

RESÚMENES DE LAS COMUNICACIONES

PREMIO LEON CHERNY

001. (301) ROL CRÍTICO DE BRCA1 COMO REGULADOR TRANSCRIPCIONAL EN LA RESPUESTA AL DAÑO EN EL ADN EN EL CÁNCER DE PRÓSTATADe Luca P.¹; Zalazar F.²; Moiola C.³; Gueron G.⁴; Cotignola J.⁵; Vazquez E.⁶; De Siervi A.⁷*Laboratorio de Apoptosis y Cancer, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Uba^{1 2 3 4 5 6 7}**<paoladeluca81@yahoo.com.ar>*

La proteína co-reguladora de la transcripción, BRCA1, es fundamental en la modulación de la integridad genómica. Sin embargo, su función en la respuesta al daño al ADN está poco estudiada. El objetivo de este trabajo fue determinar el rol de BRCA1 en la respuesta al estrés genotóxico en células tumorales de próstata. Encontramos que la viabilidad de las células PC3 que sobre-expresan en forma estable la proteína BRCA1 disminuyó significativamente con respecto al control; con un concomitante incremento de la apoptosis y del porcentaje de células bloqueadas en fase S y G2/M. De este modo, el silenciamiento de la expresión de BRCA1 revirtió estos efectos. Identificamos nuevos genes blanco, involucrados en el ciclo celular y la respuesta al daño en el ADN, regulados por BRCA1: *BLM*, *FEN1*, *DDB2*, *H3F3B*, *BRCA2*, *CCNB2*, *GADD153* y *MAD2L1*. Focalizándonos en el factor de transcripción GADD153, comprobamos que BRCA1 se asocia al promotor de *GADD153* con mayor afinidad luego del daño en el ADN aumentando su transcripción. De este modo, determinamos que la sensibilidad a la doxorubicina inducida por BRCA1 es mediada por GADD153, ya que el silenciamiento de su expresión eliminó la inducción de la apoptosis y del porcentaje de células arrestadas provocada por la sobre-expresión de BRCA1. Tumores crecidos como xenógrafos derivados de las líneas estables PC3 con expresión o no de BRCA1, confirmaron nuestros hallazgos *in vivo*, revelando la función supresora tumoral de BRCA1 en cáncer de próstata.

Estos hallazgos definen un nuevo mecanismo a través del cual BRCA1 orquesta las decisiones celulares, en respuesta al estrés genotóxico, mediante el control transcripcional de GADD153. Clínicamente se puede predecir que los tumores de próstata con expresión de BRCA1 nula o reducida, serán más resistentes a la quimioterapia.

002. (391) 15-DEOXY- Δ 12,14 PGJ2 (15D), LIGANDO NATURAL DE PPARGAMMA, MODULA LA RESPUESTA INFLAMATORIA CARDÍACA Y EL PARASITISMO EN RATONES INFECTADOS CON TRYPANOSOMA CRUZIHovsepian E.¹; Penas F.²; Mirkin G.³; Bartrons R.⁴; Goren N.⁵*CEFYO CONICET^{1 2 5}; Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología Facultad de Medicina Uba³; Unitat de Bioquímica, Departament de Ciències Fisiològiques II, Campus de Ciències de la Salut, IDIBELL-Universitat de Barcelona⁴**eugehovsepian@yahoo.com.ar*

La infección por *Trypanosoma cruzi* (*Tc*) produce respuesta inflamatoria en diversos tejidos incluyendo al corazón. La resolución de la inflamación cardíaca y el control del parasitismo serían críticos en la evolución de la enfermedad de Chagas. Si bien 15d,

