



I Congreso Chileno

de Hipertensión Arterial

3 al 5 de septiembre 2015
Hotel Intercontinental, Santiago

CONFERENCIA HECTOR CROXATTO

Gloria Valdés. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

INVITADOS INTERNACIONALES

Ernesto Schiffrin. McGill University, Montreal, Canada.

Robson Santos. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Organizadores



Patrocinadores



EL RECEPTOR DE MINERALOCORTICOIDES EN CÉLULAS DE MÚSCULO LISO VASCULAR ES CRUCIAL EN LA PATOGENESIS DE LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR CICLOSPORINA-A

Amador, Cristián¹, Bertocchio, Jean-Philippe^{1,3}, André-Gregoire, Gwennan¹, Placier, Sandrine², Chatziantoniou, Christos², Rieu, Philippe³, Jaisser, Frédéric¹,¹Physiologie et physiopathologie INSERM - Centre de Recherche des Cordeliers.²Hemodynamic Platform INSERM - Tenon Hospital.³Nephrology, Dialysis and Transplantation Reims University Hospital. (Sponsored by COST-ADMIRE BM1301 Network)

Introducción.- La nefrotoxicidad por ciclosporina-A (CIN) es un efecto adverso importante en pacientes post-trasplante renal. El antagonismo farmacológico del Receptor de Mineralocorticoides (MR) previene la CIN en animales de experimentación mediante la regulación de factores vasoactivos. Estudios previos indican que el MR se expresa en endotelio y en células de músculo-liso vascular (SMC), regulando el tono vasoconstrictor. **Hipótesis.-** La activación del MR vascular promueve la CIN. **Métodos.-** Ratones C57BL/6 silvestres (WT, 8-10 semanas) y ratones *knock-out* para el MR en SMC (SMC-MR-KO) o en células endoteliales (Endo-MR-KO) fueron tratados con vehículo (VH) o ciclosporina-A (CsA, 100mg/kg/d, 2-días). **Resultados.-** CsA indujo pérdida del peso corporal en ratones WT, SMC-MR-KO y Endo-MR-KO ($p < 0.05$ vs. VH, ANOVA). CsA disminuyó la función renal e indujo vacuolización tubular en todos los ratones, a excepción de la línea SMC-MR-KO. La ausencia del MR-SMC previno la sobreexpresión de NGAL (marcador de daño renal) inducida por CsA en túbulo proximal. CsA aumentó la fosforilación de proteínas contráctiles en aortas de ratones WT y Endo-MR-KO (≥ 1.5 veces, $p < 0.05$), lo cual fue prevenido en ratones SMC-MR-KO. La inactivación del MR-SMC previno el incremento de la resistencia vascular renal ($p < 0.05$), lo cual se asoció con una menor actividad del canal de Ca^{2+} tipo-L. **Discusión.-** El MR-SMC, pero no en endotelio, es fundamental en la patogénesis de la CIN.

INSERM, CONICYT Becas-CHILE (N°74130051)

ELIMINACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PREVIENE LA REGULACIÓN POSITIVA DEL RAS INTRARENAL Y TRANSPORTADORES DE SODIO EN RESPUESTA A ANGIOTENSINA II Y DIETA RICA EN SAL

Araos, Patricio¹, Hevia, Daniel¹, Fuentes, Eugenia¹, Prado, Carolina², Pacheco, Rodrigo², Michea, Luis¹,¹Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, CEMC, ICBM, Facultad de Medicina Universidad De Chile. ²Laboratory of Neuroimmunology Fundación Ciencia y Vida.

Aumentos plasmáticos de Angiotensina II (AngII) y dieta rica en sal (HS) inducen el sistema Renina-Angiotensina intrarenal (iRAS) e Hipertensión (HT), favoreciendo la expresión de transportadores de sodio del túbulo renal. Previamente demostramos que ausencia de células dendríticas (DCs) previene la HT. En este estudio evaluamos si la eliminación de DCs altera la inducción del iRAS y transportadores renales de sodio en respuesta a AngII+HS. Estudiamos ratones genéticamente modificados (CD11c.DOG) que permiten la eliminación de las DCs mediante inyección de toxina diftérica (DT). Los grupos experimentales (14 días) fueron: Vehículo, AngII+HS (minibomba osmótica) + NaCl (agua de bebida) ó AngII+HS+DT. Medimos presión arterial, DCs renales (immunofluorescencia), mRNA y proteínas del iRAS, intercambiador sodio-protón tipo 3 (NHE3), cotransportador-sodio-cloruro (NCC) y Canal de Sodio Epitelial (α ENaC) (qRT-PCR y *Western blot*). El tratamiento AngII+HS aumentó la abundancia de DCs en la corteza renal, indujo el iRAS (veces de inducción: Angiotensinógeno=1,5; Enzima convertidora de angiotensina=1,9; y Receptor de AngII tipo=5,0), así como NHE3, NCC y α ENaC (veces de inducción: 4,2; 6,0; 2,0, respectivamente $p < 0.05$ vs. vehículo; $n = 5-9$). La eliminación de DCs en ratones CD11c.DOG previno la HT, la inducción del iRAS y los transportadores de sodio renales (pvs. CD11c.DOG AngII+HS; $n = 5-9$). Concluimos que las DCs son necesarias para la inducción del iRAS y los transportadores tubulares de sodio en respuesta a AngII+HS.

