basal: C: +AL 2,82 $\pm$ 0,10<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  2,18 $\pm$ 0,19<sup>ab</sup>; +AL+CLA 1,88 $\pm$ 0,15<sup>b</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 1,69 $\pm$ 0,13<sup>b</sup>. I: +AL 2,67 $\pm$ 0,17<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  1,94 $\pm$ 0,12<sup>b</sup>; +AL+CLA 1,84 $\pm$ 0,10<sup>b</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 1,53 $\pm$ 0,15<sup>b</sup>. O: +AL 2,51 $\pm$ 0,19<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  1,12 $\pm$ 0,31<sup>b</sup>; +AL+CLA 1,47 $\pm$ 0,18<sup>b</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 1,42 $\pm$ 0,37<sup>b</sup>. S: +AL 4,45 $\pm$ 0,17<sup>a</sup>;  $\bar{A}L$  2,27 $\pm$ 0,20<sup>bc</sup>; +AL+CLA 3,26 $\pm$ 0,38<sup>b</sup>;  $\bar{A}L$ +CLA 1,94 $\pm$ 0,31<sup>c</sup>. El palmitato inhibió parcialmente la acción de la insulina sobre la C e I de la glucosa en los grupos +AL y  $\bar{A}L$ , pero no en +AL+CLA y  $\bar{A}L$ +CLA. Los CLA activaron el metabolismo de la glucosa incrementando la C e I de la glucosa y la S de glucógeno en condiciones basales y

atenuando la inhibición inducida por el palmitato en la C e I de la glucosa estimulada por la insulina. También mostraron efecto negativo disminuyendo la capacidad de respuesta a la insulina.

---

**C04 • Conjugados del ácido linoleico naturales y comerciales: mecanismos involucrados en la regulación de la adiposidad en ratones**

Scalerandi, M.V. • González, M. • Bernal, C.A. Cátedra de Bromatología y Nutrición. FBCB–UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

Introducción: los conjugados del ácido linoleico (CLA) son un grupo de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico. Pueden tener origen natural (*c9,t11*– CLA o “Ácido Ruménico” —AR—) o industrial (mezcla equimolecular *c9,t11*–CLA+*t10,c12*–CLA —Mix—). Objetivos: explorar los potenciales mecanismos involucrados en las alteraciones producidas por los CLA sobre la adiposidad, en ratones alimentados con dietas ricas en diferentes ácidos grasos (AG) insaturados (AGI). Métodos: ratones CF1 macho (22g) fueron alimentados (30 días) con dietas conteniendo, como fuentes de AGI, aceite de oliva (O), maíz (M) o canola (C), con la presencia o no de AR o Mix. Se determinó el peso del tejido adiposo epididimal (TA) y músculo gastrocnemius (MG). En MG se cuantificó el contenido de triglicéridos (TG), la actividad Lipoproteína Lipasa (LPL) y Carnitin Palmitoil Transferasa–I. En TA se determinó la actividad de enzimas lipogénicas, LPL, y el perfil de AG. Resultados y Conclusiones: ratones alimentados con Mix presentaron una profunda disminución de

la adiposidad visceral y de los depósitos de grasa en MG. La reducida masa grasa estuvo asociada en el TA, a una baja actividad LPL, a bajos niveles de AG adipogénicos y a una reducción en la capacidad lipogénica expresada por el flujo a través de la enzima SCD–1. En cambio, la reducción en los TG musculares fue debida a una mayor oxidación mitocondrial de AG. Los animales suplementados con AR, manifestaron efectos antiobesogénicos más atenuados, debido a un incremento en la actividad de enzimas lipogénicas en el TA y a una mayor actividad LPL en MG. Los resultados muestran el efecto diferencial del AR frente al Mix sobre la adiposidad, el cual es a su vez influenciado por el tipo de AGI presente.

---

**C05 • Análisis de las especies moleculares de triacilglicéridos de gotas lipídicas nucleares**

Sisti, M. S.<sup>1</sup> • Roncaglia, D. I.<sup>3</sup> • Lagrutta, L. C.<sup>1</sup> • Ves–Losada, A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>INIBIOLP (CCT – La Plata – CONICET – UNLP); <sup>2</sup>Dto. Cs. Biol. Fac. Cs. Exactas, UNLP; <sup>3</sup>Dto. Cs. Tecnología, UNQ.

Los Triacilglicéridos (TAG) nucleares (N) constituyen una pequeña fracción de los celulares (0,006 %) y se encuentran organizados en gotas lipídicas nucleares (nLD). Las nLD están formadas por un por TAG y CE rodeado por una monocapa lipoproteica (PL, C y proteínas). Las nLD participarían en la homeostasis N como un sistema buffer capaz de proveer y/o incorporar lípidos y proteínas. Hemos determinado que los TAG N, al igual que los citosólicos, están compuestos por cantidades equivalentes de ácidos grasos (FA) saturados (16:0 y 18:0),

MUFA (16:1 y 18:1) y PUFA; siendo los principales FA esterificados: 18:1n-9, 18:2n-6 y 16:0. El objetivo fue determinar las especies moleculares (EM) de los TAG nucleares. Se aislaron N de hígado de rata, extrajeron los lípidos por FOLCH, aislaron los TAG por TLC y posteriormente se analizaron por infusión directa, como aductos de amonio  $[M-NH_4]^+$  por ESI-MS. Los iones moleculares  $[M-NH_4]^+$  de TAG se observaron en una ventana m/z (800 a 950 uma) donde no se superponen con otros lípidos neutros. Las diferentes relaciones m/z de las EM TAG se obtuvieron a partir de los espectros ESI-MS y ESI-MS/MS. Fueron analizadas empleando software adecuados para obtener las posibles combinaciones de cadenas acílicas a partir del número de carbonos y dobles enlaces, teniendo en cuenta la composición de FA totales de TAG. Las EM de TAG nucleares (nLD) son comparables a las citosólicas (cLD) y por lo tanto la diferente localización celular determinaría su función.

---

**C06 • La dinámica de las gotas lipídicas nucleares involucra la biosíntesis de triacilglicéridos y ester de colesterol**

Lagrutta, L. C.<sup>1</sup> • Layerenza, J. P.<sup>1</sup> • Montero Villegas, S.<sup>1</sup> • Sisti, M. S.<sup>1</sup> • García de Bravo, M. M.<sup>1,2</sup> • Ves-Losada, A.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>INIBIOLP (CCT – La Plata – CONICET – UNLP);

<sup>2</sup>Fac. Cs. Exactas. UNLP; <sup>3</sup>Dep. Cs. Biol. Fac. Cs. Exactas, UNLP.

En el Núcleo (N) los lípidos neutros se encuentran organizados en nLD (gotas lipídicas nucleares) que constituyen dominios discretos. Proponemos un modelo de nLD similar al de cLD (gotas lipídicas citosólicas), constituidas por un core hidrofóbico

(TAG y CE, ambos enriquecidos en 18:1n-9 (AO)), y rodeadas por una monocapa lipoproteica (PL, C y proteínas). Las nLD participarían en la homeostasis nuclear como un sistema buffer capaz de proveer y/o incorporar lípidos y proteínas. El objetivo del trabajo fue determinar si las nLD constituyen un dominio nuclear dinámico. Teniendo en cuenta que el AO induce un incremento de cLD, se incubaron células HepG2 y de cultivo primario de hepatocitos de rata con AO y posteriormente se cuantificaron ambas LD (c y n) y los lípidos celulares. Las LD se marcaron con BODIPY493/503 y los núcleos con DAPI. Se realizaron ensayos de viabilidad (Azul Tripán y MTT). El AO determinó un aumento en el contenido de TAG y CE y de ambas LD (número y tamaño). Estos incrementos se revertieron cuando el AO fue excluido del medio de incubación. El Triacsin C, inhibidor de la ACS (Acil-CoA sintetasa), inhibió los aumentos de nLD y cLD generados por el AO. Las nLD constituyeron un pool minoritario (3–7 %) del total (nLD + cLD). En conclusión, las nLD constituyen un dominio nuclear dinámico cuya génesis, morfología y composición están reguladas reversiblemente por el AO, mediante un mecanismo que involucra la biosíntesis de TAG y CE y en particular a la ACS.

---

**C07 • Mecanismo de activación de la síntesis de fosfolípidos por la proteína c-FOS en el retículo endoplásmico**

Cardozo Gizzi, A. M. • Alfonso Pecchio, A. R. • Renner, M. L. • Caputto, B. L.  
 Depto. de Química Biológica., CIQUIBIC (CONICET), Fac. Cs. Químicas, UNC, Argentina.

