



COMUNICACIONES PÓSTER

15.^a Reunión Nacional Sociedad Española de Hipertensión Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial Zaragoza, 9-12 de marzo de 2010

Investigación preclínica

1. PARTICIPACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE COCOANOX, UN CACAO RICO EN POLIFENOLES

A. Aleixandre de Artiñano¹, M. Quiñones Tellez¹, B. Muguerza²
y M. Miguel Castro³

¹Facultad de Medicina (UCM), Madrid. ²Natraceutical Group, Valencia. ³Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), Madrid.

Propósito del estudio: El consumo de polifenoles se sabe que previene de distintas enfermedades. Más concretamente, se ha demostrado que los polifenoles del cacao poseen efecto antihipertenso (Grassi et al. Am J Clin Nutr 2005;81:611-4; Grassi et al. Hypertension. 2005;46:398-405; Ding et al. Nutr Metab (Lond). 2006;3:2). Numerosos estudios indican que los polifenoles deben su efecto antihipertenso a sus propiedades antioxidantes, y algunos señalan que estos compuestos producen un aumento en la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) (Andriambeloson et al. Br J Pharmacol. 1997;120:1053-8; Zenebe et al. Physiol Res. 2003;52:425-32; Duarte et al. Physiol Res. 2004;53:595-602). CocoanoX (CCX) es un polvo de cacao obtenido mediante un procedimiento industrial que preserva gran parte de los polifenoles originales del cacao. CCX produce una disminución de la presión arterial en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) (Cienfuegos-Jovellanos et al. J Agric Food Chem. 2009, 57:6156-62). El objetivo de este trabajo fue evaluar la participación que pueden tener los factores relajantes que se liberan en el endotelio, prostaciclina y NO, en el efecto antihipertenso de CCX.

Métodos: Se utilizaron 2 grupos de ratas macho SHR de 17-22 semanas de vida, a los que se administró respectivamente, mediante sonda intragástrica, agua (control negativo) o CCX (300 mg/kg). 2 horas después, se administró a los animales por vía intraperitoneal (i.p.) N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) (30 mg/kg) (inhibidor de la síntesis de NO) o indometacina (5 mg/kg) (inhibidor de la síntesis de prostaciclina), ambos disueltos en 1 ml de suero salino. Además, algunos animales recibieron únicamente 1 ml de suero salino i.p. La presión arterial sistólica (PAS) de todas las ratas se midió antes de la administración inicial por vía oral, y también 4

horas después de la misma, mediante la técnica del manguito en la cola (Buñag, J Appl Physiol. 1973;34:279-82).

Resultados: La administración oral de CCX disminuyó significativamente la PAS de las ratas SHR. El tratamiento con L-NAME aumentó significativamente los niveles de PAS y el efecto antihipertenso de CCX no se observó en los animales tratados con L-NAME. La administración de indometacina no modificó la PAS de las ratas SHR y tampoco modificó el efecto de CCX en ellas.

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que el efecto antihipertenso de CCX en ratas SHR está mediado por la liberación endotelial de NO.

Financiado por Natrageutical Group (36/2007 U.C.M. Project).

2. ALTERACIONES ESTRUCTURALES, MECÁNICAS Y FUNCIONALES PRODUCIDAS POR ANGiotensina II EN ARTERIAS DE RESISTENCIA DE RATONES C57

M.S. Avendaño Herrador¹, A.B. García Redondo¹,
S. Martínez Revelles¹, C. Merino Sanz¹, M.J. Alonso Gordo²,
A.M. Briones Alonso¹ y M. Salaices Sánchez¹

¹Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ²Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, Madrid.

Introducción: El sistema renina-angiotensina juega un papel importante en la regulación de la presión arterial y en la homeostasis de los fluidos corporales. La angiotensina II (Ang II), su principal efector, modula el tono vasomotor, el crecimiento celular y la deposición de matriz extracelular, todos ellos parámetros alterados en patologías como la hipertensión. Se han descrito diferentes alteraciones funcionales estructurales y mecánicas de las arterias de resistencia asociadas a la patología hipertensiva.

Propósito del estudio: Evaluar si la Ang II induce cambios en la presión arterial, la estructura, la mecánica y la función vascular en arterias mesentéricas de resistencia (AMR) de ratones.

Métodos: Se utilizaron ratones C57 (25-35 g) de 4-6 semanas de edad a los que se les implantó una minibomba osmótica rellena de Ang II, que libera 1.440 µg/kg/día durante un período de 14 días. Durante este tiempo se llevó a cabo la toma de presiones mediante la técnica de plethysmografía de cola. Se obtuvieron, arterias mesentéricas de resistencia (1^a rama de la arteria mesentérica superior) que se utilizaron para llevar a cabo estudios de reactividad

vascular, mediante un miógrafo de alambres, y estudios para evaluar la estructura y la mecánica vascular, haciendo uso de un miógrafo de presión. La viabilidad de las arterias se comprobó mediante su exposición a una solución de elevada concentración de potasio. La función endotelial se determinó mediante la capacidad de las arterias de relajar frente a acetilcolina.

Resultados: La infusión de Ang II a ratones C57 durante 14 días produjo un incremento progresivo de la presión arterial; los valores de presión arterial sistólica al final del tratamiento fueron de $95,25 \pm 3,4$ mmHg en los ratones control y de $145,9 \pm 6,7$ mmHg en los ratones tratados con Ang II ($p < 0,05$). En los ratones tratados con Ang II se observaron los siguientes cambios en la función vascular de las arterias de resistencia: 1) incremento en la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina (1 nM-100 μ M); 2) disminución de la potenciación de la respuesta a fenilefrina inducida por el inhibidor de la óxido nítrico sintasa, L-NAME (1 μ M); 3) disminución de la respuesta relajadora a acetilcolina (1 nM-10 μ M). El tratamiento con Ang II alteró también la estructura y la mecánica vascular. Así, se observaron los siguientes cambios en las AMR de ratones infundidos con Ag II: 1) disminución del diámetro interno, 2) incremento en el grosor de la pared; 3) incremento de la relación media/luz 4) descenso de la distensibilidad a bajas presiones de perfusión y 5) desplazamiento hacia la izquierda de la curva stress-strain.

Conclusiones: La infusión de Ang II a ratones C57 produce un incremento en la presión arterial acompañado de cambios en la estructura vascular, descenso en la elasticidad e incremento en la rigidez vascular. Asimismo se produce una disfunción endotelial que se traduce en disminución de las relajaciones endotelio dependiente, disminución de la modulación por NO de las respuestas vasoconstrictoras y aumento de las respuestas vasoconstrictoras. El tratamiento de ratones con Ang II utilizado puede constituir un buen modelo animal de hipertensión.

Financiado por MICINN (SAF 2006-02376, SAF 2009-07201) ISCIII (Red RECAVA, RD06/0014/0011) y FMM.

3. EFECTO DEL ENTRENAMIENTO AERÓBICO MODERADO SOBRE LA FUNCIÓN NEURONAL EN ARTERIA MESENTÉRICA SUPERIOR DE RATA ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSA

J. Blanco Rivero¹, F.R. Roque Redondo², M. Salaices Sánchez² y G. Balfagón Calvo¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ²Departamento de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.

Objetivos: El objetivo de ese trabajo fue determinar si el entrenamiento aeróbico moderado modifica la función de las inervaciones adrenérgica, nitrérgica y sensorial en arteria mesentérica de rata espontáneamente hipertensa (SHR).

Métodos: Los animales se dividieron en dos grupos experimentales: SHR sedentarias y sometidas a un entrenamiento aeróbico moderado en una cinta rodante durante 5 semanas (1 vez al día) con una intensidad de 55-65% de la velocidad máxima obtenida en una prueba de esfuerzo. Se determinó si existían diferencias en la respuesta vasoconstrictora a estimulación eléctrica (EE, 200 mA, 0,3 ms, 1-4 Hz, 30 s) en presencia/ausencia del antagonista a-adrenérgico fentolamina (1 mmol/L), del inhibidor inespecífico de óxido nítrico sintasa (NOS) L-NAME (0,1 mmol/L), del secuestrador de aniones superóxido tempol (0,1 mmol/L), o de tempol y L-NAME juntos. Se analizó la respuesta a nitroprusiato sódico (SNP) en presencia/ausencia de tempol, la respuesta vasoconstrictora y la liberación de noradrenalina (NA).

la de aniones superóxido por quimioluminiscencia, y la expresión de NOS neuronal (nNOS) se detectó por western blot.

Resultados: La respuesta vasoconstrictora a EE fue menor en animales entrenados que en sedentarios. La preincubación con fentolamina disminuyó la respuesta vasoconstrictora a EE en ambos grupos experimentales, pero en menor medida en ratas entrenadas. La liberación de NA fue también menor en animales entrenados mientras que la respuesta vasoconstrictora a NA exógena fue mayor. La preincubación con 8-37 CGRP incrementó la respuesta vasoconstrictora a EE de manera similar en ambos grupos experimentales. Tanto la liberación como la respuesta a CGRP exógeno no se vieron modificados por el entrenamiento. La respuesta vasoconstrictora a EE aumentó en ambos modelos experimentales en presencia de L-NAME, pero en mayor medida en ratas entrenadas. La expresión de nNOS, la liberación de NO y la respuesta vasodilatadora a DEA-NO fueron mayores en ratas entrenadas, mientras que la liberación de aniones superóxido se vio disminuida por el entrenamiento. La preincubación con tempol incrementó la vasodilatación a DEA-NO solamente en segmentos de animales sedentarios.

Conclusión: El entrenamiento aeróbico moderado produce una disminución de la respuesta vasoconstrictora a EE. Este efecto está mediado al menos por una disminución en la función adrenérgica y un incremento en la función nitrérgica.

Subvencionado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF 2006 02376 y SAF 2009 10374) y Fundación Mutua Madrileña.

4. ALTERACIONES EN LA FUNCIÓN DE LA INERVACIÓN ADRENÉRGICA Y NITRÉRGICA PRODUCIDAS POR HIPERTENSIÓN PORTAL A CORTO Y LARGO PLAZO EN ARTERIA MESENTÉRICA DE RATA

G. Balfagón Calvo¹, J. Blanco Rivero¹, M.A. Aller Reyero², V. Lahera Juliá³ y J. Arias Pérez²

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ²Cátedra de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

³Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

Objetivos: Nuestro objetivo fue analizar posibles cambios en la función adrenérgica y nitrérgica producida por hipertensión portal mantenida a corto y largo plazo en arteria mesentérica de rata.

Métodos: Se utilizaron ratas pseudooperadas (PO) o sometidas a una triple ligación parcial de la vena porta, para provocarles hipertensión portal (HP), a corto (1 mes) y largo plazo (22 meses). Se analizó la respuesta vasoconstrictora a estimulación eléctrica (EE, 200 mA, 0,3 ms, 1-4 Hz, 30 s) en presencia/ausencia del antagonista a-adrenérgico fentolamina (1 mmol/L), del inhibidor inespecífico de óxido nítrico sintasa (NOS) L-NAME (0,1 mmol/L), del secuestrador de aniones superóxido tempol (0,1 mmol/L), o de tempol y L-NAME juntos. Se analizó la respuesta a nitroprusiato sódico (SNP) en presencia/ausencia de tempol, la respuesta vasoconstrictora y la liberación de noradrenalina (NA).

Resultados: La HP a corto plazo disminuyó la respuesta vasoconstrictora a EE. Fentolamina disminuyó dicha respuesta en ambos grupos experimentales, pero en mayor medida en segmentos de PO, mientras que la HP disminuyó la liberación y no modificó la respuesta vasoconstrictora a NA. La respuesta vasoconstrictora a EE se incrementó en presencia de L-NAME en ambos grupos experimentales, pero en mayor medida en HP a corto plazo. La respuesta vasodilatadora a SNP fue similar en ambos grupos experimentales, y no se vio modificada por la incubación con tempol. La HP a largo plazo no alteró la respuesta vasoconstrictora a EE: La fentolamina disminuyó dicha respuesta de forma similar en ambos grupos experimentales. Tanto la liberación como la respuesta vasoconstrictora

a NA no se vieron modificadas por la HP. La preincubación con L-NAME incrementó la respuesta vasoconstrictora a EE de manera similar en ambos grupos experimentales. La presencia de tempol disminuyó la respuesta vasoconstrictora a EE sólo en segmentos de ratas con HP a largo plazo, mientras que la presencia de tempol y L-NAME juntos indujo un incremento mayor en arterias de ratas con HP. La respuesta a SNP fue menor en HP a largo plazo, siendo dicha respuesta restaurada en presencia de tempol.

Conclusiones: En la disminución de la respuesta vasoconstrictora a EE participan la disminución en la función de la inervación adrenérgica, y el aumento en la función de la inervación nitrérgica en HP a corto plazo. A largo plazo, la HP no altera la participación de la inervación nitrérgica y adrenérgica. Sin embargo, nuestros resultados sugieren además que un incremento en la liberación de NO se ve compensado por un incremento en el metabolismo del NO.

Subvencionado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (DEP 2006-56187-C04-04 y SAF2009-10374).

5. EFECTO DE LA ROSUVASTATINA SOBRE LAS ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS A LA OBESIDAD EN RATAS

M. Valero-Muñoz, N. de las Heras, B. Martín-Fernández, M. Miana, S. Ballesteros, J. Blanco, M. Oubiña, V. Cachofeiro y V. Lahera

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid.

Introducción: La obesidad se asocia a múltiples alteraciones metabólicas entre las que cabe destacar la resistencia a la insulina y la dislipemia.

Objetivos: Estudiar el efecto de la rosuvastatina sobre las alteraciones metabólicas en un modelo de obesidad inducido por dieta.

Diseño experimental: Se utilizaron ratas macho Wistar de 250-300 g de peso, alimentadas con dieta estándar (CT) o con una dieta con alto contenido en grasa (33,5% del contenido calórico) durante 7 semanas (SBP). La mitad de los animales fueron tratados con rosuvastatina (SBP + ROSU; 15 mg/Kg/día) durante las 7 semanas del estudio. El grupo de ratas alimentadas con dieta estándar se utilizó como referencia de condiciones de normalidad.

Resultados: Las ratas alimentadas con la dieta alta en grasa presentaron un incremento del peso corporal (22%; p < 0,05) y del tejido adiposo blanco epididimal (CT: 0,95 ± 0,1 g/cm tibia vs SBP: 3,52 ± 0,3 g/cm tibia; p < 0,001) y lumbar (CT: 1,21 ± g/cm tibia vs SBP: 4,23 ± 0,3 g/cm tibia; p < 0,001), sin cambios en el peso del tejido adiposo marrón. El tratamiento con rosuvastatina no modificó ninguno de estos parámetros. Las ratas con sobrepeso presentaron en ayunas, niveles elevados de glucosa (CT: 95 ± 8,9 mg/dl vs SBP: 120 ± 5,05 mg/dl, p < 0,05) y de insulina (CT: 0,51 ± 0,09 mg/dl vs SBP: 1,6 ± 0,25 mg/dl, p < 0,05), por lo que el índice HOMA fue mayor que en los controles (CT: 2,66 ± 0,4 vs SBP: 11,93 ± 2,08, p < 0,01). El tratamiento con rosuvastatina redujo los niveles plasmáticos de glucosa e insulina en ratas con sobrepeso y disminuyó de manera significativa el índice de resistencia a la insulina HOMA (SBP: 11,93 ± 2,08 vs SBP + ROSU: 6,96 ± 1,13, p < 0,05). El cociente de las concentraciones plasmáticas de leptina/adiponectina fue mayor (CT: 1.912 ± 388 vs SBP: 10.029 ± 527, p < 0,001) en las ratas con sobrepeso. La rosuvastatina redujo significativamente dicho cociente en las ratas con sobrepeso (SBP + ROSU: 6.653 ± 888, p < 0,01).

Conclusiones: El tratamiento con rosuvastatina mejora la resistencia a la insulina y el desequilibrio leptina/adiponectina en ratas con obesidad inducida por dieta alta en grasa. Este nuevo mecanismo de la rosuvastatina abre perspectivas sobre los beneficios de estos fármacos sobre las alteraciones metabólicas del síndrome metabólico y estados de resistencia a la insulina.

