

EFFECTO DE LA ANGIOTENSINA II SOBRE EL REMODELADO VASCULAR DE LAS ARTERIAS DE RATA *IN VITRO*.

Rosas Salgado G., Altamirano Arenas. L.A., Rojas Vergara A.

Facultad de Medicina, UAEM. Laboratorio de inflamación y enfermedades crónico-degenerativas.

XXVI Verano de la Investigación Científica en Morelos

Introducción:

La angiotensina II (Ang II) es una sustancia vasoconstrictora potente que aumenta la resistencia periférica total y ejerce diversos efectos sobre la estructura y la homeostasis vascular (1). Promueve el crecimiento vascular y estimula la producción de diversos factores de crecimiento. Aunque tiene una vida activa de 1-2 minutos, es uno de los principales factores vasoactivos implicados en el desarrollo y las complicaciones de diversas patologías.

La disfunción endotelial es la presencia de un fenotipo endotelial alterado caracterizado por una biodisponibilidad reducida de óxido nítrico, estrés oxidativo aumentado, expresión aumentada de factores protrombóticos y proinflamatorios y una vasorreactividad aumentada (2). Conlleva a una alteración del equilibrio entre vasodilatación/vasoconstricción provocando un aumento de vasoconstrictores endoteliales. Existe una relación causal entre el estrés oxidativo y la inflamación. El estrés oxidativo puede amplificar las vías de señalización vasculares inflamatorias y la inflamación incrementa el estrés oxidativo, lo que genera posteriormente una remodelación vascular el cual es un proceso activo de alteración estructural que ocurre en respuesta a cambios prolongados en las condiciones hemodinámicas. Involucra cambios en al menos cuatro procesos celulares: crecimiento, muerte, migración y producción-degradación de matriz extracelular. Este proceso depende de una interacción dinámica entre factores de crecimiento locales, sustancias vasoactivas y estímulos hemodinámicos (3).

Efectos específicos de la Angiotensina II sobre la pared vascular.

La Ang II es uno de los principales estímulos para la producción de radicales libres de oxígeno por las distintas tunicas de la pared vascular mediante la estimulación de diversas actividades enzimáticas como la NADH/NADPH oxidasa. Dichos radicales libres, y en especial el anión superóxido, son capaces de oxidar al óxido

nítrico, que es el principal factor relajante regulador del tono vascular, favoreciendo con ello el predominio de un tono vascular más elevado (4).

Las acciones de la Ang II sobre el crecimiento de la pared vascular dependen de la estimulación de los receptores AT1 que activan señales intracelulares que modifican la expresión de genes reguladores del crecimiento promoviendo la síntesis de ADN y de proteínas. La Ang II también es capaz de estimular el crecimiento de la pared vascular estimulando a su vez la producción y la acción de factores mitogénicos como el bFGF, el PDGF, el VEGF o el factor de crecimiento tumoral (TGFbeta) que estimulan la proliferación de las células musculares lisas y la síntesis de proteínas (4).

Sechium edule mejor conocido como chayote es una planta perteneciente a la familia de las cucurbitáceas que se encuentra altamente distribuido por el país, se tiene conocimiento de que el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* (rSe-HA) tiene efectos antihipertensivos y es capaz de controlar la disfunción endotelial en modelos murinos, así como se conoce que es utilizada en la medicina tradicional para el control de enfermedades cardio-metabólicas.

