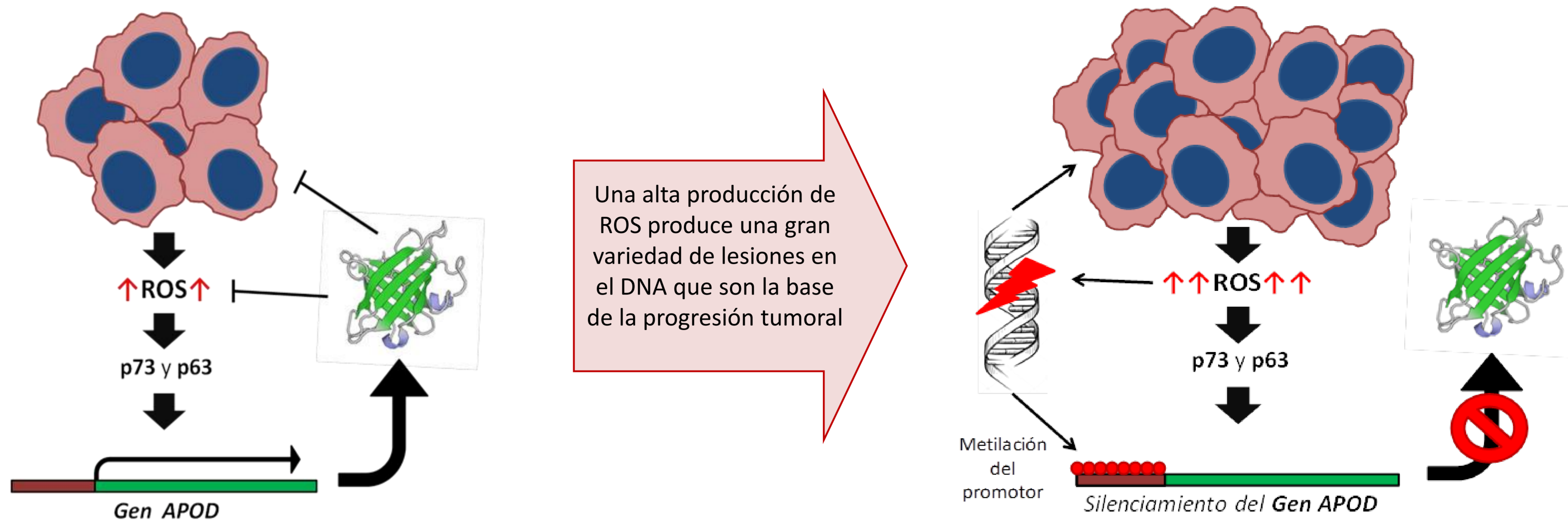


INTRODUCCIÓN

Las modificaciones epigenéticas son fundamentales para la diferenciación celular tanto en el periodo embrionario como en la edad adulta. Estas modificaciones incluyen la metilación del DNA y modificaciones en la acetilación de las histonas. La combinación de ambos fenómenos permite mantener un equilibrio en la expresión génica de nuestras células. Pero en ciertas ocasiones, como en la oncogénesis, este equilibrio se rompe, apareciendo represión en los genes supresores de tumores por medio de hipermetilación y una sobreexpresión de proto-oncogenes gracias a su hipometilación. Uno de estos genes que en el seno de los tejidos neoplásicos sufre una regulación a la baja es APOD, un gen que codifica para una lipocalina a la que se le atribuyen múltiples funciones antioxidantes y antiproliferativas.

La transcripción del gen **APOD** depende de **p73** y **p63**, ambos activados por la vía de señalización **JNK** en respuesta a la presencia de especies reactivas de oxígeno (**ROS**).



Una alta producción de ROS produce una gran variedad de lesiones en el DNA que son la base de la progresión tumoral

OBJETIVOS

1. ¿Cómo es la expresión génica de ApoD y su distribución intracelular en la línea celular de astrocitoma humano 1321N1?
1. ¿Qué efecto tiene el estrés oxidativo sobre la transcripción del gen APOD y la distribución intracelular de la proteína?
1. ¿Qué efecto tienen los agentes desmetilantes como el 2'-deoxy-5-azacytidine (DAC) sobre la transcripción de APOD en esta estirpe celular?

