

Trabajos de investigación básica

B01. ALTERACIONES CARDIOVASCULARES Y METABÓLICAS PRODUCIDAS POR UNA DIETA RICA EN GRASA Y FRUCTOSA EN LA RATA

H.J. Lee, V. Andrade, A.S. Donoso, N.M. Sánchez Eluchans, A.M. Puyó y H.A. Peredo

Cátedra de Anatomía e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA y CONICET.

Una dieta rica en grasa y en fructosa produce en la rata alteraciones cardiovasculares y metabólicas que semejan el síndrome metabólico humano. Los prostanoïdes (PR), metabolitos del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa, tienen propiedades vasoactivas y también como mediadores de la inflamación. Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de esta dieta sobre la presión arterial (PA), parámetros metabólicos y la producción de PR en el lecho mesentérico en ratas Sprague-Dawley macho. Se utilizaron 4 grupos de animales (c/u n = 6): Control (C) dieta normal y agua para beber; DGF, 50% en peso de grasa bovina adicionada a la dieta normal y una solución de F 10% p/v para beber, F: dieta normal y una solución de F 10% p/v para beber y DG: 50% en peso de grasa bovina adicionada a la dieta normal. A las 9 semanas los animales se sacrificaron y los lechos mesentéricos se incubaron 60 min a 37 °C en Krebs; los PR liberados se midieron por HPLC. La PA se midió por el método indirecto, la glucemia y la trigliceridemia se determinaron por medio de equipos comerciales y la insulínemia por ELISA. En el grupo DGF se encontró aumentada la PA (mmHg), 152 ± 5 vs C, 123 ± 3 , $p < 0,01$, la relación peso del hígado/peso corporal (mg/g) $38 \pm 1,2$ vs C, $32,8 \pm 1,9$, $p < 0,05$, la

glucemia (mg/dl), 155 ± 6 vs C, 129 ± 9 , $p < 0,05$, la triglicéridemia (mg/dl), 191 ± 16 vs C, 56 ± 8 , $p < 0,001$ y la insulinemia (ng/ml) F, $3,2 \pm 0,3$ vs C, $1,6 \pm 0,2$, $p < 0,01$. El peso corporal no presentó diferencias significativas. Por otra parte, se detectaron prostaglandinas (PG) F₂alfa y E₂, así como PG 6-cetoF₂alfa y tromboxano (TX) B₂, metabolitos inactivos de prostaciclina (PGI₂) y TXA₂ respectivamente. En el grupo DGF se observaron incrementos en la producción (ng PR/mg tejido) de PGE₂, 149 ± 17 vs C, 101 ± 4 , PGF₂alfa, 163 ± 17 vs C, 89 ± 4 y TXB₂, 137 ± 18 vs C, 69 ± 6 , $p < 0,01$ en todos los casos. En el caso de los tratamientos con F y DG por separado, se obtuvieron resultados similares en cuanto al incremento de PA, triglicéridos e insulina, no así la glucemia que no fue modificada. Sobre la producción de PR, F produjo una disminución significativa de los vasodilatadores prostaciclina y PGE₂, mientras que DG tuvo efectos similares a DGF. El incremento en la PA en el grupo DGF podría deberse, al menos en parte, al desbalance en la producción vascular de PR a favor de los vasoconstrictores. Por otra parte, esta modificación dietaria implica un proceso inflamatorio, el cual podría justificar el aumento de la PGE₂, un conocido mediador de tales procesos. Cabe destacar que en el modelo de sobrecarga de F, el aumento de presión se relacionaría con la disminución de PR vasodilatadores. Como conclusión, la administración simultánea de DG y F, que se asemeja a la dieta a la que se someten muchos niños, jóvenes y adultos en la actual cultura occidental tiene, en la rata, efectos deletéreos más marcados que los de cada tratamiento por separado.

B02. ALTERACIÓN PRECOZ DE LA RELACIÓN L-DOPA/DOPAMINA URINARIA EN RATAS CON SOBRECARGA DE FRUCTOSA Y SU CORRELACIÓN POSITIVA CON EL DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

M.C. Kravetz¹, N.L. Rukavina Mikusic¹, N.M. Kouyoumdzian¹, S. Gorzalczyk², J. del Mauro², H.J. Lee³, A.H. Correa¹, M. Pandolfo⁴, C. Hocht², A.M. Puyó³, B.E. Fernández¹ y M.R. Choi¹

¹Cátedra de Fisiopatología; ²Cátedra de Farmacología; ³Cátedra de Anatomía e Histología; ⁴Cátedra de Química Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. INFIBIOC, CONICET.

Introducción: El modelo de sobrecarga de fructosa en la dieta (SF) se caracteriza por desarrollar cambios metabólicos y hemodinámicos como hiperinsulinemia e hipertensión arterial (HTA) que conducen al daño renal. En estudios previos efectuados en ratas con SF se han demostrado alteraciones en el sistema dopaminérgico renal consistentes en una reducción de la captación de L-dopa estimulada por insulina en las células tubulares proximales, provocando un aumento de su excreción urinaria. En cambio, existen pocas evidencias sobre el rol de la dopamina renal en la fisiopatología de la HTA por SF, como así también de su posible utilidad como predictor del daño renal observado en el síndrome metabólico. Hipótesis: los cambios metabólicos y hemodinámicos producidos por una dieta alta en fructosa se asocian a modificaciones del sistema dopaminérgico renal que contribuyen a la retención de sodio y desarrollo de HTA y preceden a la microalbuminuria.

Objetivo: Determinar alteraciones en la producción renal de dopamina mediante el cociente L-dopa/dopamina urinaria y su relación con la natriuresis, presión arterial sistólica (PAS) y aparición de microalbuminuria.

Métodos: Se utilizaron ratas Sprague Dawley macho que se dividieron en dos grupos tratados durante 4, 8 y 12 semanas: C: Control (con agua para beber) y SF: con F al 10% P/V para beber ($n = 4$ por grupo y período). El día anterior al sacrificio se colocaron en jaulas metabólicas y se determinó en orina de 24h: L-dopa y dopamina (por HPLC), diuresis, sodio y creatinina y en plasma: triglicéridos, glucemia, colesterol e insulinemia. La PAS se midió por método in-

directo.

Resultados: (\pm ESM): SF incrementó PAS (mmHg, C4: 121 ± 8 vs F4: $145 \pm 1^*$; C8: 130 ± 4 vs F8: $161 \pm 10^*$; C12: 133 ± 5 vs F12: $163 \pm 4^*$), triglicéridos (mg/dl, C8: 44 ± 8 vs F8: $116 \pm 10^*$; C12: 68 ± 30 vs F12: $153 \pm 12^*$), la relación L-dopa/dopamina (C4: $0,49 \pm 0,05$ vs F4: $1,9 \pm 0,09^*$; C8: $0,53 \pm 0,06$ vs F8: $2,35 \pm 0,1^*$; C12: $0,54 \pm 0,07$ vs F12: $2,57 \pm 0,2^*$), la diuresis (ml/24h, C4: $11,79 \pm 1,42$ vs F4: $24,54 \pm 2,05^*$; C8: $9,98 \pm 1,01$ vs F8: $23,52 \pm 1,9^*$; C12: $11,55 \pm 1,6$ vs F12: $28,37 \pm 2,07^*$) y disminuyó la excreción urinaria de sodio (mEq/24 hrs, C4: $1,01 \pm 0,05$ vs F4: $0,83 \pm 0,04^*$; C8: $1,02 \pm 0,08$ vs F8: $0,72 \pm 0,05^*$; C12: $1,04 \pm 0,08$ vs F12: $0,64 \pm 0,04^*$). $*p < 0,05$, $^{**}p < 0,01$. La microalbuminuria inducida por SF se observó recién en la semana 12 (C12: $13,11 \pm 1,4$ vs F12: $57,6 \pm 2,5^*$). Se observó una correlación positiva entre PAS y la relación L-dopa/dopamina urinaria ($R^2: 0,78$, $p = 0,002$).

Conclusiones: La SF en la dieta produjo un incremento de la PAS que se correlaciona con una disminución de la natriuresis desde la 4° semana de tratamiento. Estos cambios fueron acompañados por un aumento progresivo de la relación L-Dopa/dopamina urinaria que precede a la aparición de microalbuminuria en la 12° semana. El incremento del índice L-Dopa/dopamina urinaria se correlaciona temporalmente con el aumento de la PAS y puede postularse como un marcador aún más precoz que la microalbuminuria para detectar el deterioro de la función renal que precede al daño renal en la HTA por SF.

B03. MODULACIÓN DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA RENAL POR LA CAVEOLINA-1 DURANTE EL ESTADO HIPOVOLÉMICO SEGÚN AVANZA LA EDAD

N. Arreche, M. Ottobre, L. Peredo, A. Fellet y A.M. Balaszczuk

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Introducción: El papel de sustancias vasodilatadoras como el óxido nítrico (NO) durante el estado hipovolémico no ha sido totalmente dilucidado. La regulación de la síntesis renal de NO está sujeta a diversos mecanismos de control de las isoformas de la NO sintasa (NOS). Considerando que la eNOS y la caveolina-1 forman un complejo inhibitorio, las alteraciones en la expresión de esta última puede interpretarse como un factor que modula la actividad enzimática de la eNOS. Sin embargo, no sólo se deben tener en cuenta los cambios absolutos en la abundancia de caveolina-1, sino también si las modificaciones en la distribución tisular y subcelular de esta proteína podrían influir en la actividad de la eNOS. El sistema del NO y las caveolinas han sido identificados como moduladores del normal proceso de envejecimiento.

Objetivo: Evaluar el efecto de la caveolina-1 sobre la actividad del sistema del NO renal luego de una hemorragia aguda según avanza la edad.

Métodos: Grupos de animales jóvenes y adultos: Grupo C, ratas anestesiadas controles; Grupo H: ratas anestesiadas sometidas a una hemorragia aguda del 20% de la volemia. A los 120 min se procedió al sacrificio de los animales y a la extracción del riñón. Se determinó la actividad de la NOS (método in vitro y actividad NADPH diforasa), y los niveles proteicos de las isoformas de la NOS y caveolina-1 mediante Western blot. Se realizó un estudio de colocalización utilizando anticuerpos anti eNOS y anti caveolina-1 en cortes de tejido renal para evaluar principalmente a nivel medular la potencial asociación de la eNOS con la proteína inhibitoria caveolina-1 a los 120 min de realizado el sangrado según avanza la edad.