FONDECYT1130550, IMII P09-016-F, BECA CONICYT 21130482

Organizadores



Patrocinadores



CAPACIDAD HIPOTENSORA Y ANTIHIPERTENSIVA DE EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *SENECIO NUTANS* (Chachacoma).

Cifuentes, Fredi¹, Muñoz, Fernanda¹, Molina, Valentina¹, Palacios, Javier³, Paredes, Adrián², Morales, Glauco².

¹Laboratorio de Fisiología Experimental y ²Laboratorio de Química Biológica, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

³Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Arturo Prat. Iquique.

Introducción: En la medicina folclórica alto andina, varias hierbas son utilizadas para el tratamiento de migraña y mal de altura. Resultados previos demostraron que el extracto hidroalcohólico posee actividad miorelajante en anillos arteriales de ratas y humanos. **Objetivo:** Caracterizar la respuesta hipotensora y antihipertensiva del extracto hidroalcohólico total de Chachacoma. **Metodología:** Se utilizó extracto hidroalcohólico (HA) total de Chachacoma, liofilizado y resuspendido en suero fisiológico. Se determinó la presión carotídea en ratas y ratones conectados a transductores de presión. Se registró ECG en DII mediante electrodos de aguja. La capacidad hipotensora se determinó administrando por vía I.V. y gástrica dosis crecientes del extracto. La capacidad antihipertensiva se determinó administrando por I.V. 40 mg/Kg del extracto en ratones anestesiados, 60 minutos previos a la administración de Angiotensina II 1µg/Kg. La comparación entre grupos se realizó utilizando ANOVA de una vía y Bonferroni como postest. Se consideró significativo $p < 0,05$. **Resultados:** El extracto produce una significativa reducción de la presión arterial de manera dosis dependiente, tanto en ratas como en ratones. En ambos modelos, el extracto HA redujo la frecuencia cardíaca y en aurícula aislada el ritmo sinusal. **Conclusión:** El extracto HA produce: 1. Disminución de la presión arterial dosis dependiente en ratas y ratones normotensos, y en ratones hipertensos con Angiotensina II. 2. Induce una marcada bradicardia.

EL ROL DE FOXM1 EN PLACENTACIÓN TEMPRANA EN EMBARAZO NORMAL

Monteiro, Lara¹, **Cubillos, S**¹, Pia, Venegas¹, Varas-Godoy, Manuel¹, Illanes, Sebastián¹, ¹Biología de la Reproducción, Medicina, Universidad De Los Andes.

La invasión del trofoblasto extraveloso es fundamental para la placentación humana. Las células trofoblásticas pueden asimilarse a las células de carcinoma debido a su capacidad para proliferar e invadir y exhibir expresión génica similar. Un posible factor de transcripción involucrado en este patrón es forkhead box M1 (FOXM1) ya que es sobreexpresado durante el desarrollo del cáncer. FOXM1 desempeña un papel principalmente en la regulación de la proliferación celular. Con estos antecedentes, quisimos evaluar el papel de FOXM1 en el desarrollo normal de la placenta.

Para evaluar la expresión de FOXM1 durante el embarazo, ratas fueron sacrificadas a los días E14, E15, E18, E19 y E20. La expresión de la proteína placentaria se analizó por western blot. La influencia de FOXM1 en la migración se midió por el ensayo de herida en líneas celulares JEG3 haciendo silenciamiento de FOXM1 a través de siRNA.

FOXM1 se expresó desde mediados de la gestación (E14), pero su expresión disminuyó a medida que aumentó la edad gestacional. *In vitro*, se observó que FOXM1 es mayormente expresado a 3% O₂. Además, a 8% de oxígeno se observó en JEG3 con FOXM1 silenciado había una reducción en la migración.

Nuestros datos sugieren que FOXM1 modula el potencial migratorio del trofoblasto a tiempos tempranos de la placentación. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprender plenamente la función de FOXM1.

FONDECYT N° 3140038 and N° 1140119

Organizadores



Patrocinadores



MINERALOCORTICOIDES REGULAN LA EXPRESIÓN DE LA SUBUNIDAD B3 DE LA NA⁺K⁺-ATPASA VÍA RECEPTOR DE MINERALOCORTICOIDES

Diaz, Pablo², DeGregorio, Cristián¹, Cutiño, Andrea¹, Gonzalez, Magdalena², Michea, Luis², ¹Fisiología, Medicina, Universidad De Chile. ²Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, CEMC, ICBM, Medicina, Universidad De Chile.

Aldosterona aumenta la actividad de la Na⁺K⁺-ATPasa (NKA) en células principales (CP) de túbulo colector (TC) renal vía receptor de mineralocorticoides (RM). NKA es un heterodímero, formado por las subunidades α -catalítica y β -regulatoria. En riñón se expresan $\alpha 1/\beta 1$ y $\beta 3$. β modularía la localización subcelular y tráfico del heterodímero, la adhesión célula-célula y permeabilidad paracelular del epitelio tubular. Se desconoce si la expresión diferencial $\beta 1/\beta 3$ es modificada por aldosterona, lo que representaría un nuevo mecanismo regulatorio de la NKA.

Hipótesis: activación del RM modula la expresión de la subunidad $\beta 3$ en TC.

