

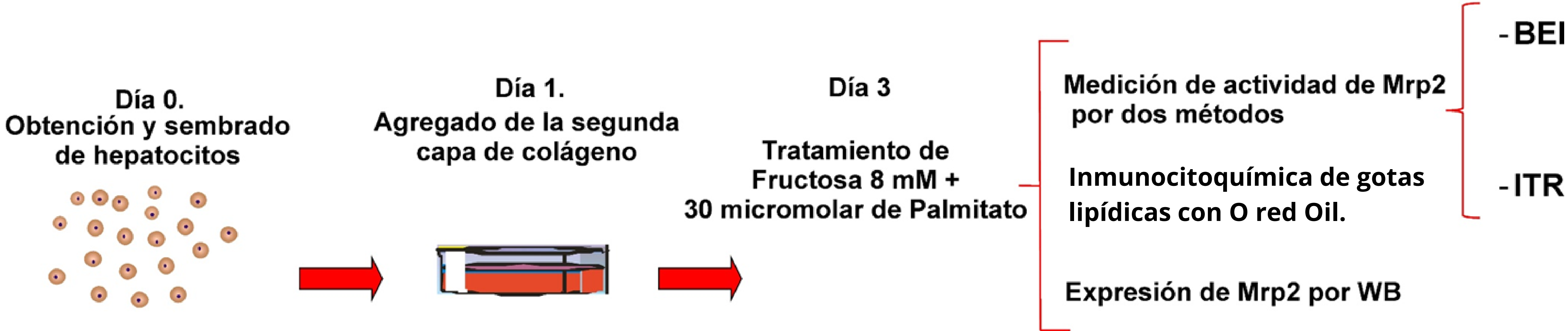
Gualco, Martina¹, Costa Igor², Taborda Diego², Sánchez Pózzzi Enrique¹², Barosso Ismael¹²
1 Cátedra de Fisiología, Área Cs Fisiológicas Fbioyf. 2 Instituto de Fisiología Experimental IFISE CONICET

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de hígado graso asociado a la disfunción metabólica (MAFLD) es una de las manifestaciones más frecuentes del síndrome metabólico (SM). El aumento del consumo de fructosa a nivel mundial contribuye al incremento de la ingesta calórica total. El consumo excesivo de grasas y azúcares en la dieta se asocia con un mayor riesgo de MAFLD.

OBJETIVO. Desarrollar un modelo celular in vitro de MAFLD con fructosa y palmitato (ácido graso) para evaluar el efecto sobre el transportador Mrp2, con el fin de profundizar en las vías de señalización implicadas en el desarrollo del SM

