

# Losartán y metformina previenen alteraciones en el tejido adiposo perivascular y en la liberación de prostanoideos del lecho vascular mesentérico producidas por una dieta alta en grasa y sobrecarga de fructosa en ratas

## *Losartan and Metformin Prevent Abnormalities in Perivascular Adipose Tissue and in Mesenteric Vascular Bed Prostanoid Release Induced by High-fat High-fructose Diet in Rats*

HYUN JIN LEE<sup>1,2\*</sup>, MARÍA ÁLVAREZ PRIMO<sup>1</sup>, MIGUEL A. ALLO<sup>3</sup>, SILVANA M. CANTÚ<sup>1,2</sup>, ADRIANA S. DONOSO<sup>1,2</sup>, HORACIO A. PEREDO<sup>1,2</sup>, MARCELO R. CHOI<sup>1,2,4</sup>, ANA M. PUYÓ<sup>1,2</sup>

### RESUMEN

**Objetivo:** El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos del losartán (30 mg/kg/día) y de la metformina (500 mg/kg/día) sobre el índice de adiposidad y la liberación de prostanoideos del lecho vascular mesentérico, así como su relación con la presión arterial sistólica en un modelo de síndrome metabólico inducido por una dieta alta en grasa y sobrecarga de fructosa en ratas Sprague-Dawley macho durante 9 semanas.

**Material y métodos:** Los lechos vasculares mesentéricos extraídos se incubaron y los prostanoideos liberados se midieron por cromatografía líquida de alta eficiencia. La presión arterial sistólica fue medida por método indirecto.

**Resultados:** La dieta alta en grasa y la sobrecarga de fructosa produjo aumentos significativos en la presión arterial sistólica y del índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico. Por su parte, la dieta alta en grasa y sobrecarga de fructosa incrementó la liberación de prostanoideos vasoconstrictores tanto del tromboxano B2 como de la prostaglandina F2alfa; y del marcador de inflamación, la prostaglandina E2. La relación PGI2/TXA2 se redujo significativamente. La administración de losartán como de metformina previnieron todas estas alteraciones.

**Conclusión:** Ambos fármacos ejercen efectos beneficiosos sobre el tejido adiposo perivascular del lecho mesentérico, lo que mejora la disfunción endotelial inducida por un desbalance de sustancias vasoactivas.

**Palabras claves:** Tejido Adiposo - Síndrome Metabólico - Hipertensión - Mesenterio/irrigación sanguínea - Prostaglandinas/suministro de sangre

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to analyze the effects of losartan (30 mg/kg/day) and metformin (500 mg/kg/day) on the adiposity index and on mesenteric vascular bed prostanoid release, and their relationship with systolic blood pressure in a metabolic syndrome model induced by high-fat high fructose-diet in male Sprague-Dawley rats for 9 weeks.

**Methods:** Mesenteric vascular beds were extracted and incubated and prostanoids were measured by high-performance liquid chromatography. Systolic blood pressure was measured by an indirect method.

**Results:** High-fat high-fructose diet produced significant increase in systolic blood pressure and mesenteric vascular bed adiposity index and in the release of vasoconstricting prostanoids as thromboxane B2 and prostaglandin F2 $\alpha$  and of prostaglandin E2, a marker of inflammation. The PGI2/TXA2 ratio was significantly reduced. The administration of losartan and metformin prevented all these changes.

**Conclusion:** Both drugs have beneficial effects on mesenteric perivascular adipose tissue by improving endothelial dysfunction induced by an imbalance of vasoactive substances.

**Key words:** Adipose Tissue - Metabolic Syndrome - Hypertension - Mesentery/blood supply -Prostaglandins/metabolism

### Abreviaturas

PAS	Presión arterial sistólica	TAPV	Tejido adiposo perivascular
PG	Prostaglandinas	TX	Tromboxanos
PR	Prostanoideos		

REV ARGENT CARDIOL 2020;88:26-33. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v88.i1.17195>

**Dirección para separatas:** Hyun Jin Lee - Cátedra de Anatomía e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. - Junín 956. CABA., Argentina - Tel: 5287-4790 / 4791 / 4792. E-mail: leekalake@yahoo.com.ar

Financiación: Subsidio de la Secretaría de Ciencia y Técnica (SeCyT) de la UBA 2018-2020: Código: 20020170100621BA

Este trabajo obtuvo el Premio Braun Menéndez 2019 al mejor trabajo en ciencias básicas.

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Anatomía e Histología. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Farmacología. Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup> CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto Alberto C. Taquini de Investigaciones en Medicina Translacional (IATIMET). Buenos Aires, Argentina.

