



7002-19. PAPEL DE LOS *TWO-PORE CHANNELS* (TPCS) EN LA AUTOFAGIA CARDIOMIOCITARIA

Vanessa García Rúa¹, Sandra Feijóo-Bandín¹, Diego Rodríguez-Penas¹, Ana Mosquera-Leal¹, Manuel Portolés², Miguel Rivera², José Ramón González-Juanatey¹ y Francisca Lago¹ del ¹Instituto de Investigación Sanitaria Santiago de Compostela (IDIS), Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela (A Coruña) y ²Hospital Universitario La Fe, Valencia.

Resumen

Introducción y objetivos: Se ha demostrado que los TPCs (TPC1 y TPC2) pueden actuar como reguladores de los procesos autofágicos en distintos tejidos, proceso clave en la fisiopatología de distintas enfermedades cardiovasculares, como la insuficiencia cardiaca. Resultados previos de nuestro laboratorio, llevados a cabo en pacientes con insuficiencia cardiaca, han puesto de manifiesto una alteración en la expresión de TPC1 y TPC2, así como de marcadores relacionados con el metabolismo y la viabilidad celular. El remodelado metabólico durante la insuficiencia cardiaca está asociado con cambios en la autofagia, por ello, nuestro objetivo es clarificar el papel de los TPCs en la regulación de la autofagia cardiomiocitaria.

Métodos: Se utilizaron ARNi contra TPC1, TPC2 y TPC1/2 en cultivos primarios de cardiomiocitos neonatales de rata. 24 horas postransfección, los cardiomiocitos se infectaron con el adenovirus GFP-LC3. Se utilizó *western blot* para la identificación de cambios en LC3II/I y p62. GFP-LC3 y p62 también se detectaron mediante microscopia confocal. La microscopia electrónica se llevó a cabo en ratones KO para TPC1/2 frente a wt, para determinar el número y el diámetro lisosomal en tejido cardiaco.

Resultados: El silenciamiento de TPC2 y TPC1/2, pero no de TPC1 induce un incremento en LC3-puncta y en los niveles proteicos de LC3II/I a nivel basal (p 0,001 y p 0,01, respectivamente), mientras que el silenciamiento de TPC1 solo induce cambios estadísticamente significativos en los acúmulos de LC3 y en los niveles proteicos LC3II/I tras 24 horas de privación (p 0,05 y p 0,05, respectivamente). Paralelamente, el silenciamiento de TPC2 y TPC1/2 induce un incremento de los niveles basales de p62 (p 0,01 y p 0,05, respectivamente), mientras que el silenciamiento de TPC1, TPC2 y TPC1/2 induce un incremento en los niveles de p62 tras 24 horas de privación energética (p 0,05). En tejido cardiaco de ratones KO para TPC1/2 se observa un incremento en el número y una disminución en el diámetro de los lisosomas.

Conclusiones: Los TPCs parecen tener un papel clave, no solo durante el inicio de la autofagia, sino también durante la progresión de la misma, como se observa por la acumulación de p62. Todos estos resultados ponen de manifiesto el papel crucial de los TPCs en la regulación de la autofagia cardiomiocitaria, mecanismo implicado en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares.