BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLOGÍA

LABORATORIO DE FISIOLOGÍA CARDIOVASCULAR

“Efecto del Embarazo y la Lactancia en la Remodelación Cardíaca en ratas espontáneamente hipertensas”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS FISIOLOGICAS

PRESENTA:

MONICA XANCAL ACAMETITLA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MA. DE JESÚS GÓMEZ VILLALOBOS

COMITÉ REVISOR:

DR. ELIAS MANJARREZ LOPEZ

DR. EDUARDO MARCOS SALINAS STEFANÓN

NOVIEMBRE 2019

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Cardiovascular del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. María de Jesús Gómez Villalobos y fue presentado en el Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas en Colima 2018 y en el XXXI Congreso Mexicano de Cardiología 2019.

AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. María de Jesús Gómez Villalobos** por permitirme participar en éste proyecto, introducirme a la investigación y dar su guía para mi formación académica.

A la **Benemérita universidad Autónoma de Puebla** y al **Instituto de Fisiología** por todo lo que me otorgaron para mi formación académica.

Al **Dr. Fabián Galindo** responsable del Laboratorio de Cáncer y Comunicación Intercelular por su colaboración para realizar los cortes de tejido en el criostato.

A los **docentes** que contribuyeron con sus enseñanzas a introducirme en el conocimiento de la Fisiología.

A **Luis de Jesús** por su disposición y paciencia para la realización de este proyecto de investigación.

A Kenia Ávila, Ana Bocanegra, Sharon Zenteno, Mario Salamanca, Mariela Brenis por su compañerismo y apoyo en todo momento.

A **mi familia** que me ha brindado su respaldo a lo largo de este y otros procesos que he emprendido.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por la beca otorgada para realizar ésta maestría.

Dedicada a mi madre por todo lo que me ha otorgado de forma incondicional

A Sandra y Gricel por ser mí guía y darme su apoyo

Con todo el cariño que se merecen

INDICE

Índice de figuras 8

Índice de tablas 9

Lista de abreviaturas 10

1. Resumen 12
2. Introducción 13
3. Antecedentes 14
   - 3.1 Hipertensión arterial sistémica 14
   - 3.2 Clasificación de la hipertensión arterial sistémica 14
   - 3.3 Hipertensión arterial en el embarazo 15
   - 3.4 Cambios funcionales y estructurales del sistema cardiovascular durante el embarazo 16
     - 3.4.1 Cambios en el gasto cardíaco 17
     - 3.4.2 Cambios en el volumen sanguíneo 17
     - 3.4.3 Cambios en la frecuencia cardíaca 18
     - 3.4.4 Cambios en la presión arterial 18
     - 3.4.5 Cambios en la estructura del corazón 19
   - 3.5 Cambios hormonales durante el embarazo y la lactancia 21
     - 3.5.1 Progesterona 22
     - 3.5.2 Estrógenos 23
     - 3.5.3 Relaxina 24
     - 3.5.4 Prolactina 25
     - 3.5.5 Oxitocina 25
     - 3.5.6 Otras hormonas 26
   - 3.6 Hipertrofia Ventricular 26
     - 3.6.1 Hipertrofia ventricular fisiológica 28
     - 3.6.2 Hipertrofia ventricular patológica 30
   - 3.7 Modelos experimentales de hipertensión arterial sistémica y embarazo 37
4. Definición del problema 38
5. Justificación 38

6. Hipótesis 38
7. Objetivos 38
7.1 Objetivo general 38
7.2 Objetivos específicos 39
8. Materiales y métodos 39
8.1 Animales de experimentación 39
8.2 Diagrama de trabajo 40
8.3 Determinación de peso: corporal, del corazón y de ventrículo izquierdo 41
8.4 Determinación de parámetros cardiovasculares por métodos no invasivos 42
8.5 Métodos histológicos 43
8.5.1 Tinción de hematoxilina-eosina 43
8.5.2 Tinción tricrómica de Masson 44
8.6 Métodos espectrofotométricos 45
8.6.1 Cuantificación de colágeno 45
9. Análisis estadístico 47
10. Resultados 47
10.1 Peso corporal 47
10.2 Presión arterial sistólica 49
10.3 Presión arterial diastólica 50
10.4 Frecuencia cardíaca 51
10.5 Peso del corazón 52
10.6 índice peso corazón/peso corporal 53
10.7 Peso del ventrículo izquierdo 54
10.8 Medición de miocitos en el eje transversal en ventrículo izquierdo 56
10.9 Medición de miocitos en el eje longitudinal en ventrículo izquierdo 57

10.10 Tinciones histológicas 58
10.10.1 Tinción de Hematoxilina y eosina 58
10.10.1.1 Tinción de Hematoxilina y eosina en el protocolo de corto plazo 59
10.10.1.2 Tinción de Hematoxilina y eosina en el protocolo de largo plazo 60
10.10.2 Tinción Tricrómica de Masson 61
10.10.2.1 Tinción Tricrómica de Masson en el protocolo de corto plazo 61
10.10.2.2 Tinción Tricrómica de Masson en el protocolo de largo plazo 62
10.11 Cuantificación de hidroxiprolina en ventrículo izquierdo 63
11. Discusión 63
12. Conclusiones 69
13. Bibliografía 70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Espectro clínico de los trastornos hipertensivos en el embarazo	16
Figura 2	Cambios hemodinámicos durante el embarazo	19
Figura 3	Cambios en la presión arterial media, el gasto cardíaco y la resistencia vascular en el embarazo	19
Figura 4	Procesos celulares implicados en la hipertrofia	28
Figura 5	Vista esquemática simplificada de vías de señalización en el corazón	29
Figura 6	Vías de señalización involucradas en la mediación del crecimiento cardíaco fisiológico durante el desarrollo postnatal, el ejercicio y embarazo en roedores	30
Figura 7	La autofagia inducida por estímulos promueve la hipertrofia cardíaca	33
Figura 8	El crecimiento cardíaco fisiológico y patológico en el desarrollo post natal en respuesta a distintos estímulos	34
Figura 9	Hipertrofia Patológica vs hipertrofia fisiológica inducida por el embarazo	35
Figura 10	Resumen de los efectos clave del estrógeno (E2) y los receptores de estrógeno (ER) en los cardiomiocitos	36
Figura 11	Sistema de medición de presión no invasivo CODA	41
Figura 12	Ejemplo del gráfico obtenido durante la medición de la presión arterial con el sistema CODA de Kent Scientific	43
Figura 13	Cambios en el peso corporal con respecto al tiempo	46
Figura 14	Comparación del peso corporal entre cepas antes del sacrificio	48
Figura 15	Cambios en la PAS con respecto al tiempo,	48
Figura 16	Comparación de la PAS antes del sacrificio	49
Figura 17	Cambios en la PAD con respecto al tiempo	50
Figura 18	Comparación de la PAD antes del sacrificio	50
Figura 19	Cambios en la frecuencia cardíaca con respecto al tiempo	52
Figura 20	Peso del corazón por grupos	52
Figura 21	Relación peso corporal-peso del corazón,	53
Figura 22	Comparación del índice peso corporal-peso del corazón,	54
Figura 23	Peso del ventrículo izquierdo	54
Figura 24	Comparación del peso del ventrículo izquierdo	55
Figura 25	Longitud de miocitos de VI en corte transversal	56
Figura 26	Longitud de miocitos de VI en corte longitudinal	57
Figura 27	Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en el corto plazo de H&E	59
Figura 28	Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en el largo plazo de H&E	60

Figura 29 Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en el corto plazo, tinción tricrómica de Masson 61
Figura 30 Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en el largo plazo, tinción tricrómica de Masson 62
Figura 31 Determinación del contenido de hidroxiprolina en ventrículo izquierdo 63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Estratificación de la presión arterial
Tabla 2 Clasificación de la hipertensión en el embarazo
Tabla 3 Cambios hemodinámicos y hormonales en el embarazo, el periparto y el postparto
Tabla 4 Criterios para diferenciar la hipertrofia fisiológica de la patológica
Tabla 5 Clasificación de los grupos de estudio
Tabla 6 Pero corporal, PAS, PAD,FC, peso del corazón, PC-PC, peso VI, en el protocolo de corto plazo
Tabla 7 Pero corporal, PAS, PAD,FC, peso del corazón, PC-PC, peso VI, en el protocolo de largo plazo
Tabla 8 Longitud de miocitos en corte transversal y longitudinal en el protocolo de corto plazo
Tabla 9 Longitud de miocitos en corte transversal y longitudinal en el protocolo de largo plazo

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACOG	Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología
Ang II	Angiotensina II
Akt	Proteína cinasa B
ANP	Péptido natriurético auricular
ASK	Cinasa reguladora de la señal de apoptosis
ATP	Trifosfato de adenosina
BNP	Péptido natriurético cerebral
CO	Gasto cardíaco
CRHR	Receptor de la hormona liberadora de corticotropina
CTRL	Control
eNOS	Sintasa de óxido nítrico endotelial
ER_{α}	Receptor a estrógenos alfa
ER_{β}	Receptor a estrógenos beta
ET-1	Endotelina 1
DMAB	P- dimetilaminobenzaldehído
DNA	Acido desoxirribonucleico
FAO	Oxidación de ácidos grasos
GH	Hormona de crecimiento
GPCR	Receptor acoplado a proteínas G
HAP	Hipertensión arterial pulmonar
HAS	Hipertensión arterial sistémica
HCL	Ácido clorhídrico
HELLP	Hemolisis, enzimas hepáticas elevadas, plaquetopenia
HF	Insuficiencia cardíaca
H&E	Hematoxilina y eosina
HV	Hipertrofia ventricular
IGF 1	Factor de crecimiento insulínico tipo I
LP	Embarazo tardío
MAP	Presión arterial media
MAPK	Proteína cinasas activada por mitógenos
MEC ó ECM	Matriz extracelular

MMP	Metaloproteinasas de la matriz extracelular
mTOR	Objetivo mamífero del complejo de rapamicina
NaOH	Hidróxido de sodio
NHE	Intercambiador de protones de sodio
NO	Óxido nítrico
NP	Sin embarazo
PA	Presión arterial sistémica
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PI3K	Inositol fosfato 3-cinasa
PRL	Prolactina
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SERCA	ATPasa de calcio de retículo sarcoplásmico
SH	Rata espontáneamente hipertensa
SH-G	Grupo rata espontáneamente hipertensa sólo gestación
SH-N	Grupo rata espontáneamente hipertensa nulípara
SH-G+L	Grupo rata espontáneamente hipertensa gestación + lactancia
SVR	Resistencia vascular sistémica
TAC	Constricción aórtica transversal
TGF-β1	Factor de crecimiento transformante beta
TIMP	Inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz extracelular
VCAM-1	Proteína 1 de adhesión a células vasculares
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VI	Ventrículo izquierdo
VPR	Registro de presión de volumen
WK	Rata Wistar Kyoto
WK-G	Grupo Wistar Kyoto sólo gestación
WK-N	Grupo rata Wistar Kyoto nulípara
WK-G+L	Grupo rata Wistar Kyoto gestación + lactancia

1. RESUMEN

El embarazo y la lactancia son procesos fisiológicos que producen cambios adaptativos a las nuevas necesidades de la madre y del feto. En el sistema cardiovascular también se producen cambios en la presión arterial, el gasto cardíaco y la hipertrofia cardíaca fisiológica, entre otros. La HAS puede estar presente en el momento del embarazo y aumentar la morbi-mortalidad. Existen pocos estudios experimentales que muestren el impacto del embarazo y la lactancia en la hipertensión arterial crónica. **Metodología**: Se emplearon ratas de las cepas Wistar Kyoto (WK) y con Hipertensión Espontánea (SH) de 3 meses de edad, clasificadas en 2 protocolos experimentales; a) corto plazo y b) largo plazo; las cuales se dividieron a su vez en: nulíparas (N), sólo gestación (G) y con gestación-lactancia (G+L) obteniendo 6 grupos experimentales. Se realizó medición del peso corporal (PC), registro de la presión arterial sistémica sistólica (PAS) y diastólica (PAD), la frecuencia cardíaca (FC); de forma basal, durante el embarazo y la lactancia y previo al sacrificio; el cual se realizó a los 6 meses posteriores al destete en el protocolo de largo plazo, e inmediatamente después del parto y destete para el protocolo de corto plazo. Los animales se sacrificaron, se realizó toracotomía, se extrajo el corazón y se obtuvo el peso del corazón, peso del ventrículo izquierdo y la relación peso corporal/peso del corazón (PC/PC). 4 corazones por grupo fueron cortados en criostato y empleados para realizar tinción de Hematoxilina y eosina y tinción tricrómica de Masson; finalmente se cuantifico hidroxiprolina por método espectrofotométrico. **Resultados**: *protocolo de corto plazo*; Peso corporal WK-N (213.8±2.53), WK-G (284.3±5.76), WK-G+L (242.4±4.24), SH-N (195.5±5.11), SH-G (266.8±5.98), SH-G+L (221.3±6.08); PAS WK-N (128.8±1.93), WK-G (115.9±2.64), WK-G+L (129.8±2.45), SH-N (175.7±6.47), SH-G (134.8±3.80), SH-G+L (150.7±3.18); PC-PC WK-N (0.368±0.02), WK-G (0.354±0.02), WK-G+L (0.442±0.02), SH-N (0.380±0.04), SH-G (0.355±0.01), SH-G+L (468.5±13.2); Miocitos eje transversal WK-N (35.65±0.55), WK-G (36.83±0.74), WK-G+L (35.68±0.56), SH-N (29.26±0.48), SH-G (35.50±0.58), SH-G+L (31.40±0.46)
Protocolo de largo plazo; peso corporal WK-N (251.1±4.76), WK-G (244.8±4.63), WK-G+L (257.8±3.42), SH-N (215.9±8.97), SH-G (230.9±9.97), SH-G+L (220.7±4.63); PAS WK-N (137.8±2.72), WK-G (141.8±2.40), WK-G+L (136.6±2.96), SH-N (197.5±4.23), SH-G (165±4.02), SH-G+L (160.1±3.84); PC_PC WK-N (0.407±0.01), WK-G (0.357±0.01), WK-G+L (0.365±0.01), SH-N (0.396±0.01), SH-G (0.384±0.01), SH-G+L (0.403±0.01), miocitos eje transversal WK-N (33±0.65), WK-G (31.31 ± 0.82), WK-G+L (31.21 ± 0.64), SH-N (36.41± 0.69), SH-G (33.35 ± 0.58), SH-G+L (31.35 ± 0.53)
Conclusión. El embarazo y la lactancia producen efectos en la reducción y mantenimiento de la presión arterial a corto y largo plazo en ratas SH, así como en la hipertrofia cardíaca.

2. INTRODUCCION

El embarazo y la lactancia son procesos dinámicos asociados con cambios fisiológicos significativos en el sistema cardiovascular, particularmente durante el embarazo. Durante estos procesos el cuerpo activa mecanismos que le permiten adaptarse a la creciente demanda metabólica del feto y de la madre, para asegurar una adecuada circulación útero placentaria en pro del crecimiento y desarrollo del feto durante el embarazo y garantizar la producción de leche materna en la lactancia. Se han reportado diversos cambios en el sistema cardiovascular durante el embarazo, destacando la generación de hipertrofia cardíaca fisiológica, una adaptación funcional por el cambio en la precarga y post carga, la cual se revierte en los primeros meses post parto. Sin embargo durante el embarazo también se pueden generar trastornos hipertensivos que incrementan la morbi-mortalidad materno-infantil. Entre éstos trastornos destacaremos la hipertensión arterial sistémica (HAS) crónica que conlleva una alta probabilidad de desarrollar hipertrofia ventricular patológica establecida por la elevación sostenida de la post carga, que contribuye a incrementar la morbi-mortalidad materno-infantil, desarrollándose patologías cardíacas que son la causa principal de mortalidad no obstétrica en el embarazo. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, la población femenina del país presenta una incidencia de hipertensión arterial crónica de 8.5% para mujeres de 20 a 29 años de edad, 10.4% para el rango de 30 a 39 y 22.8% para el grupo de edad de 40 a 49. Este rango de edad representa un porcentaje importante de mujeres en edad fértil, por lo cual el embarazo puede presentarse en mujeres que ya han desarrollado hipertensión arterial sistémica crónica, lo que las hace susceptibles a desarrollar complicaciones durante el embarazo y provocar secuelas que tengan un gran impacto en su salud. La postergación de la maternidad conllevaría una mayor probabilidad de tener hipertensión arterial crónica ya establecida en el momento del embarazo. Existen pocos estudios de experimentación básica acerca del impacto del embarazo y la lactancia en la hipertrofia ventricular patológica. La rata con hipertensión arterial espontánea es un buen modelo experimental para estudiar el impacto de la gestación y la lactancia en

la hipertrofia ventricular patológica generada por la hipertensión arterial crónica, en un ambiente controlado y en periodo de tiempo menor que en el ser humano.

3. ANTECEDENTES

3.1 HIPERTENSION ARTERIAL SISTÉMICA

La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre sobre las paredes vasculares, se mide en milímetros de mercurio (mm Hg) con dos valores, el primero corresponde a la presión arterial sistólica cuando el corazón se contrae, el segundo valor corresponde a la presión arterial diastólica cuando el corazón se relaja.

De acuerdo a la Guía para la prevención, detección, evaluación y manejo de la presión arterial alta en adultos de la Asociación Americana del Corazón (2017) la hipertensión arterial crónica es la elevación de la presión arterial de forma sostenida con presión arterial sistólica ≥ 130 mm Hg y/o presión arterial diastólica ≥ 80 mmHg. Es una enfermedad crónica, progresiva con una alta prevalencia en todo el mundo, siendo un factor de riesgo para el desarrollo de otras enfermedades como la enfermedad coronaria, las enfermedades cerebrovasculares, la falla renal; las cuales se encuentran entre las causas principales de mortalidad en el mundo según lo reportado por la Organización Mundial de la Salud en 2016. El Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2010 mostró que en el año 2008, en el mundo se habían diagnosticado con hipertensión aproximadamente el 40% de los adultos mayores de 25 años; el número de personas afectadas aumentó de 600 millones en 1980 a 1000 millones en 2008. La hipertensión causó 9,4 millones de muertes y 7% de morbilidad en el 2010 según la Organización Mundial de la Salud en 2014.

3.2 CLASIFICACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Estratificación de la presión arterial sanguínea			
Categoría	**Sistólica**		**Diastólica**
Normal	<120 mm Hg	y	<80 mm Hg

Elevada	120-129 mm Hg	y/o	<80 mm Hg
Hipertensión			
Hipertensión grado I	130-139 mm Hg	o	80-89 mm Hg
Hipertensión grado II	≥140 mm Hg	o	≥90 mm Hg

Tabla 1 Whelton et al. (2018)

3.3 HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN EL EMBARAZO

La hipertensión crónica en el embarazo la define el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG) en 2019, como la hipertensión diagnosticada o presente antes del embarazo o de la 20ava semana de gestación, así como aquellos casos en los cuales se diagnostica en durante el embarazo, pero no tiene resolución, anteriormente se tomaba como referencia una presión arterial sistólica ≥ 140 mm Hg y /o ≥90 mm Hg diastólica. La hipertensión en el embarazo tiene una prevalencia del 5 al 10% (Say L et al. 2014) contribuyendo a la morbilidad y mortalidad mayor tanto materna como neonatal alrededor del mundo. Con un incremento en el riesgo para desarrollar preeclamsia. Provocando restricción del crecimiento intrauterino del feto, placenta previa, nacimientos prematuros, parto por cesárea y el desarrollo de malformaciones congénitas. La complicación más prevalente es el riesgo de preeclampsia (3-5 %) que se incrementa hasta el 17 a 25 % en presencia de hipertensión crónica. (Seely and Ecker 2014).

Se ha observado una mayor prevalencia de hipertensión arterial sistémica en poblaciones cuya edad materna es mayor en el momento del parto con respecto a aquellas de menor rango de edad. (Yoder S et al. 2009, Bramham K. et al 2014)

Clasificación de la hipertensión en el embarazo	
Clasificación	Criterios
Pre eclampsia	Inicio después de las 20 semanas de gestación, PAS ≥140 mm Hg ó PAD ≥90 mm Hg en una mujer previamente normotensa. Proteinuria (excreción ≥0.3 g de proteína en colección de orina en 24 horas) o con otra manifestación sistémica.

