

Resumen #140

Expresión del eje miodiferenciador myocd/srf en células musculares lisas prostáticas y su alteración en respuesta a lps.

¹Leimgruber C, ¹Quintar AA, ¹Peinetti N, ²Miano J, ¹Maldonado C

¹Centro de Microscopía Electrónica. INICSA-CONICET-Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.; ²Aab Cardiovascular Research Institute. University of Rochester.

Área:

Básica

Resumen:

La dediferenciación de las células musculares lisas prostáticas (CMLp) se ha reportado en el desarrollo de cáncer, hiperplasia nodular y prostatitis, indicando la relevancia del fenotipo normal en la homeostasis glandular. El sistema Miocardina/Factor de respuesta al suero (MYOCD/SRF) es responsable de la inducción de genes contráctiles y se ha descrito principalmente en CML vasculares; sin embargo, no se ha estudiado en próstata. Recientemente, demostramos que el estímulo inflamatorio con lipopolisacárido de *Escherichia coli* (LPS) induce dediferenciación de CMLp por lo que el sistema MYOCD/SRF, podría estar implicado en este mecanismo. Nuestro objetivo fue analizar la expresión de MYOCD/SRF en CMLp y su modificación en respuesta a los cambios fenotípicos inducidos por LPS. Cultivos primarios de CMLp de ratas Wistar se estimularon con 1ug/ml de LPS (CMLp-LPS) o su vehículo (CMLp-Ctrol) por 48hs y procesaron para determinar la expresión de MYOCD/SRF por RT-PCR y qPCR. Se analizó la expresión de marcadores de fenotipo muscular alfa-actina de músculo liso (ACTA2) y calponina, y de fibroblastos vimentina por inmunofluorescencia y western blot. Análisis estadístico ANOVA-TUKEY. Las CMLp-Ctrl expresaron MYOCD/SRF, fueron positivas para ACTA2 y calponina y negativas para vimentina, indicando un fenotipo muscular diferenciado. LPS disminuyó la expresión de MYOCD y SRF ($p<0,01$), correlacionándose con disminución del nivel de ACTA2 ($p<0,01$) y calponina ($p<0,001$) e incremento de vimentina ($p<0,01$), indicando pérdida de fenotipo contráctil. Además, LPS indujo expresión de metaloproteasa 2 MMP2 ($p<0,05$) y tenascina-C ($p<0,05$) ambos marcadores de estroma reactivo, que junto a la co-expresión de ACTA2 y vimentina son características de miofibroblastos. Estos hallazgos indican que el eje MYOCD/SRF está presente en las CMLp y estaría involucrado en el mantenimiento del fenotipo contráctil. Asimismo, su expresión se altera ante la respuesta de las CMLp a LPS adquiriendo características de miofibroblastos de estroma reactivo.

Palabras Clave:

Células musculares lisas prostáticas-dediferenciación-LPS-MYOCD/SRF

Expression of the myodifferentiator axis myocd/srf in prostatic smooth muscle cells and the alteration induced by lps

¹Leimgruber C, ¹Quintar AA, ¹Peinetti N, ²Miano J, ¹Maldonado C

¹Centro de Microscopía Electrónica. INICSA-CONICET-Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.; ²Aab Cardiovascular Research Institute. University of Rochester.

Abstract:

Prostate smooth muscle cells (pSMC) dedifferentiation has been implicated in the development and/or maintenance of cancer, benign hyperplasia and prostatitis, indicating the importance of the normal muscular phenotype in prostate homeostasis. The Myocardin/Serum Response Factor (MYOCD/SRF) system regulates SMC-specific gene expression and it was mainly studied in vascular SMC but not in pSMC. Considering that our lab recently demonstrated dedifferentiation of pSMC induced by an inflammatory stimulus with *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS), we hypothesize that MYOCD/SRF could be involved in this process. The aim of this work was to analyze the expression of MYOCD/SRF in pSMC and its modifications in response to the phenotypic changes induced by LPS. Primary pSMC cultures from Wistar rats were stimulated with LPS (1ug/ml) (pSMC-LPS) or its vehicle (pSMC-Ctrol) for 48h. After treatment, the cells were processed to determine the expression of MYOCD/SRF by RT-PCR and qPCR. Moreover, the expression of smooth muscle phenotypic markers, such as smooth muscle alpha-actin (ACTA2) and calponin, and the fibroblastic marker vimentin were analyzed by western blot and immunofluorescence. Statistical analysis was performed by ANOVA-TUKEY. pSMC-Ctrol expressed MYOCD/SRF and were positive for ACTA2 and calponin and negative for vimentin, demonstrating a well-differentiated muscle phenotype. In contrast, after LPS challenge pSMC showed significantly less expression of MYOCD and SRF ($p<0,01$), which correlated with a decrease in ACTA2 ($p<0,01$) and calponin ($p<0,001$) levels and an increase in vimentin ($p<0,01$), indicating the loss of the contractile profile. Moreover, LPS induced metalloprotease-2 (MMP-2) ($p<0,05$) and tenascin-C ($p<0,05$) expression, both reactive stroma markers, and together with the co-expression of ACTA2 and vimentin indicates a myofibroblastic phenotype. Taking together, these data demonstrate that MYOCD/SRF system is present in pSMC and could be involved in the contractile phenotype maintenance. Additionally, MYOCD/SRF expression is altered in pSMC after LPS, which acquires the myofibroblast features of the reactive stroma.

Keywords:

Prostatic smooth muscle cell-dedifferentiation-LPS-MYOCD/SRF