



Hipertensión y riesgo vascular

www.elsevier.es/hipertension



COMUNICACIONES PÓSTER

16.^a Reunión Nacional Sociedad Española de Hipertensión Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial Barcelona, 1-4 de marzo de 2011

Investigación preclínica

1. PAPEL DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y LOS PROSTANOIDES EN LAS RESPUESTAS VASOCONSTRICTORAS EN RATONES INFUNDIDOS CON ANGIOTENSINA II

S. Martínez Revelles¹, M.S. Avendaño Herrador¹, A.B. García Redondo¹, L. García Redondo¹, R. Palacios², M.J. Alonso Gordo², A.M. Briones¹ y M. Salacés Sánchez¹

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

Introducción: La angiotensina II (Ang II) está implicada en los procesos patofisiológicos que ocurren en la hipertensión a través de sus acciones proinflamatorias en la pared vascular. La Ang II aumenta la producción de citoquinas y especies reactivas de oxígeno (ERO) e induce la expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2) en células musculares. Propósito del estudio. Estudiar el papel de ERO, de los prostanoídes derivados de COX-2 y del óxido nítrico (NO) en los cambios vasculares observados en aorta de ratones infundidos con Ang II.

Métodos: Se utilizaron los siguientes grupos de ratones C57BL6 (25-35 g): 1) control; 2) tratados con Ang II (minibomba osmótica subcutánea, 1.440 µg/kg/día, 14 días); 3) tratados con Ang II y el inhibidor de COX-2 celecoxib (20 mg/Kg/día). La presión arterial se midió mediante pletismografía de cola. Las respuestas contráctiles y vasodilatadoras de la aorta inducidas por fenilefrina (1 nM-100 µM) y acetilcolina (1 nM-10 µM), respectivamente, se analizaron mediante el miógrafo de alambres. La producción "in situ" de anión superóxido (O₂⁻) y de NO en aorta de ratón se determinó con las sondas fluorescente hidroetidina (HE) y diaminofluoresceína (DAF) respectivamente.

Resultados: La infusión de Ang II incrementó la presión arterial (95 ± 3.4 vs 146 ± 6.7 mmHg p < 0,0001); dicho aumento fue parcialmente revertido con celecoxib (121,90 ± 2.5 mmHg p < 0,0001). El tratamiento con Ang II aumentó la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina y disminuyó la respuesta relajadora a acetilcolina sin modificar la respuesta vasodilatadora al donador de NO, DEA-NO. El tratamiento con celecoxib revirtió dichos efectos. El inhibidor no selectivo de la sintasa del óxido nítrico L-NAME (100 µM) aumentó la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina más en aortas de rato-

nes controles que en ratones infundidos con Ang II. El tratamiento con celecoxib restauró el efecto potenciador de la respuesta a fenilefrina inducida por L-NAME en ratones infundidos con Ang II. La incubación de los segmentos con apocinina (300 µM), NS 398 (inhibidor de COX-2, 1µM) o SC 560 (inhibidor de COX-1, 1µM), redujo la respuesta vasoconstrictora inducida por fenilefrina más en ratones infundidos con Ang II que en ratones controles. El tratamiento con celecoxib revirtió tanto el efecto inhibitorio del NS 398 como el de la apocinina (300 µM). El tratamiento con Ang II aumentó la formación de O₂⁻ y disminuyó la liberación de NO. El tratamiento con celecoxib disminuyó la formación de O₂⁻ e incrementó la liberación de NO.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que: 1) El incremento en la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina inducida por el tratamiento con Ang II está mediado por la producción de ERO y la síntesis de prostanoídes. 2) El aumento de la producción de ERO en ratones infundidos con Ang II parece reducir la biodisponibilidad del NO y modular la participación de los prostanoídes en las respuestas vasoconstrictoras.

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

2. EFECTOS DE LA GRASA PERIVASCULAR Y VISCERAL SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA RATA OBESA SHROB

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

Facultad de Medicina, Albacete.

Propósito del estudio: La grasa visceral (GV) está claramente asociada a patología cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2. La grasa ectópica genera disfunción del órgano donde se aloja. En el caso de los vasos se conoce como tejido adiposo perivascular (TAP). La rata SHROB es un modelo de síndrome metabólico que presenta obesidad visceral y abundante TAP en el lecho mesentérico.

Objetivos: 1) Estudiar los efectos de la presencia de TAP y GV en animales sanos (rata WKY) y obesos (SHROB) sobre la función endotelial de vasos de resistencia mesentéricos. 2) Delimitar qué sustancia(s) de las que libera el tejido adiposo generan disfunción endotelial en la microcirculación en condiciones de obesidad.

Métodos: Se disecaron microvasos mesentéricos de 3^a rama: a) limpiando cuidadosamente todo el TAP (PAT-), o, b) manteniendo una esfera de TAP y GV alrededor del microvaso (PAT+). La función endotelial se valoró por medio de la respuesta a acetilcolina (ACh) en un miógrafo de Mulvany en presencia o ausencia de tempol (mimetico de superóxido dismutasa), losartán (bloqueante de receptores de angiotensina II) o NS 398 (inhibidor de ciclooxigenasa-2).

Resultados: Los microvasos mesentéricos PAT+ de WKY relajaron a ACh cerca del 100%, mientras que los de SHROB solo relajaron un 45%. Los vasos PAT- de WKY relajaron también un 100%, aunque con mayor sensibilidad los PAT- (pD_2 : $8,0 \pm 0,1$) que los PAT+ (pD_2 : $7,1 \pm 0,06$). Los microvasos PAT- de SHROB relajaron un 70%. Tempol y NS 398, pero no losartán, mejoraron la relajación a ACh de microvasos de SHROB PAT+ hasta alcanzar alrededor de un 80%. Ninguno de los tres fármacos alteró la curva de ACh de WKY PAT+.

Conclusiones: La función endotelial de SHROB está muy mermada, pero más aún cuando el TAP y la GV están presentes en el baño. La presencia de TAP y GV también afecta negativamente a la función endotelial de animales sanos. La obesidad visceral merma la función endotelial. Sugerimos que por un exceso de producción de radicales libres y tromboxano A₂.

3. LA ADIPOQUINA PBEF/NAMPT/VISFATINA DETERIORA LAS RELAJACIONES ENDOTELIO-DEPENDIENTES EN ARTERIAS DE RESISTENCIA DE RATA Y HUMANOS

S. Vallejo¹, T. Romacho¹, R. Carraro², J. Angulo³, E. Cercas¹, E. Palacios¹, C. Peiró¹ y C. Sánchez-Ferrer¹

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ²Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital La Princesa, Madrid.

³Departamento de Investigación, Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción: La visfatina, también conocida como PBEF (pre-B cell colony-enhancing factor) o NAMPT (nicotinamide phosphoribosyl transferase), es una nueva adipoquina secretada principalmente por el tejido adiposo, cuyos niveles se encuentran elevados en desórdenes metabólicos tales como obesidad y diabetes mellitus. Recientemente hemos comprobado cómo esta adipoquina, PBEF/NAMPT/VISFATINA, favorece la inflamación de células del músculo liso vascular humano. Este efecto parece estar mediado por la actividad NAMPT, la cual cataliza la conversión de nicotinamida y fosforribosilpirofosfato (PRPP) en nicotinamida mononucleótido (NMN), que posteriormente será transformado en NAD⁺.

Objetivos: Analizar el efecto directo de la PBEF/NAMPT/visfatina sobre el deterioro de la función endotelial en microvasos mesentéricos de ratas y humanos.

Material y métodos: Microvasos mesentéricos de rata Sprague-Dawley (SD) fueron montados en un miógrafo. Se testaron las respuestas a acetilcolina (ACh; $0,1 \text{ nM}$ - $10 \text{ } \mu\text{M}$) o a nitroprusiato sódico (SNP; 1 nM - $10 \text{ } \mu\text{M}$) en los vasos precontraídos con noradrenalina (NA; $1 \text{ } \mu\text{M}$). Algunos vasos fueron pretratados con concentraciones crecientes de PBEF/NAMPT/visfatina o nicotinamida mononucleótido (NMN), con superóxido dismutasa (SOD), con el inhibidor de la actividad NAMPT (APO866), o con el anticuerpo específico contra el receptor de insulina (ab-3). También se utilizaron microvasos mesentéricos humanos procedentes del epiplón de pacientes sometidos a cirugía abdominal abierta en el Hospital La Princesa, sin enfermedad cardiovascular conocida. Fueron montados en un miógrafo. Se testaron las respuestas a bradicinina (BK; 1 mM - $3 \text{ } \mu\text{M}$) en vasos precontraídos con 35 mM de KCL. Algunos vasos se pretrataron con de PBEF/NAMPT/visfatina y con el inhibidor de la actividad NAMPT (APO866).

Resultados: En microvasos mesentéricos de rata, PBEF/NAMPT/visfatina deteriora las respuestas a ACh de manera concentración dependiente (desde 25 ng/ml a 100 ng/ml). Por el contrario, las

respuestas a SNP no fueron modificadas por la presencia de 50 ng/ml de PBEF/NAMPT/visfatina. El inhibidor de la actividad NAMPT (APO866), pero no SOD ni el anticuerpo específico contra el receptor de insulina (ab-3), previno el deterioro de las respuestas a ACh producidas por PBEF/NAMPT/visfatina. De acuerdo con estos resultados, la preincubación de estos vasos con NMN, producto final de la actividad NAMPT, produjo un deterioro de las relajaciones a ACh de manera concentración dependiente, similar a los resultados obtenidos con PBEF/NAMPT/visfatina. Finalmente, en los microvasos mesentéricos humanos precontraídos con KCL, la vasodilatación dependiente de endotelio a BK fue igualmente deteriorada por la presencia de 50 ng/ml de PBEF/NAMPT/visfatina, este deterioro fue de nuevo prevenido por la presencia del inhibidor de la actividad NAMPT (APO866).

Conclusiones: PBEF/NAMPT/visfatina produce disfunción endotelial a través de su actividad NAMPT tanto en microvasos mesentéricos de rata como humanos. Este deterioro en la función vascular junto a su capacidad de promover inflamación en la célula vascular, hacen que esta adipoquina, PBEF/NAMPT/visfatina, juegue un papel directo en el daño vascular asociado a desórdenes metabólicos, tales como obesidad, resistencia a insulina o diabetes mellitus.

4. LA FIBULINA-5 PARTICIPA EN LA RESPUESTA DE SUPERVIVENCIA DE LAS CÉLULAS ENDOTELIALES A LA HIPOXIA

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

Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Introducción: La fibulina-5 (FBLN5) es una proteína extracelular que participa en el ensamblaje de las fibras elásticas y que regula la funcionalidad de la célula endotelial. Previamente hemos demostrado que la hipoxia incrementa la expresión de FBLN5 en células endoteliales y que el factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1) podría ser responsable de este efecto.

Objetivos: Caracterizar exhaustivamente el mecanismo a través del cual la hipoxia regula la expresión de FBLN5 en células endoteliales y determinar la repercusión funcional de este efecto.

Métodos: Los estudios se desarrollaron en células endoteliales humanas de vena de cordón umbilical (HUVEC) y en la línea de origen epitelial HeLa. El nivel de expresión (mRNA y/o proteína) se analizó mediante PCR a tiempo real y Western blot. La localización intra/extracelular de la FBLN5 se caracterizó mediante inmunocitoquímica. La unión de anexina V se utilizó como índice de apoptosis celular. Para establecer si la hipoxia modula las propiedades adhesivas de la matriz extracelular (MEX) y establecer el papel de la FBLN5, se determinó el número de células fluorescentes (HUVEC que expresan GFP) asociadas a la matriz sintetizada por células silenciadas o no para FBLN5 tras un periodo de adhesión de 20 minutos.

Resultados: En HUVEC y HeLa la hipoxia incrementó no solo el nivel de mRNA de la FBLN5 sino el nivel proteína FBLN5 evaluado en el lisado celular. En concordancia, los análisis por microscopía confocal demostraron un aumento de la tinción de FBLN5 intracelular, localizada fundamentalmente en la región perinuclear y en la periferia celular. Asimismo, la hipoxia incrementó la presencia de FBLN5 en el espacio extracelular, tal y como se deriva de los estudios inmunocitoquímicos realizados en células no permeabilizadas y de los análisis por Western blot desarrollados a partir de medio condicionado de células. Los estudios de silenciamiento de HIF-1alfa y HIF-2alfa demostraron que únicamente el factor HIF-1alfa sería responsable de esta respuesta. La hipoxia incrementó las propiedades adhesivas de la MEX producida por las células endotelia-

les, mientras que la MEX sintetizada por células deficientes en FBLN5 expuestas a hipoxia mostró una menor capacidad adhesiva que la producida por células mantenidas en hipoxia. Finalmente, observamos que el bloqueo de la expresión de FBLN5 en células endoteliales incrementó la tasa de células apoptóticas inducida por la hipoxia, lo que se acompañó por una reducción tanto de la activación de Akt (por fosforilación) como del nivel de Akt total.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que la inducción de la FBLN5 podría formar parte de la respuesta adaptativa de las células endoteliales para sobrevivir al estrés hipóxico.

5. LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO PARTICIPAN EN LA HIPERTENSIÓN Y EN LAS ALTERACIONES CARDIOVASCULARES INDUCIDAS POR ANGIOTENSINA II

M.S. Avendaño Herrador¹, S. Martínez Revelles¹, A.B. García Redondo¹, A. Aguado¹, A. Martín Cortés², M.J. Alonso Gordo², A.M. Briones¹ y M. Salaices Sánchez¹

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

Propósito del estudio: En la hipertensión se ha descrito un incremento en los niveles de angiotensina II (Ang II) que se ha asociado a un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) como el anión superóxido generado por la NADPH oxidasa, los cuales a su vez, pueden contribuir a las alteraciones en la función vascular descritas en esta patología. Analizar la participación de ERO en la hipertensión, la hipertrofia cardíaca y en las alteraciones en las respuestas funcionales en aorta de ratón infundidos con Ang II.

Métodos: Se utilizaron los siguientes grupos de ratones C57BL6 (25-35 g): 1) control; 2) tratados con AngII (minibomba osmótica subcutánea, 1440 µg/kg/día, 14 días); 3) tratados con AngII y el inhibidor de la NADPH oxidasa, apocinina (1,5 mM) y 4) tratados con AngII y un mimético de la superóxido dismutasa 1 (SOD1), Mito-TEMPO (0,7 mg/Kg/día). La presión arterial se midió mediante ple-tismografía de cola. Se determinó la hipertrofia del ventrículo izquierdo y las respuestas funcionales de la aorta se analizaron mediante miógrafo de alambres. La producción "in situ" de O₂·- y de óxido nítrico (NO) se determinaron mediante las sondas fluorescentes hidroetidina (HE) y diaminofluoresceína (DAF) respectivamente.

