

Expresión vascular de factores de transcripción proinflamatorios en un modelo de síndrome metabólico

NICOLÁS RENNA^{1,2}, MARCELA VÁZQUEZ², SUSANA GONZÁLEZ², CRISTINA LAMA², MONTSERRAT CRUZADO³, ROBERTO MIATELLO^{1,2}

Recibido: 14/11/2006
Aceptado: 24/11/2006

Dirección para separatas:

Dr. Nicolás F. Renna
Área de Fisiología Patológica
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Cuyo
Av. Libertador 80
(5500) Mendoza, Argentina
Tel. ++ 54 261 4494046
Fax: ++ 54 261 4135242
e-mail:
nicolasrenna@fcm.uncu.edu.ar

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar la expresión de factores de transcripción sensibles a redox en las arterias en un modelo experimental de hipertensión arterial asociada con síndrome metabólico (FFHR), ratas Wistar Kyoto (WKY) y espontáneamente hipertensas (SHR) macho de 30 días fueron distribuidas en forma aleatoria en cuatro grupos (n = 8 c/u): 1) WKY (control), 2) FFR: administración de fructosa 10% P/V en el agua de bebida durante un período de 10 semanas, 3) SHR y 4) FFHR: idem 3 + 2.

Los grupos FFR y FFHR presentaron valores de HOMA y área bajo la curva en la prueba de tolerancia característicos de resistencia a la insulina. También mostraron diferencias significativas en los niveles de triglicéridos y colesterol HDL respecto de sus controles y aumentaron su presión arterial sistólica. El estado de estrés oxidativo, demostrado por la actividad de NAD(P)H oxidasa y TBARS fue significativamente mayor en FFR y FFHR, en tanto que en estos mismos grupos disminuyó significativamente la actividad de eNOS. El peso cardíaco relativo aumentó en FFR y FFHR, con mayor área de los miocitos de la pared libre ventricular. Los cortes de arteria carótida izquierda mostraron crecimiento de su capa media de tipo eutrófico en FFHR. La densidad óptica media para los anticuerpos anti-c-fos, anti-NF-κB y anti-VCAM-1 fue mayor en las arterias renales de resistencia y en la carótida de los grupos FFHR y FFR.

Los datos confirman el desarrollo del modelo experimental patológico y sugieren que el estrés oxidativo y la consecuente activación de genes que participan en el proceso inflamatorio intervienen activamente en el desarrollo de remodelación vascular.

REV ARGENT CARDIOL 2007;75:36-41.

Palabras clave > Remodelación - Síndrome Metabólico - Inflamación - Transcripción genética

Abreviaturas >

DAB	Diaminobencidina	NO	Óxido nítrico
eNOS	Sintasa endotelial de óxido nítrico	ROS	Especies reactivas del oxígeno
HOMA	Modelo de evaluación de homeostasis	TBA	Ácido tiobarbitúrico
L/M	Lumen/media	TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
NF-κB	Factor nuclear-κB	VCAM-1	Molécula de adhesión vascular tipo 1

INTRODUCCIÓN

La compleja interacción entre factores genéticos y ambientales en el desarrollo de hipertensión arterial ha sido objeto de discusión. Teóricamente, en una población sin factores de riesgo asociados, los niveles de presión arterial sistólica se distribuyen en forma gaussiana, donde el promedio se ubica entre 100 y 120 mm Hg. Cuando la población es expuesta a factores ambientales prohipertensivos, como la resistencia a la insulina, el sobrepeso o la dislipidemia, se espera que la curva de distribución normal se desplace hacia la derecha, aumentando su variación, disminu-

yendo su apuntamiento y ubicando la presión media en valores más elevados, incluso mayores que los límites utilizados en el diagnóstico clínico. En este tipo de población, la prevalencia de hipertensión arterial es aún mayor. (1)

Existen claras evidencias de la interacción entre alteraciones metabólicas e hipertensión arterial. Estudios epidemiológicos señalan que más del 40% de los pacientes diabéticos son hipertensos. Hu y colaboradores (2) demostraron que el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular y accidente cerebrovascular es casi 10 veces mayor en individuos hipertensos severos y diabéticos.