6. EJE ESPLÁCNICO-CEREBRAL MEDIADO POR QUIMIOQUINAS EN RATAS CON HIPERTENSIÓN PORTAL

E. Revuelta¹, J. Merino², S. Rubio³, M. Aller⁴, N. de las Heras¹, V. Lahera¹, J. Arias⁴ y J.L. Arias⁵

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid. ²Departamento de Psicobiología, Laboratorio de Neurobiología, UNED, Madrid. ³Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Autónoma, Madrid. ⁴Cátedra de Cirugía, Departamento de Cirugía I, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid. ⁵Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad de Oviedo, Oviedo.

Introducción y objetivos: Las quimioquinas son una familia de citoquinas quimiotácticas relacionadas con la inflamación y la regeneración celular. En la hipertensión portal experimental, las alteraciones morfofuncionales cerebrales (encefalopatías) y esplácnicas (hepatो-enteropatías) podrían estar relacionadas con una etiopatogenia inflamatoria. Con el objeto de verificar esta hipótesis, se determinaron las concentraciones de diversas quimioquinas en el cerebro y en el tracto gastrointestinal de ratas con hipertensión portal prehepática.

Métodos: Se utilizaron ratas macho Wistar: control (n = 8); pseudo-operada (n = 6) y con triple ligadura parcial de la vena porta (n = 12). Al mes de evolución se cuantificaron los niveles de RANTES, CXCR4/SDF1alfa y CXCR1/Fractalkina mediante la técnica de ELISA en sinaptosomas procedentes de varias áreas cerebrales (hipocampo, cerebelo, hipotálamo, córtex prefrontal y estriado), así como en el área esplácnica (hígado, íleon y ganglios linfáticos mesentéricos). Además, se valoraron los niveles de TNF-alfa, nestina y Bcl-2 en el hipocampo, hígado e íleon.

Resultados: En el SNC de ratas con hipertensión portal, SDF-1alfa aumentó en el hipocampo y en el cerebelo (p < 0,05). Por el contrario, RANTES disminuyó (p < 0,05) en el córtex estriado, mientras que los niveles de TNF-alfa y CXCR4 tendieron a aumentar en el hipocampo. Así mismo, las ratas con hipertensión portal presentaron niveles elevados de TNF-alfa en el íleon y en los ganglios linfáticos mesentéricos. La disminución de los niveles de Bcl-2 en el hígado se asoció con la reducción de ambos sistemas de quimioquinas (CXCR4/SDF-1alfa y CXCR1/Fractalkina). Por último, los niveles de CXCR1 aumentaron en el íleon (p < 0,05), en tanto que su ligando, Fractalkina, aumentó (p < 0,05) en los ganglios linfáticos mesentéricos.

Conclusiones: Las alteraciones de las quimioquinas CXCR1/Fractalkine demostradas en el eje esplácnico-cerebral en ratas con hipertensión portal prehepática sugieren una acción anti-inflamatorio y reparadora que podrían compensar la acción patológica de mediadores pro-inflamatorios. De esta manera, el incremento de los niveles de SDF-1alfa en el hipocampo y en el cerebelo podría sugerir la participación de esta alfa-citoquina en el reclutamiento de células STEM, así como en la reparación neuronal. Por lo tanto, podría hipotetizarse la existencia de mecanismos de comunicación dependientes de quimioquinas a través del eje esplácnico-cerebral en la hipertensión portal prehepática.

7. EFECTO DE LOS TRITERPENOS UVAOL Y ERITRODIOL SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE CARDIOFIBROBLASTOS ADULTOS DE RATA

E. Martínez¹, R. Martín², R. Jurado¹, M. Arnés², M. Miana¹, M. Nieto², V. Lahera¹ y V. Cachofeiro¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid. ²Instituto de Biología y Genética Molecular, Facultad de Medicina, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad de Valladolid, Valladolid.

Antecedentes: Los triterpenos pentaciclicos son terpenos de 30 átomos de carbono de origen vegetal que han demostrado un efecto antiproliferativo en células cancerígenas, aunque no está bien establecido si modulan o no la proliferación en células normales.

Objetivo: Valorar el efecto de los triterpenos uvaol y eritrodiol sobre la proliferación *in vitro* de cardiófibroblastos de rata adulta (pase 2-3), así como los posibles mediadores implicados.

Materiales y métodos: Se valoró el efecto de eritrodiol (5-50 µM) y uvaol (5-50 µM) sobre la proliferación inducida por angiotensina II (10^{-8} – 10^{-5} M) en cardiófibroblastos mediante el método (CellTiter 96 Non-Radioactive Cell). Con objeto de valorar la participación de la vía Ras/ERK, se midieron por western blot los niveles de ERK fosforiladas en respuesta a la angiotensina II, en presencia y ausencia de eritrodiol y uvaol.

Resultados: La angiotensina II produjo un aumento de la proliferación de cardiófibroblastos dosis dependiente con una respuesta máxima a angiotensina II 10^{-6} M. La presencia tanto de eritrodiol como de uvaol redujeron ($p < 0,05$) de manera dosis dependiente el efecto proliferativo inducido por angiotensina II 10^{-6} M. El aumento de la fosforilación de las proteínas ERK inducido por angiotensina II alcanzó su máximo entre 15-30 minutos. Eritrodiol y uvaol redujeron ($p < 0,05$) la fosforilación de la ERK de manera dosis dependiente. Tanto eritrodiol como uvaol a dosis altas (25-50 µM) redujeron la viabilidad de los cardiófibroblastos en ausencia de angiotensina II. Con objeto de valorar si esta reducción es consecuencia de la estimulación por parte de los triterpenos de un proceso de apoptosis, realizamos un ensayo de unión de anexina V y cuantificamos mediante citometría de flujo. A dosis bajas, ni eritrodiol ni uvaol inducen apoptosis de cardiófibroblastos, pero en dosis altas (25-50 µM) inducen la apoptosis de los mismos ya que los niveles de anexina V aumentan. Este proceso parece ser independiente de la vía Ras/ERK ya que un inhibidor de esta vía (PD 98059) no modifica este proceso, aunque si modula la proliferación inducida por la angiotensina II.

Conclusiones: Estos datos sugieren que los triterpenos eritrodiol y uvaol tienen un efecto sobre la proliferación de los cardiófibroblastos que es dosis dependiente. La disminución de la proliferación se correlaciona con la puesta en marcha de procesos de apoptosis. Este último proceso es independiente de la vía Ras/ERK.

8. AUTOAUDITORÍA DEL PROCESO DE RIESGO VASCULAR EN LOS CENTROS DE ATENCIÓN

C.M. Díaz Aguilar¹, M.C. Martos Órpez¹, A.M. Caballero Mateos¹, M. Villalba Calvente¹, M.J. Ramírez Campos¹, E. Martín Rioboo¹, E.I. García Criado¹, L. Péruela de Torres² y F.J. Ruiz Moruno¹

¹Centro de Salud Fuensanta, Córdoba. ²Unidad Docente de Medicina Familiar Comunitaria, Córdoba.

Objetivos: Evaluar las actividades contempladas en el Proceso asistencial de Riesgo Vascular (normas de calidad) previa a su implantación en centros de salud de los Distritos de Atención Primaria Córdoba y Guadalquivir.

Material y métodos: Tipo de estudio: descriptivo, transversal, de evaluación de la calidad asistencial (self-audit). Ámbito del estudio: Centros de Salud de Huerta de la Reina, Santa Rosa, Occi-

dente, Villarrubia, El Higuerón, Levante norte, Fuensanta, La Carlota, Adamuz, Montoro ubicados en las áreas que abarcan los Distritos Sanitarios de Córdoba-centro y Guadalquivir. Sujetos: 301 pacientes ≥ 18 años registrados en la Historia Clínica Diraya que presentasen alguno de Los criterios definidos en el Proceso Asistencial de Riesgo Vascular de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía. Mediciones e intervenciones: los criterios escogidos son los contemplados en las Normas de calidad del Proceso y en el Contrato-programa, los Indicadores son los recogidos en la Cartera de servicios de los Procesos Asistenciales.

Resultados: Se evaluaron los 18 criterios de calidad, observándose un bajo grado de cumplimentación salvo en la toma de TA, control del perfil lipídico y cribado de DM.

Conclusiones: Se presentan los resultados a los EAP y se plantea una reevaluación a los 6 meses.

9. LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL ASOCIADA AL ENVEJECIMIENTO EN MICROVASOS HUMANOS NO SE INTENSIFICA CON LA PRESENCIA DE HIPERTENSIÓN

M. El Assar¹, S. Vallejo¹, J. García Septiem², J.M. Jover², M. Castro³, C.F. Sánchez Ferrer⁴, J. Angulo¹ y L. Rodríguez Mañas³

¹Fundación para la Investigación Biomédica, Hospital Universitario de Getafe, Getafe. ²Servicio de Cirugía General y Digestivo, Hospital Universitario de Getafe, Getafe. ³Servicio de Geriatría, Hospital Universitario de Getafe, Getafe. ⁴Departamento de Farmacología, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.

Propósito del estudio: El envejecimiento causa un deterioro de la relajación endotelial en microvasos humanos similar al que se observa en adultos con hipertensión arterial (HTA). El objetivo del presente estudio es evaluar el impacto de la (HTA) sobre la relajación endotelial en microvasos humanos procedentes de pacientes mayores de 65 años y analizar los potenciales mecanismos implicados.

Métodos: Se obtuvieron segmentos arteriales de muestras de epíplano de 50 pacientes sometidos a laparotomía abdominal no séptica y se montaron en miografo para microvasos. Se analizaron las respuestas vasodilatadoras inducidas por bradiquinina (10 nM-3 µM) en vasos precontraídos con 35 mM de cloruro potásico (KCl). Para testar la implicación del estrés oxidativo y de la vía de la ciclooxygenasa (COX) en el empeoramiento de las relajaciones endotelio-dependientes, los microvasos fueron preincubados con superóxido dismutasa (SOD, 100U/ml) y con el inhibidor de COX, indometacina (10 µM) respectivamente. Los resultados se expresaron como la media ± ES de los valores de pD₂ para BK y se compararon mediante t de Student. También se analizó la expresión génica vascular de ciclooxygenasa (COX1/2) y NADPH oxidasa (NOX-4) mediante PCR en tiempo real. Los resultados se normalizaron con el 18S (gen de referencia) y se analizaron mediante el método ΔΔCT.

Resultados: La relajación endotelial inducida por BK en microvasos contraídos con KCl se vio reducida en pacientes con más de 65 años (pD₂ para BK $7,19 \pm 0,13$ vs $7,52 \pm 0,09$ en menores de 65 años, $p < 0,05$). La presencia de hipertensión no produjo una reducción adicional de la relajación a BK más allá de la asociada al envejecimiento (pD₂ $7,10 \pm 0,08$, ns). Sólo la presencia manifiesta de enfermedad cardiovascular se asoció a un deterioro más pronunciado de la relajación endotelial (pD₂ $6,98 \pm 0,07$). La preincubación de los microvasos procedentes de pacientes ancianos con HTA, tanto con el enzima detoxificador de aniones superóxido, SOD, como con indometacina, resultó en una mejoría significativa de la relajación a BK, de forma similar a lo previamente descrito para los vasos envejecidos en ausencia de HTA. En relación con estos resultados, se observó un incremento significativo de la expresión de NOX-4 y COX-1 en los microvasos de pacientes ancianos con HTA.

Conclusiones: Al contrario que en los adultos, la HTA no provoca un deterioro de la relajación endotelial adicional al ya existente en microvasos de pacientes ancianos. En presencia de HTA, la disfunción endotelial se asocia a un incremento del estrés oxidativo y un aumento de mediadores de inflamación, de forma similar a lo previamente observado en ausencia de HTA. Al existir un daño endotelial ya establecido, el impacto causado por la HTA sobre el endotelio no se manifiesta en el envejecimiento y la intensificación del daño endotelial sólo se aprecia en presencia de enfermedad cardiovascular ya establecida.

Financiado por: FIS PI08/1649.

10. EFECTO DE LA INGESTA DE DIFERENTES HIDRATOS DE CARBONO SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL ESTIMULADA POR DOS MODALIDADES DE EJERCICIO

J.M. Fernández¹, M.E. da Silva Grigolet¹, R. Moreno Luna² y F. Pérez Jiménez¹

¹Unidad de Lipidos y Arteriosclerosis, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba. ²Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

Introducción: El ejercicio físico regular tiene un efecto positivo sobre la reactividad vascular y la función endotelial (FE) a largo plazo. Sin embargo, se conoce poco sobre el efecto de la ingesta de hidratos de carbono (HC) con distinta respuesta glucémica, sobre la FE estimulada por ejercicios con diferentes demandas metabólicas de glucosa.

Propósito del estudio: El objetivo, es estudiar el efecto de la ingesta pre-ejercicio de un suplemento de glucosa (G) o glucosa + fructosa (F) sobre la respuesta metabólica y la FE durante y después del ejercicio aeróbico (EA) y anaeróbico (EAn).

Métodos: Fueron reclutados para el estudio 20 sujetos de sexo masculino, jóvenes ($26 \pm 4,8$ años) que tuviesen un hábito deportivo de mínimo 4 veces/semana tanto aeróbico como anaeróbico. Se les exigía que no hubiesen tomado ningún tipo de fármaco ni suplemento vitamínico los 2 meses previos al estudio. Despues de 2 semanas de una dieta de moderada carga glucémica y siguiendo una aleatorización en cuadrados latinos, todos los sujetos, tras 10 horas de ayuno, fueron sometidos a 4 sesiones experimentales diferentes, realizadas en forma consecutiva y con un período de lavado intermedio de 1 semana. En cada sesión los sujetos recibieron una dosis oral de 50 g de G, o 50 g de G + 15g de F 15 minutos antes de realizar 30 min de EA o EAn. La intervención dietética combinada con los dos tipos de ejercicio resultó en 4 posibilidades: G+EA, F+EA, G+EAn o F+EAn. Los parámetros que se analizaron fueron: la FE, glicemia, lipoperóxidos y óxido nítrico. Todos estos se midieron antes, durante y después de cada fase.

Resultados: Se observó una atenuación del pico de glicemia en F+EAn en relación a G+EAn durante el ejercicio ($p < 0,05$); y un segundo pico de glucemia sólo en la recuperación de F+EAn ($p < 0,05$). Inmediatamente después del EAn, la FE fue de 26,35% mayor en el grupo que ingirió glucosa + fructosa ($p < 0,05$); y esta diferencia se elevó a 27,24% al final del período de recuperación ($p < 0,05$). En idénticos tiempos, fue observada una mayor biodisponibilidad de óxido nítrico en F+EAn ($p < 0,05$). Contrariamente, la concentración de lipoperóxidos fue ligera pero significativamente mayor en el grupo F+EAn en relación a G+EAn. Durante el EA, no se observaron diferencias en la FE, la glicemia o el óxido nítrico entre ambos suplementos. Pero la concentración de lipoperoxidos fue significativamente mayor cuando los voluntarios consumieron el suplemento con fructosa y realizaron este ejercicio (F+EA vs G+EA, $p < 0,05$).

Conclusiones: En EAn, la ingesta glucosa+fructosa mejora de la función endotelial inmediatamente después del ejercicio y su recuperación, independiente del estado oxidativo. En EA la ingesta de estos HC no modifica la vasodilatación microvascular, en relación a la ingesta de glucosa.

11. PROTEÍNA DE TAMM-HORSFALL (TH) Y AISLAMIENTO DE EXOSOMAS URINARIOS

P. Fernández-Llama¹, S. Kasemsap², P.A. Gonzales², T. Pisitkun², R. Star³ y M.A. Knepper²

¹Servicio de Nefrología-Hipertensión, Fundació Puigvert, Barcelona. ²Laboratory of Kidney & Electrolyte Metabolism, NHLBI, NIH, Bethesda, MD. ³Renal Diagnostics and Therapeutics Unit, NIDDK, NIH, Bethesda, MD.