Evidencias previas del laboratorio han

demostrado que la proteína c-Fos, de manera independiente de su actividad como factor de transcripción tipo AP-1, activa la síntesis de fosfolípidos. Utilizando homogeneizados de células NIH3T3 quiescentes, encontramos que c-Fos recombinante activa *in vitro* fosfatidato fosfohidrolasa (FF), CDP-diacilglicerol sintasa y fosfatidilinositol 4-quinasa II $\alpha$  pero no a fosfatidilinositol sintasa ó fosfatidilinositol 4-quinasa II $\beta$ . Mediante ensayos de co-inmunoprecipitación y de microscopía FRET establecimos una interacción física entre c-Fos y las enzimas que activa mientras que c-Fos no se asocia a enzimas cuya actividad no regula. Para caracterizar más precisamente el fenómeno, empleamos además un sistema de micelas mixtas de Triton X-100/fosfatidato en donde medimos la actividad de Lipin1b (una de las principales FF en mamíferos) purificada hasta homogeneidad en presencia/ausencia de c-Fos. En este sistema altamente simplificado, encontramos que c-Fos activa la actividad enzimática de Lipin1b. Los resultados apoyan nuestra hipótesis de que c-Fos se asocia físicamente con las enzimas responsables de la síntesis de fosfolípidos que es capaz de activar. Refuerza a su vez el concepto de una proteína capaz de incrementar *per se* actividades enzimáticas claves en eventos celulares que requieren altos niveles de síntesis de lípidos como proliferación o diferenciación.

---

**C08 • c-FOS activa la síntesis nuclear de fosfatidilinositol-4,5- bifosfato (PTD-INS(4,5)P<sub>2</sub>) el cual promueve cambios transcripcionales**

Rodríguez-Bardini, L. • Ferrero, G.O. • Gil, G.A. • Caputto, B.L.

CIQUIBIC (CONICET). Dpto. Qca. Biológica. Fac. Cs. Químicas. Univ. Nacional de Córdoba. Argentina.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que c-Fos, además de su actividad canónica como factor de transcripción tipo AP-1, activa la síntesis de fosfolípidos en el citoplasma mediante un mecanismo AP-1 independiente. Para ello, c-Fos se asocia a enzimas particulares de la vía de síntesis de lípidos en el retículo endoplásmico. Dado que se ha demostrado que en el núcleo existe síntesis de lípidos y que a diversos fosfolípidos se les ha atribuido la función de regular los niveles de transcripción, examinamos si c-Fos actúa como regulador de la síntesis de lípidos a nivel nuclear y, de ser así, si esta función le confiere la capacidad de modular la actividad transcripcional. En cultivos de células inducidas a re-ingresar al ciclo celular, encontramos c-Fos en el núcleo asociado con y activando a la enzima PI4P5K. Esta asociación determina un incremento en la síntesis de PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> que, a su vez, provoca cambios transcripcionales AP-1 independientes. De esta manera, además de su conocida actividad AP-1, las funciones de c-Fos como regulador de la transcripción pueden ser extendidas a su capacidad de activar la síntesis de fosfolípidos. Consecuentemente, proponemos a c-Fos como un regulador transcripcional clave en respuesta a señales de crecimiento cuando la célula re-ingresa al ciclo celular, actuando de manera coordinada mediante un mecanismo AP-1 dependiente como por uno AP-1 independiente mediado por la activación de la síntesis de lípidos.

---

**C09 • El Knockdown de LFABP disminuye la captación de ácidos grasos exógenos y la proliferación de enterocitos**

Rodríguez Sawicki, L. • García, K. A. • Bottasso Arias, N. M. • Scaglia, N. • Córscico, B.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), La Plata, Buenos Aires.

Las proteínas que unen ácidos grasos (FABPs) son pequeñas proteínas intracelulares que unen ligandos hidrofóbicos y se expresan en forma específica en diversos tejidos. Si bien sus características estructurales han sido ampliamente estudiadas, sus funciones aún se discuten. En el enterocito de mamíferos se expresan dos FABPs: intestinal y hepática (I- y LFABP). Estas células metabolizan gran cantidad de lípidos por lo que el estudio de estas vías es clave para la comprensión de los procesos fisiológicos y patológicos de este tejido. Inicialmente, estudiamos la función de LFABP utilizando células Caco-2, modelo *in vitro* que mimetiza las características del epitelio intestinal, mediante la transfección estable del cDNA en posición antisentido. El *knockdown* de LFABP reduce drásticamente la proliferación respecto de la línea control, transfectada con el vector vacío, sin afectar la viabilidad celular. Asimismo la subexpresión de LFABP disminuye la captación de ácido oleico administrado por la cara apical así como su asimilación en lípidos complejos en células diferenciadas. Ensayos preliminares muestran un incremento en el porcentaje de ácidos grasos libres marcados en las células con LFABP disminuida, a expensas de su incorporación en glicerolípidos. En conjunto, estos resultados sugieren que

LFABP regula tanto la captación como la canalización de ácidos grasos hacia la síntesis de lípidos complejos en enterocitos y es imprescindible para mantener la proliferación celular.

---

**C10 • Mecanismos de acción del geraniol sobre el metabolismo lipídico *in vivo***

Galle, M. • Castro, A. • Rodenak Kladniew, B. • Montero Villegas, S. • Crespo, R. • Polo, M. • García de Bravo, M.

INIBIOLP (UNLP-CONICET CCT La Plata) Fac. Cs. Médicas, La Plata.

Anteriormente demostramos que en animales tratados con geraniol (G) se redujeron los niveles totales de colesterol y triglicéridos (TG) en plasma y disminuyó la síntesis de ácidos grasos (AG) y colesterol en hígado. En este estudio se investigaron *in vivo* los mecanismos de acción de G sobre el metabolismo del colesterol y de triglicéridos. Ratones NIH nu/nu de dos meses de edad se dividieron en un grupo control y grupos experimentales, cada uno de los cuales recibió una dieta suplementada con cantidades crecientes de geraniol (25; 50; 75 mmol de G/Kg dieta) durante 21 días. Se obtuvieron los hígados de los ratones y se cuantificó el ARNm de HMGCR (enzima limitante en la vía de síntesis del colesterol), sus niveles de proteína y su actividad por RT-PCR, Western blots y ensayos de actividad enzimática respectivamente. Se midió también, el ARNm de la enzima limitante de la síntesis de AG (ACACA) y se determinó la expresión del mRNA de los receptores de LDL y VLDL por RT-PCR. Animales tratados con G mostraron un aumento en el

mRNA de HMGCR pero una disminución en los niveles y la actividad de la proteína. G también incrementó el ARNm de los receptores de LDL y VLDL y redujo el mRNA de ACACA. Estos resultados sugieren que el G ocasiona en el hígado una inhibición de HMGCR a nivel postranscripcional, con una consecuente disminución de la colesterolénesis. Esto sumado al aumento en la expresión del receptor de LDL produciría el efecto hipocolesterolémico. A su vez, el G redujo la expresión de ACACA lo que explicaría la disminución en la síntesis hepática de AG observada en los ratones tratados con G. El aumento en la expresión de VLDLR junto con la inhibición la biosíntesis de AG contribuirían a la disminución de la trigliceridemia.

---

### **C11 • La síntesis de esfingomielina regula la transición epitelio-mesénquima**

Favale, N. O.<sup>1</sup> • Santacreu, B.<sup>1</sup> • Pescio, L. G.<sup>1</sup> • Marquez, M. G.<sup>2</sup> • Sterin-Speziale, N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, IQUIFIB-CONICET

– <sup>2</sup>Universidad de La Rioja, IQUIFIB- CONICET.

Resultados previos de nuestro laboratorio han demostrado que la síntesis de esfingomielina (SM) es esencial en la adquisición del fenotipo diferenciado de células MDCK, cuando son sometidas a estrés osmótico (hipertonicidad). Particularmente, resulta fundamental la SM proveniente de la síntesis de novo por acción de la enzima esfingomielina sintasa 1 (SMS1). La inhibición de la síntesis de SM no solo impide la diferenciación, sino que retrotrae a las células a un estado de maduración menor, sugiriendo la existencia de una transición epitelio mesénquima (EMT). Para evaluar este fenómeno, células MDCK fueron sometidas a un medio

hipertónico, y conjuntamente se inhibió la actividad de la enzima SMS por estrategias farmacológicas (D609) o de silenciamiento (siRNA); y se evaluaron la expresión de diferentes marcadores. Los resultados mostraron un incremento de los marcadores de células mesenquimáticas como vimentina, alfa actina de musculo liso (alpha-SMA) y del factor de transcripción Snail-1; y por otro lado una disminución de la expresión de marcadores de célula epitelial como E-cadherina y Cadherina-16 (cadherina específica de riñón). Estos son indicadores de la presencia del fenómeno de EMT. Dado que la inhibición de la SMS, produce acumulación ceramida y/o se inhibió la síntesis de estos metabolitos (mirioquina y D-PDMP) y no se revirtió el fenotipo. Estos resultados demostrarían la importancia de la SM en los procesos de diferenciación celular.

