

ROL DE LA DIFERENCIACIÓN Y LA ALDOSTERONA EN LA LIBERACIÓN Y CARGO DE EXOSOMAS EN CÉLULAS ADIPOSAS HUMANAS.

Andrea Vecchiola Cardenas², SumieKato Cardemil¹, Francisca Liberona Núñez¹, Alejandra Tapia Castillo², Cristián Carvajal Maldonado⁴, Cristina Goens Guzmán³, Carlos Fardella Bello⁴

¹Departamento de Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Departamento de Endocrinología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, ³Hospital Clínico Universidad Católica, Centro Traslacional de Endocrinología (CETREN), ⁴Pontificia Universidad Católica de Chile.

La activación del receptor de mineralocorticoides (MR) en el tejido adiposo (TA) gatilla su inflamación y el desarrollo del síndrome metabólico. En forma opuesta, el uso de antagonistas del MR es beneficioso. Los mecanismos moleculares asociados a esta señalización son pobremente entendidos. Esto lleva a la búsqueda e identificación de nanovesículas de comunicación celular conocidas como exosomas con capacidad de regulación autocrina y paracrina que contienen moléculas bioactivas, miRNA y proteínas, que reflejarían el metabolismo local de la célula de origen.

Objetivo: Caracterizar los exosomas liberados *in vitro* por células adiposas humanas y determinar el efecto de la diferenciación y la aldosterona en este proceso.

Diseño Experimental: Se diferenciaron las células SW872, se tiñeron con oil-red O. Las células diferenciadas se trataron en paralelo con aldosterona. Se aislaron y caracterizaron los exosomas. Se analizó la presencia de MR.

Materiales y Métodos: Células adiposas humanas (SW872) fueron cultivadas por 24 horas en DMEM-F12 con suero FBS inactivado y tratado (libre de esteroides y exosomas) y diferenciadas por 7 días. Las células diferenciadas se trataron con 100nM de aldosterona por 24h adicionales. Se aislaron exosomas del medio de cultivo celular usando ultracentrifugación. Se analizó tamaño y concentración de los exosomas con Nanosight NS300, tamaño y morfología con microscopía electrónica de transmisión (TEM), proteínas exosomales (CD63, TSG101) mediante western-blot. Las comparaciones de grupos se realizaron con t-test para muestras independientes.

Resultados: Las células SW872 mostraron características morfológicas descritas para esta línea celular y se observa, expresión del MR. El análisis por NS300 t TEM logró identificar la presencia de exosomas con tamaño y forma descritos. Además, los exosomas aislados expresaron el marcador exosomal TSg101.

La concentración de los exosomas liberados después de la diferenciación de los preadipocitos presentó una disminución significativa en la concentración de los exosomas liberados (pre, $6,4 \times 10^{11} \pm 1,2 \times 10^7$ part/ml vs adipo, $4,4 \times 10^9 \pm 1,2 \times 10^8$ part/ml $p < 0,0001$) y en el tamaño de estas nanovesículas (46%, $102,2 \pm 3,1$ nm vs $69,8 \pm 20,1$ nm $p = 0,05$). Aldosterona no cambió el tamaño ($69,8 \pm 20,1$ nm vs $85,5 \pm 3,6$ nm) pero aumentó significativamente la concentración de los exosomas liberados ($4,4 \times 10^9 \pm 1,2 \times 10^8$ part/ml vs (+aldo), $5,9 \times 10^{10} \pm 2,8 \times 10^7$ part/ml $p < 0,0001$)

Conclusiones: Estos resultados preliminares muestran que durante la diferenciación del adipocito el cargo de los exosomas cambia, probablemente, como reflejo de la especialización celular. La aldosterona que lleva a la hipertrofia del adipocito aumenta la liberación de estos exosomas sugiriendo que antagonistas del MR podrían regular la liberación y/o cargo de estas nanovesículas y contribuir así a la regulación de la función adipogénica.

Financiamiento: Financiamiento: CONICYT-FONDECYT 1160695, MILENIO P09/17-F (ICM).