RESULTADOS

Distribución intracelular de ApoD. Influencia de las distintas condiciones experimentales

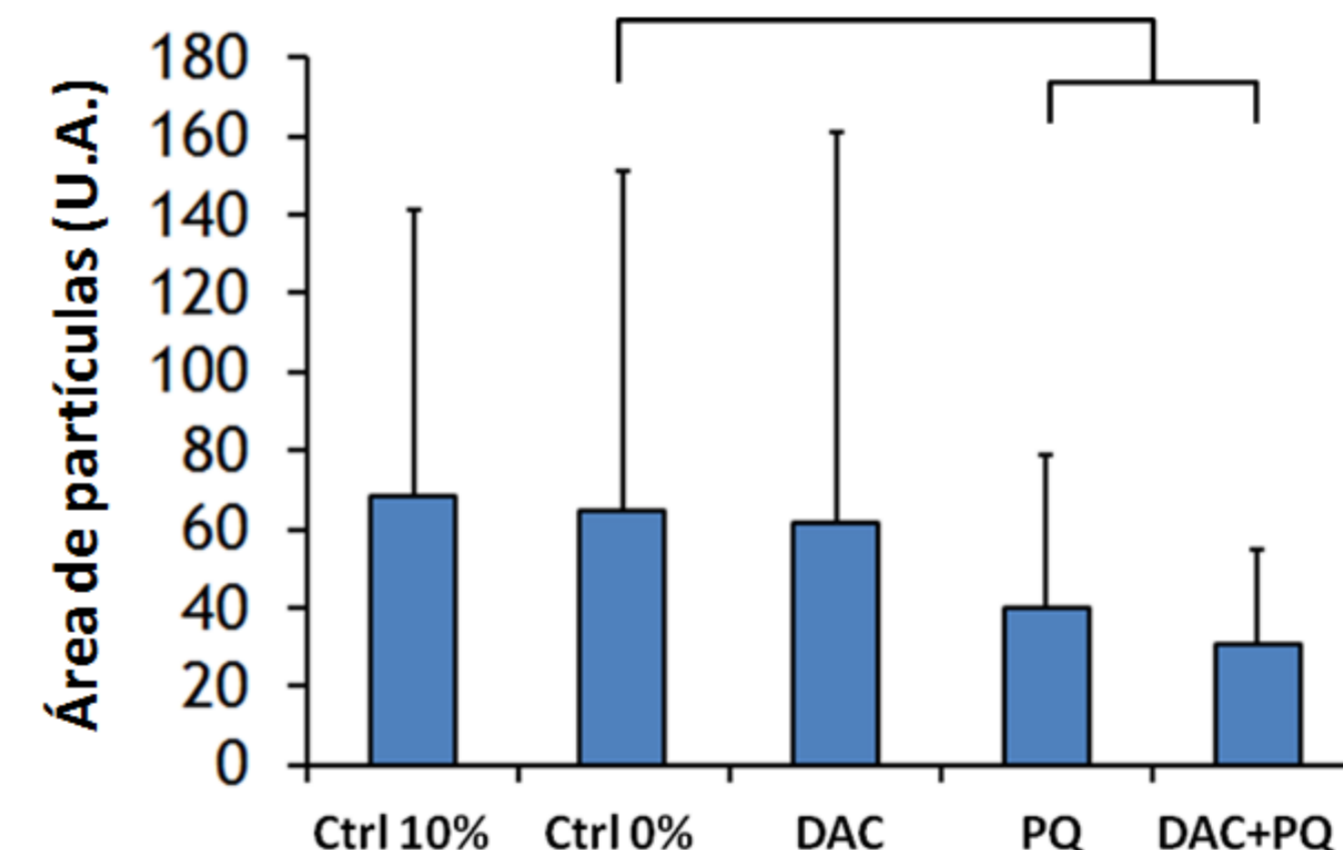
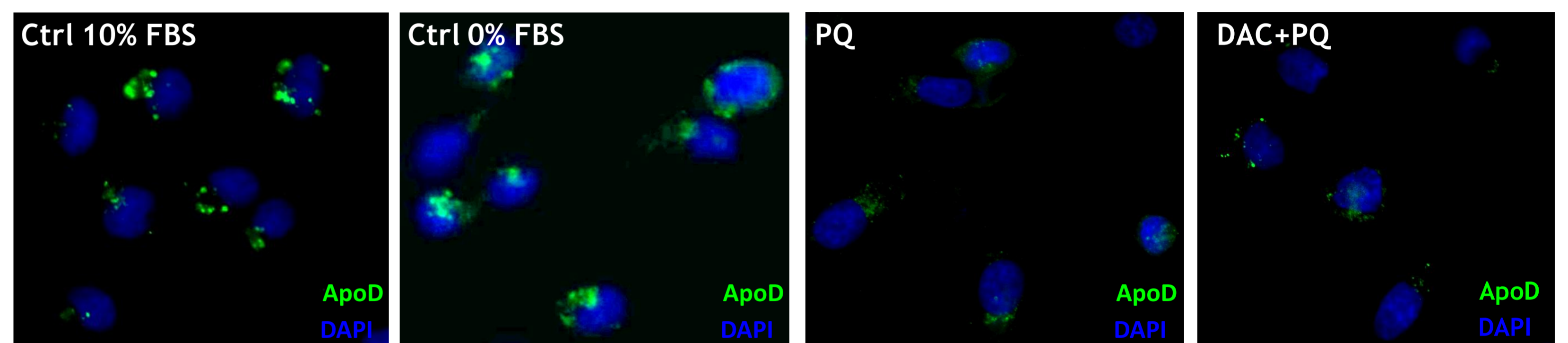