METODOLOGÍA



RESULTADOS

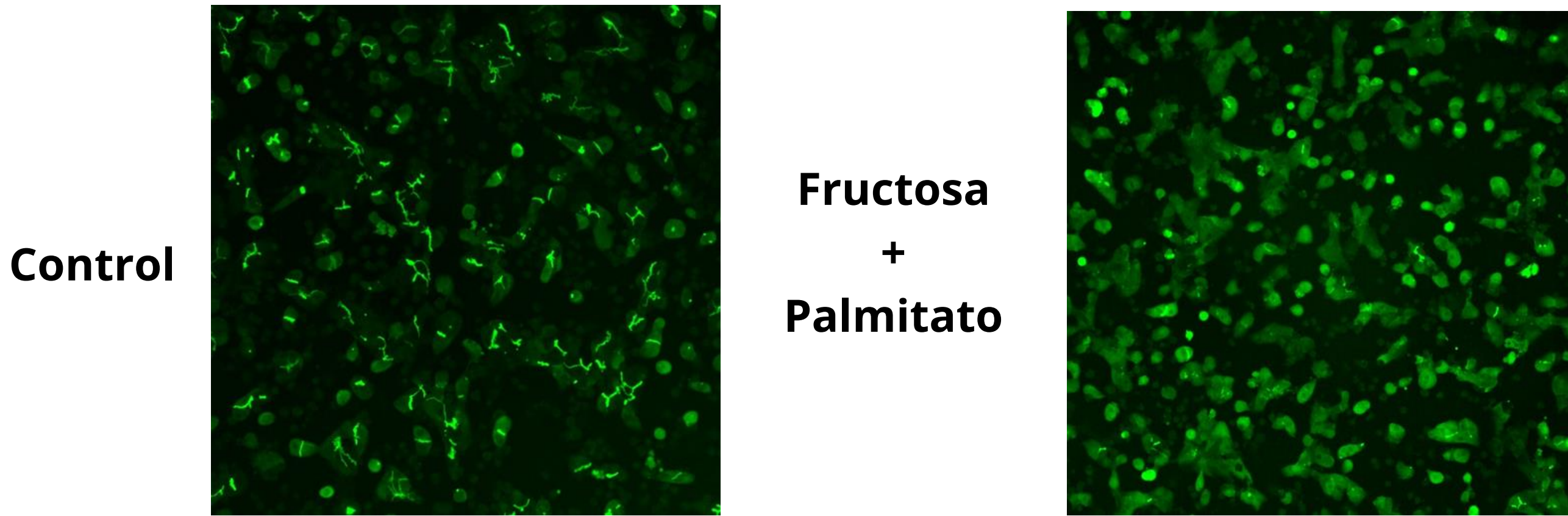


Figura 1. Imágenes obtenidas con microscopía de fluorescencia ITR (Initial Transport Rate). Se empleó el sustrato CMFDA (clorometilfluoresceína diacetato), el cual genera metabólicamente el compuesto fluorescente glutatión-metilfluoresceína (GMF).

