

# FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS LÍPIDOS NUCLEARES<sup>1</sup>

---

*Ves Losada, Ana<sup>2</sup>  
Layerenza, Juan Pablo<sup>3</sup>*

## Introducción

El núcleo es una de las características distintivas que define a las células eucariotas.

El núcleo es el principal reservorio genético de la célula eucariota, en su interior se llevan a cabo los procesos de replicación y transcripción entre otros.

El núcleo, el organoide más grande de las células eucariotas, está delimitado por la envoltura nuclear (EN), la cual se compone de una red de filamentos intermedios (lámina nuclear), y dos membranas, la membrana nuclear interna (MNI) y la externa (MNE), respectivamente. La MNI interacciona con la lámina a través de proteínas de unión (por ejemplo la LAP2) y la MNE presenta continuidad con

---

1 Los resultados que se presentan corresponden a secciones específicas de las publicaciones Layerenza JP y col BBA (2013) 1831: 327-340; y Lagrutta LC y col PLoS ONE (2017) 12(1): e0170608.

2 Licenciada en Ciencias Bioquímicas (orientación bioquímica clínica) y Dra. en Ciencias. Bioquímicas (orientación bioquímica clínica) de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesora de Biología en la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP). Investigadora del CONICET.

3 Licenciado en Bioquímicas y Dr. de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos de Ciencias Exactas en la Facultad de Ciencias Médicas (UNLP). Profesional Adjunto del CONICET.

el retículo endoplásmico (RE) rugoso; el espacio entre ambas membranas presenta continuidad con el lumen del RE (Hetzer, 2010).

La primera demostración de la existencia de lípidos (Chayen, Gahan y Cour, 1959) y los primeros reportes sobre lípidos neutros (LN) en el núcleo se remontan hacia fines de los '60 y principios de los '70; dichas investigaciones se realizaron junto con el desarrollo de los primeros protocolos para el aislamiento de núcleos. En esos años, investigaciones independientes de Kashnig (1969), Kleining (1970), Keenan (1970) y Khandwala (1971) en núcleos y membranas nucleares aislados de hígado de rata, cerdo y vaca, demostraron que en el núcleo había lípidos polares (LP) y neutros (LN: colesterol (C), ésteres de colesterol (CE) y triacilglicéridos (TAG). Posteriormente surgieron evidencias indirectas de la existencia de LN en el núcleo cuando se realizaron estudios de incorporación de ácidos grasos (AG) exógenos radiactivos (1988) *in vitro* y se encontró marcación radiactiva en LP y TAG. En los años siguientes las investigaciones se centraron en los LP y en el C nuclear.

## **Objetivos generales**

El objetivo general en los que se enmarcan estos resultados es determinar la función de los lípidos nucleares.

La información generada permitirá un mejor diagnóstico, pronóstico y/o tratamiento de patologías donde la homeostasis lipídica esté alterada. Permitirá establecer si los lípidos nucleares se relacionan y/o regulan como los citosólicos en condiciones normales y patológicas, e incorporarlos como blancos alternativos para los tratamientos de obesidad, diabetes, dislipemias, aterosclerosis y procesos neurodegenerativos.

## **Objetivos específicos e hipótesis de trabajo**

Determinar la composición, topología y propiedades fisicoquímicas de los lípidos del núcleo.

Proponer un modelo de organización espacial de los lípidos nucleares.

## **Hipótesis**

En el núcleo los LP y el C se encuentran mayoritariamente en la EN, mientras que en el interior nuclear se concentran los LN (C, CE y TAG).

Los LN nucleares se organizan en gotas lipídicas nucleares (nLD) similares a las citosólicas, formadas por un core hidrofóbico y rodeados por una monocapa lipoproteica.

## **Materiales y Métodos**

Toda la información respectiva se encuentra especificada y publicada en los respectivos trabajos (Layerenza *et al.*, 2013; Gaenor Jacobsen, 2019).

## **Resultados**

### ***Composición lipídica y contenido proteico de núcleos y matrices nucleares de células hepáticas***

Uno de los objetivos de este trabajo fue determinar la organización de los lípidos nucleares.

