

# Avances en investigación renal y vascular: Talleres de discusión.

Cursos de Verano de la Universidad de Alcalá 2013, 52-01.

---

## "Modulación de la presión arterial por proteínas Ras"

---

**Dra. María Alicia Cortés. Director técnico  
Biobanco RedinREN.**

**Lic. Paloma Martín Sánchez. Predoctoral**

# Introducción:

## Hipertensión arterial (HTA):

- Es una enfermedad crónica caracterizada por un incremento continuo de las cifras de la presión sanguínea en las arterias.
- Se asocia a tasas de morbilidad y mortalidad considerablemente elevadas, por lo que se considera uno de los problemas más importantes de salud pública, especialmente en los países desarrollados.
- Afecta al 25-30% de la población mundial , de los cuales un número grande de estos pacientes no están tratados.
- Se caracteriza por ser asintomática y fácil de detectar.



# Introducción:

## Hipertensión arterial (HTA):

- Sin embargo cursa con complicaciones graves y letales sino se trata a tiempo.
- ¿Hay diferencias entre hombres y mujeres?
- Tipos de hipertensión:  
Hipertensión esencial (90% de los casos)  
Hipertensión secundaria (10% de los casos)



**Cardiovasculares**



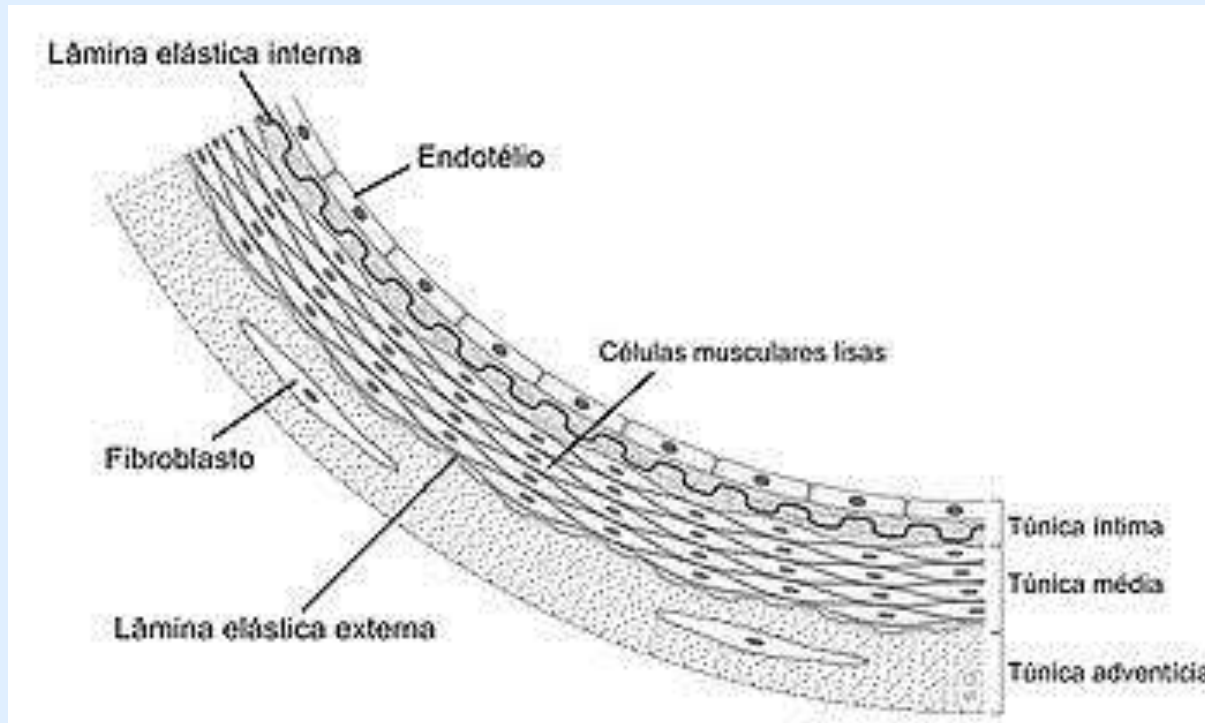
**Cerebrovasculares**

**Renales**

# Introducción:

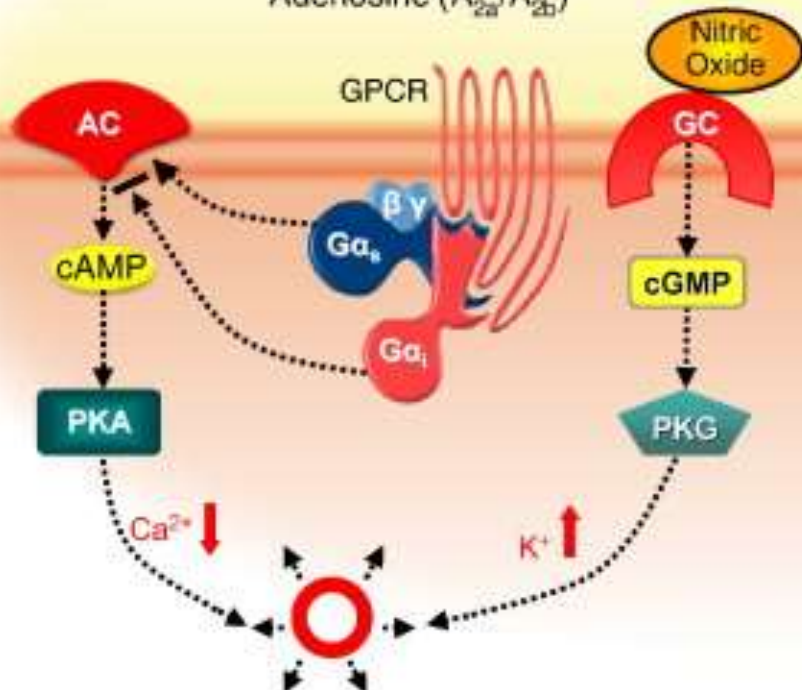
## Hipertensión arterial (HTA):

- Vías que regulan la contracción del músculo liso arterial – NO/GC/PKG



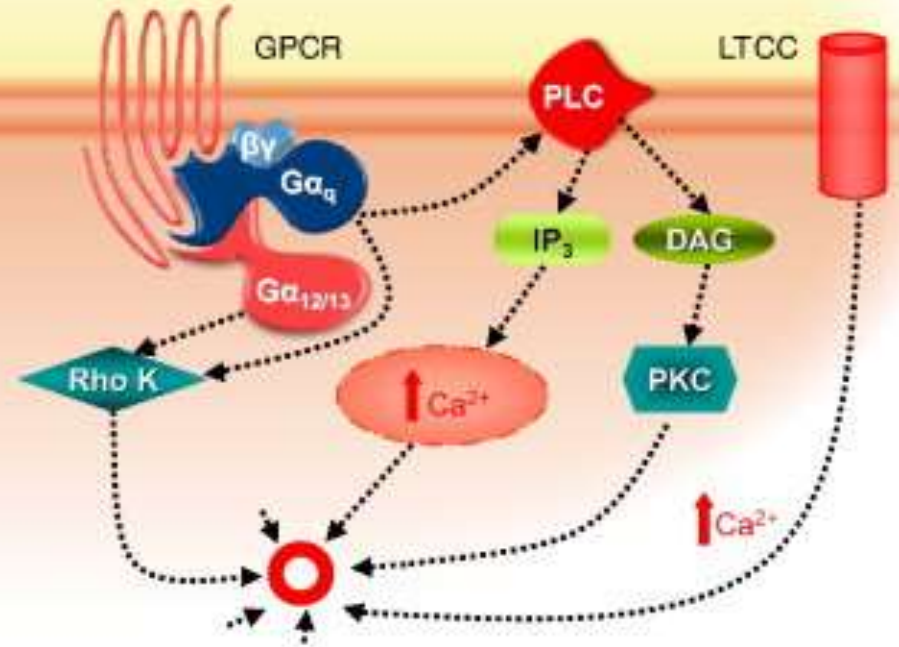
## Vasodilation

Catecholamines ( $\beta$ -AR)  
Histamine/Bradykinin  
Prostanoids  
Dopamine  
Calcitonin Gene-Related Peptide  
Serotonin ( $5HT_1$ )  
Adenosine ( $A_{2a}/A_{2b}$ )



## Vasoconstriction

Angiotensin II  
Endothelin-1  
Norepinephrine  
Sphingosine-1-phosphate  
Vasopressin/Serotonin  
Thrombin  
Acetylcholine



# Introducción:

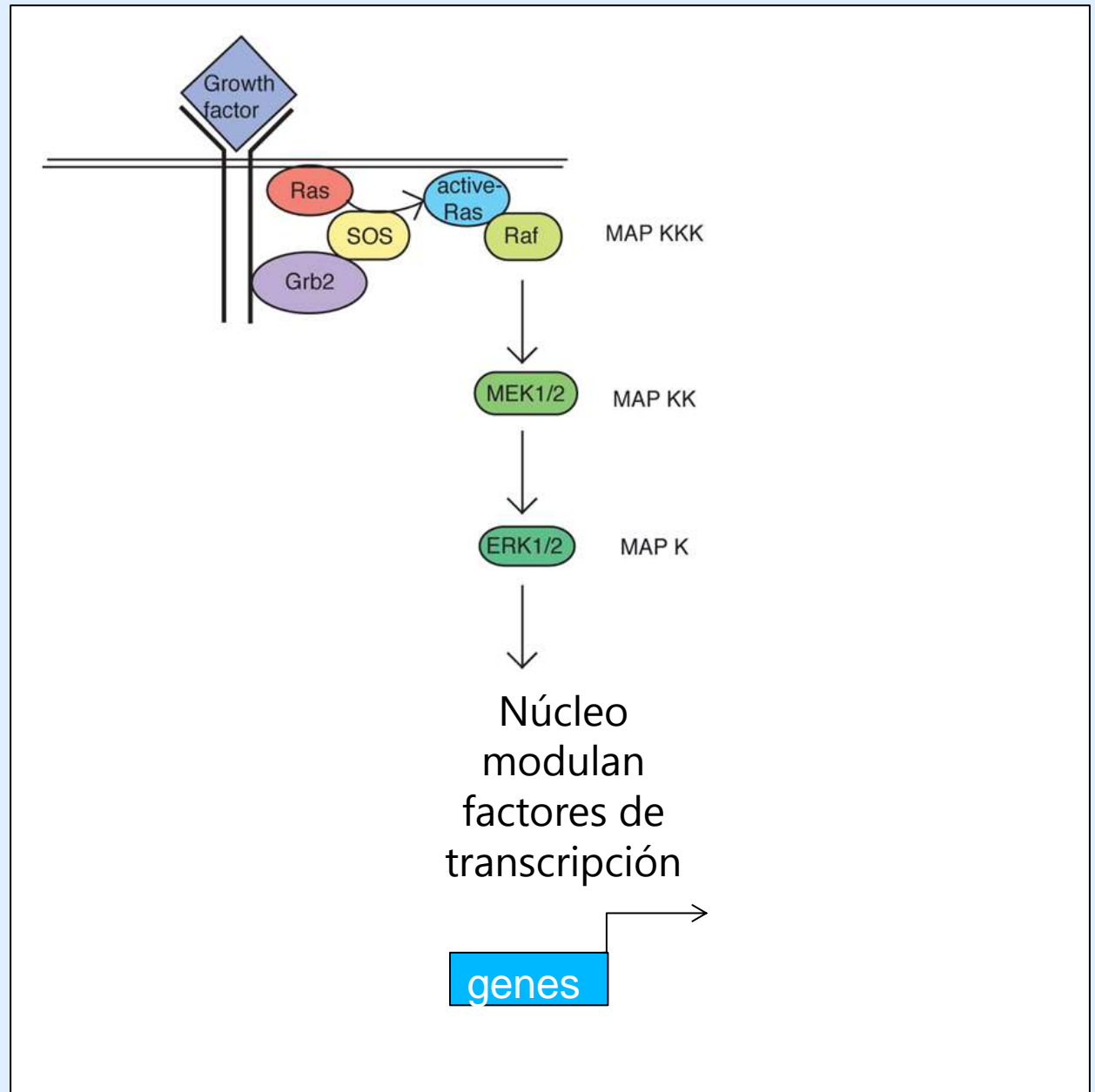
## Hipertensión arterial (HTA):

- Vías que regulan la contracción del músculo liso arterial – Nuevas dianas proteínas RAS

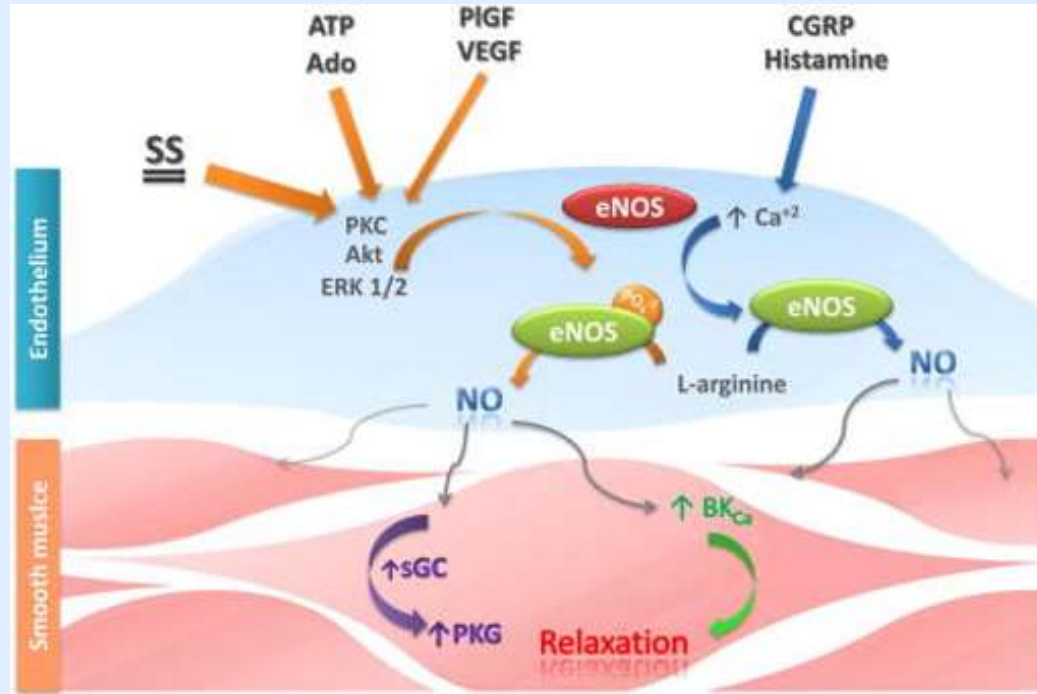
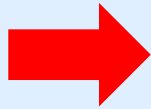
En el 2005, se demostró que la activación de Ras provoca hipertensión en animales de experimentación (*Potenza, N. 2005. EMBO Rep.*)

Targeted Genomic Disruption of H-Ras Induces Hypotension Through a NO-cGMP-PKG Pathway-Dependent Mechanism. Aranzazu Chamorro-Jorganes, *Hipertensión* (2010).