Gráfico que representa las medianas \pm DE de las áreas de las partículas ApoD-positivas. N=4 experimentos y se analizaron 45 campos de microscopía. Se han marcado con asteriscos las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

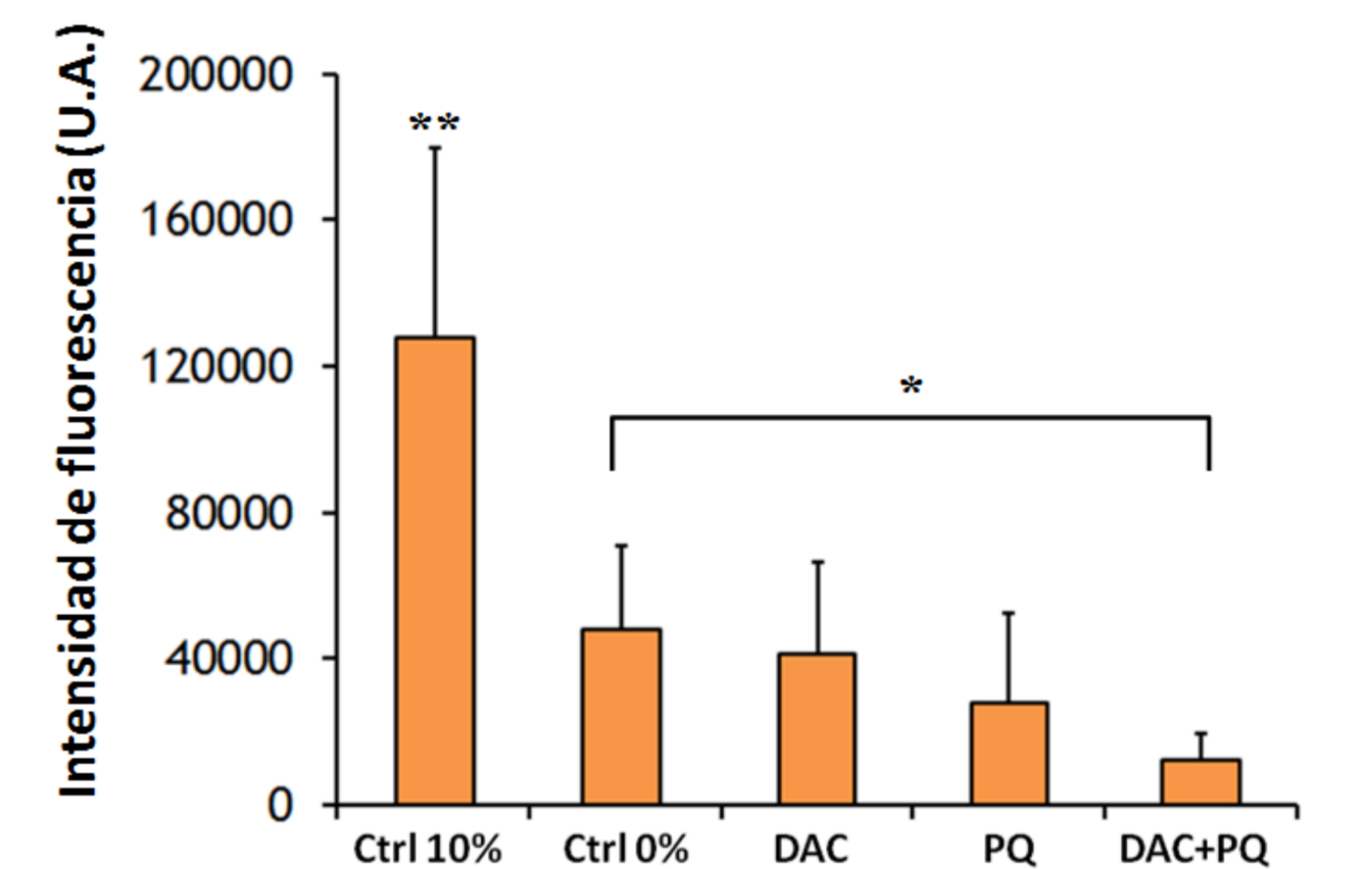
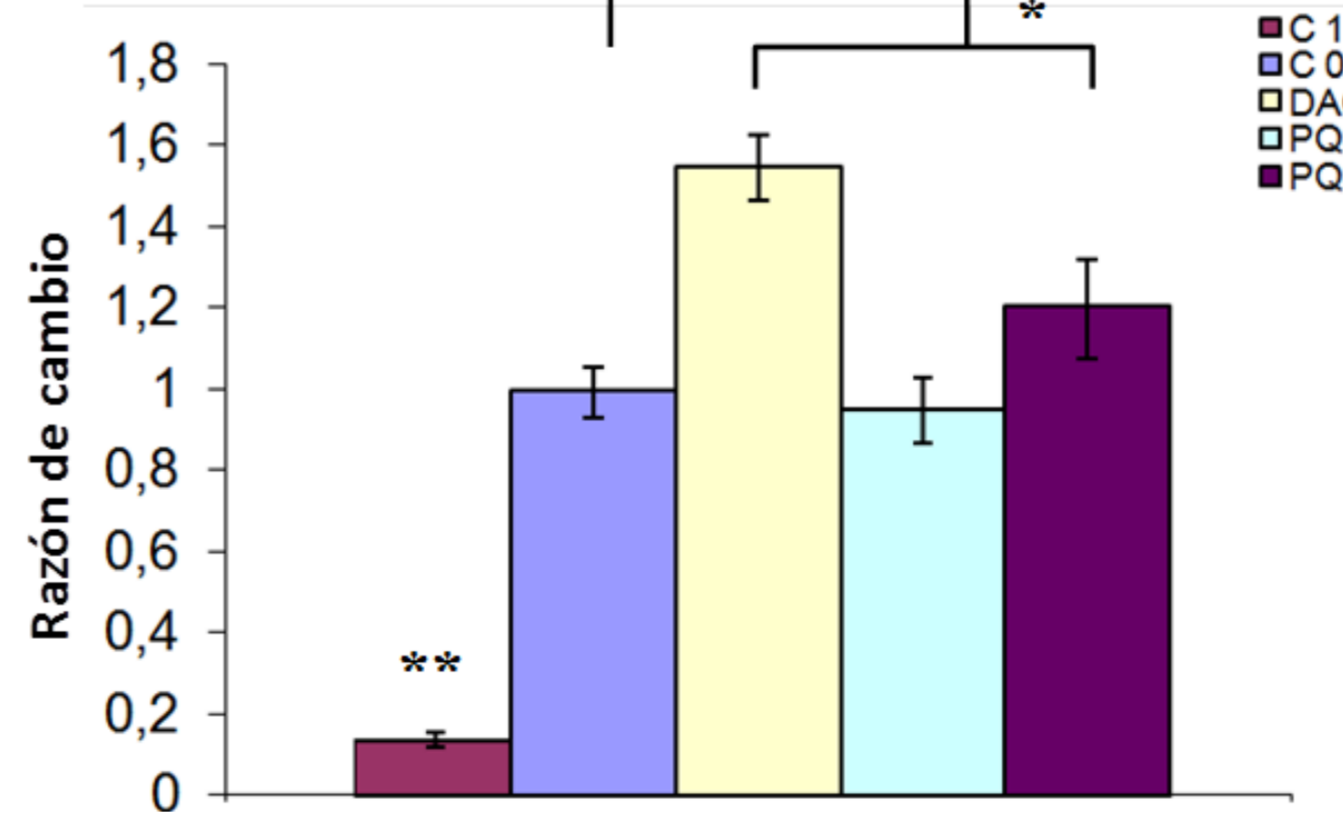


