

LA INVESTIGACIÓN COMO *MODUS VIVENDI*

Palabras clave: Mecánica cardíaca. Acoplamiento éxito-contráctil. Contractilidad y relajación miocárdicas. CaMKII. Fosforilación de proteínas. Calcio intracelular. Arritmias.
Key words: Cardiac mechanics. Excitation-contraction coupling. Myocardial contractility and relaxation. CaMKII. Protein phosphorylation. Intracellular calcium. Arrhythmias.

■ Alicia Matiazzi

Centro de investigaciones cardiovasculares
"Dr. Horacio Cingolani"
CONICET-UNLP
Facultad de Medicina, La Plata

ramattia@med.unlp.edu.ar

Para ser investigador no basta querer serlo, se requiere vocación, aptitudes morales e intelectuales, una larga preparación y, sobre todo, arduo trabajo.

Eduardo Braun Menéndez,
Investigador argentino, descubridor
de la Angiotensina
1903-1959

■ 1. PÁRRAFO INTRODUCTORIO

Hacer esta reseña por invitación de Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias, merecida o no, me produce cierto halago y quiero agradecer a quienes me consideraron para hacerla. Sin embargo, para que la misma adquiera algún sentido, quisiera que esta pequeña crónica de mi camino en la investigación pueda significar algo menos mezquino que la satisfacción de mi ego y sirva para motivar y alentar a los jóvenes que se inician en este camino. Intentaré describir, lo más objetivamente posible el camino que inicié hace más de 50 años intentando develar los mecanismos básicos de la función cardíaca, camino que sigo transitando con entusiasmo. A

los datos precisos he agregado algunas anécdotas contadas tal como han quedado en mi memoria después de tantos años.

■ 2. LOS PRIMEROS AÑOS

Nací en Junín, provincia de Buenos Aires en 1942. Viví en el seno de una familia más que modesta pero amante del trabajo y el estudio. Fui a la Escuela Normal, porque ir al Nacional significaba una carrera superior en Buenos Aires o La Plata y en mi casa no había dinero para eso. Pero nunca pensé en no asistir a la Universidad. "De algún modo voy a ir", pensaba. Tuve suerte. Obtuve una beca del Centro de Estudiantes de Junín en La Plata al mejor egresado de la secundaria. Tuve que rendir entre diciembre y marzo las materias que necesitaba para ser bachiller. Rendía un final cada día. Fue una de las épocas de mayor dedicación al estudio en mi vida. Sentía que me jugaba mi pase a la Universidad.

■ 3. LA CARRERA DE MEDICINA

Desde que entré a estudiar Medicina, pensé que me iba a dedicar a la investigación. Quería hacer in-

vestigación en sistema nervioso y, en aquel momento, tenía preguntas muy amplias como por ejemplo, ¿qué diferencia había entre la mente de un artista, un músico, un científico y un hombre común? Me interesaba la manera en que el cerebro podía construir el pensamiento o desarrollar habilidades especiales como las que me imaginaba tenían un pintor o un músico. Eran preguntas, como dije, amplias o vagas, posiblemente producto de mi desinformación sobre el tema. Pero revelaban, en cierta medida, mi interés por la investigación. Estimo que alguien que se dedica a la investigación pero no tiene una pregunta que lo desvela, no es un investigador.

Fui ayudante de Biología cuando cursaba el primer año de Medicina. Veníamos de un curso pre-médico fallido. Era el año 1960. Los estudiantes no aceptaban el curso pre-médico que se había instaurado con el nuevo plan de estudios, a pesar de que ese nuevo plan, que incluía el pre-médico, había sido votado por unanimidad a fines del '59. El decano, en ese momento, era el profesor Federico Christmann. La Facultad fue primero tomada por los

alumnos. Más adelante, intervenida por la Universidad. La situación era caótica e impredecible. Había continuas reuniones y asambleas que terminaban sin resolver nada. Yo que venía de un secundario del interior, entendía poco y nada de política universitaria. Pero asistía a todas las asambleas y a las diferentes reuniones. El año transcurría y las clases no comenzaban. La gente del interior regresaba a sus pueblos. Un día decidí pedir una audiencia con el entonces Rector de la Universidad de La Plata, el Dr. Danilo Vucetich ¡Y me recibió! Le expliqué mi situación. Había recibido una beca y tenía que cumplir. Aprobar cada año. El rector me miraba con simpatía y quería tranquilizarme. Le debo haber causado gracia. Mi desconocimiento de las reglas universitarias, mi ansiedad y mi ingenuidad pueblerina, me habían llevado directo al rector, ignorando a los profesores y al propio decano de Medicina...

Finalmente las clases comenzaron. La Universidad había nombrado a un interventor normalizador. Era septiembre. Se hizo un curso apretado e intenso de septiembre a mediados de diciembre y continuó en febrero. El curso fue excelente. El Dr. Prieto Díaz en Biología, nos hizo conocer a De Robertis, el ingeniero Laurie nos introdujo en la bioestadística y nos dio conocimientos que luego utilicé en el laboratorio; el Dr. Pernas nos hizo conocer a Linus Pauling; la Dra. Mocoeroa y el Dr. Poggio nos enseñaron Física. Rendimos en marzo y pudimos empezar primer año en abril, junto con la promoción del '61. El curso había desaparecido como tal. Pero algunas materias, como Biología, se incorporaron al plan de primer año y la cursaban los de la promoción '61. Yo admiraba al profesor Prieto Díaz y cuando se abrió concurso para ayudantes de esa cátedra, me presenté y pude ganarlo. Estuve varios años.

Seguía estudiando del excelente De Robertis, Nowinski y Saez y de las clases de Prieto Díaz, que me resultaban extraordinarias. Allí conocí a los doctores Iturriza, Gómez Dumm y Laguens. Todos trabajaban en la cátedra de Prieto Díaz y fueron después ellos mismos, jefes de cátedra y reconocidos investigadores. Aunque yo me desempeñaba como docente, ese fue mi primer contacto con el mundo de la investigación. Todavía recuerdo las imágenes de la secreción neurohipofisiaria viajando desde el hipotálamo a la hipófisis que Iturriza nos mostraba a Alicia Bahl (otra ayudante de cátedra, compañera y amiga) y a mí. Estábamos fascinadas.

En segundo año miraba a los profesores del Instituto de Fisiología, Rodríguez, Brenner y Frumento, con gran admiración y el Instituto de Fisiología me parecía inalcanzable. Quizás por eso, no intenté entrar en ese momento como ayudante y permanecí en Biología.

En los últimos años de la carrera, entré al hospital de Niños de La Plata, como "practicante menor". El sistema de *practicantados* que dependía del Ministerio de Salud de la Provincia, permitía, a través de guardias de 24 horas, una cierta formación de los futuros médicos y era pago. Estuve 2 años y allí conocí por casualidad, en un reemplazo de guardia, a *Minie* Grassi, que trabajaba en el Instituto de Fisiología. Me parecía increíble ¡Ella los conocía a todos! Y lo que me resultaba difícil de abordar, se me hizo sencillo. A través de ella, conocí a alguna gente del instituto como el Dr. Sergio Blesa, a la sazón Jefe de Trabajos Prácticos y me presenté a un concurso de ayudante. Fui ayudante de Biofísica primero y después de Bioquímica. Siendo flamante ayudante de Bioquímica rendí la última materia, el 10 de abril de 1967. Y al día siguiente

fui a hablar con el director del Instituto, Dr. Rodríguez, porque quería hacer investigación. En nervioso.

■ 4. MI COMIENZO EN LA INVESTIGACIÓN

El Dr. Rodríguez, que trabajaba en diabetes, me puso a medir la velocidad de conducción del nervio ciático en ratas diabéticas. Empecé aprendiendo a disecar el nervio. Trabajaba en una mesada con azulejos blancos, usada previamente para matar algún animal y depositar artículos de limpieza, debajo de una escalera del viejo instituto de Fisiología. Además de la ayudantía, Rodríguez me hizo presentar a una beca de estudiante. Todavía lo era, ya que en aquel momento no se obtenía el título hasta hacer la tesis doctoral. Pasé algún tiempo entre disecar el nervio y tratar de medir la velocidad de conducción, sin resultado alguno. Me ayudaba Milo Marincevic, un viejo estudiante de Medicina, muy allegado al Instituto y amigo de todos, interesado también por la neurofisiología. Trabajaba todo el día. A la tarde se unía Milo y nos quedábamos hasta la noche. Pero nada. No conseguíamos arrancar una sola señal del nervio, por lo que no sabíamos si estaba *muerto* o simplemente no respondía porque éramos nosotros los que no sabíamos cómo producir una señal. Nadie hacía ese tipo de experimentos en el Instituto. Pasaron unos dos meses y un día el Dr. Cingolani, que estaba en plena formación de su grupo, junto al Dr. Blesa y al Dr. Gonzalez, me dijo "*Mattiazzi, ¿por qué no se viene con nosotros? Estudiar el corazón también le va a gustar*". Vacilé bastante. Finalmente, para bien o para mal, acepté y me sumergí de lleno en la fisiología y la mecánica cardíaca, que en ese momento estaba en su mayor apogeo.