Hipótesis:

1. La angiotensina II a una concentración de 80 μM ocasiona remodelado vascular *in vitro*.
2. El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* a una concentración de 0.75 $\mu\text{g/ml}$ controla en remodelado vascular *in vitro*

Objetivo: Evaluar el efecto de la angiotensina II sobre el remodelado vascular en las arterias de rata *in vitro*

Metodología:

Para satisfacer el objetivo se sacrificaron ratas Wistar macho de 12 semanas de edad con CO₂. Los cadáveres se esterilizaron con benzal al 30% por 5 minutos y alcohol etílico al 75% por un minuto, se diseccionaron y obtuvieron anillos de 4 mm de la arteria pulmonar y aorta. Los anillos se colocaron en placas de 24 pozos con 500 μl de medio DMEM/F12 (Gibco, 11320033) suplementado con 10% SFB, 1% de

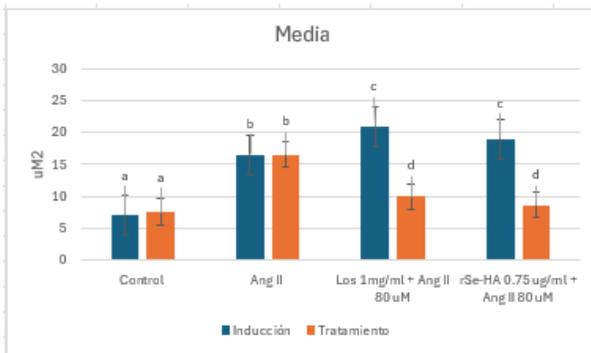
penicilina/estreptomicina, 1% L-glutamina 200 mM y 1 µg/ml Hidrocortisona. Las condiciones en las que se mantuvieron los tejidos fueron: con angiotensina II (80 µM) y sin angiotensina II, a 37°C con 5% CO₂ por 5 días. Pasado ese tiempo se retiró la mitad del medio y se colocó 250 µl de medio suplemento fresco adicionado con angiotensina II (80 µM) y tratamientos según las condiciones de los grupos (Control, Ang II, losartán 1mg/ml, rSe-HA 0.75 mg/ml). Se retiraron 4 anillos de cada pozo y se fijaron en formalina buferada por 24 horas, posteriormente se analizó al microscopio el cambio en la pared vascular, confirmando su remodelación. Los anillos restantes se incubaron a 37 °C con 5% CO₂ por 4 días más. Transcurridos los 9 días, se obtuvieron los anillos de las arterias se fijaron en formalina buferada por 24 horas y observaron al microscopio estereoscópico, se realizaron las mediciones correspondientes utilizando el programa Metamorph 7.1. Los valores obtenidos de las mediciones se transcribieron en Excel y para el análisis estadístico se transformó la medida de pixeles a micras con la siguiente formula: Numero de pixeles/ 4.3364. Se analizaron estadísticamente utilizando la prueba de Chi cuadrada con el programa instat considerando una P < a 0.05 como significativa.

Resultados:

Al realizar el procedimiento de obtención de las arterias se observó que la arteria pulmonar al ser un vaso sanguíneo lábil no permite su correcta disección y extracción, por lo que solo permitió la obtención de 2 anillos de 4 mm.

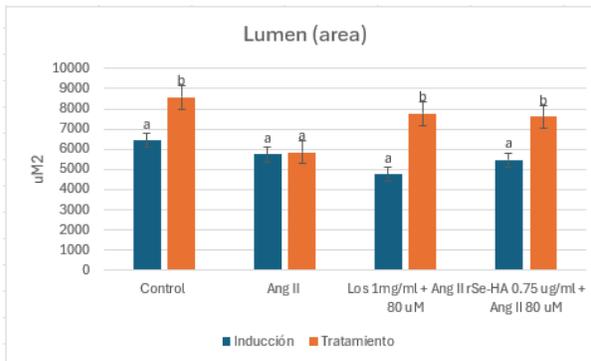
Se cumplió con el objetivo de este proyecto al inducir las arterias a remodelado vascular y se logró abarcar más de lo esperado al aplicarse un tratamiento fitoquímico que es el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* a una concentración de 0.75 mg/ml y compararse contra un control farmacológico que es losartán (50 mg) 1mg/ml. Al analizar los resultados estadísticamente con la prueba chi cuadrada se obtiene los siguiente.

Grafica 1. Media



Se observa incremento en el espesor de la capa media del vaso al ser estimulada con Ag II así mismo se observa disminución en la capa media al aplicarse los tratamientos (Losartán (1 mg/ml) y el extracto rSe-HA (0.75 µg/ml)).