# Introducción:

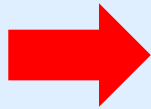
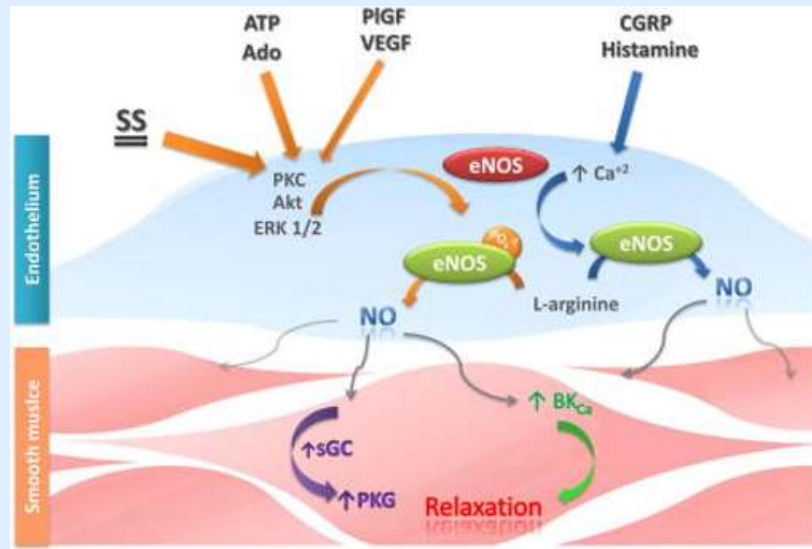
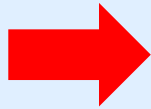


# Antecedentes:





# Antecedentes:



No se conoce, si el bloqueo de Hras sería beneficioso en procesos con vasoconstricción:

- Hipertensión arterial sistémica.
- Alteraciones estructurales que aparecen en el daño renal por antibióticos.

## **Hipótesis:**

**La modulación de H-ras puede constituir una alternativa terapéutica en procesos mediados por una vasoconstricción excesiva o una vasodilatación insuficiente.**

# Objetivos:

- Estudiar H-Ras y la modulación de la vía GC/PKG, utilizando modelos *in vitro*. **Dra. María Alicia Cortés**
- Estudiar las implicaciones de H-Ras en patología vascular y renal en modelos *in vivo*. **Lic. Paloma Martín Sánchez**

---

# **"Implicaciones de H-Ras en patología vascular y renal. Modelos *in vivo*"**

---

**Lic. Paloma Martín Sánchez.  
Predoctoral**

# MODELOS

## **Modelo hipertensión:**

Cirugía e implantación de Bombas osmóticas con Angiotensina II.

## **Modelo fracaso renal agudo:**

Inyección intraperitoneal de aminoglucósidos (Gentamicina).



# MODELOS

## **Modelo hipertensión:**

Cirugía e implantación de bombas osmóticas con Angiotensina II.

## **Modelo fracaso renal agudo:**

Inyección intraperitoneal de aminoglucósidos (Gentamicina).



# Modelo Hipertensión

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

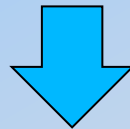
- Ratones 129 svj (WT y Hras KO)
- Angiotensina II
- Bombas microosmóticas ALZET
- Esfigomanómetro de cola

# Modelo Hipertensión

## Angiotensina II:

Péptido vasoconstrictor implicado en patologías cardiovasculares y renales: Hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca y renal, nefropatía diabética, etc.