Resultados: El avance de la edad disminuye la actividad de la NOS renal, mientras que el estado hipovolémico ocasiona un incremento en este parámetro tanto en animales jóvenes como adultos (Grupo C joven: 309 ± 24 pmol.g tej⁻¹.min⁻¹, Grupo H joven: $499 \pm 20^*$ pmol.g tej⁻¹.min⁻¹, Grupo C adulto: $249 \pm 17^*$ pmol.g tej⁻¹.min⁻¹).

¹, Grupo H adulto: $449 \pm 16^*$ pmol.g tej⁻¹.min⁻¹; *p < 0,01 vs Grupo C de cada grupo etario; *p < 0,01 vs Grupo C joven). Las alteraciones observadas en la actividad de la NOS fueron a expensas de cambios en la actividad histoquímica NADPH diaforasa en la médula renal. No se observaron cambios en los niveles proteicos de las isoformas de la NOS ni de la caveolina-1 en ningún grupo. El estudio de inmunolocalización de la eNOS y caveolina-1 mostró que: a) existió una mayor asociación de la eNOS con la caveolina-1 en el Grupo C adulto respecto del Grupo C joven, b) la hemorragia aguda del 20% de la volemia ocasionó una mayor disociación del complejo eNOS/caveolina-1 en ambos grupos etarios.

Conclusiones: La menor actividad de la NOS observada con el avance de la edad podría deberse a la mayor asociación de la eNOS con la caveolina-1. El estado hipovolémico constituye un estímulo para la disociación del complejo eNOS/caveolina-1 ajustando la producción de NO a las necesidades del tejido renal ante una hemorragia aguda. Esta respuesta sería independiente de la edad del individuo.

B04. IMPACTO DE LA DEFICIENCIA MODERADA DE ZINC DURANTE LA VIDA FETAL Y EL CRECIMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DEL ÓXIDO NÍTRICO CARDÍACO

G. Pineda, L. Juriol, F. Mendes Garrido, M.N. Gobetto, D. Cardelli, L. Veiras, R. Elesgaray, M.A. Costa, C. Arranz y A.L. Tomat

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. IQIMEFA-CONICET.

Introducción: La deficiencia moderada de zinc durante el crecimiento intrauterino y postnatal induce en los machos adultos un incremento de la presión arterial y alteraciones cardíacas, caracterizadas por una disminución de los espesores parietales y de la contractilidad del ventrículo izquierdo. A su vez, las arterias coronarias presentan remodelado hipertrófico asociado al aumento de presión arterial sistólica.

Objetivo: Evaluar la actividad del sistema del óxido nítrico (NO) y el estrés oxidativo en el tejido cardíaco de ratas machos (m) adultas jóvenes expuestas a una deficiencia moderada de zinc durante la vida fetal y el crecimiento.

Métodos: Ratas Wistar preñadas recibieron durante la preñez y la lactancia, una dieta baja en zinc (B: 8 ppm) o control (C: 30 ppm). Luego del destete, las crías Bm se dividieron en 2 grupos: BC recibieron dieta control y BB continuaron con dieta baja en zinc. Las crías Cm continuaron con dieta control (CC). A los 81 días de vida, se determinó: presión arterial sistólica (PAS, mmHg) por método indirecto; actividad de NO sintasa (NOS) cardíaca basal y de sus isoformas endotelial (eNOS), neuronal (nNOS) e inducible (iNOS) (pmol¹⁴C L-citrulline/g.tejido.min); expresión proteica (densidad óptica eNOS/ β -actina relativa a CC) y del ARNm (eNOS/GAPDH relativa a CC) de la eNOS mediante Western Blot y RT-qPCR, respectivamente; niveles de lipoperoxidación (TBARS, nmol/mg prot), glutatión reducido (GLUT, mg/mg prot) y enzimas antioxidantes: glutatión peroxidasa (GPx, μ mol/min.mg prot), superóxido dismutasa (SOD, USOD/mg prot) y catalasa (CAT, pmol/mg prot). Los resultados se analizaron con test de Anova de 1 factor y test de Bonferroni.

Resultados: BB y BC presentaron un aumento de PAS respecto a CC (CC: 126 ± 1 , BB: $143 \pm 1^*$, BC: $146 \pm 2^*$) y una disminución de la actividad basal de la NOS respecto al control (CC: 204 ± 6 , BB: $164 \pm 10^*$, BC: $157 \pm 11^*$). El NO sería principalmente sintetizado por la eNOS ya que la actividad basal de la NOS no se vio afectada por los inhibidores de la nNOS e iNOS, pero se mostró disminuida con el bloqueante de Ca²⁺-calmodulina (CC: $47 \pm 2^*$; BB: $52 \pm 2^*$, BC: $49 \pm 2^*$, #p < 0,001 vs basal) en todos los grupos. No se observaron diferencias significativas en la expresión proteica (CC: $1,0 \pm 0,1$, BB: $0,9 \pm 0,1$, BC: $1,3 \pm 0,2$) y del ARNm de la eNOS (CC: $1,00 \pm 0,07$,

BB: $1,24 \pm 0,10$, BC: $0,93 \pm 0,03$) entre los grupos estudiados. Los grupos deficientes presentaron niveles de TBARS (CC: $0,21 \pm 0,02$, BB: $0,78 \pm 0,08^*$, BC: $0,47 \pm 0,02^*$) y actividad de la SOD (CC: $3,7 \pm 0,5$, BB: $6,3 \pm 0,7^*$, BC: $6,4 \pm 0,4^*$) aumentados respecto a CC. A su vez, solo el grupo BB presentó disminuidos los niveles de GLUT (CC: $1,8 \pm 0,3$, BB: $0,6 \pm 0,1^*$, BC: $1,6 \pm 0,3$). Respecto a la actividad de GPx (CC: 80 ± 3 , BB: 88 ± 10 , BC: 92 ± 2) y CAT (CC: $0,06 \pm 0,01$, BB: $0,1 \pm 0,01$, BC: $0,07 \pm 0,01$) no se observaron diferencias significativas respecto al control. *p < 0,01 vs CC; #p < 0,01 vs BB).

Conclusiones: La deficiencia moderada de zinc durante la vida fetal y postnatal programa una menor producción de NO debido mayormente a disminución de la actividad de la isoforma endotelial que asociado al aumento de los niveles de lipoperoxidación y la alteración de los sistemas antioxidantes, estaría determinando la menor biodisponibilidad de NO tisular. Esta disminución del sistema del NO en conjunto con otros mecanismos humorales, inflamatorios y apoptóticos, estarían contribuyendo a las alteraciones estructurales y funcionales observadas en los machos adultos.

B05. PAPEL DE LA PROTEÍNA CINASA C (PKC) EN EL EFECTO CARDIOPROTECTOR DEL PRE Y POSTACONDICIONAMIENTO ISQUÉMICOS EN RATAS HIPERTENSAS ESPONTÁNEAS (SHR)

L.F. González Arbeláez y S.M. Mosca

Centro de Investigaciones Cardiovasculares, CCT La Plata-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

El objetivo de este estudio fue determinar la participación de la PKC en dos protocolos de pre (PI y 3PI) y el postcondicionamiento isquémicos (POS) en un modelo de isquemia global en SHR. Para ello, corazones aislados y perfundidos según la técnica de Langendorff fueron asignados a los siguientes grupos experimentales: 1) Control isquémico (CI): 45 min de isquemia global (IG) y 1 h de reperfusión (R); 2) PI: se aplicó un ciclo de IG-R de 5 y 10 min, respectivamente previo a la IG45; 3) 3PI: se aplicaron 3 ciclos de IG-R de 2 y 5 min, respectivamente antes de la IG45 y 4) POS: se aplicaron al comienzo de la reperfusión 3 ciclos de IG-R de 30 seg cada uno. Estos protocolos se repitieron en otros corazones los que fueron tratados con 1 μ M de celeritrina (Cel, bloqueante de PKC) durante 15 min según 3 esquemas: a) CI: 15 min antes de la IG45; b) Cel+PI y Cel+3PI: los últimos 5 min de la estabilización y 10 min durante la reperfusión y/o reperfusiones previas a la IG45; c) Cel+POS: 15 min antes de la IG45. Al final de la reperfusión se midió el tamaño del infarto (TI) por tinción con sales de tetrazolio y el contenido de las formas fosforiladas en relación a las totales de PKC, fosfoinositol 3-cinasa (PI3K/Akt) y glucógeno sintetasa cinasa-3 β (GSK-3 β) por Western blot. El PI, 3PI y POS redujeron significativamente el TI ($33 \pm 1\%$, $34 \pm 2\%$ y $36 \pm 4\%$ vs $53 \pm 3\%$ en el grupo CI). El agregado de Cel no modificó el TI del grupo CI pero anuló la protección dada por las tres intervenciones siendo el TI de $58 \pm 7\%$, $53 \pm 1\%$ y $54 \pm 1\%$ en los grupos Cel+PI, Cel+3PI y Cel+POS, respectivamente. La expresión de P-PKC, P-Akt y P-GSK-3 β disminuyó en el grupo CI ($59 \pm 2\%$, $41 \pm 1\%$ y $34 \pm 2\%$, respectivamente). El PI, 3PI y POS aumentaron entre un 30 a 60% el contenido de las 3 cinasas. Cuando la PKC fue bloqueada (Cel+PI, Cel+3PI y Cel+POS) el contenido de P-PKC disminuyó, el de P-GSK-3 β no se modificó y el de P-Akt aumentó. Este estudio demuestra que el POS y ambos protocolos de PI reducen en un porcentaje similar la muerte celular miocárdica producida por isquemia-reperfusión en SHR y que este efecto cardioprotector estaría mediado por vías de señalización que involucran a la PKC y en las cuales participan Akt y GSK-3 β .

B06. PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA MELANOCÓRTICO EN LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE TRH EN LA RATA SHR

M.S. Landa, L.S. Peres Díaz, M.L. Schuman, M.B. Garassino, S.I. García y C.J. Pirola

Instituto de Investigaciones Médicas "Alfredo Lanari", IDIM-CONICET.