## INTRODUCCIÓN

La hipótesis de que la disfunción del tejido adiposo perivascular (TAPV) constituye un proceso fisiopatológico común que podría vincular las enfermedades metabólicas y cardiovasculares se hace cada vez más fuerte, y es uno de los nuevos objetivos terapéuticos para tener en cuenta. (1-3)

Los modelos experimentales en ratas con dietas nutricionalmente desequilibradas como la dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa se asemejan a los trastornos característicos del síndrome metabólico humano (4-6) y resultan esenciales para comprender aspectos fisiopatológicos de este síndrome, así como su utilización para estudios farmacológicos. (7)

El lecho vascular mesentérico permaneció casi sin relevancia clínica, pero es importante considerarlo ya que está formado por arterias de resistencia y el TAPV consiste principalmente en tejido adiposo visceral blanco el cual posee mayor potencial patogénico. Además, es una fuente de prostanoides que incluye prostaglandinas (PG) y tromboxanos (TX) que participan en la regulación del tono vascular. (8, 9) Previamente hemos encontrado un patrón alterado de liberación de prostanoides en los vasos mesentéricos. (10)

Tanto el losartán como la metformina son fármacos ampliamente establecidos utilizados en la práctica clínica diaria para el tratamiento de la hipertensión arterial y el síndrome metabólico, pero se les reconocen efectos pleiotrópicos que siguen generando gran interés. (11, 12)

En este contexto, el objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de losartán y metformina sobre el índice de adiposidad y la liberación de prostanoides del lecho vascular mesentérico, así como su relación con la presión arterial sistólica (PAS) en un modelo de síndrome metabólico inducido por una dieta alta en grasa y sobrecarga de fructosa en la rata.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley machos de seis semanas de edad que pesaban 180-210 g al comienzo del experimento divididos aleatoriamente en seis grupos ( $n = 6$  cada uno) para el estudio durante 9 semanas: C (control), dieta estándar para roedores (Asociación Cooperativas Argentinas, con la siguiente composición [P/P]: 20% de proteínas, 3% de grasas, 2% de fibras, 6% de minerales y 69% de almidón y suplementos vitamínicos) y agua corriente para beber; DGF (dieta alta en grasa + sobrecarga oral de fructosa), 50% (p/p) de grasa bovina adicionada a la dieta estándar para roedores (elaborada en nuestro laboratorio) y solución 10% P/V de fructosa para beber; CL y DGFL tratadas con losartán 30 mg/kg/día en la bebida; CM y DGFM tratadas con metformina 500 mg/kg/día en la bebida. Todos los animales tuvieron libre acceso al agua y a la comida durante toda la duración del experimento. Los tratamientos dietarios y farmacológicos comenzaron al mismo tiempo. Las dosis de losartán y metformina se eligieron de acuerdo con estudios previos y bibliografía. (10, 13-17) Se usó losartán y metformina del grado comercial más alto disponible se compararon en la Droguería Saporiti SACIFIA (Buenos Aires, Argentina).

### Determinación de la presión arterial

Los animales fueron entrenados tres veces por semana. La PAS se determinó antes de comenzar el estudio y al final del período experimental a través de un método pletismográfico indirecto por medio de un esfigmomanómetro en la cola de la rata, usando un manguito inflable y un micrófono conectado a un amplificador Grass DC (modelo 7 DAC, Grass Instruments Co.) acoplado a un polígrafo (modelo 79 D, Grass Instruments Co.).

### Determinación del peso corporal y del índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico

El peso corporal de las ratas se controló durante todo el período de estudio. El aumento de peso corporal se calculó como la diferencia entre el peso corporal al final y al comienzo del tratamiento. El índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico se calculó como el peso de la grasa del lecho vascular mesentérico/peso corporal final  $\times 100$ .

### Determinación de parámetros metabólicos en sangre

Al final del tratamiento, todos los animales ayunaron durante 5 h e inmediatamente antes del sacrificio se recogieron muestras de sangre del seno retroorbital bajo anestesia ligera (xilazina 2 mg/kg y ketamina 60 mg/kg intraperitoneal) y se centrifugaron a 2700 rpm durante 20 min a 4 °C. Se determinaron: glucemia (ACCU-Check®, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), niveles plasmáticos de triglicéridos con equipo comercial (TG Color GPO/PAP AA, Wiener Labs, Rosario, Santa Fe, Argentina) por espectrofotometría e insulina por ELISA (Millipore Corporation, Billerica, MA, EE.UU.). El modelo de evaluación de la homeostasis de la resistencia a la insulina (HOMA-IR) se calculó después del tratamiento utilizando la siguiente ecuación:  $HOMA = \text{glucosa en ayunas (mmol/L)} \times \text{insulina en ayunas (mIU l-1)} / 22,5$ . (18)

### Determinación de la liberación de prostanoides

El lecho vascular mesentérico (que incluye tejido adiposo perivascular y vasos sanguíneos) de los animales de todos los grupos se diseccionó y se transfirió a una placa de Petri con solución de Krebs (mmol/L), NaCl 118, KCl 4,7, MgSO<sub>4</sub> 1,2, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,0, CaCl<sub>2</sub> 2,6, NaHCO<sub>3</sub> 25,0, glucosa 11,1, y se incubaron durante 60 min a 37 °C. Luego, se extrajeron los lechos vasculares mesentéricos y se pesaron. Para medir la liberación de prostanoides, al final del período de incubación, el medio se acidificó a pH 3,5 con 1 mol/L de ácido fórmico y se extrajo tres veces con dos volúmenes de cloroformo. Las fracciones clorofórmicas se agruparon y se evaporaron a sequedad. Se realizó cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) de fase inversa en una columna (BBS Hypersil C18, Thermo Electron Co., Bellefonte, PA, EE. UU.). El sistema disolvente era 1,7 mmol/L de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 67,2: acetonitrilo 32,8 v/v. La velocidad de flujo fue de 1 ml/min, y la absorción UV fue de 218 nm. Las muestras secas se resuspendieron en 0,15 mL de la fase móvil y se inyectaron en el sistema de HPLC. Los patrones auténticos de los prostanoides 6-ceto prostaglandina (PG) F<sub>1 $\alpha$</sub>  (metabolito estable de PGI<sub>2</sub> o prostaciclina), PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  y tromboxano (TX) B<sub>2</sub> (metabolito estable de TXA<sub>2</sub>) (Sigma Chemical Co., Saint Louis, MO, EE. UU.) se corrieron junto con las muestras, y se realizó un ensayo de soporte para determinar la cantidad de prostanoides. Todos los valores fueron corregidos para la pérdida de recuperación según lo determinado por estándares paralelos. Los resultados se expresaron como nanogramos de prostanoides por miligramo de peso de tejido húmedo.