Ratones C57Bl/6 fueron sometidos a adrenalectomía (ADX) o cirugía SHAM. Ratones ADX recibieron dieta rica en sal o terapia de reemplazo hormonal con DEOXYCORTICOSTERONA. En un segundo set de experimentos ratones fueron tratados con espironolactona (50mg/Kg/día) por 3 días y estudiamos la expresión de subunidades NKA en tejido renal (corteza y médula) por qRT-PCR y *Western Blot*. Adicionalmente se estudió el efecto de aldosterona (10 nM/24 Hr) sobre cultivo primario de médula renal (IMCD)

ADX incrementó el mensajero y proteína $\beta 3$ en médula pero no en corteza (71%±6%, n=9, P<0,001), Consistentemente, el tratamiento con espironolactona incrementó la expresión de $\beta 3$ (120%±20%, n=5, P<0,05). Ambos tratamientos no afectaron a las subunidades α_1/β_1 y β_3 en corteza. En IMCD aldosterona disminuyó un 50%±5% la proteína $\beta 3$ (n=3, p<0,05).

Conclusión: NKA $\beta 3$ es regulada negativamente por la activación del RM

FONDECYT Regular 1130550, IMII09-016-F y BECA CONICYT N° 21120658.

EFFECTO DE NIVELES SUPRAFISIOLÓGICOS DE ALDOSTERONA EN LA PROLIFERACION Y ADIPOGÉNESIS DE LA LÍNEA CELULAR DE LIPOSARCOMA HUMANO SW-872

Fuentes, Cristobal^{1,2}, Gomez, Luis-Martin², Fuentes, Nataly², Vecchiola, Andrea^{2,3}, Ortiz, David², Lagos, Carlos F^{2,3}, Owen, Gareth¹, Cifuentes, Mariana⁴, Carvajal, Cristian^{3,2}, Campino, Carmen^{2,3}, Kalergis, Alexis⁵, Fardella, Carlos^{2,5}, ¹Endocrinología y Reproducción, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile. ²Endocrinología, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. ³Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia Pontificia Universidad Católica De Chile. ⁴Instituto de Nutrición y tecnología de los Alimentos Universidad De Chile. ⁵Instituto de Inmunología e Inmunoterapia Pontificia Universidad Católica De Chile.

El tejido adiposo crece por proliferación y diferenciación, este ultimo caracterizado por la expresión de los marcadores C/EBP β y HSD11B1 y acumulación de lípidos. Aldosterona se sintetiza en el adipocito, pero se desconoce su efecto en altas concentraciones en estos procesos. **Objetivo** Estudiar el efecto de concentraciones suprafisiológicas de aldosterona en la proliferación y diferenciación del preadipocito *in vitro*. **Métodos** Se utilizó la línea adiposa SW872. Se evaluó aldosterona 0.1 ó 10nM. Proliferación: se traó el ADN con ioduro de propidio y cuantificó por citometría a 12 y 24Hr. Diferenciación: Inducida con MIX adipogénico por 48Hr. El efecto de ALD en los marcadores de diferenciación se realizó 48Hr post-inducción por qRT-PCR. La acumulación de lípidos se detectó con Oil Red O y cuantificó por espectrofotometría. se utilizó test Anova. **Resultados** Proliferación: ALD 0.1nM redujo 2% a las 12Hr. Aldosterona 10nM redujo un 3% a las 24Hr. La diferenciación con MIX aumentó significativamente C/EBP β y HSD11B1 con peaks a las 24 y 12hr respectivamente. Aldosterona 0,1nM desplazó los peaks de HSD11B1 a las 24Hr. El MIX aumentó la acumulación de lípidos al día 7. ALD 10nM aumentó la acumulación de lípidos respecto al MIX al 7 día. **Conclusión** ALD fisiológica retrasa expresión de HSD11B1. ALD suprafisiológicas tiende a reducir proliferación y aumenta acumulación de lípidos, promoviendo hiperplasia de adipocitos

PROYECTO SOCHED 2013-6, IMII P09/016-F, CORFO 13CTI-21526-P1 Y FONDECYT 1150437 Y 1130427.

Organizadores



Patrocinadores



ALDOSTERONA MODULA LA EXPRESIÓN DE MARCADORES PROINFLAMATORIOS EN CELULAS ADIPOSAS

Gonzalez-Gomez, Luis Martin¹, Fuentes, Cristobal¹, Ortiz, David¹, Fuentes, Nataly¹, Vecchiola, Andrea¹, Lagos, Carlos F¹, Muñoz-Durango, Natalia², Cifuentes, Mariana³, Kalgis, Alexis², Fardella, Carlos¹, ¹Endocrinología, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. ²Instituto Milenio de Inmunología e inmunoterapia Pontificia Universidad Católica De Chile. ³Instituto de Nutrición y tecnología en Alimentos Universidad De Chile.