En la regulación de la ingesta calórica y el gasto energético participan diversos sistemas de péptidos orexígenos y anorexígenos modulados por leptina, la hormona liberada por adipocitos. Hemos descripto que el efecto hipertensor de la leptina es mediado por TRH con el consecuente aumento de catecolaminas. También se ha descripto que los receptores melanocórticos participan de la respuesta presora de la leptina. Dado que aún no existen evidencias del conector fisiológico entre los efectos cardiovasculares de la leptina con el consecuente aumento de la actividad simpática, postulamos que la hipertensión inducida por leptina estaría mediada por la TRH diencefálica (TRHd) a través de receptores melanocórticos tipo 4 (MC4-R). Así, evaluamos la participación del sistema melanocórtico en la regulación de la presión arterial (PA) en el modelo de rata SHR que presenta una hiperactivación del sistema de TRH hipotetizando que debería encontrarse aumentado respecto a las ratas WKY. Para ello, sacrificamos ratas SHR y WKY adultas, se extrajo RNA de diencefalo a partir del cual se obtuvo cDNA para la cuantificación de la expresión de genes mediante PCR en tiempo real utilizando HPRT como control de carga. Como previamente publicamos, la expresión de TRH fue significativamente mayor en las SHR vs WKY ($0,0356 \pm 0,0064$ vs $0,0273 \pm 0,0040$, $p < 0,05$, $n = 5$). De acuerdo con nuestra hipótesis, se observaron niveles mayores de expresión de POMC en las ratas SHR en relación a las WKY ($0,0431 \pm 0,0108$ vs $0,0277 \pm 0,0042$, $p < 0,05$, $n = 5$). Lo mismo fue observado al evaluar la expresión del MC4-R. Para confirmar la participación del MC4-R en la hipertensión de este modelo, realizamos inyecciones intracerebroventriculares (icv) en ratas SHR y WKY con un antagonista de MC3/4-R (SHU). Se implantó una cánula guía en tercer ventrículo que nos permitió realizar inyecciones en el animal despierto. Se registró el peso corporal, consumo de alimento y presión arterial mediante método plestomográfico (CODA System) en condiciones basales y a las 24h de la inyección de SHU ($0,6 \text{ nmol}/5 \text{ ul}$) o solución fisiológica (5 ul) como control. De acuerdo a lo esperado, el SHU generó un aumento en el consumo de alimento y peso corporal respecto al basal, indicando la efectividad del tratamiento; y también disminuyó la presión media, sistólica y diastólica en las ratas SHR ($\# p < 0,05$, $n = 5$). Los resultados se expresan como media \pm ES, ANOVA, test de Fisher. Al evaluar la expresión de genes en diencefalo mediante PCR en tiempo real observamos, de acuerdo a nuestra hipótesis, que la disminución de la PA en el grupo SHR-SHU se acompañó de una disminución en la expresión de TRH respecto a SHR-SF ($*p < 0,05$, $n = 5$). Demostramos por primera vez que la expresión de componentes del sistema melanocórtico se encuentran aumentados en el diencefalo de la rata SHR sugiriendo un aumento en la actividad de este sistema y pos-

tulamos que la TRH mediaría la acción hipertensora del sistema melanocórtico ya que el bloqueo de receptores MC4-R disminuye la expresión del tripéptido y reduce significativamente la PA.

B07. LA ROSUVASTATINA DISMINUYE EL DAÑO RENAL ASOCIADO A LA EDAD

J. Alfie¹, M.F. Sirri², M. Gironacci², M. Burzyn², M.C. Morales³, G. González³, M. Giménez^{1,5}, A. Gallo^{4,5} y N. Basso^{3,5}

¹Hospital Italiano de Buenos Aires. ²Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA. ³Instituto de Fisiopatología Cardiovascular (INFICA), Facultad de Medicina, UBA. ⁴Centro Médico Dr. Carlos María Taquini. ⁵AFIC.

Introducción: Las estatinas ejercen una acción nefroprotectora en varios modelos de injuria renal como nefropatía diabética y nefrectomía subtotal. El bloqueo de los receptores AT1 ejerce un efecto protector en el deterioro renal por envejecimiento.

Objetivo: Evaluar el efecto nefroprotector de la rosuvastatina en ratas añosas y su relación con los niveles de receptores AT1 y AT2 de angiotensina II.

Métodos: Estudiamos ratas Wistar macho que recibieron agua ($n = 20$) o rosuvastatina 20 mg/Kg/día en el agua de bebida desde el destete hasta los 18 meses ($n = 20$). El contenido proteico de los receptores AT1 y AT2 se evaluó en la corteza renal por western blot (wb). La PA se midió por el método de la cola con el animal despierto. La severidad del daño histológico renal se estratificó en una escala del 0 al 3 (Toxicologic Pathology. 2002;30:93-6). Los datos están expresados como media \pm desvío estándar. Para las comparaciones se utilizó t-test de Student y test de Kruskal-Wallis.

Resultados: A los 18 meses de edad, la PAS ($116 \pm 13,6$ vs $119 \pm 15,9 \text{ mmHg}$), el ventrículo izquierdo ($1,81 \pm 0,11$ vs $1,77 \pm 0,10 \text{ g/kg}$) y los riñones (izquierdo $3,10 \pm 0,3$ vs $2,96 \pm 0,22 \text{ g/kg}$), fueron comparables entre los grupos control y rosuvastatina respectivamente. El tratamiento con rosuvastatina se asoció a menor fibrosis intestinal ($p = 0,026$) y periglomerular ($p = 0,033$), y menor atrofia tubular ($p = 0,011$), sin diferencias significativas en el infiltrado inflamatorio. La rosuvastatina también redujo la excreción de proteínas ($18 \pm 4,7$ vs $13 \pm 1 \text{ mg de proteína/mg de creatinina}$, $p = 0,018$) sin diferencia significativa en la creatinina ni en el colesterol plasmático. En los controles, el contenido proteico de receptores AT1 aumentó $4,3 \pm 0,7$ veces a los 12 meses, y $3,7 \pm 0,8$ veces a los 18 meses, sin cambio en los receptores AT2. En contra de lo esperado, en animales de 18 meses, el tratamiento con rosuvastatina mostró un aumento adicional del contenido proteico de receptor AT1 de $3,06 \pm 0,86$ veces comparado con el grupo control ($p < 0,05$).

Conclusiones: En ratas normales envejecidas, la rosuvastatina redujo la fibrosis renal, la atrofia tubular y la excreción urinaria de proteínas, mientras que acentuó el aumento en el contenido de receptores AT1.

Tabla B06.

Grupos	Consumo de alimento		PAS		Post ICV
	TRH/HPRT	Basal	Post ICV	Basal	
WKY-SF	$20,3 \pm 2,6$	$20,5 \pm 3,6$	$137,5 \pm 6,2$	$142,3 \pm 4,7$	$0,053 \pm 0,726$
WKY-SHU	$20,0 \pm 2,2$	$26,4 \pm 3,2 \#$	$140,5 \pm 6,2$	$143,5 \pm 4,8$	$0,049 \pm 0,725$
SHR-SF	$22,6 \pm 1,8$	$20,8 \pm 2,1$	$219,1 \pm 5,1$	$227,1 \pm 3,8$	$1,403 \pm 0,592$
SHR-SHU	$21,2 \pm 2,1$	$28,8 \pm 2,9 \#$	$219,4 \pm 6,2$	$196,9 \pm 4,7 \#$	$0,036 \pm 0,649^*$

B08. EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA VASCULAR DE UN NUEVO AGENTE ANTITUMORAL 2-(4-HIDROXIANILINO)-1,4-NAFTOQUINONA EN AORTA DE RATA

J. Palacios¹, J. Benites¹, P. Buc^{1,3}, D. Ríos¹, J. Valderrama¹, A. Paredes², J.L. Vega² y F. Cifuentes²

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad Arturo Prat, Iquique.

²Laboratorio de Fisiología Experimental (EPHYL), Instituto de Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Chile. ³Université Catholique de Louvain, Louvain Drug Research Institute, Toxicology and Cancer Biology Research Group (GTOX), Bruselas, Bélgica.

Introducción: La angiogénesis es uno de los principales mecanismos en el desarrollo y metástasis de los tumores cancerígenos. En células tumorales, el exceso de angiogénesis produce un crecimiento desmesurado de los capilares sanguíneos. Este sistema vascular tumoral desorganizado y disfuncional dificulta la administración de drogas. Por tanto, la normalización de la angiogénesis es un blanco terapéutico importante en el tratamiento del cáncer. Recientemente se ha evaluado el estudio de derivados químicos de la 1,4-naftoquinona como nuevos agentes antitumorales, pero se desconocen sus efectos sobre la angiogénesis. Nuestro laboratorio ha sintetizado y demostrado la capacidad antitumoral de la aminonaftoquinona ([2-(4-hidroxianilino)-1,4-naftoquinona]; Q7), en 3 diferentes líneas celulares tumorales, y su baja citotoxicidad en fibroblastos normales de rata. Uno de los mecanismo de acción de las 1,4-naftoquinonas involucra la ruptura del ADN, por generación de radicales libres, causando apoptosis de las células tumorales. Es sabido que la angiogénesis depende del estado del endotelio vascular, es decir, del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y de la producción de óxido nítrico endotelial. Los vasos sanguíneos nuevos son muy sensibles al óxido nítrico endotelial.

Objetivo: Evaluar el efecto de Q7 sobre la respuesta del endotelio vascular en aorta de ratas hembras inmaduras.

Métodos: Se hicieron experimentos de reactividad vascular en aorta de ratas hembras Sprague-Dawley de 1 mes de edad, estimulando el endotelio vascular con distintas sustancias vasoactivas. En algunos casos se preincubó el anillo aórtico, durante 20 minutos, con Q7 (10^{-6} y 10^{-5} M).

Resultados: Los resultados muestran que el efecto máximo vasodilatador endotelial a 10^{-5} M de acetilcolina (ACh) en anillos aórticos (pre-contraídos con 10^{-6} M fenilefrina) disminuyó significativamente (42%) en presencia de 10^{-5} M de Q7. La sensibilidad (EC_{50}) a acetilcolina disminuyó significativamente en presencia de Q7 ($81 \pm 3,3$ nM control vs $22 \pm 6,9$ nM con Q7; $p \leq 0,05$). La respuesta vasodilatadora a 10^{-8} M nitroprusiato de sodio (un donador de óxido nítrico) fue completa en ambos casos, recuperándose el efecto vasodilatador en el anillo preincubado con Q7. La respuesta contráctil a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} M) aunque aumentó ligeramente en un 10% en presencia de Q7, no fue significativa. Las aortas control presen-

taron oscilaciones contráctiles rítmicas (vasomoción) a ACh 10^{-5} M, que en presencia de Q7 disminuyeron significativamente (amplitud de las oscilaciones 140 ± 18 mg control vs 56 ± 10 mg con Q7; $p \leq 0,05$). La adición de SNP 10^{-8} M recuperó la amplitud de las oscilaciones contráctiles rítmicas en presencia de Q7. Las oscilaciones vasculares contráctiles rítmicas son debidas al movimiento del calcio citosólico.