### Análisis estadístico

Los datos se procesaron con el programa de *software* InfoStat, versión 2018, FCA, Argentina. Las comparaciones intergru-

pales fueron realizadas por ANOVA seguido de prueba Tukey. Los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) de los puntos de datos a partir de ratas experimentales se calcularon por regresión lineal. Todos los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM. Un valor de  $P$  inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

### Consideraciones éticas

Los experimentos fueron aprobados previamente por el comité de ética local sobre investigación animal (CICUAL, Comité Institucional para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Res. N° 2259). Todos los animales incluidos en los protocolos experimentales fueron manejados y alojados de acuerdo con las recomendaciones contenidas en las directrices CICUAL de acuerdo con las normas éticas de regulaciones internacionales y principios de cuidado y uso de animales experimentales.

## RESULTADOS

### Efectos del losartán y de la metformina sobre la glucosa, triglicéridos, insulina y HOMA-IR

Al final del tratamiento, las ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y sobrecarga de fructosa mostraron niveles plasmáticos significativamente más altos de glucosa, triglicéridos e insulina, así como del índice HOMA-IR en comparación con el grupo control (DGF vs. C,  $p < 0,01$ ; Tabla 1). La administración tanto del losartán como de metformina atenuaron todas estas alteraciones a las 9 semanas de tratamiento (DGFL vs DGF, DGFM vs DGF,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ ; Tabla 1) en el grupo de dieta alta en grasa y sobrecarga de fructosa.

### Efectos del losartán y de la metformina sobre la presión arterial sistólica, índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico y ganancia de peso corporal

Las ratas alimentadas con una dieta rica en grasas y con sobrecarga de fructosa exhibieron un aumento significativo en la PAS, el índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico y la ganancia de peso corporal

en comparación con el grupo control (DGF vs C,  $p < 0,01$ ; Tabla 1). Por su parte, el losartán disminuyó la PAS en el grupo control (CL vs C,  $p < 0,01$ ; Tabla 1). Además, hemos encontrado que el aumento en el índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico se correlaciona positivamente con la presión arterial sistólica ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,01$ ; Figura 1). Los tratamientos farmacológicos no solo previnieron el aumento de la PAS, sino que también previnieron el aumento del índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico y la ganancia de peso corporal en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa (DGFL vs DGF, DGFM vs DGF,  $p < 0,01$ ; Tabla 1).

### Efectos del losartán y de la metformina sobre la liberación de prostanoideos del lecho vascular mesentérico

La DGF aumentó la liberación de los prostanoideos vasoconstrictores, el tromboxano  $B_2$  y de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (ng PR/mg de tejido, DGF vs C,  $p < 0,01$ , Figura 2 y Figura 3) respecto al grupo control. Por otro lado, hemos encontrado que los aumentos de ambos prostanoideos se correlacionan positivamente con el incremento de la PAS (TXB<sub>2</sub>:  $r = 0,89$ ,  $p < 0,01$ ; PGF<sub>2 $\alpha$</sub> :  $r = 0,80$ ,  $p < 0,01$ ) y un mayor índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico (TXB<sub>2</sub>:  $r = 0,90$ ,  $p < 0,01$  y PGF<sub>2 $\alpha$</sub> :  $r = 0,84$ ,  $p < 0,01$ ). Estos incrementos fueron prevenidos tanto con el losartán (ng PR/mg de tejido, DGFL vs DGF, TXB<sub>2</sub>:  $p < 0,01$ , Figura 2; PGF<sub>2 $\alpha$</sub> :  $p < 0,05$ , Figura 3) como con la metformina (ng PR/mg de tejido, DGFM vs DGF, TXB<sub>2</sub>:  $p < 0,05$ , Figura 2; PGF<sub>2 $\alpha$</sub> :  $p < 0,05$ , Figura 3).