Resultados: La infusión con Ang II incrementó la presión arterial y tanto el tratamiento con apocinina como con Mito-Tempo disminuyeron dicho efecto (Control: 95 ± 3,4 mmHg; AngII: 146 ± 6,7 mmHg p < 0,0001 vs control; AngII + apocinina: 133,67 ± 5,7 mmHg p < 0,01 vs AngII, AngII + Mito-Tempo: 118,7 ± 4,3 mmHg p < 0,001 vs AngII). Ang II produjo hipertrofia del ventrículo izquierdo que se mejoró en parte, con ambos tratamientos antioxidantes. El tratamiento con Ang II aumentó la respuesta contráctil a fenilefrina (1 nM-100 µM) la cual se normalizó tras el tratamiento con apocinina. El inhibidor no selectivo de la sintasa del óxido nítrico L-NAME (100 µM) aumentó la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina menos en aorta de ratones infundidos con AngII que en ratones controles. Además, AngII aumentó la formación de O₂·- y disminuyó la liberación de NO así como la respuesta relajadora a acetilcolina (1 nM-10 µM) sin modificar la respuesta vasodilatadora al donador de NO, DEA-NO. El tratamiento con apocinina normalizó el efecto potenciador del L-NAME, disminuyó la formación de O₂·-, incrementó la liberación de NO y mejoró la disfunción endotelial producida por Ang II. Por otro lado, la incubación de los segmentos con apocinina (300 µM), NS 398 (inhibidor de COX-2, 1 µM) o SC 560 (inhibidor de COX-1, 1 µM), redujo la respuesta vasoconstrictora inducida por fenilefrina más en ratones infundidos con Ang II que en ratones controles. El tratamiento con apocinina abolió los efectos inhibidores del NS 398, SC 560 y apocinina en los ratones infundidos con AngII.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que las especies reactivas de oxígeno derivadas de la NADPH Oxidasa y/o de origen mitocondrial participan en la hipertensión, en las alteraciones cardíacas y en el incremento de las respuestas vasoconstrictoras inducidas por AngII posiblemente a través de la disminución de NO. Además, las especies reactivas de oxígeno son responsables de la incrementada participación de prostanoïdes en las respuestas vasoconstrictoras inducida por Ang II.

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

6. LA PEQUEÑA GTPASA K-RAS4A REGULA LA FUNCIÓN VASCULAR

M.T. Grande¹, M. Clemente Lorenzo² y J.M. López Novoa¹

¹Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Salamanca, Salamanca. ²Servicio de Cardiología, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca.

Las pequeñas GTPasas de la familia Ras (H-Ras, N-Ras, K-Ras4A y K-Ras4B) regulan una gran variedad de funciones celulares. Aunque se han relacionado fundamentalmente con el control de la proliferación celular, hay evidencias de que también participan en otras funciones como el control de la función cardiovascular. Hay cuatro isoformas de Ras (H-Ras, N-Ras, K-Ras4A y K-Ras4B) que juegan papeles diferentes en el control de la función celular y recientemente hemos descrito el papel de la isoforma H-ras en el control de la vasodilatación (Hypertension 2010;56:484-9). El propósito de nuestro estudio ha sido analizar el posible papel de la isoforma K-Ras4A en el control de la presión arterial. El estudio se ha llevado a cabo en ratones KO para K-Ras4A. A través de un equipo de telemetría y usando transmisores implantables de presión arterial, hemos medido presión arterial sistólica, diastólica, media y frecuencia cardíaca, en animales despiertos y andando con total libertad. Hemos observado que los ratones KO para K-Ras4A tienen una presión sistólica, diastólica y media significativamente menor que los controles, y una mayor frecuencia cardíaca. Los estudios de ecocardiografía revelaron que no había diferencia en la función cardíaca entre ambos tipos de ratones. Ambos tipos de animales tenían una respuesta presora similar a la administración de angiotensina II, losartán, nitroprusiato sódico, L-NAME y GMPc pero el efecto hipotensor de la acetilcolina en los ratones KO para K-Ras4A fue muy superior al observado en los controles. El efecto vasodilatador de acetilcolina, nitroprusiato sódico y GMPc en miembros inferiores aislados fue mayor en los animales KO para K-Ras4A que en los ratones controles. Asimismo, la excreción urinaria de nitritos, un metabolito del NO, y la expresión de eNOS en riñones y pulmón fue mayor en los animales KO para K-Ras4A que en los controles. En conclusión, estos datos sugieren que los ratones KO de K-Ras4A tienen un aumento en la vasodilatación dependiente de endotelio, lo que explica la hipotensión que presentan.

7. EFECTO DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA DEL TEJIDO ADIPOSO PERIVASCULAR EN ARTERIAS MESENTÉRICAS DE RATA

C. Fernández García-Prieto¹, I. Valladolid Acebes¹, I. Aranguez², M. Fernández Alfonso² y B. Somoza Hernández¹

¹Facultad de Farmacia, USP-CEU, Madrid. ²Instituto Pluridisciplinar UCM, Madrid.

El tejido adiposo perivascular (TAPV) participa activamente en la regulación de la función arterial. Se ha descrito la presencia de todos los componentes del sistema renina-angiotensina (SRA) en el TAPV, con excepción de la renina (Gálvez et al,

2008). La angiotensina I se transforma en angiotensina II (Ang II) por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). A su vez, la ECA2 es capaz de formar angiotensina 1-7 (Ang 1-7) a partir de Ang I y Ang II por distintas vías. La Ang II ejerce sus efectos por estimulación de los receptores AT1 y AT2, mientras que la Ang 1-7 lo hace a través de la estimulación de los receptores AT2 y Mas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la Ang II y de la Ang 1-7 liberadas por el TAPV sobre la función de arterias mesentéricas. Se han utilizado ratas macho Sprague Dawley de 300 g de peso. El estudio de la función arterial se llevó a cabo en el lecho mesentérico (arterias mesentéricas rodeadas del TAPV), perfundido con una solución de Krebs-Henseleit a un flujo constante de 3 ml/min. En presencia de captopril (10-5M), inhibidor del ECA, se observó una disminución de la contracción inducida por noradrenalina (NA, 10-7-10-5 M; Emax control = $125,8 \pm 25,3\%$ vs Emax captopril = $52,8 \pm 24,5\%$, $p < 0,01$). En presencia de losartán (10-6M), antagonista del receptor AT1, se vio un aumento de la respuesta vasodilatadora a acetilcolina (10-9-10-4M, Ach, Emax control = $-88,1 \pm 6,2\%$ vs Emax losartán = $-102,1 \pm 2,4$, $p < 0,001$), mientras que en presencia de PD 123.319 (10-7M), antagonista del receptor AT2, la relajación a Ach disminuyó de forma significativa (Emax control = $-88,1 \pm 6,2\%$ vs Emax PD 123.319 = $-80,6 \pm 14,2$, $p < 0,001$). Estos datos sugieren que la Ang II adiposa actúa sobre los receptores AT1 y AT2. Por otra parte, en presencia de A779 (10-7M), antagonista del receptor Mas, la contracción a NA se incrementó muy significativamente (Emax control = $125,8 \pm 25,3\%$ vs Emax A779 = $363,6 \pm 170,5$, $p < 0,01$), lo que sugiere una participación importante de la Ang (1-7) sobre el control de la función arterial. Este control, parece ser más importante que el de la Ang II.

Financiado por SAF 2008-02703 y GR921641. CF es becaria USP-CEU.

8. SÍNDROME DE PIERNAS INQUIETAS. ¿PREDICTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR?

M. Zapata Martínez¹ y J. Latorre Hernández²

¹Centro de Salud La Cañada, La Cañada, Almería. ²Unidad de HTA y RCV, Hospital AR, El Toyo, Almería.

Propósito del estudio: Evaluar si el síndrome de piernas inquietas (SPI) tiene significación en el patrón circadiano de la presión arterial (PA) a lo largo de 24 horas. Estudio epidemiológico transversal y de casos/controles.

Métodos: Selección al azar de 35 pacientes atendidos en la Unidad de Hipertensión arterial con estudio previo de MAPA de 24 h. Selección y acreditación de 38 pacientes con diagnóstico previo de SPI. Anamnesis y variables antropométricas. Tomas casuales de PA con secuenciador y cuestionario validado de SPI (RLS-QOL). Criterios diagnósticos del NCEP-ATPIII. MAPA 24 h Spacelabs 90207, método oscilométrico. Análisis estadístico RSIGMA.

Resultados: La prevalencia de hipertensión arterial, diabetes, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y síndrome metabólico es significativamente superior en el grupo sin SPI, así como los valores de PA obtenidos en consulta. El IRLS revela que el 10,5% de la muestra padece un cuadro leve, el 52,6% moderado, el 31,5% grave y el 5,2% muy grave. El patrón "no dipper" se encuentra presente en el 41,42% de la muestra, el grupo sin SPI y de mayor riesgo cardiovascular (RCV) lo presenta en un 31,4% frente al 51,4% del grupo con SPI ($p < 0,001$). El fenómeno Riser aparece en el 7,14%, perteneciendo todos ellos al grupo con SPI. Tanto el fenómeno "no dipper" como el riser se correlacionan en mayor medida con los estadios grave y muy grave de la escala.

Conclusiones: El SPI, aun en ausencia de HTA, se asocia a un menor descenso nocturno de las cifras de PA, tanto sistólicas como

diastólicas. Sus mecanismos fisiopatológicos íntimos así como la activación de determinados ejes neurohormonales nos hacen considerarla como una entidad predictora de RCV para un futuro a corto-medio plazo.

9. ¿SON TODOS LOS HIPERTENSOS IGUALES? DIFERENCIAS PSICOLÓGICAS ENTRE HIPERTENSOS: LA INFLUENCIA DEL CONOCIMIENTO DEL DIAGNÓSTICO

M. Fortún Sánchez¹, R. Espinosa López¹, C. Gesteira Santos¹, I. Magán Uceda¹, J. Segura de la Morena², J.A. García Donaire², L. Fernández², J. Sanz Fernández¹ y M.P. García Vera¹

¹Universidad Complutense de Madrid, Madrid. ²Unidad de Hipertensión, Hospital 12 de Octubre, Madrid.

Introducción: La hipertensión arterial esencial (HTA-E) es un problema de salud público que se agrava debido a la naturaleza asintomática de la enfermedad y, por consiguiente, su dificultad para detectarla. Aunque en los últimos años la cifra de hipertensos no diagnosticados ha disminuido, sigue habiendo un 40% de personas con HTA-E que desconocen su condición (Banegas, 2005). Diversos estudios han demostrado que rasgos psicológicos como la ira o la hostilidad, jugarían un papel importante en el origen y desarrollo de la HTA-E (Routledge y Hogan, 2002). No obstante, la literatura en este campo es contradictoria, y, esto podría ser debido, en parte, a la existencia de perfiles psicológicos diferenciados entre los hipertensos (Baer et al, 1979; Sanz et al, en prensa). Concretamente, algunos autores han propuesto que el conocimiento del diagnóstico podría ser un criterio diferenciador del perfil psicológico del hipertenso (Steptoe et al; Friedman et al, 2001).

Propósito del estudio: El objetivo de este estudio fue analizar si existen diferencias en el perfil psicológico y de personalidad entre pacientes con HTA-E que desconocen tener el trastorno y los que sí lo conocen.

Métodos: Se trata de un estudio transversal, en el que han participado 66 sujetos con HTA-E, que fueron divididos en dos grupos: uno de ellos formado por 25 sujetos que desconocían su condición de hipertensos, y el segundo grupo, formado por 41 sujetos que conocían su diagnóstico de HTA-E. Se realizó una entrevista ad hoc para evaluar la conciencia de enfermedad cardiovascular, así como la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular. Posteriormente, se tomaron medidas de la PA clínica y MAPA. Finalmente, se midieron factores psicológicos como la ira (STAXI-R; Spielberger et al, 1996), la actitud ante la enfermedad (EAE; Avia, 1993) y los rasgos de personalidad: la ansiedad, la depresión, la búsqueda de emociones, la vulnerabilidad, la impulsividad, la autodisciplina y la deliberación (NEO; Costa & McCrae, 1992, 1999).

Resultados: Los ANCOVAs realizados, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en tres de los factores psicológicos evaluados. Así, tras controlar estadísticamente la edad y el sexo de los grupos, los sujetos que conocían su diagnóstico puntuaron más alto en ansiedad [$F(3,66) = 3,57$, $p = 0,02$], depresión [$F(3,66) = 2,72$, $p = 0,05$] y ansiedad ante la enfermedad [$F(3,66) = 2,79$, $p = 0,04$]. Sin embargo, sujetos de obtuvieron medidas de PA elevadas, pero desconocían esta condición, puntuaron significativamente más alto en búsqueda de emociones [$F(3,66) = 7,38$, $p = 0,000$]. Los valores de eta cuadrado mostraron que la variable búsqueda de emociones explicaba el 26% de varianza de la diferencias entre los grupos (eta cuadrado = 0,26), mientras que la variable ansiedad explicaba el 15% de la relación entre los grupos (eta cuadrado = 0,15). Por último, tanto la depresión como la ansiedad ante la enfermedad explicaron el 12% de la varianza (eta cuadrado (depresión) = 0,12; eta cuadrado (ansiedad ante la enfermedad) = 0,12).

Conclusiones: Los datos encontrados muestran diferencias en los factores psicológicos en función de si el hipertenso conoce o no su enfermedad. Los hipertensos que conocían su diagnóstico mostraron mayores rasgos de ansiedad y depresión, así como más actitud fóbica ante la enfermedad. Por el contrario, los hipertensos que no conocían su condición, mostraron una búsqueda de sensaciones mayor. Los datos presentados, con congruentes con la literatura existente en este campo, especialmente en lo referente al rasgo de ansiedad, predominante en los hipertensos conscientes de su diagnóstico (Irvine et al, 1989). Además, los resultados confirman las hipótesis propuestas por el equipo de Friedman (2001), en las que ponen de manifiesto la importancia de tener en cuenta, en el diseño de futuras investigaciones, la conciencia de enfermedad de los sujetos hipertensos.

10. LA RUTA CALCIO/CALCINEURINA/NFAT EN SUCESOS TEMPRANOS DE LA ISQUEMIA CEREBRAL

F. Neria¹, M. Sobrado², L. Cortes¹, M. A. Moro², I. Lizasoain² y E. Cano¹

¹Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid. ²Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

Propósito del estudio: El infarto cerebral isquémico se produce por una reducción de flujo sanguíneo que finalmente culmina con daño en las células del cerebro. Además, la isquemia cerebral induce inflamación, provocando rotura de la barrera hematoencefálica, invasión de células inmunes y producción de citoquinas por parte de células gliales: astrocitos y microglía, pero poco se sabe de su papel en respuesta al infarto cerebral. El aumento de la concentración intracelular de calcio (Ca²⁺) es uno de los primeros eventos que se producen en la isquemia cerebral. Este aumento produce la activación de la fosfatasa calcineurina (CN). CN es una proteína implicada en la cascada inflamatoria, capaz de activar la familia de factores de transcripción Nuclear Factor of Activated T Cells (NFAT) e inducir la expresión de múltiples genes. Nuestros datos indican que la vía de activación Ca²⁺/CN/NFAT se activa en células gliales en respuesta a isquemia. En astrocitos, RCAN1.4, (Regulator of calcineurin 1, isoforma 4) se induce por aumento de Ca²⁺ de manera NFAT-dependiente. En el laboratorio hemos expresado exógenamente en células gliales NFAT constitutivamente activo con el fin de analizar el papel funcional de la activación de esta vía y los genes inducidos.

Métodos: 1. Modelos animales murinos de isquemia/reperfusión (I/R), modelos in vitro de depleción de Oxígeno y glucosa y excitotoxicidad en cultivos primarios de células neurales: glía y neuronas. 2. Análisis de los genes Ca²⁺/CN/NFAT-dependientes mediante arrays de alta densidad (Agilent). Se utilizaron cultivos primarios de astrocitos de ratón infectados con adenovirus que expresan una forma de NFAT constitutivamente activa para obtener un perfil de genes regulados por NFAT. La validación de genes se realizó por RT-PCR cuantitativa (qPCR), Western-Blot (WB) con estímulos inductores de incrementos de Ca²⁺ en presencia/ausencia del inhibidor de la ruta ciclosporina A (CsA). 3. Estudios funcionales de la expresión de genes inducidos por NFAT, mediante ensayos de migración, adhesión, transcripción (luciferasa).