Conclusión: En conclusión, la aminonaftoquinona Q7 produce una disminución de la vasodilatación endotelial, posiblemente a través de una disminución de la liberación de óxido nítrico. Además, Q7 altera las oscilaciones rítmicas contráctiles, sugiriendo una disminución del movimiento del calcio citosólico.

B09. HIPOTIROIDISMO Y ÓXIDO NÍTRICO: ADAPTACIÓN CARDIOVASCULAR AL SHOCK HEMORRÁGICO DURANTE EL AVANCE DE LA EDAD

F. Detomaso, P. Braga, L. Rodríguez, M. Cufre Barbieri, P. Urrere, A. Moyano, A. Balaszczuk y A. Fellet

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, IQUIMEFA-CONICET.

Introducción: Demostramos que el óxido nítrico (NO) es un importante modulador de la actividad marcapaso y de la fuerza de contracción del corazón. Las hormonas tiroideas y el avance de la edad modificarían esta modulación. En este trabajo se pretende evaluar la participación del NO en los cambios hemodinámicos inducidos por la pérdida aguda de sangre en ratas hipotiroideas jóvenes y adultas.

Métodos: Ratas macho Sprague-Dawley eutiroideas (E) e hipotiroideas (h) de 2 (jóvenes) y de 18 meses de edad (adultas) fueron divididas en grupos ($n = 7$ /grupo): control (C); hemorragia (H) (pérdida aguda de sangre del 20% de la volemia); control con L-NAME (CL-NAME) y hemorragia con L-NAME (HL-NAME). El hipotiroidismo se indujo mediante la administración de metimazol 0,02% en el agua de bebida durante 28 días. El L-NAME fue utilizado como inhibidor inespecífico del sistema del NO (1 mg/kg iv seguido de 0,5 mg/kg.h iv = 100 μ l/h). La presión arterial media (PAM) y la frecuencia cardíaca (FC) se monitorearon continuamente durante 120 minutos. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS Statistics 17.0 (IBM). Los datos se expresaron como la media (X) \pm error estándar de la media (ESM). Para analizar los datos se utilizó el análisis de la varianza de una variable (ANOVA) seguido de un test de Tukey-b para múltiples variables y la prueba T2-Tamhane. Se consideró significativo el 5% de probabilidad (* $p < 0,05$ vs valores basales; # $p < 0,05$ vs h; $\dagger p < 0,05$ vs jóvenes).

Resultados: La PAM y FC basales fueron menores en los adultos y en h. El sangrado provocó una hipotensión inmediata seguida de una estabilización de dicho parámetro en todos los animales. Los E adultos presentaron mayor hipotensión inicial y tiempo de estabilización. Los animales jóvenes hH recuperaron los valores basales de PA. La H indujo una respuesta bradicardizante inicial seguida de una taquicardia gradual. La bradicardia fue mayor en los E jóvenes. El h disminuyó esta respuesta sólo en los jóvenes. El L-NAME anuló los cambios en la FC luego de la hemorragia.

Conclusiones: El déficit de hormonas tiroideas atenúa la respuesta adaptativa del sistema cardiovascular ante el shock hemorrágico, aumentando los tiempos de estabilización de los parámetros hemodinámicos estudiados. La hipotensión inmediata inducida por la hemorragia sería independiente del NO; no siendo así la que se observa luego de este período. El NO sería uno de los factores que estaría modulando la respuesta de la FC ante el shock hemorrágico independientemente del estado tiroideo y de la edad

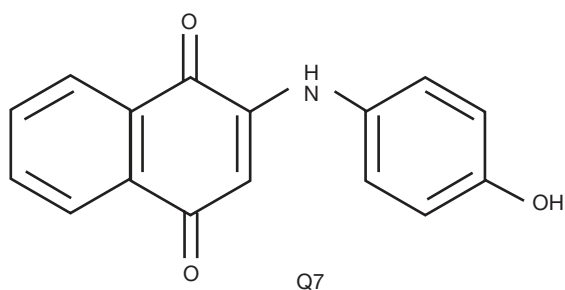


Figura B08. Estructura de 2-(4-hidroxianilino)-1,4-naftoquinona.

Tabla B09.

Grupos	FC jóvenes				FC adultos			
	Basal	5 min	120 min	Tiempo de estabilización	Basal	5 min	120 min	Tiempo de estabilización
	(lpm)	(lpm)	(lpm)	(min)	(lpm)	(lpm)	(lpm)	(min)
E H	348 ± 5	255 ± 5*	370 ± 4*	30	305 ± 5†	247 ± 5*	392 ± 5†*	90
E H L-NAME	347 ± 5	347 ± 5	347 ± 5	-	306 ± 5†	306 ± 5†	306 ± 5†	-
h H	214 ± 5#	178 ± 4##	256 ± 5##	70	202 ± 5†#	137 ± 5†##	281 ± 5†##	-
h H L-NAME	215 ± 5#	215 ± 5#	215 ± 5#	-	200 ± 5†#	200 ± 5†#	200 ± 5†#	-

Grupos	PAM jóvenes				PAM adultos			
	Basal	5 min	120 min	Tiempo de estabilización	Basal	5 min	120 min	Tiempo de estabilización
	(mmHg)	(mmHg)	(mmHg)	(min)	(mmHg)	(mmHg)	(mmHg)	(min)
E H	86 ± 2	48 ± 4*	62 ± 2*	45	70 ± 5†	23 ± 3†*	46 ± 2†*	90
E H L-NAME	85 ± 2	45 ± 2*	105 ± 3*	50	71 ± 2†	28 ± 3†*	65 ± 1†*	50
h H	61 ± 5#	36 ± 3##	50 ± 3##	50	48 ± 1†#	25 ± 3†*	40 ± 4†*	-
h H L-NAME	60 ± 3#	24 ± 2##	65 ± 2#	70	47 ± 2†#	28 ± 2*	98 ± 2†##	-

B10. EFECTO HIPOTENSOR DE EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO OBTENIDO DESDE *SENECIO NUTANS*, *PARASTREPHIA QUADRANGULARIS* Y *XENOPHYLLUM POPOSUM*

F. Muñoz¹, L. Carvajal¹, A. Paredes², G. Morales², J.L. Vega¹ y F. Cifuentes¹

¹Laboratorio de Fisiología Experimental (EPHYL); ²Laboratorio de Química Biológica, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Chile.

Introducción: Las comunidades Alto-Andinas de la II región de Chile utilizan infusiones de *Senecio nutans* (Sn), *Parastrephia quadrangularis* (Pq) y *Xenophyllum poposum* (Xp) como plantas medicinales para tratar problemas relacionados con el “mal de altura”, alteraciones respiratorias, hipertensión, entre otros. De los extractos obtenidos de cada una de ellas, se describen propiedades antioxidantes, miorelajante en anillos de aorta aislada de rata.

Objetivo: Determinar el efecto hipotensor del extracto hidroalcohólico obtenido de Sn, Pq y Xp en ratas normotensas in vivo.

Métodos: Se determinó la presión arterial en ratas Sprague Dawley (3-5 meses) anestesiadas con Ketamina/Xilacina (3:1), el primer grupo en ratas anestesiadas, con canulación carotídea y femoral en el cual se inyectaron los extractos en dosis creciente cada 10 min. En un segundo grupo se determinó la presión arterial en ratas no anestesiadas, con canulación carotídea previa (12 horas antes de la medición) y los extractos fueron administrados durante 4 semanas mediante vía gástrica a una dosis de 40 mg/kg peso rata. En un tercer grupo se determinó la presión arterial en ratas no anestesiadas, con canulación carotídea previa (12 horas antes de la medición) y los extractos fueron administrados mediante dosis acumulativas vía gástrica cada 3 horas. Para la canulación de la vena femoral derecha y la arteria carótida izquierda fueron utilizados los catéteres PE-10 y PE-50 respectivamente con suero heparinizado (50 UI/ml). La presión arterial fue registrada mediante un transductor de presión (TSD120 (BIOPAC System Inc., USA)), acoplado a un amplificador DA100C y sistema de adquisición de datos Biopac (BIOPAC System Inc., USA). Los datos fueron analizados mediante el software AcqKnowledge 3.9.1.5 para Windows (BIOPAC Systems Inc.).

Resultados: El tratamiento agudo vía femoral en ratas anestesiadas causó un efecto hipotensor transiente y dosis dependiente en los

3 extractos estudiados (10, 20 y 40 mg/Kg), el extracto Ha de Sn, Pq y Xp disminuyeron en un χ asi55%, χ asi39% y χ asi58% respectivamente a la máxima dosis administrada. Por otra parte, el tratamiento crónico de 4 semanas no modificó los valores de presión diastólica (PD), presión sistólica (PS) y presión arterial media (PAM). La administración aguda vía gástrica de Sn no modificó los valores de presión arterial, sin embargo, el extracto Pq disminuyó la PD en χ asi44% y la PS en χ asi23,9% a la máxima dosis utilizada (300 mg/Kg), y Xp redujo tanto la PD y PS en un χ asi54% y χ asi30% respectivamente.

Conclusión: La administración aguda vía femoral provocó una reducción de la presión arterial con los 3 extractos. El tratamiento crónico no modificó los parámetros de la presión arterial de ningún extracto, y la administración aguda por vía gástrica sólo de *Parastrephia quadrangularis* y *Xenophyllum poposum* provocó un efecto hipotensor significativo. Estudios de los compuestos vasoactivos presentes en los extractos estudiados podrían permitir el desarrollo de nuevos fármacos naturales para el tratamiento de la hipertensión arterial.

Agradecimientos: Fondo de Investigación para el Desarrollo de Tesis de Grado de la Universidad de Antofagasta, otorgados a F. Muñoz.