Hipertensión Gestacional	Elevación de la presión arterial PAS ≥140 mm Hg ó PAD ≥90 mm Hg después de las 20 semanas de gestación, en una mujer previamente normotensa.
Hipertensión crónica	PAS ≥140 mm Hg y/o PAD ≥90 mm Hg antes del embarazo o antes de las 20 semanas de gestación o que persiste después de 12 semanas posteriores al parto.
Hipertensión crónica con pre eclampsia superpuesta	Nueva aparición de proteinuria en el entorno de la hipertensión antes de 20 semanas gestación. Un aumento de la proteinuria (si está presente) más temprano) Incremento de la presión arterial Comienzo del síndrome HELLP (hemolisis, enzimas hepáticas elevadas, plaquetopenia y PAS)

Tabla 2 (Seely and Ecker 2014)

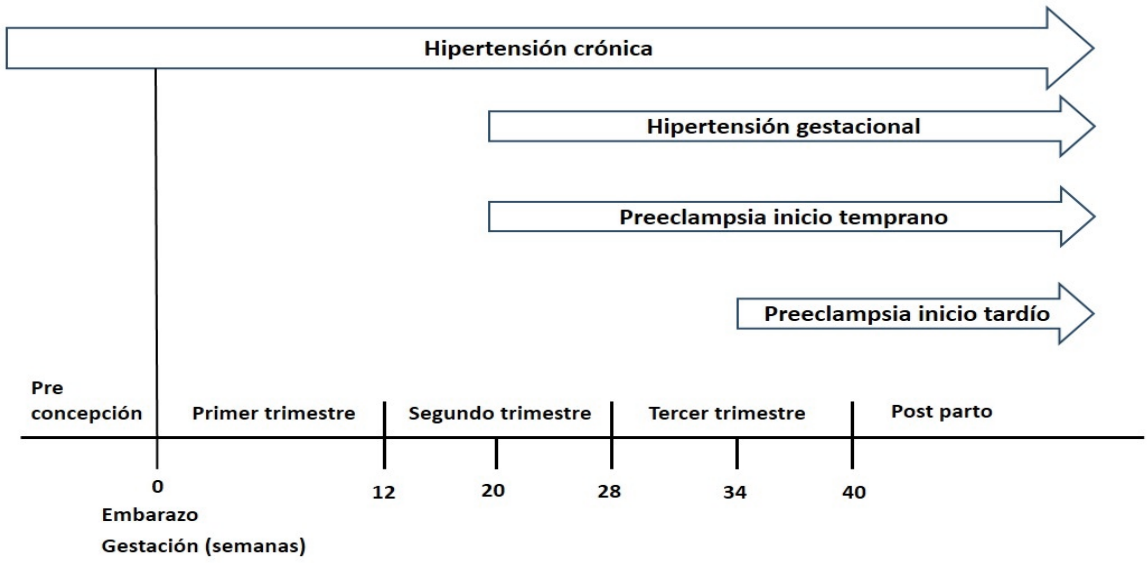


Figura 1. El espectro clínico de trastornos hipertensivos en el embarazo, modificado de Foo L. et al. 2015

3.4 CAMBIOS FUNCIONALES Y ESTRUCTURALES DEL SISTEMA CARDIOVASCULAR DURANTE EL EMBARAZO Y LA LACTANCIA

EMBARAZO. El periodo de embarazo o gestación en la mujer es aquel que va desde la concepción del niño, hasta su desarrollo a término y que normalmente tiene un periodo de 38 a 42 semanas de duración en los humanos. En la rata el periodo de gestación es de 21 a 23 días.

LACTANCIA. El periodo de lactancia en la mujer es aquel que sigue posterior al nacimiento y es el periodo de tiempo durante el cual permite la alimentación del niño, la duración es variable de meses a 2 años. En la rata el periodo de lactancia es de 3 semanas

Durante el embarazo se presentan cambios anatómicos y fisiológicos para satisfacer las demandas metabólicas que permitan el desarrollo del feto y los requerimientos propios de la madre. Estos cambios ocurren en los diferentes sistemas corporales, como son el cardiovascular, el respiratorio, el gastrointestinal, el renal, el endocrino. Durante el embarazo el metabolismo cardiaco se modifica para hacer frente a las necesidades del feto y el incremento del trabajo cardiaco (Adbujalil et al. 2012)

3.4.1 Cambios en el Gasto cardiaco. El gasto cardíaco aumenta desde el primer trimestre y continúa elevándose de forma progresiva en el segundo trimestre alcanzando la meseta alrededor de las semanas 28 a 32 de gestación; éste incremento es alrededor del 50%. Durante la primera mitad del embarazo el incremento en el gasto cardíaco se debe al aumento en el volumen sistólico, en la segunda mitad debido al incremento en la frecuencia cardíaca, el aumento de la precarga y la disminución de la post carga en el ventrículo izquierdo. También en el parto se eleva del 60 al 80%, asociado con la elevación de la frecuencia cardíaca, el dolor en el parto y la liberación de catecolaminas. Dando un aumento de 4.0±0.3 L/min a 7.4±0.4 L/min cuantificado mediante resonancia magnética. (Ouzounian 2012, Tan 2013 Sanghavi; Ducas 2014). En ratas normotensas el gasto cardiaco se eleva 33% en ratas normotensas y 19% en ratas hipertensas (Lundgren 1979).

3.4.2 Cambios en el Volumen Sanguíneo. El volumen sanguíneo se incrementa alrededor de la sexta semana de gestación hasta la 32ava semana de gestación. El volumen sistólico se incrementa de un 30 a 50%, a un máximo de 85 ml a las 20 semanas de gestación (Tan 2013). Barron en 1984 reporta una diferencia en el volumen sanguíneo de 16.2±1.2 ml en ratas control contra 25.2±2.3 en ratas preñadas a los 21 días de gestación, mismo que se refleja en un incremento del 50 al 70% (Barron 1987).

El incremento de las células sanguíneas es alrededor de 30-50% (1200-1300 ml) durante el embarazo, con una producción de glóbulos rojos hasta del 40% a través de la eritropoyesis. Este incremento inicia a la 7 semana de gestación de 10-15% alcanzando el pico a las 30-34 semanas de gestación. Se ha observado una relación entre el incremento del volumen sanguíneo y el crecimiento fetal (Sanghavi 2014).

3.4.3 Cambios en la frecuencia cardiaca: El corazón aumenta la tasa de 10 a 20 latidos / min a partir de las 5ta semana de gestación y continuando hasta la semana 32, resultando en un incremento de alrededor de 20 a 25% con respecto al basal (Ouzounian 2012, Tan 2013, Sanghavi 2014). En ratas Cerutti en 1994 reportó un incremento de 30 a 57 latidos por minuto, mientras que Slangen en 1997 mostró una variación de 373 latidos por minuto en el día 4 a 408 latidos por minuto, en el día 18 de gestación. En la lactancia se observa disminución de la frecuencia cardíaca, asociado a una disminución del tono simpático y el incremento del tono vagal (Constantine 2014).

3.4.4 Cambios en la presión arterial. Las presiones arteriales disminuyen durante el embarazo, la presión arterial sistólica (PAS), la presión arterial diastólica (PAD), así como la presión arterial media. En ratas Wistar se ha reportado un decremento en la presión arterial media de 125±12 en el día 4 de gestación a 101±10 mmHg en el día 18 (Slangen 1997). La presión arterial sistémica (PA) disminuye durante el primer trimestre, alcanzando un límite inferior en el embarazo medio y volviendo a los niveles pre-gestacionales antes del término. Este cambio resulta de una disminución de la resistencia vascular debida a la reducción del tono vascular, mediado por factores dependientes del endotelio como el óxido nítrico, regulado por estradiol y prostaglandinas. En ratas la resistencia periférica total disminuyó 38% en ratas normotensas y 275 en hipertensas (Lundgren 1979). Durante el embarazo se incrementa sustancialmente la vasodilatación periférica, alrededor de la sexta semana de gestación y aumenta rápidamente hasta el embarazo medio a un ritmo más lento hasta un máximo promedio de 50%. La resistencia vascular media sistémica también decrementa. El incremento del volumen plasmático en un 30-50% provoca que la concentración de hemoglobina caiga generando una anemia fisiológica, que también contribuye a la disminución de la resistencia vascular. Los

cambios en la distensibilidad vascular también contribuyen a la reducción de la resistencia vascular (Tan 2013, Constantine, Liu, Lumbers, 2014).

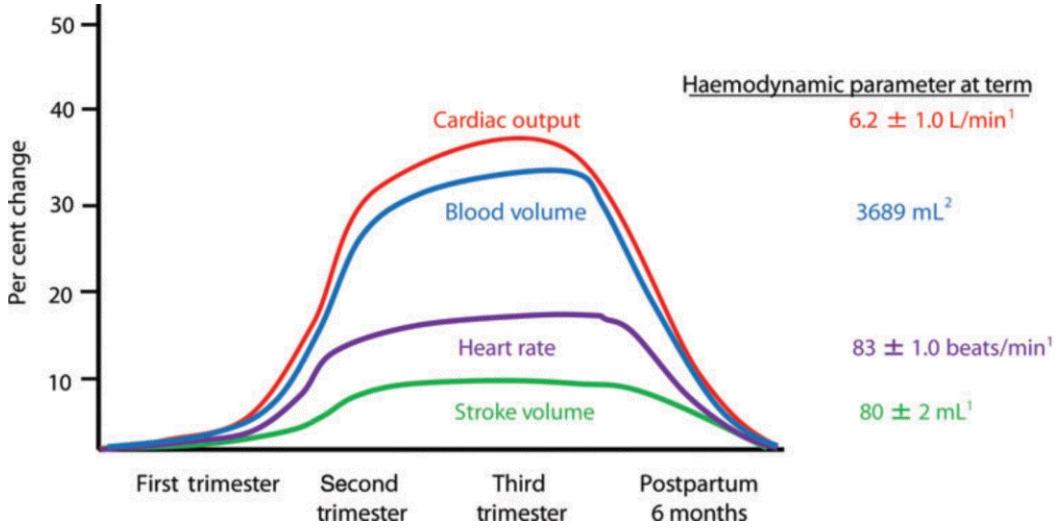


Figura 2. Cambios hemodinámicos durante el embarazo. El gasto cardíaco, la frecuencia cardíaca, el volumen sistólico y el volumen sanguíneo aumentan entre 5 y 8 semanas gestación, pico hasta mediados del embarazo, y se mantiene hasta el final del embarazo. Estos parámetros se invierten a los 6 meses posparto (Liu 2014)

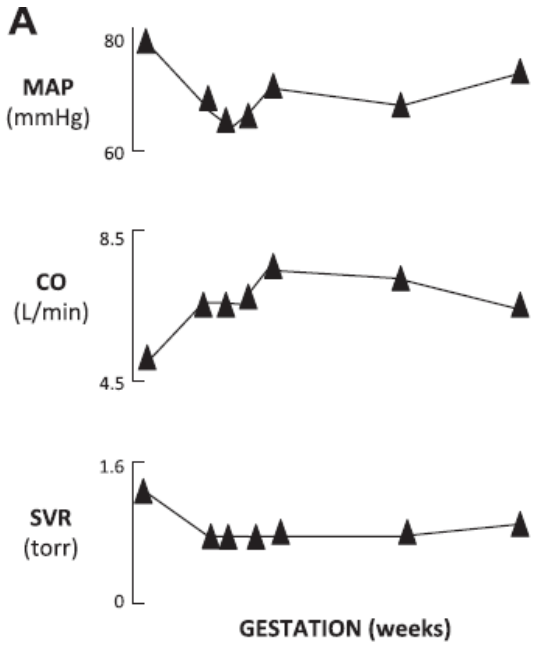


Figura 3. Los cambios en la presión arterial media (MAP, mm Hg), el gasto cardíaco (CO, l / min), y resistencia vascular sistémica (SVR, torr); en el embarazo (Lumbers 2014)

3.4.5 Cambios estructurales del corazón. Durante el embarazo se produce un incremento en la masa muscular del corazón en las cuatro cámaras cardiacas y 3 a 4 meses después del parto estas alteraciones estructurales regresan a su estado basal. El aumento de volumen sanguíneo y de la precarga ventricular, da lugar a adaptaciones fisiológicas del corazón para responder a estas demandas con un

aumento del volumen diastólico final de 20-30% y un aumento de la masa del ventrículo izquierdo de 45-50% (Ducas 2014)

El corazón desarrolla una leve hipertrofia excéntrica caracterizada por un incremento proporcional entre la cámara cardiaca y la pared ventricular características de la hipertrofia fisiológica. Se preserva el radio entre la longitud y el ancho de los miocitos ventriculares aislados de ratas gestantes (Chung et al 2014, 2012). El grosor de la pared ventricular se incrementa entre un 28 % y 52 % durante la gestación. El ventrículo derecho se ha reportado con incremento en la masa ventricular hasta del 40 %. (Robson 1987, Ducas 2014, Sanghavi 2014).

Cambios hemodinámicos y hormonales en el embarazo, el periparto y el postparto

	Embarazo	*Periparto*	*Postparto-Lactancia*
Humano			
Volumen sanguíneo	↑	↑	↓
Presión arterial sistólica	↓	↑	↑
Presión arterial diastólica	↓	↑	↑
Resistencia vascular sistémica	↓	↑	↑
Frecuencia cardíaca	↑	↑	↓
Volumen sistólico	↑	↑	↑
Eyección cardíaca	↑	↑	↑
Estradiol			
Humano	↑ gradualmente	↑ antes del nacimiento, ↓ después del nacimiento	↓
Rata	↑ gradualmente	↑ antes del nacimiento, ↓ después del nacimiento	↓
Progesterona			
Humano	↑ gradualmente	↑ antes del nacimiento,	↓

		↓ después del nacimiento	
Rata	↑ gradualmente	↓	↓
Testosterona			
Humano	↑ gradualmente (↑↑feto masculino, ↑feto femenino)	Desconocido	↓
Rata	↑gradualmente	↑ Hasta el día 20, ↓ Justo antes del Nacimiento, ↓ Después del nacimiento	↓
Prolactina			
Humano	↑	↑ antes del Nacimiento, ↑ se mantiene alto después del nacimiento si hay lactancia	Permanece alto durante la lactancia
Angiotensina			
Humano	↑	↑antes del Nacimiento, ↓bruscamente 2 horas después del nacimiento y ↑ después	Desconocido

Tabla 3. Los cambios reflejan el estado hemodinámico y hormonal de las mujeres a menos que se especifique lo contrario. En las mujeres, el embarazo se refiere a la semana 1 a 36 de gestación, periparto se refiere a las últimas cuatro semanas de preparto y la primera semana de postparto y postparto refleja los primeros 3-6 meses después del parto. Para la rata, el embarazo refleja los primeros 20 días de embarazo, el periparto se refiere a los últimos 4 días de gestación y un día después del parto, y el posparto es una semana después del parto. Para los mandriles, el embarazo se refiere a los primeros 24 semanas de embarazo, periparto se refiere a una semana antes del parto hasta una semana después de la entrega y después del parto es de 11 semanas después del nacimiento. Modificado de Peters S. et al 2017

3.5 CAMBIOS HORMONALES DURANTE EL EMBARAZO Y LA LACTANCIA

Varios reportes de la literatura demuestran que durante el embarazo se generan los mayores cambios en el sistema cardiovascular asociados a los cambios hormonales producidos en dicho periodo.

En relación a la lactancia hay poca información en relación a los efectos de la lactancia en el sistema cardiovascular. Sin embargo un amplio estudio muestra evidencias de que las mujeres que llevan a cabo la lactancia después del parto tienen una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, y el efecto benéfico y/o cardioprotector se incrementa proporcionalmente con un tiempo mayor de la lactancia. Aquellas mujeres que amamantaron presentan niveles de presión arterial menor que aquellas que no la realizaron o hicieron un periodo menor, y el riesgo a desarrollar hipertensión arterial sistémica disminuye. Se ha observado efecto en la reducción del índice de masa corporal y del depósito de adiposidad visceral y en la homeostasis de los lípidos, aunque éste efecto se ve mermado con el paso del tiempo. También hay niveles de insulina y frecuencia cardíaca menores con respecto a mujeres que no amamantaron. La lactancia contribuye al restablecimiento del metabolismo materno, es decir, participa en la regresión de los cambios que se producen en el embarazo de una forma más rápida (Mezzacappa 2005, Groer, Lupton 2013, Perrine 2016, Peters 2017)

La lactancia también ha mostrado tener un efecto sobre la disminución de la presión arterial a largo plazo, así como la disminución del riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular, cuyo efecto es mayor en mujeres que amamantarón por más de 6 meses a sus hijos (Mezzacappa 2005, Ducas 2014).

3.5.1 PROGESTERONA. En diversos estudios se ha observado que la progesterona causa vasodilatación, su administración reduce la presión sanguínea en pacientes normotensas e hipertensas al disminuir la vasoconstricción a los pocos minutos de su administración. También tiene efecto natriurético que sumados contribuyen a la disminución de TA (Thomas 2013). Promueve la liberación del factor relajante derivado del endotelio e inhibe la liberación del factor constrictor derivado del endotelio (Orschal 2004). La progesterona, la somatomamotropina coriónica placentaria y la prolactina contribuyen en la secreción de eritropoyetina que contribuye a la producción de glóbulos rojos. La progesterona participa en la síntesis de músculo cardiaco que contribuye al desarrollo de hipertrofia (Golstein 2004).

La disminución de la presión arterial en etapas finales del embarazo esta mediada principalmente por los niveles altos de progesterona.

La progesterona atenúa las concentraciones del receptor proxanoide del tromboxano que participa en la agregación plaquetaria y en el aumento del tono vascular (Thomas 2013).

La progesterona inhibe la proliferación del músculo liso vascular, mediante la reducción de la actividad MAPK (Salerni 2015).

3.5.2 ESTROGENOS. Durante el embarazo los niveles de estrogenos aumentan de 17000 a 20000pg/ml en mujeres (Mendelson 1999). Los estrógenos ejercen efecto de forma directa sobre el endotelio vascular o indirecta mediante la expresión génica en la que se asocia el estrogeno, su receptor y otras moléculas asociadas al mismo. Producen vasodilatación por medio de la disminución de la resistencia vascular la cual está mediada por estrógenos vía aumento de los receptores α-miocárdicos. Los estrógenos contribuyen a la elevación de NO activación de cinasas. Los receptores ERα y ERβ se encuentran presentes en células endoteliales vasculares, musculo liso vascular y en cardiomiocitos. El receptor ERα está relacionado con la activación de eNOS, por medio de un mecanismo no genómico (Luo 2016). Los estrógenos modifican las concentraciones de lípidos en suero, se han descrito porpiedades anti fibróticas al modular la acción de las metaloproteinasas de matriz y la síntesis de colágeno. El receptor Erβ inhibe la fibrosis cardiaca y la hipertensión diastólica (Salerni 2015). inhiben la producción de endotelina-1, estimulan la migración y crecimiento endotelial, se ha observado un efecto en la disminución de las lesiones vasculares ocasionadas por ateroesclerosis (Mendelson 1999, Salerni 2015). Los estrógenos estimulan la angiogénesis, ejercen un efecto anti apoptótico y disminuyen las hipertrofia cardíaca (Deroo 2006, Iorga 2016). La expresión del receptor ET_β durante el embarazo normotensivo es estimulado por la hormona relaxina, los estrógenos, el factor de crecimiento endotelial vascular y renal (Orschal 2004). La la presencia de la aromatasa en el corazón contribuye a la producción local de estrógenos que pueden estar implicados en la cardioprotección mediada por estrogenos (Goldstein 2004)

La vasodilatación sistémica que ocurre durante el embarazo precoz, que es probablemente mediada por la progesterona, estrógenos, prostaglandinas, prolactina y la relaxina.

3.5.3 RELAXINA. La relaxina es una substancia que se libera durante la gestación por el cuerpo lúteo, que se ha demostrado en humanos y en roedores, también puede producirse en otros órganos como la glándula mamaria, el corazón, la placenta y la próstata. Tiene receptores en tejidos reproductivos, cerebro, riñón, corazón, pulmones, donde también tiene ejerce efecto (Wilson 2015).

Tiene efectos vasodilatadores en arterias coronarias, lechos vasculares y pequeños vasos tanto en roedores normotensos como en ratas hipertensas, también en los vasos de humanos en estudios in vitro, además en arterias pequeñas del riñón tanto en ratas hembras preñadas y nulíparas como en machos. La vasodilatación se genera mediante una elevación en la producción de NO en el endotelio mediante la activación de la NOS. El incremento de esta actividad también contribuye a mejorar las lesiones producidas por el factor de necrosis tumoral, que ayuda a revertir la disfunción endotelial (Marshall 2017). El efecto vasodilatador también se ha observado con la administración de relaxina en individuos con insuficiencia cardíaca aguda y preeclampsia (Du 2010, Conrad y Shorff, Conrad 2011) además de revertir la vasoconstricción mediada por Ang II en arterias mesentéricas (Marshall, Leo 2017)

Efecto angiogénico: la relaxina estimula la angiogénesis en zonas de isquemia, induce la expresión y trascripción de VEGF y el factor de crecimiento de fibroblastos; en modelos de infarto al miocardio el tratamiento con relaxina se ha observado una aumento en la densidad de vasos (Formigli 2007)

Se ha mostrado efecto en la reducción de la presión arterial, al disminuir la resistencia vascular y aumentar la complianza global, en modelos de hipertensión arterial (Conrad 2011, Leo 2017).

Efecto antiinflamatorio, la relaxina mitiga la desgranulación, reclutamiento y actividad de mastocitos y neutrófilos; además de reducir la adhesión de neutrófilos y la expresión de P-selectina y VCAM-1, en células endoteliales coronarias de rata (Teichman 2010).

Efecto cardioprotector, el tratamiento antes de la isquemia reperfusión en modelos de rata, se observó una reducción de la lesión miocárdica, las arritmias ventriculares y la mortandad (Formigli 2007, Teichman 2010, Raleigh 2015, Sarwan 2017).

Efecto antifibrotico, estimula las MMP 1, 2 y 9 e inhibe a las TIMP m1 y 2, en modelos de hipertensión e infarto al miocardio (Du 2010), mediante la inhibición de la proliferación y diferenciación de fibroblastos, juega un papel para la reducción de la producción de colágeno tipo 1 y 3, como un efecto indirecto de esto puede disminuir la fibrilación auricular producida por el depósito de colágeno en las aurículas (Teichman 2010, Parikh 2013, Raleigh 2015, Samuel 2017).

Otros efectos son el aumento en el volumen de eyección y del gasto cardiaco aumenta el volumen de eyección y disminuye la resistencia vascular renal (Conrad 2011).