ligando natural de PPAR γ , fue implicado en la regulación de procesos inflamatorios, no se conoce su rol en esta enfermedad. Por ello, estudiamos los efectos de 15d sobre la respuesta inflamatoria en cultivos primarios de miocardiocitos de ratón infectados con la cepa RA de *Tc* (*rel* 1:5). Observamos mediante Western blot (Wb) y Q-RT-PCR (Q) que 15d (2uM) inhibe la expresión de óxido nítrico sintasa2 (NOS-2) y de metaloproteasas-2/9 (MMP-2/9) luego de la infección. Además 15d disminuye la liberación de NO (uM) (62 \pm 3%; p<0.05) y la actividad de MMPs analizada mediante zimografía (Z). Además, el tratamiento con 15d aumenta el número de parásitos intracelulares (*Tc*:3.4 \pm 0.32;*Tc*+15d:4.89 \pm 0.50;p<0.05). Al silenciar PPAR γ con ARN de interferencia, se revierte el efecto de 15d sobre expresión y actividad de NOS-2 (Wb,NO) y MMPs (Q,Z) y sobre el crecimiento intracelular de parásitos. Asimismo, demostramos mediante Wb la participación de Erk-MAPK y de NF-kB en los efectos de 15d. Estos resultados fueron confirmados en un modelo murino de infección con parásitos RA (1x10⁵ i.p.) observando que el tratamiento con 15d (1mg/Kg, i.p.) inhibe la expresión (Wb) y actividad (Z) de MMP-2 en suero (79 \pm 4%;p<0.05) y la expresión cardíaca de NOS-2 (Wb). Además, el tratamiento con 15d aumenta el número y tamaño de nidos de amastigotes en el corazón, la parasitemia (*Tc*:3.26x10⁶ \pm 0.32;*Tc*+15d:6.45x10⁶ \pm 0.50;p<0.05) y la mortalidad de ratones. También comprobamos que 15d inhibe la vía de NF-kB en el corazón de animales infectados mediante Wb y ensayos de movilidad electroforética (EMSA). Los resultados demuestran que 15d modula la inflamación cardíaca mediante vías dependientes de PPAR γ y a través de Erk-MAPK y NF-kB, luego de la infección con *Tc*.

003. (607) CARACTERIZACIÓN DE UN TRANSCRIPTO NOVEL DE CADHERINA EPITELIAL HUMANA Y EVIDENCIAS DE SU RELACIÓN CON CAMBIOS ASOCIADOS A LA PROGRESIÓN TUMORALLapyckyj L.¹; Matos M.²; Giustina S.³; Podhajcer O.⁴; Reventos J.⁵; Vázquez-Levin M.⁶*Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CO-NICET-Uba)^{1 2 3 6}; Instituto Leloir⁴; Unidad de Investigación de Hospital de Vall d'Hebron, Barcelona, España⁵*
lapyckyj@dna.uba.ar

Cadherina epitelial (cadE) es miembro fundador de las cadherinas y media la adhesión celular. **CadE** es un **supresor tumoral**; su disminución/ausencia se asocia a cambios (**Transición-Epitelio-Mesenquimal, EMT**) que facilitan invasión/metástasis. Nuestro grupo identificó un **ARNm novel de cadE humana** generado por "splicing" alternativo (SA). Se lo llamó **cadEvar** para distinguirlo del salvaje (**cadEWT**). Se caracterizó **cadEvar** y evaluó su asociación con la progresión tumoral: 1) El ARNm **cadEvar** presentó una delección que da un cambio del marco de lectura y una señal de stop prematura; **CadEvar** sería un producto secretorio 2) Por qPCR se encontraron valores bajos de expresión de **cadEvar/cadEWT** en células tumorales/no tumorales, excepto ciertos casos 3) **cadEvar** estaría bajo control de NMD, con acumulación del ARNm en células incUBAdas con actinomicina-D 4) La transfección transiente de **cadEvar** dio una forma secretoria de 94KDa 5) Las transfectantes estables MCF7-**cadEvar** presentaron niveles de **cadEvar** hasta 40 veces superiores y de **cadEWT** hasta 10000 veces menores. En el medio condicionado se vio la forma de 94 KDa. Los niveles de ARNm de β -catenina aumentaron y la proteína localizó en el citoplasma. La actina se organizó en fibras de estrés. Las células presentaron fenotipo fibroblástico y bajo