Resultados: 1. La vía Ca²⁺/CN/NFAT se activa en la isquemia cerebral tanto en los modelos animales murinos como en los modelos in vitro. 2. Los estudios de arrays mostraron una regulación positiva de genes, descritos anteriormente, como son el RCAN1.4 y la ciclooxigenasa 2 (Cox-2), validando el sistema experimental. Este análisis nos ha permitido describir otros genes que pueden tener una implicación directa en la isquemia cerebral, como miembros de la metaloproteinasas y sus reguladores. 3. La activación de estos genes NFAT-dependientes se analizó mediante qPCR

y WB, con estímulos farmacológicos que aumentan el Ca²⁺ intracelular (ionóforo). Esta activación depende de CN (se inhibe por CsA) y está regulada a nivel transcripcional (inhibida por actinomicina D). Esta activación se analizó también en respuesta a estímulos fisiológicos que aumentan el Ca²⁺ intracelular en las células gliales (trombina, ATP, glutamato). Asimismo, se estudio la ruta Ca²⁺/CN/NFAT en respuesta a estímulos pro-inflamatorios: Tumour Necrosis Factor (TNF α), interferón (IFN γ) e interleuquina 1 (IL-1 β).

Conclusiones: En este trabajo describimos la activación de la ruta Ca²⁺/CN/NFAT en el proceso de isquemia e I/R cerebral y describimos nuevos genes dianas de esta vía en células gliales. Un mejor conocimiento de las respuestas más tempranas al daño cerebral abre nuevas posibilidades para la búsqueda de nuevos marcadores moleculares tempranos de origen y progresión de la enfermedad cerebrovascular.

11. ESTUDIO PROTEÓMICO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS ASOCIADOS A ENFERMEDAD VASCULAR RECURRENTE POSTINFARTO

J.J. Zamorano León¹, P. Jiménez Mateos-Cáceres¹, J. Modrego Martín¹, P. Rodríguez Sierra¹, J. Tamargo², A. Segura³, C. Macaya Miguel¹ y A.J. López Farré¹

¹Hospital Clínico San Carlos, Madrid. ²Universidad Complutense de Madrid, Madrid. ³Instituto de Ciencias de la Salud de Castilla-La Mancha, Talavera de la Reina, Toledo.

Introducción: La enfermedad aguda cerebrovascular junto con la enfermedad isquémica coronaria son la mayor causa de muerte e invalidez en países desarrollados. El riesgo de sufrir eventos vasculares recurrentes está íntimamente ligado con los tradicionales factores de riesgo cardiovascular. Nuestro objetivo fue analizar el valor predictivo de diferentes proteínas plasmáticas en eventos cardiovasculares recurrentes tras un año de seguimiento en 155 pacientes que habían sufrido una isquemia cerebral.

Métodos: Los pacientes se seleccionaron consecutivamente en varios centros. Criterios de inclusión: pacientes con ictus entre 1-3 meses antes de inclusión y con imagen neuronal que confirmara el ictus. Los pacientes se dividieron en aquellos que habían sufrido una isquemia recurrente un año después de la inclusión (74) y los que no la habían sufrido (81). Los pacientes no recibieron ningún tratamiento anticoagulante.

Resultados: Se obtuvo una muestra de plasma de cada paciente y se realizó el estudio proteómico mediante electroforesis bidimensional y espectrometría de masas. Entre todas las proteínas identificadas en el proteoma plasmático, solo los niveles de desmoplaquina se asociaron con protección ante un evento vascular nuevo durante el seguimiento (odds ratio: 0,64; intervalo de confianza del 95%: 0,46-0,89, p = 0,009) ajustado por historia de hipercolesterolemia, tratamiento con estatinas a la inclusión y el subtipo de ictus aterotrombótico previo. Los niveles de desmoplaquina no fueron diferentes con respecto al tipo de evento recurrente (evento vascular coronario o cerebrovascular). Un mayor número de pacientes con accidente cerebrovascular isquémico sin recurrencia vascular habían sido tratados con estatinas en los tres meses posteriores al accidente cerebrovascular isquémico previo. Solo los pacientes que habían estado tomando estatinas de uno a tres meses después del accidente cerebrovascular isquémico previo y que no presentaron recurrencia vascular durante un año de seguimiento mostraron, a la inclusión, aumento de los niveles de desmoplaquina (odds ratio 0,49; 95% de confianza interna 0,28-0,86, p = 0,013).

Conclusiones: La reducción de los niveles en el proteoma plasmático de desmoplaquina durante los tres meses posteriores al

accidente cerebrovascular, se asocia con una mayor recurrencia vascular en un año en pacientes que habían estado tomando estatinas de 1 a 3 meses tras el nuevo accidente cerebrovascular isquémico.

12. EFECTOS DE UNA ELEVADA INGESTA PROTEICA Y DE LA INHIBICIÓN DE LA COX-2 EN RATAS HIPERTENSAS CON UNA REDUCCIÓN EN EL NÚMERO DE NEFRONAS DURANTE EL DESARROLLO RENAL

V. Reverte Ribó, A. Tapia Moragón, J.M. Moreno Ayuso, M.T. Llinás Más y F.J. Salazar Aparicio

Departamento de Fisiología, Universidad de Murcia, Murcia.

Está descrito que la reducción en la dotación nefrogénica induce el desarrollo de hipertensión, hiperfiltración glomerular y daños en la función renal. Estas alteraciones son dependientes de la edad y además mayores en machos que en hembras. Uno de los objetivos de este estudio fue examinar si los efectos renales de una elevada ingesta de proteínas (HP) se acentúan con la edad y si estos efectos son dependientes del sexo en ratas con reducción en el número de glomérulos por alteración de la nefrogénesis. La importancia de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) en la regulación de la función renal también se ha evaluado mediante el análisis de los cambios en la expresión renal de COX-2, y de los efectos renales provocados por la administración de un inhibidor selectivo de la COX-2. Ratas SD fueron tratadas con un antagonista de los receptores AT1 (ARA) o con vehículo durante las dos primeras semanas de vida y los estudios fueron realizados a los 4 y 10 meses de edad. Ese tratamiento con ARA provoca una reducción significativa en el número de nefronas (37%). La presión arterial (PA) estaba elevada ($p < 0,05$) en las ratas con menor número de nefronas de ambos grupos de edad y no experimentó cambios durante la HP. La PA aumentó con la edad en los machos (de 144 ± 1 a 158 ± 5 mmHg, $p < 0,05$) pero no en las hembras (de 135 ± 2 a 134 ± 1 mmHg) con menor número de nefronas. La tasa de filtración glomerular (TFG) no experimentó cambios en ningún grupo experimental a los 4 meses de edad ni tampoco en las hembras hipertensas a los 10 meses de edad. Sin embargo, la TFG disminuyó durante la HP (de $0,63 \pm 0,07$ a $0,19 \pm 0,05$ ml/min, $p < 0,05$) en el grupo de machos hipertensos más viejos. El incremento en la proteinuria inducido por la HP fue mayor ($p < 0,05$) en los machos que en las hembras con menor número de nefronas y se vio agravado con la edad en los machos hipertensos (48 ± 6 mg/día a los 4 meses y 99 ± 22 mg/día a los 10 meses) pero no en las hembras. La expresión de la COX-2 en corteza y médula renal, a los 4 meses de edad, fue similar en ratas control e hipertensas, aumentando de manera significativa a los 10 meses en la corteza renal de los machos hipertensos. La inhibición de la COX-2 (nimesulida, 3 mg/Kg) provocó una caída de TFG y flujo sanguíneo renal que fue mayor ($p < 0,05$) en las ratas hipertensas, tanto machos como hembras de ambos grupos de edad, que en sus correspondientes controles. Además, inhibición de la COX-2 provocó un aumento de resistencia vascular renal que fue mayor ($p < 0,05$) en las ratas hipertensas (30%) que en las normotensas (10%), sin encontrarse diferencias de género ni edad. Los resultados de este estudio muestran claramente que la COX-2 desempeña un papel muy importante en la regulación de la función renal cuando el número de nefronas está disminuido. También se propone que un aumento prolongado en la ingesta de proteínas puede conducir a una insuficiencia renal en los machos pero no en las hembras cuando el número de nefronas disminuye por alteración de la nefrogénesis.

13. LA ADIPOCITOCINA VISFATINA/PBEF/NAMPT SE SINTETIZA EN LA PARED VASCULAR EN RESPUESTA A UN ESTÍMULO PROINFLAMATORIO

T. Romacho¹, S. Vallejo¹, L. Villalobos¹, E. Cercas¹, R. Carraro², C.F. Sánchez Ferrer¹ y C. Peiró¹

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ²Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid.

Propósito del estudio: La adipocitoquina visfatina/PBEF/Nampt es sintetizada en la pared vascular en respuesta a un estímulo proinflamatorio. La visfatina, también conocida como factor incrementador de colonias pre-B (PBEF) o nicotinamida fosforribosil transferasa (Nampt) es una adipocitoquina cuyos niveles están aumentados en obesidad y diabetes tipo 2. En unos trabajos previos, nuestro grupo ha demostrado que la visfatina puede inflammar las células de músculo liso de aorta humana (CMLAH) y deteriorar la reactividad vascular. El propósito de este trabajo fue determinar si la visfatina se sintetizaba en la pared vascular y si su expresión se regulaba en respuesta a otras citoquinas del tejido adiposo.

Métodos: La expresión de visfatina se estudió mediante Western blot e inmunofluorescencia indirecta en células de vena de cordón humano (HUVEC) y/o CMLAH. La secreción de visfatina se analizó por inmunocitoquímica, inmunofluorescencia indirecta y ELISA. La poli-ADP ribosilación Poly-ADP ribosylation se cuantificó por Western blot.

Resultados: La visfatina intracelular se detectó de manera constitutiva en células vasculares. El contenido de visfatina fue 16 veces mayor en HUVEC que en CMLAH. En HUVEC, el contenido de visfatina aumentó en respuesta a la adipocitoquina interleuquina (IL)-1 β (1-10 ng/ml) de una forma dependiente de la concentración a partir de una concentración umbral de 2.5 ng/ml. La IL-1 β también provocó un cambio en la localización subcelular de visfatina, pasando del núcleo al citoplasma, sugiriendo una vía de secreción en las células endoteliales. De hecho, la IL-1 β (10 ng/ml; 24 h) aumentó la secreción de visfatina tres veces en los sobrenadantes celulares. Asimismo, la IL-1 β indujo una tinción positiva para visfatina en forma de halo de secreción. La inducción de visfatina por IL-1 β dependió de la activación previa de NF- κ B y la poli-ADP ribosoma polimerasa (PARP)-1.

Conclusiones: Las HUVEC contienen visfatina de manera constitutiva. Cuando son expuestas a IL-1 β , la síntesis de visfatina se ve estimulada a través de un mecanismo dependiente de NF- κ B y PARP-1. Por lo tanto, la visfatina bien secretada por el tejido adiposo, o sintetizada localmente en la pared vascular, surge como una nueva adipocitoquina proinflamatoria y una potencial diana terapéutica en el tratamiento de la inflamación vascular asociada a las alteraciones metabólicas.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2008.01291, SAF2008-00942 and FIS PI061779). Tania Romacho disfruta de un contrato del Ministerio de Educación.

14. MAPA DE POLIMORFISMOS EN EL GEN SCN5A RELACIONADO CON EL SÍNDROME DE BRUGADA Y QT LARGO TIPO 3 EN POBLACIÓN SANA ESPAÑOLA

J.J. Zamorano León¹, J.M. Villalón², L. Fernández Rosa², L. Calatrava Ladrado¹, P. Rodríguez Sierra¹, C. Macaya Miguel¹ y A.J. López Farré¹

¹Hospital Clínico San Carlos, Madrid. ²Servicios Médicos del Club de Fútbol Atlético de Madrid, Madrid.

La muerte súbita cardiaca de una persona joven y aparentemente sana es un hecho que produce un gran impacto social y familiar. El síndrome de Brugada (SB) y el síndrome de QT largo tipo 3 (QTL-

3) son ejemplos de cardiopatías congénitas, que su desencadenamiento suele ocurrir en el reposo. Alrededor del 20%-25% de los casos de QTL-3 y SB se han asociado a alteraciones en un gen SCN5A. Cuando una alteración ocurre en más del 1% de la población se considera la existencia de un polimorfismo, que puede o no tener implicaciones fenotípicas, patológicas o incluso protectoras ante una mutación. No obstante, en nuestro país no es conocida la distribución polimórfica del gen SCN5A relacionado con estas dos patologías. El objetivo de este estudio fue analizar la presencia de alteraciones genéticas y polimorfismos en el gen SCN5A codificante para el canal de sodio cardíaco NaV1.5 en individuos sanos menores de 30 años y deportistas. Se realizó un estudio electrocardiográfico y ecocardiográfico a 30 individuos. Además, tras consentimiento informado, se realizó un estudio genético basado en técnicas de amplificación de DNA y secuenciación directa bidireccional del gen completo. Los estudios electrocardiográfico y ecocardiográfico no mostraron alteraciones indicativas de patología cardíaca. El estudio genético determinó la presencia de los siguientes polimorfismos sin cambio de aminoácido en el canal NaV1.5: A29A (71,9%), E1051E (37,5%), A1180A (3,1%), S1502S (3,1%), D1531D (3,1%), E1773E (3,1%), D1819D (53,1%) y I1948I (3,1%). También se detectaron variaciones nucleotídicas con cambio de aminoácido: A60P (3,1%), H558R (53,1%) y S1103Y (6,25%) y una variación intrónica G3518+10c > t (3,1%). Todos los polimorfismos encontrados se han descrito en diferentes poblaciones. Este estudio describe por primera vez un mapa de polimorfismos asociados al canal SCN5A relacionado con SB y el QTL-3 en población sana de nuestro país.

Estudio financiado por la Fundación BBVA.

15. EFECTO DE PÉPTIDOS DERIVADOS DE PROTEÍNAS ALIMENTARIAS EN LA EXPRESIÓN DE COX-2 INDUCIDA POR ANGIOTENSINA II EN FIBROBLASTOS VASCULARES

M. Garcés Rimón¹, M.D. Quiñones¹, M. Galán², R. López-Fandiño¹, M. Salaices² y M. Miguel¹

¹Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), Madrid. ²Departamento de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Medicina, UAM, Madrid.

Propósito del estudio: La capa adventicia, compuesta principalmente de fibroblastos (FB), desempeña un papel crítico en la regulación de la función y la estructura vascular. Esta capa vascular constituye la principal fuente de aniones superóxido del vaso, e interviene en el remodelado vascular, en la diferenciación y en la proliferación celular. Además, a este nivel se expresa de forma importante la ciclooxigenasa-2 (COX-2), cuya expresión está inducida por angiotensina II (Ang II), que podría intervenir en la producción de prostanoïdes que participan en el proceso inflamatorio asociado a patologías cardiovasculares como la hipertensión o la aterosclerosis. Los péptidos bioactivos son secuencias de aminoácidos inactivas dentro de las proteínas precursoras que pueden alcanzar propiedades biológicas beneficiosas para la salud cuando se liberan de la proteína original mediante hidrólisis enzimática. En trabajos previos hemos demostrado las propiedades antihipertensivas de algunos de estos péptidos (Miguel et al. J Food Protect, 2004;67:1914-20; Miguel et al. J Agric Food Chem 2006;54:726-31; Miguel et al. J Agric Food Chem 2007;55:10615-21). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de varios péptidos antihipertensivos derivados de proteínas alimentarias sobre la expresión de COX-2 en fibroblastos adventiciales estimulados con Ang II.

Métodos: Se aislaron FB de la adventicia de la aorta de ratas Sprague-Dawley. Los FB en cultivo se preincubaron con diferentes péptidos (FRADHPFL, RADHPFL, RADHPF, RADHP, YAEERYPIL, IVF, IPP, VPP, ESIINF, YPI, RDILNQ, YRGGLEPINF; 100 µM), 1 h antes de la incubación de las células con Ang II (0,1 mM) durante 4 h. La expresi-

ón de COX-1 y COX-2 se determinó mediante Western blot. Para determinar si el efecto de esos péptidos era debido a cambios a nivel transcripcional, realizamos experimentos de transfección transitoria en FB con el promotor proximal de COX-2 acoplado a un gen reportero y cuantificamos la actividad luciferasa y la actividad B-galactosidasa.

