

2010 Diciembre, 2(2): 1-1

## LA INHIBICIÓN DE LA FOSFODIESTERASA 5A (FDE5A) DISMINUYE LA ACTIVIDAD DEL INTERCAMBIADOR $\text{Na}^+/\text{H}^+$ MIOCÁRDICO (NHE1) POR ACTIVACIÓN DE LA FOSFATASA PP2A

Díaz RG, Nolly MB, Massarutti C, Casarini MJ, Garciarena CD, Ennis IL, Cingolani HE, Pérez NG

*Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas – UNLP*

e-mail: *gisel\_laplata@yahoo.com.ar*

### Introducción

Hallazgos previos de nuestro laboratorio sugieren que los inhibidores de la FDE5A disminuyen la actividad del NHE1.

### Objetivo

Nuestro objetivo fue profundizar la caracterización de dicha vía de señalización.

### Materiales y métodos

Se usaron músculos papilares aislados de rata. Se evaluó actividad del NHE1 mediante recuperación del pHi (eflujo de  $\text{H}^+$ :  $J_{\text{H}^+}$ ) post-acidosis transitorias o sostenidas (pulso de amonio). Se midió fosforilación de ERK1/2 (quinasas "upstream" NHE1) y del NHE1 por medio de inmunoprecipitación seguida de western blot.

### Resultados

La inhibición de FDE5A (1  $\mu\text{M}$  sildenafil, S) no alteró el pHi basal (control  $7.28 \pm 0.02$  vs. S  $7.28 \pm 0.02$ ,  $n=4$ ) ni la actividad del NHE1 post-acidosis transitoria [ $J_{\text{H}^+}$ :  $1.01 \pm 0.13$  (control,  $n=5$ ) vs.  $0.95 \pm 0.13$  (S,  $n=4$ ) mM/min], pero disminuyó la recuperación del pHi post-acidosis sostenida [ $J_{\text{H}^+}$   $3.01 \pm 0.14$  (control,  $n=13$ ) vs.  $0.40 \pm 0.15$  (S,  $n=4$ ) mM/min,  $P < 0.05$ ]. La acidosis sostenida aumentó la fosforilación de ERK1/2 ( $155 \pm 11\%$  del control sin acidosis,  $n=10$ ,  $P < 0.05$ ). La inhibición de MEK (10  $\mu\text{M}$  U0126) kinasa activadora de ERK1/2, canceló el aumento de ERK1/2 ( $104 \pm 15\%$   $n=8$ ) y mimetizó el efecto de S sobre la función del NHE1 ( $J_{\text{H}^+}$ :  $0.56 \pm 0.12$  mM/min,  $n=4$ ). Sin embargo, S no canceló la activación de ERK1/2 ( $158 \pm 19\%$ ,  $n=7$ ,  $P < 0.05$ ). Entonces pensamos que S podría estar activando fosfatasas (PP1 y/o PP2A) que directamente defosforilen al NHE1 sin alterar ERK1/2. La inhibición conjunta de PP1 y PP2A (1  $\mu\text{M}$  ácido okadaico) canceló el efecto de S sobre el NHE1 ( $J_{\text{H}^+}$ :  $2.51 \pm 0.14$  mM/min,  $n=4$ ). Similar resultado se obtuvo al inhibir sólo PP2A con ácido okadaico en dosis menor (1 nM) ( $J_{\text{H}^+}$ :  $2.95 \pm 0.16$  mM/min,  $n=4$ ) o más específicamente con endothall (100  $\mu\text{M}$ ) ( $J_{\text{H}^+}$ :  $3.00 \pm 0.16$  mM/min,  $n=4$ ). Consistentemente, la acidosis aumentó la fosforilación del NHE1 ( $139 \pm 6\%$  del control sin acidosis,  $n=4$ ,  $P < 0.05$ ), S canceló este efecto ( $109 \pm 5\%$ ,  $n=4$ ) y endothall revirtió la acción de S ( $136 \pm 6\%$ ,  $n=4$ ,  $P < 0.05$ ).

### Conclusiones

Los resultados permiten sugerir que la inhibición de FDE5A disminuye la fosforilación y la actividad del NHE1 mediante un mecanismo que involucra activación de PP2A.