Recientemente se ha demostrado que la orina contiene pequeñas vesículas (20-100 nm) denominadas exosomas que corresponden a las vesículas internas de los cuerpos multivesiculares. Los exosomas urinarios contienen proteínas que proceden de todo el epitelio tubular renal, incluidos podocitos y epitelio transicional. De ahí que actualmente se consideran una potencial fuente para el estudio de biomarcadores. Los exosomas urinarios se aislan mediante un proceso de centrifugación diferencial. Dada su baja densidad, teóricamente, permanecen en el sobrenadante tras la centrifugación a 17,000 xg y sedimentan durante la ultracentrifugación a 200.000 xg. En este trabajo se demuestra mediante microscopía electrónica e inmunoblot, la presencia de exosomas en el precipitado de 17.000 xg, al quedar exosomas atrapados por la polimerización de la proteína de TH. Este fenómeno hace que la reproducibilidad de la técnica disminuya de forma considerable. Mostramos también mediante microscopía electrónica que la adición de DTT al sedimento de 17.000 xg disminuye la polimerización de la proteína de TH, probablemente por la ruptura de los puentes disulfuros. Este procedimiento hace que disminuyan proteínas de los exosomas (Alix, TSG 101, CD9, aquaporina-2) en el sedimento de 17.000 xg. Por otro lado, la adición de DTT facilita el paso de la proteína de TH al precipitado de 200.000 xg haciendo que la cantidad de proteína de TH en esta fracción se pudiera utilizar como factor de normalización de otras proteínas en muestras de orina puntuales. Así concluimos: 1) la proteína de TH atrapa exosomas urinarios, 2) el aislamiento de exosomas por centrifugación diferencial se puede aumentar mediante reducción química de la muestra y 3) la proteína de TH podría utilizarse como variable de normalización en situaciones en las que no se puede cuantificar la orina. La optimización de la técnica de aislamiento de exosomas es un paso previo fundamental para la utilización de este subproteoma en el desarrollo de biomarcadores urinarios.

12. C-SRC, RHO QUINASA Y ERK 1/2 MEDIANA RESPUESTA VASCULAR A H₂O₂ EN ARTERIAS DE RESISTENCIA DE RATAS HIPERTENSAS

A.B. García Redondo¹, A.M. Briones Alonso¹, M.S. Avendaño Herrador¹, L. Furieri¹, M. Galán¹, M.J. Alonso² y M. Salaires¹

¹Departamento de Farmacología, Universidad Autónoma, Madrid.

²Departamento de Ciencias de la Salud III, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, Madrid.

Introducción: La hipertensión arterial se asocia a un aumento en los niveles de especies reactivas de oxígeno, como el anión superóxido o el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), que pueden contribuir a la disfunción endotelial descrita en esta patología. Por otro lado, algunas rutas de señalización como c-Src, Rho quinasa y ERK 1/2 se ha descrito que participan en la contractilidad vascular y su papel en la misma podría variar en patologías como la hipertensión. Previamente nuestro grupo ha descrito que H₂O₂ induce una respuesta contráctil en arterias mesentéricas de resistencia (AMR) que es mayor en arterias de ratas hipertensas que de normotensas y que está mediada principalmente por TXA₂.

Objetivo: Estudiar el papel c-Src, Rho quinasa y ERK 1/2 en la respuesta contráctil inducida por H₂O₂ y por TXA₂ en AMR así como los posibles cambios con la hipertensión.

Métodos: Se utilizó la tercera rama de la arteria mesentérica superior de ratas normotensas (WKY) o espontáneamente hipertensas (SHR). Los cambios en la reactividad vascular se estudiaron mediante un miógrafo de alambres y la expresión de proteínas mediante Western Blot.

Resultados: Para determinar el papel de la tirosina quinasa c-Src, las arterias fueron incubadas con un inhibidor de la misma, PP1 (1 μ M), encontrándose una reducción de la respuesta contráctil inducida por H_2O_2 (1 – 100 μ M) tanto en AMR de ratas normotensas como hipertensas. De manera similar, PP1 inhibió la respuesta contráctil inducida por el análogo del TXA₂, U46619 (0,1 nM-1 μ M) en ambas cepas. El papel de Rho quinasa se analizó con el inhibidor de esta quinasa Y27632 (1 μ M), encontrándose que este fármaco sólo modificó la contracción inducida por H_2O_2 y U46619 en AMR de SHR. Para analizar la participación de la MAPK ERK 1/2 se empleó el inhibidor de la misma, PD98059 (10 μ M); este fármaco sólo modificó la contracción inducida por H_2O_2 en arterias de ratas hipertensas sin modificar la respuesta contráctil inducida por U46619 en ninguna de las dos cepas. La coincubación de las AMR de SHR con PD98059 (10 μ M) y con un antagonista del receptor TP para el TXA₂, SQ 29548 (1 μ M), redujo hasta casi abolir la contracción a H_2O_2 en SHR. Por otro lado, la expresión de ERK 1/2 fue mayor en arterias de SHR que de WKY, y H_2O_2 (30 μ M) indujo la fosforilación de ERK 1/2 sólo en SHR.

Conclusiones: 1) En arterias de resistencia de ratas normotensas la contracción a H_2O_2 está mediada por la activación de la tirosina quinasa c-Src; 2) En arterias de ratas hipertensas la contracción inducida por H_2O_2 está mediada tanto por la activación de c-Src como de Rho quinasa y ERK1/2, lo cual podría explicar la aumentada respuesta vasoconstrictora inducida por H_2O_2 en estos vasos; 3) en la activación de c-Src y Rho quinasa, podría participar el TXA₂ generado en respuesta a H_2O_2 .

Financiado por MICINN (SAF 2006-02376, 2009-07201), ISCIII (Red RECAVA, RD06/0014/0011) y FMM.

13. VALOR DE LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE TOBILLO BRAZO EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN UN SERVICIO DE MEDICINA INTERNA

J.M. Giner Morales¹, C. Sala Sainz¹, F. García Tolosa¹, A. Sáez Segura¹, L. Sánchez Suárez¹, I. Carbonell Casaña¹, B. Roig Espert², J.J. Tamarit García¹, V. Navarro Ibáñez² y A. Artero Mora¹

¹Hospital Dr. Peset, Valencia. ²Hospital de Manises, Valencia.

Objetivos: Determinar la prevalencia de la enfermedad arterial periférica asintomática (índice tobillo-brazo < 0,9) en los pacientes hospitalizados en un Servicio de Medicina Interna. Identificar el perfil clínico-biológico del paciente con índice tobillo brazo (ITB) patológico en el citado entorno clínico. Evaluar el potencial impacto terapéutico que la aplicación del ITB tiene en la población estudiada.

Métodos: Estudio transversal, descriptivo y observacional en pacientes hospitalizados entre los meses de enero, febrero y marzo de 2009 en el Servicio de Medicina del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia. La selección de pacientes se estableció teniendo en cuenta la edad, sexo y la presencia de factores de riesgo convencionales: tabaquismo, hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus (DM), dislipemia, antecedentes cardiovasculares personales y familiares. En concreto los criterios de inclusión fueron: pacientes con más de 70 años y riesgo cardiovascular moderado [riesgo cardiovascular moderado (3-4% según Store), dado que un resultado patológico cambiaría su clasificación pronóstica obligando a intensificar el tratamiento de los factores de riesgo y a iniciar antiagregación en el caso de que el ITB fuese < 0,9]; pacientes mayores de 60 años con DM o fumadores; pacientes menores de 50 años con DM

y algún otro factor de riesgo cardiovascular. Como criterios de exclusión se tomaron: evidencia previa de lesión arteriosclerótica (coronaria, cerebrovascular, y/o periférica), enfermedad neoplásica no controlada, deterioro cognitivo mayor a 4 según la escala GDS y/o grado de dependencia para la actividad de la vida diaria > 3 medido por el índice de Katz. La muestra se obtuvo de pacientes ingresados por procesos agudos o exacerbaciones de alguna enfermedad médica no vascular. Las analíticas utilizadas se obtuvieron de la fecha más reciente previa al ingreso hospitalario sin exceder de los 6 meses anteriores.

Resultados: De las 189 historias clínicas revisadas observamos una edad media de 76,20 años (desviación estándar de 12,93), de los cuales eran varones el 66% y mujeres un 43%. En relación a la determinación en nuestros pacientes del ITB se obtuvieron los siguientes resultados: un 34% presentó un ITB < 0,9, el 48,8% un ITB normal (0,9-1,2) y en un 17,2% se detectó un ITB mayor de 1,2%. Por lo que si agrupamos ambas determinaciones patológicas nos encontramos con 1 prevalencia de ITB alterado del 51,2%. Prevalencia de los distintos factores de riesgo cardiovascular en los pacientes con un ITB < 0,9:

| Subgrupos | Prevalencia |
|--------------------|-------------|
| HTA | 36,7% |
| DM | 40,9% |
| Obesidad abdominal | 28,6% |
| Dislipemia | 50% |
| Tabaquismo activo | 66,7% |

Distribución del ITB patológico (< 0,9) según la clasificación de SCORE:

| Score | Porcentaje (%) |
|------------------------|----------------|
| Riesgo bajo (< 3%) | 0 |
| Riesgo moderado (3-4%) | 21,4 |
| Riesgo alto (5-9%) | 35,7 |
| Riesgo muy alto (9%) | 42,9 |

Distribución de LDL en los pacientes con ITB < 0,9:

| LDL | Porcentaje (%) |
|-------------|----------------|
| > 100 mg/dl | 35,7 |
| < 100 mg/dl | 42,9 |
| < 70 mg/dl | 21,4 |

Finalmente, el porcentaje de pacientes con antiagregación dependiendo de la clasificación SCORE y determinación de ITB patológico se muestra en la tabla 1.

Conclusiones: Existe una elevada prevalencia de enfermedad arterial periférica asintomática que puede llegar a ser detectada mediante la realización de un ITB, prueba simple y de bajo coste. Tanto los pacientes con muy alto riesgo como aquellos con bajo riesgo, en nuestro estudio, no se benefician de la realización del ITB por no modificar la actitud terapéutica. Los pacientes con un riesgo cardiovascular moderado y sin tratamiento antiagregante previo son el grupo que obtendría mayor beneficio de la realización

Tabla 1

| | SCORE | | | | | | | |
|-----------|-----------|-------|------------------|-------|--------------|-------|------------------|-------|
| | Bajo (0%) | | Moderado (21.4%) | | Alto (35.7%) | | Muy alto (42.9%) | |
| | AA | No AA | AA | No AA | AA | No AA | AA | No AA |
| ITB < 0,9 | 0 | 0 | 25% | 12,5% | 11,1% | 22,2% | 42,8% | 14,3% |
| ITB > 0,9 | 0 | 0 | 0 | 62,5% | 5,5% | 61,2% | 14,3% | 28,6% |

AA: antiagregación; No AA: no antiagregación.

de esta prueba diagnóstica. Un alto porcentaje de pacientes que cumplen criterios de antiagregación, no lo están. El ITB debería determinarse de forma sistemática a todos los pacientes ingresados en servicios de Medicina Interna con riesgo vascular moderado/alto, que no estén previamente antiagregados.

14. PAPEL DE LAS MAP QUINASAS ERK1/2 Y P38 EN EL EFECTO ANTIINFLAMATORIO INDUCIDO POR EZETIMIBE

A. Ortega Hernández, P. Muñoz-Pacheco, A. Fernández-Cruz y D. Gómez Garre

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Antecedentes y objetivos: Recientemente nuestro grupo ha demostrado que ezetimibe, un inhibidor específico de la absorción intestinal de colesterol, es capaz de inhibir la inflamación en un modelo de arteriosclerosis en conejo. Puesto que uno de los pasos fundamentales en el proceso inflamatorio es la adhesión de los monocitos al endotelio y su posterior migración al tejido subyacente, en este trabajo decidimos investigar el efecto de ezetimibe sobre la adhesión y migración de monocitos humanos "in vitro". Además estudiamos la participación de la vía de señalización de las MAP quinasas ERK1/2 y p38 como posible mecanismo responsable del efecto observado.

Métodos: Los monocitos THP-1 se incubaron a distintos tiempos y con distintas concentraciones de PMA o MCP-1 en presencia o ausencia de ezetimibe. La adhesión se valoró como la capacidad de las células para unirse a placas de cultivo. Además se valoró la expresión de moléculas de adhesión mediante citometría de flujo. La migración se estudió mediante el uso de cámaras de dos compartimentos. La activación de ERK1/2 y P38 se cuantificó por citometría de flujo empleando anticuerpos específicos frente a las formas fosforiladas p-ERK1/2 y p-p38. Como control se utilizaron sendos anticuerpos frente a las formas totales de ERK1/2 y P38.

Resultados: La estimulación de los monocitos THP-1 con distintas dosis de PMA (100, 10 y 1 ng/ml) indujo tanto la adhesión de las células al plástico como la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, CD11a, CD11b y CD11c). La preincubación de las células durante 2 h con ezetimibe previno, de forma dosis dependiente (10^{-10} - 10^{-4} M), el efecto inducido por PMA. En los ensayos de migración, observamos un aumento significativo de la migración inducida con MCP-1 (100 ng/ml) tras 1 h. Este incremento se inhibió en presencia de distintas dosis de ezetimibe. El PMA aumentó la expresión de p-ERK1/2 y p-p38 a los 5 y 40 min respectivamente. Este efecto se inhibió cuando las células se incubaron en presencia de ezetimibe. No se observaron cambios en la expresión de la forma total de ERK1/2 y p38. Con el fin de evaluar la posible toxicidad de ezetimibe, realizamos estudios de viabilidad celular con azul tripán, pudiendo comprobar que más del 90% de las células eran viables tras 1 o 2 días de exposición a ezetimibe a su máxima concentración (10^{-4} M).

Conclusiones: Estos resultados indican que ezetimibe, además de su actividad hipolipemiante, es capaz de inhibir el proceso de

adhesión y migración de los monocitos in vitro. En este efecto antiinflamatorio de ezetimibe parecen jugar un papel muy importante la vía de señalización de las MAP quinasas ERK1/2 y p38.

15. LA EXPOSICIÓN CONTINUADA A DOSIS BAJAS DE PLOMO INDUCE MODIFICACIONES EN EL PROTEOMA DE LA CORTEZA RENAL

M. Marques Vidas, J.J. Zamorano León, A.J. López Farré, P. Rodríguez Sierra, R. Moreno Herrero, L. Calatrava Ledrado, B. Bretón Villarreal, C. Macaya Miguel y A. Barrientos

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Propósito del estudio: Se ha descrito que la exposición continua a concentraciones bajas de plomo disminuye la biodisponibilidad de óxido nítrico en la pared vascular y potencia el efecto vasoconstrictor de la endotelina-1, induciendo hipertensión arterial tanto en humanos como en diferentes modelos experimentales. En el riñón también se ha descrito inflamación y daño celular acelerando la aparición de la enfermedad renal crónica. Sin embargo, se desconocen los mecanismos por los que la exposición prolongada a concentraciones bajas de plomo provoca estos efectos en el riñón. El objetivo del estudio fue analizar mediante proteómica los cambios inducidos por la exposición crónica a plomo en la corteza renal de ratas Wistar-Kyoto.

Métodos: Se utilizó un modelo animal consistente en la administración de acetato de plomo en una concentración de cinco partes por millón (p.p.m.) en el agua de bebida durante treinta días en ratas Wistar-Kyoto macho (grupo Pb, n = 6), y un grupo control de ratas Wistar-Kyoto sin administración de acetato de plomo (grupo C, n = 6). Tras el período de tratamiento, los animales fueron sacrificados y se les extrajeron los riñones, separándose corteza y médula renal. Se realizó el análisis proteómico de los homogeneizados de corteza renal de cada grupo mediante electroforesis bidimensional (IPG 17 cm, pH 3-10).