Resultados: El tratamiento con Ang II incrementó la expresión de COX-2 en FB adventiciales. La expresión de COX-2 inducida por Ang II se redujo en presencia de las secuencias VPP, RDILNQ e YRGGLEPINF. Ninguno de los péptidos estudiados modificó la expresión de COX-1. En las células transfectadas incubadas con Ang II la actividad luciferasa aumentó significativamente respecto al control, sin embargo, cuando las células transfectadas se incubaron con las secuencias RDILNQ e YRGGLEPINF, la actividad luciferasa se redujo prácticamente a los niveles basales.

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que las propiedades inhibitorias de la expresión de COX-2 inducida por Ang II observadas en las secuencias RDILNQ e YRGGLEPINF, podrían estar involucradas en su capacidad para disminuir la presión arterial.

Financiado por MICINN (SAF 2009-07201), Consolider Ingenio 2010 (CSD-2007-00063), CYTED 110AC0386, y ISCIII (Red RECAVA, RD06/0014/0011). Marta Miguel es beneficiaria de un contrato Ramón y Cajal del MICINN.

16. ACTIVACIÓN DE LA NADPH OXIDASA FAGOCÍTICA EN LA CARDIOPATÍA HIPERTENSIVA: PAPEL DE LA CARDIOTROFINA-1

M. Moreno Zulategui¹, G. San José Enériz¹, J. Miguel Carrasco¹, A. Baltanás Bordonaba¹, P. García-Berbel Molina¹, O. Belouqui Ruiz², A. Fortuño Gil¹, J. Díez Martínez¹ y G. Zalba Goñi¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra, Pamplona. ²Departamento de Medicina Interna, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona.

Propósito del estudio: Diversos estudios demuestran que el estrés oxidativo se encuentra implicado en la patogénesis de la cardiopatía hipertensiva. El objetivo del trabajo es examinar si la activación de la NADPH oxidasa en las células fagocíticas se relaciona con la cardiopatía hipertensiva. Hemos analizado si la cardiotrofina-1 (CT-1), una citoquina implicada en el desarrollo de la hipertrofia del ventrículo izquierdo (HVI), es capaz de activar al sistema NADPH oxidasa de las células fagocíticas.

Métodos: El estudio se realizó en 12 individuos normotensos, 42 pacientes hipertensos sin alteraciones cardíacas y 81 pacientes hipertensos con alteraciones cardíacas (HVI). La HVI se determinó por ecocardiografía bidimensional. Los niveles de CT-1 y de interleuquina-6 (IL-6) se determinaron en suero con ELISAs comerciales. La actividad NADPH oxidasa se determinó por luminometría en células fagocíticas mononucleadas. Para corroborar los resultados in vivo, realizamos experimentos in vitro en células sanguíneas mononucleadas.

Resultados: La actividad NADPH oxidasa fagocítica y los niveles séricos de CT-1 están aumentados en pacientes hipertensos con HVI, comparados con pacientes hipertensos sin HVI y sujetos normotensos. La actividad NADPH oxidasa fagocítica correlaciona positivamente con el índice de masa del ventrículo izquierdo y con los niveles séricos de CT-1, tras corregir por edad y sexo. Los experimentos in vitro muestran que la CT-1 estimula la actividad NADPH oxidasa en células fagocíticas y que esta activación se asocia con un fenotipo secretor de las mismas, que incluye la liberación de IL-6 y metaloproteínasa de matriz-9. En nuestra población, los niveles séricos de IL-6 están aumentados en pacientes hipertensos con HVI, comparados con pacientes hipertensos sin HVI y sujetos normotensos, y correlacionan positivamente con la actividad NADPH oxidasa fagocítica.

Conclusiones: La hiperactividad de la NADPH oxidasa fagocítica se asocia con la cardiopatía hipertensiva. Nuestros datos apoyan un papel relevante de la CT-1 como un factor nuevo capaz de activar la NADPH oxidasa en células fagocíticas y modular el fenotipo secretor de las mismas, favoreciendo el establecimiento de un ambiente pro-oxidante y pro-inflamatorio a nivel sistémico, que puede contribuir al desarrollo de la cardiopatía hipertensiva.

17. P144, UN PÉPTIDO DERIVADO DEL RECEPTOR TIPO III DEL TGF-B1, INHIBE LA ACTIVIDAD NADPH OXIDASA EN EL CORAZÓN DE LAS RATAS HIPERTENSAS

J. Miguel-Carrasco, A. Baltanás, C. Cebrián, M. Moreno, B. López, N. Hermida, J. Díez, G. Zalba y A. Fortuño

Centro de Investigación Médica Aplicada, Pamplona.

Propósito del estudio: La NADPH oxidasa es una de las principales fuentes de anión superóxido en el contexto de las enfermedades cardiovasculares. Estudios recientes han puesto de manifiesto la relación existente entre este sistema enzimático y el TGF-B1 (citoquina que parece jugar un papel determinante en el desarrollo de la fibrosis miocárdica). Recientemente, hemos descrito que P144, un péptido sintético del receptor tipo III betaglicano del TGF-B1, previene la fibrosis miocárdica en la rata espontáneamente hipertensa (SHR). El objetivo principal de este estudio fue analizar si la administración crónica del P144, modifica la actividad NADPH oxidasa en el corazón de ratas 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. Además, el efecto de P144 sobre la actividad NADPH oxidasa estimulada por TGF-B1 se estudió en la línea celular de fibroblastos rat-2.

Resultados: En el corazón de las ratas SHR se observó un aumento significativo de la actividad NADPH oxidasa, de la expresión de las isoformas NOX2 y NOX4 y de nitrorosina (un marcador del estrés oxidativo), así como de colágeno, TGF-B1, fibronectina y biglicano. La administración de P144 se asoció con una reducción significativa de todos estos parámetros. Además, la actividad NADPH oxidasa correlacionó positivamente con la expresión de colágeno. En los estudios in vitro, observamos que la actividad NADPH oxidasa aumentaba en los fibroblastos estimulados con TGF-B1; no existían diferencias significativas entre los fibroblastos estimulados con TGF-B1 en presencia de P144 y los fibroblastos controles.

Conclusiones: Estos datos sugieren que el P144 puede inhibir el estrés oxidativo generado por la NADPH oxidasa en el corazón de la rata hipertensa. Estos efectos pueden estar implicados en las propiedades antifibróticas de este péptido.

18. FACTORES IMPLICADOS EN EL REMODELADO DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO Y DERECHO EN RATAS CON INSUFICIENCIA CARDÍACA TRAS INFARTO DE MIOCARDIO

M. Valero Muñoz¹, B. Martín Fernández¹, R. Ribeiro², C. Rodríguez Sinovas³, M. Miana¹, J. Martínez González², D. Vassalo², V. Lahera¹, V. Cachofeiro¹ e I. Stefanon²

¹Universidad Complutense, Madrid. ²Universidade Federal do Espírito Santo, Vitoria (Brasil). ³Instituto de Investigación Cardiovascular, CSIC/ICCC, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Introducción y objetivos: El remodelado post-infarto de la matriz extracelular (MEX) es un proceso crítico que participa en el desarrollo de insuficiencia cardíaca (IC). Sin embargo, los factores

implicados y los cambios específicos que ocurren durante la evolución de la IC no están claramente definidos. El objetivo de nuestro estudio fue explorar si el desarrollo de IC en ratas con infarto de miocardio (IM) está asociado a cambios en los factores relacionados con la modulación de la MEX en ambos ventrículos.

Material y métodos: Se ligó la arteria coronaria izquierda en ratas macho Wistar de 250 g de peso. Tras un mes de evolución se evaluó la hemodinámica cardíaca en el ventrículo izquierdo (VI) y derecho (VD) y la expresión génica factores profibróticos mediante PCR a tiempo real. Asimismo, se valoró el contenido de colágeno en secciones de tejido teñidas con rojo Sirio mediante técnicas de microscopía óptica.

Resultados: El 35% de los animales con IM desarrolló IC, a pesar de que el tamaño del infarto fue similar ($29,1 \pm 0,9\%$ vs $27,35 \pm 1,8\%$). Las ratas con IC presentaron un mayor tamaño del VD y los pulmones ($p < 0,001$), así como un incremento de la presión diastólica en ambos ventrículos. La presión sistólica del VI fue superior en las ratas con IC con respecto a las control ($43 \pm 4,7$ vs $31 \pm 1,4$ mmHg, $p < 0,01$). Las ratas con IC presentaron mayor $dP/dp+$ y $dP/dp-$ en VD y menor $dP/dt+$ y $dP/dt-$ en el VI con respecto a los grupos ISI (infarto sin insuficiencia) y control, que no mostraron diferencias significativas entre ellos. El contenido de colágeno en el VD se vio incrementado en todos los animales infartados, mientras que en el VI solo aumentó en los animales con IC. Con respecto a la expresión génica, en el VI los niveles de colágeno I, factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), factor de crecimiento transformante- β (TGF β) y lisil oxidasa (LOX) se vieron incrementados ($p < 0,05$), sin producirse cambios en la relación MMP2/TIMP2 (metaloproteínasa 2/inhibidor tisular de metaloproteínasa 2). El patrón de expresión en el VD se caracterizó por una disminución de los niveles de colágeno I, así como del índice MMP2/TIMP2, en todos los animales infartados, independientemente de la presencia de IC. Los niveles de CTGF y LOX aumentaron de forma significativa en los animales con IC respecto a los controles ($p < 0,05$).

Conclusiones: En ratas con IC post-IM, el contenido de colágeno y el patrón de expresión de los factores implicados en el remodelado de la MEX difiere significativamente entre VD y VI. En el VI el desarrollo de IC se asocia a un mayor contenido en colágeno debido fundamentalmente a un aumento de los factores implicados en la producción y maduración de la MEX, sin que se alteren los implicados en su degradación. Sin embargo, en VD, el IM está asociado a una elevación de los niveles de colágeno que parecen ser debidos a una disminución de su degradación.

19. EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE UN NUEVO EXTRACTO OBTENIDO DE LA CORTEZA DE GRANADA EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS

S. Fernández Vallinas¹, M. Quiñones Tellez¹, N. López Carreras¹, M. Miguel Castro², J. Flanagan³ y A. Aleixandre de Artiñano¹

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid. ²Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), Madrid. ³Naturex Spain, S.L., Valencia.

Propósito del estudio: La hipertensión representa un importante problema en nuestra sociedad por su alta prevalencia y su papel como factor de riesgo cardiovascular. Se ha demostrado que el zumo de la granada presenta actividad antihipertensiva en ratas (Mohan et al., *Phytother Res* 2010;24:S196-S203) y en humanos (Aviram and Dornfeld, *Atherosclerosis* 2001;158:195-8). En el presente trabajo se investigan los efectos antihipertensivos de un nuevo extracto obtenido a partir de la cáscara de la granada.

Métodos: Se estudió el efecto de diferentes dosis (100, 150, 200 y 250 mg/kg) del extracto mencionado en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) macho de 17-20 semanas de vida. Se utilizó agua

como control negativo y 50 mg/kg de captopril como control positivo. Todos los productos se administraron por vía intragástrica a las ratas, y se midió la presión arterial sistólica (PAS) por el método del manguito en la cola (Buñag. *J Appl Physiol* 1973;34:279-82), antes de la administración, y también 2, 4, 6, 8, 24 y 48 horas después de la misma. Se utilizaron 9 animales en cada grupo y los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de dos vías seguido del test de Bonferroni.

Resultados: No hubo diferencias significativas entre los descensos de la PAS producidos por 150 y 200 mg/kg del extracto estudiado y los producidos por captopril. Estas dosis del extracto produjeron descensos más acusados que la dosis de 100 mg/kg. En el grupo tratado con captopril los descensos máximos de las PAS se obtuvieron 6 horas después de la administración del fármaco, pero en los grupos tratados con 150 o 200 mg/kg del extracto de la cáscara de granada los descensos máximos se obtuvieron 8 horas después de la administración. Paradójicamente, cuando se administraron 250 mg/kg del extracto de granada los descensos de la PAS fueron menores que los obtenidos con 150 y 200 mg/kg de este compuesto. Los valores de la PAS recuperaron los niveles basales después de 48 horas de haber administrado todos los productos.

Conclusiones: Los resultados anteriores demuestran que el nuevo extracto de granada estudiado presenta efecto antihipertensivo en ratas SHR. Nuestros datos sugieren que este extracto podría utilizarse como ingrediente funcional para la prevención y/o el tratamiento de la hipertensión arterial.

Financiado por el Proyecto CENIT "SENI FOOD" del CDTI (Proyecto UCM 112/2008). Marta Miguel es beneficiaria de un contrato Ramón y Cajal del MICINN.

20. LA HIPERGLUCEMIA EN LOS RATONES DIABÉTICOS NO OBESOS (NOD) SE ASOCIA A UN AUMENTO DE LA ACTIVIDAD SÉRICA DE LA ENZIMA DE CONVERSIÓN DE LA ANGIOTENSINA Y DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA

M. Riera Oliva, E. Márquez Mosquera, J. Rigol Giner, J. Pascual Santos y M.J. Soler Romeo

Parc de Salut Mar, Fundación IMIM, Barcelona.

Introducción: Estudios previos han demostrado una activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA) en la nefropatía diabética. Sin embargo dicho sistema no ha sido previamente estudiado en el ratón diabético NOD (Non-Obese Diabetic), modelo que desarrolla una diabetes autoinmune similar a la diabetes tipo 1 en humanos.

Objetivos: 1) Determinar la presión arterial sistólica, el cociente albúmina/creatinina en orina, la actividad sérica de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) y la expresión glomerular de la ECA en ratones diabéticos NOD en comparación con ratones resistentes a la diabetes NOR (Non-Obese Resistant). 2) Determinar si existe correlación entre los parámetros estudiados.

Material y métodos: Se utilizaron ratones diabéticos hembras NOD que se sacrificaron a los 21 días del desarrollo de la diabetes. Como grupo control utilizamos ratones hembras NOR emparejados por edad. La medición de la presión arterial se realizó mediante la técnica del manguito en la cola tras entrenamiento de los animales.

Resultados: Los ratones diabéticos NOD presentaron un aumento de las siguientes variables en comparación con los ratones control NOR ($p < 0,05$): glicemia sanguínea ($567,1 \pm 22,6$ mg/dL vs $112 \pm 4,9$), presión arterial sistólica ($133 \pm 4,81$ mmHg vs $101,9 \pm 3$) y cociente albúmina/creatinina en orina ($91,38$ µg/mg $\pm 27,12$ vs $8,56 \pm 3,04$). La actividad enzimática de la ECA en suero estaba aumentada en los ratones diabéticos NOD en comparación con los controles NOR ($335,2 \pm 10,8$ vs $262,3 \pm 4,8$ RFU/µg substrato/µL suero, $p < 0,05$). Del mismo modo, mediante inmunohistoquímica

se observó un aumento de la expresión de la ECA a nivel glomerular en los ratones diabéticos NOD en comparación con los controles NOR ($24,6\% \pm 6,02$ vs $6,36 \pm 2,26$, $p < 0,05$). Se observó una correlación directa de la actividad sérica de la ECA con la presión arterial sistólica ($r = 0,5$, $p = 0,027$), la glucemia sanguínea ($r = 0,8$, $p < 0,001$), el cociente albúmina/creatinina en orina ($r = 0,6$, $p < 0,015$) y la expresión glomerular de la ECA ($r = 0,8$, $p < 0,010$).

Conclusiones: En el ratón diabético NOD se observa un aumento de la presión arterial y del cociente albúmina/creatinina en orina que podrían ser secundarias a una hiperactividad del sistema renina-angiotensina tanto a nivel sistémico como intrarrenal. La hiperglicemia observada en dicho modelo podría causar un aumento de la formación de angiotensina II secundaria al exceso de ECA, con las consiguientes alteraciones vasculares y hemodinámicas.