Premio XXXIII Congreso Argentino de Cardiología

Este trabajo fue financiado por el subsidio "Prof. Dr. Juan Carlos Fasciolo" para Investigación Básica otorgado por el Consejo de Hipertensión Arterial "Dr. Eduardo Braun Menéndez" de la Sociedad Argentina de Cardiología

¹ Departamento de Patología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

² Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Instituto de Medicina y Biología Experimental (IMBECU-CONICET), Mendoza, Argentina

³ Departamento de Morfofisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

Las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) proveen un modelo de hipertensión genética que permite el estudio de la hipertensión esencial. Por otra parte, la administración de dietas ricas en carbohidratos a ratas es capaz de inducir resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, dislipidemia e hipertensión. (3, 4) Las SHR que reciben fructosa en forma crónica proveen un modelo experimental (FFHR) útil para el diagnóstico de los factores que configuran el síndrome metabólico. Los estudios en este modelo experimental permitirían evaluar qué ocurre cuando interactúan factores genéticos y ambientales, circunstancia común de la práctica clínica diaria, a fin de poder interpretar resultados experimentales y explicar los probables mecanismos fisiopatológicos implicados. (5)

Diversas citocinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión se encuentran involucradas en el desarrollo y la progresión del síndrome metabólico y la hipertensión arterial. El aumento de ácidos grasos libres, la hiperglucemia y el hiperinsulinismo aumentan la activación del factor nuclear- κ B (NF- κ B), que a su vez modula la transcripción de diversas citocinas y proteínas relacionadas con la inflamación y el estrés oxidativo, produciendo las manifestaciones clínicas del síndrome metabólico. (6) Además, el NF- κ B puede ser activado por especies reactivas del oxígeno. (7) Como algunos otros genes, el gen que codifica para la expresión de la proteína VCAM-1 posee una región promotora target de unión al NF- κ B. (8)

También se ha descrito la presencia de cambios estructurales vasculares asociados con la hipertensión, fenómeno conocido como "remodelación vascular". (9) Estudios morfométricos de cortes histológicos de riñón revelaron hipertrofia de la capa media en arterias de resistencia de SHR comparadas con sus controles normotensos y en ratas que recibieron fructosa al 10% en agua de bebida (FFR) comparadas con sus controles sanos. (10, 11)

El objetivo de este trabajo fue examinar la expresión de factores de transcripción sensibles a redox en distintos lechos arteriales en el modelo FFHR de hipertensión genética asociada con síndrome metabólico.

MATERIAL Y MÉTODOS

El tratamiento con animales de experimentación se llevó a cabo de acuerdo con normas institucionales. Ratas Wistar Kyoto (WKY) y SHR macho de 30 días fueron distribuidas en forma aleatoria en cuatro grupos (n = 8 en cada uno) y se trataron durante un período de 10 semanas.

El diseño experimental incluyó:

- Grupo 1, WKY: controles.
- Grupo 2, FFR: ratas WKY con administración de fructosa al 10% p/v en el agua de bebida durante todo el protocolo.
- Grupo 3, SHR: ratas espontáneamente hipertensas.
- Grupo 4, FFHR: ídem 3 + 2.

Presión arterial sistólica

La presión arterial sistólica se determinó a lo largo del período experimental por el método pletoisométrico en la arteria de la cola y su valor se registró mediante un polígrafo

Grass model 7 (Quincy, MA), con ambientación previa de los animales a una temperatura de 32 °C.

Cálculo del índice HOMA

Se tomaron muestras de sangre y se separó el plasma heparinizado. La insulina basal se determinó por el sistema automatizado de quimioluminiscencia ACS:180 SE (Bayer, Germany). La glucemia basal se determinó con el método fotocolorimétrico de glucosa oxidasa-peroxidasa (Wiener Lab. Rosario, Argentina). El modelo de evaluación de homeostasis (HOMA) se utilizó como índice para medir el grado de resistencia a la insulina y se calculó mediante la fórmula: $[\text{insulina}(\mu\text{U/ml}) \times \text{glucemia}(\text{mmol/L}) / 22,5]$.

Prueba de tolerancia a la sobrecarga de glucosa

Tres días antes de finalizar el período experimental, los animales en ayunas recibieron una carga intraperitoneal de glucosa (2 g/kg) y se realizaron extracciones de sangre a 0, 30, 60 y 90 minutos después de la carga para determinar la glucemia y posteriormente el área bajo la curva de glucemia para estimar la tolerancia a la sobrecarga de glucosa, expresada como mmol/L·90 min.

