

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS MOLECULARES DE PROTECCIÓN DE LA HIPERTROFIA Y FIBROSIS CARDÍACA INDUCIDA POR ANGIOTENSINA II EN RATONES 129 SVJ H-RAS-/-

P. Martín Sánchez¹; A. Luengo Rodríguez¹; M. Griera Merino¹; M. Rodríguez-Puyol¹; D. Rodríguez-Puyol²; L. Calleros Basilio¹

¹ Biología de Sistemas, unidad de Fisiología. Universidad de Alcalá -Alcalá de Henares. Madrid.

²Fundación de Investigación biomédica. Hospital Universitario Príncipe de Asturias - Alcalá de Henares. Madrid.

INTRODUCCIÓN:

Las proteínas Ras, con una masa molecular entre 20 y 40 kDa pertenecen a la familia de las proteínas G con actividad GTPasa. Ejercen su función activando varias vías de señalización intracelular, principalmente a través de su efector Raf y ERK (MAPK) o AKT. Se ha demostrado que la falta de las isoformas H-Ras y N-Ras en fibroblastos regula la síntesis de matriz extracelular (ECM) a través de TGF- β e induce fibrosis. Sin embargo, la importancia de Ras en la regulación de la presión arterial ha sido muy poco estudiada. Nuestro grupo ha observado que la delección del gen H-Ras en ratones 129svj produce hipotensión por activación de la vía GCs/PKG.

OBJETIVO: Comprobar el efecto protector de dicha delección frente a la hipertensión y el daño cardiovascular inducido por Angiotensina II.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se utilizaron ratones de la cepa 129svj H-Ras^{+/+} y H-Ras^{-/-} a los que se les midió la tensión basal mediante esfigmomanómetro de cola y, a continuación, se les implantó en el lomo una micro-bomba osmótica con Angiotensina II a una concentración de 1000 ng/kg. La infusión de Ang II se produjo de forma constante durante 28 días a una velocidad de 0,11 μ l/hora. Pasado este tiempo, se volvió a medir la tensión y se les sometió a un ecocardiograma para ver el tamaño, función, fuerza del corazón, movimiento y grosor de sus paredes entre otros parámetros.

Al terminar el tratamiento se sacrificaron los animales y se extrajo el corazón con el fin de medir la expresión de PKG, GCs y proteínas profibróticas, por Western Blot y qPCR. También se analizó el daño cardíaco en cortes histológicos con tinción de Rojo Sirio.

