



EL RESVERATROL PROTEGE CONTRA LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN PÁNCREAS SECUNDARIA AL ENVEJECIMIENTO

RESERVATROL PREVENTS AGAINST PANCREAS INFLAMATORY RESPONSE SECONDARY TO AGING

Calvo, M., Corral, P., Lopez de Hontanar, G. y Huelin, F.

RESUMEN

La respuesta inflamatoria secundaria al envejecimiento está relacionada con la resistencia a la insulina. Se sabe que las células endocrinas de los islotes del páncreas pueden ser fuente de mediadores inflamatorios en condiciones patológicas. Por ello hemos investigado el efecto del envejecimiento sobre los marcadores de inflamación en el páncreas de dos modelos de ratones: SAMP8 y SAMR1, y la influencia del Resveratrol (5mg/kg/día). El envejecimiento aumentó la expresión de citoquinas pro-inflamatorias TNF- α , IL-1 β y IL-6 y del factor de transcripción NF- κ B p52 en tanto que la interleuquina IL-10 anti-inflamatoria mostró una disminución. La administración de resveratrol significó una menor expresión de TNF- α y IL-1 β , así como de NF- κ B p52 en los ratones viejos. No hubo diferencias significativas en la expresión de IL-1 β y IL-10. Estos resultados plantean la asociación entre el envejecimiento y la expresión de células pancreáticas de mediadores inflamatorios y su mejoría tras administración de resveratrol.

Palabras clave: resveratrol, páncreas, estrés oxidativo, envejecimiento

SUMMARY

The inflammatory response secondary to aging is associated with insulin resistance. It has been shown that pancreatic islet endocrine cells may be a source of inflammatory mediators during pathological conditions. In this study we investigated the effect of aging on different parameters related to inflammation in pancreas from two types of male mice models: SAMP8 and SAMR1 and the influence of Resveratrol (5 mg/kg/day) administration. During aging it increased proinflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6 levels and the transcription factor NF- κ B p52 while antiinflammatory Interleukin IL-10 decreased. Resveratrol administration showed lower expression of IL-1 β , TNF α and NF- κ B in old mice. No significant differences were observed in protein expression of IL-1 β and IL-10. These findings raise the association between aging and pancreatic cell expression of inflammatory mediators and improvement after administration of resveratrol.

Key words: resveratrol, pancreas, aging, inflammatory response

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento puede ser considerado como un estado proinflamatorio, caracterizado por la presencia de citoquinas, células apoptóticas, infiltración de células del sistema inmunitario, depósitos amiloides y fibrosis que podrían causar una alteración en la función pancreática (Donath et al., 2008). Son varios los factores responsables de la inflamación, incluyendo dislipidemia, hiperglucemia, elevada actividad del Factor Nuclear kappa B (NF- κ B), elevados niveles de citoquinas como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF α), interleukinas (ILs), resistina, leptina y ácidos grasos libres (Tsao et al., 2003; Kobayasi et al., 2004 Yamauchi et al., 2003).

El Resveratrol, es una molécula con potenciales efectos beneficiosos sobre la salud (Baur et al., 2006). En modelos animales se ha demostrado que la administración de resveratrol puede prolongar la esperanza de vida (Valenzano et al., 2006) debido a sus efectos de protección cardiovascular en modelos de lesión miocardio (Hattori et al., 2002; Juric et al., 2007; Gurusamy et al., 2010) hipertensión (Juric et al., 2007;) y diabetes tipo 2 (Zhang et al., 2009; Zhang et al., 2010).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del envejecimiento sobre el páncreas de ratones SAMP8 (senescencia acelerada) y SAMR1 (resistentes al envejecimiento). Además se

investigó un posible efecto protector del resveratrol frente al daño pancreático secundario al envejecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales fueron divididos en 5 grupos experimentales (8 animales por grupo): dos grupos de control de ratones viejos no tratados (SAMR1 y SAMP8), dos grupos de control de ratones jóvenes (SAMR1 y SAMP8), y un grupo de ratones viejos (SAMP8) tratados con resveratrol (5mg/Kg/día). Tras 30 días de tratamiento los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, seguida de decapitación y el páncreas fue extraído, congelado en nitrógeno líquido y almacenado a -80°C para la determinación de la expresión proteica (Western Blotting) y mRNA (RT-PCR) de mediadores inflamatorios (TNF- α , IL-1 β y IL-10, NF- κ B (p65, p50, y p52), e IKK, beta y alfa).

RESULTADOS

El envejecimiento aumentó la expresión proteica y de mRNA de IL-1 y TNF α en las células del páncreas de ratones SAMR1 y SAMP8 ($p < 0.05$), siendo mayor en los SAMP8 sobre los SAMR1 ($p < 0.05$). Por otro lado, la expresión de la proteína anti-inflamatoria IL-10 disminuyó en los SAMP8 viejos ($p < 0.001$). La administración de resveratrol bloqueó parcialmente estos efectos. En ratones SAMR1 no hubo diferencias estadísticamente significativas en la expresión de TNF α , IL-1 β y IL10 entre los ratones adultos y jóvenes.

No hubo diferencias significativas en la expresión proteica de NF- κ B p65 p50 y su precursor (p105) entre ratones viejos y jóvenes en ninguna cepa. La expresión proteica de NF- κ B p52 aumentó en SAMP8 viejos ($p < 0.05$), pero no se observaron diferencias en su precursor (NF- κ B p100) entre ratones jóvenes y viejos. El tratamiento con resveratrol disminuyó significativamente la expresión de NF- κ B p52 ($p < 0.05$).