Determinación del perfil lipídico

Al finalizar el período experimental se tomaron muestras de sangre de los animales, con un ayuno previo de 12 horas. Se determinó la concentración plasmática de colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos utilizando métodos enzimáticos fotocolorimétricos (Wiener Lab., Rosario, Argentina). Los datos se expresan en mg/dl.

Determinación de la peroxidación de lípidos plasmáticos

La peroxidación lipídica, consecuencia del estrés oxidativo, se estimó a través de la determinación de la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), medidas como equivalentes de malondialdehído ($\mu\text{mol/L}$). El método, previamente descrito, (15) se basa en la reacción entre el malondialdehído plasmático, un producto de la peroxidación lipídica y el ácido tiobarbitúrico (TBA). Los resultados se expresan en $\mu\text{mol/L}$ de TBARS.

Actividad de NAD(P)H oxidasa en tejido aórtico

Se disecaron segmentos de la aorta abdominal de los animales inmediatamente después del sacrificio, se incubaron en *buffer* Jude-Krebs y posteriormente se estimó la actividad de la enzima, para lo cual se utilizó β NADPH como sustrato, a través de la producción de superóxido, y la posterior emisión de quimioluminiscencia por reacción con lucigenina. La actividad se ajustó al peso de tejido examinado y se expresa en cuentas/min/mg.

Actividad de eNOS en homogenatos de tejido cardíaco y arterial

La actividad de la sintasa endotelial de óxido nítrico dependiente de Ca^{2+} /calmodulina (eNOS) se midió en homogenatos de arterias mesentéricas (lecho vascular de resistencia) y en tejido cardíaco de ventrículo izquierdo, por conversión de L- ^3H arginina en L- ^3H citrulina, como se ha descrito previamente. (7) Brevemente, los vasos mesentéricos se homogeneizaron en una solución *buffer* (pH 7,4) con inhibidores de proteasas, manteniendo las muestras en hielo, durante cuatro intervalos de 15 segundos con un *Politron homogenizer* y luego se sonicaron. El tejido cardíaco se procesó en forma semejante. Después de la centrifugación de los homogenatos (100 g, 5 min, 4 °C) y la determinación del contenido de proteínas (método de Bradford), se incubaron alícuotas de los homogenatos con una mezcla de reacción con L- ^3H arginina y los cofactores necesarios para la for-

mación de óxido nítrico (NO) por eNOS, en presencia o en ausencia de Ca^{2+} /calmodulina. La reacción se detuvo y la mezcla se aplicó a una columna de cromatografía de intercambio aniónico con contenido de resina Dowex AG 50W-X8 y eluida con 2 ml de agua destilada. La concentración específica de la L- ^3H citrulina eluida se determinó en contador de centelleo líquido. La actividad de NOS dependiente del calcio se calculó como la diferencia entre actividades en presencia y en ausencia de Ca^{2+} /calmodulina. Los valores se corrigieron de acuerdo con el contenido de proteína presente en los homogenatos y el tiempo de incubación y se expresan como dpm/mg proteína/min. El material proveniente de cada animal se procesó en forma independiente.

Estructura arterial

Los cambios en la estructura de la pared arterial se estimaron a través de la medición de la capa media en la carótida interna izquierda. Los órganos o arterias disecadas se fijaron en formaldehído al 10%, se deshidrataron, se embebieron en parafina y posteriormente se cortaron en micrótomos. Los cortes se tiñeron con solución tricrómica de Masson y se examinaron los diámetros de la pared vascular, visualizando en microscopio óptico con un aumento de $200\times$. Las imágenes se digitalizaron con el *software* Image Pro. La relación lineal o superficial lumen/media (L/M) se calculó para cada vaso con el *software* Scion Image. Se procesaron mediciones de 40 cortes por cada tipo arterial de la misma rata, que luego se promediaron. Este resultado se incluyó luego en el análisis como valor representativo de cada animal.