En obesidad existe un estado inflamatorio basal, asociado a producción de citoquinas proinflamatorias derivadas del tejido adiposo. El aumento en los niveles de aldosterona modularía la producción de moléculas proinflamatorias en el tejido adiposo. Para comprobar la hipótesis de que aldosterona afecta la expresión de marcadores proinflamatorios, se utilizaron las líneas celulares de liposarcoma humano LS14 y SW872 tratados con LPS(100ng/mL) o aldosterona(0.1-100nM) por 24hrs. Utilizando qRT-PCR, se determinó la expresión de los genes MR, GR, IL6, IL1 β , HSP90 y TLR4. Se utilizaron las pruebas t-student, U Mann-Whitney, ANDEVA con test a *posteriori* de Dunn, y Spearman. **Resultados:** LS14 difieren de SW872 en tiempo de proliferación y en cambios morfológicos al diferenciarse. Además, presentan distintos perfiles de expresión de receptores de corticoides entre líneas y estados de diferenciación. Preadipocitos LS14 tratados con LPS expresan más IL1 β (p<0.05) y aldosterona 10nM disminuye HSP90(p<0.05); estos tratamientos no afectaron marcadores proinflamatorios en preadipocitos SW872. Adipocitos LS14 tratados con LPS aumentaron IL6(p<0.05) y TLR4(p<0.05); LPS no afectó a adipocitos SW872. En adipocitos LS14 la concentración de aldosterona se correlaciona negativamente con expresión de IL1 β (p=0.0402) y positivamente con HSP90(p=0.023) y TLR4(p=0.0264); SW872 diferenciados no responden a aldosterona. **Conclusión:** Aldosterona estimula la expresión de marcadores inflamatorios sólo en cultivos LS14.

Financiado por proyectos SOCHED 2013-6, IMII P09/016-F, CORFO 13CTI-21526-P1 y FONDECYT 1150437 & 1130427.

EVALUACIÓN BIOLÓGICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA ENZIMA 11BETA-HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA TIPO 1

Ortiz, David¹, Gomez, Luis-Martin¹, Fuentes, Cristobal¹, Fuentes, Nataly¹, Allende, Fidel², Benítez, Agustín², Campino, Carmen¹, Solari, Sandra², Carvajal, Cristian¹, Lagos, Carlos F¹, Vecchiola, Andrea¹, Fardella, Carlos E¹, ¹Endocrinología, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. ²Laboratorios Clínicos, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile.

La sobreexpresión de enzima 11beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 β -HSD1) está asociada al desarrollo de hipertensión arterial (HTA) y obesidad. La inhibición de la enzima 11 β -HSD1, ha mostrado atenuar algunos de los síntomas de la HTA, dislipidemias y resistencia a la insulina en modelos animales y ensayos clínicos del síndrome metabólico. **Hipótesis:** Las células HEK-293 transfectadas con los plásmidos que contienen el gen de las enzimas 11 β -HSD1 u 11 β -HSD2 mejorará la eficiencia del screening de inhibidores de 11 β -HSD1. **Métodos:** Los plásmidos de las enzimas 11 β -HSD1 u 11 β -HSD2 se transfectaron con TurboFect Reagent y se determinó su expresión por qRT-PCR y Western Blot. Se determinó las concentraciones óptimas de sustrato, cofactor y tiempo de incubación para las actividades deshidrogenasa de 11 β -HSD1 u 11 β -HSD2. Se compararon 2 inhibidores con ácido β -glicirretínico (ABG) para la actividad deshidrogenasa de 11 β -HSD1. Se utilizó ANOVA y post-test Tukey como método estadístico. **Resultados:** Se obtuvo la línea celular HEK-293 estable para 11 β -HSD1 u 11 β -HSD2. Los parámetros cinéticos para la actividad deshidrogenasa de 11 β -HSD1 son Km=0,3 μ M y Vmáx=167,7 nM/h. Para la actividad deshidrogenasa de 11 β -HSD2 fueron Km=12 μ M y Vmáx=8 μ M/h. Los inhibidores utilizados no afectan la actividad deshidrogenasa de las enzimas 11 β -HSD1 y 11 β -HSD2. ABG inhibió las actividades deshidrogenasa de ambas enzimas. **Conclusión:** Los inhibidores son selectivos para la actividad reductasa de la enzima 11 β -HSD1, sin afectar las actividades deshidrogenasa de las enzimas 11 β -HSD1 y 11 β -HSD2.

SOCHED 13-6, IMII P09/016-F, CORFO 13CTI-21526-P1 and FONDECYT 1150437 & 1130427.

Organizadores



Patrocinadores



SUJETOS CON SÍNDROME METABÓLICO, PRE HIPERTENSOS Y SIN DIABETES TIPO 2 PRESENTAN SIGNOS DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL ASOCIADO A ACTIVACIÓN DE RHOA/ROCK

