



Reunión Clínica 15 de Junio 2019
10:15 – 11:00

**“RECEPTOR SENSOR DE CALCIO Y SU EFECTO
SOBRE AUTOFAGIA: UNA NUEVA ARISTA EN LA
DISFUNCIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO BAJO UN
CONTEXTO DE OBESIDAD”**

Presenta: Dra. Pamela Mattar Aránguiz, PhD.
Laboratorio de obesidad y metabolismo energético en adulto y geriatría. INTA, Universidad de Chile.
Laboratorio de neurobiología conductual y obesidad.
Depto.Fisiología, Universidad Católica de Chile.

Introducción

La disfuncionalidad del Tejido Adiposo (TA) en obesos es un factor clave en el desarrollo de comorbilidades. La autofagia es un proceso de auto-digestión celular muy conservado y presente en la mayoría de las células, que se altera en obesidad y se asocia con el aumento del estado inflamatorio. Los sujetos obesos presentan niveles elevados de autofagia en TA, más aún en su depósito graso visceral; dicho incremento ha sido asociado con la presencia de insulino resistencia y diabetes tipo 2 (Kovsan et al. 2015).

El año 2005 nuestro grupo de investigación describió la presencia del Receptor Sensor de Calcio (CaSR) en el TA (Cifuentes et al. 2005), y desde ese entonces hemos caracterizado su rol en el incremento de la expresión y secreción de citoquinas proinflamatorias en el TA (Cifuentes et al. 2010; Cifuentes et al. 2012; D`Espessailles et al. 2018). Además, el año pasado demostramos que en preadipocitos humanos que la activación de CaSR induce la autofagia (Mattar et al. 2018).

Objetivos

- 1.- Determinar si la activación de CaSR incrementa los niveles de autofagia en explantes de TA visceral humano.
- 2.- Evaluar la asociación entre los efectos de la activación de CaSR sobre autofagia y características clínicas del donante como Índice de Masa Corporal (IMC), porcentaje de grasa corporal (PGC), circunferencia de cintura (CC), triglicéridos séricos (TG).

Materiales y métodos

El tejido adiposo visceral humano (omento mayor) fue obtenido de 44 pacientes mujeres sometidas a cirugía electiva. El protocolo contó con aprobación de los comités de bioética correspondientes (Acta n°47 del 2014). El TA fue trasladado al laboratorio, picado, lavado, sembrado e incubado en medio M199 a 37°C y 5% CO₂. Luego de 24 horas, se realizaron los experimentos de activación (agonista, alostérico cinacalcet 2µM u ortostérico espermina 100µM) y/o inhibición farmacológica (antagonista calhex 231 10µM) de CaSR. Los experimentos para evaluar flujo autofágico se realizaron en presencia y ausencia del inhibidor cloroquina 20 µM. Luego, se realizó extracción de RNA y síntesis de cDNA por transcriptasa reversa. La expresión de mRNA para CaSR y los relacionados con autofagia se evaluó por PCR en tiempo real (SYBR®FAST qPCR kit). Otros experimentos se utilizaron para extracción de proteína, los lisados fueron sometidos a western blot y consecuente inmunoreacción para determinar la abundancia de proteínas relacionadas con autofagia. Los resultados se contrastaron con la prueba no paramétrica de Wilcoxon o ANOVA de dos vías con comparaciones múltiples de Holm-Sidak's, cuando correspondía. La prueba correlación de Pearson se utilizó para evaluar la asociación entre expresión de mRNA y variables clínicas.

Resultados

La activación de CaSR (con ambos agonistas) aumenta la expresión de mRNA asociados a autofagia *Becn* (43%), *Atg7* (58%) y *LC3a* (33%) en explantes de TA. Asimismo, se observó que la activación del CaSR aumenta el flujo autofágico (niveles proteicos de LC3II en condiciones de inhibición de la degradación lisosomal con cloroquina). El uso del antagonista del Calhex 231 fue capaz de revertir los efectos observados ante la activación del CaSR. Los sujetos con mayor porcentaje de grasa corporal (PGC) e índice de masa corporal (IMC) presentaron una menor respuesta a la activación del CaSR en genes de autofagia. Adicionalmente, se observó que los niveles basales de expresión para CaSR se correlacionan positivamente con IMC y PGC del donante. Además, la expresión de CaSR se correlacionó positivamente con la de *Atg5* y *LC3b* (mRNA que no respondieron al tratamiento con agonistas de CaSR).

Conclusión

Este estudio muestra que la activación de CaSR aumenta la autofagia en el TA. No se observó asociación entre los cambios en la expresión de genes de autofagia en respuesta a la activación de CaSR y las variables clínicas del donante. La falta de respuesta observada frente al tratamiento con agonistas de CaSR, podría explicarse por una alta expresión basal del CaSR. Estos hallazgos representan un nuevo eslabón en el estudio del papel del CaSR en la disfuncionalidad del tejido adiposo humano.

Referencias

- 1.- Cifuentes et al. (2005) *Endocrinology*. doi: 10.1210/en.2004-1281
- 2.- Cifuentes et al. (2010) *Arch Biochem Biophys*. doi: 10.1016/j.abb.2010.05.033.
- 3.- Cifuentes et al. (2012) *Mol Cell Endocrino*. doi: 10.1016/j.mce.2012.03.006
- 4.- D`Espessailles et al. (2018) *J Cell Physiol*. doi: 10.1002/jcp.26490.
- 5.- Kosacka et al. (2015) *Mol Cell Endocrino*. doi: 10.1016/j.mce.2015.03.015
6. - Mattar et al. (2018) *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.08.020