

2011 Octubre, 2(3): 1-1

“LA L-FABP MOVILIZA EL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO DESDE Y HACIA LAS GOTAS LÍPIDICAS NUCLEARES”

Layerenza JP¹, Lagrutta LC¹, Sisti MS¹, Ves-Losada A^{1,2}

¹INIBIOLP (CCT-La Plata, CONICET, UNLP); ²Dpto de Cs Biol. – Fac. de Cs. Exactas, UNLP

E-mail: jplayerenza@biol.unlp.edu.ar

Introducción

El núcleo es una estructura altamente dinámica formada por distintos compartimentos y dominios funcionales. En el núcleo, los lípidos se distribuyen en dos pools:

1) La Envoltura Nuclear, que concentra al 95% de los Lípidos Polares (PL) (GP: glicerofosfolípidos + SL: esfingolípidos) y Colesterol (C).

2) Las Gotas Lipídicas Nucleares (N-LD) constituídas por un core hidrofóbico de lípidos neutros (TAG, CE y C) rodeado por una monocapa de PL, C y proteínas. Las N-LD se visualizan mediante tinción con Sudán Red y BODIPY493/503. Hemos mostrado que los lípidos endonucleares poseen un metabolismo muy activo y podrían proveer ligandos endógenos al PPAR α , a otros factores de transcripción y/o ser metabolizados a prostaglandinas y leucotrienos.

Objetivos

Determinar el mecanismo de incorporación del ácido araquidónico desde el citosol al núcleo celular.

- Hipótesis de trabajo:
La L-FABP participa en la movilización del 20:4n-6 exógeno hacia los pools lipídicos nucleares y desde esos pools hacia el citosol.

Materiales y Métodos

- Aislamiento de núcleos: se aislaron a partir de homogenato de hígado de rata por el método de Blobel y Potter.
- Ensayos de incorporación de Ácidos Grasos:
En una primera etapa se marcaron los pools lipídicos con [1-¹⁴C] incubando núcleos aislados con [1-¹⁴C]20:4n-6 libre o unido a L-FABP, ATP y CoA.
En segunda instancia y para analizar la incorporación en N-LD, éstas fueron aisladas por ultracentrifugación en gradiente de sacarosa (técnica puesta a punto en el laboratorio) luego de incubar los núcleos con [1-¹⁴C]20:4n-6.
Finalmente, los [¹⁴C]lípidos se extrajeron por el método de Folch, se separaron por TLC y revelaron por autorradiografía.
- Distribución nuclear de la L-FABP exógena:
Núcleos aislados y preincubados con 20:4n-6 se incubaron con apoL-FABP, ATP y CoA, los núcleos se fijaron y se analizaron por inmunofluorescencia (anticuerpo primario anti L-FABP + anticuerpo secundario conjugado con ALEXA555). Las N-LD se tiñeron con BODIPY493/503 (marcador de lípidos neutros). Los núcleos se tiñeron con DAPI. Mediante microscopía confocal de fluorescencia se observaron los patrones de distribución tanto de la L-FABP como así también de las N-LD.

Resultados

El 20:4n-6 libre o ligado a L-FABP se incorpora y esterifica en los lípidos nucleares: (PL > FFA > TAG y PC > PE > PI > PS) por un mecanismo acil-CoA dependiente. La L-FABP moviliza el [1-¹⁴C]20:4n-6 desde el pool nuclear de FFA al de lípidos polares, con la mayor actividad específica en PI. La L-FABP moviliza el 20:4n-6 fuera del núcleo.

El [1-¹⁴C]20:4n-6 se incorpora en las N-LD como FFA y se esterifica en PL, TAG y CE. Dentro de la N-LD, la L-FABP moviliza 20:4n-6 desde FFA a PL y TAG.

La L-FABP exógena ingresa al núcleo, colocaliza con N-LD y además se distribuye en forma difusa y se concentra en focos intranucleares diferentes a las N-LD.

2011 Octubre, 2(3): 2-2

Conclusiones:

L-FABP estimula la movilización del 20:4n-6 nuclear. La L-FABP transportaría el 20:4n-6 a una acil-CoA sintetasa localizada en la matriz nuclear y luego a aquellas enzimas (acil-transferasas) responsables de su esterificación en los distintos pools lipídicos, en particular a los TAG de las N-LD, asimismo, llevaría 20:4n-6 desde estos pools hacia el citosol y otros compartimentos celulares.