---

### **C12 • Cambios en las especies moleculares de glicoesfingolípidos durante la diferenciación de las células MDCK**

Pescio, L. G. • Favale, N. O. • Santacreu, B. J. • Sterin-Speziale, N. B.

Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. IQUIFIB – CONICET.

Resultados previos de nuestro laboratorio han demostrado que los glicoesfingolípidos (GSLs) son esenciales para la diferenciación de las células MDCK inducida por hipertonicidad. El objetivo del presente trabajo es analizar las especies moleculares de GSLs involucradas en dicho proceso de diferenciación utilizando espectrometría de masa. Las células MDCK fueron incubadas en condiciones control o de hipertonicidad durante 24h y 48h, los lípidos fueron extraí-

dos y separados por TLC. Las especies moleculares de glucosilceramida (GlcCer) y lactosilceramida (LacCer) fueron analizadas por MALDI TOF–TOF MS. Se detectaron siete especies moleculares de ceramida y sus correspondientes GlcCer y LacCer (d18:1/C16:0, d18:1/C18:0, d18:1/C20:0, d18:1/C22:0, d18:1/C24:1, d18:1/C24:0 y d18:1/C24:0h). Las células cultivadas en hipertonidad mostraron un aumento progresivo en el porcentaje de C24:0 y C24:1 GlcCer, a expensas de una disminución de los porcentajes de C16:0 y C22:0 GlcCer. En cambio, en las especies de LacCer se observó un aumento en el porcentaje de C16:0 LacCer y una disminución de C22:0 y C24:0 LacCer, luego de 48h de tratamiento. Estos resultados demuestran que el perfil de GSLs es modificado durante la progresión hacia la diferenciación de las células MDCK. Además, sugieren que durante este proceso se desarrolla cierta selectividad de longitud de cadena, favoreciendo la formación de especies moleculares de LacCer de cadena más corta.

---

**C13 • Cambios en la distribución de esfingomielina, glicerosfolípidos y colesterol en fracciones de membrana de células espermátogénicas en diferenciación**

Santiago Valtierra, F. X. • Oresti, G. M. • Mateos, M. V. • Aveldaño, M. I.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, CONICET y Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.

Durante su proliferación y diferenciación, las células germinales sufren cambios de tamaño y forma que se acompañan de una activa remodelación de sus membranas. El

objetivo fue caracterizar la distribución de esfingomielina (SM) en relación con glicerosfolípidos (GPL) y colesterol en fracciones de membrana de estas células. Se obtuvieron espermátocitos en paquiteno, espermátidas redondas, y espermátidas tardías de rata, a partir de las cuales se aislaron fracciones de membrana livianas (ML), pesadas (MP) y extra pesadas (MEP). La ausencia de actividad 5' nucleotidasa probó el origen intracelular de las MEP, mientras que por la alta actividad de la enzima, las fracciones ML y MP demostraron provenir de la membrana plasmática. La proteína flotilina–1 se concentró en la fracción ML, indicando la presencia de dominios de membrana tipo raft en ella. De las tres fracciones, la MEP fue la más pobre en SM. En espermátocitos, la fracción ML concentró más SM, y más colesterol, que la MP, mientras que en las dos espermátidas la ML tuvo más SM, pero menos colesterol, que la MP. En todos los tipos celulares, los GPL de las ML presentaron ácidos grasos saturados (16:0 y 18:0), mientras que en los GPL de las MP y de las MEP abundaron los PUFA, siendo 20:4n–6 mayor en las primeras y 22:5n–6 mayor en las segundas. Estos resultados muestran que en las células germinales el proceso de diferenciación afecta la distribución de SM, GPL y colesterol entre membranas, y aún en una misma membrana.

---

**C14 • Diferentes agonistas de receptores PPARs modifican el metabolismo del ácido fosfatídico en núcleos de cerebelo de rata**

Gaveglio, V.L. • Giusto, N.M. • Pasquaré, S.J. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, CCT – Bahía Blanca, UNS– CONICET.

Previamente hemos demostrado un activo metabolismo del ácido fosfatídico (PA) en núcleos aislados de cerebelo de rata. Se caracterizaron distintas actividades enzimáticas relacionadas con su metabolismo: la fosfatidato fosfohidrolasa (LPP), la diacilglicerol lipasa (DAGL), la monoacilglicerol lipasa (MAGL), la fosfolipasa A (PLA) y la lisoPA fosfohidrolasa (LPAPasa). Además, demostramos que estas vías están reguladas de manera diferente por el ácido trans-retinoico a través de un mecanismo no genómico aún no descrito. En este trabajo se estudia la modulación de estas actividades enzimáticas por ligandos de los receptores nucleares PPAR (receptores activados por factores de proliferación peroxisomal) como lo son diferentes ácidos grasos (AG) y sus derivados. Para ello, se parte de un homogenado de tejido cerebelar de rata adulta a partir del cual se obtienen los núcleos con un alto grado de pureza por centrifugación en un gradiente de sacarosa. Las actividades enzimáticas fueron ensayadas incubando los respectivos sustratos radiomarcados simultáneamente con los diferentes AG o sus derivados. Se observó que el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenoico estimulan la actividad DAGL un 80 %. La PGE2 también produjo un estímulo sobre esta actividad (128 %) mientras que la actividad de LPP disminuyó un 19 %. Estos resultados en su conjunto demuestran que en núcleos de células del sistema nervioso, el metabolismo de PA y de lípidos derivados de él es regulado por AG o por moléculas relacionadas, lo que podría estar involucrado en la expresión de genes, la diferenciación, la apoptosis o los procesos relacionados con la inflamación.

---

### C15 • Regulación de la expresión génica del gen *CHKA* durante la diferenciación neuronal inducida por ácido retinoico

Domizi, P. • Banchio, C.  
IBR-CONICET, Ocampo y Esmeralda, Rosario.

Una de las principales características de la diferenciación neuronal es la formación de neuritas. Para ello se requiere de la síntesis de *novo* de membrana. Durante la diferenciación inducida por ácido retinoico (AR), el aumento en la biosíntesis de fosfatidilcolina (PC), es sostenido, en parte, por la inducción de la expresión del gen *Chka*, por lo que nos planteamos dilucidar los mecanismos por los cuales el AR induce su expresión. Mediante análisis de fusiones reportera del promotor de *Chka* identificamos la mínima región necesaria para su respuesta al AR. La misma está compuesta por dos cajas denominadas Box 1 y Box 2. Hemos demostrado que el AR, mediante ERK1/2, aumenta los niveles de C/EBP, lo que promueve su reclutamiento sobre el Box1 e induce la expresión del gen *Chka*. Por su parte, el Box 2 está constituido por una secuencia palindromica, la cual no ha sido previamente caracterizada. Ensayando construcciones reporteras mutantes del promotor de *Chka* pudimos establecer que el Box 2 es responsable del 70% de su inducción por AR. Además, mediante ensayos de EMSA pudimos determinar que sobre el Box 2 se forma un complejo proteico, y actualmente estamos realizando ensayos con el fin de poder identificar a estas proteínas. En conclusión, para que el promotor de *Chka* sea capaz de responder al AR se requiere del Box 1 y Box 2. Ambos, mediante diferentes mecanismos, modulan su activación, permitiendo un incremento en los niveles de PC, necesarios durante la diferenciación.

---

**C16 • Regulación de la síntesis de lípidos en células renales sometidas a hiperosmolaridad**

Casali, C. I.\* • Weber, K.\* • Morel Gómez, E. • Etcheverry, T. • Fernández Tome, M. C. Biología Celular y Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. IQUIFIB- CONICET. CABA.