Leguina-Ruzzi, Alberto¹, Pereira, Jaime¹, Pereira-Flores, Karla¹, Palominos, Macarena¹, Valdera, Juan Patricio², Acevedo, Mónica³, Mezzano, Diego¹, Velarde, Victoria⁴, Sáez, Claudia¹, ¹Hematology and Oncology, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Faculty of Medicine Pontificia Universidad Católica de Chile.³Cardiology, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁴Physiology, Biological Science, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El Síndrome Metabólico (SM) es un agregado de factores de riesgo cardiovasculares (CVD) que evidencian una disfunción endotelial (DE) crónica, la que se caracteriza por una menor biodisponibilidad de óxido nítrico (ON), desbalance de citoquinas pro-inflamatorias y sobreactivación de RhoA/ROCK. **Objetivo:** estudiar en jóvenes con SM, sin hipertensión o diabetes tipo-2, marcadores de CVD e *in-vitro*, la activación de RhoA/ROCK en respuesta a moléculas elevadas en el SM. **Métodos:** en 32 hombres (edad=31±1.3) con SM (ATPIII), se determinó perfil FAME, citoquinas inflamatorias, marcadores de estrés oxidativo (TBARS, AOPP), generación de trombina y actividad de RhoA/ROCK. *In-vitro*, se estudió RhoA/ROCK en HUVEC expuestas a IL-6, ácido palmítico (AP) e insulina, en presencia o ausencia del inhibidor de ROCK. **Resultados:** los sujetos con SM presentaron mayor actividad de RhoA/ROCK, niveles elevados de AP, IL-6, insulina, sICAM-1, MCP-1, TBARS, AOPP y menor ON que los sujetos control. *In-vitro*, IL-6, insulina y AP indujeron activación de RhoA/ROCK, asociado a marcadores de DE y mayor adhesión plaquetaria. **Conclusiones:** jóvenes con SM presentan pre-hipertensión, signos de DE, un estado pro-inflamatorio, pro-aterogénico y mayor activación de RhoA/ROCK. Los estudios *in-vitro*, muestran que la activación de RhoA/ROCK es crucial en estos procesos. Los resultados muestran que la activación de ROCK juega un papel importante en la patogenia de la DE asociada a SM sugiriendo un potencial blanco terapéutico.

Fondecyt 1141051, Beca Doctoral Conicyt 21140004, Puente VRI-UC 20/2013.

EFFECTO DE UN COMPUESTO DERIVADO DE QUINONA [2-(4-HIDROXIFENIL) AMINO-1,4-NAFTOQUINONA] SOBRE MÚSCULO LISO VASCULAR: POTENCIALES CONSECUENCIAS TERAPÉUTICAS

EFFECT OF A COMPOUND QUINONE DERIVATIVE [2-(4-HYDROXYPHENYL)AMINO-1,4-NAPHTHOQUINONE] ON VASCULAR SMOOTH MUSCLE: THERAPEUTIC POTENTIAL CONSEQUENCES

Palacios, Javier¹, Benites, Julio¹, Ríos, David¹, Paredes, Adrián², Cifuentes, Fredi³. ¹Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Arturo Prat. ²Laboratorio de Química Biológica y ³Laboratorio de Fisiología Experimental, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

Introducción: Concentraciones tóxicas de drogas que tienen en su composición compuestos de quinona (como doxorubicina) disminuyen la vasodilatación endotelial. **Objetivo:** Evaluar el efecto de **Q7** [2-(4-hidroxifenil)amino-1,4-naftoquinona] sobre la respuesta del endotelio vascular en aorta de ratas y cultivo celular de músculo liso. **Materiales y Métodos:** Se hicieron experimentos de reactividad vascular en aorta de ratas Sprague-Dawley, estimulando el endotelio vascular con distintas sustancias vasoactivas. Se estudió la citotoxicidad en células de músculo liso de aorta de rata (A7r5). Se evaluó el estrés oxidativo inducido por **Q7** en lípidos y proteínas de homogenizado de aorta de rata. El uso y cuidado de animales siguió la guía del NIH. La comparación entre grupos se realizó con ANOVA, seguido de un postest de Bonferroni. Se consideró significativo $p < 0,05$. **Resultados:** Dosis no citotóxica de **Q7** induce estrés oxidativo y reducción de la función vascular. En cultivo celular, la sobrevivencia fue del 20% y 50%, 24 h y 48 h, respectivamente. También disminuyó la formación de óxido nítrico (NO) en aorta de rata y la vasodilatación disminuyó 1,9 veces, involucrando canales de potasio. **Q7** también aumentó la vasoconstricción inducida por fenilefrina en un 30% cuando se añadió CaCl_2 a un medio libre de calcio. **Conclusión:** Estos datos sugieren **Q7** podría disminuir la vasodilatación endotelial y reducir el flujo sanguíneo en las células tumorales, evitando proliferación celular. Financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Arturo Prat.

Organizadores



Patrocinadores



IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS DE CYP2C9 Y SU RELACIÓN CON EL USO DE LOSARTÁN EN PACIENTES HIPERTENSOS CHILENOS.

Pedrerros, Cristian¹, Jalil, Roberto², Lagos, Marcela³, Solari, Sandra³, ¹Medicina Interna, Medicina, Universidad De Concepción. ²Nefrología, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. ³Laboratorios Clínicos, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile.