**Ang II reduce la liberación de NO**



**Vasoconstricción**



# Modelo Hipertensión

Dosis Angiotensina II: 1000ng/Kg/min  
Administración: Bomba Alzet subcutánea



# 1004  
Velocidad bombeo:  
0,11ul/hora

Tensión  
Basal

Cirugía  
bomba  
con ANGIO

Ratón WT	Ratón Hras KO
N= 4	N= 4

Tensión a las  
4 semanas

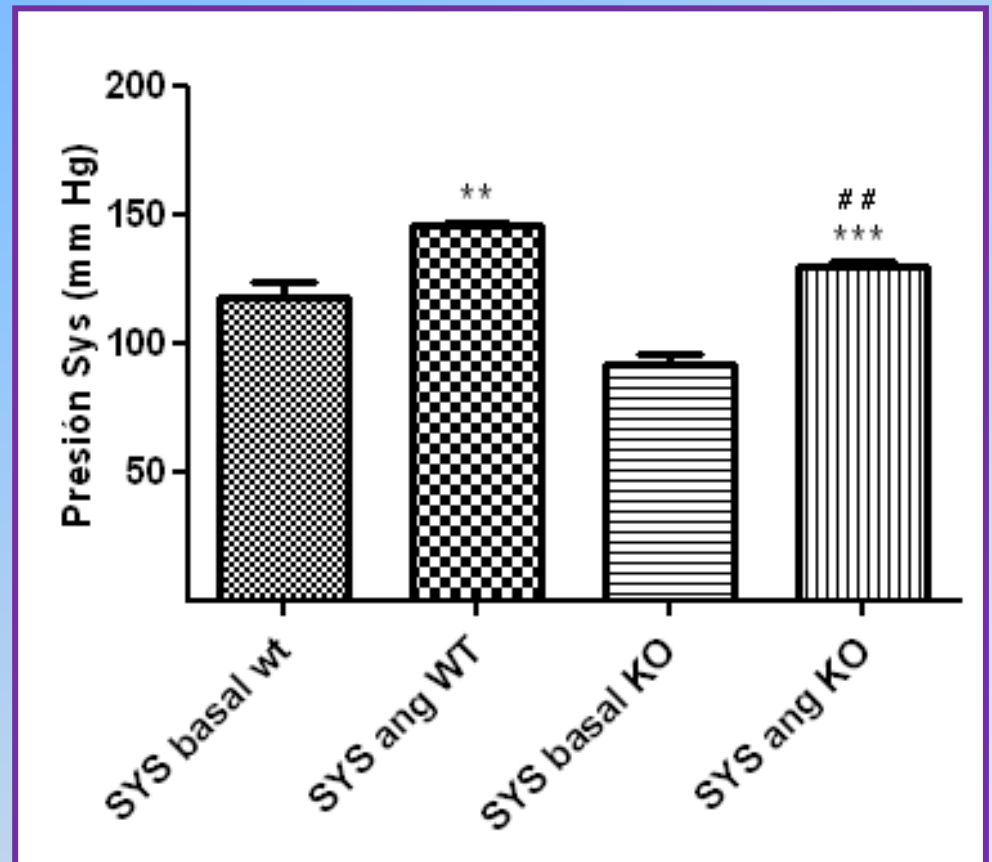


3-4 meses

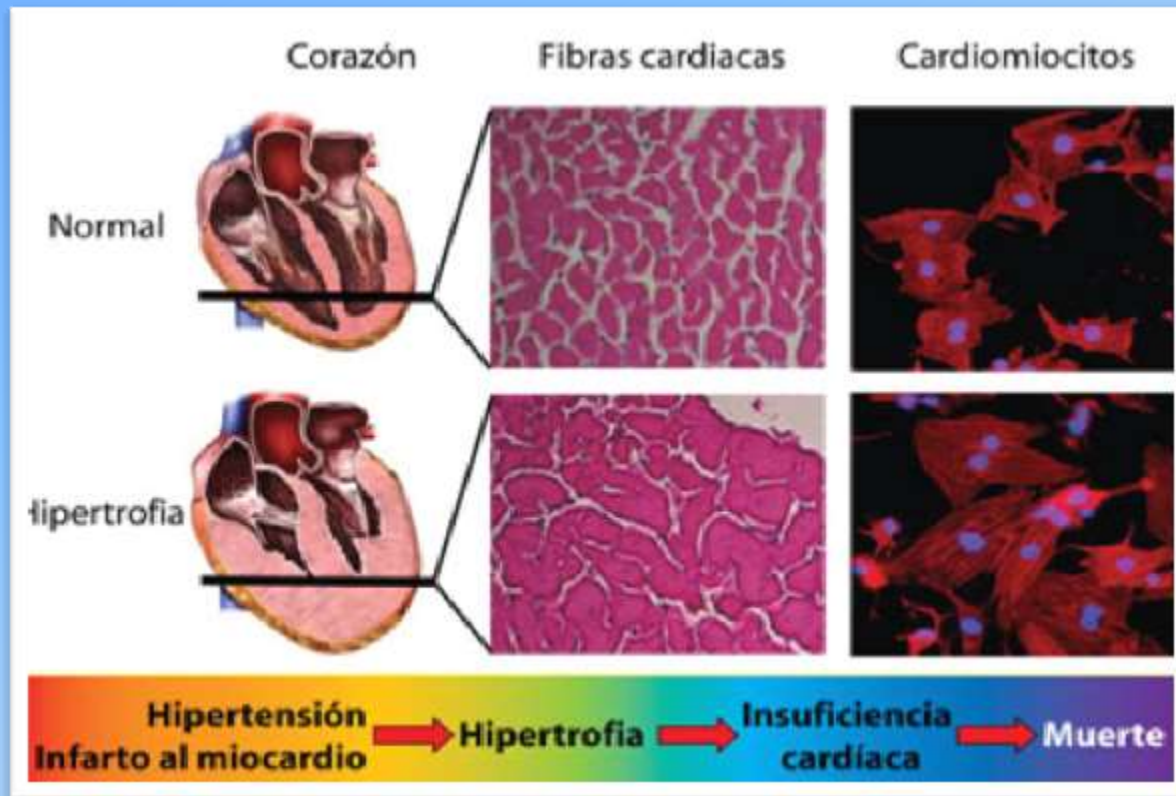
# Modelo Hipertensión

- RESULTADOS**

Grupo	BPM	SYS	DIA	MED
Basales WT	596	118	76	89
Basales KO	582	90	60	71
Ang WT	516	145	100	116
Ang KO	476	128	92	103



# Modelo Hipertensión



# Modelo Hipertensión

Hipertrofia  
cardíaca



# Modelo Hipertensión

Tratamiento	Peso ratón	Peso corazón	Ratio X1000	Ancho	RatioX1000	Largo	RatioX1000
Control wt	42	0,181	4,3	5,8	138,1	9,1	216,7
Ang wt	27,1	0,239	8,8	7,8	287,8	10,7	394,8
Control KO	38,4	0,177	4,6	6,3	164,1	8,7	226,6
Ang KO	29,4	0,219	7,4	7,1	241,5	10	340,1

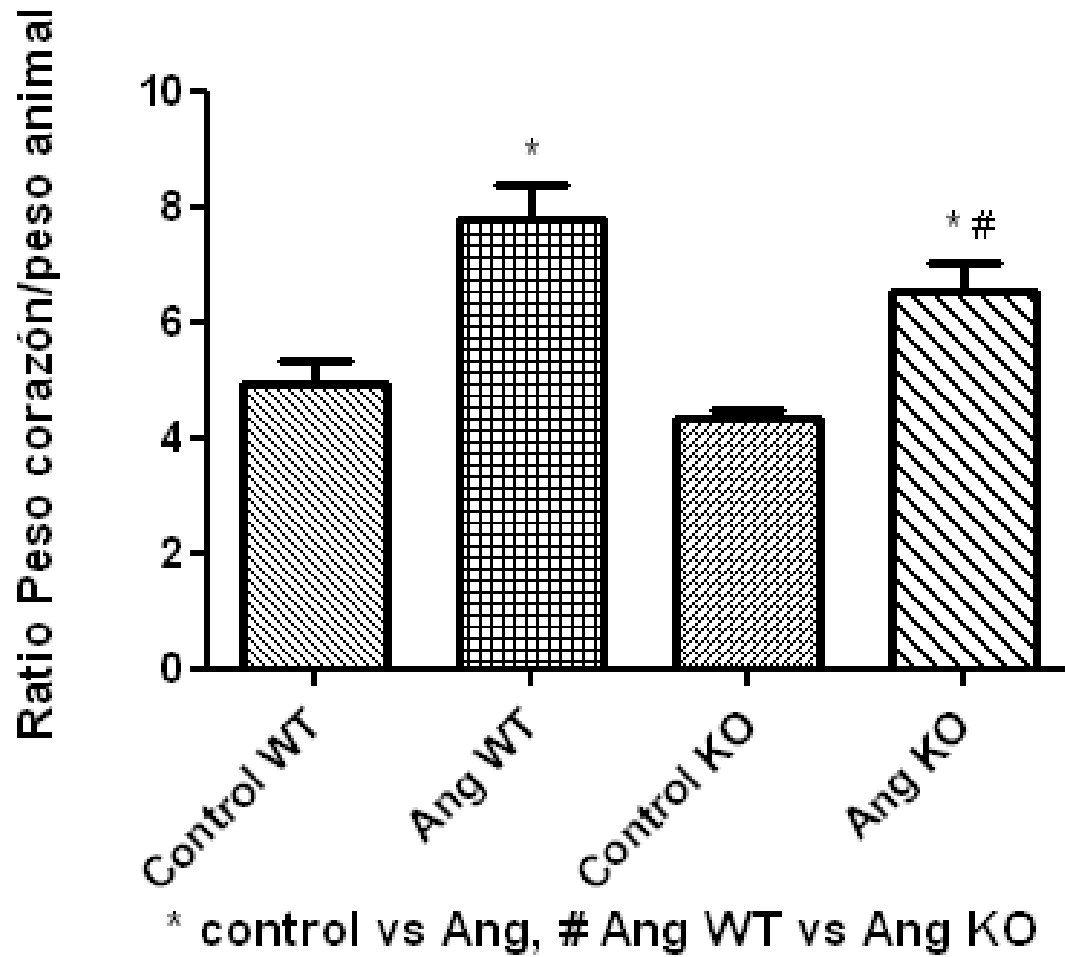
# Modelo Hipertensión

Tratamiento	Peso ratón	Peso corazón	Ratio X1000	Ancho	RatioX1000	Largo	RatioX1000
Control wt	42	0,181	4,3	5,8	138,1	9,1	216,7
Ang wt	27,1	0,239	8,8	7,8	287,8	10,7	394,8
Control KO	38,4	0,177	4,6	6,3	164,1	8,7	226,6
Ang KO	29,4	0,219	7,4	7,1	241,5	10	340,1

# Modelo Hipertensión

Tratamiento	Peso ratón	Peso corazón	Ratio X1000	Ancho	RatioX1000	Largo	RatioX1000
Control wt	42	0,181	4,3	5,8	138,1	9,1	216,7
Ang wt	27,1	0,239	8,8	7,8	287,8	10,7	394,8
Control KO	38,4	0,177	4,6	6,3	164,1	8,7	226,6
Ang KO	29,4	0,219	7,4	7,1	241,5	10	340,1

# Modelo Hipertensión





# Modelo Hipertensión

## **CONCLUSIONES**

La delección del gen Hras en los ratones, protege contra el aumento de la tensión arterial y la hipertrofia cardíaca provocada por la Ang II.