Hasta ese momento se estudiaba el corazón como *bomba*. A partir de la década del '60, Edmund Sonnenblick (Sonnenblick, 1962, a,b)³ y Alan Brady (Brady, 1965), entre otros, comenzaron a visualizar al corazón como músculo, y empezaron a aplicar al músculo cardíaco las técnicas previamente usadas en el esquelético, para estudiar sus propiedades. Cingolani venía del laboratorio de Sarnoff, un laboratorio estrella en el estudio del corazón *entero*, pero quería *meterse* también en el músculo. Empezamos a diseccionar papilares de gato. Eran los mejores. Acintados, con la mayoría de sus fibras alineadas, y delgados, de tal manera que podían oxigenarse por subperfusión. Constituían una herramienta ideal para ese tipo de estudios. La técnica no salió inmediatamente. Al comienzo, los músculos no se contraían. Pero de a poco, fuimos mejorando. Hablo en plural, porque yo preparaba las soluciones y calibraba los equipos necesarios para el experimento. Cuando estaba todo listo, anestesiaba el gato, le sacaba el corazón y lo sumergía en una solución de Ringer equilibrada con una mezcla de CO₂

y O₂. Cingolani abría el corazón. A partir de ahí yo era su asistente e instrumentadora. Ese ritual duró algún tiempo. Estudiábamos el efecto de los desequilibrios ácido-base sobre la contractilidad.

La pregunta era: ¿cuál es el mayor determinante de la contractilidad, el pH intracelular o el extracelular? Los resultados de la literatura eran discordantes y la hipótesis de Cingolani era que el mayor determinante era el pH intracelular. Iniciamos un proyecto para demostrar esa hipótesis. Ya independizada de la ayuda de Cingolani, hacía los experimentos de principio a fin. A veces más de uno por día. Me quedaba hasta tarde. En muchas ocasiones, una vez terminado el experimento, probaba otras cosas. Me interesaba el efecto de la temperatura sobre la contractilidad y la relajación, por ejemplo. Veía que la temperatura tenía un rol dual sobre la contractilidad: su aumento, incrementaba la velocidad de contracción, pero acortaba mucho el tiempo de contracción, de tal manera que la fuerza desarrollada disminuía. Su disminución, producía lo contrario. Ese doble juego

me encantaba y quería diseccionar los mecanismos. Como los gatos no eran animales de bioterio (aunque repetidas veces intenté criarlos, sin buenos resultados), tenía que procurármelos por mi cuenta. Era bastante difícil y usé diferentes estrategias y muchos fines de semana para poder hacer mis experimentos semanales. Estaba profundamente entusiasmada. Estudiaba mucho y trabajaba. Y también disfrutaba enormemente. En una oportunidad, (era muy tarde, todos se habían ido y yo estaba en pleno experimento), el Dr. González pasó a saludarme y me dijo: "¿Y Mattiazzi? ¿Vivir cuándo?" No me esperaba esa pregunta y le contesté tímidamente "y... a mí hacer esto me gusta". Aunque en ese momento no lo visualicé claramente, la investigación era eso para mí. Algo central en mi vida o mi vida misma. Constantemente me surgían nuevas preguntas que yo trataba de responder con experimentos extras, aparte de los programados. Fue un período de gran productividad, del que surgió mi tesis de doctorado (Mattiazzi, 1968) y varios trabajos entre los años '68 y '70, donde demostramos la importancia del pH intracelular en la determinación de la contractilidad miocárdica (Mattiazzi y col., 1969, Cingolani y col. 1969, 1970).

Mi padrino de tesis fue el Dr. Cingolani. Fui su primera tesista. El título fue "Consideraciones sobre pH y contractilidad miocárdica. Estudio experimental" (Mattiazzi, 1968). La escribí relativamente rápido. Y la pasamos a máquina con la ayuda de una gran amiga, Irma, que tenía una vieja Remington. Yo dictaba y ella escribía. En esa época la mayoría de las tesis doctorales no eran trabajos de investigación. La tesis, como dije antes, era condición necesaria para obtener el título y la mayoría de la gente hacía un trabajo de revisión sobre algún tema. Creo que eso provocó que uno de los jurados de la



Figura 1: Cingolani y yo en el laboratorio donde estudiábamos contractilidad miocárdica.

mía, el Dr. Shaposnik, profesor titular de Clínica Médica, me llamara a su sala del hospital San Martín para felicitarme. Un trabajo de investigación como tesis doctoral de la Facultad de Medicina era evidentemente, un hecho excepcional.

En el año '68 me dieron un cargo de ayudante diplomado interino, con dedicación exclusiva. El Dr. Rodríguez era decano y siempre tuve la impresión que lo obtuvo para mí. No hubo concurso. En el año '69 le planteé a Cingolani que quería irme afuera. Alguien se rió en la sala donde estábamos (porque no había mucho espacio y compartíamos el lugar que Cingolani y González usaban de escritorio), supongo que porque mi propuesta sonaba demasiado prematura. Cingolani, sin embargo, reaccionó con rapidez y me escuchó muy seriamente. Empezamos a buscar un "buen lugar" para mí. Seguía el auge del estudio de la mecánica cardíaca *in vitro* y habían aparecido varios trabajos en donde se intentaba caracterizar a la contractilidad miocárdica a través de un índice independiente de la Ley de Starling del corazón, es decir, que separara el aumento en la capacidad de contraerse del músculo cardíaco por cambios en la longitud inicial o diastólica (Ley de Starling), de un aumento en la contractilidad, que se definía como un aumento en la capacidad de contraerse (en términos de fuerza o acortamiento) a longitud inicial constante. El grupo de Sonnenblick caracterizó el estado contráctil por la relación inversa entre la fuerza y la velocidad de acortamiento del músculo. A fuerza cero (músculo sin carga) la velocidad es máxima (V_{max}). Según los experimentos de Sonnenblick, V_{max} era el índice de contractilidad, porque no variaba con los cambios en la longitud inicial del músculo (Sonnenblick, 1962, a y b). En el año 1970 un crítico trabajo de Jerry Pollack, demostró

que las curvas obtenidas por el método de Sonnenblick no eran correctas, porque no estaban corregidas ni por las diferentes longitudes por las que pasaba el músculo al ir acortándose, ni los diferentes estados de activación (Pollack, 1970). Simultáneamente, aparecieron dos trabajos de un laboratorio sueco liderado por Paul Edman (Edman y Nilsson, 1968, 1969). Edman era un especialista en mecanismos de la contracción del músculo esquelético, formado primero en Uppsala y luego en el University College of London, con Doug Wilkie, un importante fisiólogo de músculo esquelético, a su vez discípulo del premio Nobel A.V. Hill, por sus descubrimientos relacionados a la producción de calor en el músculo esquelético. Edman se introdujo en el estudio del músculo cardíaco junto a un tesista avanzado, Erik Nilsson. Usando una técnica diferente, la del *quick release*, idearon la manera de realizar la curva fuerza-velocidad a una dada longitud y grado de activación del músculo. Un efecto inotrópico positivo corría a las curvas fuerza-velocidad paralelamente, afectando del mismo modo a V_{max} y a la máxima fuerza desa-

rollada, Po. Nos pareció un método ideal para evaluar la contractilidad.

■ 5. EL VIAJE A SUECIA

Solicité una beca externa al CONICET y en el año '70, partía para Suecia para hacer el post-doctorado. En barco. El Río Tunuyán. El CONICET pagaba en ese entonces, el medio de transporte más barato. Luego de varios avatares, porque el barco tuvo un desperfecto al salir y regresó al puerto donde quedamos "embarcados" durante 6 días, salimos definitivamente del puerto de Buenos Aires en otro barco, el Libertad, que iba para Londres. En el puerto de Santos, el Río Tunuyán nos alcanzó y volvimos a cambiar. Llegamos 20 días después. Los largos días de viaje no me vinieron mal. Estudiaba inglés y los *papers* del lugar a donde me iba a instalar. A la noche había tres posibles actividades: cine, baile o carrera de caballitos. Eran barcos de medio pelo. No se podía pedir más. Hice varios amigos. Gente joven que iba en busca de trabajo a Suecia. No sabían inglés y mucho menos sueco, pero buscaban un futuro fuera del país. Era la época de



Figura 2: Rumbo a Suecia, subiendo al Río Tunuyán. Al fondo aparece mi querido sobrino Marcelo que había ido a despedirnos.

la llamada "Revolución Argentina". Onganía acababa de ser reemplazado como Presidente por Marcelo Levingston. Era uno de los tantos momentos argentinos de gran crisis económica y social.

Viajé con mi mamá, porque papá había fallecido a fines del '69, y mi mamá la estaba pasando muy mal. Con mi hermana decidimos que si me acompañaba sería lo mejor para ella. Yo dudaba. En un país desconocido, sin conocer otro idioma que el castellano, se nos podía hacer difícil, a ella y a mí. Pero todo resultó mucho mejor de lo que yo esperaba y su presencia fue de gran ayuda para mí.