3.5.4 PROLACTINA. Durante la gestación la secreción de prolactina es el resultado del crecimiento y proliferación de lactótrofos, estimulado por estrógenos. La secreción de prolactina de la pituitaria anterior se incrementa para prepararse para la lactancia. La prolactina se encuentra durante la lactancia con niveles más elevados que los estrógenos. La prolactina tiene efectos en la inhibición de la proliferación y migración de células endoteliales. La PRL con otros factores humorales tienen un papel en la hipertensión primaria y la hipertensión inducida por el embarazo, que puede estar relacionada con su efecto vasoconstrictor (Ignacak 2012). El fragmento proteolítico PRL 16K derivado de la PRL de 23 kDa, ha demostrado ser un potente antiangiogénico, éste es un factor causal para el desarrollo de miocardiopatía periparto, los altos niveles de PRL en el periparto al interactuar con la elevada actividad proteolítica que puede estar asociado a alto estrés oxidativo, pueden provocar la fragmentación de la PRL y generar PRL 16K (Hilfiker 2012, Horseman 2013).

3.5.5 OXITOCINA. En el corazón y en vasos se han encontrado receptores a ésta hormona, la oxitocina se ha asociado con la regulación de la presión arterial mediante la elevación de la liberación de ANP, produciendo natruresis. Mediante la inhibición de hormonas adrenocorticoides y secreción de cortisol, se reduce la estimulación del sistema nervioso simpático y disminuye la presión arterial. También

se ha observado un efecto en la modulación del estrés cardiovascular asociado con un aumento del tono vagal, produciendo un efecto ionotropico y cronotrópico negativo (Groer 2013, Perrine 2016). Además produce vasodilatación mediante la vía del NO. Se han observado efectos protectores como la inhibición de la inflamación, favorece la captación de glucosa en cardiomiocitos expuestos a hipoxia y en condiciones de resistencia a la insulina. La reducción de los niveles de oxitocina se han asociado con aumento de la adiposidad y reducción de la glucosa y la tolerancia a la insulina (Cutkowska 2012, Napso 2018). Su efecto antioxidante se ha observado en el músculo liso vascular aórtico.

3.5.6 OTRAS HORMONAS. La hormona de crecimiento se ha asociado con proliferación de cardiomiocitos e hipertrofia, la administración de ésta hormona ha inducido el crecimiento del ventrículo con un aumento en el número de miocitos. La deficiencia de GH ha mostrado un aumento del riesgo de cardiopatía isquémica, disminución de la fracción de eyección y del grosor ventricular, reactividad endotelial deteriorada y disminución de la disponibilidad de óxido nítrico. Sin embargo el exceso produce hipertrofia biventricular, lesión endotelial, disfunción diastólica y anormalidades en las válvulas aortica y mitral (Colao 2001, Bruel 2007, Pelmeiro 2012).

3.6 HIPERTROFIA VENTRICULAR

La hipertrofia ventricular (HV) se considera una respuesta adaptativa del corazón ante diversos estímulos. La HV involucra procesos de remodelación funcional y estructural. La remodelación cardíaca se define como un grupo de cambios moleculares, celulares e intersticiales que se manifiestan como cambios morfológicos, geométricos y funcionales del corazón después de un estímulo fisiológico y/o patológico. Se han descrito dos tipos de hipertrofias ventriculares, la fisiológica y la patológica (Bernardo 2010, Azevedo 2016). Los mecanismos celulares que determinan el desarrollo de la hipertrofia ventricular son complejos y se muestran en las figuras 5 y 6.

El corazón está formado por distintos tipos de células, los cardiomiocitos, fibroblastos, células endoteliales, etc. además de la matriz extracelular. El

citoesqueleto proporciona integridad estructural al corazón y los vasos sanguíneos, da resistencia mecánica y estabilidad a las proteínas sarcoméricas, tiene participación en funciones diversas como el anclaje, la adhesión, permite la comunicación entre el medio intracelular el extracelular, al comunicar la sarcómera con los costameros y los discos intercalares, permite censar los cambios en una estructura, con ello responder mediante distintos mecanismos que le permiten adaptarse a estos cambios, ayuda en la integración y transmisión de fuerza, además de ser un reservorio para citoquinas y factores de crecimiento, participa en la inflamación y remodelación (Sarinitis 2012).

Los cardiomiocitos producen la fuerza necesaria para el trabajo cardiaco, los factores que contribuyen a un cambio en esta generación de fuerza tienen un impacto directo en los cardiomiocitos (Sequeira 2014). Los fibroblastos tienen un rol importante en la síntesis y degradación del colágeno de la matriz extracelular. La matriz extracelular está compuesta de sustancia fundamental (Glucosaminosacaridos, Proteoglicanos, Glucoproteínas) y fibras elásticas y de colágeno. La matriz extracelular tiene funciones diversas, permite la comunicación celular, el soporte estructural, la migración y adhesión celular, participa en la regeneración, proporciona propiedades mecánicas a los tejidos. El colágeno forma una red que proporcionar una integridad estructural a los cardiomiocitos para ayudar a la bomba cardíaca a realizar un trabajo más eficiente (Berk 2007). El colágeno tipo I y tipo III son los más abundantes en el corazón en condiciones normales tiene una distribución de 85 y 10% respectivamente. El pro colágeno es sintetizado por los fibroblastos en estado normales y por miofibroblastos en estados patológicos (Gelse 2003, Fan 2012, Elher 2016).

La remodelación cardiaca afecta tanto a las células como a la matriz extracelular del corazón. El corazón contiene MMP que degradan la MEC como son las colagenasas, gelatinasas, y estromelisinas que están reguladas por factores de crecimiento, citoquinas y tensión mecánica (Fan 2012).

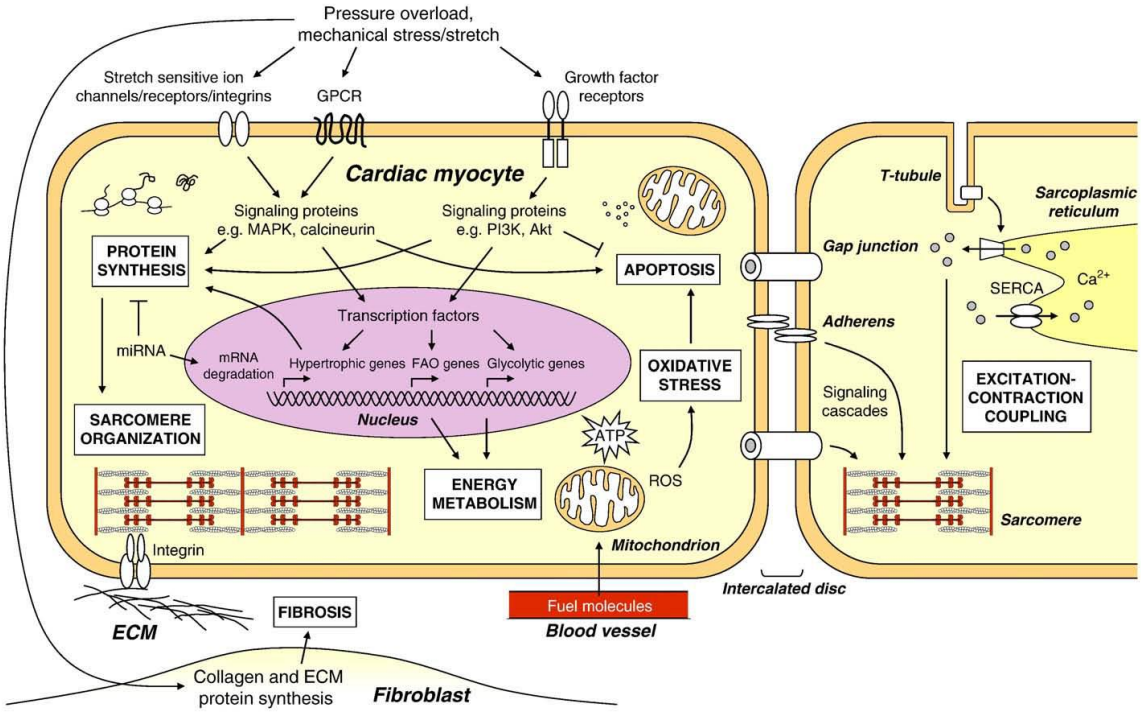


Figura 4. Procesos celulares implicados en el desarrollo de hipertrofia cardíaca. ECM: matriz extracelular, FAO: oxidación de ácidos grasos, GPCR: receptor acoplado a proteínas G, MAPK: proteína quinasa activada por mitógenos, PI3K: inositol fosfato 3-quinasa, ROS: especies reactivas de oxígeno, SERCA: retículo sarcoplásmico Ca^{2+} ATPasa.

3.6.1 HIPERTROFIA VENTRICULAR FISIOLOGICA

La hipertrofia cardiaca es un aumento en la masa cardíaca que se desarrolla en respuesta a un aumento de la carga, por lo cual las células musculares se hipertrofian aumentando su masa y tamaño (Bernardo 2010).

La HV fisiológica se caracteriza por el aumento de la masa del corazón con un aumento del volumen de la cámara, con la función normal o mejorada; habitualmente es reversible, después del cese del estímulo que la origina.

La HV fisiológica es la que se genera durante el desarrollo post natal por el embarazo o el ejercicio físico crónico. Durante el embarazo, el corazón desarrolla hipertrofia excéntrica reversible desarrollada por una sobrecarga de volumen cardiaco por el aumento de volumen sanguíneo que se presenta en este proceso aumentando la masa muscular. La hipertrofia cardiaca en el embarazo es reversible de 7-14 días después del parto en roedores y puede prolongarse hasta un año, pero

la evolución temporal de la regresión depende en gran estado de la lactancia y el número de embarazos. Se ha descrito la participación de VEGF en el desarrollo de la hipertrofia cardiaca (Chung 2014).

La hipertrofia cardiaca ocurre durante la gestación como una consecuencia de un incremento en el volumen sanguíneo circulante (aumento de precarga) que se asocia con los cambios hormonales producidos en el embarazo. Los cambios observados en el corazón durante la gestación son similares a los observados en sujetos que realizan ejercicio físico disciplinado. Las características más importantes en estas dos formas de hipertrofia cardiaca es 1) la función del corazón se preserva o esta incrementada y 2) los cambios estructurales son reversibles. Estos dos tipos de hipertrofia ventricular son considerados fisiológicos. La naturaleza del estímulo para la generación de la hipertrofia parece definir si se produce hipertrofia fisiológica y/o reversible o hipertrofia patológica o irreversible.[63]

El metabolismo energético en la hipertrofia fisiológica aumenta la oxidación de ácidos grasos. Las vías de señalización asociadas a la hipertrofia fisiológica son PI3K/Akt, IGF 1, ERK ½ y calcineurina (Bernardo 2010, Liu 2014, You 2018).

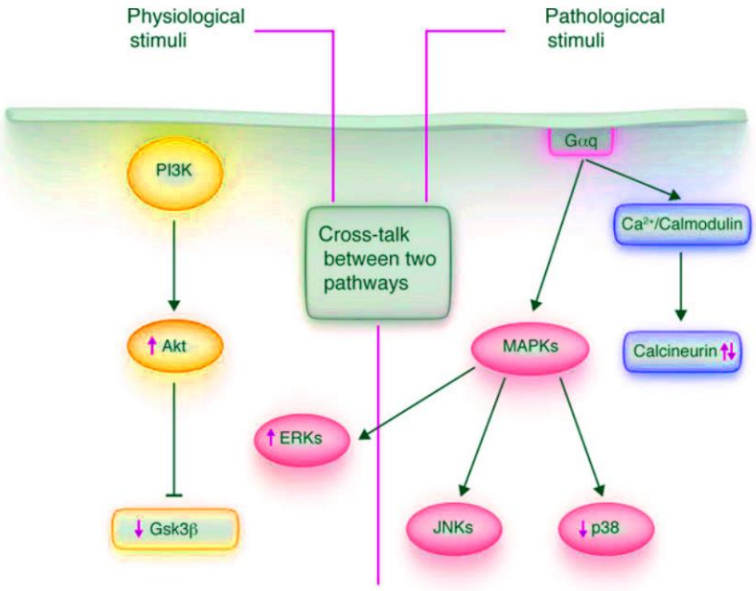


Figura 5. Vista esquemática simplificada de vías de señalización en el corazón. Las flechas rojas representan moléculas de señalización que se alteran durante el embarazo (Chung 2014).

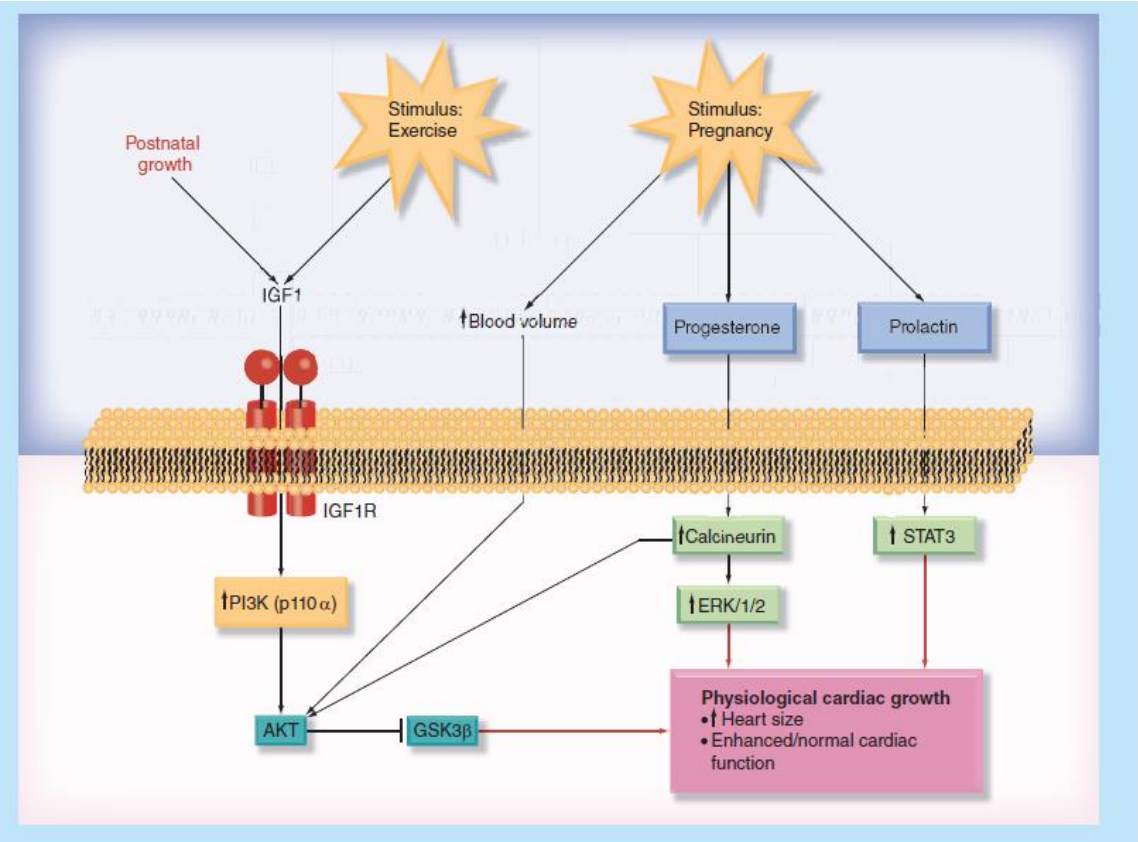


Figura 6. Vías de señalización involucradas en la mediación del crecimiento cardíaco fisiológico durante el desarrollo postnatal, el ejercicio y embarazo en roedores. El crecimiento cardíaco postnatal y la hipertrofia inducida por el ejercicio están mediados principalmente por el IGF1-PI3K (p110α) -Akt vía. GSK3β, un sustrato de Akt, es activo al inicio del estudio e inactivado por Akt tras la estimulación. El embarazo es acompañado por cambios hormonales dramáticos que incluyen mayores niveles de prolactina y progesterona circulantes. Durante temprano embarazo (día 7 en roedores), la progesterona activa la calcineurina. La inhibición de la calcineurina sugiere un papel para la calcineurina, ERK1 / 2 y Akt señalización durante el embarazo temprano. Aunque la calcineurina regresa a los niveles basales a mediados del embarazo y cae más tarde embarazo, la fosforilación de Akt es elevada en todo momento. El aumento en el volumen de sangre durante el embarazo también se considera que juega un papel en la activación de Akt. La fosforilación de GSK3β y ERK1 / 2 aumenta a mediados del embarazo pero no al final del embarazo. En respuesta a la prolactina, STAT3 se activa al final del embarazo (Ooi 2014).

3.6.2 HIPERTROFIA VENTRICULAR PATOLOGICA

La hipertrofia patológica se genera en respuesta a un estímulo nocivo como el incremento en la post carga y/o precarga y habitualmente es irreversible. Se asocia

con depósito de colágeno en la MEC (fibrosis), apoptosis y alteración en los genes responsables de mantener la función contráctil y del metabolismo de calcio en un estado normal, conllevando a una disfunción que puede progresar a insuficiencia cardíaca.

En la sobrecarga de presión se desarrolla hipertrofia concéntrica (aumenta el grosor de la pared, mientras la cámara permanece con el mismo volumen o éste disminuye (Bernardo 2010)). Al inicio es un proceso adaptativo pero evoluciona habitualmente a insuficiencia cardiaca (dilatación de las cavidades cardiacas con disminución de la generación del gasto cardiaco. Los cambios morfológicos corresponden a cambios en la masa: hipertrofia, hipotrofia, y atrofia; en el diámetro de la cavidad; cambios geométricos en el grosor y forma de la pared; así como fibrosis. Los cambios celulares incluyen hipertrofia, fibrosis, aumento del colágeno fibrilar, proliferación de fibroblastos, necrosis, apoptosis (Diez 2005, Berk 2007, Bernardo 2010, Chung 2014). Por lo cual la remodelación cardíaca está asociada con un aumento del contenido de colágeno del epimisio, perimisio y endomisio. Está acumulación anormal de colágeno tipo I y III aumenta la rigidez miocárdica, la disfunción diastólica, así como disminuye la contracción y altera la relajación. Los cambios en la masa ventricular, la composición y el volumen pueden afectar la función cardíaca (Kehat 2010). La sobrecarga de presión crónica favorece que los fibroblastos cardíacos sinteticen pro colágeno tipo I y el depósito de fibras de colágeno contribuye a una fibrosis del miocardio. La hipertensión arterial al aumentar la carga elonga la membrana celular induciendo la expresión de genes asociados a hipertrofia y la síntesis de proteínas de los cardiomiocitos y los fibroblastos (Cohn 2000, Azevedo 2016).

La disposición de los cardiomiocitos es esencial para el la función, pero también lo es para la mecanosensación y la señalización. Al tener esa capacidad para detectar los cambios mecánicos, de estiramiento y o deformación a su vez activan otros mecanismos que le permiten adaptarse a esos cambios, algunas de las proteínas que pueden estar censando estos cambios se encuentran localizadas en los discos Z (Sequeira 2014). Los estímulos mecánicos, factores de crecimiento y citoquinas

activan a los miofibroblastos, tales como la ANG II, ET-1 y TGF-β1 (Berk 2007, Kehat 2010, Fan 2012).

Esta activación contribuye a un estado fibrótico en el cual hay desequilibrio de las MMP y TIMPs, es decir hay una alteración tanto en la síntesis como en la degradación del colágeno, que conlleva a su acumulación, alterando la función sistólica y diastólica. La degradación de la MEC contribuye a la dilatación del ventrículo con una reducción de la fracción de eyección, además de impactar en las uniones celulares provocando que se alteren (Berk 2007, Kehat 2010, Fan 2012, Sequeira 2014).

El aumento del depósito de colágeno intersticial contribuye a un desacoplamiento eléctrico, que conlleva a alteraciones eléctricas como son la arritmogénesis, al alterarse la comunicación célula a célula. El aumento de fibrosis perivascular contribuye a reducir la densidad capilar y con ello disminuir el aporte de nutrientes y oxígeno al tejido cardíaco, que a su vez coadyuva para que se presente hipoxia en el tejido cardiaco. El desarrollo de fibrosis puede producir atrapamiento de los cardiomiocitos y con ello reducir el trabajo que éstos realizan produciendo atrofia. Los factores antes descritos participan en la muerte de los cardiomiocitos desencadenando una respuesta “reparadora” que aumenta la expresión de fibroblastos cardiacos (Diez 2005, Kehat 2010, weber 2013, Sequeira 2014).

Se ha observado que durante la hipertrofia patológica hay un cambio en el metabolismo cardíaco al aumentar el metabolismo de la glucosa y disminuir el de los ácidos grasos, con lo que se reduce la capacidad del corazón para generar ATP. La hipertrofia patológica se ha asociado con expresión de genes fetales como son el péptido natriurético auricular (ANP), el péptido natriurético tipo B (BNP), alteración en la cadena pesada de miosina α y β (Bernardo, Kehat 2010, Chung 2014, Azevedo 2016).

La sobrecarga de presión se asocia con un aumento de angiotensina II, endotelina I y catecolaminas, que contribuyen al aumento de la resistencia vascular. La angiotensina II también participa en la regulación de los depósitos de colágeno de la matriz extracelular. La expresión de elastina, fibrilina, fibronectina y proteoglicanos también se altera en la hipertensión arterial. La vía de las MAPKs y

la calcineurina, se ha asociado al desarrollo de hipertrofia así como la participación de proteínas G y aumento del calcio intracelular (Cohn 2000, Kehat 2010, Weber 2013, Azevedo 2016).

