

## Cambios nucleares y expresión de p62 en la miocardiopatía isquémica y dilatada

Raquel Cortés<sup>a</sup>, Manuel Portolés<sup>b</sup>, Esther Roselló-Lletí<sup>a</sup>, Luis Martínez-Dolz<sup>c</sup>, Luis Almenar<sup>c</sup>, Antonio Salvador<sup>c</sup> y Miguel Rivera<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Cardiología. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

<sup>b</sup>Unidad de Biología y Patología Celular. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

<sup>c</sup>Unidad de Cardiología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

Los objetivos fueron analizar, en el cardiomiocito humano con insuficiencia cardiaca de origen isquémico (MCI) o dilatado (MCD), la estereología nuclear, así como determinar los valores de p62, proteína implicada en el transporte nuclear. Estudiamos 23 corazones humanos, 10 con MCI, 10 con MCD y 3 controles (CNT). Los corazones con MCI y MCD mostraron un aumento en el tamaño nuclear y nucleolar (el 60% y el 66%,  $p = 0,03$ ; el 59%,  $p = 0,02$ ; y el 75%,  $p = 0,03$ , respectivamente), frente al grupo CNT. Los valores de p62 aumentaron en ambas miocardiopatías (MCI, 110%,  $p = 0,01$ ; MCD, 145%,  $p = 0,04$ ). En la MCI, los valores de p62 estuvieron correlacionados con el área del núcleo ( $r = 0,615$ ;  $p = 0,05$ ) y el porcentaje de heterocromatina ( $r = -0,707$ ;  $p = 0,02$ ). En conclusión, los corazones con MCI y MCD mostraron alteraciones en la morfología nuclear. Las cifras de p62 se duplicaron en ambas miocardiopatías y en correlación con alteraciones nucleares en la MCI.

**Palabras clave:** Miocardiopatía. Insuficiencia cardiaca. Proteínas.

### Nuclear Changes and p62 Expression in Ischemic and Dilated Cardiomyopathy

The study's objectives were to investigate nuclear stereology and to determine the level of p62, a protein involved in nuclear transport, in human cardiomyocytes from patients with heart failure due to ischemic cardiomyopathy (ICM) or dilated cardiomyopathy (DCM). We studied 23 human hearts: 10 had ICM, 10 had DCM, and three were from control subjects. The size of the nucleus was significantly increased in ICM and DCM hearts compared with those from controls (by 60% and 66%, respectively,  $P = .03$ ), as was the size of the nucleolus (by 59%,  $P = .02$  and 75%,  $P = .03$ , respectively). In addition, the p62 level was significantly increased in both forms of cardiomyopathy compared with controls (ICM 110%,  $P = .01$ ; and DCM 145%,  $P = .04$ ). In the ICM group, there were correlations between the p62 level and nuclear size ( $r = 0.615$ ,  $P = .05$ ) and between the p62 level and the heterochromatin percentage ( $r = -0.707$ ;  $P = .02$ ). In conclusion, cardiomyocytes from hearts affected by ICM and DCM showed changes in nuclear and nucleolar morphology. The p62 level had doubled in both forms of cardiomyopathy and, in ICM hearts, there was a correlation with nuclear changes.

**Key words:** Cardiomyopathy. Heart failure. Proteins.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

## INTRODUCCIÓN

La progresión de la insuficiencia cardiaca se caracteriza por una serie de mecanismos de compensación, donde intervienen fuerzas hemodinámicas y factores

hormonales y genéticos que alteran el tamaño, la forma y la función del ventrículo<sup>1</sup>. Pese a la importancia del núcleo y del transporte de macromoléculas núcleo-citoplasma<sup>2</sup>, todavía no se ha estudiado su papel en la insuficiencia cardiaca.

Los objetivos de nuestro estudio son analizar en el cardiomiocito humano con insuficiencia cardiaca de origen isquémico (MCI) o dilatado (MCD), la estereología de su núcleo (tamaño y forma, masas de cromatina), y determinar los valores de nucleoporina p62 del complejo de poro nuclear (CPN) implicada directamente en el transporte nuclear<sup>3-5</sup>, y su relación con los distintos parámetros nucleares.

Correspondencia: Dr. M. Portolés Sanz.  
Unidad de Biología y Patología Celular. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe.  
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. España.  
Correo electrónico: portoles\_man@gva.es

Recibido el 14 de febrero de 2007.

Aceptado para publicación el 15 de junio de 2007.