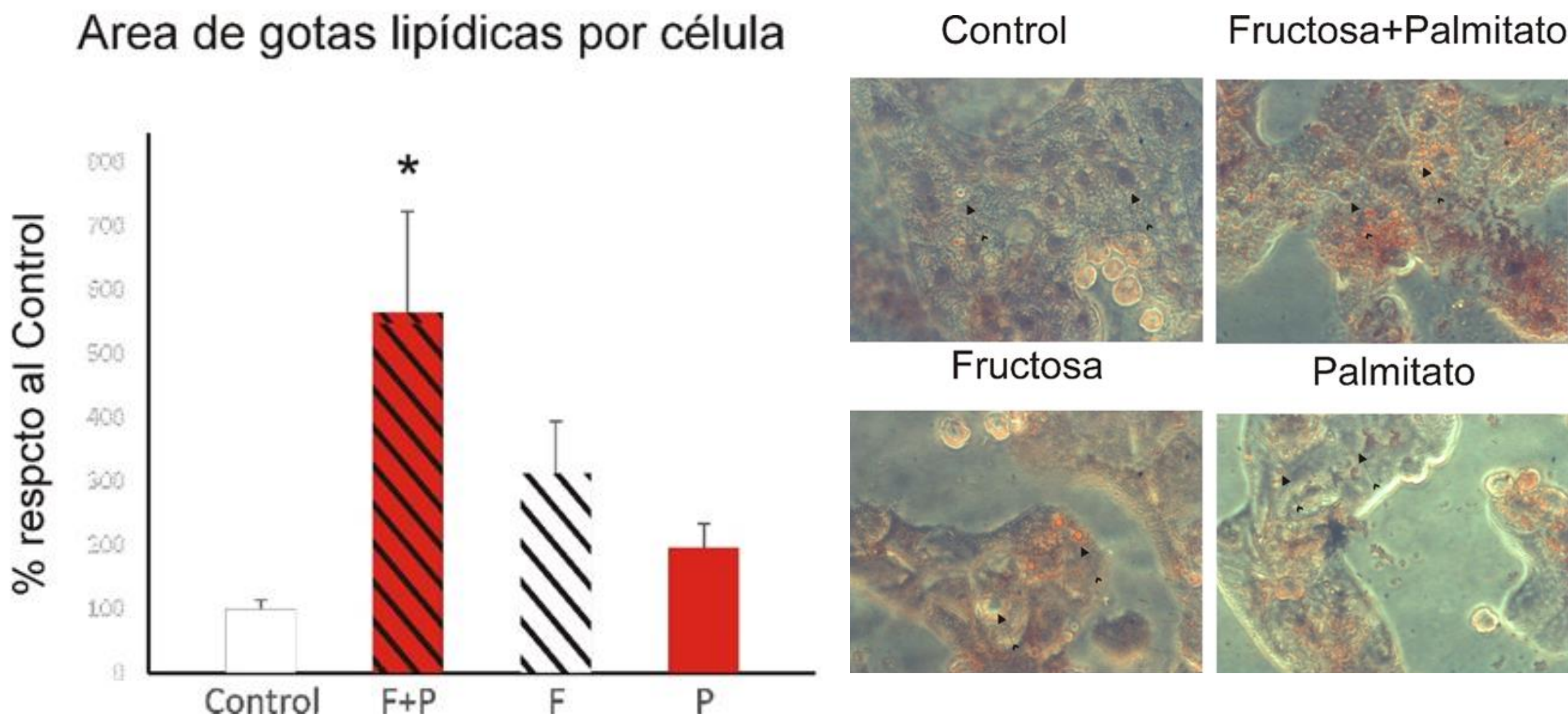


Figura 2. Se evaluó la acumulación de gotas lipídicas mediante tinción con Red Oil, y la señal fue cuantificada utilizando el software ImageJ.

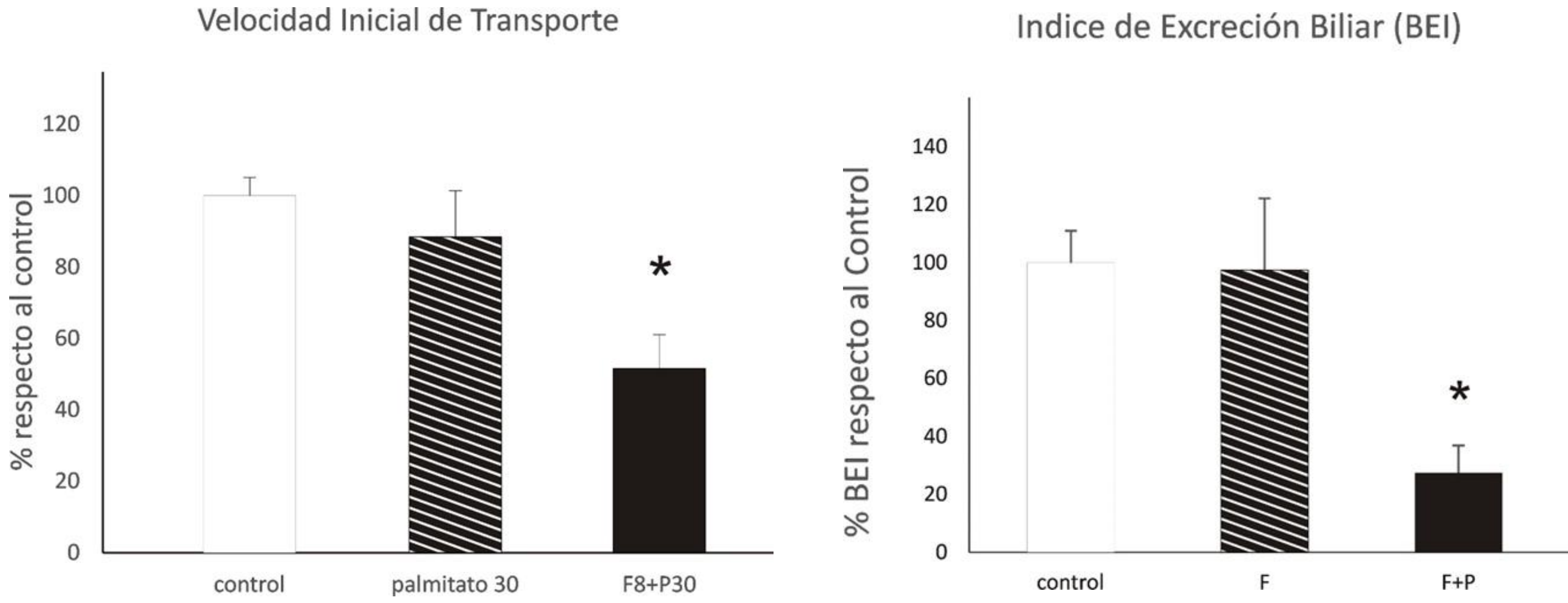


Figura 3. Las células fueron tratadas durante 48 horas con fructosa (8 mM) y palmitato (30 µM). La actividad de Mrp2 se evaluó utilizando la secreción del compuesto fluorescente glutatión-metilfluoresceína (GMF) y se determinó la velocidad inicial de transporte (VIT)⁵ mediante microscopía de fluorescencia. La VIT se estimó a partir de la pendiente de la curva fluorescencia vs. tiempo en los canalículos.

