

# Bioquímica Avanzada

## Estudio de los Mecanismos moleculares involucrados en la fisiología tisular

### Objetivos particulares y parciales:

El presente curso tiene como finalidad comprender mecanismos celulares y moleculares relevantes en la fisiología tisular tanto en condiciones normales como patológicas. En una primera fase del curso orientamos la asignatura hacia el análisis de la modificación post-traducciona de proteínas, asociada particularmente a los procesos celulares y tisulares analizados en el resto del curso. A continuación, se analizan las causas y efectos del estrés oxidativo sobre la célula eucariota y sus consecuencias en tejidos normales y afectados por distintas patologías. Además, se analizan los mecanismos asociados a la apoptosis y las vías de señalización que regulan la misma, particularmente su modulación por el entorno extracelular. El objetivo del curso es que el alumno pueda contextualizar estos procesos en distintos ambientes tisulares sometidos a diferentes condiciones. Por lo tanto, se brindan elementos mínimos que le permitan comprender la importancia de los mencionados procesos en el desarrollo de enfermedades oncológicas e infecciosas. Este análisis incluye la descripción de la función de citoquinas, la matriz extracelular y moléculas de adhesión. A través de un abordaje dinámico e integrado, complementado con la implementación de técnicas básicas del laboratorio de biología molecular y celular, así como la lectura y el análisis de artículos de investigación relevantes, se brinda una formación básica y actualizada sobre los tópicos que se desarrollan en la asignatura.

### Horario:

Martes y Viernes 9 a 14h.

En esos horarios se llevan a cabo las clases teóricas y los seminarios o cada uno de los 4 trabajos prácticos.

### CLASES TEÓRICAS

Dra. Adali Pecci,

Dra. Marta Mazzetti,

Dra. María del Carmen Ríos de Molina,

Dra. Verónica García

Dra. Edith Kordon.

## **TRABAJOS PRACTICOS**

**1- PROTEINAS.** Se evalúa el anclaje de proteínas a membrana plasmática mediante tratamiento con detergentes y análisis por electroforesis nativa en presencia de tritón X-100.

**2- ESTRÉS OXIDATIVO.** Se evalúa el efecto protector de antioxidantes por extractos de algas utilizando una técnica de generación de estrés oxidativo en distintos tipos de membranas subcelulares. Posteriormente se analiza el daño a lípidos aplicando la técnica del TBARS para determinar la formación de los productos de peroxidación lipídica.

**3- APOPTOSIS.** Se analiza la actividad de caspasas en células cultivadas sometidas a estímulos de muerte, por análisis de quimio-luminiscencia.

**4- CITOQUINAS.** Se estudia el fenotipo de células mononucleares estimuladas mediante el análisis de receptores proteicos de superficie detectados por inmunomarcación utilizando anticuerpos monoclonales conjugados a fluorocromos. En las células identificadas, se analiza la expresión de citoquinas por marcación intracitoplasmática para citometría de flujo.

### **Forma de evaluación:**

Dos parciales teóricos que se aprueban con 5 (cinco) puntos.

La materia se promociona con un promedio de 7(siete) puntos y cada uno de los parciales deberá ser aprobado en su primera instancia (sin recuperatorio).

Se requerirá además la aprobación de los informes correspondientes a los trabajos prácticos y la participación en seminarios y monografías

En caso de alcanzar la promoción, la nota final resultará de la calificación de los parciales teóricos promediada por una nota de concepto que resultará del desempeño del alumno en los trabajos prácticos, seminarios y monografías

### **Coordinadoras 2012:**

Dra. Edith Kordon

Dra. Verónica García

### **PROGRAMA ANALITICO**

1. **Modificación covalente de proteínas:** Glicosilaciones; biosíntesis de proteínas glicosiladas y su regulación. Funciones biológicas de las glicoproteínas. Acilación: palmitoilación y miristoilación. Localización y funcionalidad de proteínas aciladas. Proteínas GPI. Prenilación. Interacciones mediadas por la prenilación. Ubiquitinaciones. Clivaje de proteínas. Transducción de señales disparadas por receptores de membrana.
2. **Movimiento de proteínas:** Chaperonas. Mecanismo de tránsito citoplasmático de proteínas englobadas en vesículas vs proteínas solubles. Movimiento intranuclear de factores. Técnicas de visualización. Transporte de proteínas de y hacia la mitocondria
3. **Especies reactivas:** Especies reactivas del Oxígeno y del Nitrógeno. Radicales libres. Producción de radicales libres en sistemas biológicos. Reacción con biomoléculas: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos.

4. **Antioxidantes:** Antioxidantes naturales hidrosolubles y liposolubles. Vitamina C y Vitamina E. El glutathion. Enzimas antioxidantes.
  