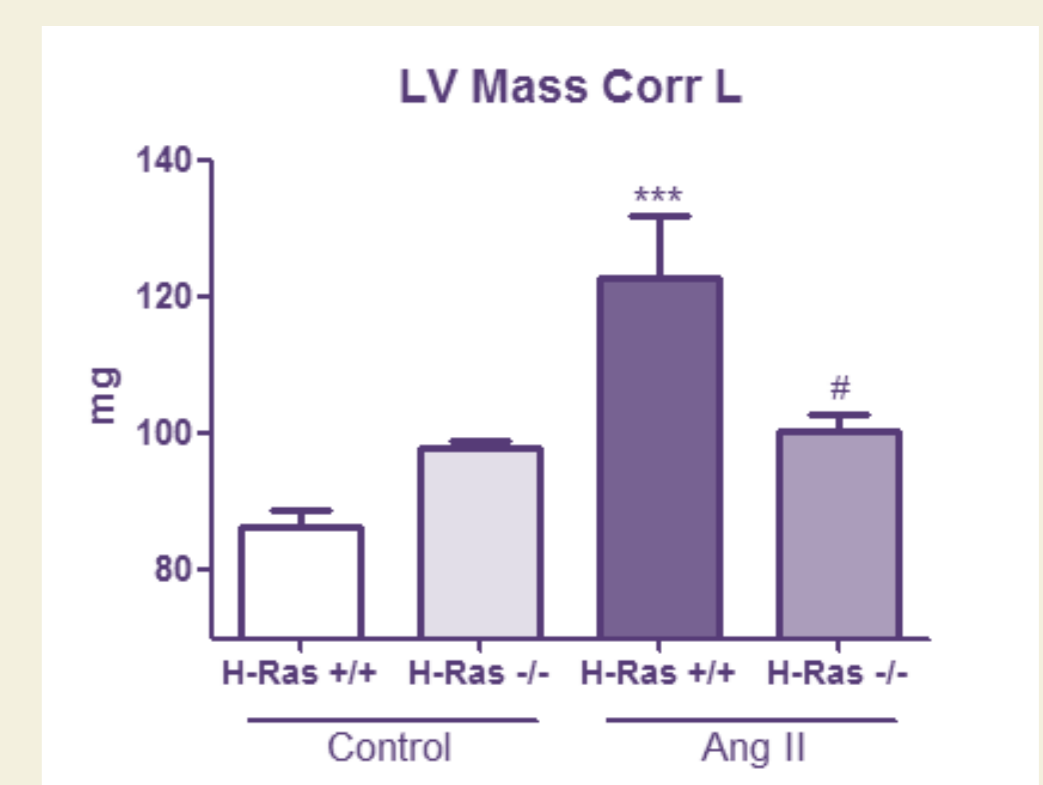
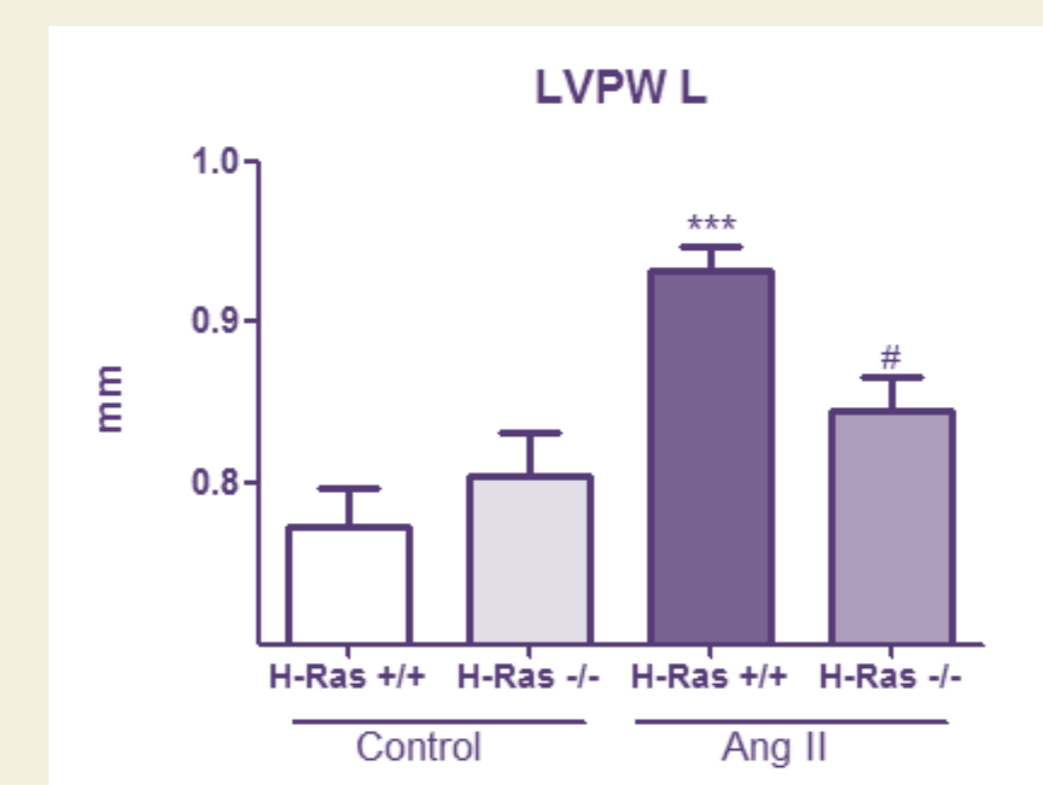