Introducción. Losartán tiene probado beneficio en enfermedad cardiovascular y renal, mas no hay consenso en su posología por presencia de polimorfismos en CYP2C9, enzima que metaboliza losartán a su metabolito activo E-3174. **Objetivos.** Identificar frecuencia alélicas (FA) y genotípicas (FG) de CYP2C9 en hipertensos chilenos usuarios de losartán, comparar genotipos con población normal chilena y relacionar los polimorfismos con dosis y posología. **Métodos.** Se identificó CYP2C9*2 y CYP2C9*3. Se compararon (FA) y (FG) con población normal con Chi-Cuadrado y se utilizó odds ratio como indicador de probabilidad de requerir mayor dosis o más frecuentemente losartán. **Resultados.** FA fueron 0.85(CYP2C9*1), 0.05(CYP2C9*2) y 0.1(CYP2C9*3). Las FG fueron 73.3%(CYP2C9*1/*1), 6.7%(CYP2C9*1/*2), 16.7%(CYP2C9*1/*3) y 3.3%(CYP2C9*2/*3). CYP2C9*3 y CYP2C9*1/*3 fueron significativamente más frecuente en hipertensos (p=0,041 y p=0,04). Al comparar CYP2C9*3 versus CYP2C9*1 con dosis de 50mg y 100mg, se determinó OR de 1,46 (IC 0.01-18.64). Al comparar CYP2C9*3 versus CYP2C9*1 con posología (una o dos veces) y se obtuvo un OR de 5,88 (IC 0.54-62.14). **Conclusión.** Este es el primer estudio farmacogenético de losartán en chilenos hipertensos. La mayor presencia de CYP2C9*3 y CYP2C9*1/*3 sugiere relación entre polimorfismo de CYP2C9 y la patogenia de la hipertensión. CYP2C9*3 confiere mayor riesgo de necesitar mayor dosis o frecuencia de losartán, posiblemente por una actividad enzimática reducida.

MENOR METILACIÓN GLOBAL EN SUJETOS CON BAJA ACTIVIDAD DE 11BETA-HIDROXISTEROIDE DESHIDROGENASA TIPO 2

Lizama, Jaime¹, Iturrieta, Virginia¹, **Tapia-Castillo, Alejandra**¹, Valdivia, Carolina¹, Allende, Fidel², Villarzu, Paula¹, Campino, Carmen¹, Martinez-Aguayo, Alejandro³, Bancalari, Rodrigo³, Garcia, Hernán³, Vecchiola, Andrea¹, Fardella, Carlos¹, Carvajal, Cristian¹, ¹ENDOCRINOLOGIA Pontificia Universidad Católica De Chile. ²Departamento de Laboratorios Clínicos Pontificia Universidad Católica De Chile. ³PEDIATRIA Pontificia Universidad Católica De Chile. (Sponsored by LUIS MICHEA)

La actividad deficiente de la enzima 11BHS2 impide la metabolización del cortisol (F) a cortisona (E), participando en la patogénesis de la hipertensión arterial. La metilación local y global de genes asociados podrían estar involucrados en la patogenia de HTA.

Objetivo: Evaluar la actividad *in vivo* de la enzima 11BHS2 y metilación global en DNA de sujetos.

Sujetos y Métodos: Se reclutaron 62 sujetos, agrupados en niños y adultos (aprobación ética CEI-MEDUC#09-096). Se determinó F y E. Se dividieron en sujetos con F/E-alto y normal. Se aisló ADN en leucocitos periféricos para determinar niveles de 5-metil-citosina mediante ELISA y estudiar metilación local del promotor de HSD11B2 por pirosecuenciación. Los resultados se expresan como X±DS y las asociaciones se evaluaron con prueba de Spearman.

Resultados: Sujetos pediátricos con F/E-alto (5,16 [4,86-6,12]) presentan menores niveles de metilación global (3,1 ± 1,74 v/s 5,9 ± 2,9 UA, p:0,01) en comparación a sujetos normales (2,44 [2,22-2,56]). De igual manera, sujetos adultos con F/E-alto (8,67 [7,5-10,58]) presentan menor metilación global (2,8 ± 1,1 v/s 4,3 ± 2,4 UA, p: 0,01) que sujetos normales (3,85 [3,07-4,64]). Los niveles de metilación global se asocian negativamente con la razón F/E (rho: -0,48, p<0,0001) cortisol (rho: -0,47, p<0,0002) y se asocian positivamente a la metilación local del Cpg 30 y 33 del promotor de HSD11B2.

Conclusiones: Baja actividad *in vivo* de la enzima 11BHS2 se asocia negativamente a la metilación global en sujetos pediátricos y adultos.

FONDECYT 1150437, 1130427, proyectos Becado UC PB-01/15, IMII P09/016-F (ICM) y Corfo 13CTI-21526-P1.

Organizadores



Patrocinadores



LA RAZÓN CORTISOL A CORTISONA SÉRICA COMO BIOMARCADOR DE SUJETOS CON DEFICIENCIA DE LA ENZIMA 11B-HIDROXISTEROIDE DESHIDROGENASA TIPO 2

Carvajal, Cristian^{2,1}, Lizama, Jaime², Iturrieta, Virginia², **Tapia-Castillo, Alejandra**², Pinochet, Constanza³, Valdivia, Carolina², Campino, Carmen², Villarzu, Paula², Lagos, Carlos², Vecchiola, Andrea², Faundez, Bernardita², Solari, Sandra^{2,4}, Allende, Fidel⁴, Martínez, Alejandro³, García, Hernán³, Fardella, Carlos^{2,1}, ¹INSTITUTO MILENIO DE INMUNOLOGIA E INMUNOTERAPIA Pontificia Universidad Católica De Chile. ²ENDOCRINOLOGIA, MEDICINA, Pontificia Universidad Católica De Chile. ³PEDIATRIA, MEDICINA, Pontificia Universidad Católica De Chile. ⁴SERVICIOS LABORATORIOS CLINICOS, MEDICINA, Pontificia Universidad Católica De Chile.