21. PAPEL DE LAS CÉLULAS MONONUCLEADAS EN EL SÍNDROME DE RESISTENCIA A ASPIRINA EN PACIENTES CON CARDIOPATÍA ISQUÉMICA ESTABLECIDA

P. Rodríguez Sierra, J. Modrego Martín,

P. Jiménez Mateos-Cáceres, C. Macaya Miguel y A.J. López Farré

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Introducción: La resistencia a aspirina describe el fracaso de este fármaco en inhibir la actividad plaquetaria. A pesar de la conocida importancia que tiene la interrelación de las plaquetas con las células mononucleares para conseguir el efecto antiplaquetario de la aspirina no existen estudios que analicen el papel de estas células sobre el mecanismo de resistencia a la aspirina.

Material y métodos: En el presente estudio se obtuvieron células mononucleadas de un total de 40 pacientes con enfermedad coronaria establecida resistentes ($n = 20$) o sensibles ($n = 20$) a la aspirina sometidos a un tratamiento de 100 mg/día de aspirina para analizar mediante proteómica el papel de estas células, en cuanto a las proteínas que liberan al medio y que pueden actuar sobre las plaquetas, sobre el síndrome de resistencia a aspirina. La resistencia a aspirina se determinó mediante el test de funcionalidad plaquetaria PFA-100. Un total de 5 millones de células mononucleadas fueron incubadas durante 1 hora a temperatura ambiente en medio RPMI. Una vez transcurrido el periodo de incubación se recogió el medio de incubación para analizar las proteínas liberadas por las células mononucleares (secretoma) de ambos tipos de pacientes. Analizamos un total de 250 mg de proteína total presente en el secretoma. El estudio del secretoma se llevó a cabo en tiras IPG en un rango amplio de pH 3-10 y geles 10% SDS PAGE. Las proteínas se visualizaron mediante tinción con plata y la identificación de proteínas se realizó mediante espectrometría de masas.

Resultados: Observamos una reducción significativa en el contenido del precursor sérico de albúmina en el secretoma de los pacientes cuyas plaquetas eran no respondedoras al tratamiento con aspirina. De forma similar, observamos una reducción significativa de dos isoformas de pericentrina y una proteína denominada #15 en el secretoma de los pacientes no respondedores a aspirina. Observamos un aumento significativo del componente 3 del complejo de exocitosis y de la proteína #5 en el secretoma de los pacientes no respondedores a aspirina. No se observaron cambios en el nivel de 6 isoformas de haptoglobina, 7 isoformas $\alpha 1$ -antitripsina, 3 isoformas de la proteína de unión a vitamina D, 3 isoforma de cadena gamma de fibrinógeno, 3 isoforma de cadena beta de fibrinógeno, apolipoproteína AI y adenilato kinasa entre el secretoma de las células mononucleares de los pacientes sensibles frente a los pacientes resistentes a la aspirina.

Conclusiones: Existen muy pocos cambios en el secretoma de las células mononucleares de los pacientes cuyas plaquetas son resistentes a la acción antiplaquetaria de la aspirina sugiriendo así una menor importancia o implicación de estas células en este síndrome.

22. MODIFICACIONES EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS PLAQUETARIAS DURANTE UN SÍNDROME CORONARIO AGUDO

P. Jiménez Mateos-Cáceres, J.J. Zamorano León, J. Modrego Martín, P. Rodríguez Sierra, C. Macaya Miguel y A.J. López Farré

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Los síndromes coronarios agudos están claramente asociados con una mayor activación plaquetaria. El objetivo principal del presente estudio fue analizar mediante proteómica los posibles cambios en el nivel de expresión proteica de plaquetas obtenidas durante la fase aguda de un síndrome coronario. Mediante electroforesis bidimensional se analizó el proteoma plaquetario de un total de 37 pacientes con enfermedad coronaria. Los pacientes fueron divididos en dos grupos: pacientes cuyas plaquetas fueron obtenidas durante la fase aguda del síndrome coronario agudo (durante las primeras 24 horas desde el inicio de los síntomas) ($n = 14$) y pacientes con enfermedad coronaria establecida ($n = 23$) que acudían a la consulta de cardiología de nuestro servicio. El proteoma plaquetario se llevó a cabo en tiras IPG en un rango amplio de $pH = 3-10$. Las proteínas se visualizaron mediante tinción con plata y la identificación se realizó mediante comparación con la base de datos OPG.WWW y análisis mediante espectrometría de masas. Inicialmente nos hemos centrado en el estudio de proteínas relacionadas con las principales funciones celulares como son el citoesqueleto o aparato contráctil, metabolismo y estrés oxidativo. La expresión de proteínas relacionadas con el citoesqueleto plaquetario como la F-actina capping protein, β -tubulina, isoforma 1 de la α -tubulina y la vimentina estaban reducidas de forma significativa en las plaquetas obtenidas durante la fase aguda del síndrome coronario. De forma similar, la expresión de proteínas relacionadas con la glicólisis y el sistema antioxidante celular como la gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa, tres isoformas de la piruvato kinasa, tres isoformas de catalasa y la superóxido dismutasa estaban reducidas de forma significativas en las plaquetas obtenidas durante la fase aguda del evento coronario. Además, también observamos una reducción significativa en la expresión de proteínas asociadas con la supervivencia celular tales como la HSP71 y la subunidad β tipo 1 del proteosoma en los mismos pacientes. Como conclusión, las plaquetas obtenidas durante la fase aguda de un evento coronario muestran una menor expresión de proteínas relacionadas fundamentalmente con el citoesqueleto celular, glicólisis y sistema antioxidante, sugiriendo así la posible existencia de plaquetas circulantes con propiedades proteicas diferentes y por lo tanto “disfuncionantes” durante la fase aguda de un síndrome coronario agudo.

23. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON VARDENAFILO SOBRE EL PROTEOMA PLASMÁTICO DE PACIENTES CON DISFUNCIÓN ERÉCTIL Y DIABETES MELLITUS

P. Rodríguez Sierra¹, P. Jiménez Mateos-Cáceres¹, C. Olivier², L. San José¹, L. Calatrava Ladredo¹, C. Macaya Miguel¹ y A.J. López Farré¹

¹Hospital Clínico San Carlos, Madrid. ²Hospital de la Princesa, Madrid.

Es bien conocido que la disfunción eréctil (DE) es el primer síntoma de la disfunción endotelial y está estrechamente relacionada con la aterosclerosis y asociada a factores de riesgo tales como la diabetes mellitus (DM), que se caracteriza por un avanzado estado inflamatorio. El vardenafilo es uno de los inhibidores de la fosfodiesterasa-5 más efectivo conocido en pacientes con DE y DM aunque aún es incierto su efecto sobre la inflamación sistémica. Nos marcamos como objetivo determinar en el proteoma plasmático de pacientes diabéticos con DE el efecto de la administración de

vardenafilo en el nivel de expresión de proteínas relacionadas con el estado inflamatorio. 17 pacientes con DE (IIEF-EF $8,9 \pm 0,7$) y DM fueron incluidos en el estudio y se les administró 20 mg de vardenafilo una o dos veces por semana durante 12 semanas. El plasma obtenido de cada paciente fue analizado mediante electroforesis bidimensional y espectrometría de masas. Tras la administración del vardenafilo, el índice IIEF-EF fue mejorado significativamente ($18,3 \pm 2,0$ $p < 0,05$). El nivel de expresión de la isoforma 3 del fibrinógeno-g estaba significativamente reducida después del tratamiento con vardenafilo y era acompañado por una reducción de los niveles plasmáticos del fragmento-D del fibrinógeno. Además tres isoformas de haptoglobinas y dos isoformas de α -antitripsina, dos importantes proteínas relacionadas con la inflamación, estaban significativamente reducidas tras el tratamiento con vardenafilo. No encontramos diferencias en la expresión de las cinco isoformas de apolipoproteína-AI y apolipoproteína-AIV después del tratamiento. El tratamiento con vardenafilo reduce significativamente los niveles circulantes de diferentes biomarcadores principalmente aquellos relacionados con la inflamación. Esto sugiere un efecto anti-inflamatorio sistémico del vardenafilo en pacientes diabéticos con DE.

24. CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES CIRCULANTES Y ARTERIOSCLEROSIS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)

A. Ortega Hernández, D. Gómez Garre, P. Muñoz-Pacheco, M. Ávila, A. Barbero, S. Serrano Villar, V. Estrada Pérez y A. Fernández-Cruz Pérez

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Durante los últimos años ha aumentado la preocupación por el mayor riesgo que presentan los pacientes VIH de padecer enfermedad cardiovascular en comparación con la población general. Junto al efecto proaterogénico directo del VIH y el indirecto causado por el tratamiento antirretroviral que incide sobre el perfil metabólico y la redistribución grasa, juegan también un papel muy importante en estos pacientes los factores de riesgo tradicionales como el tabaquismo, hipertensión, diabetes, edad y sexo masculino. La disfunción endotelial se considera en la actualidad una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y la arteriosclerosis y se ha demostrado que se asocia con los principales factores de riesgo cardiovascular. Tradicionalmente se ha pensado que el endotelio dañado o inexistente provenía de la replicación de células endoteliales adyacentes. Sin embargo, cada día cobra mayor relevancia la idea del papel fundamental de las células progenitoras endoteliales circulantes (EPCs), provenientes de la médula ósea, en la regeneración/formación del endotelio vascular. Se ha demostrado que el número de EPCs aumenta significativamente en pacientes con disfunción endotelial, daño vascular e infarto agudo de miocardio, asumiéndose que el número y la funcionalidad de estas células podrían reflejar la capacidad endógena de reparación del vaso. Por ello, nuestro objetivo ha sido estudiar si existía un aumento de la movilización de las EPCs en pacientes con VIH. Para ello, hemos analizado en 267 pacientes con VIH, mediante citometría de flujo, los niveles de EPCs (medidas como células CD34+/KDR+, CD34+/CD144+ o CD14+/CD105+), y hemos cuantificado los niveles plasmáticos de CD40L, mediante un ELISA específico. El grosor íntima-media carotídeo se midió mediante ecografía en modo B como marcador subrogado de arteriosclerosis. Como controles hemos estudiado 119 sujetos sin infección por VIH. Los pacientes con VIH tenían una edad media de 46 ± 11 años, el 74% eran varones, el 73% tenían carga viral indetectable y el 90% se encontraban en tratamiento. En comparación con los sujetos sin VIH (55 ± 16 años, 72% varones), en la población con VIH hubo mayor incidencia de

tabaquismo (46,0 vs 5,7%, $p > 0,05$), y dislipemia (78,6 vs 48,1%, $p > 0,05$), y menor de diabetes (9,0 vs 17,5%, $p > 0,05$), hipertensión arterial (15,7 vs 61,4%, $p > 0,05$) y obesidad (2,9 vs 24,9%, $p > 0,05$). Una vez ajustada la población por estos factores, los pacientes con VIH mostraron mayor número de células CD34+/KDR+ ($1,38 \pm 0,16$ vs $0,41 \pm 0,11$ cél. positivas, $p < 0,01$), CD34+/CD144+ ($0,72 \pm 0,07$ vs $0,30 \pm 0,04$ cél. positivas, $p < 0,01$), CD14+/CD105+ ($8,30 \pm 0,46$ vs $7,05 \pm 0,96$ cél. positivas, $p < 0,01$) que los pacientes controles. La concentración plasmática de sCD40L también fue significativamente mayor en los pacientes con VIH. En los pacientes con VIH, los niveles de células CD34+/CD144+ se correlacionaron negativamente con el grosor íntima-media carotídeo ($r = -0,158$, $p < 0,05$), aunque no los de células CD34+/KDR+ o CD14+/CD105+. En resumen, nuestros resultados demuestran que los niveles plasmáticos de EPCs son mayores en pacientes con VIH y se correlacionan positivamente con un estado de inflamación y negativamente con el grosor íntima-media. Aunque son necesarios más estudios, es posible que estas células puedan servir como marcadores de riesgo cardiovascular, así como una posible línea de abordaje terapéutico en pacientes con VIH.

25. LA HIPOXIA INDUCE LA LISIL OXIDASA EN CÉLULAS ENDOTELIALES A TRAVÉS DE LA GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

M. Orriols¹, A. Guadall¹, J. Alcudia¹, V. Cachafeiro², J. Martínez-González¹ y C. Rodríguez¹

¹Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ²Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid.

Introducción: La hipoxia desencadena una respuesta adaptativa en células endoteliales que conlleva la regulación coordinada de múltiples genes, incluidos aquellos que participan en el remodelado de la matriz extracelular. En células endoteliales la hipoxia incrementa la expresión de la lisil oxidasa (LOX), un enzima clave en el ensamblaje de la matriz extracelular, que juega un papel relevante en el mantenimiento de la homeostasis vascular.

Objetivos: Establecer el mecanismo molecular responsable de la inducción de la expresión de LOX por 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 (mRNA y/o proteína) se analizó mediante PCR a tiempo real, Western blot e inmunocitoquímica. La actividad enzimática de LOX se analizó mediante un método fluorimétrico de alta sensibilidad y la actividad transcripcional de LOX mediante estudios de transfección transitoria.

Resultados: La hipoxia incrementó el nivel de mRNA de LOX tanto en BAEC como en HUVEC y produjo un aumento de la actividad enzimática LOX en estas células. Este efecto fue independiente de la inducción de la secreción de VEGF o de otros factores autocrinos causada por la hipoxia en células endoteliales. Los análisis realizados en presencia de un inhibidor de la transcripción y los estudios de transfección transitoria demostraron la implicación de un mecanismo transcripcional en esta respuesta. La inhibición de mTOR mediante rapamicina o la reducción del nivel de proteína del factor inducido por hipoxia HIF-1 α mediante un siRNA específico tan solo disminuyeron ligeramente la inducción de LOX por hipoxia, sugiriendo que HIF-1 α sería solo parcialmente responsable de este efecto. De hecho, estudios de delecciones seriadas del promotor y de mutagénesis dirigida indican que el elemento de respuesta a hipoxia (HRE) previamente descrito, localizado a -75 pb, tendría una contribución limitada. Las proteínas Smad participan en la respuesta desencadenada por la hipoxia en células endoteliales y en este sentido, cabe destacar, que la

sobreexpresión de estos factores (Smad 1, 2 y 4) potenció la inducción de la actividad transcripcional de LOX ejercida por la hipoxia en células endoteliales. Además, el incremento en la expresión de LOX desencadenado por la hipoxia se redujo significativamente en presencia de inhibidores de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que las vías de señalización de Smad y ROS están implicadas en la inducción de LOX por hipoxia en células endoteliales.

26. CCL20: NUEVA QUIMIOCINA SENSIBLE A LDL QUE SE EXPRESA EN LESIONES ATROSCLERÓTICAS HUMANAS Y MODULA LA MIGRACIÓN LINFOCITARIA

R. Rodríguez Calvo¹, O. Calvayrac¹, J. Alonso¹, J. Orbe², O. Juan Babot¹, O. Belouqui², J.A. Páramo², C. Rodríguez¹ y J. Martínez González¹

¹Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ²Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Clínica Universitaria de Navarra, Universidad de Navarra, Pamplona.

Introducción: Múltiples estudios experimentales, epidemiológicos y clínicos han destacado el papel de las LDL en la respuesta inflamatoria crónica asociada a la aterogénesis. Además, en los últimos años se ha implicado de forma creciente a la respuesta inmune innata y adaptativa en la aterosclerosis, y se ha resaltado el papel de las LDL en la respuesta de los linfocitos T. Sin embargo, no se han identificado las moléculas específicas que controlan la infiltración de las células de la respuesta inmune en las lesiones ateroescleróticas.

