

2011 Octubre, 2(3): 1-1

## PROPIEDADES DE LA MEMBRANA Y VIABILIDAD CELULAR: IMPORTANCIA DE LA FLUIDEZ

Jaureguiberry MS, Tricerri MA, Montanaro MA, Finarelli GS, Sánchez SA, Rimoldi OJ.

INIBIOLP, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

E-mail: solejaure74@hotmail.com

### Introducción

Numerosos estudios sugieren que las vías de señalización y por ende la funcionalidad celular dependen de la organización de dominios en la membrana, que a su vez está determinada por la composición lipídica de la misma. El colesterol (Col) interviene en la regulación de la fluidez al particionar de manera selectiva en dominios específicos de la membrana, y se ha demostrado que su homeostasis es crucial para la viabilidad celular. Además, se sabe que el exceso de Col puede resultar citotóxico. Este lípido no puede ser degradado o utilizado como combustible, por lo que su exceso debe ser removido por aceptores o almacenado en compartimientos intracelulares. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y en particular su apolipoproteína mayoritaria, la apoA-I, cumplen un rol fundamental en el transporte reverso del Col, que consiste en transportar el excedente desde los tejidos periféricos hacia el hígado para su eliminación en forma de sales biliares, o para ser redirigido desde los hepatocitos hacia los tejidos esteroideogénicos.

### Objetivos

En base a estos antecedentes, nuestro objetivo fue alterar la composición lipídica de la membrana por sobreexpresión de las enzimas  $\Delta 5$  y  $\Delta 6$  desaturasas de ácidos grasos (FADS1 y FADS2 respectivamente), y analizar los efectos de dicha sobreexpresión sobre ciertos aspectos de la homeostasis del Col y la funcionalidad celular.

### Materiales y Métodos

Se transfectaron células CHO-K1 con los cDNA de los genes de las  $\Delta 5$  y  $\Delta 6$  desaturasas de ácidos grasos de rata, subclonados en vectores de expresión eucariotas (pcDNA3.1/hygro – pcDNA.31/geneticin). Se seleccionaron y expandieron clones resistentes a geneticina e higromicina. En la línea celular estable así generada (a la que denominamos células FADS) se confirmó el aumento de los mRNA correspondientes a las desaturasas por RT-PCR cuantitativa. Además, se analizó la composición lipídica de la membrana por cromatografía gas-líquido (GLC) y por cromatografía en capa delgada de alta resolución (HPTLC). La distribución de dominios se analizó por microscopía de fluorescencia de dos fotones. Asimismo, se observó el efecto de la sobrecarga y de la remoción de Col por apoA-I sobre diversos parámetros (almacenamiento intracelular de lípidos, fluidez de membrana, viabilidad celular).

### Resultados

La sobreexpresión de las desaturasas indujo un aumento de la relación de ácidos grasos poliinsaturados a monoinsaturados (PUFA/MUFA) en la membrana. Además se registró un menor contenido de Col y de esfingomielina, relativo a glicerofosfolípidos totales. En coincidencia con estas observaciones, apoA-I removió menos Col a partir de células FADS, y se registró un leve aumento de los depósitos intracelulares de ésteres de Col en estas células, con respecto al control. Asimismo, las observaciones por microscopía de dos fotones sugieren una mayor fluidez de membrana (mayor contenido acuoso) en las células transfectadas. Por otro lado, en condiciones basales las células FADS mostraron una mayor capacidad reductora mitocondrial, que se relaciona con una mayor viabilidad, aunque fueron igualmente susceptibles a la sobrecarga de Col que las células control.

### Conclusiones

Nuestros resultados sugieren que la composición lipídica de la membrana, y en particular el grado de insaturación de los ácidos grasos de los fosfolípidos de membrana, tienen un rol fundamental en la partición de Col en la misma y por ende en la organización lateral de dominios y la fluidez, de la cual dependen a su vez numerosas vías de señalización intracelular, afectando así diversos aspectos del metabolismo celular.