# MODELOS

## **Modelo hipertensión:**

Cirugía e implantación de Bombas osmóticas con Angiotensina II.

## **Modelo fracaso renal agudo:**

Inyección intraperitoneal de aminoglucósidos (Gentamicina).



# Modelo fracaso renal agudo

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

- Ratones 129 svj (WT y Hras KO)
- Gentamicina
- Dinitrato de Isosorbide (IDN)
- Kit medición de creatinina en plasma

# Modelo fracaso renal agudo

## Gentamicina:

Antibiótico aminoglucósido de amplio espectro utilizado en varios tipos de infecciones (gastrointestinales, biliares, genitourinarias,)

Riesgo nefrotoxicidad. (1 de cada 10 pacientes).

## Reacciones adversas:

- Elevaciones de la creatinina en sangre.
- Presencia en orina de albúmina, leucocitos o eritrocitos.
- Exceso de compuestos nitrogenados en sangre.
- Disminución en la cantidad de orina (oliguria).

# Modelo fracaso renal agudo

Dosis Gentamicina: 100 mg/kg/día  
Administración: Intraperitoneal



Inyección Gentamicina (7 días consecutivos)

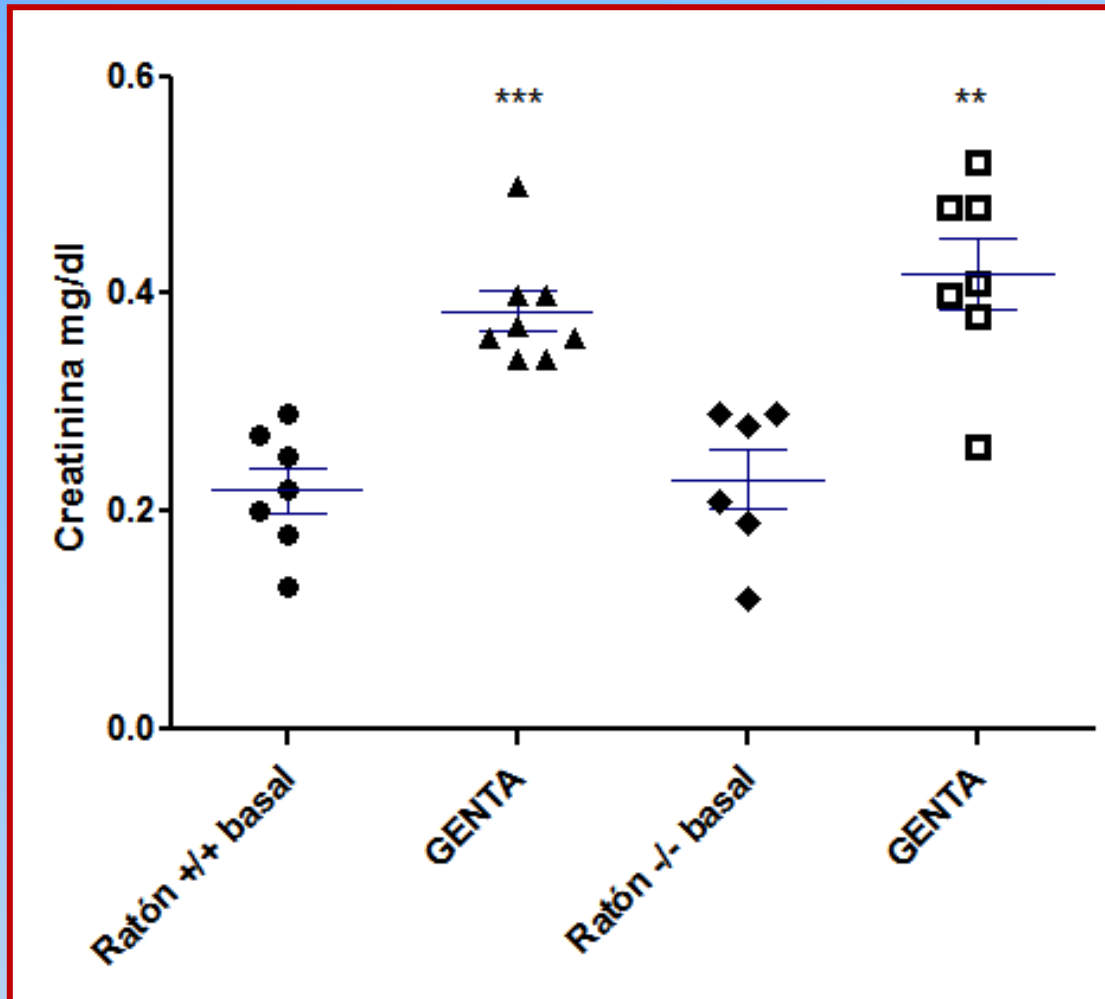
Obtención  
plasma

Obtención  
plasma y  
Sacrificar a los  
8 días

<b>WT control</b>	<b>WT tratado</b>	<b>Hras KO Control</b>	<b>Hras Ko tratado</b>
n=3	n=4	n=3	n=4