Fisiológicamente, las células de la médula renal se encuentran expuestas a elevadas osmolaridades. Experimentos previos sugieren que la preservación de la homeostasis de las membranas, a través de una activa síntesis y recambio de fosfolípidos (FLs), es un mecanismo de protección ya que garantiza el mantenimiento de la estructura y función celular en este entorno. Además, demostramos que la propia hiperosmolaridad ambiental es el factor que regula este proceso. En el presente trabajo estudiamos el efecto de la osmolaridad ambiental sobre la síntesis y almacenamiento de los precursores de la síntesis de FLs, los ácidos grasos (AGs) en los triglicéridos (TGs), que actúan como almacenes celulares de los mismos. Para ello se incubaron células MDCK en presencia de una alta osmolaridad (510+12 mOsm/kgH<sub>2</sub>O) durante distintos períodos de tiempo. Tras 24h, período de adaptación, tanto el contenido como la biosíntesis de TGs aumentaron significativamente alcanzando un máximo a las 48h, etapa de célula adaptada. La síntesis de TGs fue dependiente de la síntesis de AGs ya que disminuyó en presencia de cerulenina. El aumento de TGs fue acompañado de un aumento en la expresión de la enzima FAS, la cual es regulada por el factor de transcripción SREBP. Fatostatina, inhibidor SREBP, disminuyó tanto la síntesis de TGs como la expresión

de FAS. Estos resultados sugieren que la activación de SREBP sería parte del programa genético que se activa ante cambios en la osmolaridad para la protección celular.

\* Ambos deben ser considerados como primeros autores.

---

**C17 • Captura y transporte intracelular de lípidos en mesocestoides vogae**

Alvite, G. • Silvarrey, C. • Esteves, A. Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Udelar, Montevideo, Uruguay.

Las FABPs son proteínas principalmente intracelulares, que unen ácidos grasos de cadena larga y otros ligandos hidrofóbicos. Se distinguen unas de otras, no sólo por su distribución tisular, sino también por la especificidad y afinidad por sus ligandos. La función específica de las FABPs está aún bajo investigación, si bien recientemente se han obtenido hallazgos prometedores. Algunos de sus miembros estarían implicados en la modulación del crecimiento y proliferación celular, en la regulación de la expresión génica y colaborarían con transportadores de membrana para la captura de ácidos grasos del medio extracelular. Hemos investigado el rol de las FABPs en la captura y transporte intracelular de un análogo de ácido graso, del platelminto parásito *Mesocestoides vogae*. Estas proteínas serían fundamentales para la supervivencia de este organismo ya que es incapaz de sintetizar de novo sus propios ácidos grasos, estando obligado a capturarlos de su hospedero. Larvas del parásito fueron puestas en cultivo en presencia del ácido graso fluorescente, marcadores subcelu-

lares, y anticuerpos específicos, para realizar inmunomicroscopías confocales in toto y sobre criosecciones. Por otro lado, se analizó in vitro la capacidad de estas proteínas de unir el ligando fluorescente. Nuestros resultados indican que las FABPs son firmes candidatos para el transporte intracelular de los ácidos grasos, distribuyéndolos por distintos compartimentos de la célula, incluyendo al núcleo.

---

### **C18 • Poliproteínas alergénicas de nematodos parásitos: análisis estructura – función**

Bélgamo, J. A.<sup>1</sup> • Kennedy, M. W.<sup>2</sup> • Smith, B. O.<sup>2</sup> • Córscico, B.<sup>1</sup> • Franchini, G. R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INIBIOLP–CONICET, Fac. de Ciencias Médicas, UNLP, Argentina. <sup>2</sup>Inst. of Biomedical & Life Sciences, University of Glasgow, UK.

Las poliproteínas de nematodos (NPAs) representan una clase novedosa de proteínas que unen lípidos de helmintos. El término poliproteínas se refiere a la producción de NPAs como precursores de alto peso molecular conteniendo unidades repetitivas en tándem clivables. El valor adaptativo de producir proteínas mediante este mecanismo todavía permanece en discusión. Los estudios de caracterización estructural solo se han realizado, hasta el momento, sobre unidades aisladas de NPAs provenientes de distintos organismos. Recientemente se ha resuelto la estructura tridimensional de la unidad ABA–1A presente en el parásito *Ascaris suum* mostrando un nuevo tipo de plegamiento con dos sitios de unión de ligandos de diferentes características. La existencia de conectores cortos entre subunidades (generalmente cuatro aminoácidos) y la estructura tridimensional apla-

nada de las subunidades; sugieren que las mismas podrían interactuar entre sí cuando todavía están formando parte del polímero. Esto podría determinar, por ejemplo, que los sitios de unión no estén accesibles hasta su separación del polímero. Para obtener una mayor comprensión de las posibles interacciones entre las unidades cuando aún forman parte de la poliproteína, hemos diseñado, construido y expresado un tándem de la unidad ABA–1A del parásito *Ascaris suum*. Adicionalmente, se ha comenzado el análisis de NPAs de *Haemonchus contortus*, nematode parásito de gran importancia en la industria ganadera.

---

### **C19 • Autoagregación de apolipoproteína A–I humana. estudios con mutantes de cisteína marcadas con pirenil–maleimida**

Tarraga, W. • González, M. • Falomir Lockhart L.J. • Hernández, L. • Toledo, J. • Garda, H.

INIBIOLP. CONICET, Fac. Cs. Médicas, UNLP. Calles 60 y 120, La Plata.

La apolipoproteína A–I (apoAI) es la proteína mayoritaria de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) a las que se les atribuye un rol antiaterogénico, en especial por su participación en el transporte del exceso de colesterol desde tejidos periféricos hacia el hígado para su catabolismo y eliminación. ApoAI está constituida por –hélices anfipáticas que en agua forman un ramillete de estructura terciaria poco definida o glóbulo fundido; y que en función de la concentración se autoagrega para formar dímeros y oligómeros de diferente tamaño. Obtener información sobre la autoagregación es importante para comprender los meca-

nismos de interacción con membranas y generación de HDL, así como la amiloidogénesis. Aquí se usaron tres mutantes de cisteína (K107C, K133C y K226C), las que se marcaron específicamente con pirenil-maleimida en estas tres posiciones de las hélices 4, 5 y 10, respectivamente. Los espectros de fluorescencia de triptófano indicaron que la marcación no interfiere con el plegamiento de las proteínas. Del análisis de los espectros de emisión del pirenilo se concluye que este grupo en la posición 226 se encuentra en un entorno relativamente más polar que en los casos de las posiciones 107 y 133. Los espectros de emisión en función de la concentración proteica mostraron que la formación de excímeros de pireno ocurre sólo en el caso de la mutante marcada en la hélice 5, indicando la participación de ésta hélice en las regiones de contacto para la oligomerización.

---

**C20 • Estudio de enzimas del metabolismo de triacilgliceroles en modelos de diferenciación de macrófagos**

Quiroga, I. Y. • González, M. C. • Pellon Maison, M. • González-Baro, M.  
INIBIOLP-CCT CONICET, Fac. Cs. Medicas, UNLP, Calles 60 y 120, 1900, La Plata.

En procesos inflamatorios e infecciosos se produce la diferenciación de macrófagos (M $\phi$ ) a células espumosas (CE) caracterizada por un aumento en la acumulación de gotas de lípidos formadas por ésteres de colesterol y triacilgliceroles (TAG). Poco se sabe acerca del metabolismo de los TAG en macrófagos. En algunas patologías, en donde también hay un exceso de depósito

de TAG, existen dos enzimas con un rol fundamental: la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), que cataliza el primer paso de la síntesis de novo de glicerolípidos, y la carnitina aciltransferasa 1a (CPT1a), que ingresa ácidos grasos a la mitocondria para su oxidación. Con el objetivo de evaluar si estas enzimas también juegan un papel importante en la acumulación de TAG en este modelo, evaluamos sus niveles de expresión en dos líneas celulares: las RAW 264.7 (M $\phi$  de ratón) y las THP1 (monocitos humanos). Las mismas fueron diferenciadas mediante incubación con LDL oxidadas o ésteres de forbol. Mediante qRT-PCR observamos que en ambos modelos la expresión de la isoforma GPAT3 aumentó significativamente, mientras que el resto de las GPATs presentaron un nivel de expresión basal o nulo. Asimismo, la actividad GPAT NEM sensible aumentó significativamente durante la diferenciación de macrófagos, lo que a su vez correlacionó con el incremento de la masa de TAG. Por otro lado, CPT1a aumentó significativamente su expresión durante la diferenciación de M $\phi$  a CE en la línea RAW 264.7, mientras que disminuyó significativamente en la transición de monocitos a M $\phi$  en las THP1, dando cuenta de un nivel de  $\beta$ -oxidación diferencial en ambos tipos celulares.

---

**C21 • Esfingosina 1 fosfato regula la síntesis de esfingolípidos en la diferenciación celular de células MDCK**

Santacreu, B. J. • Sterin de Speziale, N. • Favale, N. O.