Objetivos: Estudiar el papel de CCL20, quimioquina implicada en la modulación de la respuesta inmune, en la actividad migratoria de linfocitos inducida por LDL y analizar su relevancia in vitro e in vivo.

Métodos: Se utilizaron células musculares lisas vasculares (CMLV) de arterias coronarias humanas obtenidas por la técnica de explantes, y linfocitos humanos aislados de buffy coats. Las LDL fueron preparadas a partir de plasma humano. La expresión de CCL20 y de su receptor CCR6 se determinó mediante PCR en tiempo real. Los niveles de proteína CCL20 se analizaron mediante EIA. La migración de linfocitos se evaluó utilizando Transwells. La expresión de CCL20 se bloqueó con siRNA específicos y el sistema de transfección Nucleofector. La actividad biológica de CCL20 se inhibió con anticuerpos bloqueantes. Se realizaron estudios de inmunohistoquímica para caracterizar la presencia de CCL20 en lesiones arterioscleróticas humanas, y se analizó el nivel de activación transcripcional de CCL20 en estas lesiones mediante ensayo de retardo en gel (EMSA) utilizando el elemento de respuesta a NF-kappaB presente en el promotor de CCL20. Se determinaron los niveles circulantes de CCL20 en una cohorte de pacientes con aterosclerosis subclínica seleccionados en base a sus niveles de colesterol total (50 controles vs 50 pacientes hipercolesterolemicos [colesterol total > 240 mg/dL]).

Resultados: Las LDL inducen la expresión de CCL20 en CMLV así como su liberación al medio de cultivo. La CCL20 secretada por las CMLV en respuesta a las LDL promueve la migración de linfocitos humanos; de hecho, al inhibir su expresión con siRNA o bloquear su actividad con anticuerpos, se redujo significativamente la migración linfocitaria. Tanto la expresión de CCL20 como la de su receptor (CCR6) están incrementadas en las lesiones ateroescleróticas de pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) respecto a arterias sin lesión. Mediante EMSA observamos que la actividad transcripcional de CCL20 mediada por NF-kappaB también está aumentada en lesiones ateroescleróticas. Los estudios de inmunohistoquímica detectaron CCL20 en áreas de mayor actividad

de NF-kappaB colocalizando con CMLV, monocitos/macrófagos y células endoteliales. Finalmente, los niveles circulantes de CCL20 están incrementados en pacientes hipercolesterolémicos con aterosclerosis subclínica y mayor riesgo cardiovascular (determinado según escala PROCAM).

Conclusiones: Se demuestra por primera vez que la modulación por LDL de CCL20 en las CMLV humanas puede ser funcionalmente relevante en la regulación de la migración de las células implicadas en la respuesta inmune. El aumento en la expresión de esta quimioquina en lesiones ateroscleróticas de pacientes con EAC y su asociación con la hipercolesterolemia permiten postular a CCL20 como un nuevo biomarcador de riesgo cardiovascular.

27. PAPEL DEL RECEPTOR DE TGF- β ALK-1 EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

M. González Núñez, F. Pérez Barriocanal y J.M. López Novoa

Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Salamanca, Salamanca.

Activin receptor-like kinase (ALK-1) es un receptor serina/treonina quinasa tipo I de TGF- β , expresado predominantemente en células endoteliales. Una mutación en el gen que codifica para esta proteína es responsable de la alteración vascular conocida como telangiectasia hemorrágica hereditaria tipo 2, que es una displasia vascular asociada con frecuentes epistaxis, sangrados gastrointestinales, telangiectasias y malformaciones arteriovenosas en cerebro, pulmón e hígado. También está relacionada con alteraciones en la angiogénesis. Ya que TGF- β está implicado en la regulación de la presión arterial, nuestro objetivo es determinar el papel de ALK-1 en la regulación de la función vascular que se produce en animales haploinsuficientes. Para ello se han estudiado ratones haploinsuficientes para ALK-1 (alk-1^{+/-}), ya que los KO de ALK-1 son inviables (Oh et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2000;97:2626-31). A través de un equipo de telemetría y usando transmisores implantables de presión arterial, hemos medido presión arterial sistólica, diastólica, media y frecuencia cardíaca, en animales despiertos y andando con total libertad. Hemos observado que los ratones alk-1^{+/-} tienen una presión sistólica, diastólica y media significativamente mayor que los controles alk-1^{+/+}, habiendo diferencias también en cuanto a la frecuencia cardíaca. La administración de acetilcolina y nitroprusiato sódico produjo una disminución de la presión arterial similar en los dos grupos de ratones, con una recuperación también similar. Asimismo, la administración de L-NAME en ambos grupos dio lugar a un aumento de presión, no habiendo diferencias significativas entre los dos grupos. Estos resultados sugieren que esta diferencia de presión no es debida a una disminución de la actividad vasodilatadora mediada por óxido nítrico, por lo que el problema debe radicar en la activación de sistemas vasoconstrictores. Por otro lado, la administración de angiotensina II produjo una respuesta hipertensora significativamente menor y más lenta en los ratones haploinsuficientes que en los controles. Esta diferencia desaparecía cuando los miembros inferiores del animal eran profundos "ex vivo". La administración de losartán indujo una respuesta era similar en ambos grupos de ratones mientras que administración del β -bloqueante atenolol, indujo un efecto hipotensor significativamente mayor en los ratones haploinsuficientes que en los controles, de modo que las presiones en ambos grupos se igualaban. También se observó una reducción mayor de la frecuencia cardíaca. Estos resultados se explican por la existencia de una mayor activación simpática en los ratones haploinsuficientes para ALK-1, de modo que esta activación produciría un aumento de la frecuencia cardíaca y de la liberación de renina y, por tanto, de Ang II circulante, que justificarían el aumento en la presión arterial basal y en la frecuencia cardíaca.

28. PAPEL DE LA RUTA Ca²⁺/CALCINEURINA/NFAT EN LA CONTRACTILIDAD VASCULAR

A.B. García Redondo¹, V. Esteban Vázquez², A.M. Briones Alonso¹, J.M. Redondo Moya² y M. Salas Sánchez¹

¹Universidad Autónoma de Madrid, Instituto de Investigación La Paz (IdiPaz), Madrid. ²Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid.

Introducción: La ruta de señalización Ca²⁺/calcineurina/NFAT regula la expresión de genes inflamatorios como COX-2, IL-2, TNF- α , INF- γ implicados en la hiperplasia del miocardio y de las células musculares lisas vasculares. Rcan1 es un gen cuya expresión es positivamente regulada por NFAT y que puede actuar como un inhibidor endógeno de la actividad de la calcineurina, pudiendo actuar por tanto, como un regulador negativo de la señalización de calcineurina/NFAT. angiotensina II (Ang II), importante mediador cardiovascular tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, puede inducir la ruta Ca²⁺/calcineurina/NFAT.

Objetivos: Analizar el papel de la ruta de señalización Ca²⁺/calcineurina/NFAT en las respuestas vasoconstrictoras a fenilefrina así como en la modulación de dichas respuestas inducida por Ang II.

Métodos: Se utilizó aorta de ratones deficientes Rcan1(-/-) y sus correspondientes ratones wild type (WT) para analizar las respuestas contráctiles así como para estudiar la expresión de proteínas mediante un miógrafo de alambres y western blot, respectivamente.

Resultados: Ang II (1 μ M) potenció la respuesta contráctil a fenilefrina solo en aorta de ratones WT. Esta potenciación fue dependiente de la ruta Ca²⁺/calcineurina/NFAT ya que fue disminuida por incubación de arterias con el inhibidor de calcineurina, ciclosporina A (CSA) (200 ng/ml). Además, esta potenciación fue dependiente de prostanoïdes derivados de COX-2, puesto que fue abolida por el inhibidor selectivo de la misma, etoricoxib (10 μ M). Ang II indujo un incremento en la expresión de COX-2 en aorta que fue prevenido por la incubación de la arteria con CSA. La aorta de los ratones Rcan1(-/-) presentó una potenciación de la contracción inducida por fenilefrina con respecto a los ratones WT, que fue dependiente de la participación de prostanoïdes contráctiles, puesto que el inhibidor selectivo de la COX-2, etoricoxib (10 μ M) redujo la respuesta contráctil a fenilefrina en aorta de ratones Rcan1(-/-) sin modificar la contracción en aorta de ratones WT. Además, la aorta de los ratones Rcan1(-/-) presentó una ligera disfunción endotelial y una menor modulación de las respuestas a fenilefrina inducida por el inhibidor de la óxido nítrico sintasa L-NAME (100 μ M) indicando una deficiencia en la modulación por NO en estos animales.

Conclusiones: La Ang II induce una potenciación de la respuesta vascular a fenilefrina que es dependiente de Ca²⁺/calcineurina/NFAT y de prostanoïdes derivados de COX-2. La activación de la ruta Ca²⁺/calcineurina/NFAT podría estar implicada en las alteraciones de la función vascular asociada a las patologías cardiovasculares puesto que la deficiencia de Rcan1 produce disfunción endotelial e incremento de la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina.

Financiado por Red RECAVA (RD06/0014/0011 y RD06/0014/0005), MEC (SAF- 2009-07201)

29. PAPEL DE PPAR α EN LA HIPERTROFIA CARDÍACA INDUCIDA POR HIPERTENSIÓN Y DIABETES

B. Picatoste Botija, S. Ares Arrasco, E. Ramírez Bustillo, J. Tuñón y O. Lorenzo

Instituto de Investigaciones Sanitarias, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

Introducción: La hipertensión arterial es un factor de riesgo importante en pacientes diabéticos. Previamente, en un modelo ex-

perimental de hipertensión con/sin diabetes tipo-I (DM1) asociada hemos observado hipertrofia cardiaca. Además, mediante proteómica y análisis bioinformático los corazones presentaron expresión diferencial de proteínas prohipertroicas y estimulación de peroxisome proliferator activating receptor- α (PPAR α).

Objetivos: Estudiar el papel de PPAR α en la hipertrofia cardiaca inducida por hipertensión asociada o no a DM1.

Métodos: Los cardiomiocitos (línea H9C2) fueron estimulados con angiotensina-II (AngII) 10-7 M y/o exceso de glucosa 33mM (HG) para mimetizar las condiciones de hipertensión e hiperglicemia, respectivamente. Algunas células fueron pretratadas durante 24 horas con un agonista [GW7647 (10 μ M)] o antagonista [G5045 (5 μ M)] de PPAR α . Western Blot (WB), electrophoretic mobility shift assay (EMSA) y quantitative-PCR (QPCR) fueron utilizados para posteriores análisis.

Resultados: La incubación con AngII (5h) provocó un aumento del tamaño celular en los cardiomiocitos. En estas células, la anexina 5 (ANXA5) y el péptido atrial natriurético (ANP) fueron también estimulados. La co-incubación de AngII y HG dio lugar a una respuesta similar a AngII sola. Ambos, AngII y HG incrementaron la unión al DNA de PPAR nuclear. Mediante ensayos de super-retardo de EMSA confirmamos que PPAR α era la isoforma implicada para ambos estímulos. Destacablemente, el pretratamiento con GW7647, y no con G5045, redujo la hipertrofia celular y la expresión de moléculas prohipertroicas (ANXA5 y ANP), e incrementó la activación de PPAR α para AngII y HG.

Conclusiones: Ang II y HG producen hipertrofia y estimulan factores prohipertroicos en el cardiomiocito. El tratamiento con un agonista para PPAR α atenúa estos efectos. Sin embargo, co-incubación con ambos estímulos no producen un efecto aditivo. Así, la activación farmacológica de PPAR α podría ser efectiva para la hipertrofia cardiaca de pacientes hipertensos y diabéticos.

30. EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN HIF-1ALFA REGULA LA EXPRESIÓN DE CARDIOTROFINA-1 EN CONDICIONES HIPÓXICAS EN CARDIOMIOCITOS MURINOS

P.A. Robador¹, G. San José¹, A. Gaudall², M. Moreno¹, C. Rodríguez², A. Fortuño¹, J. Díez¹, J. Martínez-González² y G. Zalba¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada, Pamplona.

²Centro de Investigación Cardiovascular, Barcelona.

Introducción: En condiciones hipóxicas se ha descrito un incremento de los niveles de cardiotrofina-1 (CT-1). El factor de transcripción HIF-1alfa parece mediar en dicho proceso, pero se desconoce el mecanismo molecular.

Métodos: En la línea celular de cardiomiocitos de ratón HL-1 sometidos a condiciones hipóxicas analizamos los niveles de expresión de CT-1 y de HIF-1alfa, la actividad promotora de construcciones quiméricas con el promotor del gen de la CT-1 y el grado de apoptosis (unión de Anexina V y la actividad caspasa 3/7). El papel de HIF-1alfa y de la CT-1 se analizó mediante su atenuación empleando la tecnología del RNA interferente o su sobreexpresión. La interacción de HIF-1alfa con el promotor de la CT-1 se estudio mediante mutagénesis dirigida y EMSA. Las vías de señalización implicadas se analizaron mediante el empleo de inhibidores específicos. Además, en un modelo experimental de ratón sometido a condiciones hipóxicas analizamos los niveles de CT-1 en el corazón.

Resultados: En las células HL-1, la hipoxia incrementa tanto los niveles de CT-1 como la actividad promotora del gen de la CT-1. La hipoxia incrementa los niveles de apoptosis en esta línea celular, y la CT-1 ejerce un efecto protector, ya que su disminución mediante tecnología del RNA interferente incrementa el grado de muerte celular. Los niveles de HIF-1alfa en las células HL-1 se incrementan en respuesta a la hipoxia, efecto que es prevenido por el uso de la

tecnología del RNA interferente para HIF-1alfa, y mimetizado en normoxia mediante la sobreexpresión de HIF-1alfa. Además, la sobreexpresión de HIF-1alfa incrementa la actividad promotora del gen de la CT-1. En este sentido, el efecto de la hipoxia sobre la actividad promotora se previno mediante la mutagénesis dirigida de elementos de respuesta a HIF-1alfa presentes en el promotor. La interacción de HIF-1alfa con estos elementos de respuesta se confirmó mediante estudios de EMSA. Por último, los niveles de CT-1 se incrementaron también en el corazón de un modelo de ratón sometido a condiciones hipóxicas.

Conclusiones: En la línea celular de cardiomiocitos de ratón HL-1, la exposición a condiciones hipóxicas incrementa la expresión de CT-1 mediante la interacción directa de HIF-1alfa con el promotor del gen de la CT-1. Nuestros hallazgos sugieren que la expresión de CT-1 protege al cardiomiocito expuesto a situaciones de hipoxia.

31. LOS TRITERPENOS ERITRODIOL Y UVAOL MODULAN EL EFECTO PROLIFERATIVO Y PROFIBRÓTICO DE LA ANGIOTENSINA II EN CARDIOMIOFIBROBLASTOS

M. Miana¹, E. Martínez¹, R. Martín², R. Jurado¹, C. Delgado³, M. Nieto², N. Gómez-Hurtado³, M.V. Bartolomé⁴, V. Lahera¹ y V. Cachafeiro¹

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

³Facultad de Medicina, Departamento de Farmacología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid. ⁴Facultad de Psicología, Departamento de Oftalmología y Otorrinolaringología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

Introducción y objetivos: El eritrodiol y su isómero el uvaol, forman parte del aceite de oliva, uno de los alimentos característicos de la dieta mediterránea. Ambos triterpenos han demostrado tener un efecto antiproliferativo sobre células cancerígenas, así como algunas acciones beneficiosas sobre el sistema cardiovascular. En concreto, nuestro grupo ha demostrado que los triterpenos reducen la proliferación inducida por angiotensina II en cardiomioblastos procedentes de rata adulta. Con el objeto de continuar con este estudio, exploramos las posibles vías de señalización implicadas en el efecto antiproliferativo de los triterpenos en respuesta a la angiotensina II. Asimismo, valoramos si estos compuestos serían capaces de modular las acciones profibróticas inducidas por la angiotensina II.