Como modelos experimentales, se trabajó con núcleos enteros y matrices nucleares (Mx) aislados de hígado de rata, mediante protocolos de fraccionamiento celular que se diseñaron en el laboratorio (Ves Losada y Brenner, 1995; Mate, Brenner y Ves Losada, 2006). Los lípidos nucleares que no se localizan en la doble membrana nuclear, que los denominamos lípidos endonucleares, se analizaron en las Matrices nucleares, que se obtuvieron eliminando las membranas con el detergente no iónico Tritón X-100 0.08 % (Layerenza *et al.*, 2013).

Por lo cual, el primer paso fue obtener la composición lipídica nuclear. Como se muestra en las Figuras 1 y 2, determinamos la compo-

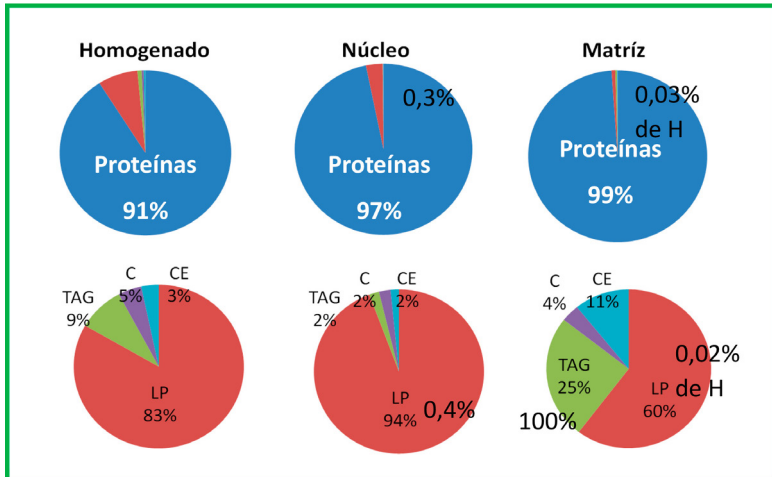
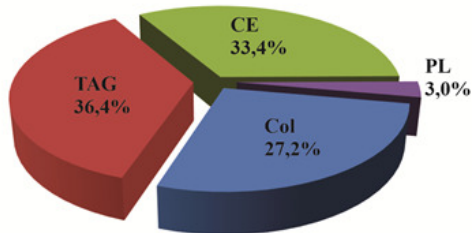


Figura 1. Composición lipídica y contenido proteico del homogenado Núcleo y Matriz nuclear de hígado de rata.

Las muestras fueron obtenidas a partir de hígado de rata. TAG: triacilgéridos; C: colesterol; CE: ester de colesterol;

LP: lípidos polares y H: Homogenado de hígado de rata. Resultados publicados en Layerenza y col. BBA 2013.

## Composición química de las nLD aisladas a partir de núcleo



Las nLD poseen, aproximadamente, partes iguales de Triglicéridos (TAG), Colesterol (Cho) y Ésteres de colesterol (CE), y un pequeño porcentaje de Fosfolípidos (PL).

Figura 2. Composición de las clases lipídicas de las nLD de hígado de rata. Las muestras fueron obtenidas a partir de hígado de rata. nLD: Gotas lipídicas nucleares, TAG: triacilgéridos; C: colesterol; CE: ester de colesterol; LP: lípidos polares, GPL: glicerofosfolípidos, SL: esfingolípidos. La figura fue adaptada del trabajo de Tesis doctoral del Dr. JP Layerenza (UNLP, 2013).

sición lipídica y el contenido proteico del homogenado, de los núcleos y de las matrices nucleares aisladas de hígado de rata.

Observando los datos de recuperación respecto del homogenado vemos que los lípidos y las proteínas nucleares representan una pequeña proporción del total celular con valores de 0,3 y 1 %, respectivamente (*Ibíd.*, 2013). Aún dentro de los componentes nucleares, los lípidos siguen conformando un grupo minoritario (3%) mientras que las proteínas en proporción dan cuenta del 97% restante. Cabe destacar que los ácidos nucleicos no fueron tenidos en cuenta para el cálculo.