La deficiencia severa de 11 β HSD2 por inhibición enzimática o mutación de su gen, activa el receptor de mineralocorticoides (MR) por cortisol provocando el síndrome de exceso aparente de mineralocorticoides (SEAM). **Objetivo:** Reportar el fenotipo de pacientes con SEAM y sus familias, para evaluar la razón cortisol/cortisona (F/E) como un biomarcador de deficiencia 11 β HSD2.

Sujetos y Métodos: Se evaluaron 2 pacientes y familiares con SEAM. En todos, se midió F/E, aldosterona y actividad renina plasmática (ARP). Los análisis genéticos se realizaron por secuenciación de ADN. **Resultados:** Caso(1): sujeto con mutación D223N, 17 años, HTA (165/110mmHg), IMC 22,6 Kg/m² (p69), potasio (2,1mEq/L), aldosterona (1ng/dL) y ARP (<0,2ng/ml*h) y una alta F/E (28.8 [Valor referencia (VR): 1,63-5,15]). Su madre y hermana eran heterocigotas para D223N, sin anomalías bioquímicas pero con alta F/E (ambas en p97). Caso(2): sujeto con mutación R213C, 2 años, HTA (197/133mmHg), hipokalemia (2,9mEq/L), aldosterona (1ng/dL) y ARP (<0,2 ng/ml*h) y una alta F/E (175 [(VR): 1,63-5,15]). Su padre, madre y hermana eran heterocigotos para R213C, clínica y bioquímicamente normales, con alta razón F/E (en p92, p93 y p85, respectivamente). **Conclusión:** Es posible identificar bioquímicamente sujetos heterocigotos o con déficit parciales de HSD11B2 mediante la detección de una razón F/E elevada (>p90) en suero, con una cortisona generalmente menor a p25.

Financiado por proyectos FONDECYT 1150437, 1130427, Becado UC PB-01/15, IMII P09/016-F (ICM) y Corfo 13CTI-21526-P1.

EXPRESIÓN DE MIR488 Y MIR615 EN EXOSOMAS URINARIOS ASOCIADOS A UNA BAJA ACTIVIDAD DE 11-BETA-HIDROXISTEROIDE DESHIDROGENASA TIPO-2

Tapia-Castillo, Alejandra¹, Lizama, Jaime¹, Valdivia, Carolina¹, Zapata, Antonio¹, Iturrieta, Virginia¹, Allende, Fidel¹, Villarzu, Paula¹, Campino, Carmen¹, Martínez-Aguayo, Alejandro¹, García, Hernán¹, Fardella, Carlos¹, Carvajal, Cristian¹, ¹ENDOCRINOLOGIA Pontificia Universidad Católica De Chile. (Sponsored by LUIS MICHEA)

Un 15% de los hipertensos esenciales tendrían una baja actividad de la enzima 11 β HSD2, que inactiva cortisol (F) a cortisona (E). La expresión génica podría ser regulada negativamente por miRNA. **Objetivo:** Realizar un análisis comparativo de expresión de miRNA específicos para HSD11B2 en exosomas urinarios y leucocitos, que reflejen la actividad de la enzima 11 β HSD2. **Metodología:** Se determinó F y E en sujetos (10-60 años) (aprobación Ética CEI-MEDUC#09-096). Se identificaron 12 miRNA específicos de HSD11B2 mediante MirWalk-2.0. Se evaluó expresión génica en leucocitos (n=94) y exosomas urinarios (n=20). Los resultados son expresados como mediana[Q1-Q3] en unidades relativas (UR). **Resultados:** Se logró amplificar 4 miRNA en leucocitos (miR-1205/miR-101/miR-615/miR-488) y 2 en exosomas (miR-615/miR-488). Se observó mayor expresión de miR-615 y miR-488 en exosomas que en leucocitos (241,2[27,6-4143] vs 2,1[0,7-5,1]UR; p<0.0001) y (630,9[91,2-1080] vs 0,4[0,1-1,3]UR; p=0,0015), respectivamente. Solo en exosomas, la expresión de miR-488 es mayor en sujetos con F/E-elevada (>p90) vs F/E-normal (1025[915,1-1134] vs 176,4[6,1-346,7]UR; p<0.0001), y la expresión de HSD11B2 tiende a ser baja en sujetos con F/E-alto vs F/E-normal (1150[376-1968] vs 4730[1312-8108]UR; p=0,1). **Conclusión:** Identificamos una alta expresión de miR-488/miR-615 y una baja expresión de HSD11B2 en exosomas de sujetos con F/E-elevado. Sugiriendo la utilidad de los exosomas y su contenido de miRNA como potenciales reguladores y biomarcadores de la actividad de 11 β HSD2.

FONDECYT 1150437, 1130427, proyectos Becado UC PB-01/15, IMII P09/016-F (ICM) y Corfo 13CTI-21526-P1.

Organizadores



Patrocinadores



CUANTIFICACIÓN DE ARNm DE HSD11B2 EN EXOSOMAS SÉRICOS Y URINARIOS HUMANOS.