**ABREVIATURAS**

CNT: control.  
 CPN: complejo de poro nuclear.  
 MCD: miocardiopatía dilatada.  
 MCI: miocardiopatía isquémica.

**MÉTODOS****Obtención de muestras**

Corazones humanos explantados, 10 pacientes con MCI ( $54 \pm 4$  años, el 100% varones) y 10 pacientes con MCD ( $52 \pm 6$  años, el 100% varones) (tabla 1), sometidos a trasplante cardiaco. Todos ellos tenían historia clínica, ECG, estudio eco-Doppler y coronariografía, estaban clasificados funcionalmente y en tratamiento.

Las muestras transmuralas de tejido se tomaron del ápex y de la base del ventrículo izquierdo; se mantuvieron en NaCl al 0,9% durante la extracción y se almacenaron a 4 °C por un máximo de 8 h desde la pérdida de la circulación coronaria. Las muestras fueron obtenidas mediante consentimiento informado de los pacientes. El estudio fue aprobado por el comité ético del hospital y se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

**Análisis de microscopía óptica**

Las muestras se fijaron en solución de glutaraldehído (1,5%), formaldehído (1%) y tampón cacodilato 0,05 mol (pH 7,4) durante 60 min a 4 °C, deshidratadas y embebidas en resina epoxi Epon 812. Se obtuvieron cortes semifinos (50  $\mu$ m) teñidos con azul de toluidina al 0,1%, y se observaron a un aumento de  $\times 60$ . Las imágenes ópticas, obtenidas con cámara digi-

tal, se cuantificaron mediante el programa de imagen Scion Image Beta 4.02 (Scion, MD, Estados Unidos).

**Electroforesis y Western blot**

Se homogeneizaron 50 mg de ventrículo izquierdo en un tubo que contenía tampón de muestra. Los homogeneizados se calentaron a 100 °C, se centrifugaron (13.000 rpm, 5 min a TA) y, el sobrenadante obtenido fue alicuotado. El contenido de proteínas se determinó mediante el método de Lowry. Las muestras se separaron mediante electroforesis en geles NU-PAGE Tris-acetato en gradiente 3-8% (Invitrogen). Las proteínas se transfirieron desde el gel a una membrana de nitrocelulosa (diámetro de poro, 0,45 nm). Las membranas se incubaron 2 h con el anticuerpo primario (policlonal IgG de conejo, dilución 1/300. Santa Cruz Biotechnology, Estados Unidos) y, por último, las bandas se visualizaron mediante un anticuerpo secundario IgG anti-conejo conjugado con fosfatasa alcalina y un sistema sustrato (Sigma Aldrich). La cuantificación del *Western blot* se realizó mediante el programa Scion Image Beta 4.02.

**Análisis estadístico**

Los datos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para estudiar la normalidad de las variables; éstas mostraron una distribución normal y se compararon mediante el test de la t de Student. Las diferencias entre los porcentajes se analizaron mediante el test exacto de Fisher. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para determinar la relación entre parámetros estereológicos y las cifras de p62. Se realizó una regresión lineal múltiple introduciendo como variable dependiente los valores de p62 y como independientes: diagnóstico, edad, área del núcleo, heterocromatina (%) y superficie invaginada (%). Se asumió una di-

**TABLA 1. Características clínicas y ecocardiográficas de los pacientes de acuerdo con el tipo de insuficiencia cardiaca**

Variable	Miocardiopatía isquémica (n = 10)	Miocardiopatía dilatada (n = 10)
Pacientes, n	10	10
Edad (años)	$55 \pm 4$	$52 \pm 6$
Sexo (varones/mujeres)	10/0	10/0
Duración de la enfermedad (meses)	$56 \pm 38$	$69 \pm 42$
NYHA	$3,3 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,3$
Fracción de acortamiento (%)	$15 \pm 7$	$16 \pm 8$
Diámetro del ventrículo izquierdo (mm)		
Sistólico	$61 \pm 12$	$65 \pm 10$
Diastólico	$72 \pm 9$	$78 \pm 10$
Índice cardiaco (ml/min/m <sup>2</sup> )	$2.560 \pm 766$	$1.993 \pm 353$
Masa del ventrículo izquierdo (g)	$275 \pm 65$	$346 \pm 98$

NYHA: New York Heart Association.

No hubo diferencias significativas entre los grupos para ninguna de las variables. Los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación estándar.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3015902>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3015902>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)