

<b>Carrera de Bioquímica</b> <b>Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS</b>
<b>Práctica de Investigación Bioquímica</b> (optativa)
<b>Código de la Materia:</b> 1150 <b>Carga horaria:</b> 50 h
<b>Profesor –Investigador :</b> María Marta Facchinetti <b>Asistente/Ayudante de docencia:</b> Gisela Giorgi
<b>Asignatura (s) Obligatoria (s)</b> Aprobada /Cursada(s): Aprobada
<b>Lugar de Trabajo:</b> Laboratorio de Fisiología Humana.
<b>Título del Proyecto de Investigación Acreditado:</b> “Estudio de los mecanismos a través de los cuales la hemoxigenasa-1 participa en la progresión del cáncer de mama (CM) y del carcinoma celular escamoso (CCE) y de su potencial como biomarcador” <b>Código Proyecto:</b> PICT 2019 -01436
<p><b>Resumen del Proyecto</b></p> <p>Los carcinomas mamarios (CM) son un grupo heterogéneo de entidades clínicas que presentan una gran variación molecular dificultando el diagnóstico y tratamiento. Por ello, es necesario hallar nuevos marcadores moleculares o blancos terapéuticos.</p> <p>Diversas vías moleculares se encuentran alteradas en el CM, entre ellas se ha identificado la disrupción del ciclo del hierro. Algunos estudios han demostrado que la reducción selectiva de hierro inhibe el crecimiento de las células cancerosas. Sin embargo, trabajos actuales han demostrado que el aumento de los niveles de hierro en las células tumorales reduce el crecimiento tumoral dado que induce el tipo de muerte celular mediada por hierro llamada ferroptosis. Por ello, la modulación de este biometal está siendo explorada en la actualidad como estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer. Diferentes perfiles de expresión de las proteínas que liberan hierro, como hemoxigenasa 1 (HO-1), o que importan hierro, como ZIP14, podrían generar distintas sensibilidades lo que explicaría la respuesta dual (reducción versus aumento) en el crecimiento de las células de CM.</p> <p>Este plan propone estudiar si la activación de HO-1 produce una modificación en la movilización del hierro que genera una mayor sensibilidad a la muerte celular por ferroptosis en células de CM.</p>
<p><b>Plan de trabajo:</b></p> <p>El carcinoma mamario (CM) es el cáncer de mayor incidencia, mortalidad y prevalencia entre las mujeres a nivel mundial. Este tipo de cáncer presenta una gran variación molecular inter- e intra-tumoral que dificulta la elección de estrategias terapéuticas adecuadas. Por ello, es necesario conocer cuáles son las desregulaciones moleculares presentes en las células de CM con el fin de identificar nuevos marcadores que ayuden en el diagnóstico y/o tratamiento. En los últimos años se han propuesto nuevas vías que tendrían un rol clave en la fisiopatología de este tipo de tumores y que podrían utilizarse como blancos terapéuticos, entre ellas las relacionadas con el metabolismo del hierro. Numerosas proteínas mantienen la homeostasis del hierro. El transportador de metales divalentes 1 (DMT1) y la proteína ZRT IRT like protein 14 (ZIP14) importan el hierro al interior celular. La expresión de ambos transportadores es regulada por los niveles celulares de hierro en el sentido que elevadas concentraciones de dicho metal aumentan la expresión de ZIP14 y disminuyen la de DMT1. Más recientemente se describió que los niveles de DMT1 también son controlados por hepcidina, el principal regulador celular y sistémico del equilibrio del hierro. Una vez que el hierro se encuentra en el interior celular, es almacenado en la proteína ferritina que limita la cantidad de hierro celular libre.</p> <p>El control del hierro celular es fundamental para la viabilidad celular dado que es un micronutriente esencial que participa en procesos celulares claves. En este sentido, se ha descrito que el aumento de los niveles de hierro en células de CM genera una mayor viabilidad celular. Sin embargo, trabajos recientes demuestran que el exceso de hierro podría asociarse con una menor viabilidad de las células tumorales de CM como consecuencia de una mayor muerte celular mediada por hierro, denominada ferroptosis. La ferroptosis, un proceso de muerte celular descrito en el año 2012, es causado por la acumulación de hierro que origina peroxidación lipídica, con la consecuente degradación de lípidos de la membrana celular. Por lo tanto, dilucidar el rol dual del exceso de hierro en CM ayudará a analizar el manejo de los niveles de hierro como posible aplicación terapéutica.</p> <p>La diferente reacción de las células tumorales frente al hierro podría estar vinculada a una sensibilidad variable a la ferroptosis, que podría deberse a los diferentes patrones de expresión de las proteínas que liberan, importan, exportan y regulan el hierro. En este sentido, recientemente se ha descrito que la activación de la enzima liberadora de hierro hemoxigenasa-1 (HO-1) indujo ferroptosis en una línea</p>

celular de CM, aunque no se describieron los mecanismos. La HO-1 es una enzima microsomal que cataliza la degradación del grupo hemo produciendo biliverdina, monóxido de carbono y hierro libre. Por lo tanto, dicha enzima está estrechamente vinculada con el control de los niveles celulares de hierro.

El OBJETIVO GENERAL de este plan es estudiar la participación de las proteínas reguladoras de la concentración celular de hierro en la muerte de células de CM que ocurre con la activación de HO-1, evaluando si se da a través de ferroptosis. Esta evaluación abarcará el estudio de modelos celulares y modelos animales con el fin de comprender tanto las regulaciones celulares como las sistémicas que podrían estar actuando sobre el control de la movilización del hierro en las células del cáncer de mama.

**Descripción de las Actividades a realizar :**

**1) Modelo celular:** Cultivo de la línea celular de cáncer de mama LM3. Tratamientos: Hierro, Hemina (activador de HO-1), Hierro + Hemina, DFO (quelante inhibidor de ferroptosis), DFO+Hierro, DFO+Hemina.

En estas células se estudiará:

- a) **Estudio de la viabilidad y proliferación celular:** mediante ensayo de exclusión del colorante violeta cristal.
- b) **Evaluación de peroxidación lipídica asociado a ferroptosis.** Medición de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).
- c) **Expresión de proteínas del metabolismo del hierro.** Inmunocitoquímica de ZIP14 y L-ferritina.

**2) Modelo Animal:** Se emplearán ratones Balb/C inyectado con células de cáncer de mama LM3, por vía subcutánea. Grupo 1: control, Grupo 2: tratados intratumoralmente con hemina, Grupo 3: tratados vía i.p. con hierro sacarato (dosis 600 mg/kg de peso), Grupo 4: tratados con hierro sacarato y hemina.

Los animales serán sacrificados y el tejido tumoral se recolectará y procesará para los siguientes estudios:

- a) Medición del tamaño tumoral.
- b) Medición de los niveles de hierro en el tumor.
- c) Estudios de la expresión de HO-1, ZIP14 y ferritina por inmunohistoquímica.

**Cuatrimestre:** Segundo cuatrimestre

**Cupo de alumnos:** 1

**Carga horaria semanal:** 5 hs.

**Modalidad de Evaluación:**

- Entrega de un informe con formato de trabajo científico
- Exposición Oral: Se realizará en presencia de todos los alumnos de la materia y los profesores respectivos y al menos un integrante de la CCB (hasta 15 minutos)