En la hipertrofia patológica hay una regulación positiva de la muerte celular por necrosis, apoptosis y autofagia, que puede estar desencadenados por estímulos intra y extra celulares, como los cambios en el metabolismo energético, hormonas, la acumulación de proteínas o la invasión de patógenos (Iorga 2016).

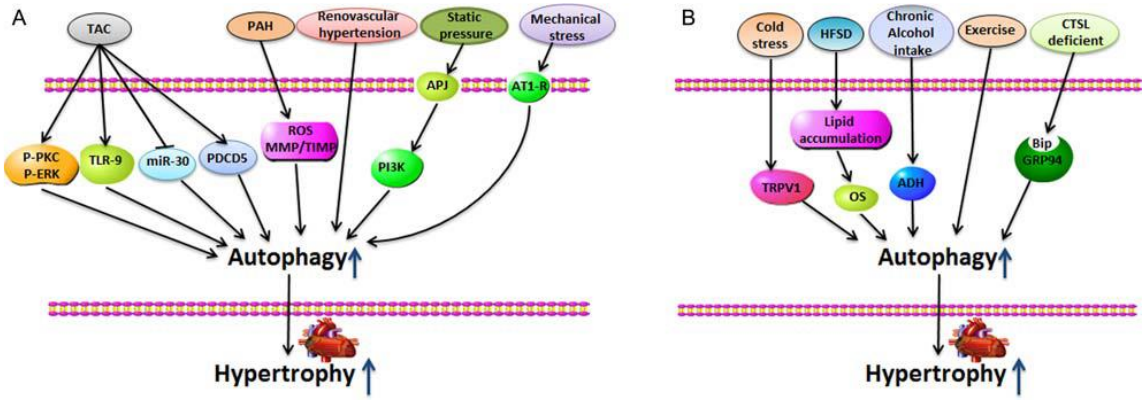


Figura 7. La autofagia inducida por estímulos promueve la hipertrofia cardíaca (A) Constricción aórtica transversal (TAC), hipertensión arterial pulmonar (HAP), renovascular La hipertensión, la presión estática y el estrés mecánico inducen una hipertrofia cardíaca marcada, acompañada de altos niveles de respuestas autofágicas en el corazón. (B) El estrés por frío, la dieta alta en grasas / sacarosa (HFSD), la ingesta crónica de alcohol, los ejercicios y la deficiencia de catepsina-L parecen desempeñar un papel en la regulación de la autofagia durante el desarrollo de hipertrofia cardíaca.

	Embarazo	**Ejercicio**	**Patológica**
Función cardíaca	Normal o deprimida a finales del embarazo	Normal o mejorada	Disminuida
Reversibilidad	Reversible	Reversible	Irreversible
Inducción del gen fetal	Relativamente normal	Relativamente normal	Normalmente regulado por arriba
Fibrosis	Ninguno	Ninguno	Aumentado
Densidad capilar / angiogénesis	Normal	Normal o aumentada	Disminuido

Ruta de señalización	PI3K/Akt, ERK1/2 y calcineurina	PI3K/Akt	Gαq (MAPKs y calcineurina)

Tabla 4. Criterios para diferenciar la hipertrofia fisiológica de la patológica (Chung 2014)

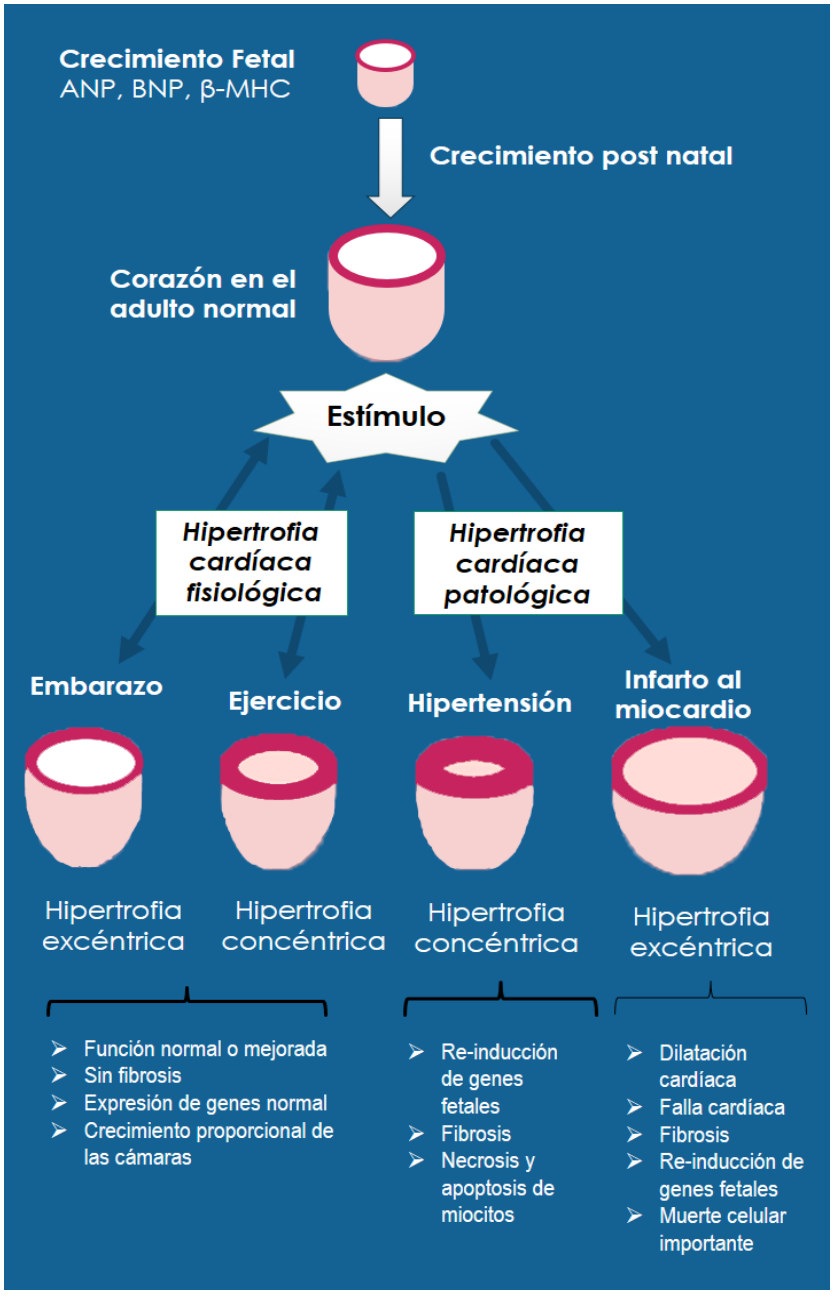


Figura 8. El crecimiento cardíaco fisiológico y patológico en el desarrollo post natal en respuesta a distintos estímulos. La hipertrofia cardíaca se clasifica como fisiológica, cuando ocurre durante el embarazo o en respuesta al entrenamiento de ejercicio crónico, es reversible y se caracteriza por una función y morfología cardíaca normal. Por el contrario, la hipertrofia que se produce en entornos de

enfermedad es perjudicial para la estructura y la función cardíaca, se asocia con fibrosis, muerte celular y disfunción. Modificado de Bernardo et al 2010, Ooi et al 2014

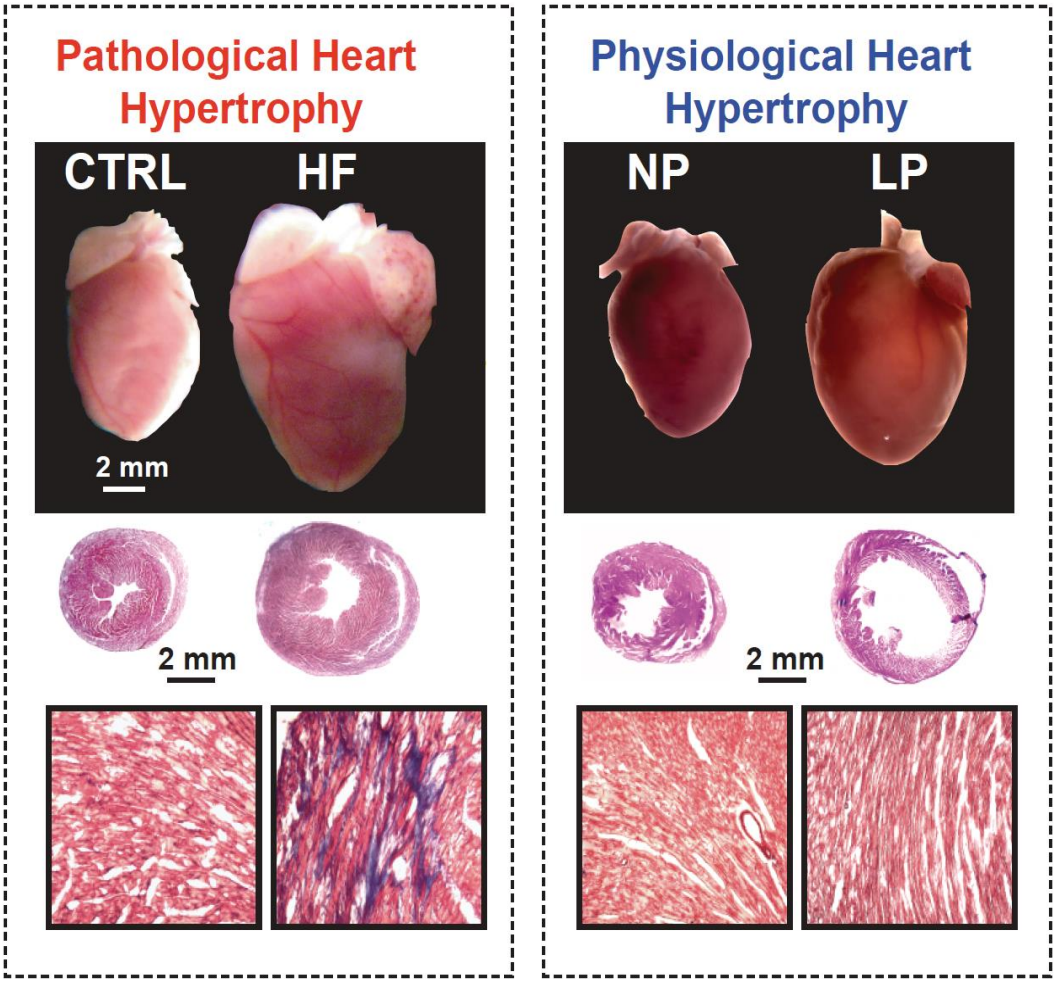


Figura 9. Hipertrofia Patológica vs hipertrofia fisiológica inducida por el embarazo. Paneles superiores: Imágenes de todo el corazón en hipertrofia patológica e hipertrofia fisiológica al final del embarazo en ratones; Paneles intermedios: tinción de hematoxilina-eosina de secciones transversales del corazón; Fondo paneles: tinción tricrómica de Masson, corazón secciones transversales, color azul indica fibrosis. CTRL: control; HF: insuficiencia cardíaca; NP: sin embarazo; LP: embarazo tardío (Li 2010).

Los cardiomiocitos poseen receptores para estrógenos, progesterona, oxitocina y testosterona, por lo cual se piensa que estas hormonas juegan un papel importante en la remodelación cardiaca. La aromatasa está ampliamente distribuida en corazón y vasos sanguíneos (Iorga 2016) La aromatasa convierte los precursores de estrógenos circulantes en sus formas activas.

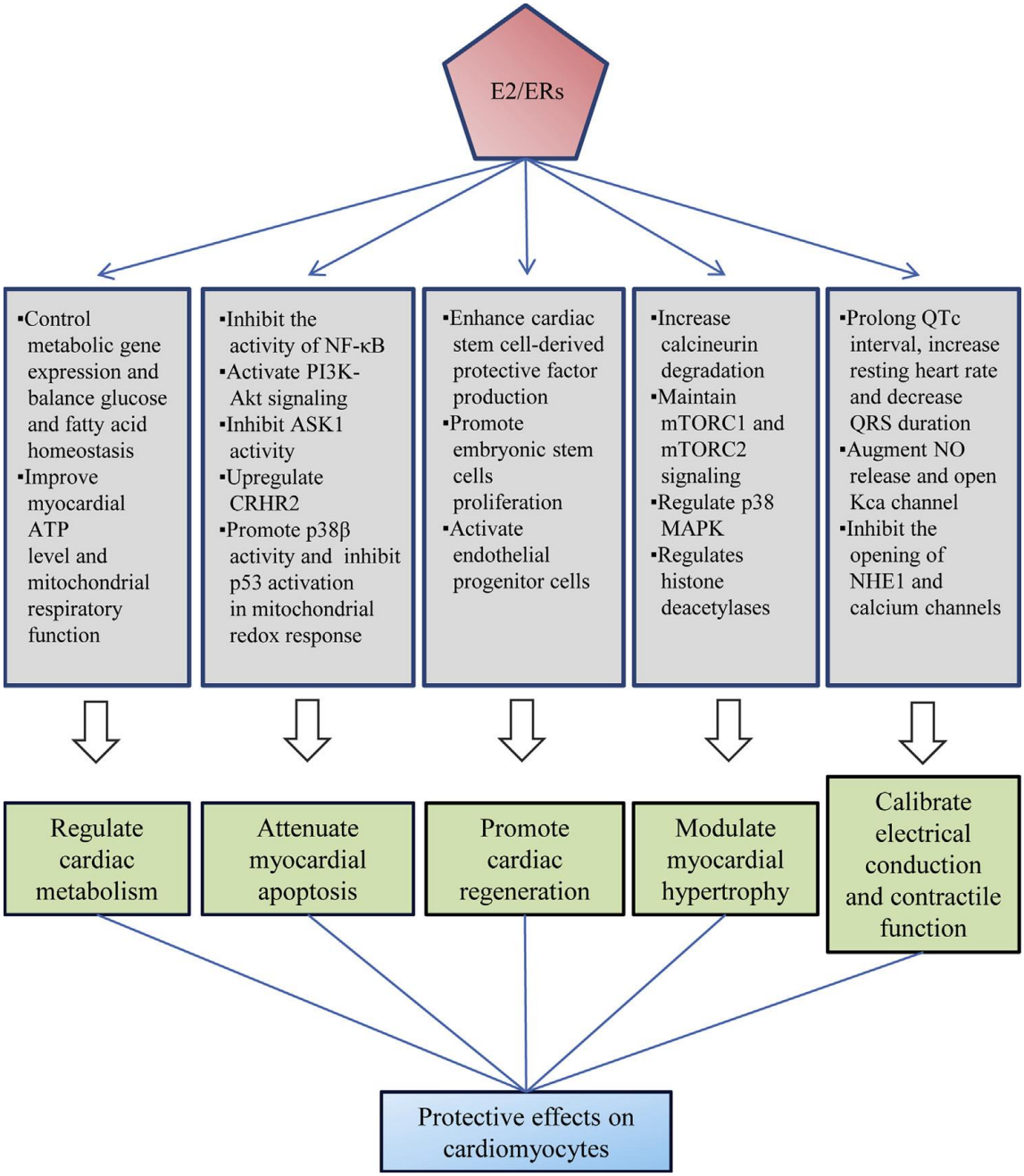


Figura 10 Resumen de los efectos clave del estrógeno (E2) y los receptores de estrógeno (ER) en los cardiomiocitos. ASK, apoptosis reguladora de la señal quinasa; ATP, trifosfato de adenosina; CRHR, receptor de hormona liberadora de corticotropina; Canales de Kca, canales de potasio activados por calcio; MAPK, proteína cinasa mitogenactivada; mTORC, objetivo de mamífero del complejo de rapamicina; NHE, intercambiador de protones de sodio; NO, óxido nítrico; PI3K, fosfoinositida 3-quinasa (Lou 2016).

Varios estudios han realizado tratamientos con hormonas en diferentes patologías cardíacas. Iorga en 2016 indujo insuficiencia cardiaca en ratones y observaron cambios en la densidad capilar, en la fibrosis y mejora de la fracción de eyección, además observó que los niveles de estrógenos son menores en los corazones con insuficiencia cardíaca. El tratamiento con estrógenos en ratas con insuficiencia cardíaca e infarto al miocardio ha mostrado una mejora en la regresión de la hipertrofia y de la función cardíaca (Iorga 2016). La relaxina también ha mostrado contribuir a modificar el depósito de fibras de colágeno al disminuir la activación y proliferación de fibroblastos, la síntesis de colágeno, aumentar la expresión de ANP, disminuir el estrés oxidativo, promover la angiogénesis (Teichman 2010, Samuel, Sarwan 2017).

Con el uso de bromocriptina, un inhibidor de la prolactina, se ha observado una regresión en la hipertrofia cardíaca y su uso para revertir la miocardiopatía post parto, al modificarse la longitud de los miocitos, sin embargo el mecanismo por el cual se da dicho efecto aún no está clarificado (Hilfiker 2012, Velez 2013).

El uso de estrategias que no sólo modifiquen la presión arterial sino además tengan un impacto en la fibrosis, parecen tener efectos positivos en la mejora de la función del corazón.

3.7 MODELOS EXPERIMENTALES DE HIPERTENSION ARTERIAL SISTEMICA Y EMBARAZO

La rata de la cepa con hipertensión espontanea es un modelo experimental que permite estudiar los efectos de la gestación y lactancia en la hipertrofia ventricular patológica. Adicionalmente existe evidencia de que las ratas hipertensas tienen un tiempo de gestación menor a aquellas sin hipertensión, el número de crías y peso también es menor con respecto al promedio de las crías de ratas sin hipertensión (Ouzonian 2012). Estudios previamente realizados en nuestro laboratorio han encontrado que la rata con hipertensión espontanea con gestación y lactancia reducen la presión arterial sistémica sistólica hasta en 50 mm Hg en el postparto inmediato y tardío (6 meses) (Cabrera 2017). Estos resultados sugieren efectos benéficos del embarazo y/o la gestación en la HAS previamente establecida. Será

muy importante definir el efecto de cada uno de estos procesos en los cambios del sistema cardiovascular de la rata SH.

4. DEFINICION DEL PROBLEMA

¿Cómo afecta el embarazo y la lactancia en la remodelación cardiaca en ratas hipertensas que previamente al embarazo ya tienen hipertrofia ventricular?

5. JUSTIFICACION

La hipertensión arterial crónica conduce al desarrollo de hipertrofia cardíaca patológica, la rata SH es un modelo experimental de hipertensión arterial crónica, existe poca información de lo que sucede con la hipertrofia cardiaca de esta cepa posterior al embarazo y la lactancia. Estudios previos en el laboratorio de Fisiología Cardiovascular han demostrado una disminución de la presión arterial hasta 6 meses posteriores al parto en las ratas SH con embarazo y lactancia (Cabrera 2017). En consecuencia de este efecto observado, la disminución de la presión arterial (disminución de poscarga) sugiere que pueden disminuir la remodelación ventricular en las ratas SH.

6. HIPOTESIS

Los cambios hormonales producidos durante el embarazo favorecen la regresión de la hipertrofia ventricular patológica en ratas con hipertensión arterial sistémica espontánea, que es de mayor impacto en ratas sin lactancia a corto (postparto inmediato) y a largo plazo (6 meses postparto) en comparación con ratas de la misma cepa con lactancia.

7. OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

Observar los efectos tempranos y tardíos del embarazo y la lactancia en la remodelación cardíaca en la rata espontáneamente hipertensa.

7.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

7.2.1 Realizar medición de los pesos de las ratas experimentales (grupo nulípara, grupo gestación y grupo gestación-lactancia) antes, durante y posteriormente al embarazo y la lactancia, hasta un tiempo de 6 meses después del parto en el protocolo de largo plazo y hasta antes del sacrificio (después del parto en el grupo sólo gestación y posterior al destete en el grupo gestación-lactancia) en el protocolo de corto plazo.

7.2.2 Medir la presión arterial sistémica y frecuencia cardíaca durante el embarazo y durante la lactancia en los animales de experimentación para observar cómo se comporta en ambos procesos fisiológicos.

7.2.3 Al finalizar cada protocolo experimental se sacrificará a los animales de experimentación y se cuantificará el peso del corazón y del ventrículo izquierdo.

7.2.4 Realizar tinciones con Hematoxilina y Eosina en los corazones de los animales de experimentación, para evaluar cambios en el tamaño de las células cardiacas (n=4 en cada grupo experimental).

7.2.5 Realizar tinción Tricrómica de Masson en los corazones de los animales de experimentación, para evaluar el desarrollo de fibrosis intersticial en el miocardio (n=4 en cada grupo experimental).

7.2.6 Cuantificación de colágena por métodos espectrofotométricos en homogenados del ventrículo izquierdo de los corazones de los animales de experimentación (n=4 en cada grupo experimental).