Métodos: Para este estudio se utilizaron cardiomioblastos en fase 2-3 procedentes de ratas Wistar adultas. Mediante inmunocitoquímica se procedió a la caracterización celular valorando la expresión de vimentina y α -actina de músculo esquelético (α -SMA). La proliferación celular se valoró mediante el método CellTiter 96 Non-Radioactive en presencia de los triterpenos uvaol y eritrodiol (5 μ mol/l) y de distintos inhibidores: el antagonista de la vía Ras/ERK (PD98059; 5-50 μ mol/l), el antagonista de PPAR- γ (GW9662; 1-10 μ mol/l), y el inhibidor de la JUNK (SP600125; 5-20 μ mol/l). Mediante western blot se valoraron los niveles de ERK fosforilada y ERK total, PPAR- γ , α -SMA y los marcadores de fibrosis colágeno I y galectina-3. Mediante citometría de flujo se determinó la unión de anexina-V en presencia de angiotensina II a dosis elevadas de ambos triterpenos (25-50 μ mol/l) así como en presencia del conjunto de inhibidores mencionados previamente.

Resultados: La expresión de α -SMA y vimentina indicó la diferenciación de estas células hacia cardiomioblastos. Tal y como observamos en estudios previos, ambos triterpenos fueron capaces de reducir el aumento de proliferación causada por la angiotensina II (10-6 M). La fosforilación de ERK 1/2 inducida por la angiotensina II únicamente fue reducida en presencia de altas dosis de eritrodiol

y uvaol (25-50 μ M). El pretratamiento con un inhibidor específico de PPAR- α (GW-9662), revirtió el efecto inducido por ambos triterpenos sobre el efecto proliferativo de la angiotensina II, mientras que un inhibidor de la JUNK (SP600125), no modificó dicho efecto. Confirmando la participación de este factor, los triterpenos revirtieron la disminución en los niveles proteicos del PPAR- α producida por la angiotensina II. Eritrodiol y uvaol, a dosis elevadas (25-50 μ M), produjeron un aumento en la unión a anexina-V, tanto en presencia como en ausencia de angiotensina II. El pretratamiento tanto con SP600125 o con GW-9662 bloqueó la respuesta apoptótica inducida por los triterpenos. El aumento en la expresión proteica de colágeno I y galectina-3 inducido por angiotensina II se revirtió en presencia de ambos triterpenos.

Conclusiones: 1) El eritrodiol y el uvaol son capaces de modular la proliferación de cardiomiocitos inducida por angiotensina II mediante la inducción de PPAR- α . 2) Dosis elevadas de estos compuestos activan procesos de muerte celular programada activando las vías de la JUNK y el PPAR- α . 3) El eritrodiol y el uvaol serían capaces de modular el efecto profibrótico de la angiotensina II. La disminución de los niveles de colágeno I y de un marcador de fibrosis como la galectina-3 demuestran el efecto antifibrótico de ambos triterpenos.

32. EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON UN EXTRACTO DE PIEL DE ALMENDRA SOBRE LAS ALTERACIONES CARDÍACAS ASOCIADAS AL HIPERALDOSTERONISMO EN RATAS. COMPARACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON ESPIRONOLACTONA

B. Martín Fernández, N. de las Heras, M. Valero, S. Ballesteros, V. Cachofeiro y V. Lahera

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

Introducción: Las almendras contienen nutrientes esenciales con propiedades antioxidantes. Dicho efecto podría ser debido a la vitamina E y/o a los flavonoides presentes en la piel de la almendra. Además, el consumo de almendras se ha relacionado con la disminución en el número de eventos cardiovasculares.

Objetivos: 1) Evaluar el efecto del tratamiento con extracto de piel de almendra (EPA) sobre la presión arterial y las alteraciones de la hemodinámica cardíaca, asociadas al hiperaldosteronismo experimental en ratas. 2) Estudiar posibles efectos del EPA sobre la expresión génica de mediadores de fibrosis, oxidación y antioxidación. Comparar los efectos del EPA con el tratamiento estándar con un antagonista de los receptores de mineralocorticoides.

Materiales y métodos: Se utilizaron ratas macho Wistar (250 g) a las que se les administró aldosterona (ALDO; 1 mg/Kg/día s.c.) y 1% NaCl en el agua de bebida durante 21 días; se utilizó un grupo de ratas sin tratamiento como control. Otros dos grupos de animales tratados con aldosterona y NaCl, recibieron, bien espironolactona (ESP; 200 mg/Kg/día s.c.) o EPA (100 mg/Kg/día en agua de bebida), respectivamente. Al final del estudio se insertó un catéter en la carótida derecha hasta el ventrículo izquierdo y se midió la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y media (PAM) así como la frecuencia cardíaca (FC), la presión diastólica final (PDF) del ventrículo izquierdo, la presión sistólica máxima del ventrículo izquierdo (PSVI) y los índices de contractilidad ($dP/dt+$) y relajación ($dP/dt-$) cardíaca. Como índice de hipertrofia cardíaca se calculó el peso relativo del corazón. Mediante RT-PCR a tiempo real se midió la expresión génica de factores profibróticos (factor de crecimiento de tejido conectivo, CTGF y el factor de crecimiento transformante β , TGF- β), marcadores de oxidación (subunidad p22phox de la NADPH oxidasa y la xantín oxidasa, XO) y marcadores de defensa antioxidante (superóxido dismutasa, SOD y catalasa).

Resultados: La PAS, PAD, PAM, pDf, PSVI y el peso relativo del corazón fueron mayores ($p < 0,05$) en las ratas con hiperaldosteronismo respecto a los controles. Tanto el tratamiento con ESP como el EPA normalizaron estos parámetros ($p < 0,05$). La $dP/dt-$ disminuyó en las ratas con hiperaldosteronismo ($p < 0,05$) y fue incrementada por ambos tratamientos ($p < 0,05$). La FC y la $dP/dt+$ no se modificaron tras la administración de ALDO o los tratamientos con ESP o EPA. La expresión génica de los marcadores de fibrosis (TGF- β y CTGF), los marcadores de oxidación (p22phox, y XO) y los de antioxidación (SOD y catalasa) fueron mayores ($p < 0,05$) en ratas con hiperaldosteronismo respecto a los controles. Tanto el tratamiento con ESP como el EPA redujeron o normalizaron estos valores ($p < 0,05$).

Conclusiones: EPA previene de manera similar a ESP las alteraciones hemodinámicas, fibróticas y oxidativas producidas por el hiperaldosteronismo en ratas. Los efectos de EPA podrían ser debidos a las acciones de flavonoides, como las proantocianidinas, que están en una proporción del 70% en el EPA utilizado.

Este trabajo ha sido financiado por Biosearch, S.A.

33. EFECTO DE LA ROSUVASTATINA SOBRE LA INERVACIÓN PERIVASCULAR MESENTÉRICA EN RATAS OBESAS

J. Blanco-Rivero¹, N. de las Heras², B. Martín-Fernández², E. Sastre¹, V. Cachofeiro², V. Lahera² y G. Balfagón¹

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

Introducción y objetivos: Las dietas hipercalóricas son determinantes en la etiología de la obesidad en humanos. Pruebas experimentales y clínicas indican que la obesidad está asociada con alteraciones en la función vascular. Por otra parte, la inervación vascular desempeña un papel relevante en la regulación del tono vascular en distintos lechos vasculares, como el lecho mesentérico, donde se ha descrito la participación de tres distintos tipos de inervaciones: adrenérgica, sensorial y nitrérgica. Por otra parte, diversos fármacos producen efectos beneficiosos en distintas alteraciones cardiovasculares y metabólicas asociadas a la obesidad. Por lo tanto, los objetivos de este estudio fueron determinar 1) si existen cambios en la función de los distintos tipos de inervaciones asociados a la obesidad inducida por una dieta rica en grasas; y 2) los efectos de la rosuvastatina sobre las posibles alteraciones presentes en este modelo de obesidad inducida por dieta.

Métodos: Ratas Wistar macho se dividieron en tres grupos experimentales: 1) ratas alimentadas con una dieta estándar durante 7 semanas, como grupo control; 2) ratas alimentadas con una dieta rica en grasas (33,5% de grasa) durante 7 semanas; y 3) ratas alimentadas con dieta rica en grasa y tratadas simultáneamente con rosuvastatina (15 mg/kg día) durante 7 semanas. Se analizaron las variaciones de la respuesta vasoconstrictora a estimulación eléctrica (EE: 200 mA, 0,3 ms, 1-16 Hz, 30 s) en presencia/ausencia de 1 mmol/L del antagonista de los receptores α -adrenérgicos fentolamina, o de 0,1 mmol/L del inhibidor específico de nNOS 7NI. Asimismo, se midieron también la liberación de NA y de NO, y la expresión proteica de nNOS.

Resultados: La EE indujo una contracción dependiente de frecuencia, que fue mayor ($p < 0,05$) en animales obesos. La fentolamina redujo la respuesta a EE en ambos grupos, pero en mayor medida en animales obesos. La liberación de NA fue mayor en ratas obesas. El inhibidor de nNOS 7NI incrementó la contracción inducida por EE en arterias de animales control, pero no en obesos. La liberación de NO y la expresión de nNOS fueron menores en ratas obesas. Todas estas alteraciones se vieron revertidas por el tratamiento por rosuvastatina.

Conclusiones: Estos resultados muestran un efecto hasta ahora desconocido de la capacidad de la rosuvastatina de restaurar la función de la innervación vascular alterada por la obesidad.

34. EL FACTOR DE CRECIMIENTO DE TEJIDO CONECTIVO CTGF MODULA LA RESPUESTA INFLAMATORIA VASCULAR

R. Rodríguez Díez¹, S. Rayego Mateos¹, C. Lavoz Barria¹, E. Civantos², A. Ortiz Arduan², J. Egido² y M. Ruiz Ortega¹

¹Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ²Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

El factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) participa en procesos fibróticos en diversas patologías, incluidas hipertrofia ventricular izquierda, daño vascular causado por hipertensión, así como en hipertensión pulmonar y diabetes, entre otras. El bloqueo de CTGF ha demostrado revertir la fibrosis vascular inducida por TGF- β , angiotensina II y otros factores en células en cultivo. Sin embargo, no hay estudios in vivo del efecto directo de CTGF en la pared vascular. El CTGF regula otras respuestas celulares, incluidas proliferación celular/apoptosis, angiogénesis, adhesión celular e infiltrado inflamatorio renal. En este trabajo nuestro principal objetivo ha sido investigar el efecto directo de CTGF en la pared vascular, evaluando si modula la respuesta inflamatoria. Para ello hemos estudiado el efecto de CTGF en aorta a las 24 horas en un modelo experimental de administración sistémica de CTGF (2,5 ng/g de peso; intraperitoneal) en ratones macho C57BL/6. El análisis de la expresión génica de factores proinflamatorios, mediante PCR en tiempo real, reveló un marcado aumento en aorta de la expresión de citoquinas proinflamatorias clásicas, IL-6 y TNF α , y de las quimioquinas MCP-1 y RANTES, que regulan el reclutamiento de monocitos/macrófagos y linfocitos, respectivamente. Mediante experimentos in vitro en células de músculo liso vascular (CMLVs) de ratón hemos confirmado los hallazgos in vivo. La estimulación con CTGF aumentó el mRNA de IL-6, MCP-1 e ICAM-1. El factor nuclear- κ B (NF- κ B) regula muchos genes implicados en la respuesta inflamatoria. En CMLVs CTGF activó la ruta NF- κ B, como observamos por un aumento de la fosforilación de la subunidad p65 (western blot) y su posterior translocación al núcleo (inmunofluorescencia microscopía confocal). Estos datos amplían el conocimiento sobre las acciones del CTGF en la patología vascular, más allá de su papel en la fibrosis, indicando su importancia como diana terapéutica en la enfermedad cardiovascular.

35. EFECTO DE LA DESHABITUACIÓN TABÁQUICA SOBRE LOS BIOMARCADORES DE RIESGO CORONARIO CD40L Y LP-PLA2 EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)

D. Gómez Garre, C. Fernández Pinilla, P. Muñoz-Pacheco, M. Fuster Tozer, A. Ortega Hernández, C. Álvarez López, I. Ortega Madueño, V. Estrada Pérez y A. Fernández-Cruz Pérez

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

El tabaquismo es un grave problema de salud pública. Está ampliamente demostrado que el consumo de tabaco provoca un incremento de la morbi-mortalidad de los fumadores, en especial la relacionada con el desarrollo de tumores y enfermedades pulmonares y cardiovasculares (CV). El tabaquismo está considerado como el factor de riesgo modificable más importante que contribuye a la morbilidad y mortalidad CV prematura, principalmente por aterosclerosis. De hecho, la asociación del tabaquismo con un riesgo incrementado de sufrir un síndrome coronario agudo y/o muerte súbita está claramente establecida. La prevalencia global del tabaquismo en la población general espa-

ñola, según los datos más recientes (2003) es del 28%, siendo la más elevada la que se observa en el grupo de varones entre 35 y 44 años, que se encuentra en el 44,3%. Desde que en el año 1996 en que se generalizó el uso de la terapia antirretroviral (TAR), se ha observado una reducción significativa en la mortalidad asociada a infección por VIH y del número de diagnósticos de SIDA, y un aumento del número de pacientes que viven con infección por VIH. Sin embargo, los pacientes con VIH tienen un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular isquémica que la población de igual edad y sexo no infectada, así como una mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular tradicionales. De todos ellos, el tabaco es el principal factor de riesgo modificable. Se ha estimado que la prevalencia del tabaquismo en pacientes que sufren infección por VIH es aún mayor que la observada en la población general, alrededor del 64%. Nuestro objetivo ha sido estudiar el impacto del abandono del tabaco sobre biomarcadores relacionados con el riesgo de nuevos episodios de enfermedad coronaria en pacientes con infección por VIH. Para ello, hemos cuantificado la concentración plasmática de sCD40L y Lp-PLA2 mediante ELISAs específicos en una población de 117 pacientes con VIH (80,3% fumadores). Como grupo control se han utilizado 110 sujetos sin VIH (46,5% fumadores). Los pacientes con VIH tenían una edad media de 46 ± 8 años, el 74% eran varones, el 73% tenían carga viral indetectable y el 89% se encontraban en tratamiento. En comparación con los sujetos sin VIH (45 ± 12 años, 58% varones), en la población con VIH hubo mayor incidencia de dislipemia ($50,4$ vs $22,7\%$, $p > 0,05$). Además, los pacientes VIH tenían menor índice de masa corporal (24 ± 4 vs 26 ± 4 kg/m², $p < 0,05$), menor concentración de colesterol HDL (50 ± 13 vs 56 ± 16 mg/dL, $p < 0,05$) y mayor concentración de triglicéridos (174 ± 113 vs 110 ± 38 mg/dL, $p < 0,05$). En comparación con un grupo de pacientes sin VIH, los pacientes con VIH presentaron niveles más elevados de sCD40L ($2,05 \pm 0,12$ vs $1,50 \pm 0,11$ ng/ml, $p < 0,05$) y Lp-PLA2 (312 ± 13 vs 220 ± 13 ng/ml, $p < 0,05$). Las principales diferencias se observaron entre los pacientes fumadores de ambas poblaciones (sCD40L, VIH fumadores: 246 ± 14 vs no VIH fumadores: $1,70 \pm 0,18$ ng/ml; Lp-PLA2, 333 ± 13 vs 220 ± 13 ng/ml, $p < 0,05$). Estas diferencias se mantuvieron incluso después de ajustar la población por tabaquismo y dislipemia ($1,94$ (IC95%, $1,03$ - $3,67$; $p < 0,05$). De todos los pacientes con VIH, solo 33 accedieron a entrar en un programa de deshabituación tabáquica, y solo 13 permanecieron sin fumar tras tres meses. Tras este tiempo, no se observaron cambios en las variables clínicas (tensión arterial y perfil lipídico). Sin embargo, los pacientes que dejaron de fumar disminuyeron sus concentraciones plasmáticas de sCD40L ($2,26 \pm 0,22$ vs $2,61 \pm 0,28$ ng/ml) y Lp-PLA2 (284 ± 22 vs 314 ± 22 ng/ml, $p < 0,05$). Estos resultados reafirman la importancia del abandono del tabaco en pacientes con VIH, siendo necesaria la implantación de programas específicos que faciliten la deshabituación tabáquica en estos pacientes.

