

2014 Noviembre, 2(2): 1-1

EL SILENCIAMIENTO DE GPAT2 EN CÉLULAS MDA-MB-231 AFECTA EL REMODELADO DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

Cattaneo ER, Guijas C, Montanaro MA, Quiroga IY, Balsinde J, Pellon Maison M, Gonzalez Baró MR

¹ INIBIOLP, CONICET-Universidad Nacional de La Plata; ² IBGM, Universidad de Valladolid, España.

Introducción

La síntesis *de novo* de glicerolípidos en células de mamífero comienza con la acilación del glicerol-3-fosfato. Este paso está catalizado por la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT); hasta el momento se han clonado cuatro genes que codifican GPATs. La GPAT2, se clonó por homología de secuencia con GPAT1, sin embargo hemos demostrado que presenta características que la distinguen notablemente de las otras GPATs: se comporta como un antígeno cáncer/ testículo (expresión selectiva en testículo y en tumores de distintas localizaciones), presenta una expresión transitoria en un estadio particular de la meiosis y promueve el fenotipo tumoral incrementando la proliferación y supervivencia celular. Si bien los mecanismos mediante los cuales GPAT2 ejerce su rol funcional, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, no se han dilucidado, nuestros resultados previos indican que juega un rol relevante en el metabolismo del ácido araquidónico.

Objetivos

El objetivo de este trabajo es dilucidar el rol que cumple GPAT2 en el metabolismo de glicerolípidos y particularmente, en el metabolismo del ácido araquidónico.

Materiales y Métodos

Como modelo experimental se utilizó la línea celular comercial MDA-MB-231 derivada de carcinoma de mama. A partir de estas células se obtuvieron dos líneas clonales estables: una línea control que expresa un siRNA scramble (Scr-MDA) y una línea con nuestro gen de interés silenciado, ya que expresa un siRNA contra el mRNA de GPAT2 (sh-MDA). El silenciamiento fue corroborado por qPCR. Estas líneas celulares fueron incubadas con araquidonato de sodio (20:4) exógeno 50 μ M durante tres días, tras lo cual se extrajeron los lípidos totales, se separaron los fosfolípidos (PL) y triacilglicéridos (TAG) mediante TLC, y se analizó la composición en ácidos grasos de estas fracciones luego de la transesterificación y análisis de ésteres metílicos mediante GLC. Asimismo, se analizaron mediante HPLC/MS/MS, las especies moleculares endógenas de PL que contienen 20:4 y el flujo metabololipídico de este ácido graso mediante incubación con [²H]-20:4 durante 30 minutos. La actividad fosfolipasa calcio independiente se midió incubando homogenatos de las células sh-MDA y scr-MDA con [¹⁴C] dipalmitoilfosfatidilcolina, y midiendo la formación de productos mediante TLC.

Resultados

Tras la incubación con 20:4 exógeno 50 μ M durante 3 días, se observó que las células sh-MDA presentan un mayor contenido de este ácido graso tanto en PL como en TAG que las células control scr-MDA (13.6% vs. 6.8% y 13% vs. 3 % respectivamente). Asimismo, se observó que las células silenciadas (sh-GPAT2) presentan un mayor contenido de especies moleculares de fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE) que contienen 20:4 y un menor contenido de (18:1/20:4)-fosfatidilinositol (PI) y (18:2/20:4) PI, en comparación con las células control (scr-MDA). La incubación con [²H]-20:4 demostró que la incorporación de este ácido graso en PC es mayor en células silenciadas mientras que la incorporación en la especie molecular (18:0/ ²H 20:4)-PI fue menor. Asimismo, se determinó la actividad fosfolipasa y se pudo demostrar que fue 50% menor en las células sh-MDA.

Conclusión

Estos resultados sugieren una nueva actividad enzimática para GPAT2.

Fecha de Recibido: 04-10-14

Fecha de Publicación: 1-11-14