8. MATERIALES Y METODOS

8.1. Animales de experimentación

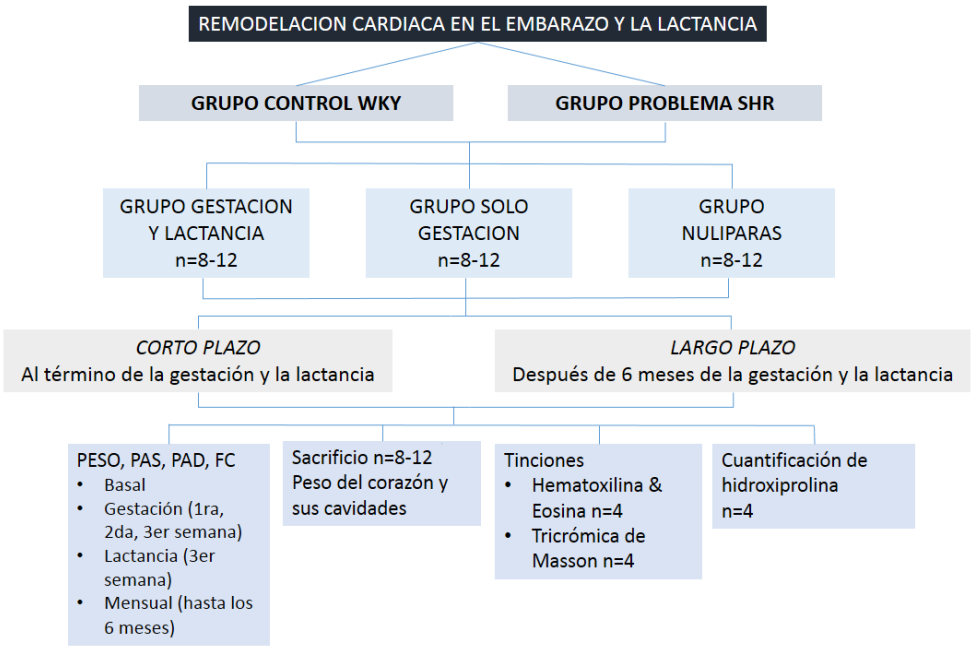
Se usaran ratas hembras de las cepas Wistar Kyoto (WK) y con hipertensión espontanea (SH) de 3 meses a 4 meses de edad. La cepa SH Spontaneusly Hypertensive Rat será el grupo problema y la cepa WK (Wistar Kyoto) el grupo control. Las ratas se obtendrán del Bioterio Claude Bernard de la BUAP y se realizaron los cuidados de acuerdo con la norma NOM-062-ZOO-1999. Los animales de experimentación se clasificaran en dos protocolos experimentales, Protocolo a CORTO Y Protocolo a LARGO PLAZO. Dentro de estos habrá 3 grupos

experimentales por cada cepa 1er Grupo **nulípara** (sin gestación), 2do Grupo **Sólo Gestación**, solo con gestación y sin lactancia; y 3er Grupo con **Gestación y Lactancia**. Los animales de experimentación a corto plazo se sacrificaran inmediatamente después de la gestación y la lactancia respectivamente. Los animales de experimentación a largo plazo se sacrificaran después de un periodo de seguimiento de 6 meses después de la gestación y la lactancia respectivamente. En cada grupo experimental se incluirá una n de 8 a 12 animales.

Grupo control	***Grupo Problema***
PROTOCOLO A CORTO PLAZO	
Ratas WK	**Ratas SH**
Nulípara	Nulípara
Sólo Gestación	Sólo Gestación
Gestación + Lactancia	Gestación + Lactancia
PROTOCOLO A LARGO PLAZO	
Ratas WK	**Ratas SH**
Nulípara	Nulípara
Sólo Gestación	Sólo Gestación
Gestación + Lactancia	Gestación + Lactancia

Tabla 5. Clasificación de los grupos de estudio

8.2 Diagrama de trabajo



8.3 Determinación de peso corporal y del corazón y del ventrículo izquierdo.
A todos los animales de experimentación se les determinará el peso corporal en gramos, cada semana durante todo el seguimiento**.** Después del sacrificio, el corazón será extraído y lavado con solución fisiológica y se determinará el peso integral y del ventrículo izquierdo.

8.4 Determinación de parámetros cardiovasculares por métodos no invasivos.
A todos los animales de experimentación se les realizará determinación de la presión arterial sistémica sistólica y diastólica (PAS, PAD), así como la frecuencia cardiaca (FC) por método no invasivo en condiciones basales (antes de la gestación), durante la gestación (cada semana), durante la lactancia (cada semana) y antes del sacrificio. En el caso del protocolo crónico se continuará el registro de la presión arterial cada mes hasta antes de su sacrificio. En las ratas SH el criterio de inclusión es valores de PA de mayores a 160/110 mm Hg (que sean hipertensas) mientras que el WK se buscará que la medición sea menor a 160/100 mm Hg.

8.4.1 Método de registro de la presión arterial. Se hará por método plestimográfico mediante el sistema CODA de Kent Scientific.

Figura 11. Sistema de medición de presión no invasivo CODA, Kent Scientific

Procedimiento:

a. Se deja a las ratas en un ambiente tranquilo, para que se relajen y disminuya el estrés.
b. Es necesario una temperatura ambiente de alrededor de 22° a 26° C para que se facilite la medición y se observe el pulso.
c. Se enciende la computadora y el equipo para la toma de presión el sistema CODA de Kent Scientific.
d. Se abre el programa del sistema CODA.
e. Se realiza la calibración del equipo y se verifica que el manguito oclusor y el VPR se encuentren en condiciones adecuadas.
f. Se toma la rata y se introduce en el cilindro de acrílico, se coloca la tapa y se fija, se recorre el cono hasta que llegue a la cabeza de la rata y está se encuentre cómoda.
g. Se procede a introducir la cola en el manguito oclusor y se deja hasta la base de la cola, posteriormente se pone el VPR en la cola. Procurando que la rata no se sienta agredida.
h. Se realizarán 9 registros por sesión, de los cuales 3 serán de aclimatación y 6 se tomarán como ciclos regulares los cuales usarán para promediar.
i. Se procede a comenzar. El equipo insuflará el manguito oclusor y el VPR y realizará la medición. El manguito oclusor ejerce una presión de 240 mm Hg, lo cual interrumpe la circulación sanguínea de la cola, ocasionando la desaparición del pulso, mismo que se restablece al desinflarse paulatinamente el mango oclusor, en el momento que aparece el pulso arterial se obtiene la curva de presión. En la pantalla se graficará dos curvas una en color rojo que corresponde al manguito oclusor y otro en azul al VPR. Al terminar de “desinflarse” ambos mangos, se hace una pausa y se iniciara otro ciclo, y así hasta completar los nueve ciclos.
j. Al final se hará un promedio de los valores registrados.

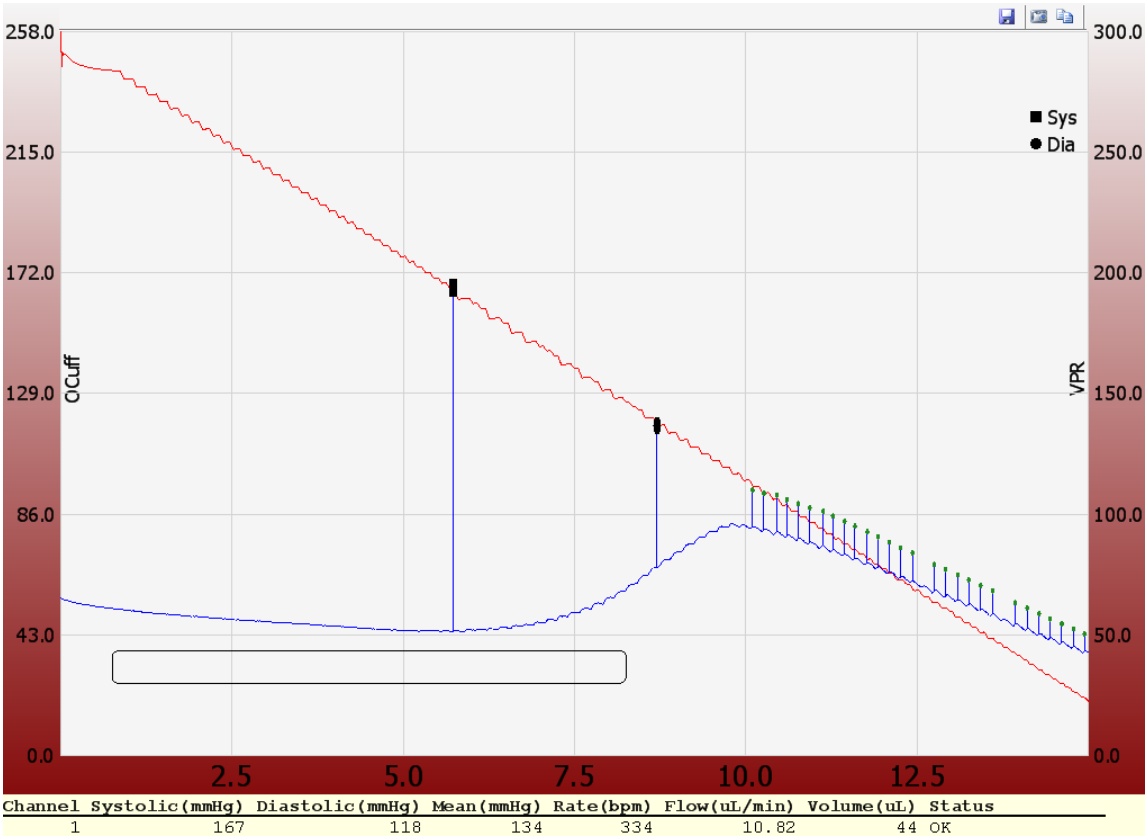


Figura 12. Ejemplo del gráfico obtenido durante la medición de la presión arterial con el sistema CODA de Kent Scientific

8.5 Métodos histológicos

8.5.1 TINCION DE HEMATOXILINA-EOSINA.

Se realizará en cuatro corazones íntegros de cada grupo experimental.

Una vez extraído el corazón se congelará y se realizarán cortes de 10 micras en un criostato. La técnica de H&E sirve para observar de forma general la morfología de las células y determinar alteraciones de acuerdo a las características ácido-base de las características ácido-base de la célula.

a. Sumergir las laminillas en para formaldehído durante 2 horas
b. Colocar en solución de hematoxilina de Harris durante 30 segundos
c. Lavar con agua corriente aproximadamente 2 minutos (hasta observar un color azul-morado)
d. Colocar en solución de eosina por 3 segundos (contar uno, dos, tres)

e. Lavar con agua corriente durante 1 minuto.
f. Las muestras se deshidrataran en alcoholes graduales
g. Alcohol al 50% por 1 minuto
h. Alcohol al 70% por 1 minuto
i. Alcohol al 95% por 1 minuto
j. Alcohol al 100% por 10 minutos
k. Posteriormente se someterá a un proceso de aclaramiento con xilol durante 15 minutos.
l. Realizar el montaje con resina líquida.

Resultados: La hematoxilina al ser básica tiñe ácidos, de color morado (núcleos con DNA y RNA), mientras que la eosina es un ácido y tiñe bases, de color rosado (citoplasma).

La tinción de hematoxilina y eosina fue empleada para medir el eje transversal y longitudinal de los miocitos de la pared libre de la parte media del ventrículo izquierdo, se empleó un microscopio óptico Leica con cámara lucida a una ampliación de 40x para dibujar la circunferencia de los miocitos, se seleccionaron aquellos miocitos donde se observaba el núcleo. Posteriormente se midieron los ejes y se obtuvo el promedio ±EE.

8.5.2 TINCION TRICROMICA DE MASSON. Se realizará en cuatro corazones íntegros de cada grupo experimental. Esta técnica usa un colorante básico (hematoxilina Férrica de Weigert) para diferenciar a los núcleos, después se emplea un colorante ácido para el citoplasma, el músculo y la colágena. La solución de ácido fosfotungstico-fosfomolibdico provoca que las fibras de colágena se decoloren y los grupos ácidos de éstos ácido actúan como un sistema de unión que favorece la unión con el azul de anilina con las fibras de colágena.
Una vez extraído el corazón se congelará y se realizarán cortes de 15 micras en un criostato.
Se usará el kit de tinción de Sigma Aldrich

a. Colocar las laminillas en paraformaldehído durante 24 horas
b. Lavar con agua destilada para remover el exceso de paraformaldehído
c. Colocar en la solución de hematoxilina férrica de Weigert durante 5 minutos.
d. Lavar en agua corriente del grifo durante 5 minutos.
e. Enjuagar en agua desionizada.
f. Sumergir en tinción Solución Fuchsin Ácido Escarlata durante 5 minutos.
g. Enjuagar en agua desionizada.
h. Colocar los portaobjetos en una solución activa de ácido fosfotúngico / fosfomolíbdico durante 5 minutos.
i. Colocar los portaobjetos en solución de azul de anilina durante 5 minutos.
j. Colocar los portaobjetos en ácido acético, 1%, durante 2 minutos. Deseche la solución.
k. Enjuagar los portaobjetos.
l. Deshidratar en dos cambios de alcohol al 50%, 70%, 95% y 100% por 1 minuto cada uno.
m. Aclarar en Xilol durante 15 minutos
n. Montar con resina

Resultados

Núcleos: café

Citoplasma, keratina y fibras musculares: rojo

Fibras colágenas: azul o verde

8.6 Métodos espectrofotometricos

8.6.1 CUANTIFICACION DE COLAGENO. Se realizará en cuatro corazones íntegros de cada grupo experimental. Realizaremos la cuantificación de colágeno a través de la medición de los niveles de hidroxiprolina mediante la reacción de hidroxiprolina oxidada con 4 -(dimetilanimo) benzaldehído (DMAB), que da como

resultado un producto colorimétrico (560 nm), proporcional a la hidroxiprolina presente.

Procedimiento:

Todos los ensayos se realizan por duplicado

a. Diluir 10 µl de la solución estándar de hidroxiprolina 1mg/ml con 90 µl de agua ultra pura para preparar una solución de 0.1 mg/ml de solución estándar. Agregar 0, 2, 4, 6, 8 y 10 µl de solución estándar de hidroxiprolina 0.1 mg/ml en una placa de 96 pozos generando los estándares 0(blanco), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 µg por pozo.
b. Transferir 100 µl de muestra a un vial a prueba de presión con tapa forrada de PTFE. Añadir 100 µl de ácido clorhídrico concentrado (HCl, 12 M), tapar herméticamente e hidrolizar a 120 °C durante 3 horas.
c. Agregar 5 mg de carbón activado, mezclar y centrifugar a 13,000 g por 2 minutos.
d. Transferir 10-50 µl del sobrenadante a una placa de 96 pozos.
e. Homogeneizar 10 mg de tejido en 100 µl de agua y transfiera a un vial hermético a prueba de presión con revestimiento de PTFE.
f. Añadir 100 µl de ácido clorhídrico concentrado (HCl, 12 M), tapar herméticamente e hidrolizar a 120 °C por 3 horas.
g. Transferir 10-50 µl de sobrenadante a una placa de 96 pozos.
h. Colocar las placas en un horno a 60 °C para secar las muestras.

Preparación de los reactivos de ensayo.

Los siguientes 2 ensayos de los reactivos son estables durante 2-3 horas después de la preparación, y deben prepararse después de la preparación de la muestra, justo antes de comenzar el ensayo. Preparar el reactivo como sea necesario para las muestras y estándares a ser analizados.

Mezcla del buffer Cloramida T / tampón de oxidación

Agregar 6 µl de Cloramida T concentrada a 94 µl de tampón de oxidación y mezclar bien.

Reactivo DMAB diluido

a. A cada pozo, agregar 50 µl de DMAB concentrado a 50 µl de solución de ácido perclórico / isopropanol y mezclar bien.
b. Agregar 100 µl de tampón de Cloramina T / tampón de oxidación. Mezclar cada muestra y pozo estándar. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.
c. Agregue 100 µl del reactivo DAB diluido a cada muestra y pozo estándar, e incubar por 90 minutos a 60 °C.
i. Medir la absorbancia a 560 nm (A_{560})

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como el promedio ± el error estándar del promedio. Las comparaciones entre grupos se realizón+ mediante el análisis de la varianza conjunta ANOVA de una vía y post hoc, entre el grupo problema y el control. Se tomó una $p<0.05$ como significativa.

Se realizó un análisis cualitativo y cuantitativo, de acuerdo a la metodología utilizada.

El análisis de datos fue hecho con el programa GradhPad Prism 5.

10. RESULTADOS

10.1 Peso Corporal

De acuerdo con el objetivo 1 se obtuvo el peso corporal de los animales de experimentación en los 2 protocolos experimentales de corto y largo plazo. Se observaron diferencias entre las cepas y entre los grupos, diferencia que se mantiene a lo largo del tiempo en ambos protocolos experimentales.

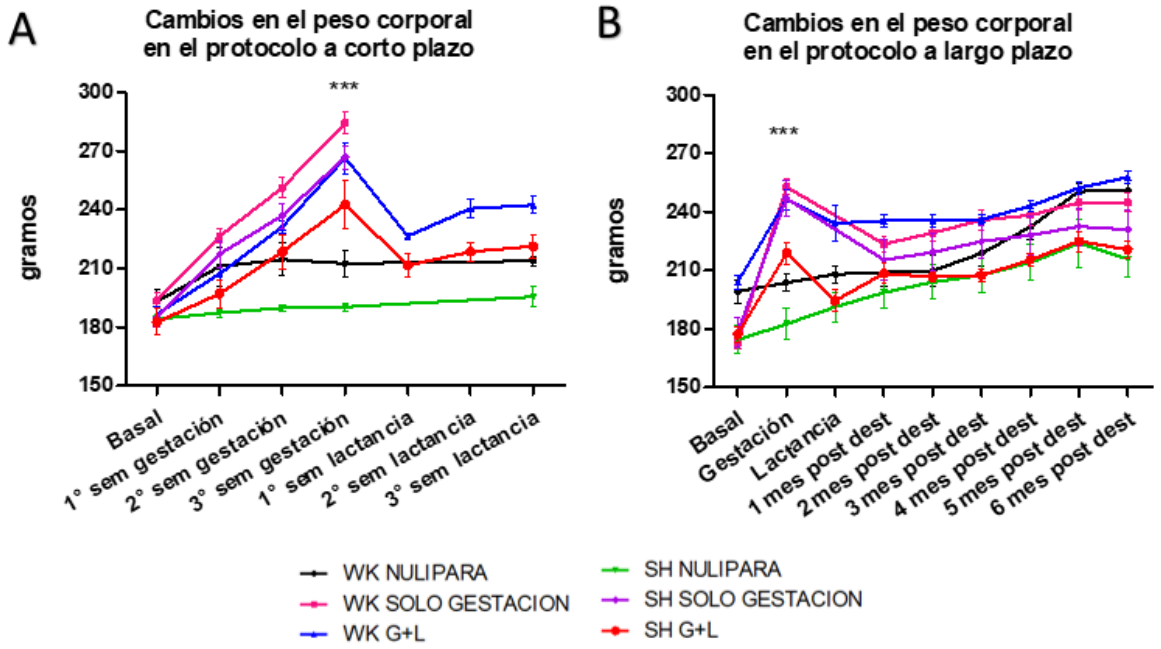


Figura 13. Cambios en el peso corporal con respecto al tiempo en las ratas en el protocolo de A) corto plazo, se observa el aumento del mismo durante la gestación y el decremento después del parto respectivamente con respecto al basal ***p= <0.001 vs Control y B) largo plazo, se observa el aumento del peso corporal después del primer mes post destete, en los grupos de sólo gestación y G+L. Se expresan los valores PROM± EEM ***p<0.05 Gestación y G+L vs basal. Se realizó una ANOVA de una vía más prueba de Newman-Keuls, significancia estadística entre grupos, p<0.05.

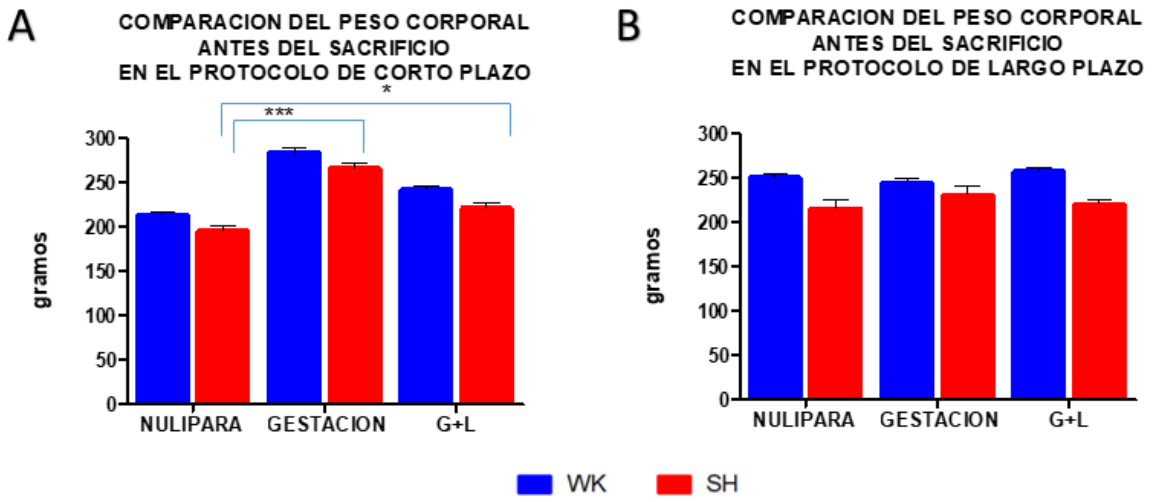


Figura 14.Comparación del peso corporal entre cepas antes del sacrificio en el protocolo de: A) corto plazo, se observa que el peso corporal es menor en las ratas de la cepa SH con respecto a la WK, además que es mayor en los grupos de Sólo gestación con respecto al control *p<0.05 SH nulípara vs SH-G+L, ***p<0.001 SH nulípara vs SH-G. B) largo plazo,

se observa que el peso corporal es menor en las ratas de la cepa SH con respecto a la WK y el peso no presenta diferencias significativas entre los grupos de la misma cepa. Se expresan los valores PROM± EEM *p= <0.05 vs Control. Se realizó una ANOVA de una vía más prueba de Newman-Keuls, significancia estadística entre grupos, p<0.05.