Resultados: Las proteínas identificadas en la corteza renal cuya expresión fue diferente en los grupos de estudio fueron clasificadas según su función celular; metabolismo energético: citocromo b5 (grupo C: 241,60 ± 101,62; grupo Pb: 50,86 ± 26,61; p < 0,05), proteína de unión a ácidos grasos (FABP) (grupo C: 108,26 ± 25,75; grupo Pb: 35,22 ± 16,61; p < 0,05); sistema antioxidante: tiorredoxina (grupo C: 61,88 ± 15,61; grupo Pb: 27,87 ± 9,51; p < 0,05), glutamato cisteína ligasa (grupo C: 70,21 ± 27,63; grupo Pb: 349,66 ± 93,07; p < 0,05), mantenimiento de la homeostasis iónica intracelular: proteína de unión a calcio d-48K (grupo C: 180,27 ± 63,41; grupo Pb: 17,89 ± 19,60; p < 0,05), canal de cloruro intracelular (grupo C: 57,26 ± 23,99; grupo Pb: 338,22 ± 173,07; p < 0,05).

Conclusiones: La exposición continuada a plomo a bajas dosis provoca alteraciones proteicas en la corteza renal, disminuyendo la expresión de proteínas asociadas a la obtención de energía, alterando el mecanismo de protección celular frente al estrés oxidativo.

16. EFECTOS DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN EL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL. ESTUDIO PROTEÓMICO

P. Rodríguez Sierra, M. Muela, J. Modrego Martín, R. Moreno Herrero, C. Macaya Miguel, A.J. López Farré, J. Serrano y G. Moñux Ducajú

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Introducción: Es bien conocido que factores de riesgo cardiovasculares como la hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitas y tabaquismo actúan sobre el tamaño de la aneurisma de aorta abdominal (AAA), aumentando el riesgo de ruptura de la aorta. En este sentido se ha descrito que la HTA acelera la expresión de proteasas de la matriz extracelular induciendo la destrucción de las fibras elásticas de la propia pared vascular y activando diferentes factores de transcripción celulares proinflamatorios claves en la formación de la placa aterosclerótica. Sin embargo, en la actualidad, se desconocen los efectos en la célula a nivel estructural, oxidativo y del metabolismo energético en AAA inducidos por la HTA. La proteómica nos permite analizar las diferencias en la expresión de proteínas relacionadas con diferentes funciones celulares.

Objetivos: Analizar mediante proteómica los cambios inducidos por la HTA en AAA que aumenten el riesgo de dilatación aórtica.

Métodos: Para ello se reclutaron biopsias de AAA de un total de 13 pacientes clasificados en normotensos (N; n = 5) e hipertensos (HTA; n = 8), realizándose el análisis proteómico de los homogeneizados de las biopsias mediante electroforesis bidimensional (IPG 17 cm, pH 3-10).

Resultados: Las proteínas identificadas se clasificaron según su función celular; metabolismo energético: enolasa (N = 8,72 ± 1,71; HTA = 17,47 ± 6,08 p NS), cadena bde la ATP sintasa (N = 11,68 ± 4,72; HTA = 15,64 ± 3,29), aldehído deshidrogenasa citósica (N = 39,47 ± 12,00; HTA = 48,72 ± 5,46), fosfoglicerato mutasa (N = 28,84 ± 10,33; HTA = 39,57 ± 22,54); citoesqueleto; actina (N = 401,64 ± 186,73; HTA = 309,66 ± 74,66), filamina (N = 184,81 ± 70,13; HTA = 233,36 ± 53,93), anexina V (N = 9,74 ± 1,94; HTA = 18,71 ± 4,05), cadena b de la tropomiosina (N = 145,13 ± 50,01; HTA = 98,24 ± 38,29), vimentina (N = 30,77 ± 13,06; HTA = 15,82 ± 3,59); estrés oxidativo: HSP 70 (N = 6,18 ± 1,19; HTA = 12,35 ± 5,49), HSP 27 (8,36 ± 2,26; HTA = 10,09 ± 5,75).

Conclusiones: No se observaron diferencias significativas en la expresión de proteínas estructurales, antioxidantes ni implicadas en el metabolismo energético celular del AAA entre pacientes normotensos e hipertensos, lo que sugiere un efecto de la HTA exclusivamente hemodinámico en la probabilidad de dilatación aórtica.

17. EFECTO DEL PESO AL NACER EN EL PERFIL METABOLÓMICO DEL PLASMA DE RECIÉN NACIDOS

C. Ivorra¹, D. Monleón², C. García Vicent¹, I. Torro¹, F. Aguilar¹, F.J. Chaves², J. Álvarez¹, J. Redón³ y E. Lurbe¹

¹Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Universidad de Valencia, Valencia. ²Fundación de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia. ³INCLIVA, Universidad de Valencia, Valencia.

Introducción: El bajo peso al nacimiento (BPN) se ha asociado con un riesgo aumentado de desarrollar hipertensión arterial y diabetes. Se ha postulado que restricciones en el desarrollo intrauterino provocan adaptaciones durante el desarrollo que se perpetúan a lo largo de la vida del individuo. Las alteraciones moleculares que subyacen a este fenómeno adaptativo no son conocidos. La introducción de la espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN), metabolómica, se ha utilizado para diferenciar estadios fisiológicos y patológicos en estudios del plasma sanguíneo.

Objetivo: Estudiar en recién nacidos el espectro por RMN del plasma obtenido de los vasos de cordón umbilical para analizar si existen diferencias metabólicas en relación con el peso al nacer. Al mismo tiempo se estudió el patrón metabólico en las madres.

Sujetos y métodos: Se incluyeron recién nacidos a término (≥ 37 semanas de gestación) tras un embarazo sin patología. El peso al nacer se obtuvo de las historias clínicas. Se clasificaron en pequeños (n = 23) o apropiados (n = 34) para la edad gestacional según el peso al nacimiento fuese menor o mayor del P10 según las tablas de Lubchenco. Se obtuvieron los espectros de RMN 1D-presaturados de pulso único en plasma de la vena de cordón umbilical y de sangre periférica en las madres y se recopilaron experimentos 2D en muestras seleccionadas con fines de clasificación. El análisis estadístico multivariante, la detección de metabolitos relevantes y la instalación de pico largo de los espectros se realizaron mediante secuencias de comandos de MATLAB nuestros y la biblioteca de estadística LIBRA de análisis multivariado.

Resultados: El perfil metabólico del plasma de los recién nacidos reveló que existían diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los recién nacidos de bajo y normopeso. Los metabolitos más relevantes que se correlacionaron con el peso al nacimiento fueron fenilalanina, glutamina, citrulina, glicerol, glucosa y colina. Estas diferencias no se encontraron en los plasmas provenientes de las madres.

Conclusiones: El bajo peso al nacimiento se acompaña de alteraciones en el perfil metabólico que es independiente del perfil de las madres. Aunque su significado no es bien conocido, estas alteraciones pueden ser marcadores precoces de riesgo y pueden orientar el estudio de los posibles mecanismos subyacentes.

18. PIOGLITAZONA REDUCE LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN ARTERIAS DE RESISTENCIA DE RATAS HIPERTENSAS

A.M. Cortés¹, R.H. Martín¹, J.V. Pérez Girón¹, R.P. Ramírez¹, M.S. Sánchez² y M.J. Alonso Gordo²

¹Departamento de Bioquímica, Fisiología y Genética Humana, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón. ²Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.

Introducción: Los receptores activadores de la proliferación de peroxisomas-γ (PPARγ) pertenecen a la super familia de receptores nucleares que se expresan en las principales células de la pared vascular, donde juegan un importante papel en diversas patologías vasculares. Así, los agonistas de PPARγ, las glitazonas, reducen la presión arterial tanto en pacientes hipertensos como en diversos modelos de hipertensión, mejoran la relajación dependiente de endotelio y reducen la contracción inducida por diferentes vasoconstrictores. Además, las glitazonas poseen acciones antiinflamatorias por interferir con factores de transcripción redox-sensibles, como NF-κB, implicados en la transcripción de diversos genes proinflamatorios.

Objetivo: Analizar el efecto del tratamiento crónico con pioglitazona sobre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en arterias de resistencia de ratas hipertensas, así como la participación de éstas en la respuesta contráctil inducida por fenilefrina.

Métodos: Se utilizaron arterias mesentéricas de resistencia de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) de 6 meses de edad, tratadas o no con el agonista PPARγ pioglitazona (2,5 mg/Kg/día durante 28 días). La reactividad vascular se estudió con un miógrafo de alambres. Los niveles de ARNm se midieron mediante RT-PCR y la expresión de proteínas mediante Western Blot; los niveles de anión superóxido intracelular se midieron por análisis de fluorescencia con dihidroetidio y microscopía confocal.

Resultados: El tratamiento con pioglitazona no modificó la presión arterial en SHR (control: $198,9 \pm 3,3$; pioglitazona: $200,0 \pm 5,2$ mmHg; $p > 0,05$). La administración de fenilefrina (0,1-30 mM) dio lugar a una respuesta contráctil en arterias mesentéricas de ratas SHR que fue reducida por los respectivos inhibidores de NADPH oxidasa y xantina oxidasa, apocinina (0,3 mM) y alopurinol (0,3 mM); el tratamiento con pioglitazona abolió la inhibición producida por apocinina y alopurinol. Por otra parte, pioglitazona redujo la producción vascular de anión superóxido y los niveles de ARNm de NOX1, subunidad catalítica de la NADPH oxidasa, principal fuente de producción de anión superóxido en la pared vascular; pioglitazona también redujo la expresión proteica de EC-SOD, aunque no modificó la expresión de Mn-SOD ni de Cu/Zn-SOD; sin embargo, pioglitazona aumentó los niveles de ARNm de la enzima detoxificante de peróxido de hidrógeno catalasa.

Conclusiones: La reducción en los niveles de NOX1 y la subsiguiente reducción de la producción de esta especie reactiva de oxígeno que se observan tras el tratamiento crónico con el agonista de PPAR γ , así como el aumento en los niveles de catalasa, podrían explicar la reducción de la participación de ROS en la respuesta contráctil inducida por fenilefrina. Además, estos mecanismos podrían contribuir a la acción antiinflamatoria de PPAR γ .

Financiado por la Fundación Mutua Madrileña, Red RECAVA (RD06/0014/0011) y la DGICYT (SAF2006-02376).

19. LA PRESENCIA DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL INCREMENTA LA ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE CD163 Y LA PRESENCIA DE ENFERMEDAD ARTERIAL PERIFÉRICA

J.A. Moreno¹, T. Dejouvenel², D. Smadja³, J.L. Martín Ventura¹, J. Egido¹, P. Gaussem³, J. Emmerich³, J.B. Michel², O. Meilhac² y L.M. Blanco Colio¹

¹Vascular Research Lab. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma, Madrid. ²Inserm, U698; Université Paris 7; CHU X-Bichat, París, Francia. ³Inserm, U765; Université Paris 5; Hôpital Européen Georges Pompidou, París, Francia.

Propósito del estudio: La enfermedad arterial periférica (EAP) es una importante manifestación de la aterotrombosis que se caracteriza por una elevación de diversas citoquinas pro-inflamatorias así como de un aumento de la presión arterial. CD163 actúa como receptor scavenger de la hemoglobina y de TWEAK (Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis), los cuales están implicados en diversas acciones que condicionan el desarrollo de la aterotrombosis. Nuestros objetivos fueron analizar la importancia de la interacción TWEAK-CD163 en la enfermedad arterial periférica (EAP) y estudiar si la presencia de hipertensión modulaba dicha asociación.

Métodos: Los niveles de TWEAK y CD163 fueron evaluados en el plasma de pacientes con EAP ($n = 155$) y en sujetos control ($n = 251$) (ELISA) y en placas de femorales aterotrombóticas ($n = 38$) y aortas sanas humanas ($n = 14$) (inmunohistoquímica, ELISA).

Resultados: Los pacientes con EAP presentaban una tendencia a tener unos menores niveles plasmáticos de TWEAK [134 (110-204) vs 147 (119-205) pg/mL, (mediana (RIC); $p = 0,067$)] y mayores niveles de CD163 [367 (269-506) vs 288 (234-369) ng/mL (mediana (RIC), $p < 0,001$)] que los sujetos control. Además, el análisis del medio condicionado procedente del cultivo de placas femorales y aortas sanas humanas reveló que se liberaba mucho más CD163 en el tejido aterotrombótico que en el sano, al contrario que para TWEAK ($p < 0,05$). Después de clasificar a los pacientes atendiendo a la severidad de la enfermedad, el cociente CD163/TWEAK fue significativamente mayor en aquellos pacientes con peor pronóstico ($p = 0,049$). Las personas con hipertensión presentaban una ten-

dencia a tener unos mayores niveles plasmáticos de CD163 [349 (266-483) vs 299 (234-373) ng/mL (mediana (RIC), $p = 0,068$]. Encontramos una interacción significativa entre los niveles de CD163 y la hipertensión sobre el riesgo de sufrir EAP ($p = 0,013$). Así, la asociación entre CD163 y EAP fue mayor en hipertensos que en individuos normotensos [OR (IC95%) por 100 ng/mL, 2,17 (1,50-3,14) vs 1,21 (0,96-1,53), respectivamente].

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que el cociente TWEAK-CD163 se asocia con la carga aterotrombótica en la EAP, sugiriendo que el balance entre TWEAK y CD163 puede reflejar la progresión de la aterotrombosis. Además, nuestros datos muestran un posible papel del CD163 en la hipertensión, el cual favorece el desarrollo de la enfermedad arterial periférica.

20. LA FLUVASTATINA COMO POSIBLE AGENTE INHIBIDOR DE MATRIZ EXTRACELULAR TUMORAL, DE LA ADHESIÓN AL SUSTRATO Y DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN MDA-MB-231 Y 3LL

R. Núñez Lozano¹, F.J. López Hernández² y J.M. López Novoa¹

¹Universidad de Salamanca, Salamanca. ²Hospital Universitario, Salamanca.

Propósito del estudio: Sugerir la fluvastatina como posible agente inhibidor de la fibrosis en tumores sólidos y caracterizar in vitro el escenario biológico en el que se producen esta inhibición.

Métodos: Para este estudio utilizamos células de cáncer epitelial MDA-MB-231 (de mama humanas) y 3LL (de pulmón de ratón). Tratamos las células con concentraciones crecientes del inhibidor de la HMG-CoA reductasa, fluvastatina. Este fármaco inhibe la síntesis de mevalonato y, por lo tanto, todos los productos de éste, como el colesterol. Cotratamos con los agonistas de geranilgeranil pirofósфato (GGPP) y farnesil pirofósфato (FPP), geranilgeraniol (GG) y farnesol (FOH) respectivamente. Estos intermedios de la ruta del mevalonato son los sustratos necesarios para la prenilación de las proteínas de la superfamilia de Ras (Ras, Rho, Rac, etc.), implicadas en muchos procesos celulares como la proliferación, producción de matriz extracelular, migración, etc. Esto se hizo para reconstituir selectivamente las diferentes vías de prenilación e identificar las implicadas en los efectos observados. Determinamos la expresión de los elementos de la matriz extracelular (colágeno IV y fibronectina) mediante RT-PCR. La proliferación de las líneas celulares se realizó mediante el ensayo de MTT. Para determinar la posible muerte celular producida por el tratamiento con fluvastatina realizamos un ELISA que mide cuantitativamente la fragmentación del DNA en el citoplasma, característica de la muerte celular por apoptosis. La presencia de cuerpos apoptóticos, también característica del proceso de apoptosis, se observó mediante la tinción de los núcleos con Hoestch 33258. El estudio del ciclo celular se determinó mediante citometría de flujo.