Inmunoquímica

Los órganos o arterias disecadas se fijaron en formaldehído al 10%, se deshidrataron, se embebieron en parafina y posteriormente se cortaron en micrótomos. Luego se desparafinaron y se realizó un protocolo de recuperación antigénica con *buffer* citrato sódico. Se incubaron cortes histológicos de riñón y de arterias carótidas con anticuerpo primario anti-c-fos (Santa Cruz Biotechnology, USA), anti-NF- κB [Subunidad p65 (RelA)], (Chemicon International, USA) y anti-VCAM-1 [VCAM-1 (C-19)] (Santa Cruz Biotechnology, USA) y respectivos anticuerpos secundarios biotinilados (DAKO Cytomation, USA). Posteriormente se reveló mediante la técnica ABCComplex (DAKO Cytomation, USA) con diamino-bencidina-níquel (DAB) (Sigma, USA) como cromógeno. Los resultados se expresan como unidades densitométricas arbitrarias.

Análisis estadístico

Los datos, contrastados por ANOVA y posprueba de Bonferroni, se expresan como media \pm EEM y se consideraron con significación estadística valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Como se muestra en la Tabla 1, los animales de todos los grupos experimentales presentaron un índice HOMA significativamente superior a los del grupo control. Esta variable alcanzó su mayor magnitud en el grupo FFHR. Los valores del área bajo la curva en la prueba de tolerancia a la sobrecarga intraperitoneal de glucosa presentaron un patrón similar al HOMA, lo que permitió categorizar a los grupos FFR y FFHR como resistentes a la insulina.

Por otra parte, los animales de los grupos FFR y FFHR también presentaron diferencias significativas

en los niveles de triglicéridos y colesterol HDL respecto de sus controles.

En los animales del grupo experimental FFR, los niveles de presión arterial sistólica aumentaron paulatinamente a lo largo de todo el período experimental y alcanzaron diferencias significativas respecto del grupo control al final del protocolo. En los animales de los grupos experimentales SHR y FFHR también se incrementaron significativamente a partir de la segunda semana del protocolo, con un aumento levemente mayor en el grupo FFHR al finalizar el período experimental (Tabla 1).

Estos datos, tomados en conjunto, conforman los criterios clínicos de diagnóstico para síndrome metabólico según el Tercer Informe del Panel de Expertos ATP III. (12)

Los experimentos realizados con el objetivo de determinar el estado de estrés oxidativo demostraron que la producción de superóxido por acción de la enzima NAD(P)H oxidasa fue significativamente mayor en los grupos FFR y FFHR (Tabla 1). El efecto de la mayor producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) se ve reflejado en los niveles plasmáticos de lípidos peroxidados. Los animales de los grupos FFR y FFHR aumentaron significativamente sus niveles de TBARS plasmáticos. En la Tabla 1 se muestran además los niveles de actividad de la isoforma endotelial de NOS. La generación de NO, potente vasodilatador e inhibidor de la proliferación de las células de músculo liso que conforman la capa media, se observa significativamente disminuida en los animales del grupo experimental. El conjunto de resultados permite describir un trastorno del balance redox a nivel vascular, con menor producción de NO y mayor producción de ROS.

Respecto de las variables que indican hipertrofia ventricular izquierda, producida posiblemente por el aumento de la poscarga y de los factores de crecimiento, se observa que el peso cardíaco relativo se encuentra significativamente aumentado en el grupo FFR y aún más en el grupo FFHR (Tabla 1). Para confirmar estos datos, se realizó la determinación del área de los miocitos de la pared libre ventricular. En la Tabla 1 puede verse que también es significativo el aumento del área en el grupo FFHR respecto de sus controles SHR y WKY.

Para detectar la existencia de cambios a nivel vascular similares a los observados en el ventrículo izquierdo, se examinaron cortes de arteria carótida izquierda, que mostraron crecimiento de su capa media de tipo eutrófico (Tabla 1). El espesor fue significativamente superior en el grupo estudiado (FFHR) y también lo fue en los grupos FFR y SHR.