Cátedra de Biología Celular y Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA -IQUIFIB-CONICET.

Hemos demostrado que la diferenciación de la línea celular MDCK (una línea prototipo de células epiteliales) es inducida por un aumento en la osmolaridad del medio extracelular. En esta situación el metabolismo de los Esfingolípidos (SLs) sufre una reprogramación que involucra la activación de la vía de reciclaje, con aumento de Esfingomielina (SM) y Glucosilceramida (GluCer). Asociado a este fenómeno, se produce una maduración de las uniones adherentes (AJ) con la consiguiente polarización celular, indicadores de diferenciación celular. Dado que la esfingosina 1 fosfato (S1P) es el metabolito final de la vía de reciclaje, en este trabajo estudiamos la implicancia de esta molécula durante la diferenciación celular. Se observó que la inhibición de la Esfingosina Kinasa (SphK), enzima que biosintetiza S1P, produce un aumento en la síntesis de Ceramida, SM y GluCer. Coincidentemente, se producen cambios en la morfología celular con la acumulación intracelular de proteínas de la AJ. Específicamente  $\beta$ -catenina y E-caderina se redistribuyen hacia el núcleo y un compartimento de reciclaje. Para evaluar si la síntesis de Sls está involucrada en este proceso, se utilizaron inhibidores enzimáticos de manera conjunta. Encontrándose que al inhibir la síntesis de novo de Sls se revierten los efectos morfológicos que produce la inhibición de SphK. Estos resultados sugieren que la S1P es capaz de modular la morfología celular, a través de la regulación de la síntesis de Sls.

---

**C22 • La síntesis de novo de ácidos grasos al final de la mitosis es necesaria para completar la división celular**

Scaglia, N.\* • Tyekucheva, S. • Zadra, G. • Photopoulos, C. • Loda, M.

Dana-Farber Cancer Institute/Harvard University, Boston, USA. \*Actualmente: INIBIOLP, La Plata.

El ciclo celular es un proceso precisamente regulado y coordinado por el cual las células duplican su masa y se dividen. Aunque su regulación ha sido ampliamente estudiada, se conoce mucho menos acerca de las necesidades metabólicas de las células en cada fase y cómo se satisfacen. En células HeLas sincronizadas por doble bloqueo de timidina, la síntesis de novo de ácidos grasos y su incorporación a fosfolípidos aumenta durante la progresión desde G2/M a G1, mientras que la incorporación de ácidos grasos exógenos no varía. El contenido de lisofosfolípidos, estimado por espectrometría de masa, decrece drásticamente durante la división celular, al tiempo que aumenta la síntesis de novo de fosfatidilcolina, lo que sugiere que el incremento en la producción de membranas está asociado a una disminución en su "turnover". La regulación principal de la vía de síntesis de ácidos grasos se produce a nivel de la acetil-CoA carboxilasa. Como se esperaba, la fosforilación inhibitoria de esta enzima disminuyó transitoriamente antes de la finalización de la citoquinesis. La inhibición de la síntesis de ácidos grasos arresta a las células en G2/M a pesar de la presencia de ácidos grasos en el medio. Nuestros resultados sugieren que existe un aumento en la síntesis de membranas que comienza en G2/M y es necesaria para la correcta finalización del ciclo celular. Este "punto de control lipogénico" podría ser utilizado como blanco terapéutico en enfermedades hiperproliferativas como el cáncer.

---

**C23 • Rol de c-FOS durante la neurogenesis**

Velazquez, F. N. • Oliver, E. • Prucca, C. • D'Astolfo, D. S. • Boussin, F. • Caputto, B. L. CIQUIBIC-CONICET, Dpto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC Argentina.

La proteína c-Fos forma parte del factor de transcripción AP-1 y además es una proteína capaz de activar la síntesis de fosfolípidos. Ratones *c-fos* *-/-* mueren aproximadamente a los 7 meses de edad, son infértiles, presentan déficit de atención, hiperactividad y un retardo en el crecimiento con respecto a los animales *wt*. El objetivo de este trabajo fue determinar si las consecuencias de la ausencia de c-Fos durante la neurogenesis son debidas a la falta de su actividad como factor de transcripción AP-1 o si es la falta de su actividad como activador de la síntesis de lípidos o ambas, los responsables del fenotipo de los ratones *c-fos* *-/-*. Las neuronas de la corteza cerebral adulta de mamíferos se originan principalmente a partir de células madre/progenitoras presentes en el neuroepitelio. Análisis de la corteza cerebral de embriones de 14,5 días (E14.5) *c-fos* *+/+* y *c-fos* *-/-* muestra poblaciones de células madre/progenitoras similares y una disminución en la población de células neuronales posmitóticas en los E14.5 *c-fos* *-/-*. Además se observa un índice de mitosis semejante pero un mayor número de células en apoptosis en la corteza de E14.5 *c-fos* *-/-*. No se encontraron diferencias en la marcación de fosfolípidos *in vitro* pero si un mayor contenido AP-1 en los E14.5 *c-fos* *-/-*. Estos resultados sugieren una menor diferenciación neuronal y mayor apoptosis en la corteza de E14.5 *c-fos* *-/-* y que dichas

observaciones pueden ser explicadas por diferencias en la actividad AP-1.

---

**C24 • Estudio de lípidos y ácidos grasos presentes en tres especies de escorpiones: *Brachistoternus ferrugineus*, *Timogenes elegans* y *Timogenes dorbignyi***

Laino, A. • Cunningham, M. • García, F. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), CONICET-UNLP, 60 y 120 (1900), Argentina.

Los escorpiones forman parte de la clase Arachnida. Si bien se encuentran ampliamente distribuidos, representados con 19 familias, 9 subfamilias, 66 géneros y 1.520 especies, la información en relación a los lípidos y ácidos grasos es muy escasa. Es sabido que en otros invertebrados los lípidos y ácidos grasos poseen variaciones cuali y cuantitativas relacionadas a diferentes aspectos fisiológicos y ecológicos. En algunos casos se observó que los lípidos hemolinfáticos están relacionados con la generación de veneno. El objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar los lípidos y ácidos grasos presentes en diferentes órganos, tales como cuerpo entero, hemolinfa, gónadas, músculo, divertículo intestinal y telsonde *Brachistoternus ferrugineus*, *Timogenes elegans*, y *Timogenes dorbignyi*. En relación a los lípidos totales se observó en las tres especies estudiadas que los mayoritarios fueron triacilglicéridos, fosfolípidos y esteroides. Los ácidos grasos mayoritarios encontrados fueron 16:0, 18:1, 18:0, 16:1. Las variaciones entre las diferentes especies del mismo género (*T. elegans*, *T. dorbignyi*) son menores que entre dos géneros diferentes.

Por otro lado es importante destacar que en *B. ferrugineus*, las hembras poseen un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados que los machos, siendo de un 75 % en hembras y 56 % en machos. Los resultados indican: similitudes y diferencias entre los diferentes órganos de las especies estudiadas, y diferencias en una misma especie en relación a sus ácidos grasos de individuos de diferente sexo, demostrando posibles cambios a nivel de hábitos alimenticios o a nivel metabólico. Nuevos estudios son necesarios para comprender el origen de las similitudes y diferencias en los presentes patrones.

---

### **C25 • Diferenciación neuronal de células madre neuronales inducida por lípidos**

Montaner, A. • Girardini, J. • Banchio, C.  
IBR-CONICET, Sede CCT Ocampo y Esmeralda,  
Rosario.

Debido a sus características únicas de regenerarse y diferenciarse en tipos celulares específicos, las células madre pueden actuar como una fuente de nuevas células y regenerar tejidos. La caracterización biológica y molecular de dichas células en el proceso de diferenciación de distintos tipos celulares es importante para el desarrollo de futuras estrategias de reparación con células madre. Las células madre multipotentes neuronales pueden ser aisladas a partir de embriones de ratones de 12–13 días de gestación, obteniéndose de esta manera cultivos de células madre neuronales embrionarias (NSCs). Nuestra hipótesis propone que el proceso de diferenciación neuronal podría estar modulado por metabolitos lipídicos. Para su evaluación, comenzamos estudiando si la diferenciación neuronal en

NSCs puede ser inducida por fosfolípidos o precursores de los mismos. Para esto, células madre aisladas se incubaron con los respectivos lípidos por 3 días en condiciones de temperatura y pCO<sub>2</sub> controladas. La identidad de las células se analizó por técnicas de inmunocitoquímica acoplada a microscopía de fluorescencia utilizando marcadores para neuronas ( $\beta$ -III tubulina) y glia (GFAP). Los resultados sugieren que el agregado exógeno de fosfatidilcolina y lisofosfatidilcolina induce la diferenciación de células madre neuronales a neuronas. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, podemos concluir que determinados lípidos estarían induciendo la diferenciación neuronal de células madre neuronales embrionarias.

