



XXII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CM-044 (ID: 66)

Autor: Melana Colavita, Juan Pablo

Título: Evaluación del perfil lipídico y expresión de estearoil CoA desaturasa-1 en células de carcinoma renal

Director:

Palabras clave: Cancer, Lipidómica, Cultivos celulares tumorales

Área de Beca: Cs. De La Salud

Tipo Beca: Iniciación Tipo B

Periodo: 01/03/2015 al 01/04/2016

Lugar de trabajo: Facultad De Medicina

Proyecto: (12I008) Perfil metabólico y determinantes de progresión neoplásica en carcinoma renal humano a células claras: implementación de cultivos primarios para su estudio.

Resumen:

El carcinoma de células renales (CCR) constituye el cáncer urológico más letal. El subtipo más frecuente lo constituye el Carcinoma Renal de Células Claras (CRCC) con un 70-80% de todos los casos.

La denominación de "células claras" se debe a la morfología a nivel histológico por la acumulación de glucógeno y lípidos a nivel citoplasmático, consecuencia de la alteración del metabolismo normal para suplir la mayor demanda energética por parte de las células tumorales. Los lípidos son almacenados en forma de enormes gotas lipídicas (lipid droplets: LD).

Los compuestos lipídicos desempeñan un papel esencial en muchos procesos biológicos, incluyendo la formación de membranas plasmáticas y organelas, almacenamiento energético, síntesis de hormonas y transducción de señales. El conocimiento de los principales lípidos implicados en dichos procesos tumorales, permitirá establecer las enzimas sobre las cuales actuar para inhibir o reducir su actividad y por consiguiente detener la proliferación celular maligna.

Lo anteriormente mencionado pone en evidencia un posible blanco de acción terapéutica, como ser entre otras de las enzimas del metabolismo lipídico la Estearoil CoA Desaturasa-1 (SCD-1), responsable de la transformación de los ácidos grasos (FA) saturados (SFAs) en insaturados (MUFAs), los cuales juegan un rol fundamental en el desarrollo celular.

El objetivo del presente trabajo, fue analizar el contenido lipídico desde una perspectiva lipidómica y correlacionarlo con la expresión de la enzima SCD-1 en tejido renal distal normal y tumoral a partir de pacientes diagnosticados con CRCC.

Se analizaron 12 especímenes de resección de CRCC, obtenidos a partir del servicio de Urología del Hospital J.R. Vidal, siguiendo los requisitos establecidos en las normas Bioéticas Nacionales. Se obtuvo de cada paciente una muestra tumoral y una normal distal renal. Cada muestra fue fragmentada para realizar diferentes ensayos.

Los cultivos se desarrollaron en estufa con 5% de dióxido de carbono a 37°C durante un lapso de 10 días, para luego visualizar el contenido lipídico por tinción mediante Oil Red.

En las mismas muestras se determinó la expresión del gen de la enzima SCD-1 por retrotranscripción y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis lipidómico, utilizando previamente Cromatografía en capa delgada (TLC) para la separación de clases de lípidos y luego espectrometría de masas (MS) para la evaluación del perfil de los FA predominantes.

El análisis de la expresión génica de la B-actina y SCD-1, se llevó a cabo a través de electroforesis en gel de agarosa. Para el análisis lipidómico, los lípidos totales fueron extraídos con el método de Bligh & Dyer. Posteriormente, las clases de lípidos se separaron usando TLC en los siguientes grupos: fosfolípidos (PLs), triacilglicéridos (TAG) y ésteres de colesterol (CE), los cuales se analizaron por MS.

Las células tumorales en cultivos de pacientes con CRCC exhiben gran cantidad de LD con respecto a las células cultivadas de fracciones distales normales del mismo paciente. Asimismo, los resultados de RT-PCR permiten observar la sobreexpresión del transcrito de la enzima SCD-1 con respecto a las muestras controles, por lo que se infiere una mayor actividad lipogénica en procesos tumorales.

Por otro lado, el análisis preliminar de los resultados derivados de lipidómica con respecto a la composición de los FA de las muestras, revelan que en los casos de CRCC predominan elevadas concentraciones de ácido oleico y palmitoleico, componentes de gran importancia en la proliferación celular, derivados de la actividad de SCD-1 sobre los SFAs (esteárico y palmítico, respectivamente).

Adicionalmente, se puede observar que en las porciones tumorales existe un elevado contenido de ácido araquidónico, precursor de metabolitos involucrados en diversas etapas del proceso inflamatorio y potencial segundo mensajero.

Los datos precedentemente mostrados evidencian una notable diferencia en el contenido lipídico de las células de este tumor, presumiblemente debido a la acción incrementada de SCD-1, una de las enzimas implicadas, en el metabolismo lipídico descontrolado. Su elevada actividad aumenta consiguientemente las concentraciones intracelulares de ácido oleico, palmitoleico y

araquidónico.

La inhibición o regulación de esta enzima clave podría ser de potencial utilidad como blanco terapéutico para el tratamiento de esta enfermedad.