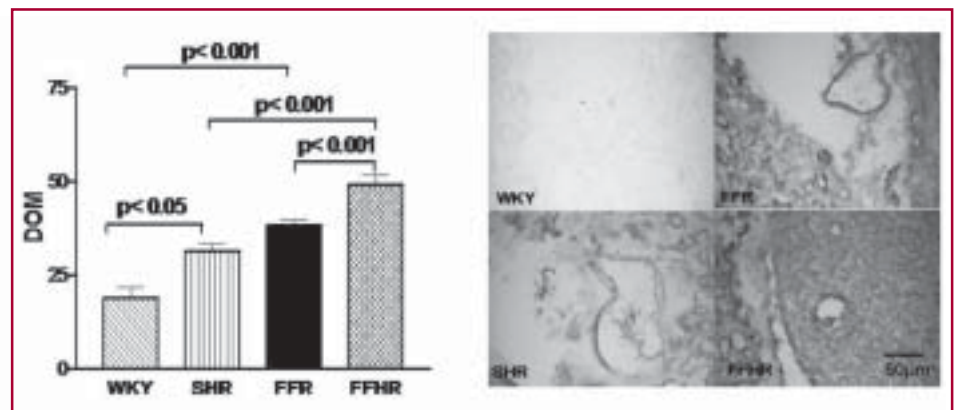
Como se muestra en la Figura 1, la densidad óptica media para el anticuerpo anti-c-fos en las arterias renales de resistencia del grupo FFHR es significativamente superior respecto de sus grupos control SHR y WKY, en tanto que para el grupo FFR fue mayor

Tabla 1. Variables hemodinámicas, metabólicas y estructurales

Variables	WKY	SHR	FFR	FFHR
Presión arterial sistólica (mm Hg)	120 ± 1,3	177 ± 0,95*	145 ± 3*	181 ± 0,95*†
Índice HOMA	4,32 ± 0,1	7,20 ± 0,09*	11,93 ± 0,07*†	14,1 ± 0,45 *††
Triglicéridos (mg/dl)	67,3 ± 2,6	64,3 ± 3,8	163,4 ± 3,1*†	170 ± 5,4*†
Colesterol HDL (mg/dl)	23,5 ± 0,7	19,3 ± 0,9*	12,2 ± 0,8*†	13,6 ± 1,2*†
Actividad NAD(P)H oxidasa (cuentas/min/mg tejido)	40,5 ± 6,0	133,6 ± 5,0*	155,4 ± 9,4*	665 ± 26,5*††
Actividad eNOS arterial (dpm/mg prot/min)	84,3 ± 1,9	80,2 ± 2,6	59,8 ± 2,0*†	56,4 ± 5,9*†
Peso cardíaco relativo (mg/100 g)	255 ± 6	350 ± 2*	310 ± 4*	400 ± 5*††
Área de cardiomiocitos (µm ²)	1.682 ± 69	2.000 ± 57	2.252 ± 180*	3.070 ± 59*††
Espesor de la capa media de la arteria carótida (µm)	45,5 ± 1,0	53,9 ± 1,4*	78,0 ± 1,5*†	90,0 ± 1,7*††

Los valores que se muestran corresponden a las variables hemodinámicas, metabólicas y estructurales. Los símbolos indican: * $p < 0,01$ versus WKY; † $p < 0,01$ versus SHR; †† $p < 0,01$ versus FFR.

Fig. 1. Expresión de c-fos en arterias renales de resistencia por inmunohistoquímica. El gráfico de barras del panel de la izquierda muestra los valores promedio y el error estándar de los grupos en estudio, expresados como unidades arbitrarias de densidad óptica. A la derecha, microfotografías representativas reveladas mediante DAB-níquel, 200x.



que su grupo control (WKY). En el panel de la derecha se muestran microfotografías representativas de cada grupo. En ellas se puede observar que la distribución de la marca de DAB es similar para los grupos.

La evaluación de otra vía de señalización intracelular activada en la reacción inflamatoria se realizó a través de la expresión de NF-κB, a partir de un anticuerpo contra la fracción p65 del dímero p65-p50. Como se muestra en la Figura 2, la densidad óptica media es significativamente mayor en las arterias renales de resistencia de los grupos FFHR y FFR respecto de sus controles, pero la distribución de la marca de DAB, como se aprecia en el panel de la derecha, muestra que en el grupo FFHR ésta se encuentra en el endotelio y en la adventicia, mientras que en el grupo FFR es exclusivamente endotelial.