---

### **C26 • Efectos beneficiosos de la proteína de soja dietaria sobre las anormalidades metabólicas en músculo esquelético de ratas dislipémicas insulino resistentes**

Oliva, M. E. • Chicco, A. • Lombardo, Y. B.  
Laboratorio de estudio de enfermedades metabólicas relacionadas con la nutrición. FBCB-UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

Objetivo: El músculo esquelético es cuantitativamente el sitio más importante de utilización de la glucosa. El presente estudio analiza los efectos del reemplazo de caseína por proteína de soja dietaria sobre los posibles mecanismos involucrados en el alterado metabolismo lipídico y de la glucosa en el músculo esquelético, inducido en ratas normales por ingesta crónica de una dieta rica en sacarosa (DRS).

Métodos: Ratas machos Wistar recibieron durante 4 meses DRS [%energía: 60 sacarosa, 23 aceite de maíz, 17 caseína].

Luego la mitad de las ratas continuó con DRS, mientras que en la otra mitad la caseína fue reemplazada por proteína de soja por 4 meses adicionales (DRS-S). Un grupo control recibió dieta control durante toda experiencia. Se analizó el contenido lipídico y aspectos de las vías oxidativa y no oxidativa de la glucosa en estado basal y frente al estímulo de la insulina.

Resultados: Comparado con las ratas DRS-caseína, las DRS-S mostraron: Disminución del contenido lipídico, normalización de la alterada oxidación y mejora de la fosforilación de la glucosa. Disminución de la masa proteica de nPKC (fracción de membrana) e incremento significativo ( $P < 0,05$ ) de la masa proteica del Glut-4 y niveles de glucosa-6-fosfato y glucógeno frente al estímulo de la insulina. Estos cambios contribuyeron a la normalización de la homeostasis de la glucosa y dislipemia. Conclusiones: Este estudio proporciona nueva información sobre algunos mecanismos claves relacionados con el efecto de la proteína de soja dietaria sobre el metabolismo lipídico y la acción de la insulina en el músculo esquelético en presencia de dislipidemia y resistencia insulínica inducida por una dieta rica en sacarosa.

---

**C27 • Influencia de la harina de soja sobre el metabolismo de triglicéridos y el perfil de ácidos grasos en el hígado de ratas alimentadas con dietas normo e hipercalóricas**

Razzeto, G. S. • Lucero López, V. R. • Marra, C. A. • Scardapane, L. A. • Escudero, N. L. • Gimenez, M.S.  
IMIBIOSL, INIBIOLP CONICET, Universidad Nacional de San Luis.

Se estudian los efectos de la sustitución de caseína por harina de soja sobre el metabolismo de triglicéridos y el perfil de ácidos grasos en hígado de ratas que fueron alimentadas previamente con dietas hipercalóricas (34,15 % de sacarosa, 42 % de calorías provenientes de grasa) y normocalórica (AIN 93) durante 9 semanas. Luego, cada grupo fue dividido en dos subgrupos y la caseína se reemplazó por soja en uno de ellos, obteniéndose: CC (control caseína), CS (control soja), HC (hipercalórica caseína) y HS (hipercalórica soja), alimentándose de esta manera durante 6 semanas. La harina de soja redujo los depósitos de grasa con las dietas normocalóricas, disminuyendo mRNA de diacilglicerolaciltransferasa 2 y aumentando el de carnitina palmitoiltransferasa 1 y el de los receptores activados por proliferadores peroxisomales alfa. La harina de soja disminuyó los depósitos de triglicéridos hepáticos con dietas hipercalóricas, posiblemente a través de la reducción de la expresión de diacilglicerolaciltransferasa 2 y el aumento en la expresión de la apolipoproteína B, mostrando menor cantidad de gotas lipídicas que con caseína. Dietas con soja aumentaron el contenido de ácidos grasos insaturados con respecto a las dietas con caseína. Estos resultados sugieren que la sustitución de caseína por harina de soja en dietas normocalóricas e hipercalóricas atenúa el metabolismo de los lípidos en hígado de rata.

---

**C28 • Efectos de la semilla de *Salvia Hispanica* L (chía) sobre alteraciones bioquímicas metabólicas del músculo cardiaco en un modelo de dislipemia y resistencia insulínica**

Creus, A. • Chicco, A. • Alfaro, N. • Lombardo, Y. B.

Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas relacionadas con la nutrición. FBCB-UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

Objetivo: El desarrollo de la enfermedad cardiovascular está asociado a la presencia de factores de riesgo tales como diabetes tipo 2, dislipemia, hipertensión arterial y obesidad. A nivel experimental (rata) se ha demostrado que la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados n-3, mejora la dislipemia y la resistencia insulínica. En este trabajo analizamos los efectos de la ingesta de semilla de Chía, rica en ácido  $\alpha$  linolénico (18:3 n-3, ALA) sobre las alteraciones bioquímicas metabólicas presentes en el músculo cardíaco en ratas dislipémicas insulino resistentes, inducidas por la ingesta de una dieta rica en sacarosa (DRS). Metodología: Ratas macho Wistar de 180 g recibieron durante 3 meses DRS (%energía: 60 sacarosa, 23 aceite de maíz (AM), 17 proteína). Al cabo de éste tiempo, la mitad de los animales recibió DRS en la cual la semilla de Chía sustituyó al aceite de maíz como fuente de grasa dietaria (DRS+Chía), durante 3 meses adicionales. El grupo control consumió dieta control durante toda la experiencia. Se determinó presión arterial y se analizó el contenido lipídico y algunos aspectos de la vía oxidativa y no oxidativa de la glucosa. Resultados: Los resultados obtenidos demuestran que la administración de semilla de Chía 1) Mejoró la dislipemia y homeostasis de la glucosa ( $p < 0,05$ ); 2) Redujo la hipertensión arterial ( $p < 0,05$ ). En músculo cardíaco 1) Disminuyó el contenido de triglicéridos, ácidos grasos de cadena larga y diacilglicerol ( $p < 0,05$ ); 2) Normalizó el contenido de glucógeno y la

actividad de la enzima piruvato dehidrogenasa ( $p < 0,05$ ). Nuestros resultados sugieren que la semilla de Chía dietaria mejora/normaliza las alteraciones bioquímicas-metabólicas del músculo cardíaco en este modelo experimental.

---

**C29 • Efecto de la semilla de chia dietaria (*Salvia Hispánica* L) rica en ácido  $\alpha$ -linolénico sobre la disfunción del tejido adiposo (TA) en ratas dislipémicas insulino resistentes**

Ferreira, M. R. • Lombardo, Y. B. • Chicco, A. Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas Relacionadas con la Nutrición. FBCB-UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

La semilla de chia (*Salvia hispánica* L, variedad Salba) rica en ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3, ALA), es capaz de mejorar la dislipidemia, insulino resistencia (IR) y adiposidad visceral inducidas por administración de una dieta rica en sacarosa (DRS) a ratas normales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar si la semilla de chia puede mejorar o revertir: a) los cambios morfológicos y b) las alteraciones metabólicas (lipólisis, efecto antilipolítico de la insulina y actividad de enzimas lipogénicas) presentes en el TA de ratas alimentadas con DRS. Ratas Wistar recibieron durante 3 meses DRS (%energía: 60 sacarosa, 23 aceite de maíz — AM—, 17 proteína). Al cabo de ese tiempo, la mitad de los animales continuó consumiendo DRS (hasta los 6 meses) mientras que en la otra mitad el AM fue reemplazado por semilla de chia durante 3 meses adicionales (SRD+chia). El grupo control consumió dieta control durante toda la experiencia. Se determinó en plasma: niveles

de Triglicéridos (Tg), AGNE, glucosa, insulina; y en adipocitos aislados y TA epididimal: los parámetros mencionados en a) y b). El reemplazo de AM por semilla de chía en la DRS: a) normalizó: 1- niveles de glucemia, Tg y AGNE ( $p < 0,05$ ); 2- lipólisis basal y estimulada y el efecto antilipolítico de la insulina ( $p < 0,05$ ); b) redujo la adiposidad visceral, disminuyendo la hipertrofia de los adipocitos ( $p < 0,01$ ) mejorando la alterada distribución celular; c) En TA normalizó/mejóro: las actividades de las enzimas lipogénicas sintetasa de ácidos grasos glucosa-6-P dehidrogenasa, acetil-CoA carboxilasa y enzima málica ( $p < 0,05$ ). Estos resultados aportan nuevos datos sobre el efecto beneficioso de la semilla de chia dietaria sobre aspectos metabólicos y morfológicos asociados a la disfunción del TA.

