

## **LA FOSFORILACIÓN DEL CANAL DE RIANODINA (RYR2) POR LA QUINASA DEPENDIENTE DE CA<sup>2+</sup> Y CALMODULINA (CAMKII) ES DETERMINANTE DEL DAÑO MIOCÁRDICO IRREVERSIBLE POR ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN (I/R)**

Autores: Di Carlo MN; Said M; Valverde CA; Mattiazzi A; Salas MA;

### **Resumen**

En el corazón sometido a un prolongado período de isquemia y posterior reperfusión (I/R) los miocitos afectados mueren por necrosis y apoptosis. La CaMKII se activa al inicio de la reperfusión y su inhibición reduce el daño celular. Experimentos previos revelaron que el retículo sarcoplasmático (RS) está involucrado en la vía deletérea.

### **Objetivos**

Objetivo: determinar cual de los sitios del RS fosforilables por CaMKII (treonina 17 de fosfolamban (PLN) o serina 2814 del receptor de rianodina (RyR2) participaban de la injuria irreversible por I/R.

### **Materiales y Métodos**

Se realizaron experimentos en ratones controles C57BL/6, ratones transgénicos (TG) con los sitios fosforilables por CaMKII en PLN y RyR2, sustituido por alanina. i.e. no fosforilables (ratones DM y S2814A respectivamente), y ratones TG con el sitio S2814 sustituido por aspartato i.e. mimetizando una fosforilación constitutiva (ratones S2814D). Corazones aislados y perfundidos se sometieron a I/R global normotérmica (45min/120min). Se determinaron parámetros mecánicos, tamaño de infarto (trifeniltetrazolio), liberación de LDH en el efluente de reperfusión (espectrofotometría) y nivel de apoptosis por medio de la técnica de TUNEL y del cociente entre proteínas pro y antiapoptóticas (Bax/Bcl-2). Los ratones C57BL/6 presentaron un aumento significativo de la fosforilación de los sitios dependientes de CaMKII al comienzo de la reperfusión confirmando la activación de esta quinasa. Comparados con los controles, los DM mostraron un aumento en el área de infarto (WT: 25,06 ± 3,38% vs DM: 50,83 ± 6,54%) y en los niveles de LDH, acompañando un mayor deterioro de la función mecánica. Cuando el RyR2 no pudo ser fosforilado (ratones S2814A) los corazones tuvieron una disminución significativa del área de infarto (S2814A:12,56 ± 1,18 vs WT:25,05 ± 2,34%), de la liberación de LDH, del número de núcleos apoptóticos y del cociente Bax/Bcl-2 con mejoría de la recuperación mecánica. Por el contrario, la fosforilación constitutiva del RyR2 (ratones S2814D) resultó en igual recuperación contráctil que los WT, pero un mayor tamaño de infarto, de liberación de LDH y de apoptosis.

### **Conclusión**

- 1) La fosforilación de PLN sería beneficiosa ya que la ausencia de la misma incrementa el daño (ratones DM)
- 2) La fosforilación del RyR2 favoreciendo la pérdida de Ca en diástole, sería la principal responsable del efecto deletéreo mediado por CaMKII
- 3) Estrategias destinadas a neutralizar esa fosforilación podrían resultar en nuevas herramientas terapéuticas.

Fecha de Recibido: 01-12-13

Fecha de Publicación:20-12-13