La expresión proteica de IKK α aumentó con el envejecimiento en ratones SAMP8 ($p < 0.05$) y el resveratrol disminuyó su expresión ($p < 0.05$). No se observaron diferencias en los SAMR1. Además, se detectó una disminución de la expresión de la subunidad IKK β en SAMP8 viejos ($p < 0.01$), y la administración de resveratrol no aumentó esta expresión. No se observaron diferencias significativas en la expresión de estas subunidades en SAMR1.

DISCUSION

El envejecimiento está asociado con un aumento crónico de los niveles de marcadores inflamatorios circulantes. En concreto, TNF α y IL6 no solo han sido descritos como marcadores inflamatorios, sino también como causas de morbilidad y mortalidad en la senescencia (Duby et al. 2004). Las citoquinas proinflamatorias que producen las células beta del páncreas como IL-1 β , IL-6 y TNF α y el NF- κ B están implicados en la patogenia y progresión de la insuficiencia de las células beta del páncreas. En este trabajo se ha observado un aumento en la expresión proteica de IL-1 β y TNF α , y una disminución en IL-10. IL-1 β y TNF α pueden activar al NF- κ B que a su vez induce la expresión de dichas citoquinas, formando así un bucle de retroalimentación positiva de amplificación llevando a veces a la célula beta a la disfunción y muerte celular (Bonizzi and Karin, 2004).

Normalmente los complejos NF- κ B se encuentran en el citoplasma unidos a las proteínas inhibitoras I κ B (I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ B , and Bcl3). La estimulación externa o interna fosforila I κ B y entonces son ubiquitinadas y degradadas por los proteosomas. Secuencialmente, el complejo NF- κ B es traslocado al núcleo donde activa la transcripción de determinados genes, especialmente los inflamatorios. De acuerdo con estudios previos de nuestro grupo (Cuesta et al., 2011; Forman et al. 2010) en este trabajo, hemos observado un aumento de la expresión proteica de NF- κ B p52 en SAMP8 viejos. No se observaron diferencias en la expresión de NF- κ B p65.

Como ya se ha comentado, Numerosos estímulos extracelulares pueden activar NF- κ B mediante mecanismos de señalización intracelulares que activan un complejo IKK que fosforila I κ B α lo que conlleva su ubiquitinación y degradación en el proteosoma. NF- κ B es entonces traslocado al núcleo donde activa la expresión de genes que participan en mecanismos inflamatorios (Grilli y Memo, 1999). De acuerdo con esto, en nuestro estudio se observó un aumento de la expresión de la proteína I κ B α en SAMP8 viejos junto a una disminución de I κ B β .

En conclusión, estos resultados indican que el envejecimiento está asociado con alteraciones significantes en la expresión relativa de genes implicados en la inflamación. La administración de resveratrol parece proteger al páncreas frente al daño secundario al envejecimiento.

BIBLIOGRAFIA

- Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al. (2006). Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444, 337-342
- Bonizzi G, Karin M (2004). The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends in Immunology* 25 (6): 280–288
- Cuesta S, Kireev R, Forman K, Vara E, Tresguerres JAF (2011). Growth hormone can improve insulin resistance and differentiation in pancreas of senescence-accelerated prone male mice (SAMP8). *GH&IGF Research*. 21 (2):63-68
- Donath MY, Storling J, Berchtold LA et al (2008) Cytokines and beta-cell biology: from concept to clinical translation. *Endocr Rev* 29(3):334–350
- Duby JJ, Campbell RK, Setter SM et al. (2004) Diabetic neuropathy: an intensive review. *American Journal of Health-System Pharmacy* 61 (2): 160-173
- Grilli M and Memo M (1999). Possible role of NF- κ B and p53 in the glutamate-induced proapoptotic neuronal pathway. *Cell Death and Differentiation* 6:22-27
- Gurusamy N, Ray D, Lekli I and Das DK (2010). Red wine antioxidant resveratrol-modified cardiac stem cells regenerate infarcted myocardium. *J. Cell. Mol. Med.* 14 (9): 2235-2239
- Hattori R, Otani H, Maulik N, Das DK (2002). Pharmacological preconditioning with resveratrol: role of nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H1988–H1995
- Juric D, Wojciechowski P, Das DK, Netticadan T (2007). Prevention of concentric hypertrophy and diastolic impairment in aortic-banded rats treated with resveratrol. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 292 (5): H2138-H2143
- K. Forman, E. Vara, C. García, C. Ariznavarreta et al. (2010). Cardiologic aging in SAM model: effect of chronic treatment with growth hormone. *J Biogerontol.* 11:275–286
- Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S et al. (2004). Selective Suppression of Endothelial Cell Apoptosis by the High Molecular Weight Form of Adiponectin. *Circulation Research* 94: e27-e31
- Tsao T, Tomas E, Murrey HE, Hug C et al. (2003). Different oligomers activate different signal transduction pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, 278:50810-50817

- Yamauchi T, Kamon J, Ito Y et al. (2003). Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423, 762-769
- Valenzano, DR; Cellerino, A (2006). Resveratrol and the pharmacology of aging - A new vertebrate model to validate an old molecule. *Cell Cycle* 5 (10):1027-1032
- Zhang H, Zhang J, Ungvari Z, Zhang C (2009). Resveratrol Improves Endothelial Function Role of TNF α and Vascular Oxidative Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 29: 1164-1171
- Zhang H, Morgan B, Potter BJ et al. (2010). Resveratrol improves left ventricular diastolic relaxation in type 2 diabetes by inhibiting oxidative/nitrative stress: in vivo demonstration with magnetic resonance imaging. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 299 (4): H985-H994