---

### **C30 • Interacción entre la ingesta de ácidos grasos *trans* y diferentes aceites comestibles en el perfil de ácidos grasos tisulares en ratón**

Saín, J. • González, M. • Lavandera, J. • Bernal, C.

Cátedra de Bromatología y Nutrición, Dpto. de Cs. Biológicas, FBCB-UNL, Santa Fe.

Los efectos asociados a la ingesta de ácidos grasos *trans* (AGt) podrían estar relacionados, entre otros, al tipo de isómero *trans* y a la proporción de ácidos grasos (AG) n-3/n-6/n-9 presentes en la dieta. El objetivo de este trabajo fue investigar la influencia de los diferentes AG insaturados en el contenido y retención de AGt y en la conversión de ácido vaccénico (AV) a ácido ruménico (AR) en diferentes tejidos de ratón. Además, evaluamos el flujo a través de las principa-

les enzimas involucradas en la biosíntesis de AG y la potencial alteración de la composición tisular de AG inducida por los AGt. Para esto, ratones CF1 macho (22 g) fueron alimentados durante 30 días con dietas que contenían diferente fuente de grasa dietaria (70g grasa/kg de dieta): aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de canola adicionadas o no con 20g de aceite vegetal parcialmente hidrogenado /kg de dieta (n=6 por grupo). Se determinó por cromatografía gaseosa el perfil de AG en hígado, tejido adiposo epididimal, músculo gastrocnemius, cerebro y suero. Al analizar el perfil de los distintos tejidos pudo observarse que la retención de AGt y la bioconversión de AV a AR dependió del tipo de AG insaturado dietario. El aceite de oliva podría incrementar la biosíntesis de AR, aumentando el flujo a través de la enzima 9-desaturasa. La composición de AG de los tejidos fue escasamente modificada por los AGt. Este efecto podría ser debido a la elevada proporción de AV en la grasa hidrogenada y a la alta bioconversión a AR. Dado que la caracterización de AG presentes en el tejido podría ser determinante de los efectos biológicos de las grasas comestibles, este estudio podría contribuir a dilucidar algunos efectos controversiales asociados a la ingesta de AGt.

---

### **C31 • Programación fetal: efecto del aceite de pescado (PUFA N-3) en crías adultas de ratas alimentadas con dieta rica en sacarosa durante la preñez y lactancia**

Fortino, M. A. • Rodriguez, S. • Hein, G. J. • Chicco, A.

Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas Relacionadas con la Nutrición, FBCB-UNL, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

La administración de una dieta rica en sacarosa (DRS, 63 % p/p) a ratas durante la preñez y lactancia (P+L) induce alteraciones del metabolismo lipídico e hidrocarbonado en la descendencia adulta. Los ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) poseen un importante efecto beneficioso sobre el metabolismo lipídico, por lo que en el objetivo fue analizar si la administración postlactancia de una DRS cuya fuente grasa es aceite rico en PUFA puede modificar las alteraciones previamente descritas en la descendencia adulta. Materiales y métodos: Crías machos de madres alimentadas con DRS durante la P+L, fueron divididas al azar al destete en tres grupos y alimentados hasta los 150 días de vida con DC (dieta control pellet), DRS (fuente grasa aceite de maíz —AM— 6 %) y DRS+AHB (reemplazo por aceite de hígado de bacalao 5 % y AM 1 %), conformando los grupos: DRS–DC, DRS–DRS, DRS–DRS+AHB. Crías de madres alimentadas con DC durante P+L y que continúan con la misma dieta en la poslactancia fueron utilizados como controles (DC–DC). Los resultados en las crías a los 150 días de vida muestran: similar peso corporal y medidas antropométricas en todos los lotes aun cuando las crías de madres DRS presentaron menor peso al nacer; la adiposidad visceral y el contenido de triglicéridos plasmáticos, hepáticos y musculares solo alcanzan valores semejantes a los del grupo DC–DC cuando los PUFA están presente en la poslactancia (DRS–DRS+AHB). La glucemia es elevada en los lotes donde la DRS estuvo presente en cualquier estadio de vida. Conclusión: Los datos sugieren que mientras que las alteraciones del metabolismo lipídico inducidas durante la programación fetal pueden mejorarse en la adultez cuando los PUFA

están presentes en la dieta, la hiperglucemia no se modifica.

---

### **C32 • Células T98G de glioblastoma humano como modelo tumoral para analizar la función del reloj circadiano y el metabolismo de fosfolípidos**

Sosa–Alderete, L. G. • Monjes, N. • Chevallier–Boutell, I. • Guido, M.

Dpto. Química Biológica. FCQ. CIQUIBIC–CONICET, Universidad Nacional de Córdoba.

El sistema circadiano regula temporalmente diferentes procesos conductuales, fisiológicos y metabólicos y está conformado por osciladores centrales y periféricos distribuidos en diversos órganos, tejidos y aún en líneas celulares inmortalizadas. Los estudios en animales y evidencias epidemiológicas sugieren que la alteración de los ritmos circadianos a través de los efectos ambientales y genéticos puede conducir a enfermedades metabólicas tales como hiperlipidemia, hígado graso, obesidad y alta incidencia en desarrollo de cáncer. Los objetivos de este trabajo consistieron en evaluar si una línea celular inmortalizada de origen tumoral tal como la T98G, conserva funcional la maquinaria de expresión temporal de los genes reloj *Bmal1*, *Per1* y genes controlados por el reloj, como la *CK alfa1* y además analizar si la actividad de biosíntesis de fosfolípidos totales (FLs) presenta perfiles de variación temporal. Para ello, esta línea fue crecida durante 48–72 h. en DMEM suplementado con 10 % SFB. Luego de la sincronización con dexametasona (100 nM), las T98G se mantuvieron bajo condiciones proliferativas (P) o de arresto parcial (AP) durante 48 h.

Los resultados encontrados mostraron que los genes reloj *Bmal1* y *Per1* junto a la *CK alfa1*, conservan la expresión temporal bajo ambas condiciones de crecimiento (P y AP), con un período de 24–28 h.; en cuanto a la marcación metabólica de los FLs, también presentó un perfil de variación temporal con un período de 20 h. y bajo ambas condiciones de cultivo. Estos resultados sugieren que estas células tumorales bajo las condiciones experimentales estudiadas preservan el control temporal del reloj molecular y de la biosíntesis de PLs totales.

---

**C33 • Efectos del aceite esencial de *Lippia Alba* quimiotipo tagetenona sobre la vía del mevalonato y la síntesis de fosfolípidos en células tumorales humanas**

Montero Villegas, S.<sup>1</sup> • Rodenak Kladniew, B.<sup>1</sup> • Castro, A.<sup>1</sup> • Galle, M.<sup>1</sup> • Ciccio Alberti, J. F.<sup>2</sup> • Crespo, R.<sup>1</sup> • Polo, M. P.<sup>1</sup> • García de Bravo, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INIBIOLP (UNLP–CONICET CCT La Plata) Fac. de Cs. Médicas, La Plata. <sup>2</sup> CIPRONA, Universidad de Costa Rica.

*Lippia alba* (Miller) N.E. Brown es un arbusto aromático altamente utilizado en medicina popular. Su aceite esencial (AE) tiene una gran cantidad y variedad de monoterpenos (Mts). Diversos Mts han demostrado inhibir la proliferación en células tumorales tanto *in vitro* como *in vivo*. Este evento, así como el potencial efecto hipolipemiante, se asocian a la acción que los Mts ejercen sobre distintas vías metabólicas lipídicas. El objetivo del trabajo es analizar *in vitro* el efecto del AE de *L. alba* quimiotipo tagetenona (AELta) sobre la vía del mevalonato (VM) y la síntesis de fosfo-

lípidos, vías involucradas en la regulación de la proliferación celular y la apoptosis. Se utilizaron distintas dosis de AELta en ensayos con células HepG2 y A549. La proliferación celular se analizó mediante el test de MTT, Rojo Neutro y la técnica de exclusión de azul tripán. Se evaluó ciclo celular por citometría de flujo y la apoptosis mediante la técnica de TUNEL. La cantidad proteica de la enzima HMGCR se cuantificó por Western blot. Se evaluó la incorporación de <sup>14</sup>C–acetato en lípidos totales, insaponificables y fosfolípidos por medio de TLC en distintos sistemas de solventes. Se observó que AELta inhibe proliferación con arresto del ciclo celular en G0/G1 e induce apoptosis; disminuye la cantidad de HMGCR y produce una acumulación de intermediarios de la VM como escualeno, lanosterol y ubiquinona; inhibe la síntesis de fosfolípidos en especial la fosfatidilcolina. Estos resultados sugieren que AELta además de modular la HMGCR, inhibiría otras enzimas de la VM como las prenil transferasas y escualeno sintasa, así como la fosfocolina–citidil transferasa en la vía de Kennedy.