Se ha propuesto que compuestos trivalentes derivados del arsénico podrían ser utilizados en el tratamiento de neoplasias hematológicas y sólidas, como el cáncer de mama. Dado que un metabolito común de éstos es el arsenito, el objetivo de este trabajo fue determinar el posible mecanismo de acción del mismo. Se trataron las líneas humanas MCF-7 y ZR-75-1 (adenocarcinoma mamario) con arsenito de sodio (200 µM, As) por 2 h y luego 2 h adicionales sin tratamiento para evaluar su recuperación, comparándose los resultados con controles sin tratar (C; $p < 0,05$). Además, se calculó la correlación entre parámetros de estrés y muerte celular por el coeficiente de Spearman (CS). As indujo la síntesis de L-citrulina en ambas líneas: $177,8 \pm 24,6$ (ZR-75-1) y $329,2 \pm 29,0$ (MCF-7) comparados con C (100%), mientras que sólo en MCF-7 se observaron aún valores significativamente altos de nitritos (productos finales de la vía nitrosativa) tras la recuperación ($129,3 \pm 6,5\%$). El incremento de L-citrulina (indicador de formación de óxido nítrico) y la inhibición de α -glutamilttransferasa (indicador de la vía del glutatión) se asociaron con muerte celular en MCF-7 (CS=0,94 y CS=-0,83, respectivamente) y en ZR-75-1 (CS=0,60 y CS=-0,66, respectivamente). Este estrés de tipo nitrosativo afectó negativamente la capacidad reductora del citoplasma (CRC) tras la recuperación (MCF-7 CS=-0,60 y ZR-75-1 CS=-0,54), con MCF-7 mostrando un 60,64% de CRC respecto de ZR-75-1 bajo dicho tratamiento. De acuerdo a lo presentado, arsenito sódico tendría actividad citotóxica por inducción de estrés nitrosativo con compromiso de la defensa antioxidante en las líneas tumorales ZR-75-1 y MCF-7, siendo estas últimas más sensibles a dicho efecto deletéreo.

128. (55) GALECTINA-8 ENDÓGENA COMO MODULADOR DE LA ANGIOGÉNESIS.

Cárdenas Delgado V.¹; Nugnes L.²; Compagno D.³; Rabinovich G.⁴; Wolfenstein-todel C.⁵; Elola M.⁶
 Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas¹; Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas-CONICET.^{2 5 6}; Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.³; Laboratorio de Inmunopatología. Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET.⁴
 vmanuel_cd@yahoo.com.ar

Las galectinas son una familia de lectinas animales que comparten la especificidad de unión por β -galactósidos. Varios miembros de esta familia controlan procesos vinculados a la progresión del cáncer tales como la transformación celular y la metástasis. Habiendo previamente establecido el rol de galectina-8 (Gal-8) como agente promotor del desarrollo de vasos sanguíneos, nuestro interés se centró en: 1-Determinar el perfil de expresión de galectinas con demostrada actividad pro-angiogénica (Gal-1, -3 y -8) en la línea de células endoteliales BAEC. 2-Efectuar el silenciamiento de Gal-8 en células BAEC mediante la técnica de RNA de interferencia (siRNA). 3-Estudiar el fenotipo resultante del silenciamiento de Gal-8 endógena en células BAEC en cuanto a la angiogénesis *in vitro*. Los resultados del Western Blot demostraron la presencia de Gal-1 (14,5 kDa), Gal-3 (29 kDa) y 3 isoformas de Gal-8 (34, 36 y 38 kDa) en los extractos celulares. Los estudios de citometría de flujo confirmaron la presencia de Gal-3 y Gal-8 tanto en el compartimiento citoplasmático de las células BAEC como en su membrana. En contraste, Gal-1 se detectó solamente en el citoplasma. La inmunofluorescencia de las células BAEC permeabilizadas demostró la expresión de Gal-8 en el núcleo y en el citoplasma. Asimismo, Gal-1 y Gal-3 exhibieron un patrón de tinción similar al de Gal-8. Con respecto al estudio de funcionalidad *in vitro*, las células BAEC transfectadas con un siRNA específico para Gal-8 bovina y cultivadas sobre matrigel experimentaron una reducción significativa en la longitud de los túbulos capilares (Control= $100 \pm 15\%$ vs. Gal-8-siRNA_{48h}= $33 \pm 7\%$, $p < 0,01$) a las 48 hs post-transfección. Este hallazgo destaca la contribución de Gal-8 endógena al proceso de formación de túbulos capilares *in vitro*. En resumen, nuestros resultados revelan que las células endoteliales BAEC expresan un conjunto de galectinas pro-angiogénicas donde Gal-8 parece desempeñar un rol importante, previamente ignorado.

