

ALTERACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE TRANSPORTE DE BSEP EN UN MODELO IN VITRO DE COLESTASIS POR CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS: ROL DE LA IL-6 Y PARTICIPACIÓN DE LAS QUINASAS AKT, ERK1/2 Y JNK 1/2.

Maidágan, PM⁽¹⁾; Razori, MV⁽¹⁾; Ciriac, N⁽¹⁾; Crocenzi, FA⁽¹⁾; Roma, MG⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto de Fisiología Experimental (UNR-CONICET). Rosario, Argentina.

Introducción

La colestasis inducida por sepsis es ocasionada por la liberación de lipopolisacáridos (LPS) de bacterias Gram (-). Se ha postulado como mediador de dicho colestático la liberación inducida por LPS de citoquinas proinflamatorias por células de Kupffer, tales como TNF- α , IL-1 β e IL-6. Mientras que, en trabajos recientes, demostramos que las dos primeras citoquinas inducen falla secretora por endocitosis de transportadores canaliculares responsables de la formación de bilis, el papel colestático de IL-6 no ha sido aún indagado. También demostramos en otros modelos de colestasis que la activación de las quinasas Akt, JNK1/2 y ERK1/2 induce endocitosis del transportador de sales biliares Bsep, por lo que resulta pertinente establecer si IL-6 también activa estas vías de señalización pro-colestáticas.

Objetivos

Caracterizar la capacidad de IL-6 para inhibir la actividad de transporte de Bsep.

Evaluar si IL-6 activa las quinasas Akt, JNK1/2 y ERK1/2 como parte de su mecanismo colestático.

Metodología

La capacidad de transporte de Bsep fue evaluada in vitro en duplas de hepatocitos de rata expuestas a concentraciones variables de IL-6 (10-1.000 U/mL), cuantificando el % de duplas mostrando acumulación vacuolar canalicular (AVc) del colorante fluorescente colilglicilfluoresceína (CLF), sustrato fluorescente de Bsep, por microscopía invertida de fluorescencia. Además, se comparó el efecto ocasionado por IL-6 sobre la AVc de CLF con el provocado por TNF- α , IL-1 β y LPS, administrados solos o conjuntamente con IL-6. Finalmente, se evaluó el grado de activación de las quinasas pro-colestáticas Akt, JNK1/2 y ERK1/2, analizando por Western blot la relación entre el contenido de enzima fosforilada (activa) y de enzima total, en lisados de hepatocitos aislados de rata expuestos a IL-6. Estadística: ANOVA y t-Student.

Resultados

IL-6 (10-1.000 U/mL) indujo una disminución dependiente de la dosis de la AVc de CLF, siendo 100 U/mL la mínima concentración que produjo una disminución significativa de la funcionalidad de Bsep ($-30\pm 3\%$, $p < 0,05$ vs. control). LPS (10 $\mu\text{g/mL}$) y las citoquinas IL-6 (100 U/mL), TNF- α (10 ng/mL) e IL-1 β (1 ng/mL) disminuyeron la AVc de CLF en una proporción similar cuando se administraron solas, comparado con su efecto conjunto ($40-32\pm 3-5$, $p < 0,05$ vs. control). Finalmente, IL-6 (100 U/mL) activó Akt (250%), JNK1/2 (162%) y ERK1/2 (154%).

Conclusión

IL-6 inhibe la capacidad del hepatocito para transportar sales biliares vía Bsep, por lo que puede ser uno de los agentes causales de la disminución de la excreción de sales biliares en la colestasis por sepsis. Cuando se administra IL-6 junto con otras citoquinas, no se produce un efecto inhibitorio aditivo sobre la funcionalidad de Bsep respecto del que ocasiona IL-6 sola, indicando que dichas citoquinas actúan mediante la activación de vías de señalización pro-colestáticas comunes, como aquellas mediadas por Akt, JNK1/2 y ERK1/2.