36. EFECTO ANTIHIPERTENSIVO Y VASODILATADOR DE UN PRODUCTO RICO EN FIBRA SOLUBLE DE CACAO EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS

M. Quiñones Téllez¹, S. Fernández Vallinas¹, M. Miguel Castro² y A. Aleixandre de Artiñano¹

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid. ²Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), Madrid.

Propósito del estudio: La fibra dietética tiene muchas propiedades saludables, pero sus efectos sobre la presión arterial se han

estudiado poco. Mediante un procedimiento enzimático patentado se obtuvo un producto rico en fibra soluble de cacao (FSC) con propiedades hipocolesterolemiantes (Ramos et al. J Agric Food Chem 2008;56:6985-93). Nuestro grupo ha demostrado recientemente que la ingesta crónica de FSC atenúa el desarrollo de hipertensión en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) (Sánchez et al. J Agric Food Chem 2010;58:1493-501). En esta comunicación estudiamos el efecto de la administración aguda de FSC sobre la presión arterial de las ratas SHR, y su posible efecto vasodilatador arterial endotelio dependiente en estos animales.

Métodos: Se utilizaron tres grupos de ratas SHR macho de 17-25 semanas de vida, a los que se administró por vía intragástrica respectivamente los siguientes productos: agua (control negativo), 300 mg/kg de FSC y 500 mg/kg de FSC. Se midió la presión arterial sistólica (PAS) de las ratas por el método del manguito en la cola (Buñag. J Appl Physiol 1973;34:279-82), antes de la administración, y también 2, 4, 6, 8, 24, 48 y 72 horas después de la misma. Se evaluó también el efecto producido por la FSC (1 ng/ml-103 ng/ml) en preparaciones de anillos de aorta de ratas macho SHR de 24-28 semanas de vida, precontraídas con 10-5 M metoxamina. Se utilizaron preparaciones intactas, preparaciones desprovistas de endotelio, preparaciones intactas incubadas con L-NAME (10-4 M) y preparaciones intactas incubadas con indometacina (10-5 M). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de dos vías seguido del test de Bonferroni.

Resultados: Las dos dosis utilizadas de FSC disminuyeron la PAS en las ratas SHR, pero paradójicamente la dosis de 300 mg/kg fue más efectiva para descender esta variable que la dosis de 500 mg/kg. Los máximos descensos de la PAS se consiguieron entre 4-8 horas después de la administración, y los valores iniciales de esta variable se recuperaron 72 horas después de la administración de ambas dosis de FSC. La FSC produjo una relajación dosis dependiente en las preparaciones de anillos de aorta intactas, pero esta relajación no se observó en las preparaciones desprovistas de endotelio. La incubación con L-NAME inhibió parcialmente la relajación producida por FSC en las preparaciones intactas, pero la incubación con indometacina no la modificó.

Conclusiones: Las nuevas estrategias para tratar la hipertensión arterial con productos naturales pueden ser muy útiles. Este estudio corrobora las propiedades antihipertensivas de la FSC en ratas SHR y sugiere una conexión entre las disminuciones de la presión arterial que ocasiona este producto y la liberación de óxido nítrico endotelial.

Financiado por Natraceutical Group (Proyecto 36/2007 U.C.M.). Marta Miguel es beneficiaria de un contrato Ramón y Cajal del MICINN.

37. EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON CLOPIDOGREL EN EL PROTEOMA PLAQUETARIO DE PACIENTES DIABÉTICOS CON ENFERMEDAD ISQUÉMICA CORONARIA ESTABLE

P. Rodríguez Sierra, P. Jiménez Mateos-Cáceres, L. Azcona Varela, J. Modrego Martín, J.J. Zamorano León, C. Macaya Miguel y A.J. López Farré

Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Los pacientes diabéticos tienen una mayor dificultad de inhibición de actividad plaquetaria, por lo que es común tratarlos con doble terapia antiagregante de aspirina más clopidogrel. Nuestro objetivo fue evaluar mediante proteómica efectos de la doble terapia (clopidogrel+aspirina) sobre el nivel de expresión de proteínas plaquetarias de pacientes diabéticos con enfermedad isquémica coronaria estable. Un total de 57 pacientes con isquemia coronaria estable diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 fueron elegidos al azar para recibir (n = 29) o no (n = 28) una dosis de

clopidogrel (75 mg/día) durante 3 meses en un estudio doble-ciego aleatorizado. Todos los pacientes incluidos en el estudio tomaban habitualmente 100 mg/día de aspirina. En las plaquetas, la expresión de proteínas relacionadas con citoesqueleto, metabolismo energético, estrés oxidativo e inflamación fue analizada usando electroforesis bidimensional y espectrometría de masas. La expresión de lactato deshidrogenasa, isoformas 2 y 5 de la proteína de unión a actina, isoformas 1 y 6 de catalasa, isoforma 4 de serotransferrina, isoforma 1 de la disulfuro isomerasa, isoforma 5 de la cadena beta de fibrinógeno y la cadena pesada de inmunoglobulina variaba de forma significativa en las plaquetas de los pacientes tratados con doble terapia en comparación a monoterapia con aspirina. La expresión de todas ellas estaba disminuida de forma significativa en las plaquetas de los pacientes tratados con doble terapia. En resumen, la terapia doble antiagregante con clopidogrel + aspirina en pacientes diabéticos con isquemia coronaria estable modifica la expresión de un número reducido de proteínas en comparación con la monoterapia con aspirina aunque los cambios observados sugerirían una menos reactividad plaquetaria tras el tratamiento combinado con aspirina y clopidogrel.

38. DETECCIÓN DE ALTERACIÓN GENÉTICA EN GEN *KCNH2*, CODIFICANTE PARA EL CANAL DE POTASIO CARDÍACO *HERG*, ASOCIADA A INEFICACIA A LA RESPUESTA CON BLOQUEADORES BETA

J.J. Zamorano León¹, R. Yáñez-Baña², G. Jaime Sánchez², R. Álvarez-Granada Rodríguez², L. Calatrava Ledrado¹, C. Macaya Miguel¹ y A.J. López Farré¹

¹Hospital Clínico San Carlos, Madrid. ²Hospital Cristal Piñor, Complejo Hospitalario de Ourense, Ourense.

El síndrome de QT largo (SQTL) es una enfermedad hereditaria caracterizada por una prolongación del intervalo QT en el ECG, a menudo se manifiesta por síncope, convulsiones e incluso muerte súbita. Tiene una mortalidad significativa, que se reduce considerablemente con un tratamiento adecuado, sin embargo esta patología puede quedar enmascarada con otras enfermedades que cursan con trastornos convulsivos, como la epilepsia. El objetivo de este estudio fue buscar alteraciones genéticas en los genes mayoritariamente asociados a SQTL, que pudieran aportar más información acerca del diagnóstico y tratamiento de una paciente con síncope recurrentes con intervalo QTc prolongado. En el presente trabajo se realizó un estudio genético de los genes *KCNQ1* y *KCNH2*, mediante técnicas de amplificación selectiva de DNA y secuenciación directa bidireccional, a una paciente de 23 años, con síncope recurrentes y diagnosticada como epiléptica y posteriormente de SQTL tras estudio electrocardiográfico, siendo tratada con anticonvulsivos y β -bloqueantes. La secuenciación directa de los exones que componen los genes *KCNQ1* y *KCNH2*, reveló una mutación (C2687T) en el exón 10 del gen *KCNH2* asociado a SQTL tipo 2, que provocaba una secuencia STOP prematura (R863X), perdiéndose 296 aminoácidos del extremo C-terminal del canal de potasio cardíaco *HERG*, que ya había sido descrito en la bibliografía científica. Esta alteración genética se asocia a una ineficacia de respuesta a los β -bloqueantes, ya que la pérdida del fragmento C-terminal de dicho canal impide el anclaje del canal de potasio a la membrana plasmática miocitaria. Este tipo de estudio, pone de manifiesto la importancia y la necesidad de los estudios genéticos o de genotipado, ya que la detección de este tipo de mutaciones que conllevan graves consecuencias y que incluso puede afectar al tratamiento puede ser de gran interés para el cardiólogo.

Estudio financiado por la fundación BBVA.

39. UN PÉPTIDO DERIVADO DEL RECEPTOR TIPO III DEL TGF β INHIBE LA ACTIVACIÓN DE LA NADPH OXIDASA INDUCIDA POR TGF β 1 EN CÉLULAS EPITELIALES DEL TÚBULO PROXIMAL DE RATA

A. Baltanás Bordonaba, C. Cebrián Parajón, J. Dotor de las Herrerías, F. Borrás Cuesta, J. Díez Martínez, G. Zalba Goñi y A. Fortuño Gil

Centro de Investigación de Médica Aplicada, Pamplona.

Propósito del estudio: P144 es un péptido sintético de 14 aminoácidos (TSLDASIWAMMQNA) cuya secuencia procede del receptor humano tipo III del TGF β 1. Estudios recientes sugieren que la NADPH oxidasa juega un importante papel en los efectos mediados por el TGF β 1 en distintos tejidos y tipos celulares. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del P144 sobre la activación de la NADPH oxidasa en la línea de células epiteliales del túbulo proximal de rata, NRK52E.

Métodos: En dichas células se midió la actividad NADPH oxidasa en respuesta a la estimulación con TGF β 1 (10 ng/ml) en presencia y ausencia de P144 (200 μ g/ml). Además, se estudió por Western-blot la expresión de las subunidades Nox2, Nox4 y p47phox, así como de la nitrotirosina (NT), un parámetro general del estrés oxidativo, y del factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), un factor profibrótico mediador específico de la vía del TGF β 1.

Resultados: El TGF β 1 estimuló de forma bifásica en el tiempo la actividad de la NADPH oxidasa, observándose una respuesta máxima a las 24 horas. Las células estimuladas con TGF β 1 mostraron un aumento significativo de la actividad NADPH oxidasa, de la expresión proteica de las subunidades Nox2, Nox4 y p47phox, así como de la NT. La expresión proteica de CTGF siguió el mismo patrón. La incubación con P144 logró disminuir significativamente la actividad NADPH oxidasa, así como la expresión de todas las proteínas en estudio.

Conclusiones: P144 inhibe la activación de la NADPH oxidasa inducida por TGF β 1 y disminuye la expresión de CTGF y el estrés oxidativo inducidos por TGF β 1 en las células NRK52E.

40. L-CARNITINA REDUCE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN GÉNICA DE LA NADPH OXIDASA EN EL RIÑÓN DE RATAS HIPERTENSAS

A.J. Blanca Lobato, S. Zambrano Sevilla, M.V. Ruíz Armenta, J.L. Miguel Carrasco, E. Revilla Torres, A. Mate Barrero y C.M. Vázquez Cueto

Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Sevilla.

Propósito del estudio: Investigar el efecto de la L-carnitina (amina cuaternaria responsable del transporte de ácidos grasos al interior de las mitocondrias) sobre la actividad y expresión génica de la enzima NADPH oxidasa en corteza renal de ratas hipertensas, estudiando la implicación del sistema renina-angiotensina (SRA).

Métodos: Se han empleado 4 grupos de ratas: Wistar (normotensas controles), Wistar tratadas con L-carnitina, Wistar tratadas con L-NAME (modelo experimental de hipertensión) y Wistar tratadas con L-NAME y L-carnitina simultáneamente. Durante 12 semanas se administró L-NAME y/o L-carnitina en el agua de bebida, con dosis de 35 y 300 mg/kg de peso corporal/día, respectivamente. Transcurrido el periodo de tratamiento, se extrajeron los riñones y se aisló la corteza renal, parte de la cual se usó para el posterior análisis de la actividad de la NADPH oxidasa y el resto para la extracción de ARN total. La actividad NADPH oxidasa se determinó mediante técnicas de luminiscencia. El ARN obtenido se utilizó para la determinación de la expresión génica (mediante PCR a tiempo real) de las subunidades de la NADPH oxidasa: isoformas NOX-2 y NOX-4, y subunidades p22phox, p67phox, p47phox y p40phox. Paralelamente, se midió la expresión génica del receptor

tipo 1 de la angiotensina II (AT-1) y de la enzima convertidora de la angiotensina II (ACE).

Resultados: Las ratas con hipertensión arterial inducida por el tratamiento con L-NAME muestran un aumento tanto en la actividad de la NADPH oxidasa como en la expresión génica de sus isoformas NOX2 y NOX4, y subunidades p22phox, p67phox, p47phox y p40phox, circunstancia que se acompaña de una sobreexpresión de los componentes AT-1 y ACE del SRA. Cuando se administra L-carnitina a las ratas hipertensas, la actividad de la NADPH oxidasa revierte sus valores a niveles controles, y se reduce la expresión génica de la propia NADPH oxidasa y de los componentes AT-1 y ACE. Por el contrario, las ratas normotensas tratadas con L-carnitina no mostraron diferencias significativas con respecto a las controles en los diferentes parámetros analizados.

Conclusiones: Nuestro estudio muestra que la L-carnitina actúa inhibiendo la actividad de la enzima NADPH oxidasa en el riñón de ratas hipertensas, así como disminuyendo la expresión de sus diferentes subunidades e isoformas. Por otro lado, se pone de manifiesto la participación del sistema renina-angiotensina en el efecto mediado por la L-carnitina.

Estudio financiado por el Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, PN de I+D+I 2008-2011 (PS09/01395), y Junta de Andalucía, Consejería de Salud (PI-0034). AJB es personal contratado del mencionado proyecto del PN de I+D+I. SZ es becario del mencionado proyecto de la Junta de Andalucía. MVRA disfruta de una beca de investigación del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

Epidemiología

41. TELMED: UN TUTORIAL WEB GRATUITO E INTERACTIVO PARA SABER MÁS SOBRE PUBMED Y MEJORAR LAS BÚSQUEDAS BIBLIOGRÁFICAS

P. Fernández Medina, A. Paz Domínguez, C. Rivas Costa, M. Rodríguez Guimeráns, A. Peña Vidal, M.N. Pereira Martínez, T. González Pérez, C. Fernández Rodríguez e I. Alonso Alonso

Universidad de Vigo, Vigo.

PubMed es un proyecto desarrollado por el National Center for Biotechnology Information (NCBI) y la National Library of Medicine (NLM) que permite el acceso a distintas bases de datos bibliográficas, entre ellas MEDLINE. PubMed proporciona una herramienta de búsqueda bastante sofisticada con múltiples opciones. Conocer bien estas opciones facilita la localización de los artículos de interés para el investigador. Por ello se ha desarrollado Telmed, que es un tutorial de aprendizaje autónomo que muestra el funcionamiento de PubMed a base de ejemplos y ejercicios guiados. Permite al usuario aprender y conocer sus principales servicios de una forma autodidacta, cómoda y sencilla. La herramienta Telmed está estructurada en cinco módulos de aprendizaje de complejidad ascendente. Primeramente, inicia al lector con el manejo básico de la herramienta PubMed: búsquedas básicas, visualizaciones de las búsquedas, sintaxis, etc. Ya en el primer módulo se explica al usuario como utilizar el servicio MyNCBI, que permite recibir en el correo electrónico, con la periodicidad que se desee, las novedades bibliográficas relacionadas, por ejemplo,