

Envejecimiento cardiaco humano: transcriptómica y desarrollo de modelos celulares de envejecimiento

Laura García Mendívil^{1,2}, Natalia Hernández Bellido^{1,2}, Marcos Sánchez Barat^{1,2},
María Pérez Zabalza^{1,2}, Elisa Garrido Huéscar^{1,2}, Juan Carlos Oliveros³, Rafael Torres
Pérez³, Estel Ramos Marquès^{1,2}, Esther Pueyo^{1,2,4}, Laura Ordovás^{1,2,5}

¹ Biomedical Signal Interpretation and Computational Simulation (BSICoS)
Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)
Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.
Tel. +34-976762707, e-mail: lgmendivil@unizar.es

²BSICoS, IIS Aragón, Zaragoza

³Centro Nacional de Biotecnología-CSIC

⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería,
Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

⁵Fundación ARAID

Resumen

Pese a la relevancia de la **edad** como factor de riesgo de las **enfermedades cardiovasculares**, sus bases moleculares y funcionales están poco caracterizadas en humanos. Para mejorar esta comprensión hemos estudiado su **dinámica transcripcional** cronológica y biológica en ventrículo izquierdo humano y hemos desarrollado un **modelo de envejecimiento celular cardiaco**.

Objetivo

La edad es uno de los principales factores de riesgo que contribuye al desarrollo de enfermedades cardiovasculares. El envejecimiento causa una serie de cambios estructurales y funcionales en el corazón regulados a nivel molecular. Esta base molecular está pobremente caracterizada en la especie humana debido a la escasez de muestras de tejido y de modelos humanos que imposibilitan estudios longitudinales. Nuestro objetivo es estudiar la dinámica del transcriptoma asociado al envejecimiento del ventrículo izquierdo humano según la edad cronológica (EC) y la edad biológica (EB), y establecer modelos celulares que recapitulen los mecanismos del envejecimiento cardiaco para posteriormente poder llevar a cabo ensayos funcionales sobre ellos.

Materiales y métodos

Se utilizaron datos de RNAseq de ventrículo izquierdo de 132 varones (20-70 años) de la base de

datos GTEX cuya causa de muerte no estaba relacionada con las enfermedades cardiovasculares. Para caracterizar los principales cambios funcionales en el transcriptoma identificando funciones enriquecidas o deprimidas con la edad, se realizó un análisis de enriquecimiento de genes (GSEA) comparando individuos jóvenes y viejos clasificados por su EC o EB. Para determinar la relación de la edad con cambios estructurales en el ventrículo, se analizó la acumulación de la fibrosis con la edad cronológica o biológica utilizando técnicas de procesado de imágenes histológicas (Fig.1). Para complementar el análisis transcripcional, se desarrolló una línea celular de células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC) que contiene un sistema inducible de envejecimiento basado en la expresión de progerina (Miller 2013). Este factor se activó después de que las hiPSC fueran diferenciadas a cardiomiocitos. Actualmente se está realizando su caracterización mediante análisis de la expresión génica y de proteína (western blot e inmunofluorescencia).

Resultados

El análisis basado en la EC mostró funciones enriquecidas y deprimidas consideradas signos de envejecimiento bien establecidos (López-Otín 2013). El estudio basado en la EB reprodujo los resultados obtenidos con la EC y, además, reveló otras funciones cardiacas deprimidas, entre otros procesos relevantes, que no habían sido detectadas por la EC (Fig. 2). Además, la EB correlaciona en mayor

medida con el grado de fibrosis cardiaca que la EC. Estos resultados, junto con los reportados en un estudio más amplio publicado recientemente (Ramos-Marqués 2021), indican que la EB podría representar mejor los cambios moleculares y estructurales que la EC en el ventrículo izquierdo humano. Mediante ingeniería genética se ha generado una línea hiPSC de sobre-expresión inducible de progerina. Tras la inducción de progerina en cardiomiocitos derivados de hiPSC, los datos preliminares obtenidos muestran características asociadas a la edad, como el incremento de marcadores de senescencia celular (Fig.3).