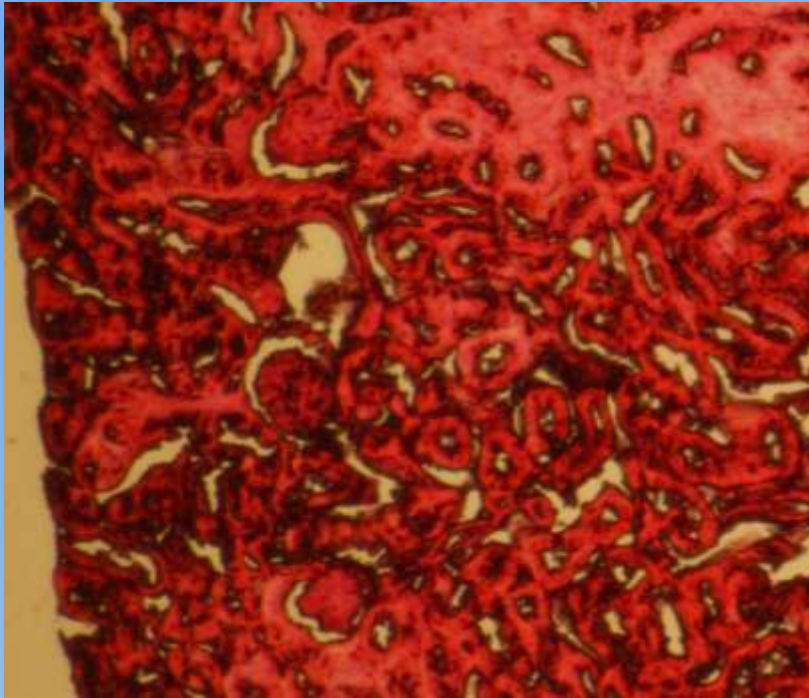
# Modelo fracaso renal agudo

## RESULTADOS

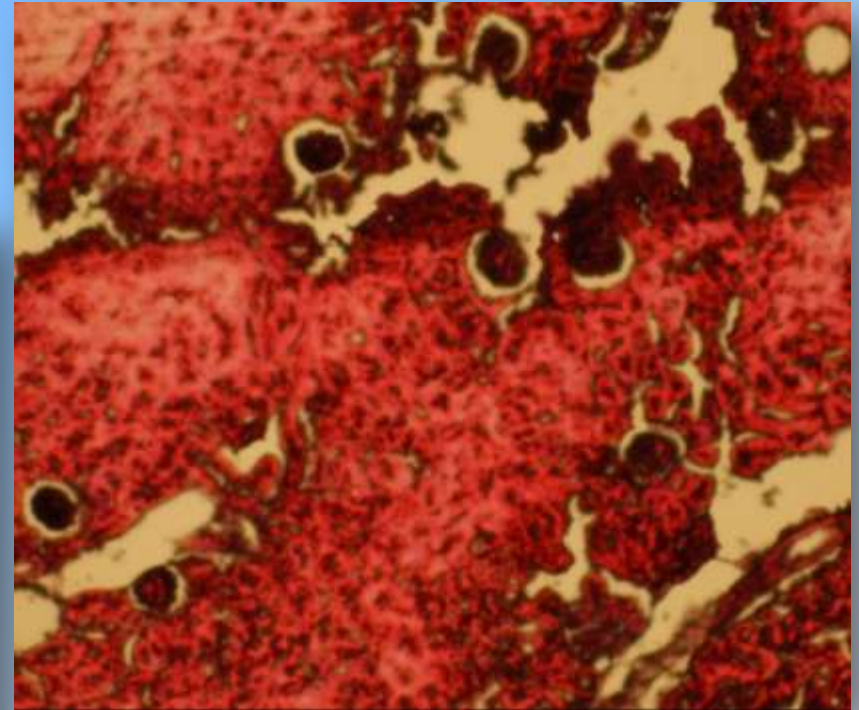


# Modelo fracaso renal agudo

Cortes histológicos  
Tinción hematoxilina-eosina

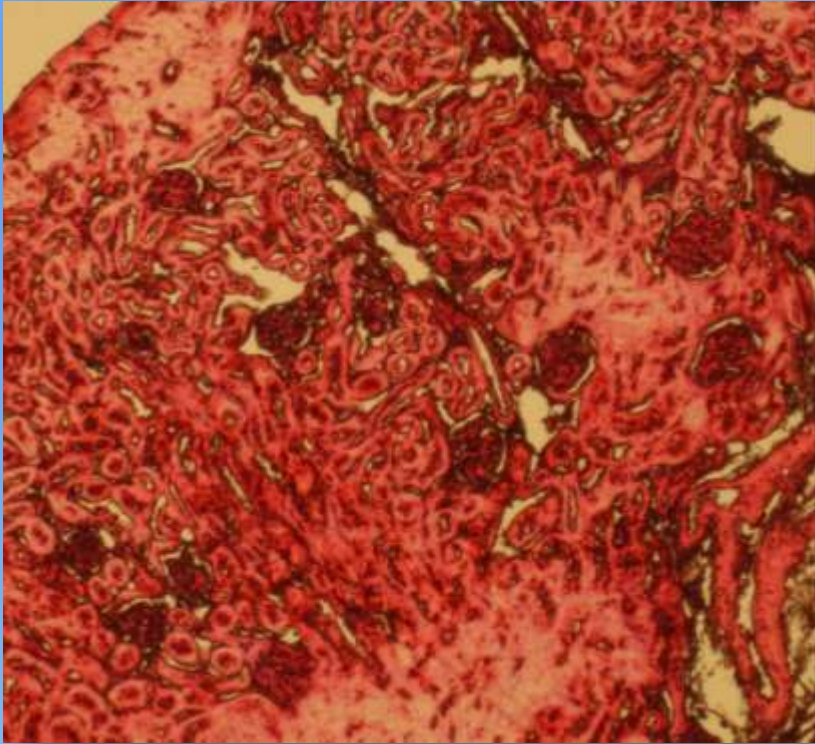