Los lípidos nucleares están compuestos principalmente por lípidos polares (94%), los LN corresponden al 6% restante. Los PL nucleares tanto del núcleo entero como los de la matriz han sido caracterizados por tener tanto glicerofosfolípidos (GPL) como esfingofosfolípidos (SL) (Layerenza *et al.*, 2013). Los LN nucleares están compuestos por TAG, C y CE en las siguientes proporciones 22, 53 y 25%, respectivamente, Figura 1-2.

Los lípidos de la matriz nuclear, considerados como endonucleares (ya que la matriz se obtuvo eliminando la doble membrana nuclear con Tritón X-100), representan el 0,03% de los lípidos totales presentes en el homogenado de hígado. Los lípidos conforman el 1% de los componentes. En la matriz nuclear se localizan sólo el 6% de los lípidos nucleares ya que el resto corresponde a los componentes de la membrana nuclear. Los lípidos endonucleares están compuestos en un 60% por lípidos polares y un 40% por LN. Estos últimos están compuestos por TAG, C y CE en la siguiente proporción: 54, 17 y 29%, respectivamente (*Ibíd.*, 2013).

Es interesante observar que una gran proporción del CE (60%) y una baja del C (16%) son recuperadas en la matriz nuclear respecto del núcleo, esto se debe a que el C es un componente importante de la membrana nuclear que es removido durante la obtención de las matrices; mientras que el CE es altamente hidrofóbico y es excluido de las membranas con lo cual se aloja en dominios resistentes al Tritón X-100 dentro del núcleo.

Siguiendo el mismo razonamiento, para los TAG es lógico esperar un comportamiento análogo al CE y de hecho se recupera la totalidad en la matriz (117%). Hay que notar lo cuantitativamente pequeño que es el *pool* nuclear de TAG, representando tan sólo el 0,07% de los TAG totales del homogenado de hígado.

En conclusión, los lípidos nucleares se localizan en dos pools principales, la doble membrana nuclear compuesta de glicerofosfolípidos, esfingofosfolípidos y colesterol; y dentro del núcleo, los lípidos endonucleares están enriquecidos en TAG y CE.

### **Composición y localización de los ácidos grasos nucleares**

En la Figura 3 se representa la proporción de AG esterificada en cada clase de lípidos nucleares y endonucleares. Estos datos se calcularon a partir de la composición lipídica del núcleo y de la matriz nuclear (Layerenza *et al.*, 2013) y considerando que los GPL, SL, TAG y CE poseen 2, 1, 3 y 1 AG esterificado, respectivamente.

En el núcleo el principal *pool* de AG lo constituyen los LP, y en particular los GPL: fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilinositol (PI) en orden decreciente, que son los principales componentes de la EN (compuesta por LP y C) y como ya se presentara en la Figura 1; representan el 96 % de los lípidos nucleares; y en menor proporción fosfatidilserina (PS) y esfingomielina (SM) y los LN: TAG y C.

En el interior nuclear los principales *pools* de AG están constituidos mayoritariamente por TAG y PC y en mucha menor proporción por el resto de los LP (PE, PI, PS y SM) y los CE.

En el núcleo los lípidos se encuentran en dos *pools* contrastantes, la EN constituida mayoritariamente por LP y C y PUFA, y en la matriz nuclear por LN (TAG y CE) enriquecidos en AG saturados y AG monoenoicos (MUFA). Como se observa en la Tabla 1, los principales AG esterificados en LP son 20:4n-6 (ácido araquidónico) y 18:0 (ácido esteárico); por otro lado, entre los LN (TAG y CE) los principales AG son 16:0 (ácido palmítico), 16:1n-7 (ácido palmitoleico), 18:2n-6 (áci-

do linoleico) y 18:1n-9 (ácido oleico). En este último grupo podemos encontrar características distintivas entre los TAG y los CE, ya que los TAG poseen mayor proporción de 18:1n-9 y los CE de 16:1n-7 y 18:2n-6.

