

Vesículas extracelulares derivadas de pacientes con riesgo cardiovascular: caracterización proteómica y efectos funcionales inflamatorios en cardiomiocitos auriculares

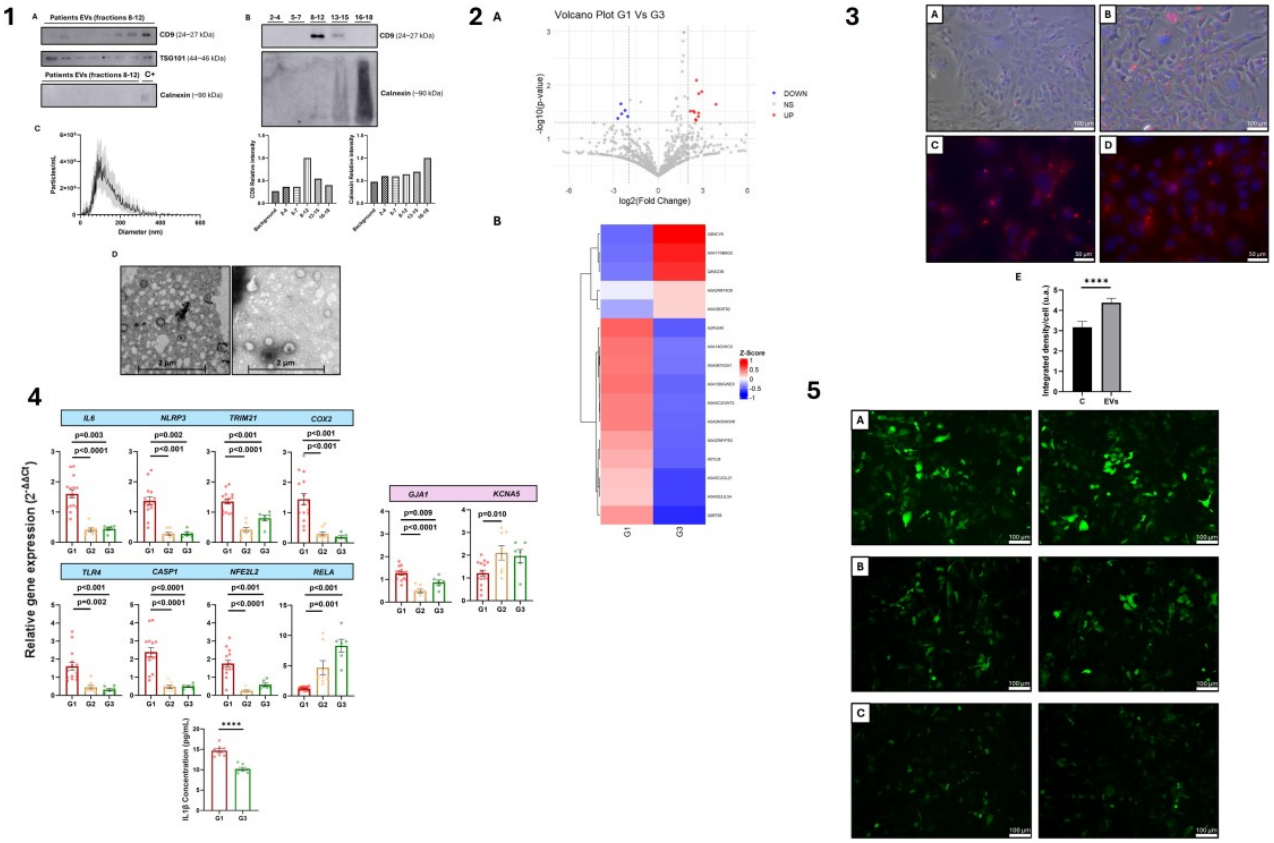
Darío Mandaglio Collados(1), Antonio José Ruiz Alcaraz(2), Cecilia López García(1), María del Pilar Ramos Bratos(1), Francisco Marín Ortuño(1) y Raquel López Gálvez(1) de (1)Departamento de Cardiología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar (Murcia) - España y (2)Departamento de Bioquímica y Biología Molecular B e Inmunología, Facultad de Medicina. Universidad de Murcia, Murcia - España

Introducción: Las vesículas extracelulares (VE) han emergido como mediadores clave de la comunicación intercelular y desempeñan un papel relevante en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares (ECV), a través del intercambio molecular entre células cardiovasculares, lo que las sitúa como posibles biomarcadores y dianas terapéuticas. En este estudio se caracterizó el perfil proteómico de VE aisladas de plasma de pacientes con distinto riesgo cardiovascular, y se evaluó sus efectos proinflamatorios sobre cardiomiocitos en cultivo.

Métodos: Se recogieron muestras de plasma de sujetos clasificados en tres grupos según perfil clínico y puntuación SCORE2: G1 (enfermedad aterosclerótica establecida), G2 (riesgo cardiovascular moderado-alto) y G3 (riesgo cardiovascular bajo). Las VE se aislaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño y se caracterizaron por western blot, nanoparticle tracking analysis y microscopía electrónica de transmisión (Figura 1.1). El perfil proteómico se analizó mediante HPLC-MS/MS. Para evaluar el efecto funcional, cardiomiocitos murinos (modelo in vitro de cardiomiocitos auriculares adultos) fueron tratados con VE de cada grupo. La internalización de las VE se evaluó mediante tinción con PKH26 y microscopía de fluorescencia. Se evaluó la expresión génica (RT-qPCR), la liberación de citoquinas (ELISA) y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (fluorescencia).

Resultados: El análisis proteómico identificó 1708 proteínas en las VE, 16 mostraron diferencias significativas entre G1 y G3 (11 aumentadas y 5 reducidas) (Figura 1.2), vinculadas a regulación transcripcional del ARN. Los cardiomiocitos HL-1 internalizaron las VE de todos los grupos (Figura 1.3), aunque solo las de G1 indujeron mayor expresión de los genes inflamatorios (IL6, NLRP3, TRIM21, COX2, TLR4, CASP1, NFE2L2 y RELA; $p<0,05$) y alteraron genes estructurales (KCNA5 y GJA1; $p<0,05$). Los niveles de IL-1? fueron significativamente superiores en células tratadas con VE de G1 ($p<0,0001$) (Figura 1.4), junto con un aumento no significativo de ROS (Figura 1.5).

Conclusiones: Las VE de pacientes con ECV establecida presentan una firma proinflamatoria, con efectos funcionales sobre los cardiomiocitos. Estos hallazgos apoyan su potencial como biomarcadores de riesgo cardiovascular y como mediadores activos en la comunicación intercelular implicada en la progresión de las ECV.


1
Patients EVs (fractions 8-12)
CD9 (24–27 kDa)
TSG101 (44–46 kDa)
Calnexin (~90 kDa)
C+
2-4
5-7
8-12
13-15
16-18
Particles/mL
Diameter (nm)
2 µm
2
Volcano Plot G1 Vs G3
-log10(p-value)
log2(Fold Change)
DOWN
NS
UP
Z-Score
G1
G3
3
C
EVs
Integrated density/cell (u.a.)
****
4
IL6
NLRP3
TRIM21
COX2
TLR4
CASP1
NFE2L2
RELA
GJA1
KCNA5
Relative gene expression (2^-ΔΔCt)
IL1β Concentration (pg/mL)
5
100 µm
50 µm