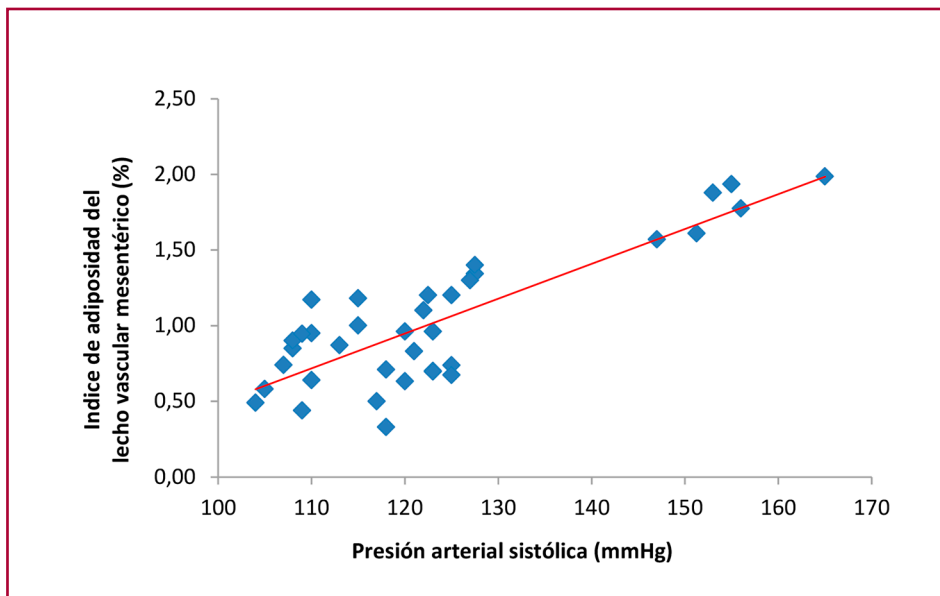
A su vez, la DGF aumentó significativamente la liberación de la prostaglandina (PG)  $E_2$  (ng/mg, DGF vs C,  $p < 0,01$ , Figura 4), un marcador de inflamación, respecto al grupo control. Además, hemos encontrado que este aumento se correlaciona positiva y significativamente con un incremento de la PAS ( $r = 0,75$ ,  $p < 0,01$ , Figura 5) y con el índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,01$ ). Ambos

**Tabla 1.** Presión arterial sistólica, índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico, ganancia de peso, triglicéridos, glucemia, insulina e índice de HOMA-IR.

	PAS (mmHg)	Índice de adiposidad (%)	Ganancia de peso (g)	Triglicéridos (mg/dL)	Glucemia (mg/dL)	Insulina (ng/mL)	HOMA-IR
C	119 $\pm$ 2	0,7 $\pm$ 0,1	182 $\pm$ 4	65 $\pm$ 9	116 $\pm$ 3	1,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,003
CL	108 $\pm$ 1 <sup>†</sup>	0,7 $\pm$ 0,06	187 $\pm$ 10	66 $\pm$ 8	119 $\pm$ 4	0,9 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,01
CM	122 $\pm$ 1	0,6 $\pm$ 0,07	177 $\pm$ 4	56 $\pm$ 9	117 $\pm$ 3	1,3 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,02
DGF	150 $\pm$ 3*	1,8 $\pm$ 0,1*	308 $\pm$ 21*	188 $\pm$ 16*	141 $\pm$ 3*	3,4 $\pm$ 0,4*	0,4 $\pm$ 0,05*
DGFL	112 $\pm$ 1 <sup>†</sup>	1,0 $\pm$ 0,05 <sup>‡</sup>	169 $\pm$ 13 <sup>‡</sup>	74 $\pm$ 8 <sup>‡</sup>	131 $\pm$ 4	1,6 $\pm$ 0,2 <sup>‡</sup>	0,1 $\pm$ 0,03 <sup>§</sup>
DGFM	125 $\pm$ 1 <sup>†</sup>	1,3 $\pm$ 0,04 <sup>‡</sup>	175 $\pm$ 9 <sup>‡</sup>	64 $\pm$ 6 <sup>‡</sup>	126 $\pm$ 2 <sup>‡</sup>	1,3 $\pm$ 0,4 <sup>‡</sup>	0,1 $\pm$ 0,05 <sup>§</sup>

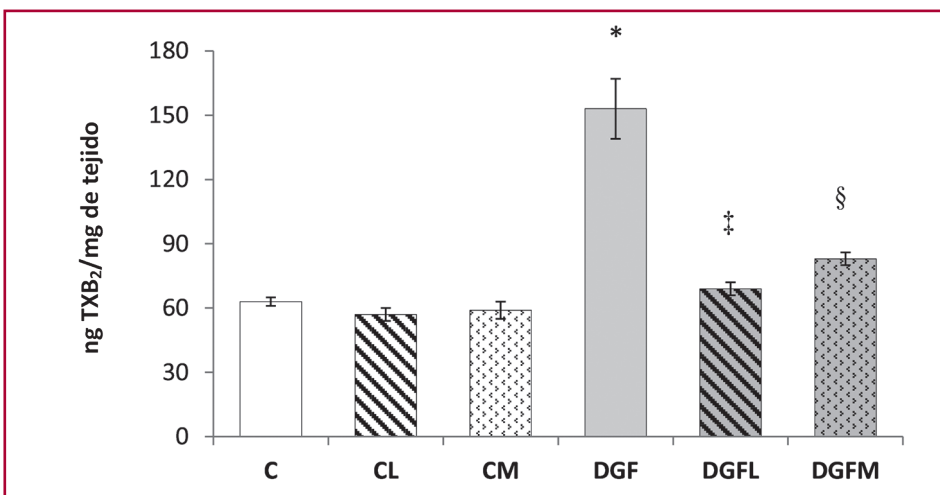
Los valores se indican como promedio  $\pm$  ESM. C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFM: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina; PAS: Presión arterial sistólica. HOMA-IR: Homeostasis de la resistencia a la insulina. \* $p < 0,01$  vs. C, CL, CM; <sup>†</sup> $p < 0,01$  vs. C; <sup>‡</sup> $p < 0,01$  vs. DGF; <sup>§</sup> $p < 0,05$  vs. DGF.