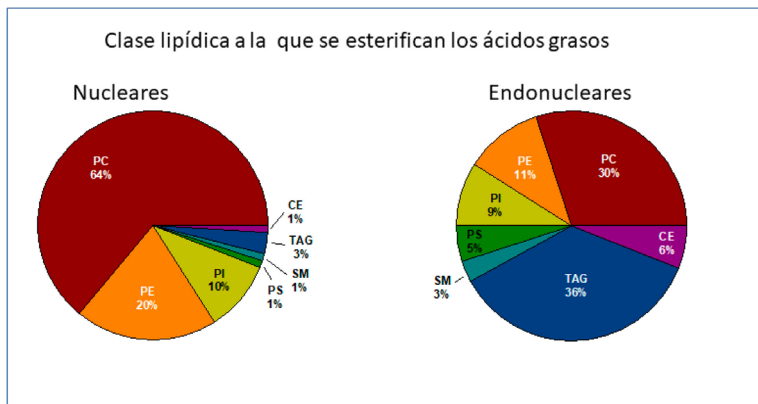
En conclusión, los LP nucleares se caracterizan por contener mayoritariamente 20:4n-6 y 18:0 y éstos se localizan en la DMN, mientras que los LN poseen mayor proporción de 16:0, 16:1n-7, 18:2n-6 y 18:1n-9 y se localizan en el interior nuclear.

## **Topología y composición de las poblaciones de gotas lipídicas celulares**

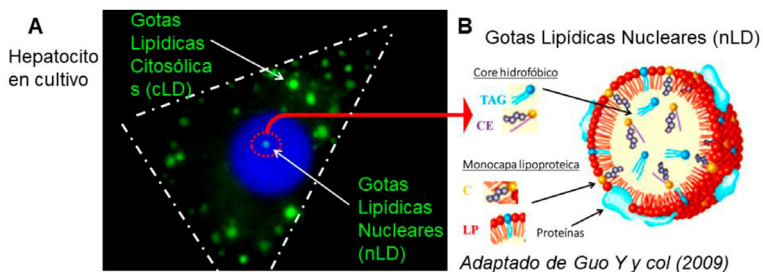
Para evaluar la hipótesis de trabajo que sostiene que los LN nucleares se organizan en gotas lipídicas (nLD), la primera estrategia fue intentar visualizar las gotas lipídicas en núcleos a partir de células en cultivo primario de hepatocitos de rata en condiciones control. Como se observa en la Figura 4A, mediante microscopía de epifluorescencia, se observan dos poblaciones de gotas lipídicas, una en el citoplasma (cLD) y otra más pequeña dentro del núcleo (nLD) (Layerenza *et al.*, 2013).

Posteriormente se aislaron las nLD y se determinó su composición como se presenta en la Figura 2. Las nLD se componen de un 38% de lípidos y un 62% de proteínas; los lípidos y proteínas de éstas representan tan solo el 0,002% de los respectivos componentes celulares. Los lípidos de las nLD están formados en un 85% por lípidos neutros y un 15% por lípidos polares. Las nLD poseen una composición particular de lípidos neutros rica en CE (45%), C (32%) y TAG (23%) (Figura 2). Esta composición es muy diferente de la observada en homogenato total de hígado, núcleo entero, matriz nuclear y cLD.

Se propone un modelo estructural de las nLD comparable a las cLD, en el que las gotas lipídicas están constituidas por un core hidrofóbico de lípidos neutros (TAG, CE y C) rodeados de una monocapa de LP, C y proteínas, como se muestra en la Figura 4B.