10.2 Presión arterial sistólica

Se realizó la determinación de la presión arterial sistólica mediante método plestimográfico, de forma basal se observan las diferencias entre las cepas WK normotensa y SH hipertensa, dicha diferencia se modifica con el embarazo y la lactancia en las ratas SH y se mantiene en el largo plazo.

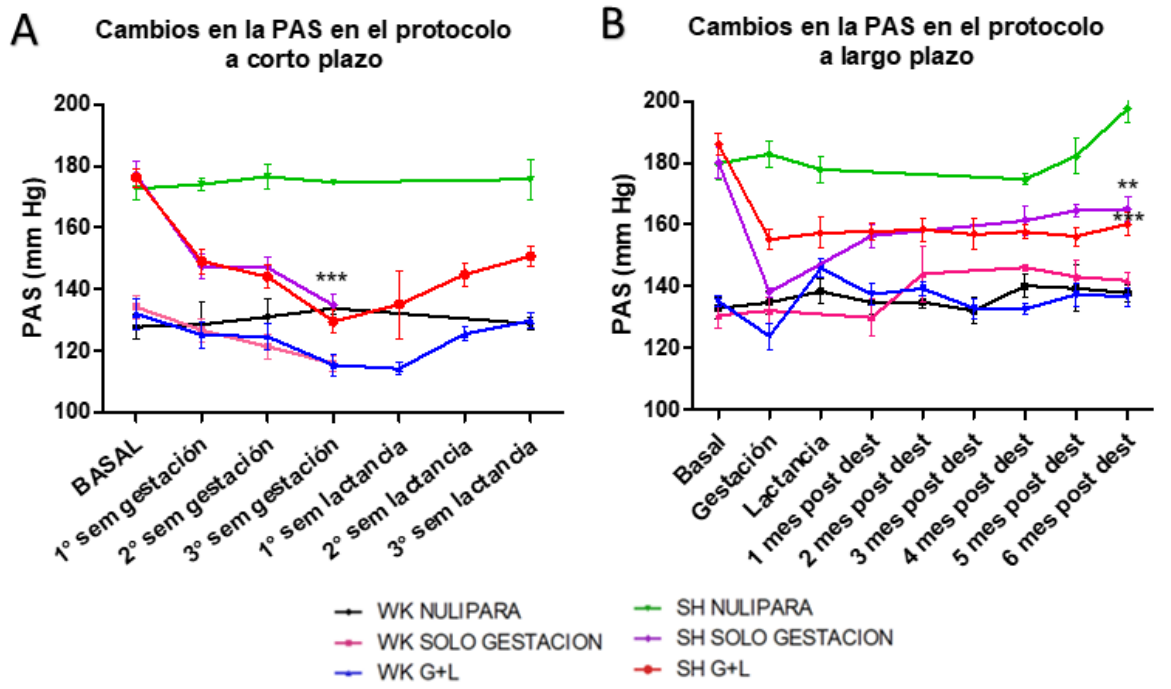


Figura 15. Cambios en la PAS con respecto al tiempo, en el protocolo de: A) corto plazo, obsérvese la disminución de la PAS durante el periodo de gestación, que posterior al parto aumenta nuevamente con tendencia al valor basal en los grupos de G+L. ***p<0.001 SH-GL y SH-G contra SH-N. B) largo plazo, obsérvese el aumento de la PAS posterior al parto, en los grupos de Sólo Gestación este cambio es más rápido que en los grupos de G+L, además de que el valor es menor a 160 mm Hg los 6 meses en el grupo SH-G+L. Se expresan los valores promedio ± ES. **p<0.01, SH-G contra SH-N, ***p<0.001 SH-GL contra SH-N.

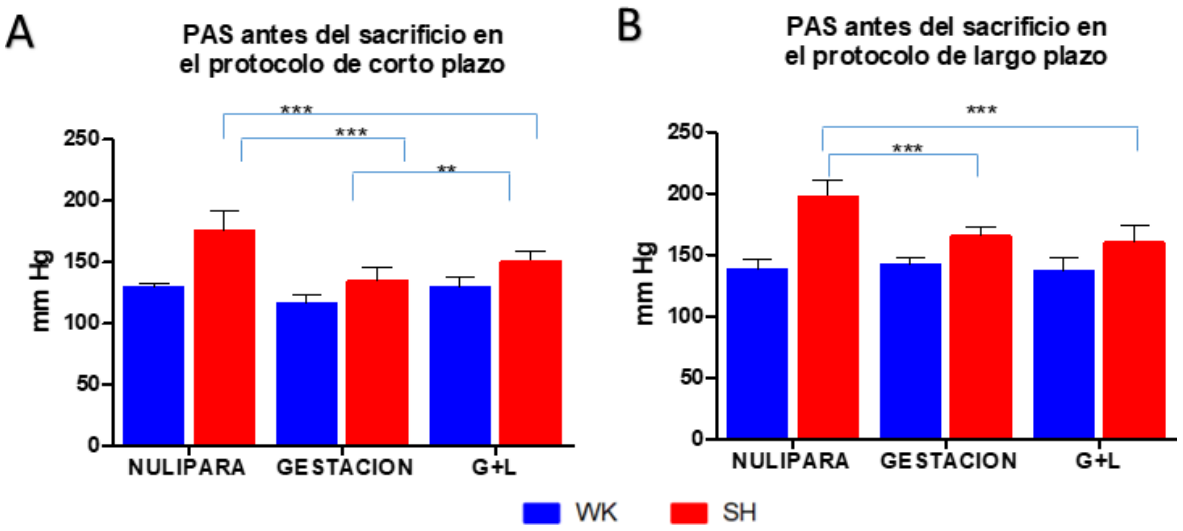


Figura 16. Comparación del promedio ± ES de la PAS antes del sacrificio en el protocolo de: A) corto plazo. Obsérvese la diferencia entre cepas pero también se encontró diferencia significativa entre el grupo SH-Sólo Gestación y el grupo SH- G+L con respecto al grupo SH nulípara. Se expresan los valores. **p<0.01, SH-G contra SH-N, ***p<0.001 SH-GL contra SH-N. B) largo plazo, obsérvese la diferencia entre cepas pero también se encontró diferencia significativa entre el grupo SH-Sólo Gestación y el grupo SH- G+L con respecto al grupo SH nulípara. ***p<0.001, SH-G contra SH-N, ***p<0.001 SH-GL contra SH-N.

10.3 Presión arterial diastólica

Se realizó mediante método plestimográfico, se observa el mismo comportamiento observado en la PAS en ambos protocolos y cepas.

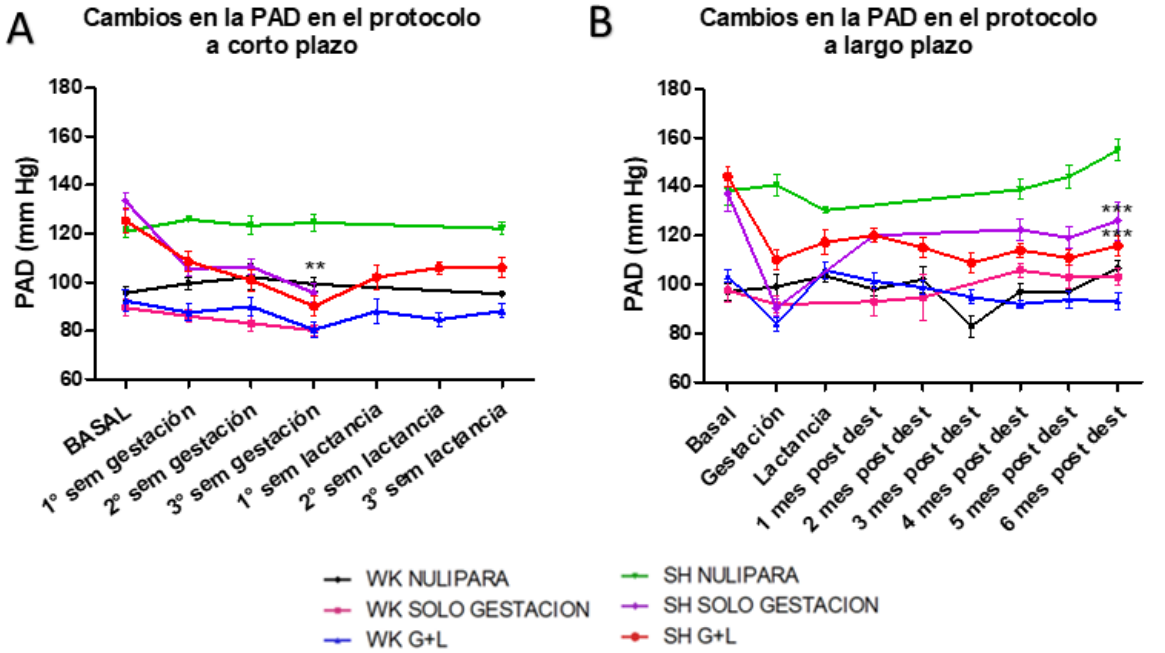


Figura 17. Cambios en la PAD con respecto al tiempo en el protocolo de: A) corto plazo, la PAD en las ratas de los grupos gestación y gestación-lactancia presentó una disminución con respecto al basal, llegando al valor más bajo en la 3er semana de gestación en ambas cepas, en las ratas SH-G y SH-G+L la disminución fue mayor con respecto a los mismos grupos en la cepa WK. **p<0.0068. B) largo plazo, se observa la tendencia al valor basal después del parto de los grupos gestación y gestación-lactancia, siendo más representativa en la cepa WK. En las ratas SH-G y SH-G+L a los 6 meses aún es menor con respecto al nulípara hasta en 40 mm Hg. Se expresan los valores como el PROM± EEM **p<0.0068. Se realizó una ANOVA de una vía más prueba de Newman-Keuls, significancia estadística entre grupos ambos grupos, p<0.001.

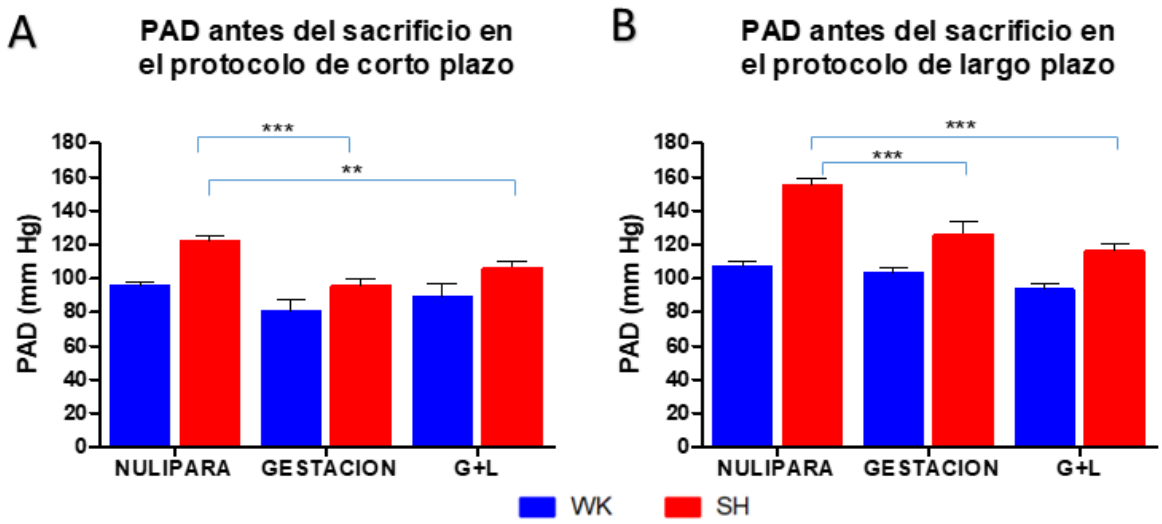


Figura 18. Comparación de la PAD antes del sacrificio en el protocolo de: A) corto plazo, obsérvese la diferencia entre cepas pero también se encontró diferencia significativa entre el grupo SH-Sólo Gestación y el grupo SH-G+L con respecto al grupo SH nulípara ***p<0.01, SH-G contra SH-N, **p<0.001 SH-GL contra SH-N. B) largo plazo, también se observa la diferencia entre cepas pero además se encontró diferencia significativa entre el grupo SH-Sólo Gestación y el grupo SH-G+L con respecto al grupo SH nulípara. Se expresan los valores promedio ± ES. ***p<0.001, SH-G contra SH-N, ***p<0.001 SH-GL contra SH-N.

10.4 Frecuencia cardíaca

La frecuencia cardíaca se determinó a partir del intervalo R-R en un ECG de tres derivaciones en D1, en rata consciente, aunque no se encontró diferencias significativas, se observa una menor frecuencia cardíaca en los grupos de sólo gestación y G+L, en el protocolo de largo plazo.

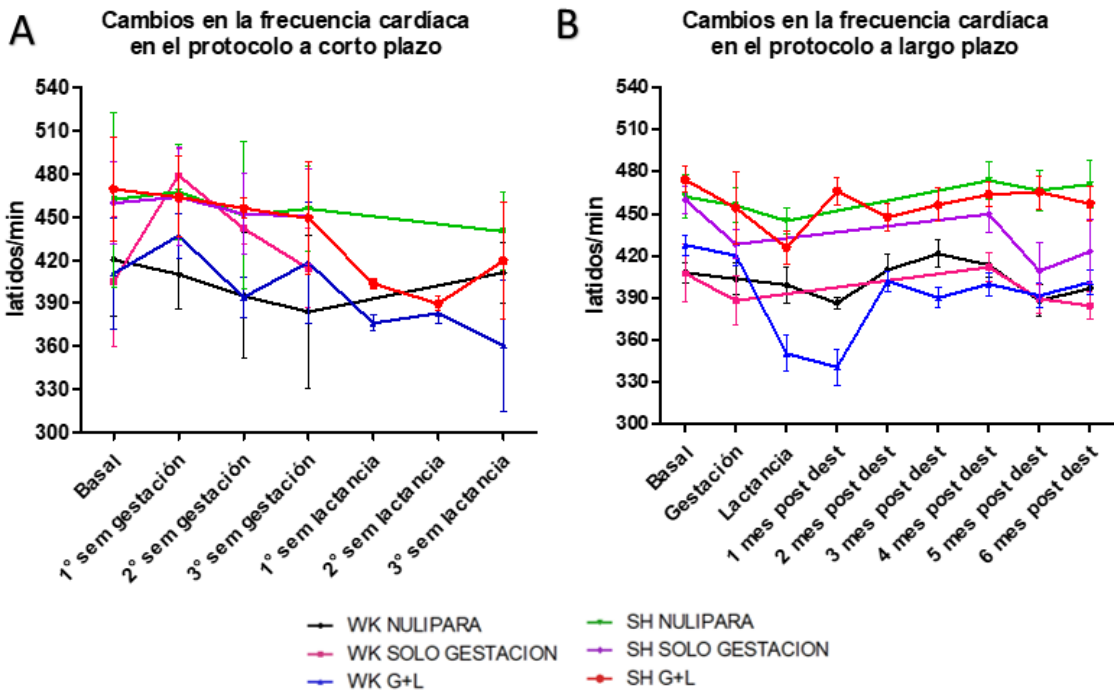


Figura 19. Cambios en la frecuencia cardíaca con respecto al tiempo en el protocolo de: A) corto plazo, se observa una tendencia a disminuir durante la lactancia, sin embargo no fue un cambio significativo. B) largo plazo, la FC en ambas cepas presentó una disminución del basal alcanzando su valor mínimo en la lactancia en el grupo gestación-lactancia, en las ratas SH la disminución fue mayor. Se expresan los valores ± EEM *<p0.05. Se realizó una ANOVA de una vía más prueba de Newman-Keuls, significancia estadística entre grupos, p<0.05

10.5 Peso corazón

Se obtuvo el peso del corazón después de ser extraído y lavado en solución fisiológica, los valores obtenidos fueron mayores en el grupo G+L en el protocolo de corto plazo.

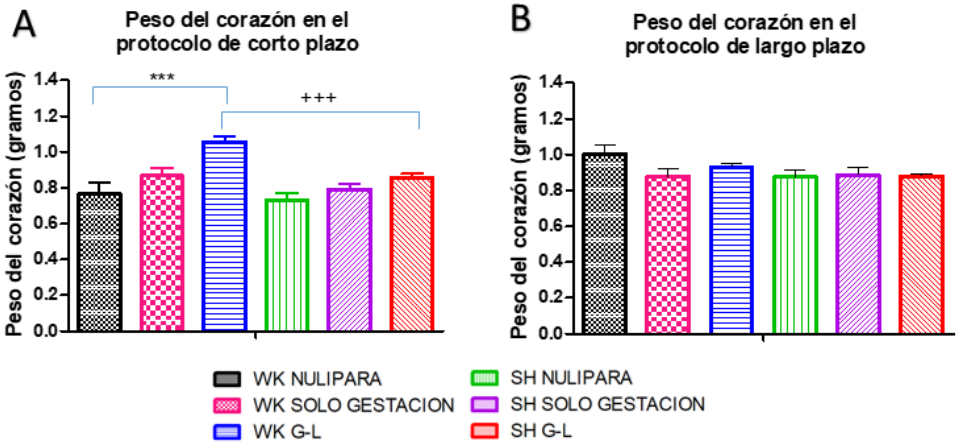


Figura 20. Peso del corazón por grupos en el protocolo: A) a corto plazo; se observa diferencia significativa entre el grupo SH-G+L y WK G+L +++p<0.005, y el grupo WK G+L con respecto a su control, además de la misma tendencia en ambas cepas. B) a largo plazo, no se observan diferencias significativas entre los grupos. Se muestran los valores como el promedio ± EEM *<p0.05

10.6 Índice peso corazón / peso corporal

La relación peso del corazón-peso corporal nos da un valor más real del tamaño del corazón de acuerdo al peso corporal de la rata. Tiene utilidad para determinar hipertrofia cardíaca.

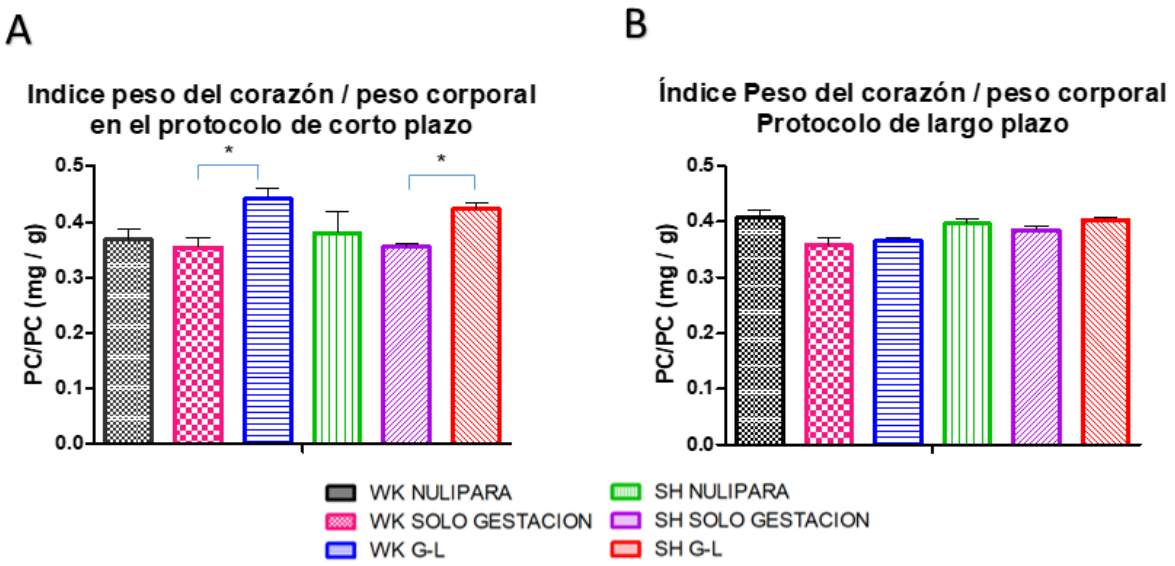


Figura 21. Relación peso corporal-peso del corazón, en el protocolo A) a corto plazo; se observa una diferencia significativa entre los grupos gestación-lactancia con respecto al grupo gestación de la misma cepa. *p<0.05, obsérvese también que el valor es menor en los grupos sólo gestación con respecto al su control nulípara. B) a largo plazo; no se observa una diferencia significativa entre los grupos. Se realizó prueba ANOVA de una vía más prueba de Newman-Keuls.