B11. CAPACIDAD MIORELAJANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE 3 ESPECIES HERBÁCEAS DEL BOSQUE VALDIVIANO CHILENO

D. Rojo¹, F. Cifuentes¹, A. Paredes² y F. Romero³

¹Laboratorio de Fisiología Experimental, (EPHYL); ²Laboratorio de Química Biológica, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. ³Laboratorio de Neurociencias, Universidad de La Frontera, Facultad de Medicina CEBIOR, Temuco, Chile.

Introducción: Bollén (*Kageneckia oblonga* (Ko)), Maqui (*Aristotelia chilensis* (Ac)) y Quintral (*Tristerix tetrandrus* (Tt)) son plantas del sur de Chile las cuales se les atribuyen propiedades medicinales. Bollén, se usa principalmente como laxante y vomitivo. Maqui, el jugo de sus hojas es usado para enfermedades de la garganta y la infusión de estas han sido utilizadas para tumores, diarrea, como analgésico y febrífugo. Quintral es utilizado para normalizar la irrigación cerebral, mejorar la memoria y disminuir los

problemas de jaqueca, también como astringente al igual que el fruto del maqui.

Objetivo: Determinar el efecto miorrelajante de extracto hidroalcohólico de Ko, Ac y Tt utilizando reactividad *in vitro* en tráquea y aorta de rata.

Métodos: El extracto fue preparado de la parte aérea de cada planta en estudio. Hojas, ramas, flores y frutos fueron recolectados en la ciudad de Temuco, secadas a la sombra, posteriormente molidas y remojadas 24 horas en una mezcla 1:1 de etanol-agua. Se filtra con gasa estéril y sometida a rotavapor giratorio para reducir el volumen de solvente. Por último liofilizada y almacenada en refrigerador a 4 °C hasta su utilización. Anillos de aorta y tráquea de rata de 2-3 mm de longitud, mantenidos en cámaras de órganos aislado, en solución Krebs-Ringer a 37 °C, gasificados con 95% O₂ y 5% CO₂. Los cambios de tensión fueron registrados con transductor de tensión isométrico Radnoti XCDR y equipo de adquisición de datos PowerLab 8/30. Se realizaron tres curvas con KCl 60mM para aortas y 80 mM para tráqueas por 10 minutos para determinar eficiencia mecánica máxima. Los anillos aórticos y traqueales fueron precontraídos con FE 10⁻⁶M y carbacol 10⁻⁶M, respectivamente. Cada extracto fue administrado en dosis única a los anillos, luego de alcanzar su tensión máxima (χ asi15 min).

Resultados: El extracto hidroalcohólico de las tres especies estudiadas producen un claro efecto relajante concentración dependiente en anillos aórticos precontraídos con FE 10⁻⁶M. Ko a concentración única de 1.000 µg/mL generó una relajación de 65% en anillos aórticos intactos y de 20% en anillos aórticos sin endotelio. Por otro lado Ac a una concentración de 1.000 µg/mL también generó relajación, de un χ asi50% en aorta intacta. Interesantemente, Tta 500 µg/mL produjo un claro efecto relajante dependiente de la dosis con un máximo de χ asi80% en anillos intactos, en cambio los anillos aórticos sin endotelio sólo presentaron relajación a partir de 1.000µg/mL. La preincubación de los anillos con L-NAME 10⁻⁴M y ODQ 10⁻⁶M, inhibidores de eNOS y de la Guanilil ciclasa soluble respectivamente bloquearon totalmente el efecto miorrelajante de todos los extractos. Con relación a los 3 extractos estudiados el efecto broncodilatador sólo fue evidente a partir de los 1.000 µg/mL, con valores cercanos al 30%. Al utilizar concentraciones finales de 2.000 µg/mL los extractos produjeron una broncodilatación cercana al 60%.

Conclusiones: Los extractos estudiados presentan un claro efecto vasorelajante dosis dependiente. La remoción mecánica del endotelio o la inhibición farmacológica de la eNOS y Guanilil ciclasa producen una abolición del efecto vasorelajante. En tráquea las concentraciones efectivas que producen broncodilatación se encuentran en rangos superiores a los 1.000 µg/mL.

B12. EFECTO DE EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *SENECIO NUTANS*, *PARASTREPHIA QUADRANGULARIS* Y *XENOPHYLLUM POPOSUM* SOBRE AUTOMATISMO Y CONTRACTILIDAD CARDIACA EN RATA

L. Carvajal¹, F. Muñoz¹, A. Paredes², G. Morales², J.L. Vega¹, M. Boric³, A. Vielma³ y F. Cifuentes¹

¹Laboratorio de Fisiología Experimental (EPhyL), Instituto Antofagasta; ²Laboratorio de Química Biológica, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. ³Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Introducción: Las comunidades precordilleranas de la II región de Chile utilizan *Senecio nutans* (Sn), *Parastrephia quadrangularis* (Pq) y *Xenophyllum poposum* (Xp) conocidas como "Chachacoma", "Tola" y "Popusa" respectivamente, para el tratamiento de distintas afecciones tales como: mal de altura, problemas respiratorios, e hipertensión, entre otros. Por esto es que resulta de gran interés estudiar los efectos de estas plantas sobre automatismo y contrac-

tilidad cardíaca en un modelo de corazón aislado en condiciones controladas y sin influencias neurohumorales.

Objetivo: Estudiar el efecto de cada extracto hidroalcohólico sobre inotropismo y automatismo cardíaco y sobre la contractilidad del músculo papilar.

Métodos: Para evaluar el inotropismo cardíaco, se utilizaron ratas Sprague-Dawley (3 meses) las cuales fueron anestesiadas con ketamina/xilacina (3:1). Posteriormente el corazón fue aislado y perfundido con solución Krebs-Henseleit gasificado con 95% O₂-5% CO₂ y mantenido a 37 °C. El extracto de cada planta se preparó en solución Krebs-Henseleit y perfundido a un flujo de 10 ml/min durante 5 minutos. Todos los experimentos se realizaron a una frecuencia cardíaca constante de 360 latidos por minuto mediante un marcapasos externo. Para evaluar automatismo cardíaco y contractilidad *in vitro*, se aislaron aurícula derecha y músculo papilar los cuales fueron mantenidos en solución Krebs-Ringer a 37 °C, y gasificados con 95% O₂ y 5% CO₂.

Resultados: Se demostró que la perfusión con 100 µg/ml de extracto Sn, Pq y Xp inducen una disminución de la contractilidad cardíaca, lo que se evidenció como una baja de la presión intraventricular izquierda PIV_{máx} (48%, 34% y 24% respectivamente), dP/dt_{máx} (36%, 30% y 18%) y presión coronaria (1%, 21% y 10%). Los extractos de Pq y Sn presentaron un efecto inotrópico negativo importante no así el extracto de Xp es por esto que su estudio en automatismo y contractilidad *in vitro* no fue realizado. En aurícula aislada a 900 µg/mL del extracto de Sn induce una reducción de la frecuencia cardíaca (χ asi34%). Por el contrario, a la misma concentración del extracto de Pq induce un leve aumento (χ asi3%). En músculo papilar a 1.000 µg/mL de Sn causó una disminución de la contractilidad (49%) y a igual concentración del extracto de Pq causó un aumento (χ asi43%) todos estos efectos descritos son dosis dependientes.

Conclusiones: Las infusiones de las plantas evaluadas poseen moléculas con efectos cardíacos importantes. Identificar aquellas moléculas y describir sus mecanismos podrían permitir el desarrollo de nuevos fármacos.

Esta investigación fue realizada con aportes del Fondo de Investigación para el Desarrollo de Tesis de Grado de la Universidad de Antofagasta, otorgados a L. Carvajal.

B13. ACTIVIDAD BIOLÓGICA SOBRE MÚSCULO LISO DE RATA DE TRES EXTRACTOS OBTENIDOS DE CÁSCARA DE LIMÓN DE PICA (*CITRUS AURANTIFOLIA* [CHRISTM] SWINGLE ECOTIPO PICA)

P. Piñol, G. Garrido y F. Cifuentes

Laboratorio de Fisiología Experimental (EPhyL), Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Angamos, Chile.

Introducción: Los problemas económicos y ecológicos causados por los residuos generados por la agricultura y la industria alimentaria podrían ser minimizados utilizando éstos para obtener productos de alto valor agregado. Existen reportes de la presencia de polifenoles en estos residuos y de su actividad cardiovascular. Esta actividad dependerá de la técnica de extracción utilizada. Recientemente, se ha conocido de la aplicación de técnicas no convencionales de extracción (TNCE), tales como microonda (MW) o ultrasonido (US), con las que se obtienen altos rendimientos de polifenoles. En el norte de Chile existe gran demanda del limón de Pica, por lo que el aprovechamiento de residuos de este fruto, con alto contenido de polifenoles, es de considerable interés.

Objetivo: Estudiar la actividad dilatadora sobre la musculatura lisa de rata de extractos de cáscara de limón de Pica, obtenidos por TNCE y evaluar las eventuales diferencias de sus efectos dilatadores.

Métodos: Se utilizaron anillos de tráquea intactos y de arteria aorta, con y sin endotelio, de ratas Sprague-Dawley, mediante la técnica de reactividad vascular y traqueal in vitro. El sistema utilizado estuvo integrado por: ocho baños para órganos aislados Radnoti, transductores de tensión isométricos Radnoti XCDR 159901A, sistema de adquisición de datos PowerLab 8/30 y software de interpretación de datos Lab Chart 7 Pro ADI Instruments. Anillos de aorta torácica y de tráquea de 3-4 mm de longitud, fueron mantenidos en solución Ringer Krebs, a 37 °C, gasificados con 95% O₂ y 5% CO₂. La remoción del endotelio se realizó mecánicamente con algodón y su ausencia se comprobó relajando con acetilcolina 10⁻⁶ M al final de cada experimento. Los anillos aórticos o traqueales fueron pre-contráidos con 1 µM de fenilefrina o carbachol, respectivamente. La respuesta miorelajante se estudió agregando dosis crecientes (0,001-3 mg/ml) de los extractos obtenidos por maceración (MA) y extracciones asistidas por MW y US (metanol-agua, 8:2).