**Fig. 1.** Regresión lineal entre índice de adiposidad del lecho vascular mesentérico vs. Presión arterial sistólica



C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFm: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina;  $r=0.83$ ;  $r^2=0.69$ ;  $p < 0,01$ .

**Fig. 2.** Liberación de tromboxano B<sub>2</sub> del lecho vascular mesentérico.



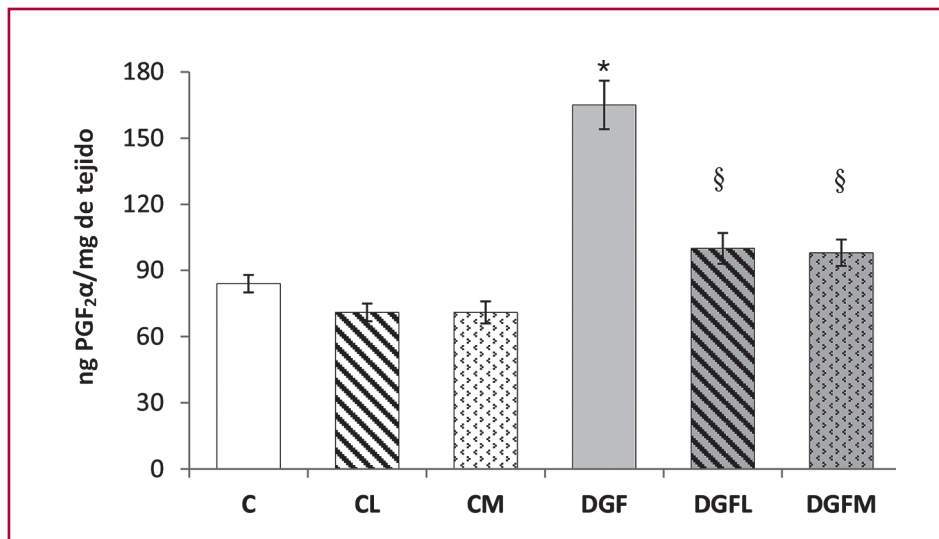
Los valores se indican como promedio  $\pm$  ESM. C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFm: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina. \* $p < 0,01$  vs. C, CL, CM; ‡  $p < 0,01$  vs. DGF; §  $p < 0,05$  vs. DGF.

tratamientos farmacológicos previnieron dicho aumento (ng PR/mg de tejido, DGFL vs DGF, DGFm vs DGF,  $p < 0,05$ , Figura 4).

La relación  $PGI_2/TXA_2$  (medida como sus metabolitos estables) se redujo significativamente por la dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa a las 9 semanas de tratamiento en comparación con el grupo control (DGF vs C,  $p < 0,01$ , Figura 6). Losartán como metformina atenuaron la disminución de esta relación (DGFL vs DGF, DGFm vs DGF,  $p < 0,01$ , Figura 6).

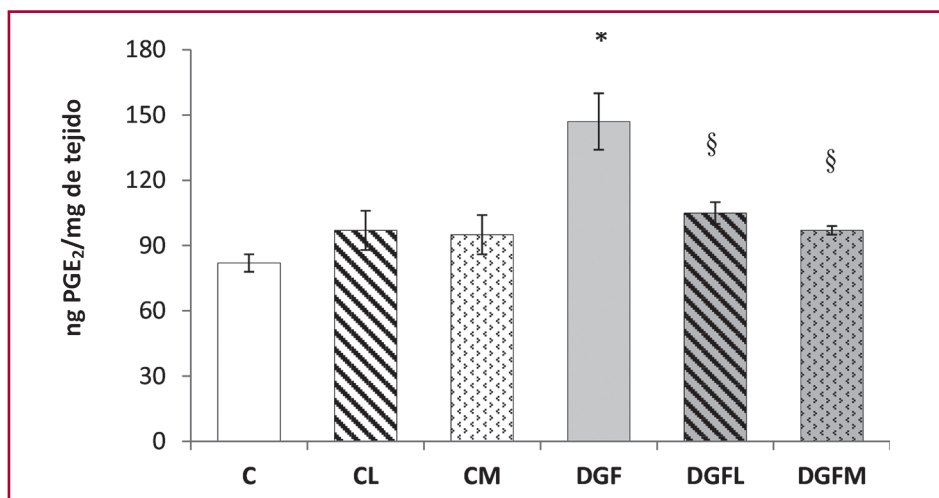
## DISCUSIÓN

El presente estudio es la primera evidencia reportada del efecto preventivo del losartán y de la metformina sobre el aumento de la adiposidad del lecho vascular mesentérico y la liberación de prostanoideos vasoconstrictores ( $TXB_2$  y  $PGF_{2\alpha}$ ) e inflamatorios ( $PGE_2$ ) en un modelo experimental de síndrome metabólico inducido por la combinación de dos dietas que refleja más adecuadamente los parámetros de consumo de las socieda-



**Fig. 3.** Liberación de prostaglandina F<sub>2α</sub> del lecho vascular mesentérico.

Los valores se indican como promedio ± ESM. C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFM: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina. \*p < 0,01 vs. C, CL, CM; § p < 0,05 vs. DGF.



**Fig. 4.** Liberación de prostaglandina E<sub>2</sub> del lecho vascular mesentérico.

Los valores se indican como promedio ± ESM. C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFM: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina. \*p < 0,01 vs. C, CL, CM; § p < 0,05 vs. DGF.