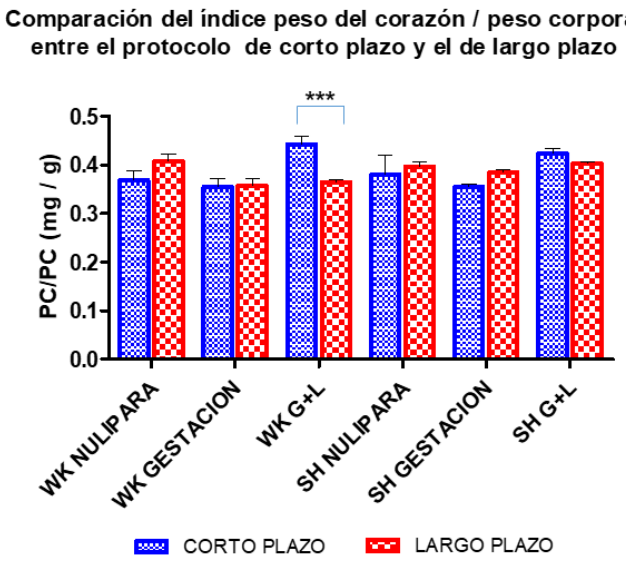


Figura 22. Comparación del índice peso corporal-peso del corazón, entre el protocolo a corto plazo contra el protocolo de largo plazo; se observa una diferencia significativa en el grupo WK G+L, ***p<0.001 donde disminuyó en el protocolo de largo plazo con respecto al de corto plazo, en el grupo SH G+L de largo plazo también se observa esta tendencia aunque no fue significativa. Obsérvese también que el grupo WK Sólo Gestación, ésta relación prácticamente no se modifica. Se realizó prueba ANOVA de dos vías más prueba de Bonferroni.

10.7 Peso del ventrículo izquierdo

Los corazones fueron disecados en aurícula derecha, aurícula izquierda, ventrículo derecho y ventrículo izquierdo. Mostramos el peso del ventrículo izquierdo para determinar los cambios producidos por efecto de la disminución de la postcarga.

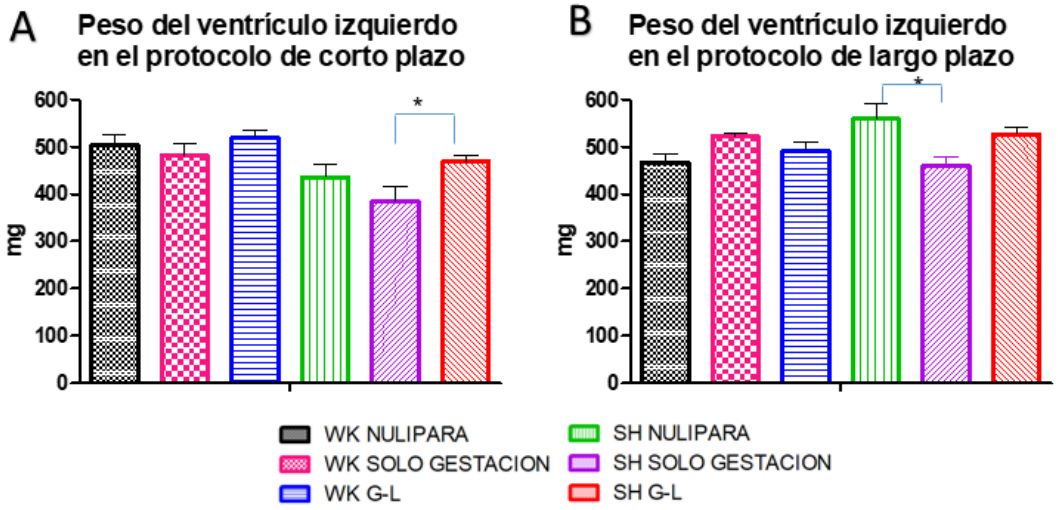


Figura 23. Peso del ventrículo izquierdo en el protocolo A) corto plazo; sólo se observa diferencia significativa entre los grupos SH-G vs SH-G+L, en la cepa SH se mantiene una relación por grupos como en el índice peso del corazón/peso corporal. B) largo plazo; se observa la mayor diferencia significativa entre el grupo SH-G vs el SH-Nulípara. Se realizó prueba ANOVA de una vía y prueba de Newman-Keuls.

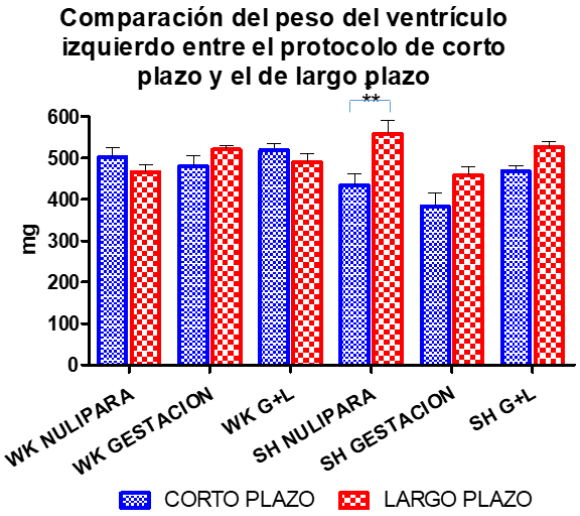


Figura 24. Comparación del peso del ventrículo izquierdo entre el protocolo a corto plazo y el de largo plazo; se observa una diferencia significativa en el grupo SH Nulípara, donde aumentó el peso del VI en el protocolo de largo plazo con respecto al de corto plazo. Se realizó prueba ANOVA de dos vías más prueba de Bonferroni.

Parámetro	**WK-N**	**SH-N**	**WK-G**	**SH-G**	**WK-G+L**	**SH-G+L**
Peso corporal (gramos)	213.8±2.53	195.5±5.11	284.3±5.76	266.8±5.98	242.4±4.24	221.3±6.08
PAS (mmHg)	128.8±1.93	175.7±6.47	115.9±2.64	134.8±3.80	129.8±2.45	150.7±3.18
PAD (mmHg)	95.25±1.11	122.2±2.71	80.22±2.22	95.63±4.03	88.56±2.75	106±4.06
FC (lat/min)	411.3±10.59	439.8±9.60	414.1±9.21	450.5±11.77	360.2±15.19	419.5±14.53
Peso corazón (gramos)	0.765±0.06	0.730±0.04	0.867±0.04	0.791±0.03	1.056±0.03	0.857±0.02
PC-PC (mg/g)	0.368±0.02	0.380±0.04	0.354±0.02	0.355±0.01	0.442±0.02	0.423±0.01
Peso VI (mg)	5.2.5±24.1	435±28	480.8±24.9	383.3±32.4	518.5±16.7	468.5±13.2

Tabla 6. Peso corporal, PAS, PAD, FC, peso del corazón, relación peso corazón/peso corporal y peso del ventrículo izquierdo antes del sacrificio en los grupos experimentales del protocolo de corto plazo.

Parámetro	WK-N	SH-N	WK-G	SH-G	WK-G+L	SH-G+L
Peso corporal (gramos)	251.1±4.76	215.9±8.97	244.8±4.63	230.9±9.97	257.8±3.42	220.7±4.63
PAS (mmHg)	137.8±2.72	197.5±4.23	141.8±2.40	165±4.02	136.6±2.96	160.1±3.84
PAD (mmHg)	106.7±3.22	154.9±4.4	103±3.5	126.1±7.85	93.14±3.55	115.8±4.35
FC (lat/min)	396.7±12.75	470.8±16.92	384.3±9.59	423±23.03	401±8.7	457±12.67
Peso corazón (gramos)	1.003±0.05	0.874±0.04	0.877±0.05	0.886±0.04	0.932±0.02	0.880±0.01
PC-PC (mg/g)	0.407±0.01	0.396±0.01	0.357±0.01	0.384±0.01	0.365±0.01	0.403±0.01
Peso VI (mg)	467±17.6	558.8±33.2	521±9.354	459±20.5	490±21.2	526.8±13.1

Tabla 7. Peso corporal, PAS, PAD, FC, peso del corazón, relación peso corazón/peso corporal y peso del ventrículo izquierdo antes del sacrificio en los grupos experimentales del protocolo de largo plazo.

10.8 Medición de miocitos en el eje transversal en ventrículo izquierdo

Los cambios en el tamaño de los miocitos nos permiten tener una idea de los cambios macroscópicos que se pueden presentar en el corazón así como de tipo de hipertrofia que se desarrolla, un aumento en la longitud del eje trasversal se ha relacionado con hipertrofia concéntrica, que se observa en la hipertrofia patológica por sobrecarga de presión.

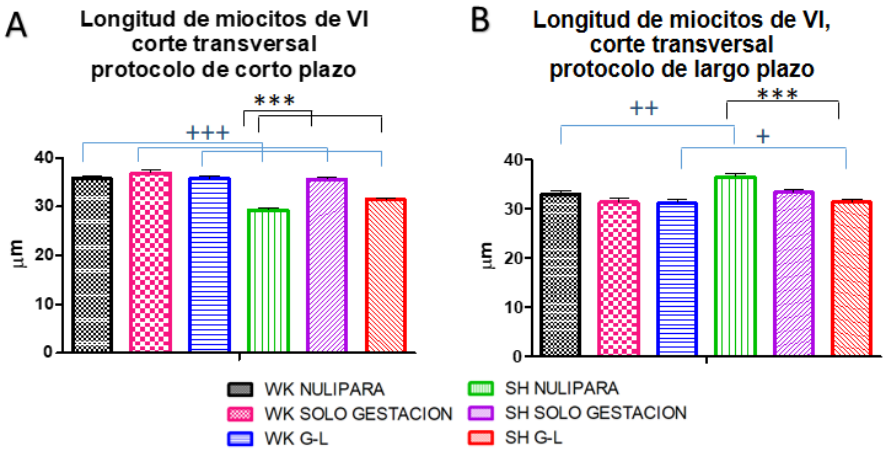


Figura 25. Longitud de miocitos de VI en corte transversal en el protocolo A) corto plazo. Se compara la cepa WK contra el mismo grupo de la cepa SH+++ $p<0.001$; comparación entre el grupo SH Nulípara vs SH-Solo gestación y SH-Nulípara vs SH-G+L. *** $p<0.001$. B) largo

plazo. Se expresan los valores como PROM ± EE *** p<0.001 comparado SH Nulípara vs SH GL. ++ p<0.01 comparado WK Nulípara vs SH nulípara, + p< 0.05 WK GL vs SH GL y SH-Nulípara vs SH-G+L. *** p<0.001

10.9 Medición del eje longitudinal en miocitos de ventrículo izquierdo

El aumento del eje longitudinal se ha relacionado con la hipertrofia excéntrica, los cambios observados en los grupos son más representativos en la cepa SH en el protocolo de largo plazo.

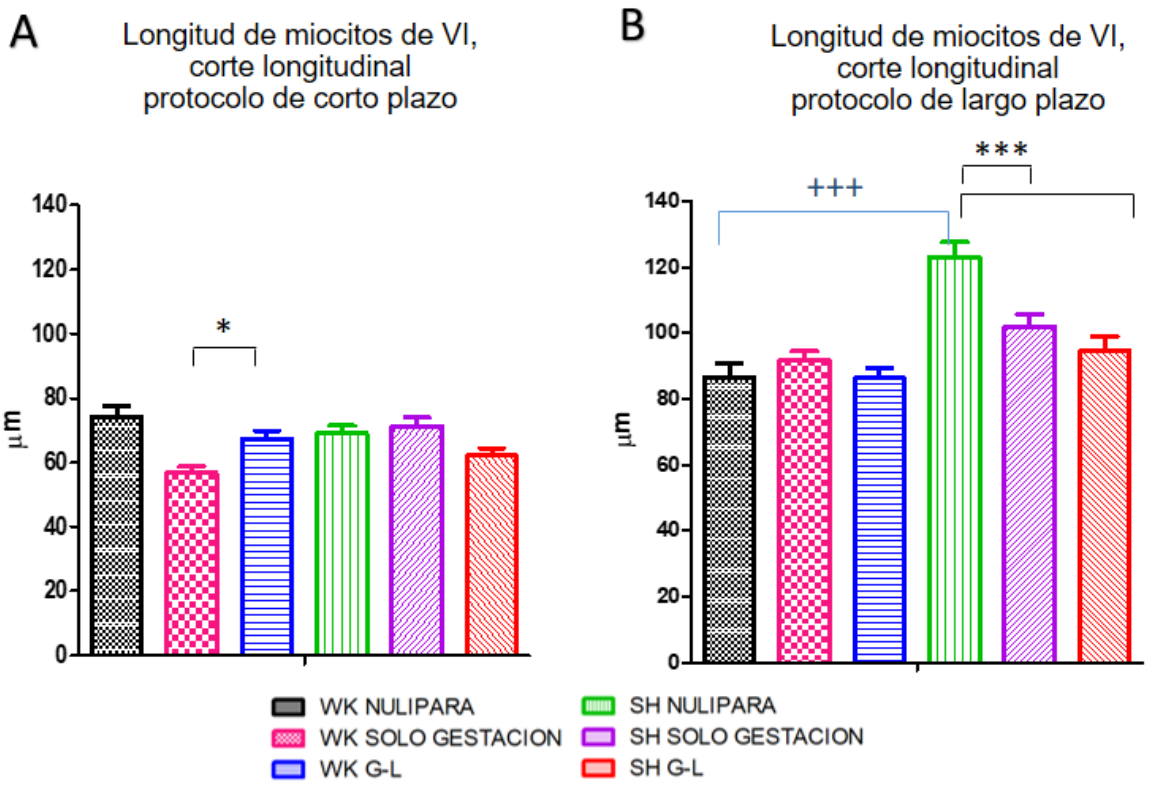


Figura 26. Longitud de miocitos de VI en corte longitudinal en el protocolo a) corto plazo, se muestra diferencias significativa entre el grupo WK Gestación vs WK G+L * p<0.05. B) largo plazo. Se expresan los valores como PROM ± EE *** p<0.001 comparado SH Nulípara vs SH GL y SH Nulípara vs SH Gestación. +++ p<0.001 comparado WK Nulípara vs SH nulípara.

	WK-N	SH-N	WK-G	SH-G	WK-G+L	SH-G+L
N	200	200	150	200	150	200
Corto plazo	35.65±0.55	29.26±0.48 +++	36.83±0.74	35.50±0.58 +++ ***	35.68±0.56	31.40±0.46 +++ ***
N	200	150	150	200	150	200
Largo plazo	33±0.65	36.41± 0.69 ++	31.31 ± 0.82	33.35 ± 0.58	31.21 ± 0.64	31.35 ± 0.53 *** +

Tabla 8. Longitud de miocitos en corte transversal en el protocolo de corto y largo plazo. Diferencia significativa comparando grupo SH Nulípara vs SH Gestación y SH Nulípara vs G+L, ***p<0.001, diferencias entre la cepa WK con respecto a la SH +++p<0.001. Los valores están expresados como promedio ± ES.

	WK-N	SH-N	WK-G	SH-G	WK-G+L	SH-G+L
N	34	30	31	27	25	26
Corto plazo	74±3.37	69±2.36	56.71±2.04	71.33±2.65	67.28±2.56 Δ	62.15±2.35
N	34	30	31	27	25	26
Largo plazo	86.60 ± 4.16	123.1 ± 4.53 +++	91.67 ± 2.88	102.1 ± 3.64 +++	86.27 ± 3.24	94.53 ± 4.407 +++

Tabla 9. Longitud de miocitos en corte longitudinal en el protocolo de corto y largo plazo. Diferencia significativa comparando las cepas entre el mismo grupo +++p<0.001 y WK Gestación vs WK G+L Δ p<0.05. Los valores están expresados como promedio ± ES.

10.10 Tinciones histológicas

10.10.1 Tinción de hematoxilina y eosina en ventrículo izquierdo

Se realizaron cortes del corazón en el criostato y se empleó la tinción de H&E, para realizar las mediciones de los ejes transversal y longitudinal de los miocitos de ventrículo izquierdo con ayuda de un microscopio óptico con cámara lúcida.

10.10.1.1 Tinción de hematoxilina y eosina en ventrículo izquierdo en el protocolo de corto plazo

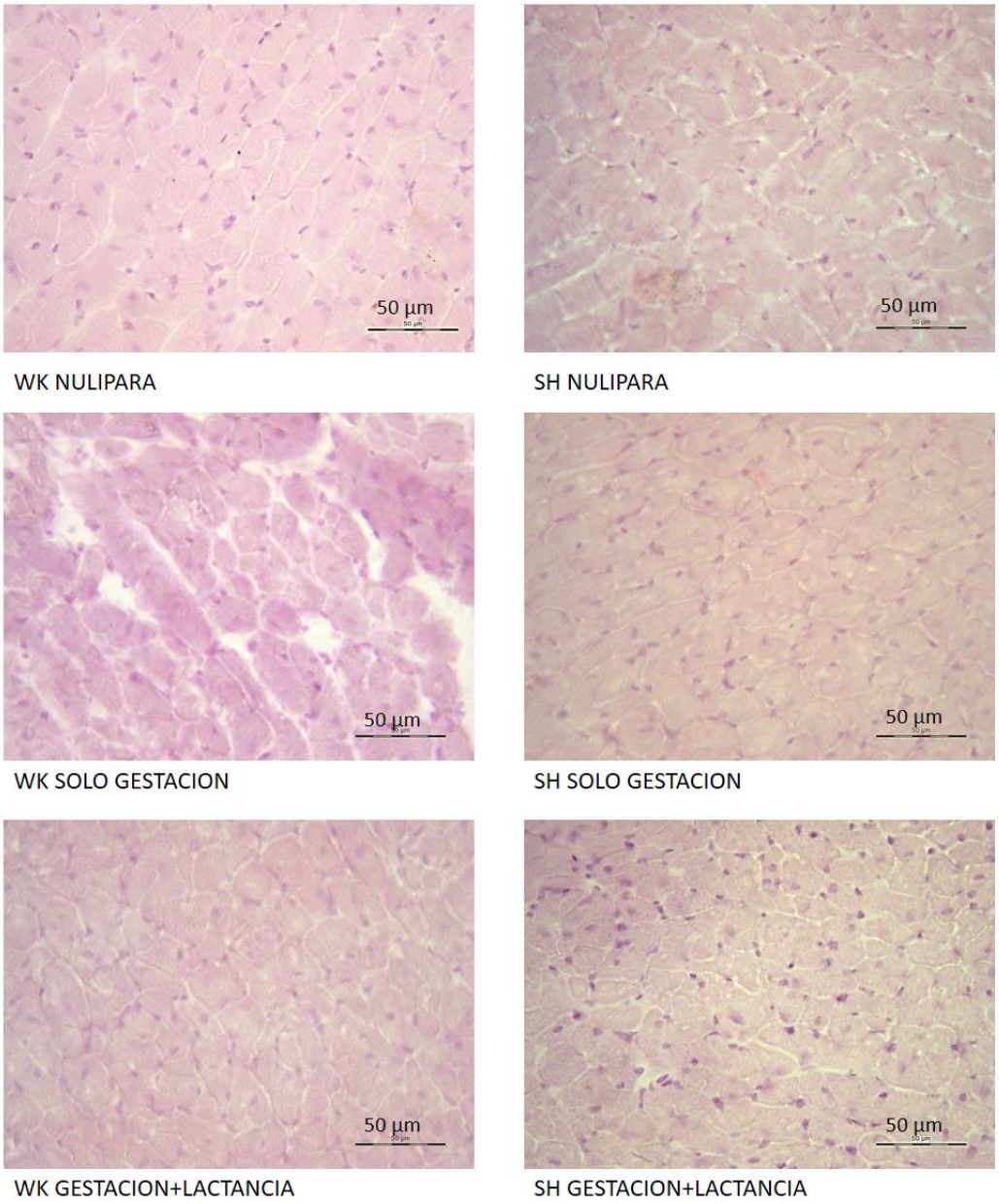


Figura 27. Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en ratas Wistar Kyoto y Spontaneous Hipertensive Rat, en el protocolo de corto plazo, teñidos con Hematoxilina y Eosina con una amplificación de 40x

10.10.1.2 Tinción de hematoxilina y eosina en ventrículo izquierdo en el protocolo de largo plazo

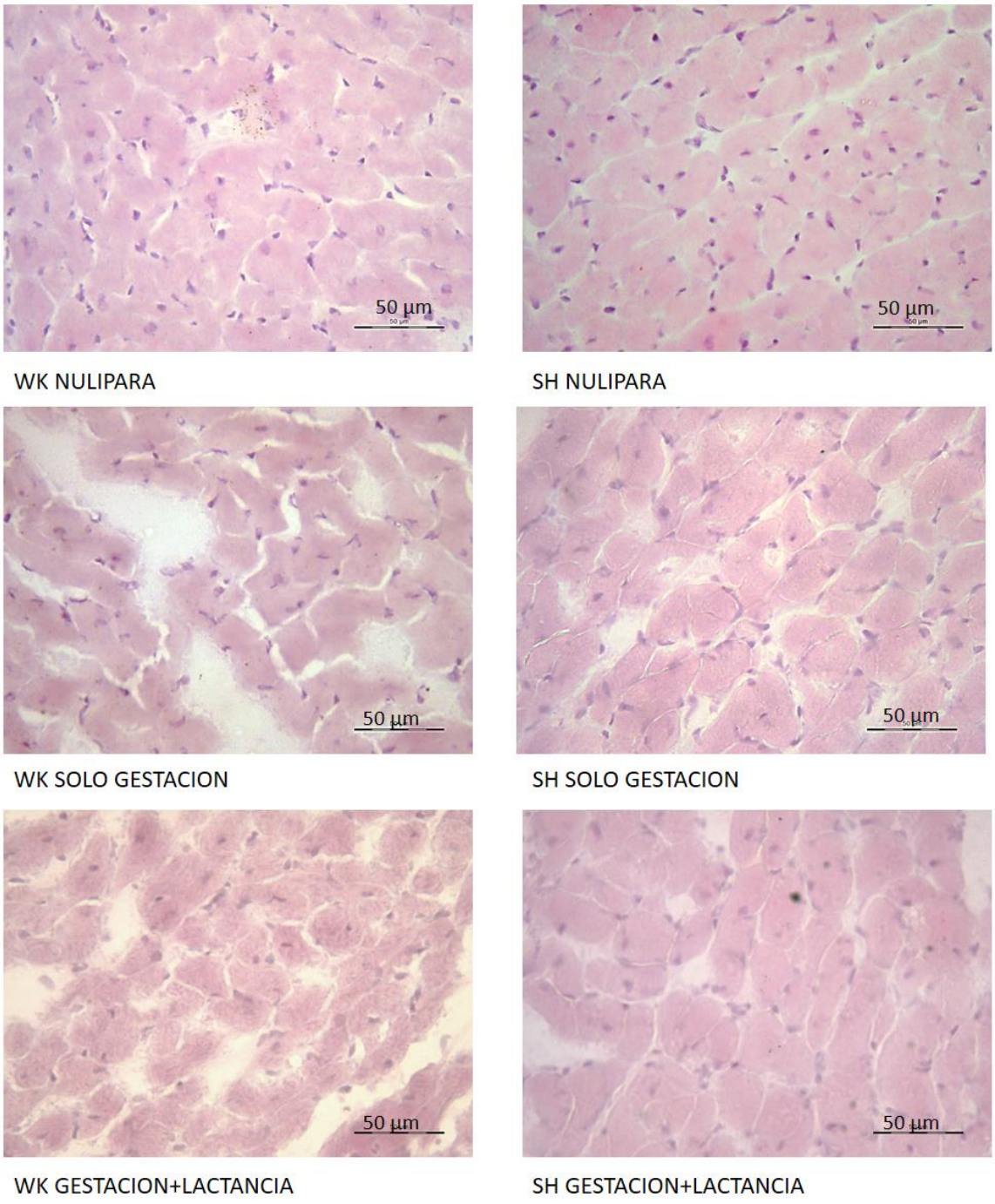


Figura 28. Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en ratas Wistar Kyoto y Spontaneous Hipertensive Rat, en el protocolo de largo plazo, teñidos con Hematoxilina y Eosina con una amplificación de 40x

10.10.2 Tinción tricrómica de Masson en ventrículo izquierdo

Se realizó la tinción tricrómica de Masson con el fin de observar de forma cualitativa la presencia de fibrosis en dicho tejido.