Conclusiones

Tanto los cambios transcriptómicos asociados a los procesos funcionales como la relación con la fibrosis

cardiaca en el ventrículo izquierdo humano se explican mejor a través de la EB que de la EC. Nuestro modelo humano *in vitro* de envejecimiento biológico presenta potencial para replicar los cambios cardiacos asociados a la edad observados *in vivo*.

Referencias

- [1]. MILLER J.D. et al. Human iPSC-Based Modeling of Late-Onset Disease via Progerin-Induced Aging. *Cell Stem Cell*. 2013 Dec 5;13(6):691-705
- [2]. LÓPEZ-OTÍN C. et al. The Hallmarks of Aging. *Cell* 2013 Jun 6;153(6):1194-217
- [3]. RAMOS-MARQUÉS E. et al. Chronological and biological aging of the human left ventricular myocardium: Analysis of microRNAs contribution. *Aging Cell* 2021 Jul;20(7):e13383

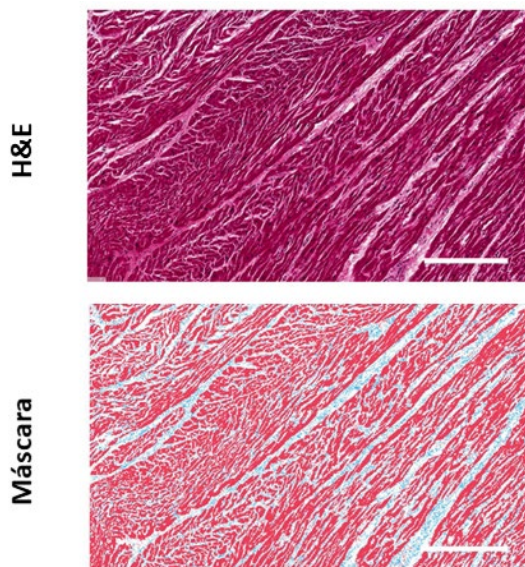


Fig 1. Imagen representativa de la tinción hematoxilina-eosina (H&E) de ventrículo izquierdo humano (arriba). Máscara correspondiente a la imagen H&E con los miocitos en rojo y la matriz extracelular en azul (abajo). La barra de escala equivale a 300 µm.

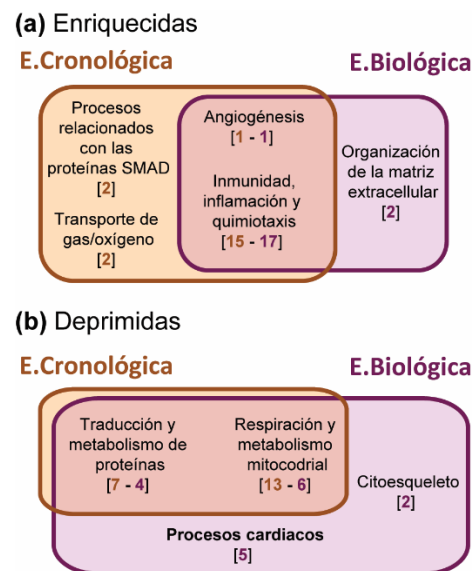


Fig. 2. Análisis de funciones enriquecidas (a) y deprimidas (b) en individuos biológica y cronológicamente viejos. Los números coloreados entre paréntesis indican el número de procesos biológicos incluidos en las funciones biológicas representadas en la figura.

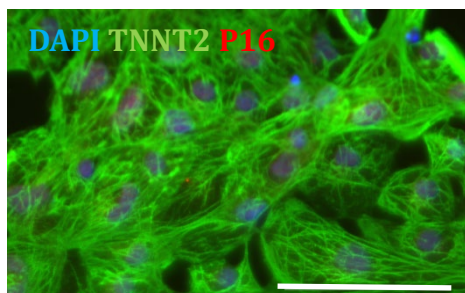


Fig. 3. Inmunofluorescencia del marcador de cardiomiocitos troponina T tipo 2 (*TNNT2*) y el marcador de senescencia celular P16 (*CDKN2A*) en un cultivo control (izquierda) e inducido (derecha). Las barras de escala equivalen a 100 µm.