Llegamos al puerto de Hamburgo un viernes. Eran las cuatro de la tarde de un día de octubre y ya estaba oscureciendo. Fuimos con mis nuevos amigos y mi mamá a sacar pasajes de tren para irnos a Malmö nosotros, y a Estocolmo mis amigos. Seguramente porque era fin de semana, el tren estaba desbordado. No podíamos acomodarnos con las valijas. Me asomé a una de las puertas y pude entenderme con un guarda alemán y cambiar nuestro pasaje por un camarote. Ahí fuimos todos. Estábamos felices; pero no duró mucho. A poco de andar, otro guarda desalojó a mis amigos y nunca más los volví a ver.

En la mitad de camino, tuvimos que trasbordar a un barco que nos llevó a Malmö. Pero nos faltaba llegar en tren a Lund. Yo estaba exhausta y decidí ir en taxi. No era lejos, pero significó el primer gasto grande y no programado de mi magro presupuesto. Llegadas a Lund no quise llamar a Edman. Estaba sin dormir, cansada. Fuimos a un hotel. Otro gasto no pensado. Al día siguiente Edman nos vino a buscar, nos llevó al supermercado primero y luego a nuestro departamento en un edificio

de estudiantes. Finalmente estábamos instaladas y yo más tranquila luego de mi primer encuentro con el que iba a ser mi tutor.

■ 6. EL POSTDOC EN SUECIA

Trabajé en Suecia en el Departamento de Farmacología de la Universidad de Lund. Una pequeña ciudad al sur de Suecia. Era una ciudad linda. Casi cálida, a pesar de las bajas temperaturas de invierno y las no muy altas de verano. Oscurecía muy temprano en invierno y era día casi continuado en verano. El grupo de Edman estaba formado en ese momento por Erik Nilsson, un doctorando avanzado, con el que yo trabajé directamente, por Lou y Bertha Mulieri, dos investigadores americanos que venían del laboratorio de Alpert, Magnus Johanson, de Islandia, y algunos técnicos. Era un grupo amigable, aunque yo era más cercana a Erik y su familia. Con Lou hablábamos mucho sobre las características de las curvas fuerza velocidad, que nos preocupaban a los dos.

Además de Erik, hice algunos amigos fuera del laboratorio. Suecos fundamentalmente. Contrariamente a lo que se dice, los suecos son muy acogedores y además, buena gente. Una de mis amigas en Lund, que aún conservo, era Kerstin Örsmark, actualmente médica dermatóloga, que me visitó con su esposo, años más tarde.

Trabajé y estudié mucho en los 15 meses que estuve. Además de las curvas fuerza velocidad con la técnica del *quick reléase*, medía el *estado activo*¹. También a una longitud constante del elemento contráctil del músculo. Ese había sido, como dije, el gran aporte de Edman. Como me interesaba desde antes el efecto de la temperatura en el músculo cardíaco, propuse estudiar ese tema. Quería saber cómo afectaba

la temperatura al estado activo y a la curva fuerza velocidad. Hicimos dos trabajos que salieron publicados en *Acta Physiologica Scandinava* (Edman y col., 1974, Mattiazzi y Nilsson, 1976). Allí describimos que la alteración de la relación fuerza-velocidad inducida por la temperatura era el resultado neto de dos efectos, un efecto inotrópico, que afecta en igual grado a la fuerza máxima (P_0) y a V_{max} , atribuible a un aumento del calcio intracelular, y un efecto específico de la temperatura, por el cual V_{max} era afectado independientemente de P_0 y del grado de actividad del músculo. Con un Q_{10} de 1.9, muy similar al comprobado para V_{max} en el músculo esquelético y al Q_{10} de la actividad de la ATPasa de la actomiosina (Bárány 1967), concluimos que el efecto de la temperatura sobre V_{max} reflejaba la máxima velocidad de interacción de los filamentos de actina y miosina.

En mi estadía en Lund aprendí no sólo mecánica cardíaca sino también de músculo esquelético y lo que se sabía, hasta ese momento, del acoplamiento entre la excitación y la contracción. En el año '70 había salido un *review* sobre músculo esquelético de Alexander Sandow, el fisiólogo de músculo esquelético que acuñó la expresión "*Excitation-contraction-coupling*" (*EC-coupling*), en el año 1952 (Sandow, 1952), cuando todavía se desconocía que el calcio era el *link* entre la excitación que ocurría a nivel de la membrana celular y la contracción, que tenía lugar más profundamente, a nivel de las proteínas contráctiles. Era una revisión excelente y la estudié a fondo.

Durante mi estadía ocurrieron dos hechos que me quedaron muy grabados. El primero, fue la visita del Dr. Federico Leloir a la Universidad de Lund y su conferencia.

Leloir acababa de recibir el Nobel. Los Mulieri fueron a Estocolmo, a la entrega de los premios. Yo había llegado hacía muy poco y no tuve valor para pedir permiso para ir, además de una invitación, que seguramente Bertha y Luo consiguieron. Lamento no haber ido hasta el día de hoy. Pero Leloir fue a Lund y yo sentí orgullo ajeno (en contraste a la tan mentada vergüenza ajena). Leloir había recibido el Nobel "*for his discovery of sugar nucleotides and their role in the biosynthesis of carbohydrates*". Recuerdo que Leloir, mostrando una cantidad enorme de fórmulas y cascadas, señaló un área muy acotada y dijo "*Voy a hablar de esto que es de lo único de lo que puedo decir algo*".

El segundo hecho, fue el XXV Congreso Mundial de Fisiología en Munich, a fines de julio de 1971. Pleno verano. Del laboratorio sueco fueron los Mulieri y Magnus Johanson. Pero del laboratorio de Argentina fueron unos cuantos, Nely Lew, Cingolani, Minnie Grassi. Tenía ganas de verlos. Sobre todo a Minnie, de la que era muy amiga. En una época en que la comunicación era escasa, el teléfono caro, sin correos electrónicos, sin celulares, la añoranza del lugar propio aumentaba. El volver a contactar con gente del laboratorio me vino bien. Fue como un "*refreshment*".

■ 7. EL REGRESO

Volví en el año '72 llena de entusiasmo. Traía pequeños equipos para montar aquí. La famosa palanca para hacer *quick releases*, y algún equipo para hacer electrofisiología, que también se hacía en lo de Edman. Así que me dediqué a montar todo y eso me llevó cierto tiempo.

En el año '73 ingresé a la Carrera del Investigador del CONICET. En esa época había otra clasificación de

las diferentes jerarquías. Ingresé en la categoría E5 que era algo similar a lo que fue hasta hace un tiempo un adjunto con director. En la docencia, fui Jefe de Trabajos Prácticos en el '72 y Profesor Adjunto en el '74. Apenas llegada comencé, además, la carrera de docente universitario.

Me había ido con el Presidente Levingston. Al regresar había otro militar, Lanusse, que gobernó hasta el '73. En el '73 se sucedieron tres presidentes, Cámpora, Lastiri y Perón que murió en el '74 y llegó Isabel hasta el golpe militar del '76. En ese período se sucedieron en la Facultad cuatro decanos interventores, Lyonnet, Scipione, Mercante y Viale. No había Consejo Académico. El país y la Universidad habían entrado en una década turbulenta. En muchas oportunidades, las clases teóricas eran interrumpidas por grupos, a veces armados, que arengaban a los alumnos. Recuerdo que durante el decanato del Dr. Scipione, un grupo del Centro de Estudiantes nos cuestionó que leyéramos y publicáramos en inglés. Scipione organizó una reunión con ellos. De nuestra cátedra fuimos, hasta donde yo recuerdo, Minnie Grassi y yo, que éramos en ese momento JTP, una de Biofísica y la otra de Fisiología. Tuvimos que explicar y justificar el porqué de nuestro proceder. Por suerte y con la ayuda de Scipione, logramos vencerlos.

Después de la muerte de Perón, las Tres A tomaron como blanco a muchos docentes y funcionarios de la UNLP. De nuestro grupo hubo varios perseguidos, que se refugiaron en otros lugares. Hasta donde sé, no formaban parte de ningún grupo especial, pero era gente de izquierda y se sentía amenazada. Uno de ellos vive actualmente en Suecia donde formó una nueva familia, y otro se trasladó a Venezuela. Ninguno de los dos volvió. Un tercero se *escon-*

dió en Mar del Plata y volvió a La Plata después del '83.