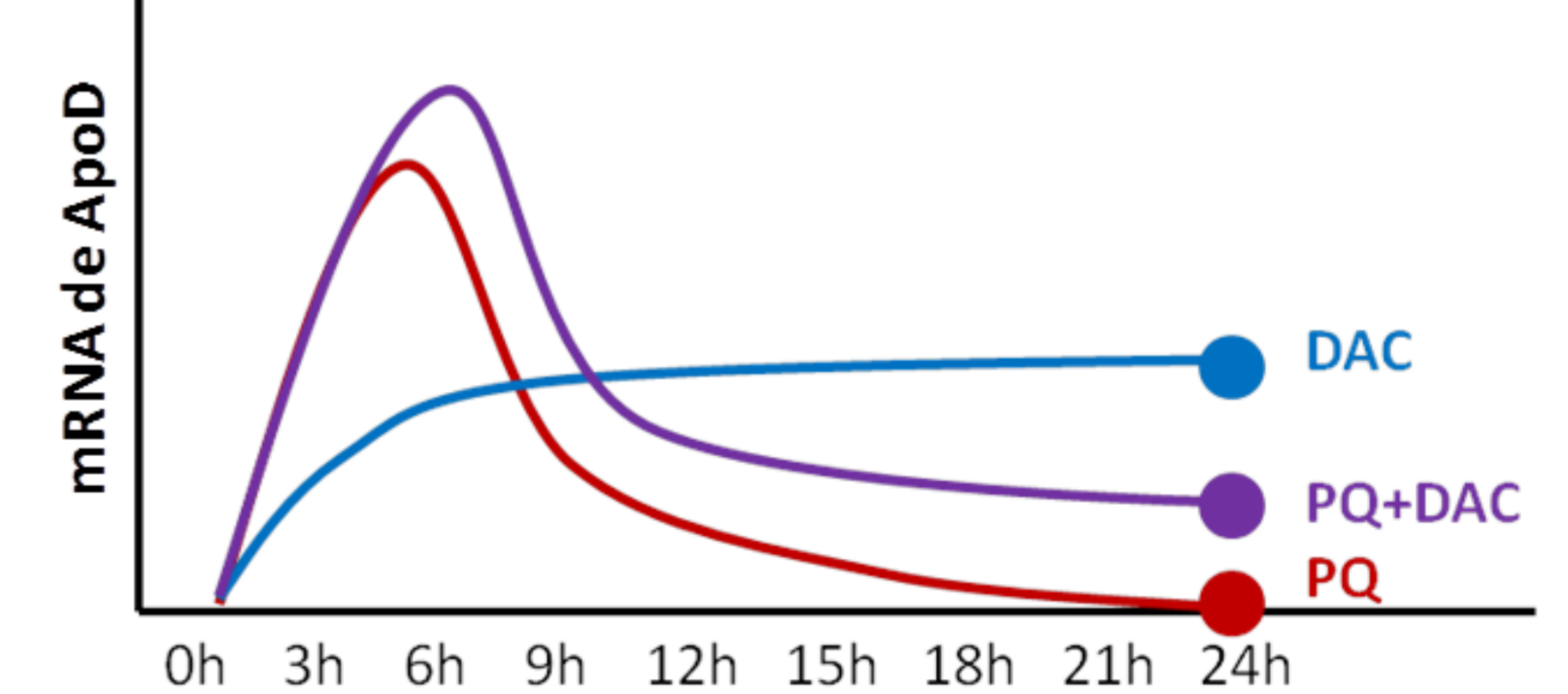
Gráfico que representa las medianas de las intensidades de fluorescencia de las partículas ApoD-positivas \pm DE. N=4 experimentos y se analizaron 45 campos de microscopía óptica. Se indican con asteriscos las diferencias estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Cambios en la transcripción de ApoD con las diferentes condiciones experimentales

