

2017 Octubre, 7(1): 1-1

## **CaMKII MEDIA LA APOPTOSIS ASOCIADA CON SEPSIS: ROL DEL RECEPTOR DE RIANODINA (RyR2)**

*Sepúlveda Marisa, Gonano Luis, González Arbelaez Luisa F, Ciocci Pardo Alejandro, Mosca Susana, Vila Petroff Martín.*

*Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Horacio E. Cingolani". Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. marisasepulveda80@gmail.com*

### **Introducción**

Sepsis es una respuesta inflamatoria sistémica asociada a una infección severa que cursa con la pérdida de cardiomiocitos por apoptosis, lo cual contribuye a la falla cardíaca.

Previamente demostramos que la proteína quinasa dependiente de calcio y calmodulina tipo II (CaMKII) promueve disfunción contráctil al fosforilar el receptor de rianodina (RyR2) en el sitio Ser2814 dependiente de CaMKII induciendo un aumento en su probabilidad de apertura y como consecuencia la pérdida de  $Ca^{2+}$  por el retículo sarcoplasmático (RS).

Las alteraciones en la regulación de  $Ca^{2+}$  por el RS juegan un rol importante en la apoptosis. Sin embargo, los mecanismos subcelulares que median la apoptosis en sepsis todavía no están completamente dilucidados.

### **Objetivos**

Examinaremos si la apoptosis asociada con sepsis es mediada por alteraciones en la función del RyR2 dependientes de CaMKII.

### **Materiales y métodos**

Se utilizó un modelo experimental de sepsis denominada CASP (peritonitis provocada por colocación de una cánula en el colon ascendente) y su control Sham. Se usaron ratones silvestres (WT) y mutantes S2814A que tienen el sitio de fosforilación CaMKII-dependiente mutado a alanina y por lo tanto no fosforilable. Los experimentos fueron llevados a cabo en cardiomiocitos aislados, corazón entero y mitocondrias aisladas.

### **Resultados**

Observamos que los corazones de ratones CASP WT tienen aumentada significativamente la activación de CaMKII y en cardiomiocitos aislados de estos ratones observamos un aumento significativo en la liberación espontánea de  $Ca^{2+}$  por el RS medida por microscopía confocal. Por otro lado, evaluamos el grado de despolarización de la membrana interna mitocondrial ya que, la despolarización de esta membrana puede ser inducida por una serie de factores, incluyendo la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  y observamos que el potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\psi_m$ ) de las mitocondrias aisladas de corazones de ratones CASP WT fue significativamente menor que los ratones Sham WT. También observamos en corazones de ratones CASP WT un aumento significativo en la relación de las proteínas pro y anti-apoptóticas Bax/Bcl2 y la liberación de citocromo C, indicativos de apoptosis por vía mitocondrial.

Para examinar si la fosforilación del RyR2 por CaMKII media la apoptosis asociada con sepsis, evaluamos apoptosis en corazones de ratones mutantes S2814A CASP y Sham. Observamos que los corazones de ratones S2814A CASP no tenían aumentados los índices apoptóticos con respecto a los Sham. Finalmente, para confirmar si los RyR2 están involucrados en la apoptosis examinamos si la reducción en la probabilidad de apertura del RyR2 previene la apoptosis inducida por sepsis. Para estabilizar a los RyR2 utilizamos Dantrolene, un compuesto conocido por disminuir la probabilidad de apertura del RyR2. El tratamiento con Dantrolene en ratones CASP WT previno la apoptosis. Estos resultados indican que los RyR2, posiblemente a través del aumento en la pérdida de  $Ca^{2+}$  del RS y la consecuente sobrecarga de  $Ca^{2+}$  mitocondrial, estarían funcionalmente implicados en la apoptosis inducida por sepsis.

### **Conclusiones**

Concluimos que la fosforilación del RyR2 por CaMKII resulta en una pérdida de  $Ca^{2+}$  del RS provocando la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  mitocondrial gatillando así la cascada apoptótica en sepsis. Especulamos que los estabilizadores del RyR2 podrían resultar en una potencial herramienta terapéutica para reducir la disfunción contráctil y la apoptosis asociada con sepsis.