Figura 4. Las células fueron tratadas durante 48 horas con fructosa (8 mM) y palmitato (30 µM). La actividad de Mrp2 se evaluó utilizando la secreción del compuesto fluorescente glutatión-metilfluoresceína (GMF) y fue calculado el índice de excreción biliar (BEI). . El BEI se calculó según: BEI (%) = [(fluorescencia con Ca²⁺/Mg²⁺ - fluorescencia sin Ca²⁺/Mg²⁺) / fluorescencia con Ca²⁺/Mg²⁺] × 100.

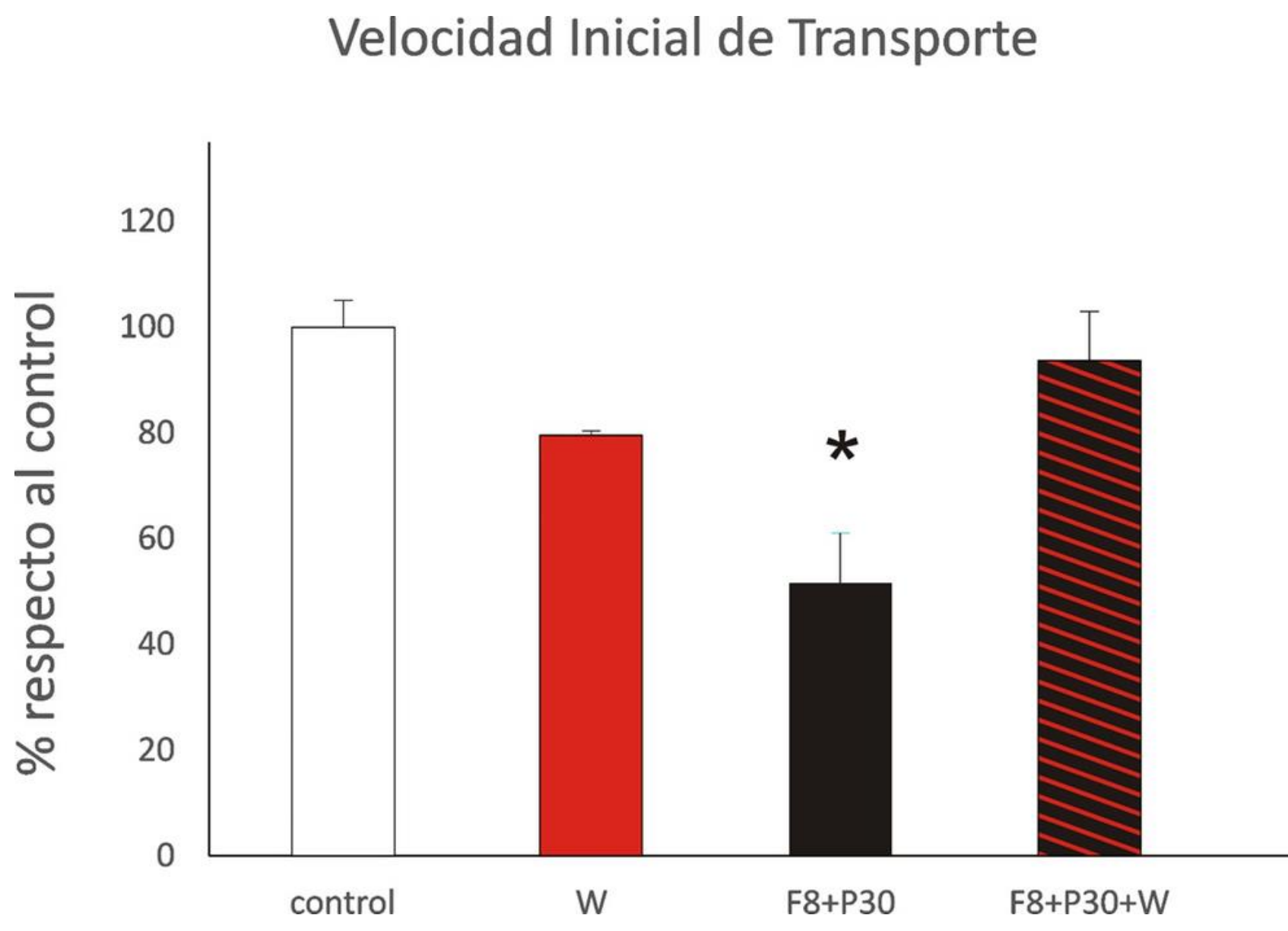


Figura 5. Las células fueron además cotratadas con wortmanina (W), un inhibidor de la quinasa PI3K. La actividad de Mrp2 se evaluó utilizando la secreción del compuesto fluorescente glutatión-metilfluoresceína (GMF) y se determinó la velocidad inicial de transporte (VIT)⁵ mediante microscopía de fluorescencia. La VIT se estimó a partir de la pendiente de la curva fluorescencia vs. tiempo en los canalículos.