Resultados: Todos los extractos mostraron efecto relajante tanto en aorta como en tráquea de rata. La vaso relajación observada para una concentración de 1,5 mg/ml fue: 30% (EC₅₀ 1.967 ± 1.224 µg/ml) para MW, 52% (EC₅₀ 958 ± 235 µg/ml) para MA, y 65% (EC₅₀ 679 ± 196 µg/ml) para US. La sensibilidad del tejido no fue diferente para las metodologías utilizadas en la preparación del extracto. La ausencia del endotelio no afectó a la respuesta vascular. En tráquea el efecto máximo relajante se logró con 500 µg/ml del extracto US (EC₅₀ 253 ± 36 µg/ml), mientras que con las otras dos metodologías la relajación completa se logró con concentraciones mayores a 3.000 µg/ml: MA (EC₅₀ 495 ± 69 µg/ml) y MW (EC₅₀ 455 ± 79 µg/ml). La sensibilidad del tejido traqueal al extracto obtenido por el método US fue mayor que en los otros dos métodos.

Conclusiones: Estos resultados permiten respaldar la idea del uso etnomédico que se le atribuye a la cáscara de limón de Pica. El extracto obtenido por el método US presentó mejor capacidad relajante tanto en aorta como en tráquea. En la aorta el efecto vasorelajante es independiente del endotelio, probablemente el efecto sea directamente sobre el músculo liso vascular debido a polifenoles presentes en el extracto.

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1130601- Chile.

B14. EFECTO VASODILATADOR DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE SEMILLA Y HOJA DE *PERSEA AMERICANA* VAR. *HASS* (PALTA HASS)

N. Conley^{1,2}, G. Garrido¹, P. Pozo¹ y F. Cifuentes²

¹Laboratorio de Productos Naturales, Universidad Católica del Norte. ²Laboratorio de Fisiología Experimental, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Chile.

Introducción: Conocida es la capacidad broncodilatadora que posee la hoja del árbol de la palta Hass, ya que su uso en la medicina naturista de nuestro país ha ido en aumento junto con el auge de los medicamentos a base de principios activos de productos naturales. Es por esto que surge la idea de probar dicho extracto de hoja en otros órganos, como la arteria aorta, en busca de diferentes propiedades, y además comprobar si el fruto de *Persea americana* var. *Hass* tiene las mismas o mejores características medicinales que la hoja.

Objetivo: Determinar la actividad vasodilatadora de los extractos hidroalcohólicos (etanol 70%) de hoja y semilla de palta Hass obtenidos por medio de maceración por saturación.

Métodos: Se midió dicha actividad de manera *in vitro* mediante la técnica de reactividad vascular por medio de transductores de tensión isométricos Radnoti XCDR conectados al módulo de adquisición de datos PowerLab 8/30y al software de interpretación de datos Lab Chart 7 Pro ADI Instruments. Para esto fueron utilizados anillos de arteria aorta con y sin endotelio de ratas Sprague-Dawley

de entre 3 y 5 meses, de 3-4 mm de longitud, los que se mantuvieron en una solución Ringer Krebs a 37,4 °C dentro de cámaras de órgano aislado, los que además fueron oxigenados con 95% O₂ y 5% CO₂. En los experimentos realizados con arterias sin endotelio éste fue removido de manera mecánica por medio de un hisopo de algodón, el que fue introducido en los anillos y luego girado para extraer el endotelio y para comprobar su ausencia los anillos fueron relajados con acetilcolina 10⁻⁶ M al final del experimento. Los extractos fueron agregados en dosis acumulativas en anillos pre-contráidos con fenilefrina (FE) 10⁻⁶ M.

Resultados: Se observó que a concentraciones crecientes (0,1-1-10-100-1.000 µg/mL), el efecto máximo fue a la concentración de 100 µg/mL para ambos extractos en aortas intactas: con semilla (E_{max} 90,792%; EC₅₀ 23,970 µg/mL) y hoja (E_{max} 90,701%; EC₅₀ 30,110 µg/mL). En aortas sin endotelio el extracto de semilla no tiene un efecto relajante importante a 100 µg/mL (E_{max} 10,313%; EC₅₀ 100,10 µg/mL), sin embargo, el extracto hidroalcohólico de la hoja sí presenta una actividad relevante, pero con porcentajes de relajación menores a los resultados obtenidos en aortas con endotelio (E_{max} de 68,830% y un EC₅₀ de 235,6 µg/mL para 1.000 µg/mL).

Conclusiones: El extracto de hoja de *Persea americana* var. *Hass* podría considerarse como una alternativa importante al tratamiento alternativo de la HTA (hipertensión arterial) en humanos. Se sabe que en esta enfermedad presenta una disfunción del endotelio, razón por la que una sustancia que sea capaz de relajar directamente el músculo liso vascular nos motiva a realizar nuevos estudios.

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1130601.

B15. INTERACCIÓN ENTRE ÓXIDO NÍTRICO Y DEPURACIÓN DE SODIO EN DOS MODELOS DE HTA

A. Navarro, H. Chaban, S. Llicas, S. Karbinger, R. Maraño, C. Joo Turoni y M. Peral de Bruno

Departamento Biomédico-Or Fisiología, Facultad de Medicina-UNT, INSIBO-CONICET, Tucumán.

Introducción: En ratas, el L-NAME (RL) produce un modelo de hipertensión arterial (HTA) por inhibición crónica de óxido nítrico (NO), y la DOCA asociada a ingesta de NaCl (DOCA-sal: RD) produce HTA volumen-dependiente. El NO presenta efectos vasorelajantes y natriuréticos. En riñón, se demostró una producción de NO por activación de NO sintasa neuronal (nNOS). Los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan y mantienen HTA en ambos modelos no están claros.

Objetivo: Evaluar la interacción entre el NO renal y vascular y la depuración de sodio (Na) en los modelos de HTA: RL y RD.

Métodos: A ratas Sprague Dawley jóvenes se les administró L-NAME (50 mg/100 ml) en agua de bebida por 40-50 días (RL) o DOCA (12,5 mg/Kg c/2 días) y 1,5% de NaCl en el agua de bebida por 40-50 días (RD). Se midió presión arterial media (PAM). Se determinó Na plasmático y urinario por fotometría de llama. Se midió nitritos en aorta torácica (no raspada y raspada), riñón (corteza y medula) y orina por reacción de Griess. Se midió clearance de creatinina, Na y agua libre. Se realizó tinción con anticuerpos anti-nNOS en cortes de riñón. Se compararon los resultados con ratas controles (RC).

Resultados: La PAM se elevó en RL (192 ± 9 mmHg; n = 9) y RD (148 ± 6 mmHg; n = 9) respecto a RC (p < 0,01 y p < 0,05 respectivamente). En RC los niveles de Na plasmáticos fueron 137,8 ± 2 mEq/L (n = 9) y se elevaron en RL (148 ± 5 mEq/L; p < 0,05) y RD (147 ± 3 mEq/L; p < 0,05). El clearance de Na se elevó en RD (p < 0,03) y no se modificó en RL (p:NS) respecto a RC. El clearance de creatinina no se modificó en RL y RD. El clearance de agua libre se incrementó en las RD (p < 0,01) y no se modificó en

RL (p : NS) respecto a RC. En aortas de RC los niveles de nitritos fueron 6.928 ± 578 pmol/mg de tejido; $n = 9$. Estos valores disminuyeron en RD (5.306 ± 399 pmol/mg de tejido; $n = 6$; $p < 0,05$) y en RL (3.728 ± 317 pmol/mg de tejido; $n = 6$; $p < 0,001$ vs RC y $p < 0,05$ vs RD). Las maniobras de raspado disminuyeron los nitritos sólo en RC ($p < 0,001$) y RD ($p < 0,05$). En corteza y médula renal, las RL presentaron menores niveles de nitritos ($p < 0,001$), mientras que éstos se incrementaron en RD ($p < 0,05$). Los nitritos urinarios solo disminuyeron en RL ($p < 0,05$) respecto a RC. Las RC presentaron tinción de anti-nNOS principalmente en túbulo renales (21,3% del área). Las RL presentaron similares valores ($21,7 \pm 3,1\%$; p : NS) y las RD aumentaron el área teñida ($41,1 \pm 4,6\%$; $p < 0,01$).

Conclusiones: En este trabajo encontramos que las RD elevan menos la presión arterial que las RL. Si bien los niveles de NO vascular se encuentran disminuidos en ambos modelos, sólo las RD incrementan los niveles de NO renal con valores aún mayores que las RC, este hecho junto a la observación de una mayor área de tinción de nNOS en túbulo renales y un mayor clearance de Na y de agua libre en RD indicarían un efecto natriurético contrabalanceador del NO renal, mecanismo que estaría presente cuando hay una función renal conservada.

B16. EFECTO DE LA INSULINA SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR EN UN MODELO DE SÍNDROME METABÓLICO INDUCIDO POR "DIETA DE CAFETERÍA"

S. Llicas, C. Joo Turoni, A. Navarro, H. Chaban, S. Karbinder, R. Maraño, C. Alonso y M. Peral de Bruno

Departamento Biomédico-Or Fisiología, Facultad de Medicina-UNT, INSIBO-CONICET, Tucumán.

Introducción: In vitro se ha demostrado que la insulina, en presencia de endotelio funcionante produce vasodilatación por liberación de óxido nítrico (NO), sin embargo este efecto no ha sido bien estudiado en la hipertensión arterial (HTA) asociada al síndrome metabólico (SM). El modelo de ratas alimentadas exclusivamente con dieta de cafetería (CafR) se ha propuesto para estudiar el SM y la resistencia a la insulina.

Objetivo: Evaluar el rol de la insulina sobre el tono basal (TB) arterial y la reactividad vascular en aortas aisladas de CafR.

Métodos: Ratas Wistar de 6 meses de edad se alimentaron 24 semanas con dieta de cafetería (CafR). Se registraron peso, ingesta de agua y alimento. Al finalizar se midió presión arterial media (PAM), glucemia, insulinemia, índice de HOMA, lipidograma, tolerancia a sobrecarga de glucosa (TSG). Después del sacrificio en anillos de aorta torácica se evaluó TB como respuesta a nitroprusiato de sodio (SNP 10^{-5} M) y Krebs sin calcio + EGTA (0 Ca^{++}), reactividad a noradrenalina (NE 10^{-8} - 10^{-4} M), a KCl 100 mM y función endotelial (% de respuesta a acetilcolina: Ach sobre precontractura a NE 10^{-5} M). Se evaluó respuesta a insulina exógena sobre la reactividad vascular. Se calculó nitritos por reacción de Griess. Se comparó con ratas controles (RC).

