

PÓSTER
ÁREA SALUD**Aumento de adipoquinas pro-inflamatorias y estrés oxidativo en tejido adiposo perivascular de ratones ApoE-KO alimentados con fructosa*****Increased Pro-inflammatory adipokines and oxidative stress in perivascular adipose tissue of fructose-Fed ApoE-KO mice***

M. Mora ¹; B. Damiani ¹; S. Grilli ¹; C. Castro ² e I. Quesada ^{1,2}

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina

² Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU)-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo

Contacto: marinamora_06@hotmail.com

Palabras clave: diabetes - ApoE-KO - inflamación - estrés oxidativo - tejido adiposo perivascular

Key Words: diabetes - ApoE-KO - inflammation - oxidative stress - perivascular adipose tissue



Introducción: En la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) las complicaciones vasculares tales como la aterosclerosis son una causa importante de muerte. Los mecanismos patogénicos subyacentes clave no son del todo claros. El tejido adiposo perivascular (TAP) ha sido recientemente reconocido como un colaborador activo de la función vascular, siendo fuente de adipoquinas y especies reactivas de oxígeno (ROS) con variados efectos parácrinos en el músculo liso subyacente y células endoteliales vasculares. Las adipoquinas pro-inflamatorias promueven la disfunción endotelial a través de los mecanismos que están vinculados al aumento de ROS generados por el sistema de la NADPH oxidasa presente en la pared vascular. Los individuos que padecen DM2 muestran un desarrollo específicamente incrementado de aterosclerosis con la consecuente alteración en la secreción de adipoquinas y ROS. Nuestra hipótesis de trabajo propone que las adipoquinas liberadas por el TAP están involucradas en los fenómenos inflamatorios, aterosclerosis, y posiblemente en el estrés oxidativo. Por lo tanto, este proyecto está diseñado para estudiar la participación de las adipoquinas pro-inflamatorias como visfatina, MMP-9 (Matrix metalloproteinase 9) y especies reactivas de oxígeno generadas por las enzimas de la familia NADPH oxidasas (Nox) en el desarrollo y estabilización de la placa de ateroma en un modelo animal experimental de aterosclerosis asociado a DM2.

Objetivos: Generar un modelo experimental animal de aterosclerosis asociado a DM2 administrando fructosa al 10% (p/v) en el agua de bebida a ratones deficientes en apolipoproteína E (ApoE-KO), ratón hipercolesterolémico susceptible a desarrollar aterosclerosis. Luego se procederá a: I. Determinar glucemia, colesterolemia y triglicéridemia. II. Estudiar en el TAP los cambios en la expresión de genes de la familia Nox, visfatina y MMP-9.

Metodología: Animales: Tanto los ratones de las cepas de ratón salvaje C57/BL6 (WT) como ApoE-KO de 2 meses de edad fueron alimentados con fructosa en el agua de bebida (10% p/v) durante 8 semanas. Terminados los tratamientos los animales se sacrificaron, se obtuvo sangre total por punción cardíaca y se extrajo el tejido adiposo perivascular (TAP). Determinaciones bioquímicas: Después de ayunar durante la noche, la glucosa, el colesterol y los triglicéridos plasmáticos se determinaron por métodos enzimáticos colorimétricos utilizando kits comerciales. Expresión génica: La extracción de ARN se llevó a cabo en muestras de TAP usando TRIzol (Life Technologies) según las instrucciones del fabricante. El ARN se retrotranscribió a cDNA y se realizó la PCR a tiempo real utilizando primers específicos para visfatina, MMP-9, p47phox, Nox1, Nox2 y Nox4.

Resultados: La administración crónica de fructosa incrementa los niveles de glucemia y triglicéridemia en ratones WT comparado con los animales control, mientras que en ratones ApoE-KO el tratamiento con fructosa incrementó sólo los niveles de glucemia. La administración crónica de fructosa produce un aumento significativo en la expresión de genes de la familia Nox y la subunidad p47phox tanto en TAP del grupo de ratones WT como en los ApoE-KO, excepto para Nox2 que produce un aumento significativo sólo en los animales ApoE-KO. El tratamiento con fructosa también produce un aumento en la expresión de genes MMP-9 y visfatina en el TAP de ratones ApoE-KO, ambos marcadores de inestabilización de la placa de ateroma.

Conclusiones: El tratamiento con fructosa en ratones WT (FF-WT) genera un modelo animal que imita la DM2 y en ratones ApoE-KO (FF-ApoE-KO) genera un modelo de aterosclerosis asociado a DM2. Existe una relación entre el aumento de la expresión de Nox y adipoquinas del TAP y complicación vascular asociada a DM2. Además, encontramos una expresión diferencial de los genes Nox2, visfatina y MMP-9 entre ratones FF-WT y FF-ApoE-KO.