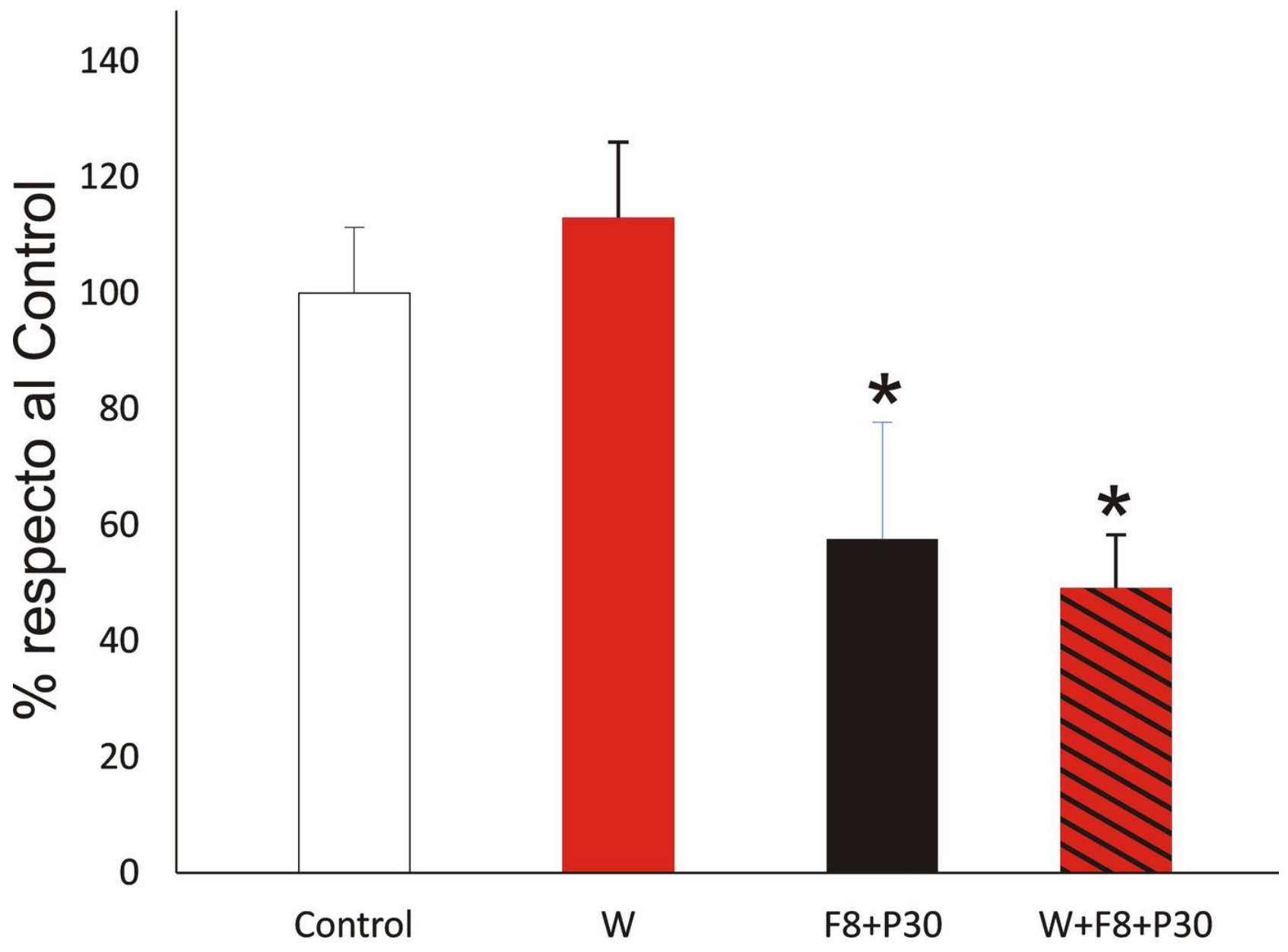
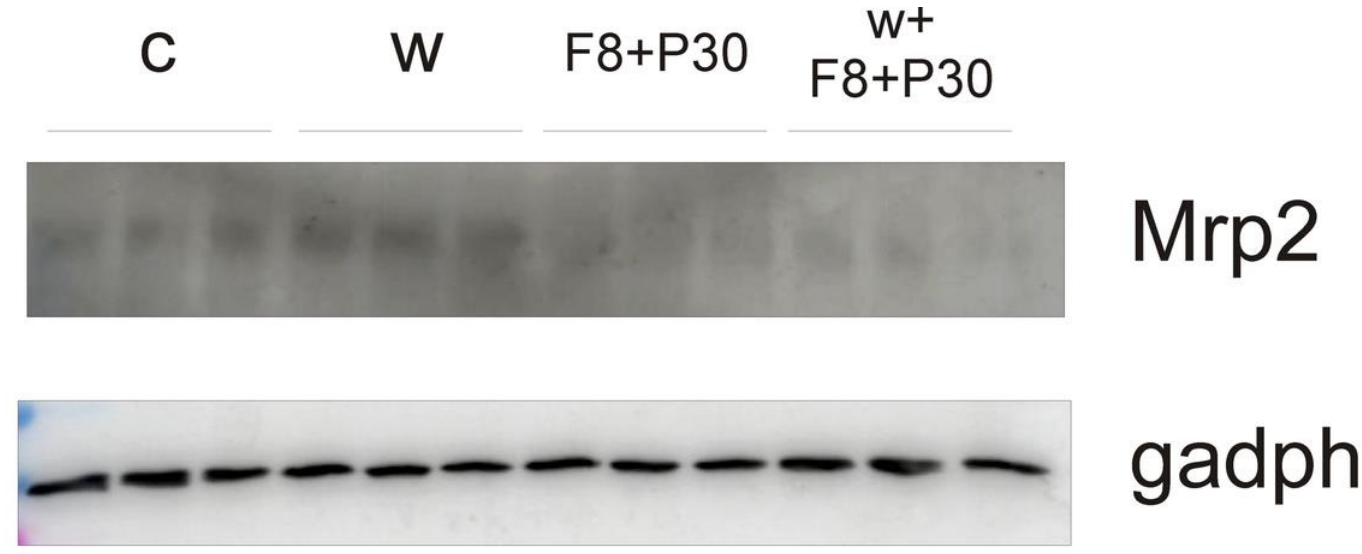


Figura 6. El tratamiento con Fructosa y Palmitato provocó una disminución de la expresión de Mrp2 y ésta disminución no fue revertida con el co tratamiento con W. (p<0.05)

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que el tratamiento combinado con fructosa y palmitato provoca una disminución en la actividad y expresión del transportador canalicular Mrp2 en el cultivo primario de hepatocitos. Además, nuestros hallazgos indican que la vía PI3K podría estar involucrada en este proceso. Estos hallazgos respaldan la viabilidad del modelo como herramienta experimental para estudiar los efectos hepatocelulares asociados al SM y contribuir al entendimiento de los mecanismos moleculares involucrados.