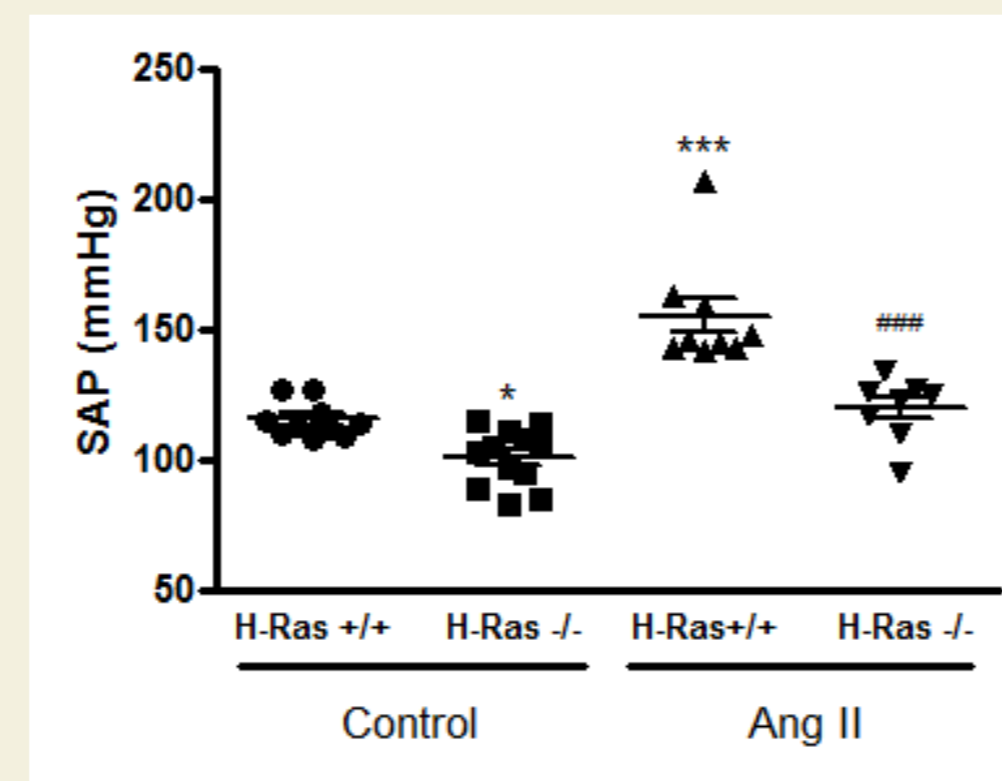
Análisis estadístico:

Los datos han sido analizados mediante el test ANOVA y test de Bonferroni.

*=p<0,05 vs H-Ras +/+ control, # = p<0,05 vs H-Ras +/+ Ang II.



	SAP	DAP	MAP	HR	n
Control H-Ras +/+	117±11	79 ±6	92±5	610±56	11
Control H-Ras -/-	93±10 *	64±9	74±11	556±64	12
Ang II H-Ras +/+	144±20 ***	100±18	114±17	605±57	9
Ang II H-Ras -/-	120±12 ###	81±13	93±12	549±65	9



2a

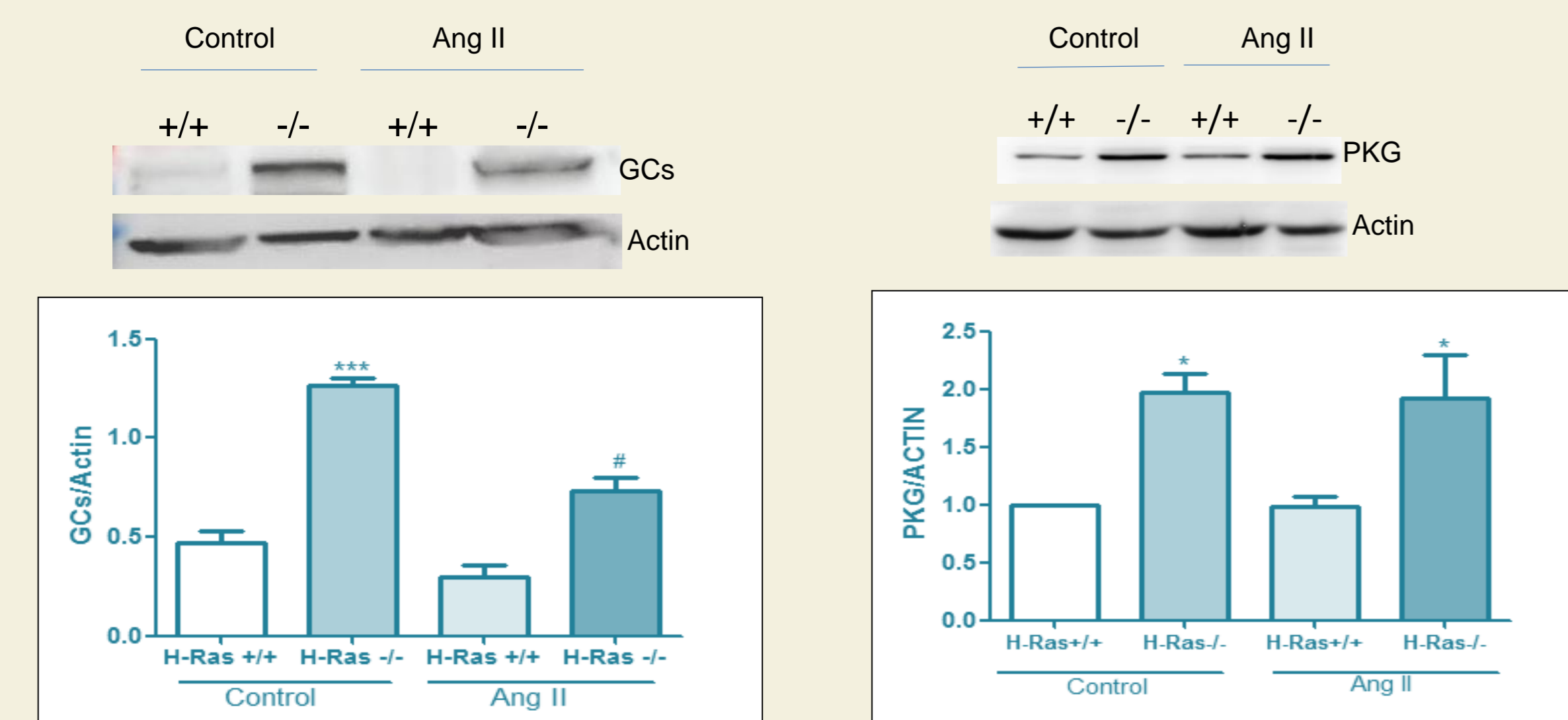
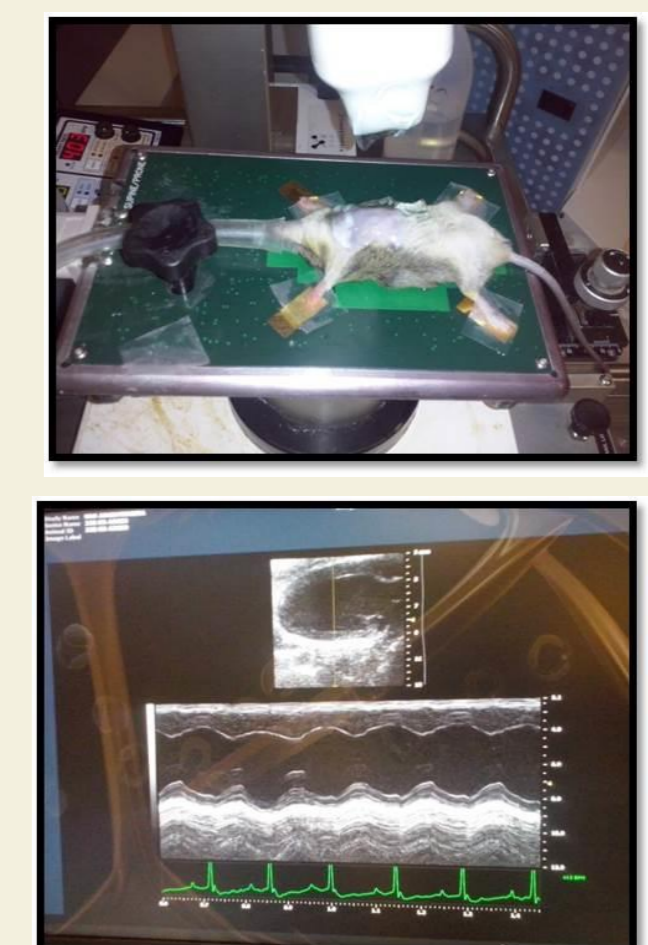
2b

Fig.1. Valores de presión arterial sistólica, diastólica y media en ratones Control y tratados con Angiotensina II.

