

2012 Noviembre, 3(2): 1-1

Mecanismos celulares involucrados en la amiloidosis inducida por apo AI humana: Estimulación de respuesta inflamatoria mediante la activación del factor de transcripción NF-kB.

Autores: Guillermo Schinella^a, Nahuel Ramella^b, Isabel Andújar^c, Omar Rimoldi^b, Ma. Alejandra Tricerri^b, José L. Ríos^c.

Lugar de Trabajo: ^a Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. CIC Pcia. Bs. As., ^b INIBIOLP. CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. ^cDepartament de Farmacología. Universitat de Valencia. España.

E-mail de contacto: schinell@uv.es

Introducción

La apolipoproteína (apo) AI es el constituyente proteico principal de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) plasmáticas teniendo una función primordial en el transporte reverso de colesterol, sin embargo, y en el otro extremo del espectro bioquímico, las amiloidosis debidas a apoAI están asociadas al plegamiento anómalo y depósitos insolubles de la proteína causando serio daño tisular y falla orgánica dependiendo de la mutación. La primera forma de amiloidosis apoAI que se describió es la provocada por apoAI Arg26Gly, induciendo neuropatía periférica y muerte por insuficiencia renal. El mecanismo que desencadena la formación de estos depósitos y el daño tisular no es claro, sugiriendo en base a datos nuestros y de otros grupos dos posibilidades; 1) que la proteína en su conformación amiloidogénica es la responsable de activar señales pro-inflamatorias y 2) ambientes inflamatorios son los responsables del procesamiento patológico de apoAI.

Objetivo

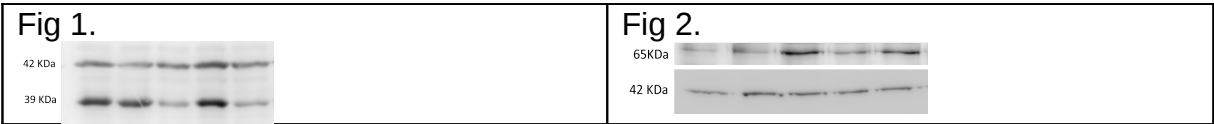
Estudiar *in vitro* el efecto pro-inflamatorio de la apoAI Arg26Gly usando como modelo macrófagos murinos RAW 264.7.

Materiales y Métodos

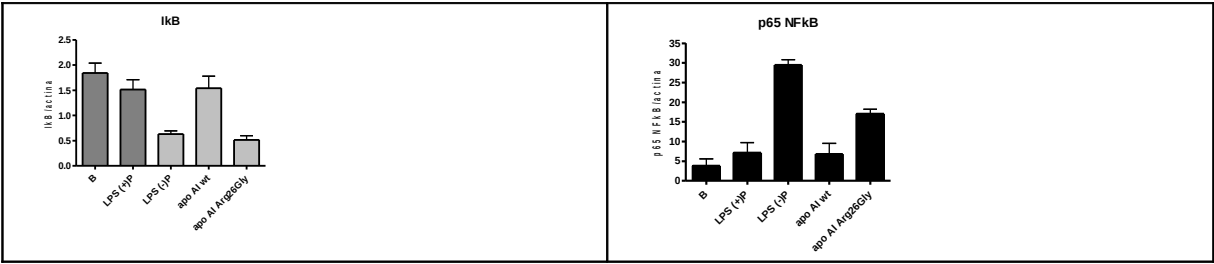
Los macrófagos se cultivaron en DMEM con 0,5% de SFB, la apoA-I se evaluó a 0,1 y 1 ug/mL en presencia de 50 ug/mL de polimixina B (P); los resultados de la actividad proinflamatoria de la apo AI se compararon con controles positivos en presencia de LPS (1 ug/mL) – con y sin agregado de polimixina B - y un control negativo (B) en ausencia de LPS. Se determinó: 1) producción de oxido nítrico (NO), prostaglandina E2 (PGE2), citocinas (TNFα e IL-1β), especies reactivas de oxigeno (ERO) utilizando técnicas colorimétricas/ELISA/fluorescencia; 2) Expresión proteica de iNOS y COX2, utilizando técnicas de western blot y 3) activación del factor de transcripción NF-kB, mediante western blot (I-kB y p65NF-kB) y microscopia de inmunofluorescencia.

Resultados

La apoAI Gly26Arg (a concentración final 1 ug/mL) fue capaz de estimular los macrófagos produciendo un aumento significativo en la generación de ERO, citocinas, NO y PGE2 respecto a apoAI wt. El aumento de la síntesis de NO y PGE2 se corresponde con un significativo aumento de la expresión proteica de iNOS y COX2 respectivamente. La apoAI Gly26Arg demostró activar la vía del factor de transcripción NF-kB, observándose una disminución de I-kB en el citosol (Fig 1.) y un aumento de la traslocación al núcleo de la subunidad p65-NF-kB (Fig 2.). Estos datos se corresponden con imágenes obtenidas por microscopia de inmunofluorescencia.



2012 Noviembre, 3(2): 1-1



Conclusión
ApoAI Arg26Gly es una señal proinflamatoria que activa la vía NF-κB en macrófagos, por lo tanto, esta podría ser al menos en parte una de las razones de la patogenia.