

2010 Octubre, 2(1): 1-

LA DISMINUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL NHE-1 POR SILDENAFIL (SIL) SE DEBE AL AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA PP1.

Autores: Yeves AM; Garcarena CD; Nolly MB; Chiappe de Cingolani GE; Pérez NG; Ennis IL, Cingolani HE.
Lugar de Trabajo: Centro de Investigaciones Cardiovasculares, UNLP. CONICET-La Plata.
e-mail de contacto (IMPORTANTE):alemy21@yahoo.com.ar

Introducción

El intercambiador Na^+/H^+ (NHE-1) es una proteína integral de membrana que participa en la regulación del pH_i del miocardio, debido a que cataliza el intercambio electroneutro de un H^+ intracelular por un Na^+ extracelular. El NHE-1 tiene un rol importante en el daño por isquemia y reperfusión y en el remodelamiento del miocardio después del infarto, ya que se le atribuye el aumento del Ca^{+2} intracelular a través de la activación del modo reverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$. Recientemente, nosotros demostramos que sildenafil (SIL, inhibidor de la fosfodiesterasa 5A, PDE5A) protege al corazón del remodelamiento postinfarto en ratas con oclusión de la arteria coronaria, y esta protección está asociada con inhibición del NHE-1.

Objetivos

Determinar la vía de señalización intracelular por la cual la inhibición de PDE5A produce inhibición del NHE-1 en miocitos ventriculares aislados de gato.

Materiales y métodos

Los miocitos ventriculares aislados de gato se cargaron con el indicador BCECF-AM para la determinación del pH_i intracelular (pH_i). La actividad del NHE-1 (J_{H^+} , mmol/L/min) se determinó durante la recuperación del pH_i luego de una carga ácida inducida por un prepulso de amonio, en ausencia de bicarbonato. Las intervenciones farmacológicas se realizaron a pH_i 6.8. Por Western blot se determinó la fosforilación de las quinasas ERK1/2, p90RSK y del NHE-1. La fosforilación del NHE-1 se estimó usando un anticuerpo anti 14-3-3 que se une al sitio fosforilado Ser 703 del NHE-1. Los resultados se normalizaron con anticuerpos de las formas no fosforiladas de dichas quinasas y del NHE-1.

Resultados

La inhibición de PDE5A con SIL (1 $\mu\text{mol/L}$) o EMD3605227/5 (0.1 $\mu\text{mol/L}$) disminuyó el J_{H^+} de 2.15 ± 0.18 , $n=10$ (control) a 1.24 ± 0.17 , $n=10$ y a 1.31 ± 0.16 , $n=6$ ($P < 0.01$) respectivamente. La inhibición de PKG con KT5823 (1 $\mu\text{mol/L}$) y de PP1 y PP2A con ácido okadaico (OKA) 100 nmol/L revirtió el efecto de SIL (J_{H^+} : 2.13 ± 0.27 , $n=12$ y 2.97 ± 0.39 , $n=10$, respectivamente). Inhibiendo solamente la PP2A con OKA 1 nmol/L o endothall (inhibidor específico de PP2A, 100 $\mu\text{mol/L}$) no se modificó el efecto de SIL (1.34 ± 0.21 , $n=12$ y 0.94 ± 0.16 , $n=10$ respectivamente). La acidosis aumentó la fosforilación de ERK1/2, p90RSK y del NHE-1 (189 ± 23 %, $n=11$, 187 ± 17 %, $n=11$ y 128 ± 9.5 %, respectivamente, $P < 0.01$ vs control). SIL no modificó la fosforilación de ERK1/2 y p90RSK (187 ± 31 %, $n=7$, 201 ± 30 %, $n=8$, respectivamente), pero disminuyó la fosforilación del NHE1 (82 ± 11.7 %, $n=8$, $P < 0.01$).

Conclusiones

La inhibición de PDE5A disminuye la actividad del NHE1 por una disminución de su fosforilación probablemente por activación de PP1. El SIL podría ser de gran importancia terapéutica en las patologías del miocardio caracterizadas por un aumento de la actividad del NHE-1.