5. **Estrés oxidativo:** Estrés oxidativo por radiación. Daño celular y toxicidad mediada por radicales libres. Parámetros de estrés oxidativo. Estrés oxidativo y destino celular. Estrés oxidativo en enfermedades humanas.
  
6. **Apoptosis:** Vía intrínseca y extrínseca. Receptores que inician el proceso de muerte celular. Formación del complejo DISC y el Apoptosoma. La mitocondria y el proceso de apoptosis. Proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas. Caspasas. Rol de la apoptosis en el desarrollo y homeostasis tisular.
  
7. **Matriz extracelular y comunicación intercelular:** Composición de la matriz: proteínas fibrosas y proteoglicanos. Interacción de diferentes tipos celulares con la matriz. Moléculas de adhesión. Integrinas, selectinas, superfamilia de las inmunoglobulinas, sialomucinas, cadherinas. Rol de la matriz en el destino y supervivencia celular.
  
8. **Citoquinas y Quemoquinas:** los mensajeros intercelulares. Estructura. Nomenclatura y familias. Expresión de receptores en diferentes tipos celulares. Secreción de diferentes citoquinas por distintos tipos celulares. Mecanismo de acción de las citoquinas y quimoquinas en el tráfico celular.
  
9. **Extravasación leucocitaria e Inflamación.** Función de moléculas de adhesión, citoquinas y quemoquinas en el tráfico leucocitario y el proceso inflamatorio. Participación de estos factores durante procesos normales y patológicos.

#### **Bibliografía**

1. Free Radical Biology & Medicine 44 (2008) 1689–1699. Review Article: The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles. Ning Li, Tian Xia, Andre E. Nel.
2. International Journal of Cardiology 123 (2007) 43–49. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in chronic cardiopathy associated with Chagas' disease. Leonilda Banki

- Maçao, Danilo Wilhelm Filho, Roberto Coury Pedrosa, Aline Pereira, Patrícia Backes, Moacir Aloisio Torres, Tânia Silva Fröde.
3. *Journal of Plant Physiology* 166 (2009) 1982—1992. Oxidative stress-related responses at transcriptional and enzymatic levels alter exposure to Cd or Cu in a multipollution context. Karen Smeets, Kelly Opdenakker, Tony Remans, Suzy Van Sanden, Frank Van Belleghem, Brahim Semane, Nelen Horemans, Yves Guisez, Jaco Vangronsveld, Ann Cuypers.
  4. *Mutation Research* 674 (2009) 73–84. Mini review: Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. Lucia Migliorea, Fabio Coppedè.
  5. *Mutation Research* 674 (2009) 3–22. Minireview: Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à Tríos. Rodrigo Francoa, Roberto Sánchez-Oleab, Elsa M. Reyes-Reyesc, Mihalis. Panayiotidis.
  6. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* (2010) 20, 72e77. REVIEW: A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. E. Hopps, D. Noto, G. Caimi, M.R. Averna
  7. [Lehninger Principles of Biochemistry](#). Nelson y Cox, 5° edición, 2008.
  8. [Targeting protein lipidation in disease](#) Review Article. Marilyn D. Resh *Trends in Molecular Medicine* 18, (2012), 206-214.
  9. [Protein palmitoylation and subcellular trafficking](#) Review Article. Clara Aicart-Ramos, Ruth Ana Valero, Ignacio Rodriguez-Crespo. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1808, (2011), 2981-2994.
  10. Multisite protein modification and ntramolecular signalling. Xiang-Jiao Y *Oncogene* 24 (2005), 1653–1662.
  11. [Post-translational myristoylation: Fat matters in cellular life and death](#) Review Article. Dale D.O. Martin, Erwan Beauchamp, Luc G. Berthiaume. *Biochimie*, 93, (2011), 18-31.
  12. Optimal and consistent protein glycosylation in mammalian cell culture. Review Article. Patrick Hossler, Sarwat F Khattak, Zheng Jian Li. *Glycobiology*. 19, (2009), 936–949.
  13. *Introducción a la Inmunología Humana*. Fainboim-Geffner, 6ta edición, Editorial Panamericana, 2011.
  14. [Neurology of inherited glycosylation disorders](#) Review Article. Hudson H Freeze, Erik A Eklund, Bobby G Ng, Marc C Patterson. *The Lancet Neurology*, 11, (2012), 453-466.
  15. Multisite protein modification and ntramolecular signalling. Xiang-Jiao Y. *Oncogene* 24, (2005), 1653–1662.
  16. *Molecular Biology of the Cell*, 5th edition, 2008. Alberts et al.