Revista de la Facultad de Ciencias Médicas
TERCERA ÉPOCA
Junio 2016 | Vol 6 N°3

2016 Junio, 6(3): 1-1

CORAZÓN DE RATÓN PERFUNDIDO TIPO LANGENDORFF: ISQUEMIA GLOBAL SIMULADA VERSUS NO SIMULADA

Salas N.; Escobar AL; Aguilar Y; Mazzocchi G; Mattiazzi A; Valverde CA

Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.
Av. 60 y 120, La Plata, BsAs., Argentina. nehuens@gmail.com

Introducción

El corazón sometido a isquemia sufre una disfunción en el manejo del calcio (Ca^{2+}) intracelular y en la función contráctil, que se recupera parcialmente durante la reperfusión del mismo. La magnitud de estas alteraciones se agrava en función del tiempo de duración de la isquemia. Para el estudio de esta patología se utilizan diferentes preparados, siendo el más común la retroperfusión aórtica (tipo Langendorff) del corazón aislado sometido a isquemia global o regional por cese de flujo. Algunos estudios requieren la utilización de cardiomiocitos aislados, los cuales por sus características son sometidos a isquemia simulada químicamente.
Objetivos: Comparar la función mecánica, el Ca^{2+} citosólico y la fosforilación de proteínas clave en el manejo del Ca^{2+} citosólico durante la isquemia global no simulada y la simulada químicamente.

Materiales y métodos

Para el estudio se utilizaron ratones macho de la cepa Balb/c de 2 meses de edad. Luego de anestesiarlos con ketamina/diazepam (100 y 5 mg/Kg respectivamente) i.p., se practicó una toracotomía para extraer el corazón. El mismo se montó en un equipo de perfusión tipo Langendorff a flujo y temperatura constantes. Para evaluar la actividad mecánica (presión desarrollada por el ventrículo izquierdo, PDVI, y presión de fin de diástole, PFDVI) se colocó un globito de látex en el ventrículo izquierdo, conectado a un transductor de presión con registro por computadora. Para evaluar el Ca^{2+} citosólico en corazones intactos, los mismos se cargaron con el indicador fluorescente sensible a Ca^{2+} y se midió la fluorescencia por microscopía de campo local pulsado. Luego de un periodo de estabilización, los corazones se sometieron a dos técnicas de isquemia (15 minutos) y reperfusión (3 minutos) (I/R), una por cese global de flujo (INS), y otra por isquemia simulada (IS) (pH 6,2, ausencia de glucosa, y reemplazo del O_2 por N_2). Para el estudio de fosforilación de proteínas, se congelaron corazones rápidamente en N_2 líquido a diferentes tiempos durante el protocolo de I/R (preisquemia, isquemia, y reperfusión).

Resultados

Durante la estabilización (preisquemia, PI) no hubo diferencias significativas en la actividad mecánica de ambos grupos de corazones. En la isquemia se observó una disminución en la PDVI en ambos protocolos (INS e IS), siendo menos pronunciada en la IS. Durante la reperfusión los corazones con IS presentan una mayor recuperación contráctil que los INS (48,5±6,2 vs 11,9±6,6%, respectivamente, $P< 0,05$). La contractura isquémica al final de la isquemia en los corazones IS fue menor que en los INS (29,0±5,5 vs. 56,6±3,1%, respectivamente, $P<0,05$), manteniéndose esta diferencia durante la reperfusión. Adicionalmente se observó en la isquemia, una disminución en la amplitud de los transitorios de Ca^{2+} que acompañó lo observado en la PDVI. La fosforilación del residuo Thr17 de fosfolamban (proteína reguladora de la SERCA2a) por activación de la quinasa CaMKII (evidencia indirecta de aumento del Ca^{2+} intracelular) a los 3 minutos de reperfusión fue mayor en la INS respecto a la IS (812±46 vs 155±26%, respectivamente, $P<0,05$). No se observaron cambios en la fosforilación (mediada por la quinasa PKA) del residuo Ser16 de PLN.

Discusión y/o conclusiones

La isquemia simulada produce una alteración por isquemia y reperfusión más leve que la isquemia no simulada. Estos resultados indican que al utilizar estos protocolos de I/R simulada se deben tener en cuenta las diferencias mecánicas y bioquímicas que presentan.

Palabras claves: Isquemia. Corazón, Fosforilación