A partir de estos resultados se estudió la expresión de uno de los productos postranscripcionales de estos factores de transcripción que participa activamente en la inflamación vascular, el VCAM-1. Como puede observarse en la Figura 3, el VCAM-1 se expresa en las arterias renales de los grupos FFHR y FFR en forma significativamente superior a sus controles

y con una distribución similar, no sólo en los vasos de pequeño calibre, sino también en los túbulos renales. A la derecha se muestran microfotografías representativas de cada grupo.

La expresión de NF-κB en las arterias carótidas, como se muestra en la Figura 4, es significativamente mayor en los grupos FFHR y FFR respecto de sus controles, pero la distribución de la marca de DAB, como se aprecia en el panel de la derecha, muestra que en el grupo FFHR ésta se encuentra en todas las capas de la pared arterial, hecho que la distingue completamente de los otros grupos.

CONCLUSIONES

El mayor hallazgo de este estudio es la descripción de inflamación vascular asociada con remodelación arterial renal y carotídea en los modelos experimentales que recibieron fructosa. Las arterias son capaces de modificar su estructura y función en respuesta a cambios en las condiciones hemodinámicas. Esta remodelación se caracteriza por hipertrofia de la pared y reducción en la relación L/M, mediada por la

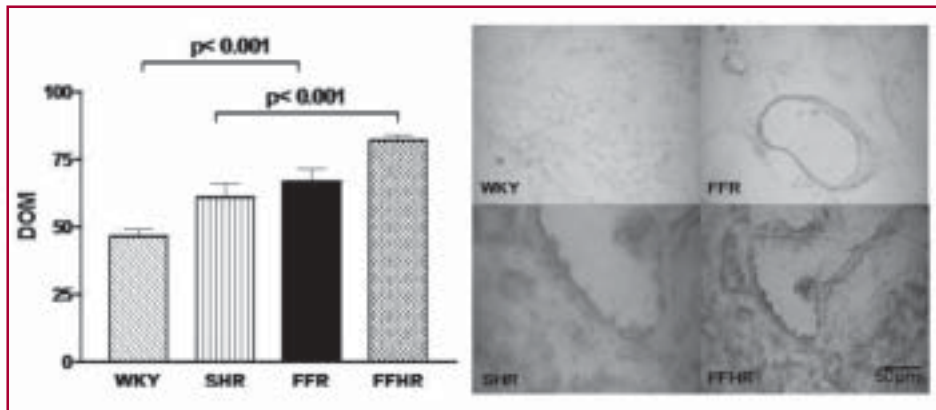


Fig. 2. Expresión de fracción p-65 de NF-κB en arterias renales de resistencia por inmunohistoquímica. El gráfico de barras del panel de la izquierda muestra los valores promedio y el error estándar de los grupos en estudio, expresados como unidades arbitrarias de densidad óptica. A la derecha, microfotografías representativas reveladas mediante DAB-níquel, 200x.

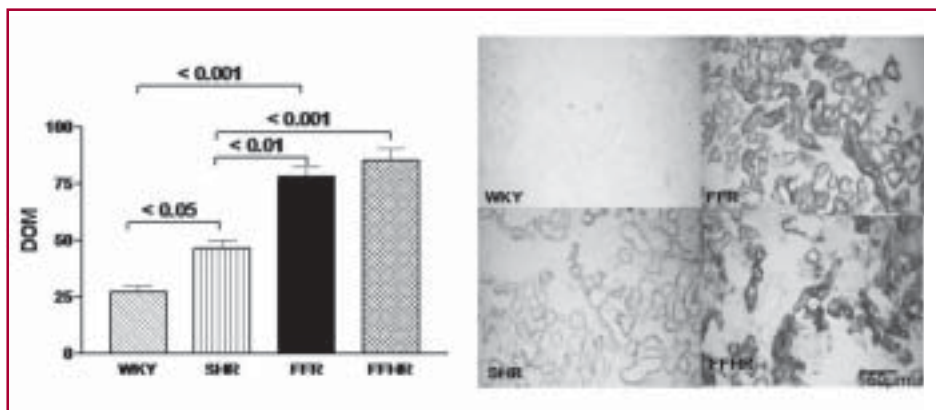


Fig. 3. Expresión de VCAM-1 en arterias renales de resistencia por inmunohistoquímica. El gráfico de barras del panel de la izquierda muestra los valores promedio y el error estándar de los grupos en estudio, expresados como unidades arbitrarias de densidad óptica. A la derecha, microfotografías representativas reveladas mediante DAB-níquel, 200x.

