

Proteómica e hipertrofia cardíaca

M. Vázquez-Carrera

Unidad de Farmacología. Departamento de Farmacología y Química Terapéutica. Facultad de Farmacia.
Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

La hipertrofia cardíaca aparece en respuesta a diversas enfermedades como la hipertensión arterial, la isquemia o la insuficiencia valvular. Aunque inicialmente el desarrollo de este proceso puede ser beneficioso, normalizando el estrés sobre la pared y manteniendo una función cardíaca normal, su mantenimiento durante tiempo prolongado es una de las principales causas de insuficiencia cardíaca y de muerte súbita¹. Además, la hipertrofia cardíaca es un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular, ya que incrementa la mortalidad cardiovascular más de 2 veces^{1,2}.

Los mecanismos moleculares que conducen a la hipertrofia cardíaca son muy complejos e implican a numerosos genes y procesos celulares³. Este hecho ha dificultado el descubrimiento de los mecanismos causantes de la aparición de estas patologías y, en consecuencia, el desarrollo de nuevos fármacos con capacidad para prevenir, retrasar o incluso revertir la hipertrofia cardíaca. Por ello, no resulta extraño que el actual arsenal terapéutico para tratar la hipertrofia cardíaca incluya tan sólo vasodilatadores o reductores de la poscarga cardíaca, mientras que los tratamientos dirigidos al miocardio son escasos. El descubrimiento del genoma humano ha proporcionado nuevas herramientas para entender la complejidad de los procesos biológicos. Así, tal como ya se comentó en el editorial del número de septiembre-octubre de 2004 de esta Revista, los *arrays* de ADN complementario han permitido estudiar el perfil de expresión del ARN mensajero (ARNm).

Correspondencia: Dr. Manuel Vázquez-Carrera.
Unidad de Farmacología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Barcelona.
Avda. Diagonal, 643. 08028 Barcelona. España.
Correo electrónico: mvazquezcarrera@ub.edu

Recibido el 2 de noviembre de 2004 y aceptado el 7 de noviembre de 2004.

Sin embargo, el producto final elaborado a partir de la información contenida en el genoma humano son las proteínas, las moléculas responsables de todas las formas y funciones biológicas. Por ello, parece lógico estudiar estas proteínas, que además presentan una serie de características que las dotan de una importancia capital. Así, las proteínas son estructuralmente mucho más complejas (con estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria) que los genes que las codifican y presentan diversas funciones bioquímicas que dependen de su estructura. Además, están sometidas a cambios postransducciónales (fosforilación, proteólisis, oxidación, etc.) que a menudo proporcionan productos con funciones diferentes. Toda esta panoplia de cambios en la estructura y en la función de las proteínas añade una increíble complejidad al genoma humano, con lo que se estima que el número de proteínas es de 6 a 7 veces superior al de genes⁴. En consecuencia, la diversidad y la complejidad que distinguen a los diferentes organismos parecen ir más allá del número de genes, por otra parte muy similar entre el ser humano y organismos mucho más simples, y se atribuye actualmente a lo que se considera el equivalente proteico del genoma, el proteoma. La proteómica se define, de forma paralela a la genómica, como la secuencia, la modificación y la función de todas las proteínas en un sistema biológico. Esta nueva ciencia se encuentra aún en sus inicios, pero puede complementar a otras técnicas como los *arrays* de ADN complementario. En cualquier caso, aunque los actuales *microarrays* permiten estudiar decenas de miles de genes simultáneamente, no pueden sustituir a la proteómica, puesto que la correlación entre los valores de ARNm y la abundancia de la correspondiente proteína es muy escasa⁵. Además, la proteómica presenta la gran ventaja de permitir el análisis de cambios postransducciónales que no se pueden determinar con el simple análisis del ARNm.

La aplicación de la proteómica a las enfermedades cardíacas, y en concreto a la hipertrofia e insuficiencia cardíacas, puede proporcionar nuevos conocimientos acerca de los mecanismos celulares implicados en la disfunción cardíaca y permitir el descubrimiento de nuevos marcadores diagnósticos y terapéuticos. En el presente número de CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS, Lázaro et al⁶ comunican los primeros resultados de un estudio en el que a través de la proteómica se analiza la expresión de proteínas en corazones de ratas espontáneamente hipertensas con hipertrofia cardíaca. Habitualmente, en los estudios de proteómica se utiliza una metodología con la que se pretende conseguir la separación de las proteínas, su detección e identificación y, si es posible, caracterizar la naturaleza y la posición de las modificaciones proteicas. En el estudio de Lázaro et al⁶, la separación de proteínas se realizó por la técnica más habitual, la electroforesis bidimensional en gel de poliacrilamida, que separa las proteínas en su primera dimensión en función de su carga (punto isoelectrónico) en condiciones desnaturalizantes, seguida de una separación según la masa molecular relativa de las proteínas (segunda dimensión). La detección y visualización de las proteínas se realizó mediante tinción de plata, que permite su posterior identificación por espectrometría de masas. Aunque la proteómica puede parecer sencilla conceptualmente, en la práctica supone todo un desafío técnico. Uno de los inconvenientes iniciales en los estudios de proteómica era la dificultad para separar proteínas cuando se empleaban geles bidimensionales con un rango de pH amplio (de 3 a 10). Para solucionar este problema, en los últimos años se ha desarrollado el uso de geles de gradientes de pH inmovilizado para la separación en la primera dimensión. La utilización de geles con diferentes rangos de pH denominados "zoom gel", como el empleado por los autores del estudio, presenta la ventaja de incrementar la resolución en determinadas regiones del gel, con lo que causa un efecto de zoom. Con estas y otras soluciones se consigue incrementar la resolución de proteínas y, por lo tanto, detectar proteínas poco abundantes, así como modificaciones de proteínas que de otra forma serían indetectables⁷.