Control WT

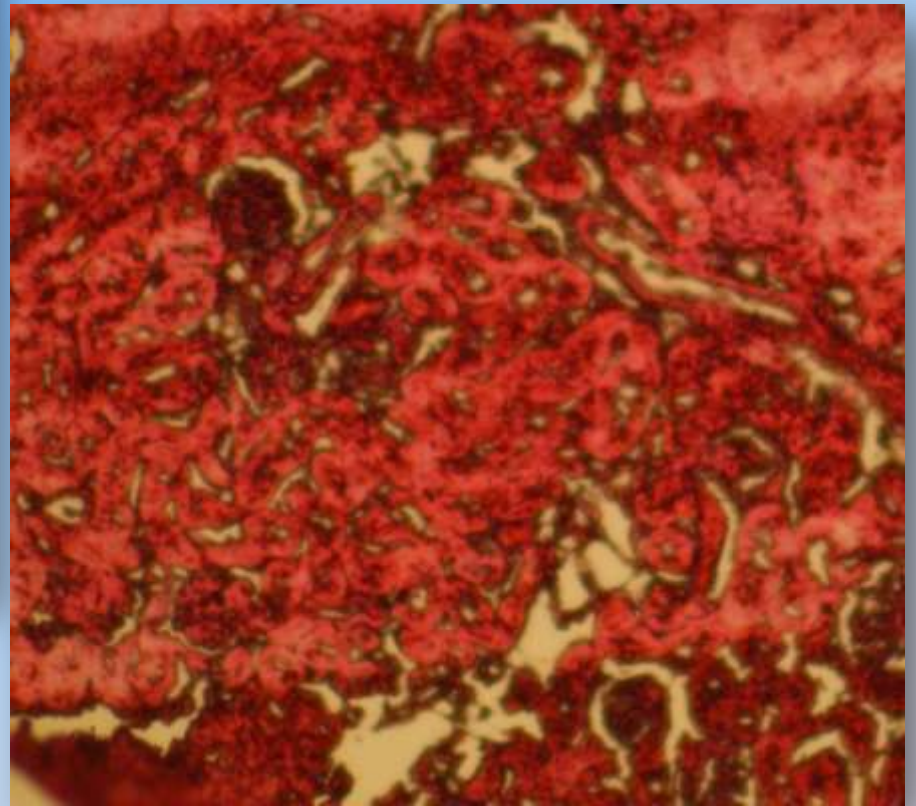


Gentamicina WT

# Modelo fracaso renal agudo



Control KO

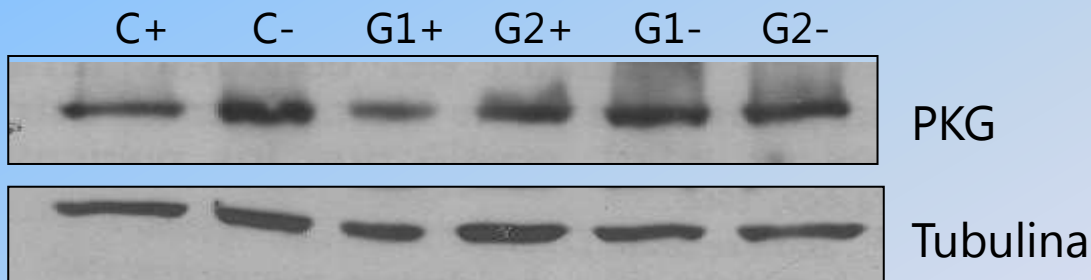
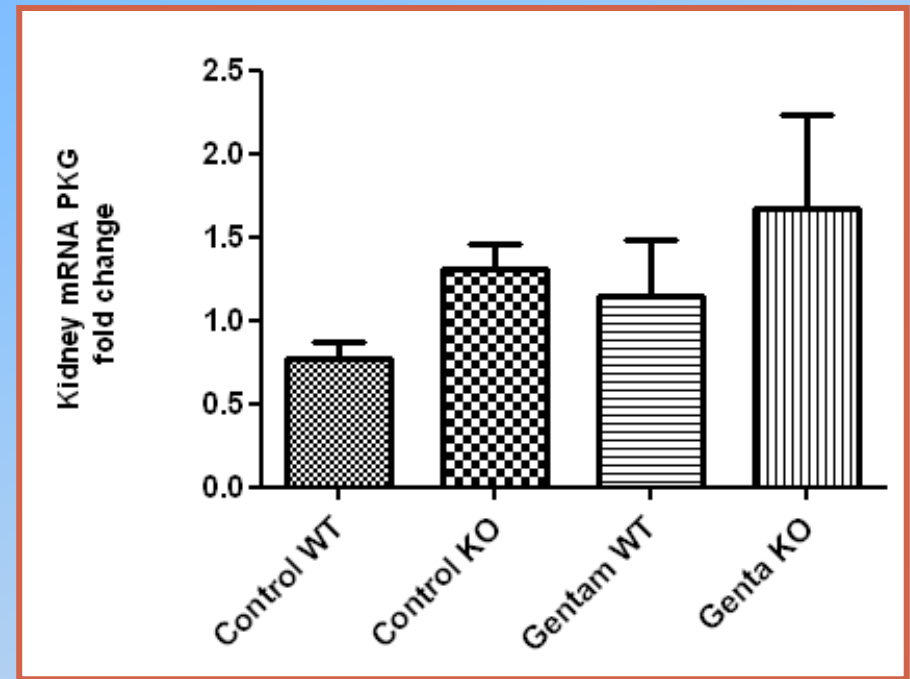
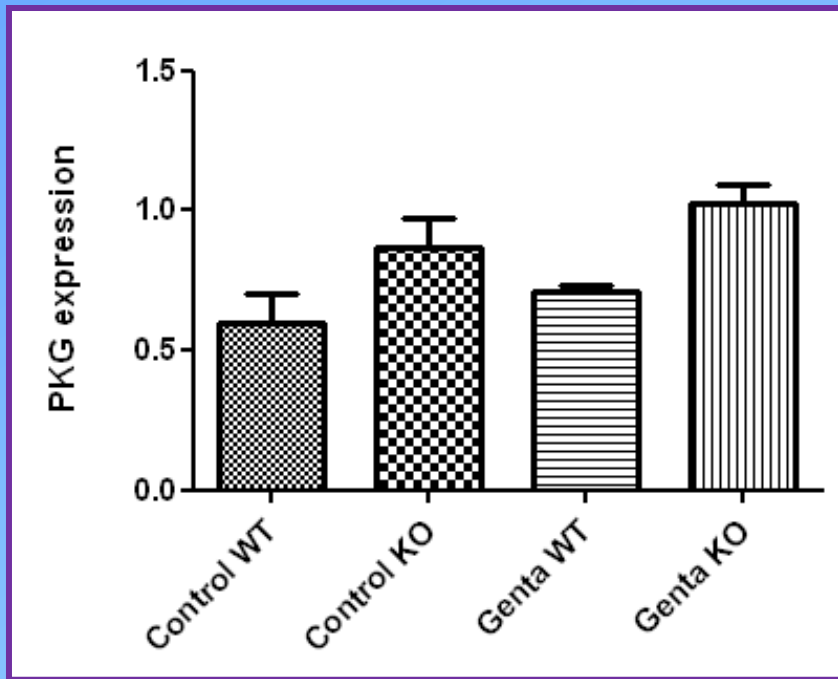


