

Papel de la hiperfosfatemia en la sarcopenia: Homeostasis proteica y senescencia

Patricia Sosa Callejas^{*1}, Nuria Troyano¹, Inés Mora³, Diana Medrano², Patricia Plaza¹, Mercedes Griera¹, Marco Hatem¹, Gemma Olmos¹, Susana López², M^a Piedad Ruiz-Torres¹

¹ Dpt Biología de Sistemas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Alcalá and Unidad de investigación, ² Fundación para la Investigación Biomédica, Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. ³ RedinRen, Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Spain. Email: patricia.sosacalle@gmail.com.

I Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2016. 15-17 de marzo, 2016. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España.

Palabras clave: Sarcopenia; senescencia; hiperfosfatemia; mioblasto; enfermedad renal crónica.

Resumen

INTRODUCCIÓN. Se ha descrito un aumento en la concentración sérica de fosfato en la enfermedad renal crónica y en el envejecimiento. Una patología asociada en ambos casos es la sarcopenia, caracterizada por la pérdida de masa y fuerza muscular, que puede ser debida, en parte, a la pérdida de la capacidad regenerativa en el músculo. El objetivo del trabajo fue estudiar si la hiperfosfatemia induce la pérdida de la capacidad regenerativa muscular debido al aumento de la senescencia de los mioblastos y los mecanismos implicados en este fenómeno. **MATERIALES Y MÉTODOS.** Se utilizaron mioblastos C2C12 de ratón en cultivo. Las células fueron tratadas con 10 mM de β -glicerofosfato (BGP) durante 24, 48 o 72 horas como donador de fósforo extracelular. Se analizó la expresión de genes de senescencia como p16, p21 y p53 mediante western blot. El porcentaje de células senescentes identificado por la actividad de β -galactosidasa asociada a la senescencia, fue analizado por microscopía confocal utilizando el sustrato, 5-dodecanoylamino fluoresceína di-beta-D-galactopyranosido. Para demostrar una relación directa entre hiperfosfatemia y senescencia se utilizó ácido fosfonofórmico, inhibidor del transportador Na-Pi. Se estudió el efecto del BGP sobre los distintos sistemas de degradación proteica, midiendo la actividad del proteosoma, mediante el uso de un sustrato fluorogénico específico, y la autofagia, analizando los niveles de expresión de p62 y LC3I respecto a LC3II, mediante western blot. La actividad total de calpainas, mediante el uso de un sustrato fluorogénico específico y la expresión de calpainas 1, 2 y 3 analizada por western blot. Para establecer si el efecto sobre los sistemas de degradación proteica fue responsable de la senescencia inducida por BGP se midió está en presencia de 1 μ M calpeptina, inhibidor de calpainas, y 50nM de rapamicina, activador de la autofagia. **RESULTADOS.** BGP incrementó la expresión de p53, así como el porcentaje de células senescentes. El uso del ácido fosfonofórmico suprimió este incremento durante el tratamiento con BGP, lo que indica que la senescencia fue dependiente del aumento de BGP. Se observó que el BGP induce una disminución de la actividad del proteosoma y un aumento de p62 y LC3I/LC3II, lo que se corresponde con una disminución de la autofagia. Respecto a la actividad total y la expresión de calpainas 1, 2 y 3 el BGP induce un incremento en ambos valores. La adición de calpeptina inhibió el aumento en p53, lo que indica que la vía de las calpainas está relacionada con el efecto senescente del BGP. Cuando se procedió a la activación de la autofagia con rapamicina se comprobó que no se producían los aumentos de genes senescentes con BGP, indicando que la autofagia jugó un papel central en la inducción de la senescencia. **CONCLUSIÓN.** El aumento en la concentración de fósforo extracelular induce senescencia en los mioblastos de músculo esquelético, estas células muestran un incremento en la actividad de calpaina y una disminución de la actividad proteolítica del proteosoma y la autofagia. Esta alteración en la homeostasis de proteínas está implicada en la inducción de senescencia en los mioblastos y este podría ser un mecanismo involucrado en la progresión de la sarcopenia ligada a envejecimiento o enfermedad renal crónica.

1. N. Troyano et al. Hyperphosphatemia induces cellular senescence in human aorta smooth muscle cells through integrin linked kinase (ILK) up-regulation. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2015
2. S. Burattini et al. C2C12 murine myoblast as a model of skeletal muscle development: morpho-functional characterization. *European Journal of Histochemistry*, 2004.
3. Nasser Al-Shantia et al. Activated Lymphocytes Secretome Inhibits Differentiation and Induces Proliferation of C2C12 Myoblasts. *Cell Physiol Biochem* 2014; 33:117-128

Cita: Patricia Sosa Callejas, Nuria Troyano, Inés Mora, Diana Medrano, Patricia Plaza, Mercedes Griera, Marco Hatem, Gemma Olmos, Susana López, M^a Piedad Ruiz-Torres (2016) Papel de la hiperfosfatemia en la sarcopenia: Homeostasis proteica y senescencia. Comunicación oral. Actas del I Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2016. 15-17 de marzo, 2016. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España. *Dianas* 5 (1): e20160352. ISSN 1886-8746 journal.dianas.e20160352. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

Copyright: © 2016 Patricia Sosa Callejas et al. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>