129. (555) ROL DE P300 EN LA PROGRESIÓN DEL CARCINOMA MAMARIO

Fermento M.¹; Buschiazzi M.²; Andrés N.³; Gandini N.⁴; Curino A.⁵; Facchinetti M.⁶
 Instituto de Investigaciones Bioquímicas Bahía Blanca CONICET CCT Bahía Blanca^{1 2 3 4 5 6}
 efermento@criba.edu.ar

Previamente hemos demostrado una fuerte expresión e inusual localización citoplasmática de el co-factor transcripcional p300 en tumores mamaros humanos. Por lo tanto, los objetivos del presente trabajo fueron estudiar la correlación entre la expresión citoplasmática de p300 y parámetros clínico-patológicos del paciente y evaluar su acción en la progresión tumoral. Para ello, se estudió la expresión de p300 mediante inmunohistoquímica en 70 carcinomas mamaros humanos. El p300 fue detectado exclusivamente en núcleo en las regiones histológicamente normales adyacentes al tumor mientras que en la zona tumoral se observó expresión citoplasmática en el 70% de los tumores ($p < 0,0001$). El estudio de supervivencia mostró una mayor sobrevida de pacientes cuyos tumores presentaban localización citoplasmática (LogRank test, $p < 0,0001$). La expresión citoplasmática de p300 se asoció significativamente con el T (TNM), observándose una disminución del T con el aumento de la expresión citoplasmática ($p < 0,05$). Inhibidores selectivos de p300 indujeron una disminución en la cantidad de células tanto en la línea LM3 como en cultivos primarios de tumores de un modelo animal ($p < 0,05$). Se observó por western-blot que la inhibición de p300 aumentaba los niveles de p21, manteniendo inalterados los niveles de ciclina D y E. En conclusión, los resultados obtenidos en biopsias humanas muestran que la localización de p300 en los tumores es mayormente citoplasmática y que esta inusual localización se asocia a una mejor sobrevida de los pacientes. Por otro lado, los tratamientos *in vitro* demuestran que inhibidores del p300 inducen una disminución en la proliferación/supervivencia celular en parte a través de un aumento de los niveles de p21. En conjunto, los resultados sugieren que el p300 podría estar favoreciendo la proliferación celular en carcinomas mamaros y que su inhibición ya sea farmacológica o por localización subcelular alterada podría estar ejerciendo efectos antitumorales.

130. (604) RELEVANCIA DEL CROMOSOMA 4 EN CARCINOMAS MAMARIOS MURINOS HORMONO INDEPENDIENTES INDUCIDOS POR PROGESTÁGENOS

Pampena M.¹; Lanari C.²; Fabris V.³
 IBYME^{1 2 3}
 betinapampena@gmail.com

El carcinoma mamario murino hormono dependiente (HD; C4-HD) inducido por acetato de medroxiprogesterona (MPA) presenta metafases con un número cromosómico diploide (ratón normal $2n=40$) y 4 translocaciones: una de ellas involucrando al cromosoma 4. Las variantes hormono independientes (HI), C4-HI y CC4-3-HI, surgieron a partir del tumor C4-HD, sin tratar con MPA, en eventos independientes. Pasajes tempranos (hasta 10 pasajes *in vivo*) del tumor CC4-3-HI, mostraron el mismo cariotipo que el tumor HD. Por otro lado, pasajes más avanzados del tumor C4-HI (mayores al 50) mostraron un cariotipo diferente al observado en el tumor HD, aunque todas las variantes estudiadas presentaran ganancia de la región próxima al centrómero del cromosoma 4. El objetivo del trabajo fue estudiar la evolución del cariotipo del tumor CC4-3-HI a través de sucesivos pasajes, e investigar la presencia de alteraciones del cromosoma 4 en otras variantes HI surgidas a partir del mismo tumor HD. Se analizaron metafases y núcleos en interfase obtenidos de cultivos primarios de diferentes tumores HI, por técnicas de bandeado G y de Hibridación *in situ* Fluorescente (FISH). Los resultados obtenidos muestran que la variante CC4-3-HI mantiene su número cromosómico en el rango diploide, y las mismas translocaciones después de 70 pasajes *in vivo*. Los resultados de FISH de otras variantes HI (C4-3-HI y C4-4-HI) revelaron una mayoría de células con 4 o más copias de la región cercana al centrómero del cromosoma 4, y con un número cromosómico en el rango triploide. Podemos concluir que