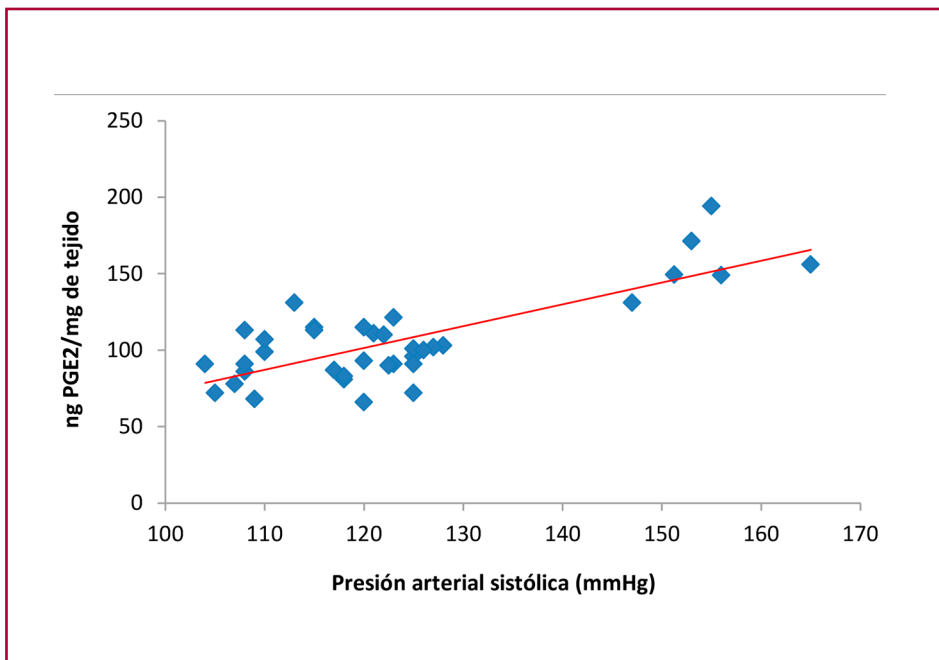
des actuales. Además, mostramos el efecto beneficioso de ambos fármacos en la disminución de la relación PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub>, un marcador de disfunción endotelial.

Con respecto a los resultados en el índice de adiposidad, hemos encontrado diferentes criterios para la selección de grasas viscerales para determinar las alteraciones en la masa de tejido adiposo blanco. Mourand y cols. (19) informaron el efecto de losartán sobre la proporción de grasa visceral/músculo gastrocnemio considerado como un índice de composición corporal. Tikko y cols. (20) mostraron que la proporción de tejido adiposo blanco/peso corporal aumentó en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas y que el tratamiento con metformina disminuyó ese parámetro. Sin embar-

go, ninguno de ellos especifica el órgano donde se midió el tejido adiposo blanco. Wang y cols. (21) encontraron que las ratas SHR (otro modelo experimental) tratadas con losartán en una dieta alta en grasas exhibieron una disminución significativa en el peso del depósito de grasa mesentérico/peso corporal (%).

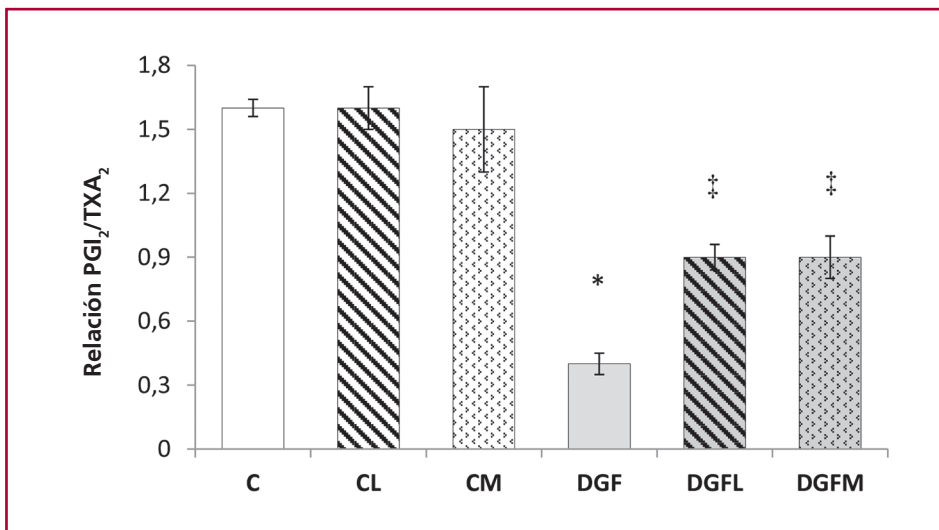
La acumulación de grasa ectópica en TAPV puede ser relevante para la patogénesis de la hipertensión arterial asociada a la resistencia a la insulina. (22) Uno de los posibles mecanismos involucrados podría deberse a la disfunción del TAPV (de acuerdo con el lecho vascular específico) inducida por una dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa que produce cambios en la cantidad y en el patrón de expresión de los

**Fig. 5.** Regresión lineal entre prostaglandina E2 vs. presión arterial sistólica



C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFM: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina;  $r = 0,77$ ;  $r^2 = 0,60$ ;  $p < 0,01$ .