A fin del año '73 viajé a Nashville, Tennessee. Cingolani había ido allí, invitado por un amigo, Thomas Graham, de la División de Cardiología del Hospital de la Universidad de Vanderbilt, y me pidió que fuera a hacer los experimentos de *quick release*. Habíamos estudiado ya muchas cosas para definir cómo los cambios del estado ácido básico afectaban a la contractilidad. Pero nos quedaban todavía muchas preguntas sin responder ¿Qué pasaba con la rigidez sistólica y diastólica? En Suecia había adquirido las herramientas para estudiar ese punto. La otra pregunta que teníamos oportunidad de contestar era, ¿qué le hace el pH al músculo cardíaco humano? En el Hospital de Nashville se hacían cirugías cardiovasculares que nos permitirían obtener tejido humano. Aunque tenía que pagar el viaje de mi bolsillo e iba a ganar cero pesos, ir era demasiado tentador. Llegué munida de mi palanca y mis instrumentos, un 24 de diciembre. El 26 empecé a trabajar. Trabajamos en tiritas de ventrículo y aurícula humanas para estudiar el efecto del pH sobre la contractilidad, resultados que fueron publicados en *Surgery* y que demostraron que el cambio de pH, realizado por alteraciones en la $p\text{CO}_2$, (*acidosis respiratoria*) o del bicarbonato (*acidosis metabólica*), afectaban por igual a la contractilidad en el corazón humano (Cingolani y col., 1975), en contraposición a lo que ocurría en otras especies, como nosotros mismos habíamos descrito (Cingolani y col., 1970). Yo trabajé también con papilares, midiendo la distensibilidad diastólica y sistólica durante la acidosis respiratoria. Demostramos que la acidosis no modificaba la distensibilidad del músculo cardíaco. A pesar de los resultados negativos, el trabajo fue publicado posteriormente en

Cardiovascular Research (Mattiuzzi y col., 1977).

De regreso, me interesé en un fenómeno que había observado mucho antes. La acidosis respiratoria disminuía la contractilidad pero en el término de unos minutos comenzaba un período lento de recuperación espontánea, es decir, a pesar de que el pH extracelular se mantenía acidótico. Estudié las características y los mecanismos de esa recuperación. Y publiqué sobre ese tema dos trabajos, uno de los cuales se publicó en *Archives de Physiologie et Biochimie* y el otro en *Circulation Research* (Mattiuzzi y Cingolani, 1977, a,b). Más adelante, retomaría el tema con mi grupo y pudimos arrojar nueva luz en el mecanismo responsable en esa *recuperación espontánea* (Mundiña-Weilenmann C, 2005, Mattiuzzi y col., 2007).

En septiembre del '74 se realizó en Buenos Aires el VII Congreso Mundial de Cardiología. La organizaron en conjunto la Federación Argentina de Cardiología, que nuclea a los cardiólogos del interior, y la Sociedad de Cardiología Argentina, que nuclea a los de Bs. As. Cingolani -que pertenecía a la primera- organizó en La Plata un simposio satélite sobre *EC-coupling*. Yo estuve a cargo de gran parte de la organización. Estaba más que entusiasmada. Invitamos a figuras *estelares* del *EC-coupling* y la mecánica cardíaca. Brian Jewell, de UK, Makoto Endo, de Japón, Lionel Opie de UK, Arnold Katz, USA, Jerry Pollack, USA. No había traductor y tuve que hacer traducción simultánea de varias de las ponencias. Grabé todas las charlas. A poco de terminado el Congreso, los disturbios en la Facultad seguían y fue cerrada. Los investigadores básicos podíamos ir a limpiar a los animales y darles comida y agua. Establecimos un sistema de turnos. Mientras tanto, yo hablé con la se-

cretaría de la cátedra y en mi casa empezamos a pasar en limpio las charlas grabadas, que todavía conservo.

Con el golpe del '76, asumió como rector de la UNLP un capitán de Navío, Eduardo Saccone, y como profesor a cargo de la Facultad el Dr. Antonio Tropeano. Ambos tenían una función "normalizadora". A partir de septiembre de ese año, Guillermo Gallo fue nombrado rector y Tropeano, decano interventor. A Tropeano lo siguió Manuel García Mutto, que permaneció como decano acompañado de un consejo asesor, hasta el final del período militar.

Decidí volver a Suecia en el año '77. Pedí una beca al *Swedish Institute*, que obtuve. Cingolani trató de disuadirme, pero no pudo. No era en absoluto una perseguida política. No tenía miedo. Pero sentía una imperiosa necesidad de irme. Esta vez era más llevada por la frustración de vivir en el medio que vivíamos que por mi entusiasmo acerca de lo que iba a hacer en Suecia. La beca era magra, 1700 coronas suecas/mes (cerca de 400 U\$S). Me hospedé en la Casa de Huéspedes de la Universidad de Lund, que compartía con una inglesa, una pareja de suizos, un húngaro y una pareja de hindúes. Quedaba a una cuadra y media del Departamento de Farmacología donde Edman seguía instalado. Permanecí allí los 8 meses que estuve en Suecia. Habíamos acordado con Edman que uniríamos nuestra experiencia, él la de musculo esquelético y yo la de equilibrio ácido básico y estudiaríamos el rol de la acidosis en el mecanismo de la fatiga muscular. La cercanía de la casa donde vivía con la facultad, me permitía quedarme hasta tarde. Mi entusiasmo haciendo experimentos era grande. A veces volvía a casa de madrugada, 4 ó 5 de la mañana.

También tuve oportunidad de pasear. Me encontré con Kerstin, visité a Erik y familia en Linköping, al norte de Lund, e hice otros amigos, un chileno y una sueca, Günilla Johnson. En Navidad y año Nuevo fui a Londres y a Niza. Me habían dado un carnet de estudiante y aproveché las ofertas que ellos tenían.

Regresé a fines de abril del '78. El país seguía en estado crítico y los suecos amigos y del laboratorio se oponían a que regresara. Aunque dudé bastante, finalmente decidí volver.

Reviendo mi CV, me doy cuenta que ese período fue desparejo, con momentos muy buenos y excitantes científicamente, como el trabajo con tejido humano en Nashville, el Congreso Satélite que disfruté enormemente o mi segunda visita a Suecia, pero no demasiado fructífero en cuanto a producción.

■ 8. ME CASÉ CON MI BECARIO

La década del '80 tapó la opacidad de la anterior. Fue un período luminoso en lo personal y lo científico. En septiembre del '80 fuimos con Cingolani al Congreso Mundial de la *International Society for Heart Research*, en Moscú. El Conicet nos pagó el viaje. Llevé un trabajo sobre el efecto relajante de los inhibidores de fosfodiesterasa. Empezábamos a mirar la relajación. Ahí pasó algo insólito. El embajador argentino en Moscú había sufrido un infarto. Y se enteró que iba un cardiólogo argentino al Congreso. Era Cingolani. Cingolani me pidió que lo acompañara a la embajada. Vino una *limousine* de la embajada a buscarnos al hotel y allá fuimos. Cingolani no era cardiólogo clínico, pero sabía qué decirle y pudo tranquilizarlo. Después nos mostraron la embajada y comimos algo juntos.

Al regresar de Moscú, pasé por Lund a terminar el trabajo iniciado en pH y músculo esquelético, y me quedé una semana. Ya había organizado todo para que estuviera preparado el *set up* para mi llegada. Hice muchísimos experimentos para terminar lo que faltaba. Salió un *paper* que se publicó en *Journal of Muscle Research and Cell Motility* demostrando la importancia de la acidosis intracelular en la alteración de la contractilidad en la fatiga muscular (Edman y Mattiazzi, 1981).

Hasta ese momento yo había trabajado sola o con una técnica, Marita Tau. El Conicet había provisto a los Institutos de personal de apoyo y en el Centro había varios. El Centro había crecido. Pero no tanto el número de becarios. Algunas personas que habían ingresado se acoplaban al grupo de Cingolani.

En 1979 entró un médico que quería hacer la tesis, aunque no estaba seguro de querer dedicarse a la investigación. Arturo Garay. Empezó a trabajar conmigo en un proyecto sobre antagonistas cálcicos y otro sobre el efecto de los agonistas beta en la contractilidad y la relajación miocárdicas. Este último fue motivo de su tesis de doctorado, y el primero dio lugar a varias comunicaciones y trabajos y a una charla que di yo a fines de 1980 con motivo de que se realizó el Simposio Internacional sobre antagonistas del calcio, en nuestra Facultad. A ese simposio concurren investigadores notables en ese momento, como Winifred Nayler y Arnold Katz.

Al poco tiempo de incorporarse al grupo, Arturo obtuvo un cargo de ayudante diplomado con dedicación exclusiva en Fisiología. Hicimos una buena dupla. Trabajábamos todo el día y al salir nos gustaba ir a un café a discutir los resultados... Alguien me dijo en el laboratorio: "*encon-*

traste la horma de tu zapato". Fue mi primer tesista y luego se convirtió en mi marido. Nos casamos al finalizar la guerra de Malvinas, en junio de 1982.

■ 9. LA BECA GUGGENHEIM

En abril de 1983 llegó la democracia, nació nuestra hija Julia y unos meses más tarde, me llegó la noticia que había obtenido la beca Guggenheim. Para esa época Arturo ya se había ido de la Facultad para dedicarse a la Neurología.