Resultados: La fluvastatina inhibe de forma concentración-dependiente la proliferación de las células MDA-MB-231 y 3LL. GG revierte esta inhibición pero en cambio, FOH no restituye la proliferación. Aunque sí que existe cierta reducción de la viabilidad celular al tratar con fluvastatina, ésta no explica toda la inhibición de la proliferación observada; por ello realizamos estudios de muerte celular y de ciclo celular. No se encontraron características fenotípicas de apoptosis como la presencia de cuerpos apoptóticos. Tampoco se detectó ADN internucleosomal en el citosol mediante ELISA. En cambio, los estudios de ciclo celular demostraron que existía una ralentización o parada del ciclo celular producida por la fluvastatina: en MDA-MB-231 la acumulación de células se producía en la fase G0/G1 y en las 3LL en la fase G2/M. GG revertía esta ralentización del ciclo celular en ambas líneas celulares. El tratamiento con fluvastatina, a su vez, inhibió de forma concentración

dependiente la adhesión al sustrato de ambas líneas celulares de cáncer, siendo este efecto revertido por GG pero no por FOH. La fluvastatina inhibió la expresión de los elementos de matriz extracelular colágeno IV y fibronectina. GG revierte esta inhibición en MDA-MB-213, aunque en 3LL la reversión sólo se produce para el colágeno IV pero no para la fibronectina. Esta inhibición se produjo incluso con dosis de la fluvastatina que no afectaron a la viabilidad ni a la proliferación.

Conclusiones: En las células de cáncer epitelial MDA-MB-231 y 3LL la fluvastatina inhibe de forma concentración-dependiente la expresión de la matriz extracelular, la adhesión al sustrato y la proliferación. Todos estos efectos son revertidos por GG pero no por FOH. La inhibición de la proliferación es debida a la perdida de la viabilidad celular y a la parada del ciclo celular en G0/G1, en el caso de las MDA-MB-231, y en G2/M en el caso de la 3LL. No se han observado características de muerte celular por apoptosis.

21. MECANISMOS DE ACCIÓN IMPLICADOS EN EL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE COCOANOX, UN CACAO RICO EN POLIFENOLES

M. Quiñones Tellez¹, D. Sánchez Infantes¹, L. Moulay², B. Muguerza², M. Miguel Castro³ y A. Aleixandre De Artiñano¹

¹Facultad de Medicina (UCM), Madrid. ²Natraceutical Group, Valencia. ³Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), Madrid.

Propósito del estudio: Distintos mecanismos pueden justificar las propiedades antihipertensivas de los polifenoles. La vasodilatación que ocasionan estos compuestos se ha relacionado con la producción de óxido nítrico (Emura et al. J Nutr Sci Vitaminol (Tokio) 2007;1:68-74; Yamamoto et al. J Nutr Sci Vitaminol (Tokio). 2008;1:95-8), la inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) (Li et al. Chin J Physiol. 2005;2:101-6; Liu et al. Life Sci 2003;12:1543-55) y la reducción del estrés oxidativo (Duarte et al. Br J Pharmacol. 2001;1:117-24; Negishi et al. J Nutr. 2004;1:38-42; Peng et al. 2005;3:771-5). CocoanoX (CCX) es un polvo de cacao con alto contenido en polifenoles (162 mg/g). En estudios previos hemos demostrado las propiedades antihipertensivas de CCX en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) (Cienfuegos-Jovellanos et al. J Agric Food Chem. 2009;57:6156-62).

Objetivos: Investigar los mecanismos de acción implicados en el efecto antihipertensivo de CCX.

Métodos: Evaluamos la función endotelial (relajación de acetilcolina) en la aorta de ratas SHR que se habían tratado durante 20 semanas con diferentes dosis de CCX. También se evaluó la función endotelial en estos animales 4 semanas después retirar el tratamiento. Asimismo, determinamos los niveles de malonildialdehído en el plasma de las ratas SHR, y la actividad de la ECA en el plasma y en la aorta de todos los animales anteriores.

Resultados: CCX mejoró de forma dosis dependiente la función endotelial de las ratas SHR y el efecto no se observó cuando se retiró el tratamiento. Los niveles plasmáticos de malonildialdehído disminuyeron tras la ingesta de CCX y este efecto también desapareció al retirar el tratamiento. La actividad de la ECA en la aorta no se modificó por el tratamiento de CCX, pero la actividad de esta enzima aumentó en el plasma de las ratas SHR tratadas con la dosis más alta de CCX.

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que el efecto antihipertensivo de CCX en ratas SHR está principalmente mediado por una mejora de la función endotelial y por una reducción del estrés oxidativo.

Financiado por Natraceutical Group (36/2007 U.C.M. Project).

22. LA DIABETES DISMINUYE LA AZOTEMIA PERO NO EL DAÑO RENAL DE LA NEFROPATÍA HIPERTENSIVA

Y. Quirós Luis², A.M. Blázquez², O. García Sánchez², J.M. López Novoa^{2,3}, C. Martínez Salgado¹ y F.J. López Hernández¹

¹Unidad de Investigación, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca. ²Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Salamanca, Salamanca. ³Instituto Reina Sofía de Investigación nefrológica, Fundación Iñigo Álvarez de Toledo, Salamanca.

Introducción: La hipertensión y la diabetes son las causas más comunes de enfermedad renal crónica.

Objetivos: Determinar el efecto de la diabetes en la nefropatía hipertensiva en un modelo experimental.

Métodos: Se utilizaron ratas espontáneamente hipertensas (SHR) que se dividieron en 4 grupos: (1) Control (C); (2) Uninefrectomizadas (UNX), para acelerar el daño renal hipertensivo; (3) Diabéticas (por estreptozotocina; STZ); (4) UNX y diabéticas (UNX+STZ). A las ratas diabéticas se les administró insulina para mantener su glucemia entre 300 y 400 mg/dl. Durante 10 meses se monitorizó su peso, presión arterial, glucemia y función renal, para lo que se obtuvieron muestras individuales de sangre y orina. Al final del experimento se hizo un estudio histológico de sus riñones.

Resultados: La evolución del peso corporal fue menor en las ratas diabéticas en comparación con las normoglucémicas. La presión arterial sistólica fue semejante en los cuatro grupos experimentales. Las ratas UNX sufrieron un incremento paulatino de la concentración de creatinina plasmática (Crpl), del nitrógeno ureico plasmático (BUN) y de la excreción urinaria de proteínas. Al final del experimento se evidenció una disminución del aclaramiento de creatinina y un deterioro morfológico renal consistente en colapso glomerular focal y fibrosis intersticial. La diabetes no causó ninguna alteración significativa per se, pero modificó los parámetros indicativos de azotemia que provocó la UNX. Concretamente, impidió el aumento de Crpl y BUN. Sin embargo, no modificó la excreción de proteínas y el aclaramiento de creatinina, ni impidió el colapso glomerular, aunque redujo parcialmente la fibrosis intersticial.

Conclusiones: En este modelo experimental, la diabetes no empeora el deterioro renal causado por la hipertensión. En tal caso, la diabetes parece disminuir el deterioro de la función renal medida a través de parámetros clínicos habituales como la Crpl y del BUN. Sin embargo, un análisis más exhaustivo revela que la función y la morfología renal de las ratas UNX+STZ no difieren significativamente de las de las UNX. La reducción de la azotemia probablemente sea debida a la disminución de la producción de creatinina y productos metabólicos nitrogenados como consecuencia de la caquexia a la que se ven abocados los animales diabéticos.

23. LA INHIBICIÓN DE LA CICLOOXYGENASA-2 DURANTE EL DESARROLLO RENAL PROVOCADA UNA ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN HEMODINÁMICA Y EXCRETORA RENAL EN LA EDAD ADULTA

V. Reverte Ribo¹, F. Salazar Martínez¹, A. Tapia Moragón¹, F. Sáez Belmonte¹, M.T. Llinás Más¹ y F.J. Salazar Aparicio¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Murcia.

Numerosas evidencias sugieren que la disminución del número de nefronas está asociada a la aparición de hipertensión en la edad adulta. Nuestro grupo ha demostrado recientemente que la inhibición de la ciclooxygenasa-2 (COX-2) durante el período nefrogénico provoca una disminución del número de nefronas (17%) y un aumento significativo de presión arterial. El objetivo de este trabajo fue analizar si la capacidad para aumentar la tasa de filtración glomerular y la capacidad excretora renal están alteradas en los

animales adultos con menor número de nefronas. Ratas DE fueron tratadas con vehículo o con un inhibidor de la COX-2 (Rofecoxib, 2,4 mg/Kg/día) desde el nacimiento hasta el destete. Las madres también fueron tratadas durante la última semana de gestación. La reserva funcional renal fue analizada a los 3 meses de edad mediante el estudio de la respuesta renal a la infusión de aminoácidos (aas), y a aumentos agudos y prolongados del volumen extracelular (VE). La presión arterial está aumentada ($p < 0,05$) en las ratas tratadas con el inhibidor de la COX-2 durante el período nefrogénico (Inh-COX2-pn), y no varía durante la infusión de aas o durante los incrementos del VE. La infusión de aas a las ratas machos control provoca un aumento ($p < 0,05$) de la tasa de filtración glomerular (47%), flujo plasmático renal (28%) y excreción urinaria de sodio (152%). Esa respuesta hemodinámica y excretora renal a la infusión de aas está completamente abolida en los machos con menor número de neuronas como consecuencia de la inhibición de la COX-2 durante el período nefrogénico. La capacidad excretora renal para eliminar un incremento agudo del VE también está reducida (33%, $p < 0,05$) en esas ratas con menor número de nefronas. Los resultados obtenidos demuestran que la inhibición de la COX-2 durante el período perinatal provoca el desarrollo de hipertensión y una alteración importante de la hemodinámica y de la capacidad excretora renal en la edad adulta.

24. LA INHIBICIÓN DE LA CA²⁺-ATPASA ASOCIADA A MEMBRANA AUMENTA LA FOSFORILACIÓN DE LA FOSFOPROTEÍNA VASODILATADORA. ¿UN NUEVO MECANISMO ANTIPLAQUETARIO?

D. Sanz-Rosa, S. Krampitz, A. Solomon, C. Moore y M. Emerson

Section of Molecular Medicine, Platelet Biology Group, National Heart and Lung Institute, Imperial College London, South Kensington Campus, Londres, Reino Unido.

Introducción: Los niveles elevados de presión arterial están asociados a un aumento de $[Ca^{2+}]$ intracelular en las plaquetas. La isoforma 4 de la Ca²⁺-ATPasa (PMCA4b) es un canal de calcio de 10 dominios transmembrana y es responsable del bombeo de Ca²⁺ al exterior en plaquetas activadas. Entre los sistemas reguladores responsables de la hemostasia del calcio, la PMCA4b está sobreexpresada en pacientes hipertensos. Recientemente se ha propuesto a la fosfoproteína vasodilatadora (VASP) como un posible marcador de la inhibición plaquetaria. La fosforilación en la Ser157 se correlaciona con la inhibición del receptor del fibrinógeno y por tanto la inactivación de las plaquetas. Dicho proceso está regulado por las proteínas quinasas asociadas a cGMP o cAMP. Sin embargo, se desconoce el mecanismo de inhibición plaquetaria a través del bloqueo de PMCA4b con carboxieosina (CE).

Objetivos: Investigar si el mecanismo por el que PMCA4 regula la agregación plaquetaria es VASP dependiente.

Métodos: Se utilizaron plaquetas aisladas de la sangre donada por voluntarios sanos y a una concentración de $250 \times 10^6/mL$. Tanto la sangre total y las plaquetas aisladas se incubaron durante 30 min con CE (40 μM) y el inhibidor de la proteína quinasa dependiente de cGMP, Rp-8-Br-PET-cGMPS (Rp-PET; 100mM) y posteriormente se activaron los receptores de trombina con TRAP (5 μM) o trombina (38,7 U/L). La agregación se midió por lumíagregometría e impedancia respectivamente (Chrono-log Corporation, Havertown, PA, EEUU). La agregación plaquetaria se evaluó a distintos tiempos entre 0 y 2 minutos y se analizó la expresión de las isoformas fosforiladas de VASP en la Ser157 y en la Ser239 mediante western blot. Los niveles de cGMP se midieron en plaquetas aisladas y tratadas con CE y Rp-PET mediante inmunoensayo enzimático tras la agregación inducida por TRAP durante 2 minutos.

Resultados: CE redujo significativamente la agregación plaquetaria tanto en plaquetas aisladas como en sangre total. Esta inhibi-

ción fue acompañada por la fosforilación de la S157VASP y S239VASP. Sin embargo, la inhibición de la PMCA4b no modificó los niveles intracelulares de cGMP. El inhibidor de la PKG, Rp-PET, no modificó la agregación plaquetaria ni en sangre total ni en plaquetas aisladas. No obstante, la inhibición de la PKG redujo la fosforilación de VASP en las posiciones Ser239 y Ser157 con una dependencia temporal demostrando que la PKG tiene un papel importante en la regulación de la actividad de VASP. Finalmente, se observó que la fosforilación de VASP seguía un patrón tiempo dependiente en la agregación plaquetaria alcanzado su máximo pico alrededor de los 30-45 segundos tras la estimulación por TRAP.

Conclusiones: PMCA4 juega un papel importante en la regulación de la agregación plaquetaria. VASP parece ser un mediador importante en este proceso regulado en parte por la proteína quinasa dependiente de cGMP.

25. LA CA²⁺-ATPASA DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA: ¿UNA NOVEDOSA DIANA TERAPÉUTICA EN EL TRATAMIENTO DE LA TROMBOSIS ASOCIADA HIPERTENSIÓN?

A. Solomon, S. Jones, D. Sanz-Rosa, C. Tymvios, C. Moore y M. Emerson

Imperial College London, National Heart and Lung Institute, Platelet Biology Group, Londres, Reino Unido.

Introducción: En pacientes hipertensos, los niveles de calcio en plaquetas están elevados y se asocian a un aumento de la actividad plaquetaria. Sin embargo, los mecanismos de la elevación de calcio en las plaquetas y las consecuencias funcionales de este aumento no están claros. La isoforma 4 de la Ca²⁺-ATPasa de la membrana plasmática (PMCA4) es la principal bomba de calcio de las plaquetas y se ha observado un aumento de su expresión en pacientes hipertensos. El papel de la PMCA4 en la hemostasia de calcio y su función en plaquetas todavía no se conoce. Por tanto es importante investigar el papel de la PMCA4 en las plaquetas para un mejor entendimiento de la disfunción plaquetaria en hipertensión.

Objetivo: Investigar el papel de la PMCA4 en la hemostasia de calcio y la función plaquetaria.

Métodos: Se utilizaron plaquetas humanas y de ratón en presencia del inhibidor de PMCA, carboxieosina (CE). Se midieron los niveles intracelulares de calcio utilizando FURA-2 en plaquetas inactivas y tras la estimulación con tapisargina (1 μM), trombina (0,1 U/mL) y colágeno (5 $\mu g/mL$). La función plaquetaria fue analizada mediante agregación, adhesión y retracción del trombo en presencia de CE. Así mismo se utilizaron plaquetas de ratones knock out en PMCA4 para valorar la función plaquetaria.

Resultados: La inhibición de PMCA4 con CE inhibió el bombeo de calcio hacia el exterior y aumento de manera dosis dependiente $[Ca^{2+}]$ en plaquetas inactivas. CE inhibió de manera dosis dependiente la liberación de calcio inducida por trombina y colágeno así como la agregación plaquetaria ($p < 0,001$). El bloqueo de la PMCA inhibió la adhesión plaquetaria inducida por colágeno y fibrinógeno/trombina ($p < 0,01$), pero aumento la retracción del trombo ($p < 0,05$). La adhesión y agregación plaquetaria estaban reducidas en plaquetas de ratón PMCA4-/– cuando se compararon con las ratas controles ($p < 0,01$).

Conclusiones: PMCA4 regula la $[Ca^{2+}]$, adhesión y agregación plaquetaria inducida por trombina y colágeno. Nuestros datos demuestran que PMCA4 es un regulador de la función plaquetaria y variaciones en expresión en las plaquetas podría explicar el aumento de riesgo trombótico observados en pacientes hipertensos. PMCA4 podría ser una novedosa diana terapéutica en el tratamiento de la trombosis asociada hipertensión.

26. ¿SE CONOCE TODO ACERCA DEL PAPEL DE LOS CANALES DE CA²⁺ EN LA REGULACIÓN DE LA RESISTENCIA VASCULAR?