**Fig. 6.** Relación prostaglandina I<sub>2</sub> / tromboxano A<sub>2</sub>.



Los valores se indican como promedio  $\pm$  ESM. C: Control; DGF: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa; CL: Control + losartán; DGFL: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + losartán; CM: Control + metformina; DGFM: Dieta alta en grasas y sobrecarga de fructosa + metformina. \* $p < 0,01$  vs. C, CL, CM; † $p < 0,01$  vs. DGF.

factores vasoactivos, lo que contribuye a la propensión de los vasos a desarrollar enfermedades vasculares. Tanto el aumento de la masa como la falta del efecto anticontráctil del TAPV inducido por la alimentación con alto contenido de grasa podrían producirse por un desequilibrio en la liberación de adipocinas, inflamación, estrés oxidativo y disfunción endotelial. (23-25)

Los prostanoides son fundamentales para la fisiología endotelial y el interés en sus posibles acciones sobre los vasos sanguíneos ha ido en aumento. Hoy se

sabe que estas sustancias pueden derivar no solo del endotelio, sino también del TAPV, considerado parte de la estructura vascular con función paracrina. El aumento de los prostanoides vasoconstrictores puede estar relacionado con una producción aumentada de especies reactivas de oxígeno, que parecen jugar un papel importante en la alteración vascular inducida por el tejido adiposo perivascular. Esto conduciría a una disminución en la expresión de eNOS que afecta la biodisponibilidad de NO, lo que contribuye a la

disfunción endotelial, que se correlacionaría con la disminución de AMPK. (26-28)

De acuerdo con nuestros resultados, Matsumoto y cols. (29) informaron previamente que la metformina redujo significativamente la presión arterial y disminuyó la liberación de  $TXB_2$  y  $PGE_2$  en las arterias mesentéricas estimuladas por acetilcolina de ratas OLETF, un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2 hipertensiva. Por otra parte, encontraron que la liberación de prostanoides estimulada por el endotelio (6-ceto-PGF $1\alpha$ ,  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$  y  $TXB_2$ ) en el anillo de las arterias mesentéricas se suprimió significativamente en el grupo OLETF tratado con losartán. (30)

La metformina es un activador de AMPK, que regula el metabolismo de los adipocitos y la estructura y función vascular. (31-33) Por otro lado, el TAPV de las arterias mesentéricas presenta un sistema renina-angiotensina local con alta densidad de receptores de angiotensina II tipo 1 (AT1). (34-36)

## CONCLUSIONES

En conclusión, tanto el losartán como la metformina ejercen efectos beneficiosos, más allá de su efecto antihipertensivo e insulinosensibilizante, respectivamente, sobre el tejido adiposo perivascular que mejoran la disfunción endotelial inducida por el desbalance de sustancias vasoactivas en el lecho vascular mesentérico en este modelo experimental dietario.

## Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

(Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web / Material suplementario).

## BIBLIOGRAFÍA

- Kim SH, Després JP, Koh KK. Obesity and cardiovascular disease: friend or foe? *Eur Heart J* 2016;37:3560-8. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv509>.
- Bays HE. Central obesity as a clinical marker of adiposopathy; increased visceral adiposity as a surrogate marker for global fat dysfunction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014;21:345-51. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000093>
- Szasz T, Bomfim GF, Webb RC. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. *Vasc Health Risk Manag*. 2013;9:105-16. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S33760>
- Zaman MQ, Leray V, Le Bloc'h J, Thorin C, Ouguerram K, Nguyen P (2011). Lipid profile and insulin sensitivity in rats fed with high-fat or high-fructose diets. *Br J Nutr* 2011;106 (Suppl 1):S206-210. <https://doi.org/10.1017/S0007114511004454>
- Pereira-Lancha LO, Campos-Ferraz PL, Lancha AH Jr (2012). Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2012;5:75-87. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S25026>
- Peredo HA, Lee HJ, Donoso AS, Andrade V, Sánchez Eluchans NM, Puyó AM. A high-fat plus fructose diet produces a vascular prostanoid alterations in the rat. *Auton Autocoid Pharmacol* 2015;34:35-40. <https://doi.org/10.1111/aap.12021>
- Fellmann L, Nascimento AR, Tibiriça E, Bousquet P (2013). Murine models for pharmacological studies of the metabolic syndrome. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013; 137:331-40. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.11.004>
- Frontini A, Cinti S. Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. *Cell Metab* 2010;11:253-6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.03.004>
- Mendizábal Y, Llorens S, Nava E. Vasoactive effects of prostaglandins from the perivascular fat of mesenteric resistance arteries in WKY and SHROB rats. *Life Sci* 2013; 93:1023-32. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.10.021>
- Peredo HA, Lee HJ, Donoso AS, Andrade V, Sánchez Eluchans NM, Puyó AM. A high-fat plus fructose diet produces a vascular prostanoid alterations in the rat. *Auton Autocoid Pharmacol* 2015;34:35-40. <https://doi.org/10.1111/aap.12021>
- Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med* 2002;137:25-33. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-1-200207020-00009>
- Sivasubramaniam S, Kumarasamy B. Pleiotropic Effects of Losartan in Hypertensive Patients with Dyslipidemia. *J Clin Diagn Res* 2017;11:FC05-FC08. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/30909.10638>
- Verma S, Banhot S, McNeill JH. Antihypertensive effect of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;271:1334-7.
- Verma S, Yao L, Dumont AS, McNeill JH. Metformin treatment corrects vascular insulin resistance in hypertension. *J Hypertens* 2000;18:1445-50. <https://doi.org/10.1097/00004872-200018100-00012>
- Peredo H, Mayer M, Carranza, Puyó A. Pioglitazone and losartan modify hemodynamic and metabolic parameters and vascular prostanoids in fructose-overloaded rats. *Clin Exp Hypertens* 2008;30:159-69. <https://doi.org/10.1080/10641960801946889>
- Boshra V, El Wakeel G, Nader M. Effect of celecoxib on the antihypertensive effect of losartan in a rat model of renovascular hypertension. *Can J Physiol. Pharmacol* 2011;89: 103-7. <https://doi.org/10.1139/Y10-112>
- Smith P, Hindmarch C, Murphy D, Ferguson A. AT1 receptor blockade alters nutritional and biometric development in obesity-resistant and obesity-prone rats submitted to a high fat diet. *Front Psychol*. 2014;5:832. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00832>
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-9. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
- Mourad AA, Heeba GH, Taye A, El-Moselhy MA. Comparative study between atorvastatin and losartan on high fat diet induced type 2 diabetes mellitus in rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 2013;27:489-97. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2012.01048.x>
- Tikoo K, Sharma E, Amara VR, Pamulapati H, Dhawale VS. Metformin improves metabolic memory in high fat diet (HFD)-induced renal dysfunction. *J Biol Chem*. 2016; 291:21848-21856. pii: jbc.C116.732990. <https://doi.org/10.1074/jbc.C116.732990>
- Wang T, Lian G, Cai X, Lin Z, Xie L. Effect of prehypertensive losartán therapy on AT1R and ATRAP methylation of adipose tissue in the later life of high-fat-fed spontaneously hypertensive rats. *Mol Med Rep* 2018;17:1753-61. <https://doi.org/10.1097/01.mmr.2017.8081>
- Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CD. 'Vasocrine' signaling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet* 2005;365:1817-20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66585-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66585-3)
- Marchesi C, Ebrahimian T, Angulo O, Paradis P, Schiffrin EL. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling and perivascular adipose oxidative stress and inflammation contribute to vascular dysfunction in a rodent model of metabolic syndrome. *Hypertension* 2009;54:1384-92. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.138305>
- Ma L, Ma S, He H, et al. Perivascular fat-mediated vascular dysfunction and remodeling through the AMPK/mTOR pathway in high-fat diet-induced obese rats. *Hypertens Res* 2010;33:446-53. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.11>
- Ketonen J, Pilvi T, Mervaala E. Caloric restriction reverses high-fat diet-induced endothelial dysfunction and vascular superoxide

