

2014 Noviembre, 2(2): 11-11

Rol de la quinasa p38 en la inhibición de la actividad del intercambiador Na⁺/H⁺ miocárdico (NHE1) por acción de Sildenafil.

Autores: Romina G. Díaz, María S. Brea, Daiana S. Escudero, Néstor G. Pérez

Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina

Resumen

En un trabajo anterior demostramos que el aumento de actividad de PKG durante una acidosis sostenida inhibe al NHE1 por una desfosforilación del mismo mediada por la fosfatasa PP2A. El objetivo de este trabajo fue estudiar con más detalle esta vía de señalización. Los experimentos se hicieron en músculos papilares aislados de rata. Se evaluó actividad del NHE1 mediante recuperación del pH_i (eflujo de H⁺: J_{H+}) post-acidosis sostenida 10 min (pulso de amonio) en ausencia de bicarbonato. Se aumentó PKG por inhibición de fosfodiesterasa-5A (FDE5A) con sildenafil (SIL, 1μM). Se midió fosforilación de ERK1/2 (quinasas "upstream" NHE1, activables por acidosis sostenida) y de p38. SIL disminuyó la actividad del NHE1 post-acidosis (J_{H+} 2.36±0.25 control, n=5 vs. 0.60±0.19 mM/min SIL, n=5, p<0.05) sin afectar el pH_i basal (control 7.28±0.02 vs. SIL 7.24±0.03, n=5), efecto que se revirtió tanto inhibiendo a PP2A con ácido okadaico 1nM (OKA, J_{H+} 2.68±0.20 mM/min, n=3), como a la quinasa p38 con SB202190 10μM (J_{H+} 2.37±0.27 mM/min, n=4). La inhibición de p38 no tuvo efectos significativos *per se* sobre la actividad del NHE1 (J_{H+} 3.22±0.38 mM/min, n=4) ni sobre la activación de ERK1/2 (en % 142±12, acidosis control, n=10 vs. 138±11, acidosis SB, n=14). Por otra parte la activación de p38 con arsenito de Na⁺ (Ars, 5μM) desencadenó una inhibición de la actividad del intercambiador (J_{H+} Ars -0.74±0.59 mM/min, n=3) que fue revertida al inhibir PP2A (J_{H+} 2.89±1.01 mM/min, Ars+OKA, n=5), sugiriendo la participación de p38 en la vía que lleva a la activación de esta fosfatasa. Además SIL desencadenó la activación de p38 en acidosis sostenida (en % 108±13 acidosis, n=5 vs. 157±15 SIL, n=9, p<0.05). Los resultados sugieren que la inhibición de FDE5A por SIL dispara la activación secuencial de p38 y PP2A, la cual es finalmente responsable de la disminución de la actividad del NHE1 por desfosforilación.

Objetivos

La finalidad de este trabajo es comparar los valores de ADN de las mismas poblaciones celulares, en ambos sexos, a las 20:00/10 y a las 00:00/14 (hora del día/horas post-cirugía).

Materiales y Métodos

se utilizaron 28 ratones machos y 28 hembras, de la cepa C3HS, de 90 días de edad, endocriados y estandarizados para análisis de periodicidad. A la mitad de los machos y de las hembras, se les practicó una Nx y a la otra mitad una falsa nefrectomía (FNx), bajo anestesia con Ketamina y Diazepán. Se sacrificaron a las 20:00/10 o a las 00:00/14 (hora del día/horas post-cirugía), previa inyección (1 hora) de 5- bromodeoxiuridina. Los riñones extraídos post -sacrificio se procesaron para inmunohistoquímica. En cada preparado histológico, se analizaron 2500 núcleos de la corteza (células de los túbulos contorneados proximales y distales) y 2500 de la médula externa (células de la porción recta de los túbulos proximales y distales) y se registraron: Núcleos marcados x 100/ Núcleos totales. Los resultados se expresaron como X ± ESM (n), para cada grupo y se analizaron estadísticamente con ANOVA y el post-test de Tukey-Kramer. Se consideran significativas las diferencias de p < 0,05.

Resultados

observamos que en los machos Nx a las 20:00/10 los valores de ADN en la corteza y en la médula son mayores que los correspondientes a cada una de las zonas de los animales Nx y FNx a las 00:00/14. Además, a las 20:00/10, los valores de ADN en la médula de los

2014 Noviembre, 2(2): 11-11

machos Nx son mayores que los de la corteza y médula de las hembras sacrificadas en el mismo punto horario.

Conclusión

podríamos concluir que el crecimiento compensatorio renal temprano en ratones adultos, presenta un componente hiperplásico, con marcadas diferencias sexuales.

Fecha de Recibido: 04-10-14

Fecha de Publicación:1-11-14