J. Ureña López, C. Porras González, M. Fernández Tenorio, A. Castellano Orozco y J. López Barneo

Instituto de Biomedicina de Sevilla, Sevilla.

Propósito del estudio: Los canales de Ca²⁺ tipo L del músculo liso arterial juegan un papel importante en la regulación del diámetro arterial ya que constituyen una vía de entrada de Ca²⁺ desde el medio externo. Por tanto, son dianas terapéuticas para el tratamiento de la hipertensión arterial. Además de este papel ionotrópico clásico y bien conocido, la activación de los canales de Ca²⁺ puede provocar la liberación de Ca²⁺ del retículo sarcoplásmico en ausencia de Ca²⁺ externo. La identificación de la ruta que participa en el acoplamiento canal de Ca²⁺-retículo sarcoplásmico y su implicación en la regulación del diámetro arterial, es un objetivo importante dado que el Ca²⁺ liberado de los reservorios intracelulares puede también originar contracción.

Resultados y técnicas de estudio: Los resultados obtenidos con técnicas microfluorimétricas y electrofisiológicas en miocitos aislados indican que la despolarización puede activar los canales de Ca²⁺ y, posteriormente, la liberación de este ión del retículo sarcoplásmico a través de la ruta metabotrópica proteína G/fosfolipasa C y síntesis de IP₃ (Del Valle-Rodríguez et al. EMBO J 2003;22:4337-45). Los estudios realizados *in vitro* en anillos arteriales o arterias completas, muestran que este mecanismo puede tener un papel funcional relevante en el mantenimiento de la contracción inducida por una solución despolarizante de alto K.

Conclusiones: Estos resultados otorgan al acoplamiento canal de Ca²⁺-retículo sarcoplásmico un papel fisiológico importante en la regulación del diámetro arterial. Dado que las arterias pueden estar parcialmente despolarizadas con la hipertensión, la función metabotrópica de estos canales podría representar un nuevo papel funcional de los canales de Ca²⁺ en el incremento de la resistencia vascular asociada a la hipertensión arterial.

Financiación: Proyecto de Excelencia CTS3530. Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa. Junta de Andalucía. Red Enfermedades Cardiovasculares (RECAVA) del Fondo de Investigaciones Sanitarias.

27. P144, UN PÉPTIDO DERIVADO DEL RECEPTOR TIPO III DEL TGF-B₁ NHIBE LA ACTIVIDAD NADPH OXIDASA Y PREVIENE LA FIBROSIS EN EL RIÓN DE LAS RATAS HIPERTENSAS

A. Baltanás¹, C. Cebrián¹, J. Dotor², F. Borrás², J. Díez¹, G. Zalba¹ y A. Fortuño¹

¹Área de Ciencias Cardiovasculares, Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra, Pamplona. ²Área de Terapia Génica y Hepatología, Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra, Pamplona.

Propósito del estudio: La NADPH oxidasa es una de las principales enzimas responsables de la producción de anión superóxido en el contexto de las enfermedades cardiovasculares. Estudios recientes sugieren un importante papel de este sistema enzimático en los efectos mediados por el TGF-β₁ en distintos tipos celulares. El objetivo principal de este estudio fue analizar si la administración crónica del P144, un péptido sintético del receptor tipo III betaglucano del TGF-β₁, modifica la actividad NADPH oxidasa y la fibrosis en el riñón de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).

Métodos: Se emplearon cuatro grupos de 10 ratas de 10 semanas de edad: un grupo de ratas normotensas WKY y un grupo de ratas hipertensas SHR, a las que se les administró intraperitonealmente vehículo y otro grupo de ambas cepas, al que se le administró 1 mg/kg/día del péptido P144, durante 12 semanas.

Resultados: Las ratas SHR presentaron un aumento significativo de la presión arterial comparadas con las ratas WKY. Tras el tratamiento con P144, ésta disminuyó en las últimas semanas, aunque esta reducción no fue suficiente para normalizar hasta los valores correspondientes a las ratas WKY. En cambio, el tratamiento con P144 sí logró disminuir significativamente la actividad NADPH oxidasa, así como la expresión proteica de nitrotirosina, un marcador del estrés oxidativo, en la corteza renal de las ratas SHR. Además, la expresión de las subunidades Nox4, Nox2 y p47phox, se encontró también reducida en el caso de las ratas SHR tratadas con P144, al igual que el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), mediador de los efectos pro-fibróticos del TGF-β₁. Asimismo, se comprobó que la fibrosis renal observada en las ratas hipertensas se encontraba normalizada en aquellas ratas que habían sido tratadas con P144. Finalmente, estudios de inmunohistoquímica nos permitieron localizar las diferentes proteínas estudiadas. En ninguno de los casos estudiados, el tratamiento con P144 tuvo efecto en las ratas WKY.

Conclusiones: La importancia fisiopatológica de estos hallazgos reside en la alta correlación encontrada entre los diferentes parámetros estudiados. Por todo lo cual, podemos sugerir que la inactivación de la NADPH oxidasa, mediada por la acción del P144, previene los procesos fibróticos que acontecen en el riñón de la rata hipertensa.

28. ALTERACIONES CARDIOMETABÓLICAS INDUCIDAS POR LA HIPERURICEMIA EN RATAS PREÑADAS. PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO

B. Martín-Fernández, S. Song, H. Huang y T.H. Hintze

Departamento de Fisiología, New York Medical College, Valhalla, Nueva York, EEUU.

Introducción: La hiperuricemia (HU) es común tanto en el síndrome metabólico como en la diabetes tipo 2, causando alteraciones cardiovasculares relacionadas con varias complicaciones durante la gestación. Aunque no son bien conocidos los mecanismos de la HU en las alteraciones cardiovasculares, sí hay varias evidencias que sugieren que el aumento del estrés oxidativo y la disminución de óxido nítrico están implicados en estos procesos.

Objetivo: En este estudio se analizaron los mecanismos de la HU en el control del consumo de oxígeno cardíaco dependiente de óxido nítrico en ratas preñadas.

Materiales y métodos: Se utilizaron ratas preñadas a las que se les administró un inhibidor de la uricasa: ácido oxónico (AO: 750 mg/Kg/día) mediante gavage. La mitad de estos animales fueron tratados con un inhibidor de la xantina oxidasa: allopurinol (AL: 150 mg/l) en el agua de bebida. La duración del tratamiento fue de 20 días. Al final del tratamiento se midió la presión arterial y se calculó el peso relativo del corazón. Así mismo, se analizó la función cardíaca mediante ecocardiografía y se valoró el consumo de oxígeno cardíaco.

Resultados: El AO incrementó significativamente la presión arterial media (de 89,91 ± 7,8 a 110,38 ± 5,6 mmHg), el peso relativo del corazón (de 0,24 ± 0,01 a 0,26 ± 0,01 g/100 g) y la resistencia total periférica (de 1,15 ± 0,15 a 1,55 ± 0,17 mmHg min⁻¹ m⁻¹). El tratamiento con AL disminuyó significativamente estos valores. La capacidad de la bradicinina y el carbachol de reducir el consumo de oxígeno cardíaco se vio afectada en un 70% y 50% respectivamente. Tíron, tempol y apocinina restauraron esta respuesta. En ratas tratadas con AO, tras el bloqueo con L-NAME, se redujo la capacidad de la bradicinina y el carbachol para regular el consumo de O₂ (59% y 62% respectivamente).

Conclusiones: La HU induce hipertensión, incrementa la producción de O₂ y reduce la capacidad del óxido nítrico para regular el consumo de O₂ durante la gestación.

29. FIBRILACIÓN AURICULAR IDIOPÁTICA, PRESIÓN ARTERIAL, REMODELADO AURICULAR Y ACTIVACIÓN NEUROHORMONAL

M. Doménech Feria-Carot, A. Berzueto, I. Molina y A. Coca

Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

Objetivo: Evaluar si existen diferencias en las cifras de presión arterial por monitorización ambulatoria y en los niveles plasmáticos de marcadores neurohormonales (ANF y BNP) en los pacientes con FAI en función del tamaño de la aurícula izquierda.

Diseño: Estudio transversal de una cohorte de pacientes con fibrilación auricular idiopática.

Material y métodos: Se les realizó toma de PA clínica, determinación de marcadores neurohormonales (BNP, ANF, aldosterona, renina y ECA), MAPA con un monitor spacelabs 90217 y un ecocardiograma-doppler con determinación de tamaño de aurícula izquierda (AI), PP, DTDVI y el IMVI.

Resultados: Se incluyeron 36 pacientes diagnosticados de FAI con una edad media de $56,47 \pm 10,48$ años (66,7% eran varones). Las cifras medias de PAS/PAD clínica fueron de $132 \pm 15,82$ mmHg y de $80,27 \pm 9,04$ mmHg. Los valores medios de PAS y PAD ambulatoria en el período de 24 h fueron de 121 ± 8 mmHg/75,11 $\pm 6,8$ mmg respectivamente, de $125,8 \pm 9,7$ /79,03 $\pm 9,5$ mmHg en período diurno y de $112,78 \pm 9,6$ /66,4 $\pm 8,3$ mmHg para el período nocturno. En el ecocardiograma sólo destacaba un tamaño medio de la AI de $4 \pm 0,39$ mm. Los niveles medios de ANF fueron de $48,28 \pm 30,28$ fmol/mL, los de BNP de $35,22 \pm 36,08$ pg/mL y los de aldosterona de $8,25 \pm 5,6$ ng/dl. Al analizar la relación entre el tamaño de la aurícula izquierda y las cifras de PA ambulatoria se observó una clara tendencia a un mayor tamaño auricular en los pacientes con mayores cifras de PA fundamentalmente en el período nocturno ($r = 0,15$; $p = 0,38$), si bien las diferencias no alcanzaron significación estadística. Si que se observó una correlación significativa entre las cifras de PA nocturnas y los niveles de ANF, tanto para la PAS ($r = 0,368$; $p = 0,030$) como para la PAD ($r = 0,34$; $p = 0,046$). También se observó una correlación directa significativa entre el tamaño de la AI y los niveles de ANF ($r = 0,574$; $p < 0,000$) y de BNP ($r = 0,359$; $p = 0,040$), aunque no con los de aldosterona.

Conclusiones: La presión ambulatoria nocturna en sujetos normotensos está relacionada con el tamaño de la AI y la liberación de ANF y BNP en los pacientes con FAI.

30. ESTUDIO DEL LIGANDO DE CD40 (CD40L) COMO MARCADOR DE DAÑO RENAL EN PACIENTES DIABÉTICOS. EFECTO DEL CONSUMO DE UNA DIETA ALTA EN GRASAS INSATURADAS

D. Gómez-Garre, N. Pérez Ferre, E. Bordiu, J. Bagazgoitia, L. Romero, A. Charro, J. Calle, A. Calle Pascual y A. Fernández-Cruz

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

La prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 está aumentando rápidamente en el mundo desarrollado, debido especialmente al aumento de la prevalencia de la obesidad. Se ha demostrado que la presencia de microalbuminuria no es sólo un marcador precoz de daño cardiovascular y renal, sino un importante factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular y desarrollo de nefropatía. Por otra parte, en los últimos años se ha evidenciado que la inflamación podría jugar un papel fundamental en las complicaciones vasculares que presentan los pacientes diabéticos. Entre los factores implicados, se ha demostrado la participación del ligando de CD40 (CD40L) y su receptor en el desarrollo el proceso aterotrombótico de la arteriosclerosis, la retinopatía y la nefropatía. Puesto que la dieta es un componente vital del programa para el

control de la diabetes, en este trabajo hemos evaluado el efecto de una intervención nutricional destinada a sustituir grasas saturadas (SFAs) por grasas poliinsaturadas (PUFAs), manteniendo un tratamiento multifactorial, sobre los niveles plasmáticos de CD40L en pacientes diabéticos con microalbuminuria persistente. Para ello, 46 pacientes diabéticos tipo 2 con microalbuminuria persistente [álbumina-creatinina (ACR) > 30 mg/g] durante al menos un año, a pesar de la intervención multifactorial, se distribuyeron en dos grupos: grupo control ($n = 17$) que continuaron en tratamiento multifactorial; grupo de intervención nutricional ($n = 29$), en el que los pacientes sustituyeron de forma isoenergética el queso, la leche y el jamón de la dieta por nueces y leche rica en esteroles. Este cambio supuso un incremento de la relación PUFAs/SFAs de 0,35 a 1,30. La evolución clínica, los niveles plasmáticos de CD40L soluble (sCD40L) y la microalbuminuria se evaluaron durante 2 años. La regresión de la microalbuminuria se definió como ACR < 30 mg/g. Tras 2 años de seguimiento, el cambio de hábitos alimenticios disminuyó significativamente los niveles de microalbuminuria [26 (Q1-Q3: 16-96) vs 145 (Q1-Q3: 40-306) mg/g, $p < 0,01$], aunque sólo indujo una ligera disminución en los niveles plasmáticos de sCD40L [13,5 (Q1-Q3: 5,6-16,2) vs 16,6 (Q1-Q3: 12,2-22,8) ng/ml, $p = NS$]. Durante el tiempo de seguimiento, 20 pacientes diabéticos regresaron a normoalbuminuria, 17 en el grupo de intervención nutricional (29,3%, IC95% 28,2-30,4), y 3 pacientes diabéticos en el grupo control (8,9%, IC95%: 3,2-14,6). Los pacientes que regresaron los niveles de microalbuminuria presentaron niveles de sCD40L significativamente menores que los que no regresaron [8,2 (Q1-Q3: 5,4-13,2) vs 17,6 (Q1-Q3: 13,5-22,8) ng/ml, $p < 0,05$], así como un menor perímetro de cintura [95 (Q1-Q3: 89-110) vs 101 (Q1-Q3: 94-114) cm, $p < 0,05$] y valores de HbA1c [6,9 (Q1-Q3: 6,6-7,4) vs 7,3 (Q1-Q3: 6,9-8,0%), $p < 0,05$]. Puesto que el CD40L se considera un predictor independiente de enfermedad cardiovascular, nuestros resultados sugieren que también podría ser considerado como una nueva diana terapéutica en el control del riesgo cardiovascular asociado a la microalbuminuria, así como en el control de la nefropatía diabética.

31. EXPRESIÓN PROTEICA EN OREJUELAS IZQUIERDAS DE PACIENTES CON VALVULOPATÍA MITRAL EN FIBRILACIÓN AURICULAR: IMPLICACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

J. Modrego Martín, L. Maroto, L. Azcona Varela, P. Jiménez Mateos-Cáceres, R. Moreno Herrero, E. Rodríguez, C. Macaya Miguel y A.J. López Farré

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Introducción: La fibrilación auricular (FA) suele ocurrir en pacientes con valvulopatía mitral evolucionada. Aunque en la FA ambos atrios fibrilan, la mayoría de los eventos trombóticos ocurren en la orejuela izquierda (OI).

Objetivos: Comparar mediante proteómica la expresión de proteínas relacionadas con tres funciones celulares: citoesqueleto, metabolismo y citoprotección en orejuelas izquierdas de pacientes con valvulopatía mitral normotensos ($N, n = 6$) e hipertensos (HTA, $PS > 140$ mmHg, $n = 5$) ambos en FA permanente (> 1 año).

Métodos: Las proteínas fueron separadas por electroforesis bidimensional e identificadas mediante espectrometría de masas.

Resultados: Encontramos diferencias estadísticamente significativas en una proteína relacionada con el metabolismo energético celular, la cadena b de la ATP sintasa ($N = 47,48 \pm 7,38$; HTA = $25,19 \pm 6,88$; $p = 0,047$) y con una proteína del aparato contráctil la a-actina ($N = 57,46 \pm 9,29$; HTA = $151,15 \pm 40,61$; $p = 0,047$). No hubo diferencias en otras proteínas del metabolismo como son: piruvato deshidrogenasa, succinil CoA, creatin kinasa isoforma 1 y 2, ubiquinol citocromo-C-reductasa, enoil CoA hidratasa, NADH

oxidorreductasa. Tampoco hubo diferencias en otras proteínas contráctiles como son desmina isoformas 1 a 7, tropomiosina cadena a y b y cadena ligera de la miosina isoformas 1 y 2. Tampoco hubo modificaciones en proteínas relacionadas con el estrés oxidativo. Sí encontramos diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de la aurícula izquierda entre los pacientes normotensos y con HTA ($N = 54,00 \pm 1,34$ mm; HTA = $64,00 \pm 1,69$ mm; $p = 0,017$).