Valdivia, Carolina¹, Lizama, Jaime¹, **Tapia-Castillo, Alejandra¹**, Villarzu, Paula¹, Allende, Fidel², Solari, Sandra², Campino, Carmen¹, Martínez-Aguayo, Alejandro³, Fardella, Carlos¹, Carvajal, Cristian¹, ¹ENDOCRINOLOGIA Pontificia Universidad Católica De Chile. ²Departamento de Laboratorios Clínicos Pontificia Universidad Católica De Chile. ³PEDIATRIA Pontificia Universidad Católica De Chile. (Sponsored by LUIS MICHEA)

Las células liberan exosomas que contienen ARNm. *In vitro*, se ha demostrado que el ARNm de exosomas, es representativo de las células que los liberan. No se ha reportado si los exosomas séricos (E-ser) portan ARNm de HSD11B2, ni en cuales de estos exosomas encontraremos mayor cantidad de ARNm de HSD11B2. **Objetivos:** Determinar y comparar los niveles RNAm de HSD11B2 en E-ser y E-uri intrasujeto. **Sujetos y Métodos:** Se obtuvo orina y suero de seis sujetos. Se aislaron E-ser y E-uri por ultracentrifugación combinada con nanofiltración. Microscopía electrónica de transmisión comprobó presencia de exosomas. Se extrajo ARN (TRIZOL). El ARNm de HSD11B2 se determinó por cuantificación absoluta (en 250ng de RNA total). Los resultados son expresados en medianas [percentile 24-75] y porcentajes.

Resultados: Microscopía confirmó la obtención de E-ser y E-uri, morfología y tamaño. Curva estándar: r:0.98; m:-3.27; b:40.35; eficiencia:1.02). En el pool de pacientes, el número de copias de HSD11B2 no difiere entre E-ser y E-uri 9.0[5.0-25.0] y 25.5[14.25-111.0], p=0.228. Sin embargo, 2 sujetos contenían más RNAm de HSD11B2 en sus E-ser, mientras que en los otros 3 ocurría lo opuesto, E-ser 25[25-25], E-uri 10.5[0-21]; E-ser 5[4-9], E-uri 30[12-138]. **Conclusión:** Existen sujetos que poseen mayor expresión de RNAm en células renales que en endotelios vasculares, pero también existen sujetos en la situación opuesta, existe una gran variabilidad biológica.

FONDECYT 1150437, 1130427, proyectos Becado UC PB-01/15, IMII P09/016-F (ICM) y Corfo 13CTI-21526-P1.

IDENTIFICACIÓN DE NGAL COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN SUERO ASOCIADO A DEFICIENCIA DE ACTIVIDAD DE LA ENZIMA 11 BETA-HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA TIPO-2.

Villarzu-Zuleta, Paula¹, Lizama, Jaime¹, **Tapia-Castillo, Alejandra¹**, Valdivia, Carolina¹, Iturrieta, Virginia¹, Bancalari, Rodrigo², Campino, Carmen¹, Allende, Fidel³, Garcia, Hernan², Martínez-Aguayo, Alejandro², Lagos, Carlos¹, Fardella, Carlos¹, Carvajal, Cristian¹, ¹ENDOCRINOLOGIA Pontificia Universidad Católica De Chile. ²PEDIATRIA Pontificia Universidad Católica De Chile. ³Departamento de Laboratorios Clínicos Pontificia Universidad Católica De Chile. (Sponsored by LUIS MICHEA).

NGAL es un gen blanco del receptor mineralocorticoide. NGAL unida a MMP-9 tendrían un rol en la remodelación cardiovascular. La actividad de NGAL puede modificarse por aldosterona o menor actividad de la enzima 11bHSD2, que convierte cortisol (F) a cortisona (E). **Objetivo:** Evaluar NGAL en suero de sujetos con baja actividad de 11bHSD2 y determinar su utilidad como biomarcador de actividad mineralocorticoide. **Sujetos y Métodos:** Se estudiaron 32 sujetos adultos y 31 niños. Se determinó F, E, aldosterona plasmática (AP), actividad renina plasmática (ARP). Se clasificaron por F/E-elevado (>p90) o F/E-normal. Se determinó NGAL y NGAL/MMP-9 mediante ELISA. Se consideró significativo p<0,05. **Resultados:** En adultos con F/E-alto vs. F/E-normal se observa: niveles similares de NGAL (107,8[88,1-123,9] vs. 95,4[65,7-130,1]ng/mL; pNS), y mayor NGAL/MMP-9 (59,8[46-99,3] vs. 34,9[21,8-61,6]ng/mL; p<0.05). En niños con F/E alto vs. F/E normal se observa: mayores niveles de NGAL (118,3[98,5-148,8] vs. 80,8[73,6-99,5]ng/mL; p<0.05) y mayor NGAL/MMP-9 (48,3[32,2-63,9] vs. 32,2[19,9-42,6]ng/mL; pNS). Se observó asociación positiva de NGAL y F/E (Rho=0.29; p0.02), NGAL y F (Rho=0.29; p0.02), NGAL/MMP-9 y F/E (Rho=0.44; p0.0004), NGAL/MMP-9 y Cortisol (Rho=0.41; p0.0009). **Conclusión:** Mayores niveles de NGAL en niños con F/E-elevado, y la asociación positiva de NGAL y NGAL/MMP-9 con F/E, sugieren que NGAL puede ser un biomarcador temprano de daño cardiovascular de origen mineralocorticoide asociado a un déficit de 11bHSD2.

Proyectos Becado UC PB-01/15, FONDECYT 1150437, 1130427, IMII P09/016-F (ICM) y Corfo 13CTI-21526-P1.

Organizadores



Patrocinadores





I Congreso Chileno

de Hipertensión Arterial

Organizadores

Patrocinadores