A nivel basal los ratones H-Ras^{-/-} presentan una menor tensión que los H-Ras^{+/+}. Dicha diferencia significativa también ocurre cuando se les trata con Angiotensina II produciéndose hipertensión en los ratones H-Ras^{+/+} pero no en los H-Ras^{-/-}.

Fig.2. Análisis de la hipertrofia cardíaca mediante ecocardiograma.

El tratamiento con Angiotensina II en ratones H-Ras^{+/+} produce un aumento significativo del grosor de la pared del VI (LVPW) y de la masa de dicho ventrículo (LV Mass Corr) respecto a los controles que no ocurre en los ratones H-Ras^{-/-}. n=12



3a

3b

Fig. 3. Niveles de GCs y PKG en corazón en condiciones basales y post-tratamiento.

WB representativo y densitometría para un n= 5.

Los ratones H-Ras^{-/-} tienen incrementado tanto los niveles de GCs como los de PKG comparado con los H-Ras^{+/+}, siendo estas diferencias significativas tanto en los controles como en los tratados con Ang II.

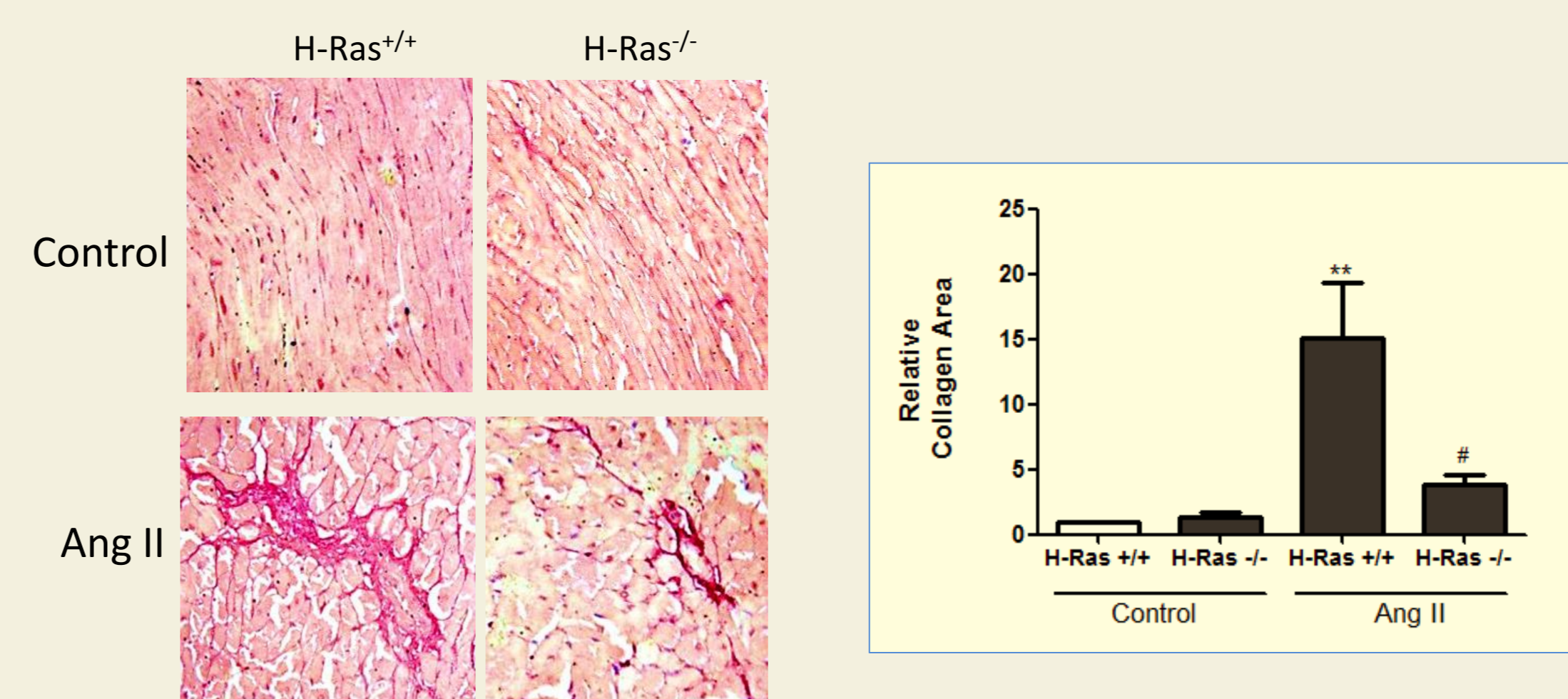
