

Mediadores inflamatorios en la infección VIH en el sistema nervioso.

Susana Álvarez¹, M^a Jesús Serramía¹, Miguel A. Iñiguez², Manuel Fresno² y M^a Angeles Muñoz-Fernández¹.

¹ Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular, HGUGM; ² CBM “Severo Ochoa”, UAM.

Introducción. Se ha estimado que aproximadamente entre un 20-30% de los individuos infectados por VIH-1 desarrollan demencia VIH. Se han propuesto numerosos mecanismos para explicar el daño neurológico en estos individuos, así se ha publicado que la proteína viral gp120 puede ser el principal agente causal de la muerte celular y de la neurotoxicidad característica de esta enfermedad. Además resultados recientes han propuesto que la ciclooxigenasa 2, COX-2, desempeña un papel importante en esta patología.

Objetivo. Estudiar el mecanismo por el cual la gp120 induce la expresión de COX-2 en células de neuroblastoma.

Métodos. Para estudiar el mecanismo de inducción de COX-2 por la gp120 se utilizó la línea celular SK-N-MC. Se realizó una PCR cuantitativa para medir ARNm de COX-2 y la expresión de la proteína se midió mediante Western-Blot y técnicas de inmunofluorescencia. Además se realizaron ensayos de transfección transitoria con el plásmido que expresa el gen de la luciferasa dirigido por el promotor de la COX-2 (P2-1900), que incluye la región de -1796 a +104 del gen de COX-2 humano. Para determinar la implicación de diferentes factores de transcripción: NFAT, NF- κ B y AP-1 en la regulación del promotor se realizaron experimentos de cotransfección con el plásmido P2-1900 más una serie de plásmidos que controlan la expresión de proteínas como la p65, la I κ B- α , una forma constitutivamente activa de la calcineurina (Δ CAM-AI), una forma mutante dominante negativa de NFAT (dnNFAT) y una forma dominante negativa de c-jun (dn-cjun). Se analizó el efecto del agente bloqueante de NF- κ B, PDTC, y de varios inhibidores de MAPK sobre la actividad del promotor de la COX-2.

Resultados. Nuestros datos muestran que la gp120 induce tanto ARNm-COX-2 como la propia proteína. Además la gp120 fue capaz de aumentar la actividad del promotor de la COX-2 en las células SK-N-MC. La superexpresión de la forma dn-cjun suprimió la actividad transcripcional del promotor, la superexpresión de la proteína p65 indujo la actividad del promotor de la COX y la de I κ B- α redujo la actividad del promotor inducida por gp120. La cotransfección de P2-1900 plus Δ CAM-AI no produjo inducción, del mismo modo que la cotransfección con el dn-NFAT no inhibió esta actividad. Además demostramos que tanto el PDTC como el inhibidor de MAPKp38, SB202190, redujeron tanto la síntesis de la proteína COX-2 como la actividad del promotor en las células SK-N-MC.

Conclusión: Nuestros resultados muestran que la gp120 aumenta la actividad del promotor de la COX-2 y la expresión de la proteína en células SK-N-MC, asignando un papel determinante a los factores NF- κ B y AP-1.