Nos trasladamos a Filadelfia toda la familia más Nieves, la persona que cuidaba de Julia. Mi proyecto Guggenheim era estudiar la respuesta al calcio de las proteínas contráctiles en la hipertrofia. Dicha respuesta se estudiaba en células cardíacas sin membranas (*skinned*) o en trabéculas cuya membrana era hiperpermeabilizada. Saul Winegrad en Filadelfia había popularizado esta última preparación y fui a aprender la técnica a su laboratorio por un periodo de 3 meses. Salimos en diciembre y volvimos en marzo. Arturo mientras tanto aprendió potenciales evocados con Richard Hanner en el *EEG Lab del Ex Graduate Hospital*.

■ 10. LA RELAJACIÓN MIOCÁRDICA, EL *STEPWISE SHORTENING* Y LA SENSIBILIDAD AL CALCIO DE LAS PROTEÍNAS CONTRÁCTILES.

De regreso al país, fui Consejera Académica del primer Consejo de la era democrática, liderado por el Dr. Giacomantone. En el laboratorio empecé a desarrollar la técnica de la trabécula hiperpermeable. Compré algunos equipos e hice armar otros. Mientras tanto llegó a mi laboratorio una postulante a becaria y tesista, la bioquímica Cecilia Mundiña, que obtuvo una beca de la Comisión de Investigaciones de la Provincia. Ce-

ilia estaba muy entusiasmada y con ella nos dedicamos de lleno a estudiar los mecanismos de la relajación miocárdica y el rol de una proteína que regula el secuestro de calcio por el retículo sarcoplasmático cardíaco, la fosfolamban. Al poco tiempo, el grupo ganó a una excelente integrante. Se nos unió la Dra. Leticia Vittone, que hasta ese momento había trabajado con Cingolani. Empezamos a publicar activamente sobre el rol de la fosfolamban en la relajación (Mundiña-Weilenmann y col., 1987, 1988, Vittone y col., 1988, 1990).

Estando en Filadelfia recibí una invitación de Jerry Pollack para que fuera a trabajar en su laboratorio. Me conoció y se interesó por lo que hacía, cuando yo era una incipiente investigadora y hacía las traducciones en el congreso satélite del mundial de cardiología en La Plata, que mencioné antes. Después supo que había trabajado con Paul Edman. Quizás ese hecho aumentó su interés por mí. Él estaba enfrentado con Paul Edman quien defendía a ultranza la teoría de Huxley del deslizamiento de los filamentos, para explicar las bases moleculares de la contracción muscular. A pesar de que es el modelo hasta hoy aceptado, él era muy crítico y tenía experimentos que no podían ser explicados por el modelo de Huxley. Rechacé la invitación en ese momento pero quedó pendiente. Me interesaba ver los experimentos en los que la teoría de Huxley parecía hacer agua. Y nos trasladamos durante dos veranos a su laboratorio en Seattle. Nos íbamos en diciembre y volvíamos en marzo. Toda la familia. Arturo trabajó con Ralph Pascualy, en su laboratorio de sueño. Pollack es una persona excepcional. Amante de la controversia, que para él constituye el alma misma de la ciencia, sin la cual no hay progreso posible. Muy crítico de las "ideas establecidas" de

la "safe science", impulsó e impulsa el apoyo financiero de ideas radicales, capaces de cambiar un paradigma. Creo que es una visión en la que los investigadores debemos detenernos a meditar.

En la primera ida, ya había nacido mi segundo hijo, Pedro. Tenía 8 meses cuando viajamos. Siempre acompañados por Nieves. Allí conocí a (y trabajé con) Henk Granzier, por ese entonces un súper estudiante. Actualmente uno de los líderes del estudio de la rigidez pasiva en el músculo cardíaco (o *stress* diastólico), a través de la investigación de una proteína conocida como Titina (Titin), responsable de la mayor parte de la rigidez diastólica (Granzier y Irving, 1995). Con Henk nos llevábamos muy bien y produjimos mucho en un tiempo muy acotado. Disecábamos fibras esqueléticas aisladas y hacíamos experimentos en los que demostramos que el músculo no se acortaba *smoothly* como preveía el modelo de Huxley, sino en *steps*. El *stepwise shortening*. Este comportamiento implicaba que el acortamiento se basaba en mecanismos que no ocurrían *at random*, como predice el modelo de Huxley, sino que se acortaba y hacía pausas *sincrónicamente*. Publicamos un trabajo (Granzier y col., 1990) y Pollack me incluyó en una revisión y dos capítulos de libro en donde figuran esos experimentos. Volví en el verano del '88 con una beca de la *American Heart Association*. Le propuse a Pollack ver si el *stepwise shortening* podía detectarse en el músculo cardíaco. Fue una misión imposible. Las trabéculas que disecábamos eran muy delgadas, pero no pudimos ver nada. Regresé bastante frustrada.

A fines de la década del '80 se produjeron otros acontecimientos importantes para mí. Por un lado, obtuve el premio Bernardo Houssay

otorgado por el CONICET y el premio a la trayectoria, otorgado por la Federación Internacional de Mujeres Universitarias. Por otro, y debido a que Cingolani viajó al exterior por su año sabático, quedé a cargo del Centro de Investigaciones Cardiovasculares. Como noté que faltaba gente joven, le solicité a un colega -que formaba parte conmigo de la Comisión de Investigaciones de la Provincia- que me recomendara a alguno de sus alumnos. Así se incorporó Gustavo Pérez, que comenzó a trabajar conmigo y que es actual investigador en nuestro centro. Al poco tiempo, vinieron Alejandro Aiello, actual Vice-director de Centro Investigaciones Cardiovasculares, que comenzó a trabajar con la Dra. Grassi y Martín Vila-Petroff, que también se incorporó a mi grupo y es el actual Director de nuestro Instituto y Vice-Director del Conicet La Plata. Con Gustavo, primero, y después con Martín, desarrollamos la fibra hiperpermeable y estudiamos la respuesta al calcio de las proteínas contráctiles en diferentes situaciones y modelos de hipertrofia cardíaca, el proyecto que había propuesto con motivo de la beca Guggenheim (Pérez y col., 1993).

Mientras tanto, nuestros hijos crecían. A pesar de mis reiteradas ausencias, de nuestras llegadas tarde a buscarlos a la escuela, de todo lo que no hace una mamá que además es investigadora, tratábamos de compartir con ellos todo el tiempo posible. A la noche, uno de los rituales preferidos era leerles algo. Actualmente se ríen de las lecturas en las que los introduje, aun siendo relativamente chicos. Así conocieron cuentos de Borges o de Pär Lagerkvist. Muchos años después y con motivo de una práctica de los estudios de cine que había iniciado, Julia eligió un cuento de Lagerkvist para filmarlo (con la colaboración de su novio y la participación de Ar-

turo y Pedro). No sé si fue por esas lecturas iniciales, pero los dos se convirtieron luego en ávidos lectores. Y no sé si por exceso de comprensión, no se quejan de su mamá investigadora.

■ 11. CHICAGO

En el año '91 me interesé en las medidas de calcio intracelular, que hasta entonces no se realizaban ni en nuestro instituto ni en el país, y en el rol de la CaMKII en el efecto relajante del aumento de la frecuencia de estimulación cuya función en la relajación veníamos estudiando a través de su rol en la fosforilación de fosfolamban. Solicité una beca de investigador formado al CONICET y me fui como profesor visitante a trabajar a la Loyola University, en Chicago, con Donald Bers (nuevamente con toda la familia y ahora por un año completo). En el laboratorio estaban Lea Delbridge, Rosana y José Bassani, Leif Hove-Madsen, Eileen McCall, actualmente no sólo colegas, sino amigos. La hipótesis de nuestro proyecto era que el efecto relajante del fenómeno de la escalera (positiva o negativa) era mediado por la fosforilación de fosfolamban por CaMKII. Aunque describimos por primera vez que la CaMKII participaba en el fenómeno, no quedó claro si era a través de la fosfolamban (Mattiuzzi y col., 1994; Bassani y col., 1995). Más adelante, volveríamos sobre el problema.

Vivimos en Oak Park. Arturo se incorporó al servicio de sueño del Hospital de Chicago. Los chicos fueron a la escuela pública allí y al poco tiempo hablaban inglés fluidamente e invitaban a los compañeros a casa. Era una situación algo cómica, ya que no podíamos hablar en castellano porque les daba vergüenza pero tampoco en inglés, porque nuestro "accento" también los avergonzaba. Para no perder el año en Argentina

tuvieron que rendir en dos oportunidades y en la Embajada Argentina, exámenes que mandaba el Ministerio de Educación, en sobre cerrado. El escenario era demasiado solemne para ellos. Una habitación alta y bastante oscura, una mesa ovalada inmensa, unas sillas de respaldo altísimo y ellos dos, sentaditos, contestando las preguntas...

En el mismo año '91 logramos un subsidio de la Fundación Antorcha y el British Council, porque Cecilia estaba interesada en el rol de las fosfatasa en la fosforilación de fosfolamban. Ella y luego Leticia, viajaron a Escocia con tal motivo a trabajar con Philip Cohen, un especialista en fosfatasa.