Expresión de ApoD en 1321N1



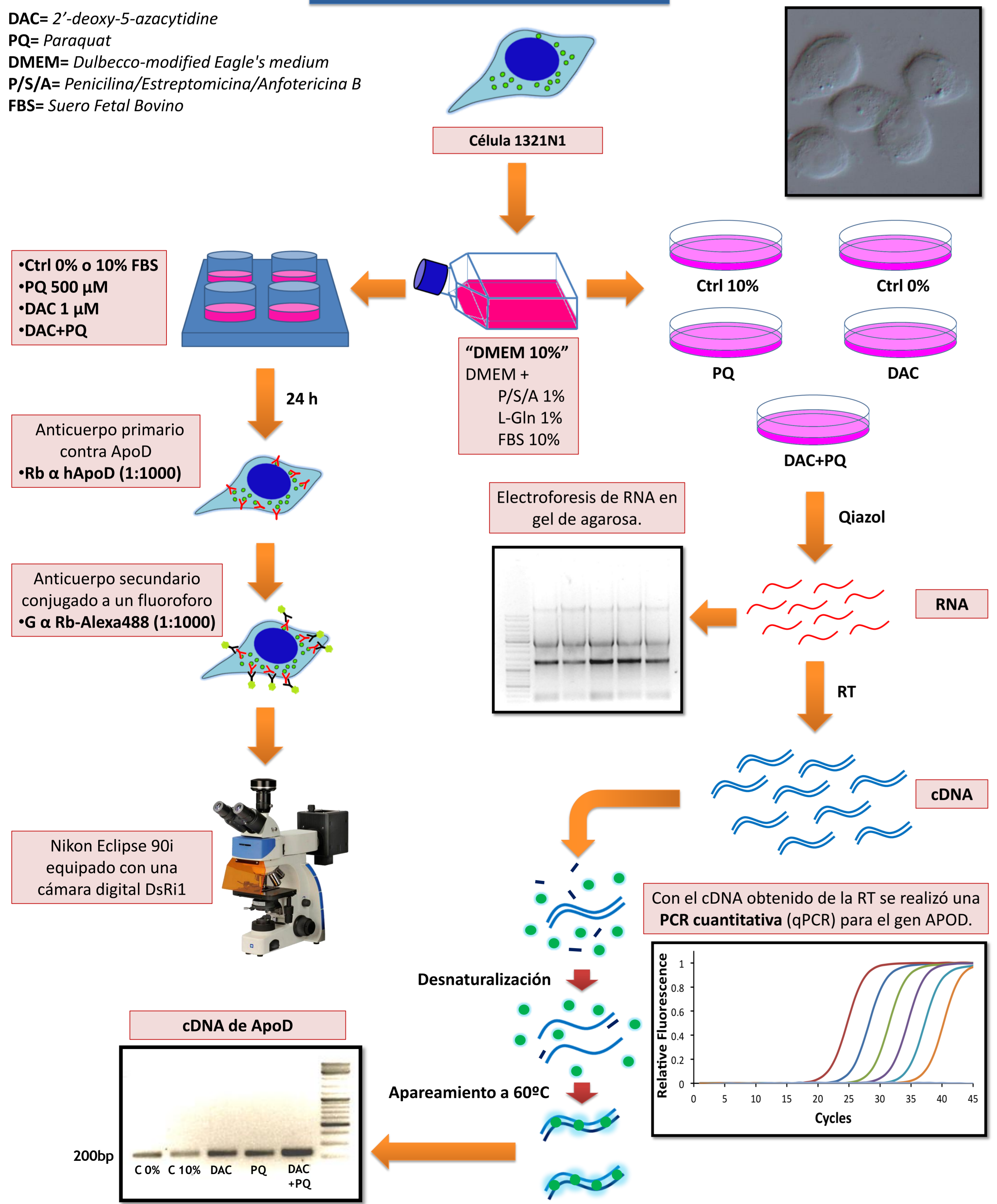
La gráfica representa la razón de cambio del mRNA entre las distintas condiciones experimentales a las 24h de haber instaurado los respectivos tratamientos. N=3 experimentos. Se representan mediante un asterisco las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).



El gen APOD es un gen de respuesta aguda ante el estrés, es decir, los niveles de mRNA de ApoD alcanzan un pico aproximado a las 6h del tratamiento con PQ (Bajo-Grañeras R, Glia 2011). Como la transcripción del gen se normaliza antes de las 24h, no observamos diferencias con respecto al control.

MATERIALES Y MÉTODOS

DAC= 2'-deoxy-5-azacytidine
PQ= Paraquat
DMEM= Dulbecco-modified Eagle's medium
P/S/A= Penicilina/Estreptomicina/Anfotericina B
FBS= Suero Fetal Bovino



CONCLUSIONES

1. En condiciones basales el gen de APOD se encuentra regulado a la baja por mecanismos epigenéticos.
2. El estrés oxidativo moviliza ApoD hacia organelas de menor tamaño, en especial hacia los lisosomas lesionados por ROS.
3. El ambiente pobre en nutrientes es un estímulo más para la transcripción del gen APOD y probablemente tenga que ver con el papel antiproliferativo de ApoD.