---

**C34 • Activación de la síntesis de fosfolípidos por c–FOS. implicancias en la proliferación de células de tumor de cerebro**

Prucca, C. G. • Velazquez, F. • Cardozo Gizzi, A. • Caputto, B. L.

CIQUIBIC (UNC–CONICET). Universidad Nacional de Córdoba. cprucca@fcq.unc.edu.ar

c–Fos pertenece a la familia de factores de transcripción AP–1. Nuestro laboratorio determinó que además de su función AP–1, esta proteína es capaz de asociarse a enzimas claves de la vía de síntesis de fosfo-

lípidos en el retículo endoplásmico (RE) y activarlas, aumentando el metabolismo de estos componentes esenciales de las membranas biológicas. Observamos además, que c-Fos se encuentra sobreexpresado en todos los tumores de cerebro examinados en contraste con lo observado en tejidos no patológicos donde su expresión es escasa o nula. El objetivo de este trabajo es el de diseñar y probar posibles mutantes negativas de c-Fos que presenten la capacidad de abolir la acción de c-Fos endógena en su función como activadora de la síntesis de fosfolípidos. El dominio NA de c-Fos (aminoácidos 1–138) presenta la capacidad de asociarse al RE pero no activa la síntesis de fosfolípidos. Hemos diseñado mutantes de delección que comprenden este dominio y hemos determinado que estas mutantes pueden reducir la tasa de proliferación celular. Más aun, ensayos de microscopia de FRET indican que el dominio NA es capaz de competir con c-Fos endógeno en la interacción con PI4KII $\alpha$ , una enzima clave involucrada en el metabolismo de polifosfoinosítidos. Continuamos los estudios utilizando diferentes versiones truncadas del dominio NA con el objetivo de determinar un buen candidato para ser utilizado como mutante negativa para bloquear la actividad no genómica de c-Fos en tumores de cerebro.

---

### **C35 • La expresión de GPAT2 en humano y ratón se encuentra regulada epigenéticamente**

García Fabiani, M. B. • Montanaro, M. • Cattáneo, E. • González Baró, M. R. • Pellon Maison, M.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

Las enzimas glicerol-3-fosfato aciltransferasas (GPAT) catalizan el primer paso y limitante en la síntesis de novo de glicerolípidos. Las GPAT 1, 3 y 4 están implicadas en el metabolismo lipídico y su expresión es prominente en tejidos asociados a tal función, en cambio GPAT2 se expresa en células de la línea espermática. Hemos demostrado que GPAT2 pertenece al grupo de los genes denominados “cáncer- testículo”, los que se expresan en células de la línea germinal en condiciones fisiológicas y aparecen sobreexpresados ectópicamente en células tumorales, donde contribuyen al fenotipo tumoral. En condiciones fisiológicas, GPAT2 se expresa en los espermatoцитos en paquiteno, mientras que los sucesivos estadíos de la meiosis no se observa transcripción del gen. En condiciones patológicas, la expresión de GPAT2 es frecuente en tumores de alto grado histológico. Con el objetivo de demostrar la posible regulación epigenética de la expresión del gen, se trataron células en cultivo humanas y murinas con el inhibidor de las metiltransferasas 5'-aza-desoxicitidina (DAC), y en ambos tipos celulares se observó un incremento de la transcripción. Asimismo, se analizó el efecto del inhibidor de la desacetilación Tricostan A y solo se observó sinergismo en células de ratón. Estos resultados correlacionan con los obtenidos al analizar el grado de metilación del promotor de Gpat2 post tratamiento del ADN genómico con bisulfito de sodio. Los resultados obtenidos indican que el grado de metilación del promotor del gen sería un importante mecanismo que regula su expresión tanto en condiciones fisiológicas como patológicas.

---

**C36 • Aislamiento y caracterización de proteínas que participan en la señalización mediada por PA Y DGPP en plantas**

Astorquiza, P. • Usorach, J. • Racagni, G. • Villasuso, A. L.

Departamento de Biología Molecular, FCEFQN, Universidad Nacional de Río Cuarto, X5804BYA, Río Cuarto. lvillasuso@exa.unrc.edu.ar

Antecedentes previos mostraron que las membranas celulares de las aleuronas de granos de cebada están constituidas por diferentes clases de lípidos; si bien la mayoría posee una función estructural, unos pocos participan en procesos de señalización. Al respecto, diacilglicerol pirofosfato (DGPP) y su precursor ácido fosfatídico (PA) emergieron en la última década como lípidos señales involucrados en la respuesta a la fitohormona ácido abscísico (ABA). Así, en respuesta a ABA se observaron cambios en las actividades de fosfolipasa D, fosfatidato quinasa y fosfatasa. Sin embargo, poco se sabe en torno al mecanismo que opera durante la señalización celular. Por lo tanto el objetivo del trabajo fue conocer la capacidad de PA y DGPP para unir proteínas durante eventos de señalización. Al respecto, PA y DGPP fueron inmovilizados sobre membranas de nitrocelulosa e incubados con un extracto de proteínas en presencia o ausencia de lípidos. Las proteínas unidas a la membrana fueron extraídas y resueltas por SDS-PAGE; las bandas que mostraron sus niveles disminuidos debido a la competencia con los lípidos fueron cortadas del gel y resueltas por espectrometría de masa. Al respecto, se logró identificar una proteína de aproximadamente 33kD. En experimentos *in silico* se determinó que la

misma corresponde a una gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa. La potencialidad del hallazgo será discutida en relación con la señalización de ABA.

---

**C37 • Effects of dietary chia oil on growth parameters in a syngenic murine model of breast adenocarcinoma**

Vara-Messler, M. E. • Pasqualini, M. E. • Comba, A. • Silva, R. A. • Eynard, A. R. • Valentich, M. A.

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA, CONICET-UNC), Biología Celular, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.

Background: Epidemiological data link  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) consumption to lower incidence of breast cancer (BC). *Chia* oil (ChO) is rich in  $\alpha$ -linolenic acid (ALA  $\omega$ -3), while corn oil (CO) is rich in linoleic acid (LA  $\omega$ -6). These PUFAs give rise to eicosanoid with opposite effects.  $\omega$ -3 PUFAs generate anti-inflammatory eicosanoids and reactive oxygen species (ROS), which could affect NF- $\kappa$ B, a transcription factors with a dual role in tumorigenesis. We aimed to study cellular processes activated by ChO diet on BC. Methods: BALB/c mice were fed with Chia Oil ( $\omega$ -3) or Corn Oil ( $\omega$ -6). Animals were inoculated with a mouse cell line (LM3) and tumor parameters were recorded. PUFAs incorporation into cell membranes was analyzed by GC, whereas eicosanoid production by HPLC. Western blot was performed to detect p-I $\kappa$ B $\alpha$ /I $\kappa$ B $\alpha$ , as an index of NF- $\kappa$ B activation. ROS release was evaluated by flow cytometry in cultured LM3 cells after treatment with LA or ALA. Results: Tumor incidence was higher in CO compared

with ChO-fed mice. Tumor weight, volume and metastasis number were lower, whereas tumor latency time was higher in ChO-fed mice ( $p < 0,05$ ). Cell membranes from ChO-fed mice showed a higher percentage of  $\omega$ -3 PUFAs compared with CO-fed mice and generated lower amounts of pro-inflammatory eicosanoids ( $p < 0,05$ ). NF- $\kappa$ B activation was higher in tumor from ChO group. Con-

sistently, ROS production was higher in LM3 cells when treated with ALA ( $p < 0,05$ ). Conclusion: ChO-diet shifted lipid mediator profile towards an anti-tumor and anti-inflammatory effect. ALA produced higher ROS amounts with respect to LA *in vitro*, consistent with increased NF- $\kappa$ B activation *in vivo*. Overall, these data support a potential beneficial role for  $\omega$ -3 PUFAs in BC treatment.