Resultados: Las CafR presentaron mayor peso corporal (RC: 223 ± 8 g vs CafR: 245 ± 5 ; $p < 0,05$), PAM (RC: 109 ± 1 mmHg; $n = 7$ vs CafR: 138 ± 6 ; $n = 7$; $p < 0,001$), colesterol total y triglicéridos y menores valores de HDL con TSG y HOMA (RC: $2 \pm 0,5$; $n = 7$ vs CafR: 11 ± 1 ; $n = 7$; $p < 0,001$) alterados. Los anillos aórticos de CafR presentaron mayor TB: La respuesta a SNP fue -41 ± 15 mg; $n = 7$ en RC vs -786 ± 216 mg; $n = 6$ en CafR ($p < 0,01$) y a 0 Ca^{++} fue -154 ± 83 mg en CafR ($p < 0,03$). Las CafR presentaron menor reactividad a NE (RC Rmax: 2.466 ± 216 mg; $n = 7$ vs CafR: 1.240 ± 340 mg; $n = 7$; $p < 0,05$) y a KCl ($p < 0,05$). La respuesta a Ach fue $-38,8 \pm 8,8\%$ en RC; $n = 7$ y $-11,2 \pm 4,3\%$ en CafR; $n = 7$ ($p < 0,03$). Las RC presentaron mayores nitritos (RC: 10.269 ± 488 pmol/mg tejido; $n = 7$ vs

CafR: 1.843 ± 350 ; $n = 7$; $p < 0,001$). Solo en RC la insulina exógena tuvo efecto vasorelajante a una precontractura a NE (RC: $-20 \pm 7\%$; $n = 7$ vs CafR: $0,5 \pm 1,3\%$; $n = 7$; $p < 0,01$). Solo en CafR la preincubación con insulina disminuyó el TB (-197 ± 51 mg; $p < 0,001$) sin modificar la hiporeactividad a NE.

Conclusiones: La dieta de cafetería produce un aumento de las cifras tensionales, dislipemia e insulinoresistencia. Los vasos presentaron una reactividad alterada evidenciada por disfunción endotelial e hiporeactividad a constrictores exógenos. Estas observaciones apoyan la hipótesis de un TB incrementado, consistente con respuesta a SNP, o Ca^{++} e insulina exógena asociada a un incremento de presión arterial. Sin embargo la hiporeactividad a NE podría involucrar también aumento de la actividad simpática endógena, como fue previamente reportado en modelos de CafR. El hecho que solo en RC la insulina exógena relaje la precontractura y disminuya la reactividad a NE indicaría que la resistencia a la insulina generada en este modelo afectaría la capacidad de esta hormona de liberar NO a partir del endotelio.

B17. LA ANGIOTENSINA-(1-7) ESTIMULA LA TRANSLOCACIÓN DEL RECEPTOR MAS AL NÚCLEO CELULAR EN NEURONAS DE RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS

M. Cerniello, N. Longo Carbajosa, A. Costa y M. Gironacci

IQUIFIB, Departamento de Química Biológica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Introducción: El clásico eje presor del sistema renina angiotensina (SRA) constituido por la enzima convertidora de angiotensina (ECA) 1, la angiotensina (Ang) II y el receptor (R) AT1 se encuentra contrabalanceado en situaciones fisiológicas por el eje depresor: ECA 2/ Ang-(1-7)/ R Mas. En la hipertensión arterial existe una sobreactivación del eje presor en detrimento del eje depresor lo que conduce a un desequilibrio entre los dos brazos del SRA. Esta menor actividad del eje depresor podría estar dada por una regulación diferencial del R Mas en la hipertensión arterial. Para evaluar esta hipótesis, en el presente trabajo se estudió la expresión y el tráfico del R Mas a nivel central en un modelo animal de hipertensión arterial.

Métodos: Se obtuvieron cultivos primarios de neuronas de hipotálamo y tallo cerebral de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y de ratas normotensas (WKY) de 1-4 días. Las neuronas así obtenidas se utilizaron para evaluar la expresión del R Mas, por western blot y por cuantificación de la inmunofluorescencia utilizando el software Image Pro Plus, y para ensayos de colocalización. Para esto último, las células fueron incubadas con Ang-(1-7) ($1 \mu\text{M}$) durante 15 o 30 min a 37°C . Un grupo de células fueron preincubadas 45 min a 37°C con una sonda fluorescente marcaadora de lisosomas (Lysotracker). Luego, las neuronas fueron fijadas con paraformaldehído 4% y metanol. Se determinó el direccionamiento del R Mas a lisosomas o al núcleo celular por colocalización de este con Lysotracker o Hoechst, respectivamente, utilizando microscopía confocal. La colocalización en cada caso fue evaluada calculando los coeficientes de Manders (colocalización positiva con coeficientes de Manders mayores a 0,6).

Resultados: La intensidad de fluorescencia para el R Mas fue $55,1 \pm 14,7\%$ mayor en las neuronas de hipotálamo y tallo cerebral de SHR respecto de su control ($p < 0,05$, $n = 5$). En concordancia, la expresión del mismo, cuantificada por western blot, se encontró aumentada en neuronas de hipotálamo y tallo cerebral de SHR con respecto a WKY. En condiciones basales (sin estímulo con Ang-(1-7)), no se observó colocalización del R Mas con el núcleo o con los lisosomas. Luego de estimular las células

con Ang-(1-7) durante 15 y 30 min no se observó colocalización del R Mas con los lisosomas tanto en neuronas obtenidas de hipotálamo y tallo cerebral de WKY como de SHR. Sin embargo, luego de un estímulo de 30 min con Ang-(1-7) se observó colocalización del R Mas con el núcleo celular en las neuronas de SHR (coeficiente de Manders $0,68 \pm 0,015$, $n = 11$). Por el contrario, en las neuronas obtenidas de hipotálamo y tallo cerebral de WKY no se observó colocalización del R Mas con el núcleo a los tiempos ensayados.

Conclusiones: El R Mas presenta una regulación diferencial en cuanto a su tráfico: es direccionado hacia el núcleo en las neuronas de hipotálamo y tallo cerebral de SHR mientras que en las normotensas no. Aún resta esclarecer esta regulación diferencial y evaluar si contribuiría en parte al estado hipertensivo de este modelo animal.

B18. EFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN Y DEL SISTEMA DEL ÓXIDO NÍTRICO SOBRE LA ACUAPORINA-1 CARDÍACA DURANTE EL CRECIMIENTO POSNATAL

V. Netti, A. Iovane, L. Alencastro, F. Ochoa, E. Zotta, A. Fellet y A.M. Balaszczuk

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, IQIMEFA-CONICET.

Objetivo: Previamente demostramos que los cambios en la abundancia y localización de la acuaporina-1 (AQP1) cardíaca durante el estrés osmótico *in vivo* dependen de la etapa postnatal estudiada. Nuestro objetivo fue estudiar si durante el crecimiento, el NO regula la abundancia y localización de la AQP1 cardíaca ante un estado hipovolémico por deshidratación.

Métodos: Ratas macho Sprague-Dawley de 25 y 50 días de vida fueron divididas en ($n = 8$): R: restricción de agua durante 72h; C: agua *ad libitum* por 72h; RL: infusión de un inhibidor de la NO sintasa (NOS) L-NAME (4 mg/kg.día, dosis no presora) mediante bombas osmóticas ALZET + restricción de agua por 72h; CL: L-NAME (4 mg/kg.día) + agua *ad libitum* 72h. Se determinaron: hematocrito, peso corporal, presión arterial sistólica, actividad de la NOS y los niveles proteicos (Western Blot) y localización (inmunohistoquímica) de AQP1 en el ventrículo izquierdo.

Resultados: En animales de 25 días, la actividad de NOS se incrementó en respuesta a la restricción de agua, mientras que en animales de 50 días, no se observaron diferencias. El tratamiento con L-NAME fue eficaz para disminuir la actividad de la NOS en CL y RL en comparación con sus respectivos grupos controles. Los niveles proteicos de AQP1 fueron mayores en animales del grupo C25 en comparación con los animales controles de 50 días. En ambos grupos, la AQP1 se localizó principalmente en el endotelio de los vasos cardíacos y endocardio. En respuesta a la restricción de agua, sólo los animales del grupo R50 mostraron un aumento de este canal de agua, asociado a la aparición de esta proteína en la membrana. El tratamiento con L-NAME no modificó los niveles proteicos de AQP1 en los grupos CL y RL de 25 días. Además, el grupo RL25 mostró la localización de esta proteína en el sarcolema. En cambio, los animales del grupo CL50 mostraron un descenso

en los niveles de AQP1 sin modificar la localización de dicho canal. En el grupo RL50 se observó un aumento de los niveles proteicos de AQP1 asociado con una mayor marcación en la membrana plasmática.

Conclusiones: Los cambios en el sistema del NO y la abundancia y localización de la AQP1 durante el estrés osmótico dependen de la edad postnatal estudiada. El sistema del NO estaría involucrado no sólo en la modulación de la abundancia de la AQP1 cardíaca en las etapas más tardías del crecimiento, sino que también afectaría la localización de estos canales durante un estado hipovolémico inducido por estrés osmótico *in vivo*.

B19. HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y REMODELADO VASCULAR: EFECTOS BENEFICIOSOS DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON PÉPTIDO NATRIURÉTICO TIPO C

C. Caniffi, L. Sueiro, F. Muñoz, G. Bouchet, M. Romero, M. Cerniello, A. Reyes, E. Barrionuevo, C. Arranz y M.A. Costa

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, IQIMEFA-CONICET, Universidad de Buenos Aires.

Introducción: El péptido natriurético tipo C (CNP) y el óxido nítrico (NO) poseen efectos sobre el endotelio y el músculo liso vascular siendo dos importantes factores involucrados en la regulación de la presión arterial y la homeostasis cardiovascular. En estudios previos mostramos que la infusión aguda de CNP induce un aumento de la actividad de la isoforma endotelial de la NO sintasa (NOS) vascular en ratas normotensas y espontáneamente hipertensas (SHR).

Objetivo: Estudiar los efectos de la administración crónica de CNP sobre el sistema del NO y la morfología vascular en ratas SHR jóvenes adultas.

