

ETEROGENEITA' MORFOLOGICA DI MACROFAGI UMANI DIFFERENZIATI IN VITRO: CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO PROTEICO

Susanna Fiorelli¹, Maura Brioschi¹, Sonia Eligini¹, Elena Tremoli^{1,2}, Susanna Colli², Cristina Banfi¹

¹Centro Cardiologico Monzino I.R.C.C.S, Milano

²Dipartimento di scienze farmacologiche e biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

Sommario: I macrofagi sono cellule del sistema immunitario che svolgono un ruolo fondamentale nella risposta infiammatoria. Partecipano a processi fisiologici e patologici quali l'arteriosclerosi, patologia su base infiammatoria che rappresenta la principale causa di infarto del miocardio, ictus e patologie vascolari periferiche.

I macrofagi sono caratterizzati da un'elevata eterogeneità e plasticità, proprietà evidenziate dalla capacità di acquisire morfologia e funzioni differenti a seconda del tipo di tessuto in cui si differenziano e delle caratteristiche del microambiente. Tale eterogeneità è stata evidenziata anche a livello della placca aterosclerotica, contesto in cui il fenotipo macrofagico prevalente può direzionare la progressione o la regressione della placca stessa.

Esperimenti da noi condotti in precedenza indicano che macrofagi ottenuti dal differenziamento spontaneo di monociti isolati da sangue periferico di soggetti sani sono caratterizzati da due morfotipi prevalenti (tondeggianti ed allungato) che coesistono nella stessa coltura. Lo scopo di questo studio è quello di definire il profilo proteico di tali morfotipi.

Metodi e risultati: I monociti, isolati mediante gradiente di Ficoll-Paque Plus sono stati posti in piastre DuplexDish 50 e coltivati in terreno M199 contenente il 10% di siero autologo. Al 7° giorno, in seguito a fissazione, i due morfotipi sono stati raccolti singolarmente mediante un microdissettore laser (PALM MicroLaser, Zeiss). Da 6000 cellule per ogni singolo morfotipo sono state estratte le proteine che, in seguito, sono state analizzate, in triplicato, mediante nanoUPLC-ESI-qTOF. I due morfotipi hanno mostrato profili proteici differenti: delle 137 proteine identificate, 11 sono presenti esclusivamente nelle cellule tondeggianti e 27 in quelle allungate. Per quanto riguarda le proteine presenti in entrambi i morfotipi, 17 sono più abbondanti nel fenotipo tondeggiante mentre solo una lo è nel fenotipo allungato. In particolare, i profili diversi hanno riguardato proteine coinvolte nel metabolismo lipidico, nella motilità cellulare e nel fenomeno dell' efferocitosi (fagocitosi di cellule apoptotiche).

Conclusioni: I due morfotipi macrofagici (allungato e tondeggiante) mostrano profili proteici differenti. In particolare, il proteoma delle cellule tondeggianti è compatibile con un fenotipo anti-infiammatorio e riparativo. L'identificazione di markers specifici associati ad un singolo morfotipo potrebbe rappresentare un elemento fondamentale per lo sviluppo di approcci farmacologici mirati.