*Figura 3. Pooles nucleares y endonucleares de ácidos grasos. Teniendo en cuenta la composición lipídica del núcleo y de la matriz nuclear, se calculó la proporción relativa de ácidos grasos en cada clase lipídica. Para hacer el cálculo se consideró que los LP, SM, TAG y CE poseen 2, 1, 3 y 1 ácido graso, respectivamente. La figura fue adaptada del trabajo de Tesis doctoral del Dr. JP Layerenza (UNLP, 2013).*



*Figura 4. Topología y modelo estructural de las poblaciones de Gotas lipídicas celulares*

*A: Análisis mediante microscopía de epifluorescencia de cLD y nLD en cultivo primario de hepatocitos de rata en condiciones control. En azul se observa la tinción de los núcleos con DAPI y en verde, de las LD con BODIPY 493/503. Las flechas indican las cLD y las amarillas nLD. La figura fue adaptada del trabajo de Tesis doctoral de la Dra. LC Lagrutta (UNLP, 2015).*

*B: Modelo estructural propuesto para las nLD adaptado del de las cLD, presentado por Guo y col, 2009.*



Se determinó además, que las nLD constituyen un dominio nuclear dinámico, y coordinado con las cLD, cuyas características morfológicas se modifican en forma reversible por el ácido oleico, mediante mecanismos que involucran síntesis y degradación de los lípidos que las constituyen, y fusión y fisión de LD (Lagrutta *et al.*, 2017).

## Discusión

Los lípidos en el núcleo, al igual que en el resto de la célula, son moléculas muy versátiles que poseen un activo metabolismo e importantes funciones biológicas que abarcan roles estructurales, energéticos, y en la regulación celular, en procesos de señalización actuando como segundos mensajeros.

Los lípidos nucleares se encuentran en dos localizaciones muy contrastantes, la envoltura nuclear, más fluida que el interior nuclear y compuesta de GPL, SL y C; y dentro del núcleo, en las nLD, donde se encuentran concentrados todos los TAG y CE nucleares, organizados en un core hidrofóbico rodeado de una monocapa de LP, C y proteínas asociadas. Existe además, un remanente de LP en la matriz nuclear formando complejos con la cromatina (Albi *et al.*, 1994). Los LP nucleares participan activamente como segundos mensajeros en diferentes vías de señalización que involucraran a GPL y SL (14, 15). Los LP nucleares se caracterizan por contener mayoritariamente 20:4n-6 y 18:0 en sus especies moleculares, mientras que los LN poseen en su mayoría 16:0, 16:1n-7, 18:2n-6 y 18:1n-9 esterificados en sus moléculas (Layerenza *et al.*, 2013; Mate, Brenner y Ves Losada, 2004).

En este trabajo se determinó que las nLD constituyen un dominio nuclear dinámico, que responde a estímulos celulares externos en forma reversible y coordinada con las cLD (Lagrutta *et al.*, 2017).

El metabolismo lipídico nuclear de LN está coordinado con el citosólico. Los LN celulares se localizan mayoritariamente en el citoplasma, en las cLD. Está documentado que las cLD participan en numerosos procesos celulares a través de interacciones con el RE y el Golgi (rutas anabólicas), con mitocondrias y peroxisomas (rutas ca-

tabólicas), con endosomas tempranos, caveolas y autofagosomas (vías endocíticas), VLDL y exosomas (vías exocíticas), parásitos y virus, y finalmente con el citoesqueleto, a través de microtúbulos y de proteínas motoras (Sahini y Borlak, 2014).

Los LN nucleares que se localizan y organizan en las nLD corresponden a una proporción muy pequeña de los LN celulares, pero están estratégicamente localizados dentro del núcleo habilitando un dominio hidrofóbico con características muy diferentes a las de las membranas nucleares y los demás dominios nucleares.

Las nLD estarían involucradas en la homeostasis lipídica, y en el interior nuclear servirían como un sistema *buffer* capaz de aportar o incorporar en forma rápida proteínas y lípidos involucrados en vías de señalización, aportando ligandos (AG, DAG, etc.) para factores de transcripción, sustratos, y enzimas del metabolismo lipídico y de otros procesos que se desarrollan dentro del núcleo.

Los procesos nucleares de señalización deben encenderse y apagarse, y las nLD podría actuar proveyendo AG, liberados a partir de la hidrólisis de sus lípidos, que movilizados unidos a la FABP (Mate, Layerenza y Ves Losada, 2007), se unirían a factores de transcripción como los PPARs, y luego, finalizado el “encendido” el proceso se apagaría cuando los AG, liberados de los factores de transcripción, se esterifiquen en los lípidos de las nLD y/o de la membrana nuclear.