Métodos: Ratas macho Wistar normotensas (W) y SHR de 12 semanas de edad recibieron infusión de CNP (0,75 µg/hora) o solución fisiológica (SF, NaCl 0,9% p/v) mediante bombas osmóticas subcutáneas (Alzet) durante 14 días obteniendo cuatro grupos experimentales: W-SF, W-CNP, SHR-SF y SHR-CNP. Al finalizar el tratamiento, se midió la presión arterial sistólica por el método de tail-cuff (PAS, mmHg). Posteriormente los animales fueron sacrificados por decapitación y se extrajo la arteria aorta para determinar: la actividad de la NOS (pmol [U¹⁴C]L-citrulina/g tejido.min) utilizando [U¹⁴C]L-arginina como sustrato. Además se evaluó el espesor de la capa media (µm), y su relación con el diámetro (µm) de la luz (media/luz) en cortes teñidos con hematoxilina-eosina, la densidad de elastina (número de fibras/espesor, µm⁻¹) mediante la tinción de Verhoeff - Van Gieson, y los signos de fibrosis vascular mediante Picrosirius red (área teñida/área total) y la expresión de TGF-β por inmunohistoquímica (área teñida/área total,%). Análisis estadístico: ANOVA dos factores, posttest Bonferroni.

Resultados: Los resultados se expresan como media ± ESM, $n = 6$ ratas/grupo. En la tabla se observa el CNP aumenta la actividad de la NOS en Wistar y SHR, sin embargo dicho incremento fue menor en los animales hipertensos ($\Delta W_{[CNP-SF]} = 104 \pm 6$; $\Delta SHR_{[CNP-SF]} = 84 \pm 5$; * $p < 0,01$ vs ΔW).

Conclusiones: El tratamiento crónico con CNP disminuye la presión arterial sistólica, aumenta la actividad de la NOS en la arteria

Tabla B18.

	C25	CL25	R25	RL25	C50	CL50	R50	RL50
Peso corporal (g)	85 ± 10	90 ± 7	56 ± 6*	57 ± 6*	248 ± 11†	237 ± 12	176 ± 11*	189 ± 6*
Hematocrito (%)	42 ± 2	43 ± 2	55 ± 3*	54 ± 2*	48 ± 2†	48 ± 3	62 ± 2*	61 ± 3*
Presión arterial sistólica (mmHg)	100 ± 5	99 ± 4	127 ± 8*	123 ± 9*	118 ± 2	120 ± 5	137 ± 4*	152 ± 7*

Resultados se expresan como media ± DE. * $p < 0,05$ vs C25; † $p < 0,05$ vs 25 días.

Tabla B19.

	W-SF	W-CNP	SHR-SF	SHR-CNP
PAS	121 ± 3	120 ± 5	178 ± 3*	159 ± 5†
NOS	85 ± 6	189 ± 2*	125 ± 8*	209 ± 5†
Espesor media	66,8 ± 9,0	68,3 ± 2,1	104,9 ± 10,2*	76,2 ± 4,0†
Media/luz	0,035 ± 0,009	0,037 ± 0,006	0,068 ± 0,011*	0,043 ± 0,007†
Densidad de elastina	0,12 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,07 ± 0,01*	0,12 ± 0,01†
Picrosirius red	0,10 ± 0,04	0,08 ± 0,02	0,34 ± 0,01*	0,19 ± 0,03†
TGF-β	1,82 ± 0,64	1,56 ± 0,47	6,07 ± 1,52*	2,51 ± 0,44†

*p < 0,01 vs W-SF; †p < 0,01 vs SHR-SF.

aorta e induce cambios sobre el remodelado vascular, disminuyendo el espesor de la capa media, aumentando la densidad de elastina y disminuyendo los signos de fibrosis, que podrían resultar beneficiosos en este modelo de hipertensión arterial.

B20. LA DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA) PREVIENE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO

Y. Santander, S. Gorzalczy, F. Guzmán Arrausi, C. Taira, A.M. Puyó y A. Carranza

Cátedras de Farmacología y Anatomía Humana e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

La administración oral de fructosa (F) provoca en la rata macho efectos adversos metabólicos y cardiovasculares semejantes al síndrome metabólico: hipertrigliceridemia, hipertensión moderada, resistencia a la insulina, hiperglucemia y aumento del tejido graso. La dehidroepiandrosterona (DHEA) y su metabolito sulfatado son los esteroides adrenales más abundantes en circulación, que luego son convertidos en andrógenos y estrógenos en tejidos periféricos. Debido a que los niveles circulantes de DHEA disminuyen al 20% de sus valores máximos alrededor de los 70 años, se ha postulado que esta importante disminución podría estar relacionada con la patogénesis de enfermedades relacionadas con el envejecimiento como la hipertensión y la diabetes tipo 2. El objetivo del presente trabajo fue testear si el tratamiento con DHEA previene la hipertensión inducida a ratas por sobrecarga oral de fructosa. Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley de 250 g, que fueron divididas en 4 grupos durante 9 semanas: Control (C, n = 6), Fructosa (F, n = 6) (10% p/v en el agua), DHEA (D, n = 6) (DHEA 15 mg/kg/día, sc) y fructosa más DHEA (F+D, n = 6) (ambos tratamientos). La presión arterial sistólica (PAS) se midió por método indirecto, glucemia y trigliceridemia (TG) por kits comerciales. Los efectos vasodilatadores agudos de insulina y DHEA se evaluaron en las aortas torácicas de los animales controles y tratados con fructosa precontraídas con epinefrina. El tratamiento con fructosa aumentó la PAS (mmHg, C: 115 ± 2 vs F: 128 ± 3, p < 0,001), en tanto que el tratamiento crónico con DHEA redujo la presión en el grupo F+D respecto de F (122 ± 1 vs F, p < 0,02), sin modificarla en D (118 ± 3 vs C). Los anillos de aorta del grupo fructosa contraídos con adrenalina no presentaron una dilatación significativa en presencia de insulina con respecto al grupo control. En cambio la incubación con DHEA produjo una vasodilatación semejante en los anillos de los animales controles y tratados con fructosa. El efecto vasodilatador de la DHEA no fue modificado por la preincubación con indometacina. En cambio, la preincubación con L-NAME eliminó la respuesta vasodilatadora de la DHEA en ambos grupos experimentales. Mediante ensayos de Western blot se comprobó que la vía de señalización utilizada por la DHEA involucra la fosforilación de las proteínas AKT (PKB) y sintasa de

óxido nítrico (eNOS) para la liberación de óxido nítrico a nivel endotelial. Estos resultados sugieren que el tratamiento con DHEA protege contra las alteraciones hemodinámicas que se desarrollan en un modelo experimental de síndrome metabólico y proponen que el principal mediador involucrado en los efectos vasodilatadores agudos de la DHEA es el óxido nítrico a nivel del endotelio vascular.

B21. EL LOSARTÁN RETARDA EL ENVEJECIMIENTO RENAL INHIBIENDO EL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR ANGIOTENSINA II (ANG II)

J.X. Masjoan-Juncos, G. Bordocho, P. Dibo, J. Juncos y L.I. Juncos

Fundación J. Robert Cade.

Introducción: El envejecimiento es un proceso inherente a todo organismo vivo que se asocia con deterioro vital y funcional. En tal fenómeno, el stress oxidativo juega un rol central. En el riñón, la Ang II puede iniciar una cadena de señalización que aumenta el estrés oxidativo. En particular, el asa de Henle, por su intensa actividad en el transporte de solutos, mantiene un requerimiento energético con alto consumo de oxígeno y está más expuesta a los efectos del stress oxidativo. Dado que el losartán, un antagonista del receptor AT1 de la Ang II, inhibe la síntesis de superóxidos, evaluamos la hipótesis de que losartán retarda el proceso de envejecimiento en el asa ascendente de Henle, disminuyendo el stress oxidativo, independientemente de la presión arterial (PA).

Métodos: Se estudiaron 5 grupos de ratas Wistar machos: (G1) 5 semanas (sem) (joven), (G2) 15 sem (control viejo), (G3) 15 sem + Tempol en cirugía, (G4) 15 sem + tratamiento con tempol/10 días previos a cirugía, (G5) 15 sem + losartán/10 sem. Se midió PA por cola en los grupos control y losartán. La viabilidad tubular se evaluó mediante microscopía óptica con azul de tripano (tinción que valora estabilidad de membrana) en suspensiones purificadas de asas de Henle. Dos operadores identificaron 100 túbulos separando aquellos viables (no teñidos) de los no viables (teñidos). Se utilizó test de quimioluminiscencia con lucigenina para medir producción de superóxido basal, en presencia de Ang II a concentración de 1 nM, bloqueante de AT1 L158809 a 1 µM, tempol 50 µM, y finalmente tiron 10 mmol/L. Se utilizó test t de Student.

Resultados: La PA promedio fue: G2 (15 sem) 111,1 ± 1,04; losartán 107,75 ± 0,35 (p = 0,04). La viabilidad tubular en G1 (5 sem) fue 92,6% ± 1,25, G2 (15 sem) 55,83% ± 1,04, grupo G3 (15 sem + Tempol quirúrgico) 60,5% ± 3,31, grupo G4 (15 sem + tempol/10 días) 69,6% ± 0,41, G5 (15 sem + losartán/10 sem) 68,66% ± 3,54. Comparadas con el grupo joven (5 sem), las diferencias con todos los grupos fueron significativas p < 0,002. Las diferencias son significativas cuando se comparan los grupos tempol/10 días o losartán/10 sem contra tempol quirúrgico o control (p < 0,02) pero no cuando se comparan tempol/10 días con losartán o

tempol quirúrgico con control ($p > 0,02$). La producción de superóxido basal fue $46,5$ UA (Unidades Arbitrarias) $\pm 3,10$, y se elevó a $124,25 \pm 5,12$ en presencia de Ang II. Estos valores cayeron a $72 \pm 4,24$ en presencia del antagonista de AT1 L158809, y a $1,5 \pm 0,7$ en presencia de tempol (se toma la señal recibida en presencia de Tiron como el 0 absoluto de esta prueba). En el grupo de ratas a las que se aplicó tempol sin previo bloqueo de AT1, el valor fue $2,5 \pm 0,7$ ($p = 0,29$).

Conclusiones: El bloqueo de los efectos oxidantes de Ang II enlentece el proceso de envejecimiento renal en el asa ascendente de Henle. El bloqueo del receptor AT1 es una alternativa de aplicación clínica con efectos anti-senectud que implican un nuevo mecanismo de reno- protección.