

2011 Octubre, 2(3): 1-1

REGULACIÓN DE LA CONTRACTILIDAD MIOCÁRDICA POR VÍAS DE SEÑALIZACIÓN EPAC-DEPENDIENTES

Lucotti I, Lezcano N, Said M, Vittone L, Mundiña-Weilenmann C

Centro de Investigaciones Cardiovasculares. Cátedra de Fisiología y Física Biológica. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP

E-mail: ilucotti@hotmail.com

Introducción

La estimulación beta-adrenérgica es un modulador importantísimo de la contractilidad cardíaca. Clásicamente los efectos de la estimulación del receptor beta1, se atribuyen al aumento del AMPc, que se produce cuando el agonista se une al receptor y activa a la AC a través de la proteína Gs. Inicialmente los efectos del AMPc se atribuyeron a la activación de la PKA, pero recientemente se conoce que el AMPc puede activar directamente a las proteínas Epac (proteínas que intercambian nucleótidos de guanina en las proteínas Rap 1 y 2). En el corazón, el rol de Epac es poco conocido y todavía existen muchos interrogantes respecto a su función. Se ha visto que la estimulación de Epac por el análogo del AMPc específico 8-(4-clorofenilo)-2'-O-metiladenosina-3'-5'-monofosfato cíclico (8-CPT) genera hipertrofia en miocitos neonatales de rata. Y que la expresión de la proteína aumenta en varios modelos de hipertrofia en animales e incluso en humanos. La estimulación de Epac ha mostrado diferentes efectos en la regulación del Ca^{2+} intracelular en miocitos aislados, provocando tanto un aumento como una disminución del transitorio de Ca^{2+} (CaT).

Objetivos

Estudiar los efectos del activador de Epac, 8-CPT, en miocitos aislados de rata a distintas concentraciones de Ca^{2+} extracelular ($[Ca^{2+}]_o$) y los mecanismos moleculares involucrados.

Materiales y Métodos

Utilizamos miocitos aislados de rata cargados con el indicador fluorescente Fura-2-AM para medir acortamiento y CaT y miocitos cargados con Fluo-4-AM para medir liberación espontánea de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático (RS) a través de los receptores de rianodina (RyR2). En miocitos sin agregado de indicador medimos la fosforilación de proteínas involucradas en el manejo de Ca^{2+} .

Resultados

A 0,5 mM $[Ca^{2+}]_o$, el agregado de 10 μ M 8-CPT aumentó el transitorio Ca^{2+} (CaT) y el acortamiento y disminuyó los $t_{1/2}$ del CaT y del acortamiento significativamente, sin modificar el Ca^{2+} diastólico y la longitud basal. A 1 mM $[Ca^{2+}]_o$ 8-CPT no afectó la contractilidad ni el CaT pero aumentó el Ca^{2+} diastólico (de $1,195 \pm 0,012$ a $1,261 \pm 0,024$, $n=8-12$, $p<0,05$), efecto que se asoció con un aumento de la frecuencia de liberaciones espontáneas de Ca^{2+} del RS (de $3,979 \pm 0,629$ a $6,911 \pm 0,928$, $n=9$). 8-CPT aumentó la fosforilación de la quinasa dependiente de Ca^{2+} y calmodulina (CaMKII) ($171,60 \pm 25,23\%$ del control, $n=5$) y de los sitios de la CaMKII en el RyR2 (Ser2815) ($123,70 \pm 4,21\%$ del control, $n=7$) y en el regulador de la captación de Ca^{2+} por RS, fosfolamban (PLN) (Thr17) ($145,05 \pm 13,88\%$ del control, $n=6$).

Conclusiones

Los resultados sugieren que los efectos de la activación de Epac, dependen del aporte del Ca^{2+} a la célula y del balance entre la retoma y liberación de Ca^{2+} por el RS. El aumento del Ca^{2+} diastólico y la ausencia de efecto inotrópico positivo a 1mM Ca^{2+} indicarían un predominio de la pérdida de Ca^{2+} desde el RS. La vía de señalización de Epac involucra la activación de la CaMKII y sus sustratos. La fosforilación del RyR2, que lleva a la pérdida de Ca^{2+} por el RS, podría ser responsable de los efectos de la estimulación de Epac a Ca^{2+} 1mM.