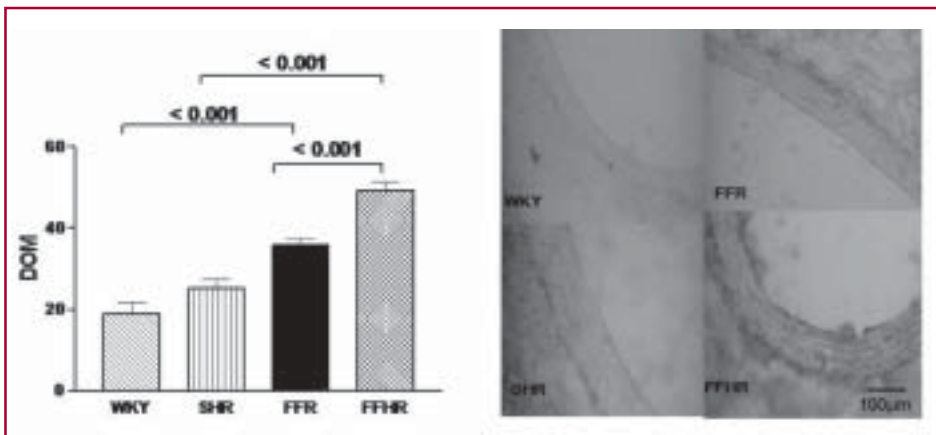


Fig. 4. Expresión de fracción p-65 de NF-κB en arterias carótidas por inmunohistoquímica. El gráfico de barras del panel de la izquierda muestra los valores promedio y el error estándar de los grupos en estudio, expresados como unidades arbitrarias de densidad óptica. A la derecha, microfotografías representativas reveladas mediante DAB-níquel, 100x.

síntesis y la liberación de factores vasoactivos y de crecimiento, que se asocia con disminución en la distensibilidad arterial.

Folkow y colaboradores han propuesto que la remodelación vascular es producto de la hipertensión arterial sostenida y este mecanismo refuerza o mantiene secundariamente la hipertensión. (14) Otros autores como Fever y colaboradores postularon que en algunos casos el mecanismo de hipertrofia vascular es primario y conduce al aumento de la resistencia periférica y consecuentemente a hipertensión. (15) En este modelo experimental podrían coexistir ambos

postulados: un aumento de la cascada de factores de crecimiento, producto de la resistencia a la insulina y la inflamación, sobreagregado a la hipertrofia producida por la hipertensión sostenida.

El aumento en la producción de superóxido en este modelo, evidenciado por el incremento en la peroxidación lipídica puede activar genes sensibles a redox. Entre ellos se encuentra el NF-κB, que al escindir la unión al I-κB en el citoplasma, esta fracción migra hacia el núcleo para unirse a regiones promotoras específicas. Por lo tanto, este fenómeno podría asociarse con el aumento de expresión de moléculas de adhe-

sión, como VCAM-1, lo que también se confirma en este modelo. Además, como se describe en la literatura para otros modelos experimentales, se encontró un aumento en la expresión de moléculas inflamatorias en la pared vascular de arterias de resistencia, las cuales participarían en el proceso de remodelación vascular. (16)

La importancia potencial de la inflamación de la pared vascular como un objetivo terapéutico permanece como un área aún no completamente explorada, donde los nuevos conocimientos sobre la participación de los mediadores inflamatorios en la remodelación vascular pueden ser relevantes.

En este modelo observamos que la administración de fructosa indujo el cuadro característico del síndrome metabólico y cambios cardiovasculares, como aumento de la presión sistólica, hipertrofia cardíaca y remodelación vascular asociada con expresión de moléculas inflamatorias. Además, el incremento de la actividad de NAD(P)H oxidasa y de TBARS indicaron, respectivamente, mayor capacidad de producción de ROS y el consecuente aumento en la peroxidación lipídica.

Los datos confirman el desarrollo del modelo experimental patológico y sugieren que el estrés oxidativo y la consecuente activación de genes que participan en alguna medida en el proceso inflamatorio intervienen activamente en el desarrollo de remodelación vascular.