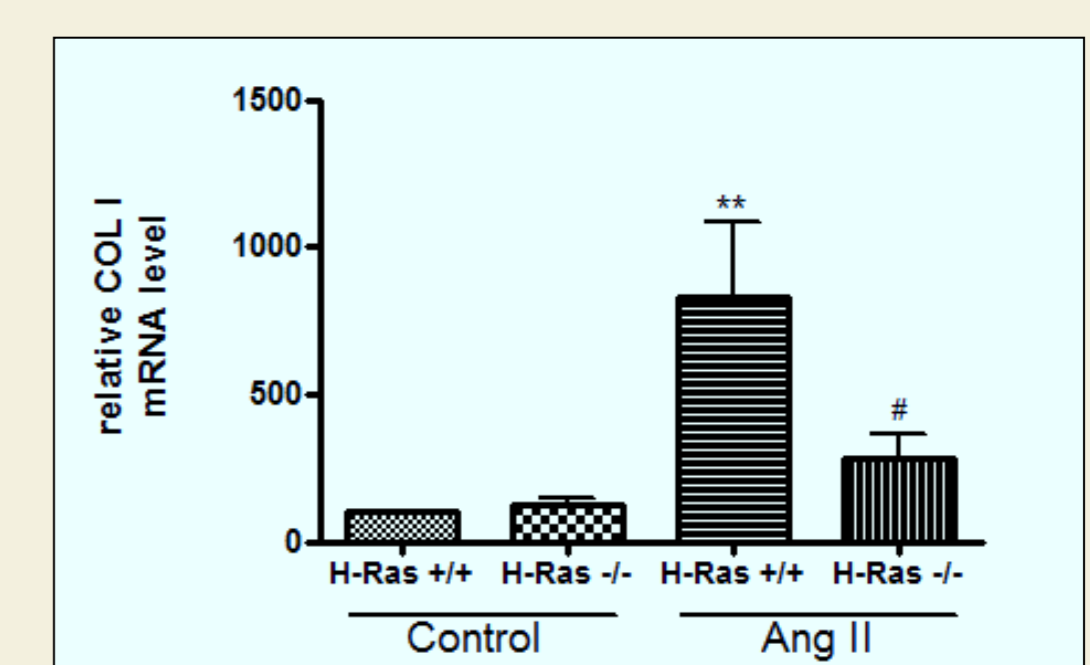


Fig.4. Evaluación del daño cardíaco en cortes histológicos teñidos con rojo sirio y análisis de los niveles de Colágeno I mediante qPCR.

La fibrosis cardíaca aumenta significativamente en los H-Ras^{+/+} tratados con Ang II respecto a los controles. Por el contrario, los ratones H-Ras^{-/-} tratados con Ang II producen una fibrosis mucho menor. Las mismas diferencias fueron observadas al analizar el mRNA Colágeno I mediante qPCR.



CONCLUSIONES

Este trabajo demuestra el efecto protector de la delección del gen H-Ras ante la hipertensión y fibrosis inducida por Ang II y sugiere que la manipulación de dicho gen podría tener un gran valor clínico.

La implicación directa del aumento de la expresión de PKG en este modelo deberá comprobarse mediante la utilización de activadores e inhibidores de la vía H-Ras/PKG. Nuestro grupo está actualmente centrado en dicho análisis y en estudiar en profundidad los mecanismos moleculares que subyacen al efecto observado.