

UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACEUTICAS



**“Angiotensina II activa el inflammasoma en fibroblastos  
cardiacos”**

**Tesis Presentada a la Universidad de Chile  
para optar al Grado de Doctor en Farmacología**

**Por:**

**Pía de los Ángeles Boza Fuentes**

**Directores de tesis**

**Dr. Guillermo Díaz Araya**

**Dra. Lorena García Nannig**

**Universidad de Chile**

**Santiago- Chile**

**2016**

## Índice

Resumen	18
Summary	20
1. Introducción	22
1.1 Fibroblastos cardiacos	22
1.2 IL-1 $\beta$	22
1.3 Inflamasoma NLRP3	23
1.4 Angiotensina II (Ang II)	28
2. Hipótesis	30
3. Objetivo	30
4. Objetivos específicos	30
5. Materiales y métodos	31

5.1 Materiales	31
5.2 Cultivo celular	31
5.3 Estímulos	32
5.4 Western blot (WB)	32
5.5 Inmunocitoquímica	33
5.6 ELISA IL-1 $\beta$	33
5.7 Actividad de Caspasa-1	34
5.8 Citotoxicidad	34
5.9 Silenciamiento de NLRP3	34
5.10 Inmunoprecipitación (IPP)	34
5.11 Análisis estadístico	35
6. Resultados	36

6.1 Expresión de los componentes de inflamasoma NLRP3 en FC	36
6.1.1 Expresión de pro-IL-1 $\beta$ en los FC	36
6.1.2 Expresión de NLRP3, ASC y pro-caspasa-1 en FC	38
6.2 Activación del inflamasoma en FC: ATP como señal 2	40
6.2.1 Activación de caspasa-1 inducida por ATP	40
6.2.2 Secreción de IL-1 $\beta$ inducida por ATP	41
6.3 Ang II: activador del inflamasoma en los FC	43
6.3.1 Ang II induce la colocación de NLRP3 y ASC	43
6.3.2 Ang II induce la actividad de caspasa-1	49
6.3.3 Ang II induce la secreción de IL-1 $\beta$	50
6.3.4 Citotoxicidad de Ang II	52

6.4 Señalización de Ang II que induce la activación del inflamasoma	53
6.4.1 Losartán previene la activación del inflamasoma mediada por Ang II	53
6.4.2 Participación de PLC y de IP3R en la activación del inflamasoma mediada por Ang II	55
6.4.3 BAPTA-AM previene la activación de caspasa-1 inducida por Ang II.	57
6.5 Ang II induce la activación de NLRP3 y caspasa-1	59
6.6 Ang II induce la secreción de IL-1 $\beta$ por un mecanismo vesicular no clásico	64
7. Discusión	67
8. Conclusiones	78
9. Anexo	79
10. Referencias	91

## Índice de figuras

Fig.1 Activación del inflamasoma NLRP3	27
Fig. 2 Expresión de pro-IL-1 inducida por LPS	37
Fig. 3 Expresión de NLRP3, ASC y caspasa-1 inducidos por LPS	39
Fig. 4 Actividad de caspasa-1 mediada por ATP	41
Fig. 5 Secreción de IL-1 $\beta$ mediada por ATP	42
Fig. 6 Ang II induce la colocalización de NLRP3 y ASC	45
Fig. 7 Actividad de caspasa-1 mediada por Ang II	50
Fig. 8 Secreción de IL-1 $\beta$ mediada por Ang II	51
Fig. 9 Citotoxicidad inducida por Ang II	52
Fig. 10 Losartán previene la activación del inflamasoma inducida por Ang II	54
Fig. 11 PLC e IP3R participan de la activación del inflamasoma inducida por Ang II	56

Fig. 12 BAPTA-AM previene la activación de caspasa-1 inducida por Ang II	58
Fig. 13 El Silenciamiento de NLRP3 impide la activación del inflamasoma en FC tratados con Ang II	61
Fig. 14 La inhibición de caspasa-1 impide la activación del inflamasoma en FC tratados con Ang II.	63
Fig. 15 Ang II induce la secreción de IL-1 $\beta$ por un mecanismo no-clásico de secreción de proteínas.	66
Fig. 16 Modelo propuesto	77
Fig. anexa 1. Expresión de pro-IL-1 inducida por LPS	79
Fig. anexa 2. Expresión de pro-IL-1 $\beta$ inducida por LPS a tiempos largos	81
Fig. anexa 3. Expresión de pro-IL-1 $\beta$ inducida por LPS a tiempos largos	82
Fig. anexa 4. MG-132 disminuye la expresión de pro-IL-1 $\beta$ .	83
Fig. anexa 5. MG-132 disminuye la expresión de pro-IL-1 $\beta$ .	85
Fig. anexa 6. Precipitación conjunta de Ubiquitina y pro-IL-1 $\beta$	86

Fig. anexa 7. Pro-IL-1 $\beta$ es degradada por inducción de autofagia	87
Fig. anexa 8. Pro-IL-1 $\beta$ es degradada por inducción de autofagia	88
Fig. anexa 9: Modelo propuesto	90