Gentamicina KO



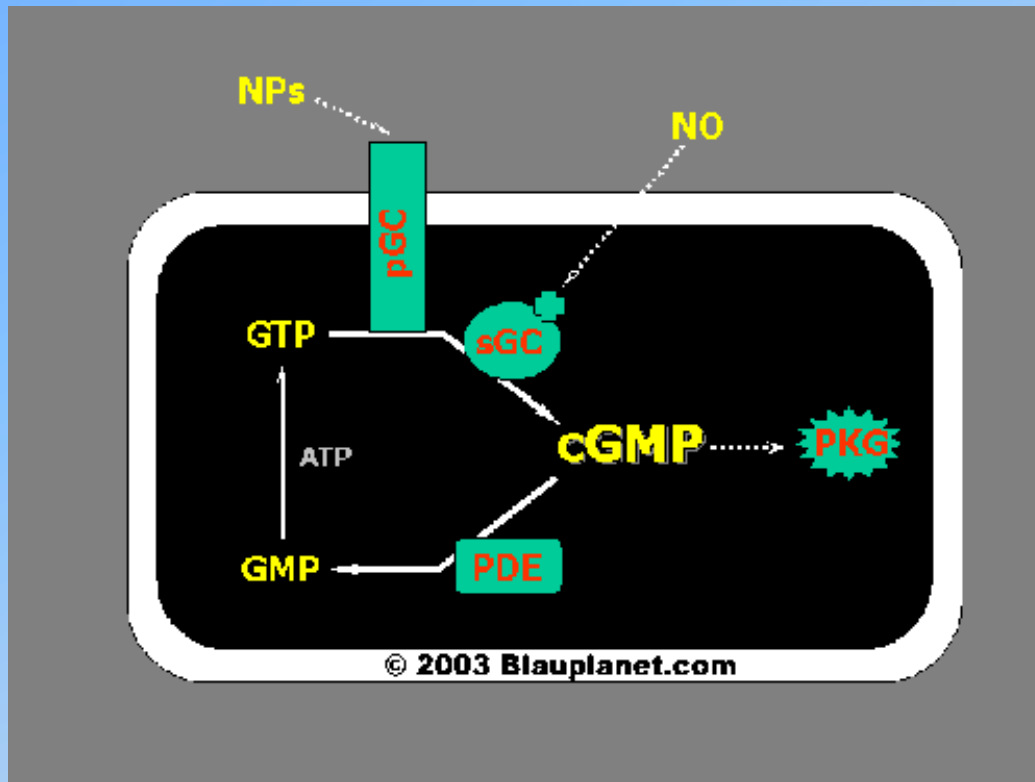
# Modelo fracaso renal agudo

Evaluación de la expresión de PKG en la corteza renal



# Modelo fracaso renal agudo

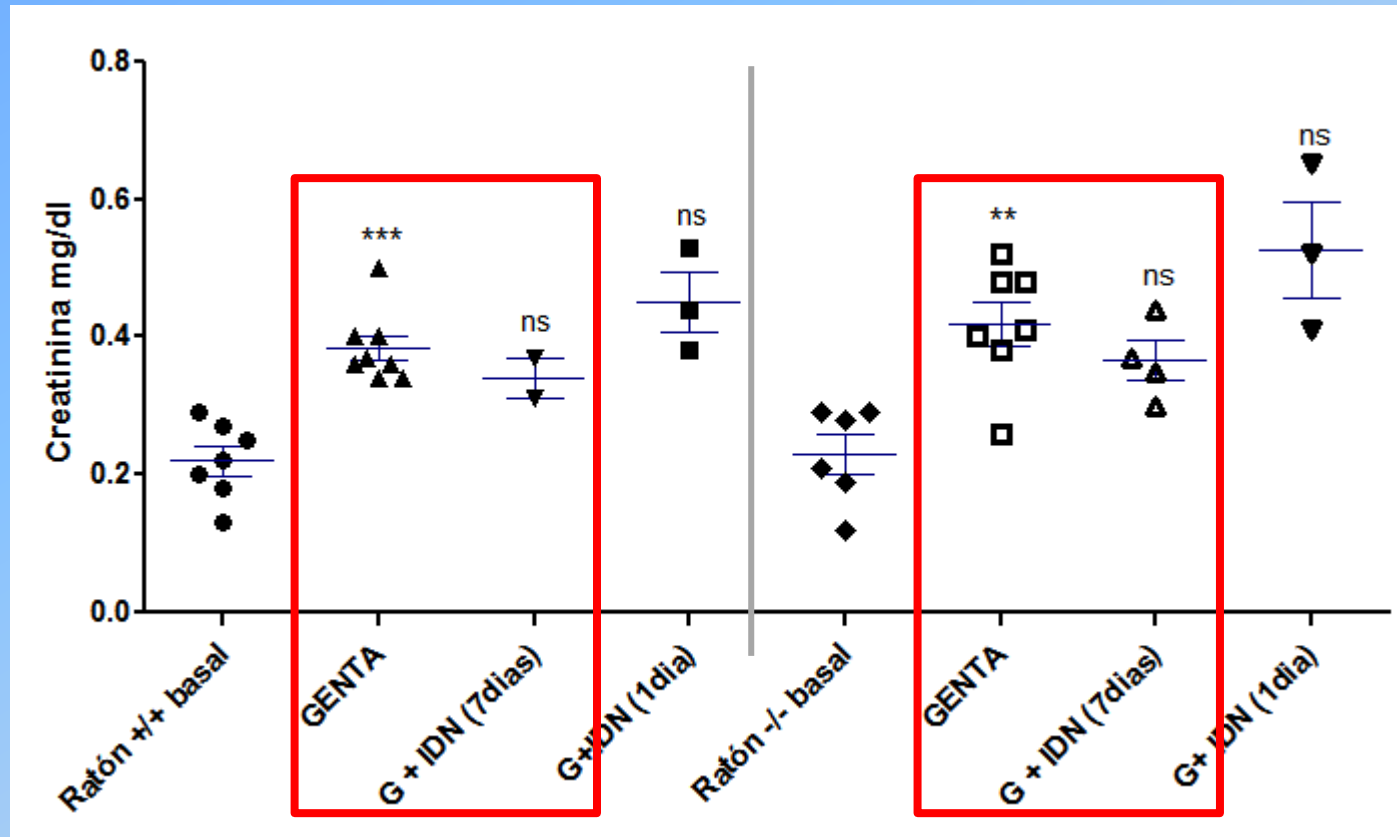
## Dinitrato de Isosorbide



# Modelo fracaso renal agudo

Evaluación del daño renal

Medición de creatinina (plasma):

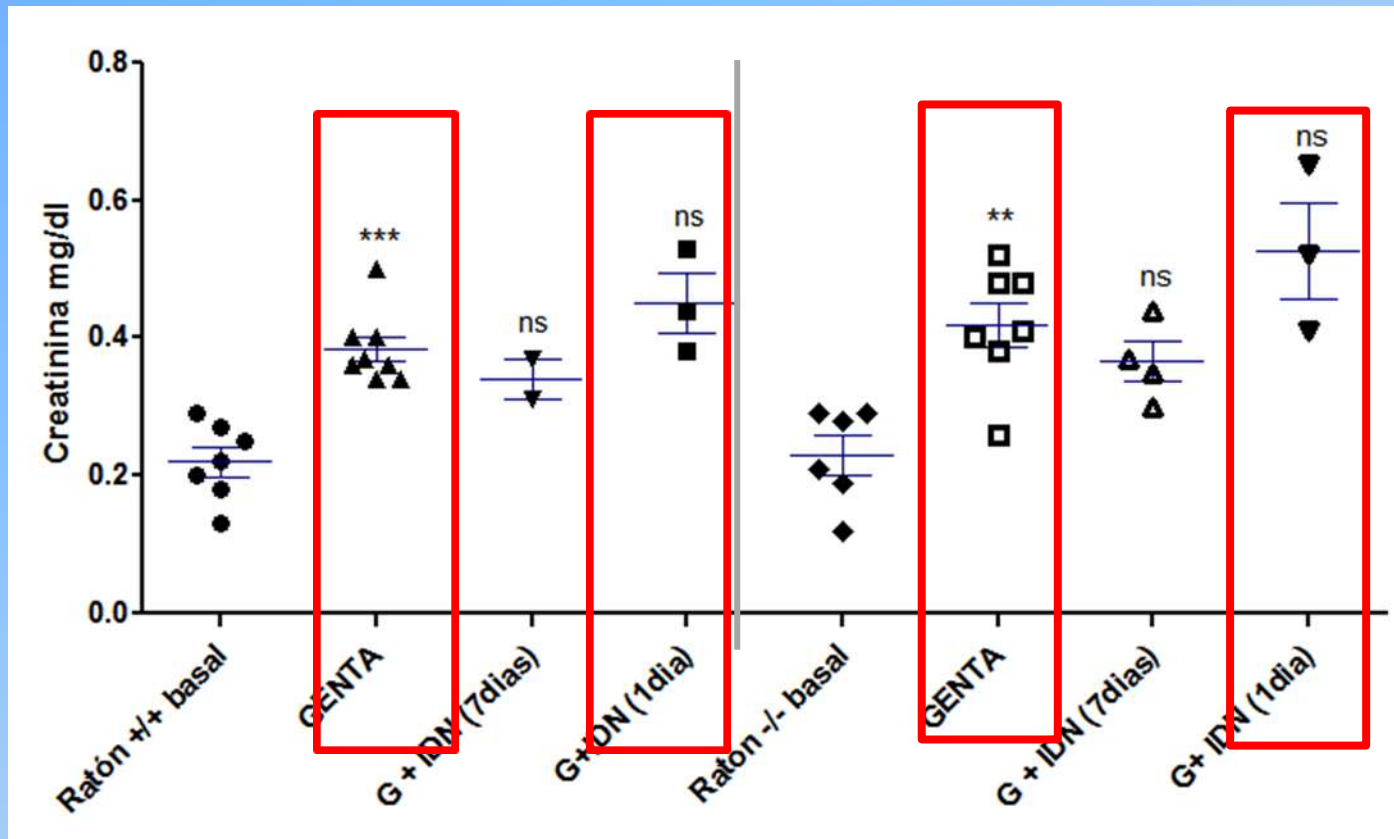


# Modelo fracaso renal agudo

Evaluación del daño renal

Medición de creatinina (plasma):

Taquifilaxia



# Modelo fracaso renal agudo

## **CONCLUSIONES**

A diferencia del modelo de hipertensión, la delección del gen Hras, en principio, no protege ante un daño renal inducido por Gentamicina.

iiiGRACIAS!!!





## **AVANCES EN INVESTIGACIÓN RENAL Y VASCULAR: TALLERES DE DISCUSIÓN.**

**CURSO DE VERANO UNIVERSIDAD DE ALCALÁ 2013, 52-01  
Directoras: Laura Calleros Basilio y Gemma Olmos Centenera.**

11 y 12 de julio de 2013. Aula 14 Facultad de Farmacia.  
Universidad de Alcalá.