■ 12. LA FOSFOLAMBAN, LA CA-MKII, EL CALCIO INTRACELULAR

A mi regreso, fui nombrada Vice-directora del CIC, hasta 2002. Gracias al advenimiento de los anticuerpos contra los sitios fosforilados de fosfolamban, con Cecilia y Leticia publicamos dos trabajos pioneros donde se demostró, por primera vez en el corazón intacto, que la fosfolamban podía fosforilarse por la quinasa dependiente de calcio y calmodulina, CaMKII, en el sitio Thr¹⁷, independiente y aditivamente de su fosforilación por la proteína quinasa A (Mundiña-Weilenman y col., 1996) y que la inhibición de fosfatasa era fundamental para detectar la fosforilación del sitio dependiente de CaMKII, hecho que ocurría (la inhibición de fosfatasa) con la estimulación beta-adrenérgica y en la acidosis (Vittone y col., 1998). Siguiendo esa línea generamos una serie de trabajos por los que fuimos reconocidas, que se extendieron durante varios años y prosiguieron con la profundización de los efectos de la CaMKII sobre distintos aspectos de la función y disfunción miocárdica (Ej. Vittone y col., 2002; Said y

col., 2003; Mundiña-Weilenman y col. 2005; Vila-Petroff y col., 2007), con la participación de diferentes becarios míos, muchos de los cuales ahora son investigadores, como Matilde Said, Roxana Napolitano, Paola Ferrero y Carlos Valverde (Charly), además de Leticia, Cecilia y Margarita Salas, que se incorporó al grupo más tardíamente.

Comenzamos a desarrollar, además, medidas de calcio intracelular en miocitos aislados, técnicas con las que me había familiarizado en el laboratorio de Don Bers, y en la que después se especializaron Martín Vila-Petroff, que viajó al laboratorio del Dr. Lakatta en Baltimore y nuestra becaria en común, Julieta Palomeque, ya investigadora independiente en la actualidad, pero con la que todavía colaboramos en algunos proyectos con mucho entusiasmo. Con ellos desarrollamos otra línea relacionada a la dinámica del calcio intracelular y los mecanismos moleculares de diferentes efectos inotrópicos. Particularmente, la estimulación alfa-adrenérgica, la angiotensina y el fenómeno de la escalera, línea que desarrollamos hasta mediados de la década del 2000 (Por ejemplo Vila-Petroff y col., 2000; 2003, Palomeque y col., 2006). Más tarde se incorporaría al grupo Luciana Sapia, actual técnico profesional del CONICET, Omar Vélez Rueda y un estudiante, Luis Gonano, actual investigador del CONICET, del que me enorgullezco de haber *detectado* como potencial investigador, al rendir su examen final de Fisiología, en el año 2004.

En varios momentos las líneas confluyeron, como por ejemplo en el trabajo publicado en el año 2005 donde volvimos sobre el efecto relajante del fenómeno de la escalera y demostramos definitivamente que dicho efecto no dependía ni de la fosforilación de fosfolamban ni de

SERCA (Valverde y col., 2005). La SERCA no aparecía fosforilada y la fosforilación de fosfolamban ocurría con posterioridad al efecto relajante. Tiempo después Don Bers llegó a igual conclusión (Huke y Bers, 2007).

Igualmente en ese período comenzamos una colaboración que derivó en gran amistad, con el grupo chileno integrado principalmente por Paulina Donoso y Gina Sánchez. De esta interacción, - que todavía continúa a través de trabajos realizados con Matilde-, surgieron trabajos en los que nos iniciamos, gracias a su *expertise*, en el estudio de los canales de Ca²⁺ del RS o receptores de rianodina (RyR2) (por ejemplo Ferrero y col. 2007 y Salas y col. 2010).

En relación a la CaMKII, Julieta hizo, más adelante, un hallazgo importante, que desafió la forma canónica descrita para la activación de CaMKII, demostrando que la misma podía ser activada por ROS en la virtual ausencia de calcio (Palomeque y col., 2009).

■ 13. LA ISHR, LA DIRECCION DEL CIC

En el año 2000, fui presidenta de la sección latinoamericana de la *International Society for Heart Research* (ISHR). Una sociedad muy querida a la que dediqué en ese momento, antes y después, mucho esfuerzo. En el 2004 organizamos con Martín, en Iguazú, un Simposio satélite del Congreso Mundial de la ISHR en Australia. Vinieron muchas figuras importantes de la cardiología y quedamos muy felices porque el congreso fue un éxito.

Entre los investigadores que vieron estaba John Solaro, Litsa Kranias, Tish Murphy, Héctor Valdivia... con Héctor y su esposa, Carmen, hicimos más adelante una estrecha

amistad. Julieta fue a su laboratorio a pasar un sabático, Héctor y Carmen vinieron a visitarnos y a colaborar con nuestro laboratorio, brindándonos sus conocimientos científicos y técnicos sobre los receptores de riadodina.

También al comienzo de la década del 2000 entré en contacto en un congreso con Litsa Kranias, la creadora de los ratones con ablación de fosfolamban (PLNKO), gracias a los cuales se evidenció el rol de la fosfolamban en la contractilidad y relajación miocárdicas (Luo y col., 1994). Comenzamos una colaboración que perdura hasta hoy. Ella nos envió ratones en los que cada uno de los sitios fosforilables de PLN o ambos, estaban mutados a Alanina (PLN-Thr17A y Ser16A y PLNDM) de modo que no podían ser fosforilados. Inauguramos en el espacio que nos facilitó un profesor de una cátedra amiga, un bioterio de ratones. Este bioterio cuenta actualmente con numerosas líneas transgénicas y mutadas. Con Litsa sacamos dos subsidios Fogarthy que facilitaron nuestro desarrollo e investigaciones. Y realizamos una serie de trabajos donde se describió, por ejemplo, el

rol dual de la CaMKII en la isquemia y reperusión, beneficioso en la I/R reversible o *stunned heart* y perjudicial en la I/R irreversible, favoreciendo el daño miocárdico (Vittone y col. 2008).

En 2003 gané el concurso de Director del Centro de Investigaciones Cardiovasculares y el de profesora asociada de la Cátedra de Fisiología con Biofísica. En 2005 fui titular. En 2007, jefe del Departamento de Fisiología. A pesar de que quizás mi mayor mérito es mi dedicación al trabajo, en algunos momentos me sentí abrumada. Afortunadamente Cristina Camilión, Leticia y Martín pusieron el hombro sucesivamente para ayudarme como vice-directores del Instituto y Leticia, además, como profesora asociada. Y mi esposo y mis hijos fueron muy pacientes.

La dirección de un Instituto es una tarea compleja y difícil. Creo haber puesto toda mi energía para llevarla adelante. En los años que estuve como directora, el Centro creció, en becarios, investigadores y producción. Aprovechando mi doble función de directora del CIC y profesora titular, transformé unas

enormes salas de trabajos prácticos que permanecían vacías gran parte del año, en laboratorios de investigación. También pudimos conseguir dinero para reformar un edificio abandonado que existía detrás de la Facultad y convertirlo en una extensión de nuestro Centro, en el que ahora trabajo yo misma. Eso nos permitió cierto respiro edilicio, frente al aumento del número de becarios e investigadores. Ahorrando durante tres años el dinero para equipamiento que el CONICET daba cada año a sus institutos, pudimos comprar un microscopio confocal reconstruido a nuevo y a buen precio, gracias a una gestión en el exterior de Martín.

En la misma época comencé a colaborar con un argentino que tiene su laboratorio en California, el Dr. Ariel Escobar, con el que obtuvimos dos subsidios Raíces, del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Con gran generosidad nos montó un equipo de su invención en nuestro laboratorio que nos permite medir calcio intracelular (citoplásmico y del retículo sarcoplásmico), en el corazón intacto funcionando. Simultáneamente recibí a alguno de mis becarios y a mí misma, y de ese intercambio surgieron trabajos que determinaron, por primera vez, la dinámica del calcio intracelular durante la isquemia y reperusión en el corazón intacto y el posible sustrato subcelular de las arritmias de reperusión (Valverde et al., 2006, 2010, Mattiazzi et al., 2015).

A fines de esa década, fui presidenta de la Sociedad Argentina de Fisiología y me invitaron a ser miembro del *Editorial Board de Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, órgano oficial de la ISHR, y de *Cardiovascular Research*, órgano de la *European Society of Cardiology*.



Figura 3: En un congreso con mi familia, Arturo, Julia y Pedro.

Como estaba muy interesada en los efectos de la CaMKII en la función cardíaca, establecimos también una colaboración con mi amigo Henk Granzier. El propósito era averiguar si la CaMKII fosforilaba a su proteína, la Titina, y si de esa fosforilación surgía un cambio en la rigidez diastólica. Fui 4 meses, aprovechando el verano de aquí. En ese momento los chicos ya no vivían con nosotros y Arturo pudo visitarme en dos oportunidades. Los resultados mostraron por primera vez, que la titina podía fosforilarse *in vitro* e *in vivo* por la CaMKII, y que la región molecular de titina que determina la rigidez diastólica es un *target* de esa quinasas (Hidalgo y col., 2013).