Conclusiones: A pesar de que el tamaño de la aurícula izquierda es mayor en los pacientes hipertensos con valvulopatía mitral, esto no se refleja en cambios en la OI a nivel de la expresión proteica de proteínas relacionadas con el metabolismo energético, el aparato contráctil o el estrés oxidativo.

32. ESTUDIO PROTEÓMICO DE LA MIOCARDIOPATÍA DIABÉTICA-HIPERTENSA CRÓNICA EN RATAS

B. Picatoste Botija¹, S. Ares Carrasco¹, E. Camafeita², J.A. López², J. Egido³, J. Tuñón Fernández¹ y O. Lorenzo González³

¹Hospital Fundación Jiménez Díaz, Madrid. ²Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid. ³Universidad Autónoma, Madrid.

Introducción: La diabetes tipo I (DM1) afecta directamente al corazón dando lugar a la miocardiopatía diabética. Previamente se había analizado el efecto agudo de la DM1 en el miocardio, pero no su acción a largo plazo ni el efecto aditivo de la hipertensión. Los nuevos abordajes proteómicos permiten rastrear la expresión de cientos de proteínas en un experimento comparando dos muestras de tejido.

Objetivos: Analizar el proteoma y las vías moleculares características de la miocardiopatía diabética-hipertensa crónica experimental.

Métodos: Inyectamos streptozotocina (50 mg/kg) a ratas normotensas e hipertensas (SHR) para desarrollar DM1. Tras 22 semanas, las ratas fueron sacrificadas y sus ventrículos izquierdos extraídos para ser analizados por histología y proteómica 2DE/DIGE y espectrometría de masas. Las proteínas diferencialmente expresadas (ratio > 1,35-fold; $p \leq 0,05$) fueron validadas por Western blot, Electrophoretic Mobility Shift assay (EMSA) e inmunohistoquímica, y clasificadas en diferentes rutas moleculares utilizando herramientas bioinformáticas (Ingenuity).

Resultados: Por tinciones de Masson y TUNEL, la rata DM1, y de modo más pronunciado y similar, la SHR y DM1/SHR, mostraron hipertrofia, fibrosis y apoptosis miocárdica. Por proteómica, encontramos 32, 63 y 70 proteínas alteradas en el miocardio de las ratas DM1, SHR y DM1/SHR, respectivamente. El miocardio DM1 presentó sobreexpresión de proteínas citoesqueléticas y apoptóticas, sin embargo, inhibición de enzimas del metabolismo mitocondrial (ciclo Krebs y cadena respiratoria). Las ratas SHR y DM1/SHR mostraron expresión adicional de estos parámetros y disminución de proteínas del metabolismo de ácidos grasos. Mediante técnicas bioinformáticas detectamos la implicación de proteínas del citoesqueleto, específicas citoquinas y receptores nucleares de ácidos grasos que podrían jugar un papel importante en estos procesos.

Conclusiones: El efecto crónico de la DM1 e hipertensión produce una alteración en el proteoma miocárdico. La reducción del metabolismo de ácidos grasos y el desacoplamiento de la glicólisis, unido a la estimulación de proteínas hipertróficas y apoptótica, podrían estar relacionados con la disfunción miocárdica observada en la hipertensión y DM1-hipertensión. Nuevos factores, identificados por proteómica y bioinformática, podrían ser utilizados en el diseño de estrategias farmacéuticas para estos pacientes.

33. LAS LDL MODULAN LA EXPRESIÓN DE LA QUEMOQUINA CCL20 EN LAS CÉLULAS MUSCULARES LISAS VASCULARES HUMANAS A TRAVÉS DE UN MECANISMO DEPENDIENTE DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NF-KB

O. Calvayrac, R. Rodríguez-Calvo, A. Guadall, T. Arnedo, J. Alonso, C. Rodríguez y J. Martínez-González

Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC), Barcelona.

Introducción: CCL20 (MIP-3a, Macrophage Inflammatory Protein-3a) es una quemoquina que interviene en la respuesta immune e inflamatoria.

Objetivo: Analizar la regulación de la CCL20 por las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en células musculares lisas vasculares (CMLV) humanas.

Métodos: Se aislaron CMLV de arterias coronarias humanas y LDL humanas de plasma de voluntarios sanos. Los niveles de mRNA de CCL20 se analizaron mediante PCR a tiempo real. Las vías de señalización celular se analizaron utilizando inhibidores específicos. Mediante PCR se amplificó el promotor de la CCL20 que se clonó en un vector reporter de luciferasa (pGL3). La actividad transcripcional del promotor de la CCL20 nativo y de delecciones seriadas del mismo se analizó en células vasculares transfectadas con liposomas. La funcionalidad del elemento de respuesta a NF-kB del promotor de CCL20 se determinó mediante ensayos de retardo de la movilidad electroforética (EMSA).

Resultados: Las LDL incrementaron los niveles de mRNA de CCL20 en CMLV de forma dependiente de dosis y tiempo de estímulo. La inducción máxima se produjo a las 4 horas de estímulo con 300 mg colesterol/ml LDL. El aumento de la expresión de CCL20 por las LDL fue bloqueado por un inhibidor de la transcripción (DRB). El pre-tratamiento con BAPTA-AM (un quelante de calcio), GF109203X (un inhibidor de la PKC), toxina pertusis (un inhibidor de receptores acoplados a proteínas G) o con inhibidores de MAPK (SB203580 y U0126) también previno la inducción de CCL20 por LDL. Además, el partenolide (un inhibidor de NF-kB) bloqueó completamente la inducción de CCL20. En estudios de transfección transitoria, las LDL aumentaron la actividad del promotor de la CCL20. La mutagénesis del elemento de respuesta a NF-kB identificado in silico en el promotor de CCL20 eliminó completamente la inducción de CCL20 por las LDL. Finalmente, mediante EMSA demostramos la unión de NF-kB a dicho elemento en respuesta a LDL, y su bloqueo por el partenolide.

Conclusiones: Las LDL inducen la expresión de la quemoquina CCL20 en CMLV humanas a través de un mecanismo dependiente de NF-kB. El aumento de CCL20 por las LDL puede modular la respuesta inflamatoria inducida por estas lipoproteínas a nivel vascular.

34. CARACTERIZACIÓN DE LA FUNCIÓN MACRO Y MICROVASCULAR EN UN MODELO DE SÍNDROME METABÓLICO (RATA SHROB)

Y. Mendizábal Castillo, S. Llorens Folgado y E. Nava Hernández

Facultad de Medicina, Albacete.

Propósito del estudio: El concepto de síndrome metabólico incluye trastornos metabólicos como resistencia a la insulina, dislipemia, obesidad, hipertensión así como macro y microangiopatía. La rata espontáneamente hipertensa obesa (SHROB) desarrolla toda esta patología. Interesados en estas últimas en este trabajo pretendemos caracterizar la función macro y microvascular en este modelo.

Métodos: La función macrovascular se estudió en aorta torácica y la función microvascular en arterias de resistencia mesentéricas (tercera rama de la arteria mesentérica superior). Se caracteriza-

ron la función microvascular básica tanto endotelial (vasodilatación endotelio-dependiente a acetilcolina) como muscular lisa (contractilidad a potasio y fenilefrina así como vasodilatación endotelio-independiente a nitroprusiato sódico). Todo ello en un miógrafo de Mulvany adaptado a macro y microvasos. Asimismo, se midió la presión arterial por plethysmografía y se realizaron analíticas sanguíneas. Como control se utilizaron ratas WKY de la misma edad.

Resultados: Comparadas con las WKY, las ratas SHROB presentaron sobre peso, hipertensión moderada (167 ± 4 mmHg), marcada hiperinsulinemia, hiperglucemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. La aorta de SHROB presentó hiperreactividad a fenilefrina y una respuesta a acetilcolina ligeramente alterada. L-NAME potenció la respuesta a fenilefrina y abolió la de acetilcolina. Indometacina atenuó la contractilidad sólo en SHROB y mejoró la relajación a acetilcolina moderadamente en ambos casos. Las arterias de resistencia de SHROB presentaron hiperreactividad al potasio, menor reactividad a la fenilefrina y respuesta a acetilcolina y nitroprusiato muy mermadas. L-NAME potenció la respuesta a fenilefrina y redujo la de acetilcolina en vasos de WKY, no así en los de SHROB, en los que L-NAME no alteró o sólo ligeramente las respuestas a acetilcolina y a fenilefrina. Indometacina mejoró la relajación sólo en SHROB y atenuó la contracción a fenilefrina en ambas ratas. A juzgar por los marcados efectos de L-NAME sobre fenilefrina y acetilcolina, las respuestas de ambos eran muy dependientes de NO.

Conclusiones: La función microvascular de SHROB está muy mermada. El papel de NO y de prostaglandinas es muy diferente en microvasos de SHROB. La función macrovascular no se ve alterada y el papel de NO y de prostaglandinas es similar en WKY y SHROB.

35. EL CONSUMO DE UNA DIETA CON ELEVADO CONTENIDO EN COMPUESTOS FENÓLICOS MEJORA LA FUNCIÓN ENDOTELIAL, ASÍ COMO LA PRESIÓN ARTERIAL EN PERSONAS HIPERTENSAS

R. Moreno Luna¹, P. Stiefel Garcí-Junco², E. Pàmies Andreu², A. Costa Martins¹, M.J. Domínguez Simeón¹, R. Muñoz Hernández¹, O. Muñiz Grijalvo², S. García Morillo², J. Villar Ortiz² y M.L. Miranda Guisado

¹Instituto de Biomedicina de Sevilla, Sevilla.

²Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

Introducción: La disfunción endotelial constituye la primera manifestación clínica de arteriosclerosis. Estudios recientes han demostrado que el consumo de compuestos fenólicos mejora la disfunción endotelial, en pacientes hipercolesterolemicos.

Objetivo: Evaluar el efecto del consumo diario de aceite de oliva rico en compuestos fenólicos, sobre la hiperemia reactiva post-isquemia (función endotelial) en mujeres hipertensas.

Material y métodos: Un grupo de 25 mujeres con antecedente de hipertensión durante el embarazo y que actualmente forman la cohorte del estudio "CITOLIVA" por presentar cifras de presión arterial normal-alta o de grado 1, consumieron dos fases de alimentación de 8 semanas de duración cada una, consistentes en una dieta típica mediterránea. En una de ellas (A), consumieron un aceite de oliva con alto contenido en compuestos fenólico (200 ppm); mientras que en la otra (B) consumieron el mismo aceite pero sin compuestos fenólicos (0 ppm). La asignación de las participantes a ambas dietas fue aleatoria y en diseño cruzado. Antes y después de cada intervención se les midió la Presión Arterial (PA) por manómetro, niveles de óxido nítrico (ON), ADMA y perfil lipídico en plasma y se les realizó un estudio de la respuesta hiperémica post-isquemia mediante flujometría (láser doppler, perimed®, Suecia). One-Way ANOVA o test de Kruskal-Wallis. $p < 0,05$.

Resultados: En esta población hemos podido observar, como tras consumir un aceite rico en polifenoles de forma crónica (60 ml/día), se produce un aumento significativo, del Área de Hiperemia, así como mayores y menores niveles respectivamente de Óxido Nítrico (ON) y ADMA en plasma ($p < 0,05$), efecto no observado tras consumir la dieta pobre en polifenoles. Por otra parte percibimos una mejora de la PA tras el consumo de la dieta A, aunque dicha tendencia no fue significativa ($p = 0,06$). No distinguimos diferencias en el perfil lipídico.

Conclusión: Una dieta con alto contenido en compuestos fenólicos procedentes del aceite de oliva, podría mejorar la vasodilatación dependiente del endotelio y como consecuencia la función endotelial, en poblaciones de mujeres con hipertensión arterial.

36. EFECTO PROTECTOR DEL POLIMORFISMO 1742(C/G) DEL GEN DE LA CARDIOTROFINA-1 FRENTE A LA HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL

M. Moreno¹, P.A. Robador¹, O. Beloqui², N. Varo², J. Redón³, A. Fortuño¹, G. Zalba¹ y J. Díez¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra, Pamplona. ²Clinica Universitaria, Universidad de Navarra, Pamplona. ³Hospital Clínico, Universidad de Valencia, Valencia.

Propósito del estudio: Evidencias tanto experimentales como clínicas señalan que la cardiotrofina-1 (CT-1) es una citoquina implicada en el desarrollo de la hipertrofia ventricular izquierda (HVI). Hemos investigado el efecto de la variante 1742(C/G) del gen humano de la cardiotrofina sobre los niveles de CT-1 y sobre la HVI en la hipertensión arterial esencial.

Métodos: Se genotiparon 514 sujetos normotensos y 386 pacientes hipertensos para el polimorfismo 1742(C/G). Se determinaron los niveles séricos de CT-1 por ELISA en 681 sujetos. Se estudió la HVI en 297 sujetos por ecocardiografía bidimensional.

Resultados: La prevalencia del genotipo GG del polimorfismo 1742(C/G) era menor en los pacientes hipertensos (8,4% en normotensos, 4,9% en hipertensos, $p = 0,046$ vs sujetos de genotipo CC/CG) e incluso menor en paciente con HVI (11,5% en normotensos no hipertróficos, 12,2% en hipertensos con HVI, 2,6% en hipertensos con HVI, $p = 0,008$ vs sujetos CC/CG). Además, los sujetos GG presentaban menores niveles séricos de CT-1 (GG: $147,1 \pm 10,5$ fmol/mL, CC/CG: $187,1 \pm 4,8$ fmol/mL, $p = 0,036$) y menor índice de masa del ventrículo izquierdo (GG: 91 ± 6 g/m², CC/CG: 119 ± 3 g/m², $p = 0,002$). Estudios multivariantes mostraron que el polimorfismo 1742(C/G) era un determinante tanto de los niveles de CT-1 como del índice de masa ventricular izquierda, tras ajustar por factores confundentes (edad, sexo, presión arterial sistólica y tratamiento antihipertensivo).

Conclusiones: Nuestros resultados indican que el polimorfismo 1742(C/G) del gen humano de CT-1 es un nuevo marcador en la HVI, pues se asocia con la masa ventricular izquierda en la hipertensión arterial esencial, y que el genotipo GG puede tener un efecto protector, siendo los niveles de CT-1 uno de los mecanismos que subyacen a esta asociación.

37. COMPARACIÓN DEL MÉTODO SEMIAUTOMÁTICO BASADO EN EL MODELO DE SNAKES FREnte AL LINEAL PARA ESTUDIO OBJETIVO DE LA RETINOPATÍA HIPERTENSIVA

M. Pena Seijo¹, A. Pose Reino², S. González Vázquez³, M. González Penedo³, C. Calvo Gómez¹, E.J. López Paz¹, A. Hermida Ameijeiras¹, J.C. Estévez Núñez⁴, M. Suárez Tembra⁵ y J.L. Díaz Díaz⁶

¹Unidad de Hipertensión Arterial y Riesgo Vascular, CHUS, Santiago de Compostela, A Coruña. ²Unidad de Pluripatología y Edad Avanzada, Santiago de Compostela, A Coruña. ³Grupo de Visión Artificial, Universidad de Coruña, A Coruña. ⁴Departamento de Econometría, Facultad de Económicas, Santiago de Compostela, A Coruña. ⁵Clinica San Rafael, A Coruña. ⁶Hospital Abente y Lago, A Coruña.

Objetivos: La hipertensión arterial produce alteración y cambios frecuentes y precoces en el calibre de los vasos de la retina difícilmente cuantificables en estadios iniciales. Las guías europeas de hipertensión arterial consideran hemorragias, exudados y edema de papila como enfermedad clínica asociada pero éstas son lesiones avanzadas y difíciles de ver hoy en día por el control de cifras de presión arterial. Por este motivo sería necesario un método objetivo que cuantifique las modificaciones iniciales de la microcirculación retiniana de forma objetiva puesto que estas alteraciones son muy frecuentes en los pacientes hipertensos pero muy subjetivas y difíciles de cuantificar en estadios iniciales.