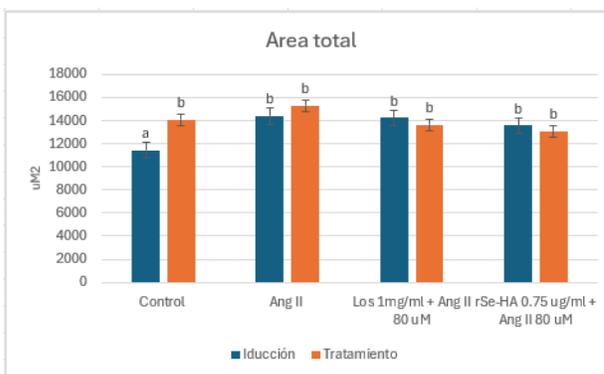
Grafica 2. Área del lumen arterial



Se observa una disminución significativa del lumen de las arterias estimuladas con Ang II en comparativa al tamaño del lumen de los controles, por el contrario, se observa un aumento del área del lumen una vez aplicado el tratamiento (Losartán (1

mg/ml) y el extracto rSe-HA (0.75 µg/ml).

Grafica 3. Área total

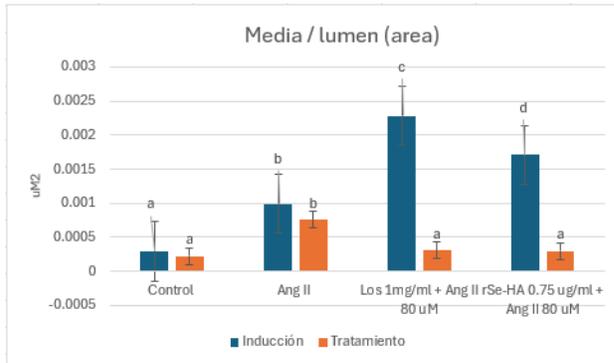


El área incrementa su tamaño de forma no tan significativa respecto a los controles y se observa que una vez incrementado su tamaño se mantiene igual en las etapas posteriores tanto como la de inducción, como la de aplicación de

tratamientos.

Grafica 4. Relación Media/Lumen.

Se observa que en la etapa de inducción y a la estimulación con angiotensina II la media incrementa su tamaño y el lumen reduce su tamaño, de la misma forma en



la etapa aplicación de tratamientos la media disminuye su tamaño y el lumen se aumenta, por lo que se concluye que el remodelado vascular ocurre de forma excéntrica

Conclusión:

La angiotensina II a una concentración de 80 µM ocasiona remodelado vascular al incrementar el tamaño de la capa media, aumentar el área total y disminuir el área del lumen del vaso sanguíneo.

El rSe-HA a una concentración de 0.75 µg/ml reduce el remodelado vascular in vitro al disminuir el tamaño de la capa media y aumentar el área del lumen del vaso sanguíneo.

Bibliografía:

1. Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiología médica.13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
2. Carvajal Carvajal C. El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. Med leg Costa Rica.SciELO [online] 2017;34(2):90-100. ISSN 2215-5287.
3. Renna NF, Miatello RM, editores. Fisiopatología del remodelado vascular en la hipertensión arterial. En: Renna NF, Miatello RM, editores. Hipertensión Arterial. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2016. p. 1149-1161.
4. Lerman LO, Lerman A, Rodriguez-Porcel M, McGill M, He Y, Khosla S, et al. Telmisartan improves cardiovascular outcomes in hypertensive patients with metabolic syndrome: a randomized trial. Hypertension. 2012;60(4):800-6. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.187021.
5. Galia Lombardo-Earl, et al., "Extractos y fracciones de raíces comestibles de *Sechium edule* (Jacq.) Sw. con actividad antihipertensiva", Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia, vol. 2014, artículo ID 594326, 9 páginas, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/594326>.