■ 14. RYR2 Y ARRITMIAS

La CaMKII nos llevó también a estudiar la fosforilación de otras proteínas involucradas en el EC-Coupling. Específicamente, los canales de calcio del retículo sarcoplasmático cardíaco o receptores de rianodina (RyR2). Esta es una molécula compleja con varios sitios de fosforilación. Uno de ellos es específicamente fosforilado por CaMKII. En colaboración con el Dr. Xander Wherens del Baylor College of Cardiology, quien nos facilitó ratones con mutación del sitio del RyR2 fosforilado por CaMKII, desarrollamos una serie de trabajos que nos permitieron demostrar el mecanismo de las arritmias de perfusión, por

intoxicación digitalica y en la pre-diabetes (Said y col., 2001; Gonano y col., 2011; Sommese y col., 2016). En todos los casos, el aumento de la fosforilación del RyR2 por CaMKII es el mecanismo desencadenante de las ondas de calcio arritmogénicas que eventualmente producirán arritmias. Establecida la importancia de la pérdida de calcio por el RyR2 en la producción de arritmias, nos preguntamos qué rol jugaba el secuestro de calcio en la producción de las mismas. En el laboratorio iniciamos otra cepa de ratones, producto de la cruce de los ratones que perdían calcio en diástole debido a su pseudofosforilación constitutiva del RyR2 en el sitio CaMKII y los ratones PLNKO. Llamamos SDKO



Figura 4: Con investigadores, becarios y técnicos que me acompañaron o me acompañan en el laboratorio. Fila superior: Cecilia Mundiña, Leticia Vittone, Martín Vila-Petroff, Carlos Valverde, Luis Gonano y Juan Felice. Fila del medio: Alejandra Cely-Ortiz, Margarita Salas, Matilde Said, Julieta Palomeque, Paola Ferrero y Omar Castillo. Abajo, a mi derecha, Marilén Federico y Omar Velez-Rueda. A mi izquierda, Luciana Sapia, Mónica Rando e Inés Vera. A Omar, Mónica, Omín, Luciana e Inés un agradecimiento especial, por haber colaborado tantas veces en mis emprendimientos.

a la cepa resultante. Con el trabajo de becarios recientemente incorporados, Gabriela Mazzocchi y Leandro Sommese, demostramos que el aumento del secuestro de calcio es capaz de prevenir las arritmias disparadas por calcio, por ejemplo, las provocadas por estrés o las arritmias de reperfusión, porque impide la propagación de las ondas arritmogénicas (Mazzocchi y col., 2016). En dicho trabajo colaboramos con Elena Lascano y Jorge Negroni y, a través de un modelo matemático y la habilidad de Charly Valverde, pudimos predecir diferentes zonas delimitadas por el interjuego entre la pérdida y secuestro de calcio del retículo sarcoplasmático, con diferente propensión a la generación de arritmias.

El estudio anterior, nos permitió observar que el aumento del secuestro de calcio fragmentaba las ondas arritmogénicas, convirtiéndolas en mini ondas que en muchos casos aparecían con zonas alternantes de fluorescencia y oscuridad, semejan-do a las cuentas de un collar, eventos a los que Charly bautizó como *warks*. Ese hallazgo nos introdujo en el complejo problema del mecanismo por el que se propaga una onda arritmogénica, mecanismo que estamos estudiando con gran expectativa en este momento, con Charly y dos integrantes nuevos en el grupo, el post-doc Juan Felice y la becaria Alejandra Cely Ortiz.

Casi al final de mi aventura con la ciencia, recibí varios honores. Le dieron mi nombre a la recién inaugurada biblioteca de nuestro Instituto, me nombraron *Silver Fellow of the Basic Research Council de la American Heart Association*, *Fellow of the International Society for Heart Research* y recibí en San Diego la *Distinguished Leader Award* de esa misma sociedad, en 2013. Integré el comité científico de va-

rios congresos internacionales y fui nombrada recientemente, en 2017, *Chair of the Commission of Circulation and Respiration, of the International Union of Physiological Sciences*. Los disfruté junto a mi familia y a varios de los investigadores que contribuí a formar y que continuaron en el camino de la ciencia, de los que he recibido y recibo también muchas satisfacciones a través de todos sus logros, que constituyen para mí una continuación superadora de lo que yo pude hacer.

Como epílogo, quiero decir que para mí hacer ciencia, con aciertos y errores fue mi *modus vivendi*. E insisto en las palabras del inicio del Dr. Braun Menéndez: para ser investigador no basta querer serlo. Dentro de las características que él mencionó todas son importantes, pero quisiera enfatizar dos de ellas: una verdadera vocación, que es la condición necesaria para generar preguntas y tratar de resolverlas, y que constituye el generador del entusiasmo y la fuerza para que se cumpla la segunda: un arduo trabajo. O como lo expresé mejor Pablo Picasso “*¡La inspiración existe! Pero tiene que encontrarte trabajando*”.

■ BIBLIOGRAFÍA

Sonnenblick EH. (1962a) *Implications of Muscle Mechanics in the heart. Federation Proceedings* 21,975-990.

Sonnenblick EH. (1962b) *Force velocity relations in mammalian heart muscle. American journal Physiology* 202, 931-939.

Brady AJ. (1965) *Time and displacement dependence of cardiac contractility: problems in defining the active state and force-velocity relations. Federation Proceedings* 24,1410-1420.

Mattiazzi A. (1968) *Consideraciones sobre pH y contractilidad miocárdica. Estudio experimental*. Tesis. Biblioteca de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata.

Mattiazzi A, Cingolani HE, González NC. (1969) *Lack of effect of THAM upon myocardial contractility. Experientia* 25, 162-163.

Cingolani HE, Blesa ES, González NC, Mattiazzi A. (1969) *Extracellular vs. intracellular pH as a determinant of myocardial contractility. Life Science* 8, 775 781.

Cingolani HE, Mattiazzi A, Blesa ES, González NC. (1970) *Contractility in isolated mammalian heart muscle after acid base changes. Circulation Research* 26, 269 278.

Pollack GH. (1970) *Maximum velocity as an index of contractility in cardiac muscle. A critical evaluation. Circulation Research* 26,111-127.

Edman, KA P, Nilsson E. (1968) *The mechanical parameters of myocardial contraction studied at a constant length of the contractile element. Acta physiologica scandinavica* 72, 205-219.

Edman, KA P, Nilsson E (1969) *The dynamics of the inotropic change produced by altered*

pacing of rabbit papillary muscle. Acta physiologica scandinavica 76, 236-247.

Edman KAP, Mattiazzi A, Nilsson E. (1974) *Influence of temperature on the force velocity relationship in rabbit papillary muscle. Acta physiologica scandinavica* 90,750 -756.