- production in C57Bl/6 mice. *Heart Vessels*. 2010;25:254-62. <https://doi.org/10.1007/s00380-009-1182-x>
26. Tang EH, Vanhoutte PM. Prostanoids and reactive oxygen species: team players in endothelium-dependent contractions. *Pharmacol Ther* 2009;122:140-9. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.02.006>
27. Ketonen J, Shi J, Martonen E, Mervaala E. Periadventitial adipose tissue promotes endothelial dysfunction via oxidative stress in diet-induced obese C57Bl/6 mice. *Circ J*. 2010;74:1479-87. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-09-0661>
28. Hernanz R, Briones AM, Salaices M, Alonso MJ. New roles for old pathways? A circuitous relationship between reactive oxygen species and cyclo-oxygenase in hypertension. *Clin Sci* 2014;126:111-21. <https://doi.org/10.1042/CS20120651>
29. Matsumoto T, Noguchi E, Ishida K, Kobayashi T, Yamada N, Kamata K. Metformin normalizes endothelial function by suppressing vasoconstrictor prostanoids in mesenteric arteries from OLETF rats, a model of type 2 diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:H1165-H1176. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00486.2008>
30. Matsumoto T, Ishida K, Nakayama N, Taguchi K, Kobayashi T, Kamata K. Mechanisms underlying the losartan treatment-induced improvement in the endothelial dysfunction seen in mesenteric arteries from type 2 diabetic rats. *Pharmacol Res* 2010;62:271-81. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.03.003>
31. Hawley SA, Ross FA, Chevzoff C, Green KA, Evans A, Fogarty S. Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation. *Cell Metab* 2010;11:554-65. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.04.001>
32. Nagata D, Hirata Y. The role of AMP-activated protein kinase in the cardiovascular system. *Hypertens Res* 2010; 33:22-8. <https://doi.org/10.1038/hr.2009.187>
33. Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a cellular energy sensor with a key role in metabolic disorders and in cancer. *Biochem Soc Trans* 2011;39:113. <https://doi.org/10.1042/BST0390001>
34. Hildebrand S, Stümer J, Pfeifer A. PVAT and Its Relation to Brown, Beige, and White Adipose Tissue in Development and Function. *Front Physiol* 2018;9:70. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00070>
35. Gálvez-Prieto B, Bolbrinker J, Stucchi P, de Las Heras AI, Merino B, Arribas S, et al. Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between white and brown perivascular adipose tissue. *J Endocrinol* 2008;197:55-64. <https://doi.org/10.1677/JOE-07-0284>
36. Cassis LA, Fettingner MJ, Roe AL, Shenoy UR, Howard G. Characterization and regulation of angiotensin II receptors in rat adipose tissue. *Angiotensin receptors in adipose tissue. Adv Exp Med Biol* 1996;396:39-47. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1376-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1376-0_5)