SUMMARY

Vascular Expression of Proinflammatory Transcription Factors in a Model of Metabolic Syndrome

With the goal of assessing the expression of redox-sensitive transcription factors in the arteries of an experimental model of hypertension associated to metabolic syndrome (FFHR), we studied Wistar Kyoto rats (WKY) and spontaneously hypertensive 30-day male rats (SHR), which were randomly distributed in 4 groups (n= 8 in each group). Group 1: WKY (control rats), Group 2: FFR: rats that received 10% W/V fructose in drinking water during a 10-week period, Group 3: SHR rats, and Group 4: FFHR: 2+ 3, i.e., SHR rats treated like Group 2.

With the glucose tolerance test, groups FFR and FFHR had HOMA (homeostasis assessment model) and area under the curve (AUC) values that were characteristic of insulin-resistance. They also showed significant differences in triglyceride and HDL cholesterol levels compared to controls, and increased their systolic blood pressure. Oxidative stress, as assessed by NAD(P)H oxidase and TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) activity was significantly higher in FFR and FFHR groups, whereas in these same groups eNOS activity decreased markedly. Relative cardiac weight increased in FFR and FFHR groups, with a larger myocyte area in the left ventricular free wall. Sections of the left carotid artery exhibited eutrophic growth of the middle layer in FFHR. Mean optical density for anti-c-fos, anti-NF- κ B

and anti-VCAM-1 antibodies was greater in resistance renal arteries and in the carotid artery of FFHR and FFR groups.

The data confirm the findings of the pathological experimental model and suggest that oxidative stress and the subsequent activation of genes that participate in the inflammatory process are actively involved in the development of vascular remodeling.

Key words > Remodeling - Metabolic Syndrome X - Inflammation - Transcription, genetic

BIBLIOGRAFÍA

- Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation* 2000;101:329-35.
- Hu G, Sarti C, Jousilahti P, Peltonen M, Qiao Q, Antikainen R, et al. The impact of history of hypertension and type 2 diabetes at baseline on the incidence of stroke and stroke mortality. *Stroke* 2005;36:2538-43.
- Miatello R, Cruzado M, Risler N. Mechanisms of cardiovascular changes in an experimental model of syndrome X and pharmacological intervention on the renin-angiotensin-system. *Curr Vasc Pharmacol* 2004;2:371-7.
- Miatello R, Risler N, Castro C, Gonzalez S, Ruttler M, Cruzado M. Aortic smooth muscle cell proliferation and endothelial nitric oxide synthase activity in fructose-fed rats. *Am J Hypertens* 2001;14:1135-41.
- Tsao PS, Niebauer J, Buitrago R, Lin PS, Wang BY, Cooke JP, et al. Interaction of diabetes and hypertension on determinants of endothelial adhesiveness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:947-53.
- Sonnenberg GE, Krakower GR, Kissebah AH. A novel pathway to the manifestations of metabolic syndrome. *Obes Res* 2004;12:180-6.
- Haddad JJ. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors. *Cell Signal* 2002;14:879-97.
- Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003;170:191-203.
- Mulvany MJ. Vascular remodelling of resistance vessels: can we define this? *Cardiovasc Res* 1999;41:9-13.
- Yokoyama H, Averill DB, Brosnihan KB, Smith RD, Schiffrin EL, Ferrario CM. Role of blood pressure reduction in prevention of cardiac and vascular hypertrophy. *Am J Hypertens* 2005;18:922-9.
- Renna N, Risler N, Cruzado M, Gonzalez S, Lama C, Miatello RM. Effect of nebivolol on cardiovascular changes associated with a rat model of insulin-resistance. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2005;51:531-7.
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
- Miatello R, Vazquez M, Renna N, Cruzado M, Zumino AP, Risler N. Chronic administration of resveratrol prevents biochemical cardiovascular changes in fructose-fed rats. *Am J Hypertens* 2005;18:864-70.
- Folkow B. "Structural factor" in primary and secondary hypertension. *Hypertension* 1990;16:89-101.
- Lever AF, Harrap SB. Essential hypertension: a disorder of growth with origins in childhood? *J Hypertens* 1992;10:101-20.
- Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension* 2001;38:581-7.