Material y métodos: Nuestro grupo ha descrito y validado hace años un método semiautomático basado en un procesado simple de imágenes (modelo lineal) para el cálculo de índice arteriovenoso (IAV) como medida del estrechamiento arteriolar en el fondo de ojo, con una alta sensibilidad y especificidad, pero con limitaciones. Describimos un método basado en el modelo de snakes o curvas elásticas, para medir el índice arteriovenoso retiniano, con una similar sensibilidad y de mayor especificidad en la detección de vasos de la retina, que el método previamente descrito. Con el objetivo de validar este método, hemos analizado las fotografías digitales obtenidas de 173 ojos pertenecientes a 96 pacientes hipertensos, que en su mayoría estaban siendo tratados. Las fotos se han realizado en dos centros diferentes y se han analizado por la misma persona en cada centro y por ambos métodos lineal y snake.

Resultados: Observamos que las diferencias en las determinaciones del IAV por ambos métodos son mínimas y siguen una distribución normal. El coeficiente de correlación entre ambos métodos (lineal y snake) fue de 0,91 para el conjunto de las imágenes ($p < 0,0001$), siendo de 0,86 ($p < 0,0001$), para las imágenes del Hospital de A Coruña y de 0,949 ($p: 0,0001$) para las imágenes de Santiago.

Conclusiones: Concluimos que se trata de un método para el cálculo del índice arteriovenoso retiniano de una forma semiautomática con una elevada sensibilidad y mayor especificidad que el previamente descrito y con una excelente correlación con el anterior.

38. LA ACTIVIDAD PLASMÁTICA DE LA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOENSINA 2 (ECA2) ESTÁ AUMENTADA EN RATONES Y HUMANOS DE SEXO MASCULINO

M. Riera, E. Rodríguez, J. Pascual y M.J. Soler

Servicio de Nefrología, Hospital del Mar-IMAS, Fundació IMIM, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Introducción: Existen diferencias de género entre la expresión de algunos de los componentes del Sistema Renina Angiotensina

(SRA). La actividad plasmática de la Enzima Conversora de la Angiotensina (ECA) está aumentada en ratones macho de 8 semanas de vida en comparación con las hembras controles. El descubrimiento de un mecanismo de degradación de la angiotensina II mediante un homólogo de la ECA, conocido como la enzima conversora de la angiotensina 2 (ECA2), ofrece la oportunidad de estudios novedosos acerca del efecto del género en la regulación del SRA.

Objetivos: Estudiar si existen diferencias de género en la actividad de la ECA2 en el plasma y el corazón. Se analizó la actividad de la ECA2 en el plasma y corazón de ratones de 3 meses de edad y también en plasma humano de varones y mujeres de edades pareadas (39,3 4,6 vs 33,9 2,9 años, respectivamente). Las muestras de plasma precisaron de un pre-tratamiento con resinas de intercambio aniónico. La actividad de la ECA2 se detectó mediante una técnica fluorométrica.

Resultados: En el plasma humano, la actividad de la ECA2 fue significativamente mayor en los varones ($n = 6$) que en las mujeres ($n = 11$) (6,4 1,6 vs 3,73 0,6 RFU/ul/h, $p < 0,05$, respectivamente). La actividad plasmática de la ECA2 en ratones machos estaba significativamente aumentada ($n = 7$) en comparación con los ratones hembra ($n = 8$) (13,2 0,66 vs 10,4 1,09 RFU/ul/h, $p < 0,05$, respectivamente). Además, los ratones machos presentaron un aumento de la actividad cardiaca de la ECA2 en comparación con las hembras (64,81 8,83 vs 35,09 6,56 RFU/ug proteína/h, $p < 0,05$, respectivamente).

Conclusiones: La actividad plasmática de la ECA2 está aumentada en diferentes especies (ratón y humanos) en el sexo masculino. Adicionalmente, existen diferencias de género en la actividad de la ECA2 cardiaca en el ratón. La actividad de la ECA2 aumentada en machos puede ser la consecuencia de un efecto compensador ante el aumento de la actividad plasmática de la ECA, enzima que promueve la formación de angiotensina II. En este contexto, el papel de ECA2 podría favorecer la degradación del péptido vasoconstrictor a la angiotensina 1-7, de acción vasodilatadora.

39. LA HIPOXIA INDUCE LA EXPRESIÓN DE LA FIBULINA-5 EN CÉLULAS ENDOTELIALES A TRAVÉS DE UN MECANISMO DEPENDIENTE DE HIF-1

A. Guadall, R. Rodríguez-Calvo, R. Aledo, O. Calvayrac, M. Orriols, J. Martínez-González y C. Rodríguez

Centro de Investigación Cardiovascular, CSIC-ICCC, Barcelona.

Introducción: La Fibulina-5 (FBLN5) es una proteína de matriz extracelular implicada en el remodelado vascular que modula la adhesión, motilidad y proliferación de las células endoteliales.

Objetivo: Analizar la regulación de la FBLN5 por la hipoxia en células endoteliales.

Métodos: Los estudios se desarrollaron en células endoteliales humanas de vena de cordón umbilical (HUVEC) y en células endoteliales de aorta bovina (BAEC). El nivel de expresión de HIF-1 y FBLN5 (mRNA y proteína) se analizó mediante PCR a tiempo real y Western blot, y la actividad transcripcional se determinó en estudios de transfección transitoria. Se realizaron ensayos de retroceso de la movilidad electroforética (EMSA) e inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) para determinar la capacidad de unión de HIF-1 al promotor de la FBLN5.

Resultados: La hipoxia (1% O₂) incrementó el nivel de mRNA de la FBLN5 en BAEC de forma dependiente del tiempo. La máxima inducción se alcanzó al cabo de entre 24 y 48 h bajo condiciones de hipoxia. El incremento de la expresión de FBLN5 observado en células sometidas a hipoxia fue bloqueado por el pretratamiento con inhibidores del eje PI3K/Akt/mTOR (LY294002 y rapamicina), mientras la incubación con dimetil oxal glicina (DMOG), que previene la degradación de HIF1α, produjo una inducción similar a la ejercida

por la propia hipoxia. De hecho, el silenciamiento de HIF1 α previno el aumento de la expresión de FBLN5 observado en condiciones de hipoxia. En concordancia, tanto la hipoxia como la sobreexpresión de HIF1 α , incrementaron la actividad transcripcional de la FBLN5. Ensayos con delecciones seriadas del promotor de la FBLN5 indicaron la implicación de elementos reguladores situados en la región proximal y los análisis in silico nos permitieron identificar un posible elemento de respuesta a hipoxia (HRE). Efectivamente, la mutación de esta secuencia eliminó totalmente la inducción de la actividad transcripcional de la FBLN5 observada en condiciones de hipoxia. Asimismo, estudios de EMSA y ChIP demostraron que la hipoxia aumenta la unión de HIF-1 a esta secuencia, lo que sugiere que este elemento HRE participa en la regulación de la expresión de la FBLN5 por la hipoxia.

Conclusiones: El factor HIF-1 es responsable de la inducción de la expresión de la FBLN5 producida por la hipoxia en células endoteliales. Nuestros resultados sugieren que la inducción de la FBLN5 podría contribuir a la respuesta adaptativa de las células vasculares a la hipoxia.

40. LOS LEUCOTRIENOS INTERVIENEN EN LA VASOCONSTRICCIÓN RENAL INDUCIDA POR LA INHIBICIÓN PROLONGADA DE LA CICLOOXYGENASA-2 CUANDO LA INGESTA DE SODIO ES BAJA

F. Salazar Martínez¹, F. Sáez Belmonte¹, V. Reverte Ribo¹, J.L. Masferrer², M. Graneto², M.T. Llinás Más¹ y F.J. Salazar Aparicio¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Murcia. ²Pfizer Inc. Saint Louis, MO 63017, EE.UU.

Estudios clínicos y experimentales han demostrado que la administración prolongada de antiinflamatorios con acción selectiva por la ciclooxygenasa-2 (COX-2) provoca una vasoconstricción renal cuando la ingesta de sodio es baja. Por otra parte, existen evidencias de que la inhibición de la COX-2 aumenta la producción de leucotrienos, y de que los efectos renales de esa inhibición pueden estar mediados por la angiotensina II. El objetivo de este estudio fue analizar la importancia de la angiotensina II y de los leucotrienos en los efectos renales provocados por la inhibición prolongada de la COX-2. Perros conscientes con una ingesta baja en sodio (5 mEq/día) fueron tratados con un inhibidor selectivo de la COX-2 durante siete días (1 mg/kg/día, SC75416A). Además fueron tratados con vehículo; o con un antagonista de los receptores AT₁ (0,4 mg/kg/día, candesartán); o con dos dosis (20 y 60 mg/kg/día) de un inhibidor selectivo de la 5-lipoxygenasa (PF-150). La presión arterial no cambió en ninguno de los grupos durante el estudio. La administración aislada del inhibidor de la COX-2 provocó un descenso ($p < 0,05$) de flujo sanguíneo renal (219 ± 14 a 160 ± 10 ml/min) y tasa de filtración glomerular (51 ± 2 a 42 ± 3 ml/min), y un aumento de la concentración plasmática de potasio ($4,3 \pm 0,1$ a $4,6 \pm 0,01$ mEq/l). La administración simultánea de candesartán no modificó la vasoconstricción renal inducida por la inhibición de la COX-2 porque esta inhibición redujo ($p < 0,05$) el flujo sanguíneo renal (23%) y la tasa de filtración glomerular (19%). Sin embargo, la administración de ambas dosis del inhibidor de la 5-LOX si fue efectiva en bloquear la vasoconstricción renal y el aumento de potasio en plasma provocados por la inhibición prolongada de la COX-2. Los resultados de este estudio demuestran que los leucotrienos, pero no la angiotensina II, tienen una gran importancia en la vasoconstricción renal y la hiperpotasemia provocada por la administración prolongada de un inhibidor de la COX-2 cuando se ingiere una dieta pobre en sodio.

41. LA RESISTENCIA A LA INSULINA DETERMINA UN MAYOR ACORTAMIENTO EN LA LONGITUD DE LOS TELÓMEROS EN LAS CÉLULAS FAGOCÍTICAS DE LOS PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO

L. Montero¹, A. Fortuño¹, P. García-Berbel¹, O. Beloqui², J. Díez¹ y G. Zalba¹

¹CIMA, Universidad de Navarra, Pamplona. ²Clinica Universitaria, Universidad de Navarra, Pamplona.

Propósito del estudio: La longitud de los telómeros en las células blancas sanguíneas se encuentra disminuida en los diferentes factores de riesgo que definen el síndrome metabólico (SM), y más aún en los pacientes con aterosclerosis. Se ha invocado que el estrés oxidativo puede ser un mecanismo clave en el acortamiento telomérico. Recientemente, nuestro grupo ha caracterizado un perfil pro-oxidante en los pacientes con SM, y más concretamente en aquellos con un claro establecimiento de resistencia a la insulina (RI). El propósito de este trabajo consiste en analizar la relación de la activación de la NADPH oxidasa con el acortamiento de telómeros en células fagocíticas, en el contexto del paciente con SM.

Métodos: La actividad NADPH oxidasa se evaluó mediante luminescencia en células mononucleadas de sangre periférica. La RI se definió según el índice HOMA. La longitud de los telómeros se determinó por PCR en muestras de DNA genómico aislado de sangre total de los pacientes. El espesor íntima-media (EIM) se determinó en arterias carotídeas mediante eco-doppler. Para profundizar en los mecanismos implicados en los hallazgos obtenidos in vivo, llevamos a cabo experimentos in vitro en la línea macrofágica murina RAW264.7.

Resultados: En la población total, la longitud de los telómeros de las células fagocíticas correlacionaba, tras corregir por la edad y el sexo, negativamente con la glucemia, con la actividad NADPH oxidasa fagocítica y con el EIM carotídeo. En el contexto de los pacientes con SM, aquellos con RI presentaban una elevación significativa en el EIM carotídeo y en la actividad NADPH oxidasa, y una menor longitud en los telómeros de células fagocíticas, con respecto a los pacientes con sensibilidad a la insulina (SI). Los estudios realizados in vitro mostraron que la incubación de macrófagos con el éster de forbol PMA (activador de la NADPH oxidasa) aumentaba la producción de superóxido, e inducía el acortamiento de los telómeros. Estos efectos se inhibían en presencia de apocinina, un inhibidor de la NADPH oxidasa.

Conclusiones: La activación de la NADPH oxidasa compromete la senescencia de las células fagocíticas, en pacientes SM con RI. Este proceso se asocia con un mayor riesgo cardiovascular en el paciente con SM.

42. EL CAPTOPRIL REDUCE EL PROCESO INFLAMATORIO CARDÍACO ASOCIADO A LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

S. Zambrano Sevilla¹, A.J. Blanca Lobato¹, J. Miguel Carrasco¹, A. Mate Barrero¹, M.T. Monserrat García², J. Arias Jiménez², O. Aramburu Bodas² y C.M. Vázquez Cueto¹

¹Departamento de Fisiología y Zoología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Sevilla. ²Servicio de Medicina interna, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

Propósito del estudio: Investigar el efecto del captopril, fármaco inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), sobre el proceso inflamatorio que acompaña a la hipertensión arterial, así como evaluar posibles mecanismos de acción del captopril como fármaco cardioprotector en la hipertensión.

Métodos: Se han empleado cuatro grupos de ratas: 1) ratas Wistar-Kyoto (WKY), como animales controles normotensos; 2) Spontaneously Hypertensive Rats (SHR), como modelo de ratas hiperten-

sas; 3) WKY tratadas con captopril (WKYCAPT) y 4) SHR tratadas con captopril (SHRCAPT). Durante 12 semanas se administró captopril en el agua de bebida de los animales tratados, con dosis de 80 mg/kg peso corporal/día. Transcurrido dicho período, se obtiene plasma y se aísla el ventrículo izquierdo del corazón para la extracción de ARN total. Tanto el plasma como el ARN obtenido se utilizan para la determinación plasmática y expresión génica (mediante PCR a tiempo real) de los marcadores inflamatorios: interleucina -1 β (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6). Para el estudio de los mecanismos de acción del captopril, se han determinado también la expresión génica de la ECA, del receptor tipo 1 de la angiotensina II (AT1), así como del sistema NF-kB/IkB, para evaluar el papel de este factor de transcripción en el efecto del captopril sobre los animales hipertensos.

Resultados: La administración crónica de captopril a las ratas hipertensas provocó una reversión total en las cifras de presión arterial diastólica y sistólica, así como en el peso relativo del corazón. Los niveles plasmáticos de IL-1 β e IL-6, que están aumentados en las ratas hipertensas, también se normalizan tras el tratamiento con captopril. Asimismo, la cantidad de ARNm para la IL-1 β e IL-6, incrementada en las ratas hipertensas con respecto a las normotensas, disminuye tras la administración de captopril. Con respecto al resto de parámetros analizados, en las ratas hipertensas se observa un aumento en la expresión génica de la ECA, del receptor AT1 de la angiotensina, y del factor de transcripción NF-kB, así como una disminución del factor inhibidor IkB. Todas estas alteraciones desaparecen completamente tras el tratamiento con el fármaco. Por otro lado, no se observa efecto alguno del captopril en las ratas normotensas tratadas con el fármaco, siendo los valores similares a los observados en el grupo control en todos los parámetros analizados.

Conclusiones: Nuestro estudio muestra un efecto antiinflamatorio y cardioprotector del captopril en la hipertensión arterial, ya que este fármaco disminuye los niveles de las citocinas proinflamatorias a nivel sistémico y a nivel cardíaco, reduciendo su expresión génica. Por otro lado, se pone de manifiesto la participación del papel del sistema renina-angiotensina y del sistema NF-kB/IkB en este efecto cardioprotector del captopril.