En los estudios de proteómica y transcriptómica (determinación de valores de ARNm) realizados en la insuficiencia cardíaca, se han encontrado alteraciones en los niveles de expresión de genes que se pueden agrupar en diferentes familias, con genes que codifican: *a)* proteínas del citosqueleto; *b)*

proteínas que participan en el metabolismo energético y mitocondrial; *c)* proteínas asociadas con respuestas de estrés; *d)* proteínas implicadas en la síntesis proteica, y *e)* proteínas asociadas con la degradación y el desensamblaje proteico⁸⁻¹³. En el estudio de Lázaro et al⁶ la utilización de un gel bidimensional acotado a un pH de 4-7 permitió identificar 432 señales (*spots*), de las cuales 72 estaban alteradas (17%), en comparación con los animales sin hipertrofia cardíaca. En este estudio se presenta la identificación de 2 de las proteínas alteradas, la tropomiosina 1 de cadena alfa y el precursor mitocondrial de la citocromo oxidasa Va. Ambas proteínas se incluyen en las familias de proteínas alteradas en la insuficiencia cardíaca. Así, la primera de ellas es una proteína del citosqueleto, mientras que la segunda está implicada en la generación de energía mitocondrial o adenosintrifosfato. Además de la incorporación de la proteómica al estudio de la hipertrofia cardíaca, otro de los puntos destacables del estudio de Lázaro et al⁶ es la utilización de ratas hipertensas con hipertrofia cardíaca, sin que todavía se haya instaurado la insuficiencia cardíaca. De esta forma se pueden descubrir nuevos marcadores diagnósticos y terapéuticos para tratar la hipertrofia cardíaca, lo que puede ser útil para evitar su progresión hacia la insuficiencia cardíaca.

Por último, a pesar de las numerosas ventajas de la proteómica, el objetivo final de esta técnica debe ser la caracterización de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de las diferentes enfermedades. Sin embargo, actualmente tanto la transcriptómica como la proteómica son todavía técnicas descriptivas que proporcionan inventarios de genes y proteínas asociados con una determinada enfermedad, en este caso la hipertrofia cardíaca. Sin embargo, posteriormente se debe realizar un esfuerzo considerable para investigar las implicaciones funcionales de los cambios observados, para lo cual es necesario utilizar métodos de investigación más tradicionales.

Bibliografía

- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*. 1990;322:1561-6.
- Dekkers C, Treiber FA, Kapuku G, Van Den Oord EJ, Sneider H. Growth of left ventricular mass in African American and European American youth. *Hypertension*. 2002;39:943-51.
- Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol*. 2003;65:45-79.
- Loscalzo J. Proteomics in cardiovascular biology and medicine. *Circulation*. 2003;108:380-3.

5. Gygi SP, Rochon Y, Franzia BR, Aebersold R. Correlation between protein and RNA abundance in yeast. *Mol Cell Biol*. 1999;19:1720-30.
6. Lázaro A, Gallego-Delgado J, Osende J, Barberas MG, Durán MC, Vivanco F, et al. Expresión diferencial de proteínas en el corazón de ratas espontáneamente hipertensas con hipertrofia cardíaca. *Clin Invest Arterioscl*. 2005;17:1-9.
7. McGregor E, Dunn MJ. Proteomics of heart disease. *Hum Mol Genet*. 2003;12:R135-R44.
8. Yang J, Moravec CS, Sussman MA, DiPaola NR, Fu D, Hawthorn L, et al. Decreased SLIM1 expression and increased gelsolin expression in failing human hearts measured by high-density oligonucleotide arrays. *Circulation*. 2000;102:3046-52.
9. Barrans JD, Stamatou D, Liew C. Construction of a human cardiovascular cDNA microarray: portrait of the failing heart. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;280:964-9.
10. Hwang JJ, Allen PD, Tseng GC, Lam CW, Fananapazir L, Dzau VJ, et al. Microarray gene expression profiles in dilated and hypertrophic cardiomyopathic end-stage heart failure. *Physiol Genomics*. 2002;10:31-44.
11. Tan FL, Moravec CS, Li J, Apperson-Hansen C, McCarthy PM, Young JB, et al. The gene expression fingerprint of human heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:11387-92.
12. Barrans JD, Allen PD, Stamatou D, Dzau VJ, Liew CC. Global gene expression profiling of end-stage dilated cardiomyopathy using a human cardiovascular-based cDNA microarray. *Am J Pathol*. 2002;160:2035.
13. Boheler KR, Volkova M, Morrell C, Garg R, Zhu Y, Margulies K, et al. Sex- and age-dependent human transcriptome variability: implications for chronic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:2754.