- Mattiuzzi A, Nilsson E. (1976) *The influence of temperature on the time course of the mechanical activity of rabbit papillary muscle*. *Acta physiologica scandinavica* 97, 310- 318.
- Bárány, M. (1967) *ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening*. *Journal of General Physiology* 50, 197-218.
- Sandow A. (1952) *Excitation-contraction coupling in muscular response*. *Yale Journal of Biology and Medicine* 25, 176 –201.
- Mattiuzzi A, Cingolani HE, Graham TP Jr. (1977) *Lack of effect of hypercapnic acidosis on elasticity of cat papillary muscles*. *Cardiovascular Research* 11, 559- 567.
- Cingolani HE, Faulkner S, Mattiuzzi A, Graham TP Jr., Bender HW. (1975) *Contractility in myocardial human tissue following acid base changes*. *Surgery* 77, 427-432.
- Mattiuzzi A, Cingolani HE. (1977) *Biphasic effect of hypercapnia on myocardial contractility*. *Archives Internationales de Physiologie et Biochimie* 85,11- 25.
- Mattiuzzi A, Cingolani HE. (1977) *Paradoxical effect of hypercapnia on toad ventricular muscle*. *Circulation Research* 41, 117- 122.
- Mundiña-Weilenmann C, Said M, Ferrero P, Vittone L, Kranias E.G. Mattiuzzi, A. (2005) *Role of phosphorylation of Thr17 of phospholamban in the mechanical recovery from hypercapnic acidosis*. *Cardiovascular Research* 66, 114-122.
- Mattiuzzi A, Vittone L, Mundiña-Weilenmann C. (2007) *Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase: A key component in the contractile recovery from acidosis*. *Cardiovasc Research* 73, 648-656.
- Edman KAP, Mattiuzzi A. (1981) *Effects of fatigue and altered pH on isometric force and velocity of shortening at zero load in frog muscle fibres*. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 2, 321- 334.
- Mundiña-Weilenmann C, Vittone L, Chiappe de Cingolani GE, Mattiuzzi A. (1987) *Dissociation between contraction and relaxation. The possible role of phospholamban phosphorylation*. *Basic Research in Cardiology* 82, 507-516.
- Mundiña-Weilenmann C, Vittone L, Chiappe de Cingolani GE, Mattiuzzi A. (1988) *The effects of Bay K 8644 on myocardial relaxation and cAMP levels in perfused rat heart: Role of sympathetic neurotransmitter release*. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 20,765- 769.
- Vittone L, Mundiña C, Chiappe de Cingolani GE, Mattiuzzi A. (1988) *Correlación entre la relajación miocárdica y la fosforilación de la fosfolamban*. *Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana* 38, 213- 227.
- Vittone L, Mundiña C, Chiappe de Cingolani G, Mattiuzzi A. (1990) *cAMP and calcium dependent mechanisms of phospholamban phosphorylation in intact hearts*. *American Journal of Physiology* 258, H318- H325.
- Granzier HL, Irving TC. (1995) *Passive tension in cardiac muscle: contribution of collagen, titin, microtubules, and intermediate filaments*. *Biophysical Journal* 68, 1027-44.
- Granzier H, Mattiuzzi A, Pollack G. (1990) *Sarcomere dynamics during isotonic velocity transients in single frog muscle fibres*. *American Journal of Physiology* 259, C266- C278.
- Pérez NG, Vila Petroff M, Mattiuzzi A. (1993) *Rested state contraction and rest potentiation in spontaneously hypertensive rats*. *Hypertension* 22, 306-314.
- Mattiuzzi A, Hove-Madsen L, and Bers D. (1994) *Protein kinases inhibitors reduce sarcoplasmic reticulum Ca transport in permeabilized cardiac myocytes*. *American Journal of Physiology* 267, H812-H820.
- Bassani R, Mattiuzzi A, Bers DM. (1995) *CaMKII is responsible for activity-dependent acceleration of relaxation in intact rat ventricular myocytes*. *American Journal of Physiology* 268, H703-H712.
- Mundiña-Weilenmann C, Vittone L, Ortale M, Chiappe de Cingolani G, Mattiuzzi A. (1996) *Immunodetection of phosphorylation sites gives new insights into the mechanisms underlying phospholamban phosphorylation in the intact heart*. *Journal of Biological Chemistry* 271, 33561-33567.
- Vittone L, Mundiña-Weilenmann C, Said M, Mattiuzzi A. (1998) *Mechanisms involved in the acidosis enhancement of the isoproterenol-induced phosphorylation of phospholamban in the intact heart*. *Journal of Biological Chemistry* 273, 9804-9811.
- Vittone L, Mundiña-Weilenmann C, Said M, Ferrero P, Mattiuzzi

- A. (2002) *Time Course and Mechanisms of Phosphorylation of Phospholamban Residues in Ischemia-reperfused Rat Hearts. Dissociation of Phospholamban Phosphorylation Pathways. Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 34, 39-50.
- Said M, Vittone L, Mundiña-Weilenmann C, Ferrero P, Kranias EG, Mattiazzi A. (2003) *Role of dual site phospholamban phosphorylation in the stunned heart: Insights from phospholamban - site specific mutants. American Journal of Physiology* 285, H1198-H1205.
- Mundiña-Weilenmann C, Said M, Ferrero P, Vittone L, Kranias E.G. Mattiazzi, A. (2005) *Role of phosphorylation of Thr17 of phospholamban in the mechanical recovery from hypercapnic acidosis. Cardiovascular Research* 66, 114-122.
- Vila-Petroff M, Salas M, Said M, Valverde C, Sapia L, Portiansky E, Hajjar R, Kranias EG, Mundiña-Weilenmann C, Mattiazzi A. (2007) *CaMKII-Inhibition Protects against Necrosis and Apoptosis in the Irreversible Ischemia-Reperfusion Injury. Cardiovascular Research* 73, 689-698.
- Vila-Petroff M, Aiello A, Palomeque J, Salas M, Mattiazzi A. (2000) *Subcellular Mechanisms of the positive inotropic effect of Ang II in feline myocardium. Journal Physiology (London)* 15, 189-203.
- Vila-Petroff, M. Palomeque J, Mattiazzi A. (2003) *Na⁺/Ca²⁺ exchange underlying contraction frequency inotropy. Journal Physiology (London)* 550, 801-817.
- Palomeque J, Sapia L, Hajjar R, Mattiazzi A, Vila-Petroff M. (2006) *Angiotensin-II induced negative inotropy in rat ventricular myocytes: role of reactive oxygen species and p38 MAPK. American Journal of Physiology* 290, H96-106.
- Valverde C, Mundiña-Weilenmann C, Said M, Ferrero P, Vittone L, Salas M, Palomeque J, Vila Petroff M, Mattiazzi A. (2005) *Frequency-dependent acceleration of relaxation in mammalian heart: a property not relying on phospholamban and SERCA2a phosphorylation. Journal Physiology (London)* 562, 801-813.
- Huke S, Bers DM. (2007) *Temporal dissociation of frequency-dependent acceleration of relaxation and protein phosphorylation by CaMKII. Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 42, 590-9.
- Palomeque, J., Velez-Rueda OJ., Sapia L., Valverde CA., Salas M., Vila-Petroff M., Mattiazzi A. (2009) *Angiotensin II-induced oxidative stress resets the Ca²⁺-dependence of Ca²⁺-calmodulin protein kinase II and promotes a death pathway conserved across different species. Circulation Research* 105, 1204-1212.
- Luo W, Grupp IL, Harrer J, Ponniah S, Grupp G, Duffy JJ, Doetschman T, Kranias EG. (1994) *Targeted ablation of the phospholamban gene is associated with markedly enhanced myocardial contractility and loss of beta-agonist stimulation. Circulation Research* 75, 401-409.
- Valverde CA, Mundiña-Weilenmann C, Reyes M, Kranias EG, Escobar AL, Mattiazzi A. (2006) *Phospholamban phosphorylation sites enhance the recovery of intracellular Ca²⁺ after perfusion arrest in isolated, perfused mouse heart. Cardiovascular Research* 70, 335-345.
- Valverde CA, Korniyev D, Ferreira M, Petrosky AD, Mattiazzi A, Escobar AL. (2010) *Transient Ca²⁺ depletion of the sarcoplasmic reticulum at the onset of reperfusion. Cardiovascular Research* 85:671-680.
- Mattiazzi A., Argenziano M, Aguilar-Sanchez Y, Mazzocchi G, Escobar AL. (2015) *Ca²⁺ Sparks and Ca²⁺ waves are the subcellular events underlying Ca²⁺ overload during ischemia and reperfusion in perfused intact hearts. Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 79, 69-78.
- Vittone L, Mundiña-Weilenmann C, Mattiazzi A. (2008) *Phospholamban phosphorylation by Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase under pathophysiological conditions. Frontiers in Bioscience* 13, 5988-6005.
- Hidalgo CG, Chung CS, Saripalli Ch, Methawasin M, Hutchinson KR, Tsapralis G, Labeit S, Mattiazzi A, Granzier HL. (2013) *The multifunctional Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II delta (CaMKIIδ) phosphorylates cardiac spring elements. Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 54, 90-97.
- Said M, Becerra R, Valverde CA, Kaetzel MA, Dedman JR, Mundiña-Weilenmann C, Wehrens XH, Vittone L, Mattiazzi A. (2011) *Calcium-calmodulin dependent protein kinase II (CaMKII): A main signal responsible for early reperfusion arrhythmias. Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 51, 936-44.
- Gonano LA, Sepúlveda M, Rico Y,

Kaetzel M, Valverde CA, Dedman J, Mattiazzi A, Vila Petroff M. (2011) *Calcium-calmodulin kinase II mediates digitalis-induced arrhythmias. Circulation Arrhythmias and Electrophysiology* 4,947-57.

Sommese L., Valverde, CA, Blanco, P, Castro MC, Velez Rueda, O., Kaetzel M, Dedman J., Anderson, ME, Mattiazzi, A., Palomeque, J. (2016) *Ryanodine Receptor Phosphorylation by CaMKII Promotes Arrhythmias in a Rodent Model of Early Stage Diabetes.*

International Journal of Cardiology 202, 394-406.

Mazzocchi G, Sommese L, Palomeque J, Felice JI, Di Carlo MN, Fainstein D, Gonzalez P, Contreras P, Skapura D, McCauley MD, Lascano E, Negroni J, Kranias EG, Wehrens XHT, Valverde CA, Mattiazzi A. (2016) *Phospholamban ablation rescues the enhanced propensity to arrhythmias of mice with CaMKII-constitutive phosphorylation of RyR2-S2814 site. Journal Physiology (London)* 594, 3005–3030.

■ NOTA

- 1 El *estado activo*, (del que no se habló más desde que se pudo medir calcio intracelular) se consideraba una medida mecánica, en términos de fuerza o acortamiento, de los procesos que tenían lugar a nivel de la maquinaria contráctil. La intensidad del estado activo reflejaba el grado en el que el músculo era activado.