10.10.2.1 Tinción tricrómica de Masson en ventrículo izquierdo en el protocolo de corto plazo

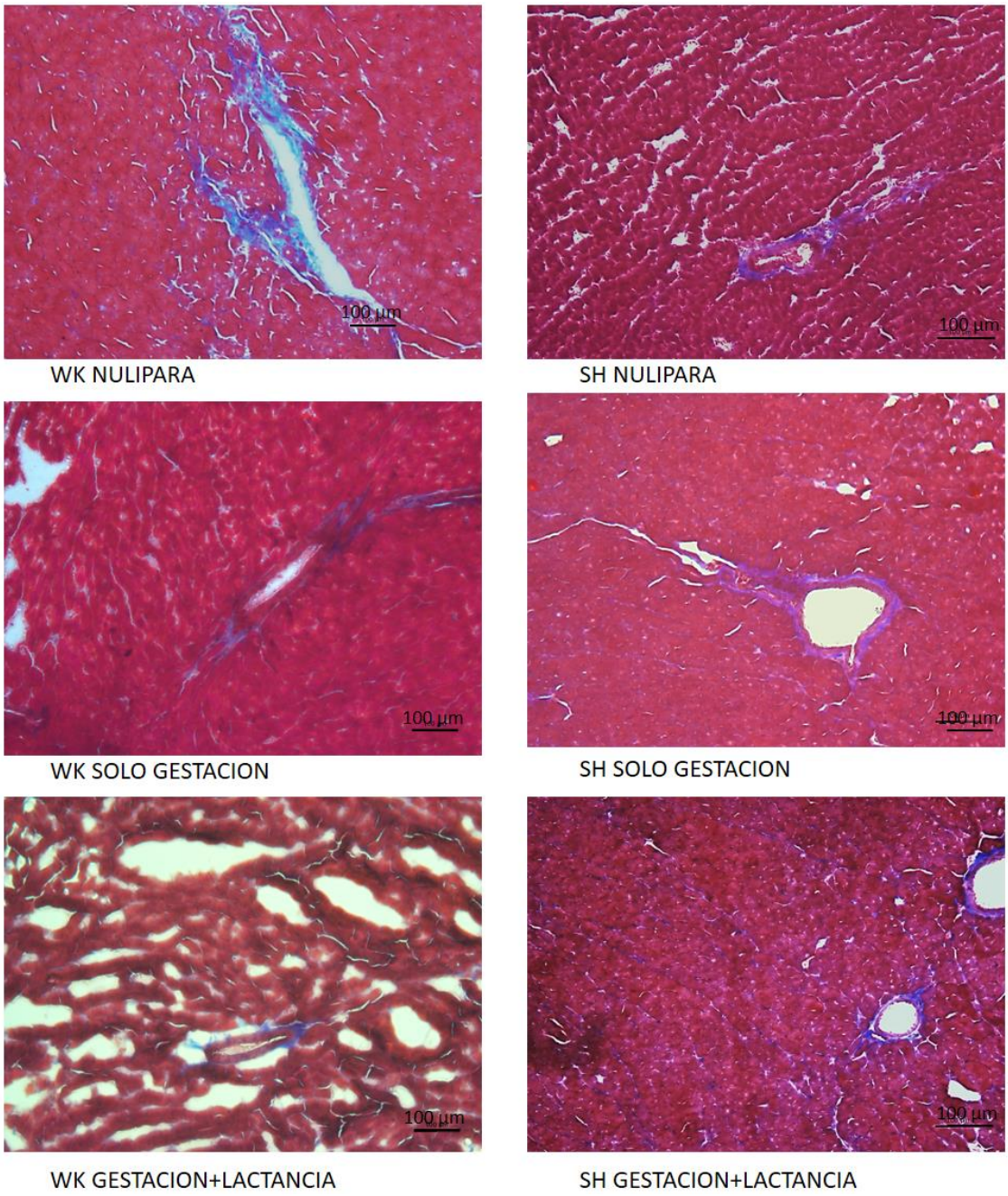


Figura 29. Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en ratas Wistar Kyoto y Spontaneous Hipertensive Rat, en el protocolo de corto plazo, en tinción Tricrómica de Masson con una amplificación de 10x

10.10.2.2 Tinción tricrómica de Masson en ventrículo izquierdo en el protocolo de largo plazo

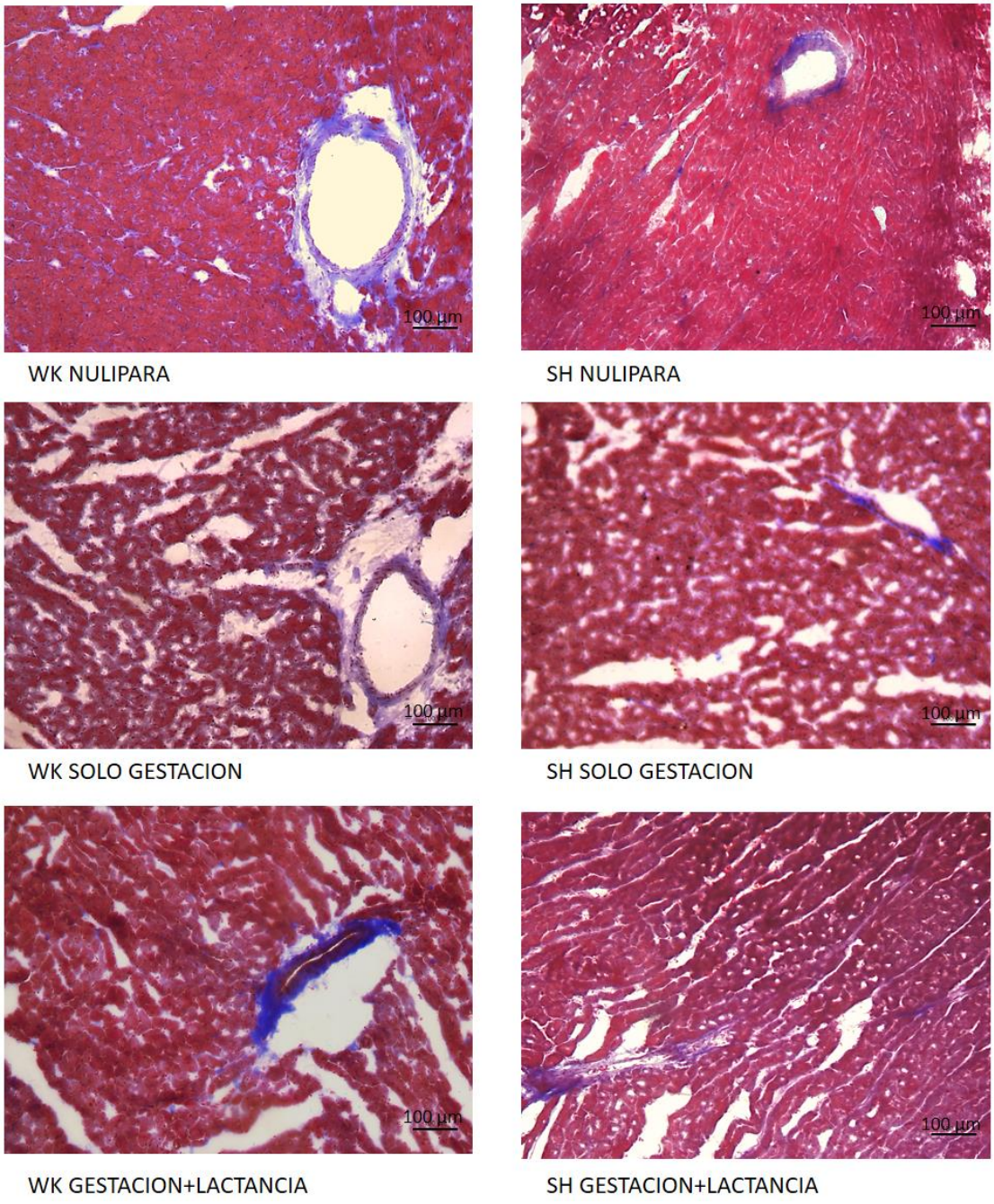


Figura 30. Microfotografías de miocardio de ventrículo izquierdo en ratas Wistar Kyoto y Spontaneous Hipertensive Rat, en el protocolo de largo plazo, en tinción Tricrómica de Masson con una amplificación de 10x

10.12 Cuantificación de hidroxiprolina en ventrículo izquierdo por método espectrofotométrico

Se empleó éste método que da de forma indirecta una estimación del contenido de colágeno presente en el tejido estudiado, se observa en la cepa WK la misma tendencia en el corto y largo plazo, sin embargo este resultado difiere en la cepa SH.

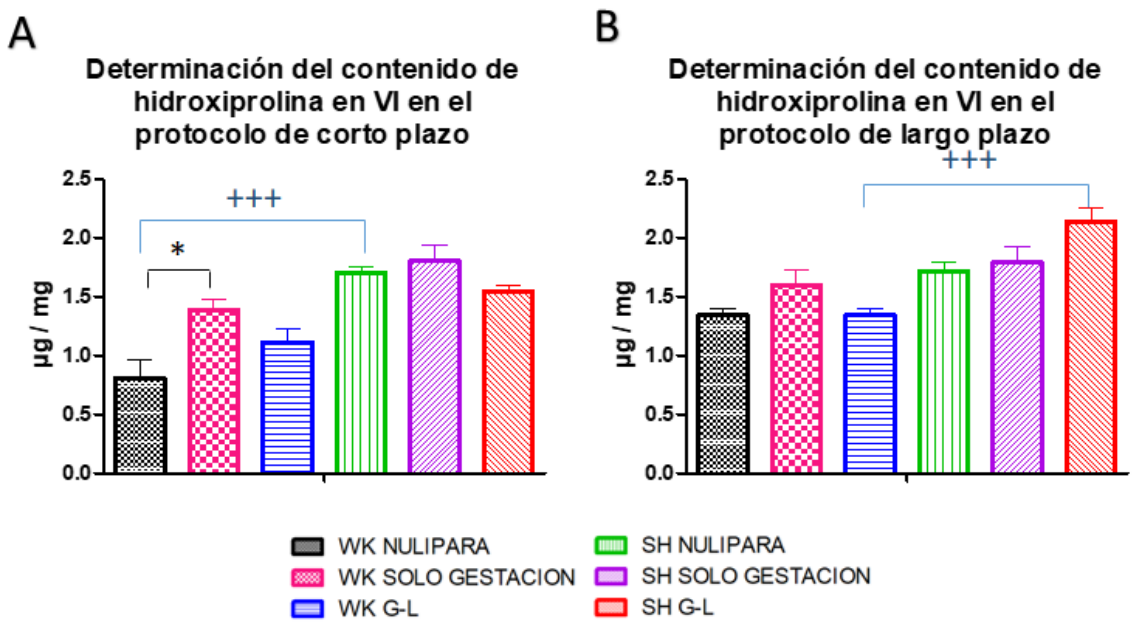


Figura 32. Determinación del contenido de hidroxiprolina en ventrículo izquierdo en el protocolo A) corto plazo, se observa diferencia significativa entre el grupo WK-nulípara y el WK-sólo gestación *p<0.05,y entre el grupo WK-nulípara y el SH-Nulípara +++p<0.001. B) en el largo plazo se encontró diferencias significativas entre el WK-G+L y SH-G+L +++p<0.001. Se expresan los valores como PROM ± EE, se realizó prueba ANOVA de una vía más prueba de Tukey.

11. Discusión

Los cambios producidos en el embarazo y en la lactancia son distintos; a la lactancia se le conoce como el proceso en el cual se comienzan a revertir los cambios producidos durante el embarazo.

El objetivo de este trabajo fue observar los efectos tempranos y tardíos del embarazo y la lactancia en la remodelación cardíaca en la rata espontáneamente hipertensa.

Varios estudios han observado los cambios que se producen en los diferentes sistemas corporales durante el embarazo, los cambios que ocurren en el sistema cardiovascular, principalmente en el embarazo normal. (Yoder 2009, Adbuljalil, Ouzounian 2012, Tan 2013, Sanghavi, Maged, Liu 2014). Los trastornos hipertensivos durante el embarazo son la principal causa de muerte por un origen no obstétrico en el embarazo (Yoder 2012, Seely, Bramham, Lumbers, 2014; Foo 2015) sin embargo el trastorno más estudiado es la preeclampsia, con la postergación de la maternidad la presencia de hipertensión arterial crónica va en aumento en las mujeres embarazadas (Yoder 2012, Bramham 2014).

Los cambios en el peso corporal en el protocolo de corto plazo, presenta el mismo comportamiento en las ratas WK como en las SH (Adbuljalil 2012), el grupo G+L presentó un peso menor antes del sacrificio, con lo cual se observa una tendencia a regresar al peso basal. En el protocolo de largo plazo el grupo G+L presenta un peso corporal menor con respecto al grupo Sólo Gestación, por lo que de acuerdo a lo reportado por Schack-Nielsen 2006, Groer, Lupton 2013, Peters 2017; el índice de masa corporal fue menor en mujeres que amamantaron con respecto a las que no lo hicieron, con lo que se respaldan los datos obtenidos a largo plazo.

La presión arterial durante la gestación alcanza su punto más bajo, tanto es las ratas WK como en las SH, siendo en la cepa SH donde el cambio es más evidente (alrededor de 40 mm Hg en las ratas SH y 20 mm Hg en las WK). Ouzounian 2012, Tan 2013, Constantine, Liu, Sanghavi 2014, Boeldt 2017, reportan resultados similares en humanos.

En el protocolo a largo plazo durante la lactancia es cuando se eleva nuevamente la presión arterial de forma paulatina con tendencia al valor basal; ésta elevación podría estar mediada por la prolactina, hormona en la cual se han descrito un efecto vasoconstrictor y que durante el periparto y la lactancia alcanza su predominio sobre las otras hormonas, además el efecto antihipertensivo de la bromocriptina sugiere que ésta hormona tiene una rol en los mecanismos de elevación de la presión arterial. En las ratas del grupo Sólo gestación el valor de la PAS y PAD antes del

sacrificio es mayor que en el grupo G+L, en el protocolo de corto plazo, lo que está en concordancia con los resultados reportados por Schack-Nielsen 2006, Groer, Lupton 2013, Peters 2017 en mujeres.

La PAS en el grupo SH-G+L es donde se observa la mayor diferencia con respecto a su grupo control SH-N, éste hallazgo lo reportó Cabrera en el 2017, a los 6 meses posteriores al embarazo, sin embargo no se encontró ningún reporte de la PAS en ratas SH que sólo tuvieron gestación pero no lactancia.

Los resultados obtenidos al respecto nos muestran que el grupo SH-G también presenta valores de PAS menores que el grupo nulípara, sin embargo estos valores son mayores que los obtenidos por el grupo SH-G+L. Por lo que podemos inferir que la lactancia es necesaria para mantener la PAS en niveles cercanos a la normo tensión. Estos resultados podrían estar desencadenados por la acción de la oxitocina al tener un efecto en la inhibición de la secreción de cortisol y de hormonas adrenocorticoides, lo que sugiere que la lactancia prolonga el efecto en la reducción de la presión arterial sistémica.

En la PAD, se observó un comportamiento parecido al de la PAS, mientras que en las ratas WK antes del sacrificio en el protocolo de largo plazo los niveles de PAD son similares al valor basal, en las ratas SH se mantiene la tendencia de estar reducida con respecto al grupo control por alrededor de 40 mm Hg en el grupo SH-G+L y alrededor de 20 mm Hg en el grupo SH-G.

Esto puede ser consecuencia del efecto que producen los estrógenos, la progesterona y la relaxina, que en varios estudios se ha observado su impacto en el endotelio vascular, disminuyendo la resistencia y estimulando la liberación de NO, provocando vasodilatación de acuerdo a los descrito por Orschal 2004, Du 2010, Conrad 2011, Thomas 2013, Luo 2016, Marshall 2017.

Otro punto a destacar es la reducción de la frecuencia cardíaca, que alcanza un valor mínimo durante la lactancia, que podría estar mediado por la oxitocina, hormona en la cual se ha descrito un efecto de inhibición simpática. Sin embargo no hay un patrón tan evidente en los cambios de la frecuencia cardiaca en el largo

plazo; se puede observar que la frecuencia cardíaca en las ratas SH es mayor que en las WK, aunque pareciera que las ratas del grupo SH solo gestación son las que presentan menor FC, aunque no es un cambio significativo.

En la figura 21 se observa un aumento del tamaño del corazón en el protocolo de corto plazo, siendo más representativo en el grupo G+L, lo que podría representar que la hipertrofia del corazón no sólo se desarrolla en el embarazo sino además también continua en la lactancia; en el largo plazo esta diferencia se modifica en las ratas WK ya que el grupo con el mayor peso es el nulípara y el grupo Solo gestación presenta el menor peso, aunque no sea una diferencia significativa, pero puede sugerir la regresión de dicha hipertrofia desarrollada en el corto plazo; en la cepa SH prácticamente no se observa diferencian entre los grupos,

En estrógenos y relaxina se han descrito efecto anti hipertrófico, lo cual podría explicar el hecho de que los corazones obtenidos del grupo sólo gestación en el corto plazo no tengan hipertrofia, en ambas cepas.

Caso contrario se observa en la lactancia en la cual el peso de los corazones obtenidos de los grupos de gestación-lactancia, en el protocolo de corto plazo, sugieren que es en este periodo en el cual hay un aumento de la masa cardíaca al estar aumentado el peso del corazón en ambas cepas; con respecto a los grupos control y grupos sólo gestación; siendo más significativo, este aumento en la cepa WK.

Este fenómeno podría ser producto de la acción de la prolactina en conjunto con la hormona de crecimiento.

Al realizar el análisis del índice peso del corazón –peso corporal (figura 22) observamos que el grupo solo gestación es el que tiene un índice menor, lo que parece estar relacionado con un efecto, contrario a lo reportado en humanos los corazones de este protocolo durante el embarazo no se hipertrofiaron, sino ese ocurrió en la lactancia, este resultado fue observado también por Songstad 2014, dicho hallazgo mostraría que el embarazo tiene un efecto anti hipertrófico, independientemente de la cepa. En el protocolo de largo plazo se observa en el

grupo WK-G+L la reducción del índice peso del corazón –peso corporal, donde los resultados coinciden con lo reportado por Chung en el 2014 que la hipertrofia generada en el embarazo se revierte. En el grupo SH-G+L la tendencia es similar, pero no fue significativa al compararla con el grupo SH-G+L en el corto plazo. En el grupo nulípara de ambas cepas hay tendencia al aumento de éste índice, que quizá esté relacionado con los cambios propios del envejecimiento, es interesante que en el grupo WK-G prácticamente no se modificó el valor del índice PC-PC, lo que podría sugerir que solo el embarazo en ratas normotensas evita la hipertrofia a largo plazo o la retrasa, evento que no ocurre en las ratas SH.

El peso del ventrículo izquierdo mantiene una proporción parecida a la del índice pc-pc, así que pareciera que ambos cambios van de la en el protocolo de corto plazo. En el protocolo de largo plazo se observa que el peso del ventrículo izquierdo es significativamente mayor en las SH-N con respecto a las SH-G lo cual puede estar relacionado en primera parte por el desarrollo de hipertrofia cardiaca por la sobrecarga de presión a expensas del VI en la rata hipertensa, el hecho de que los VI del grupo SH-G tengan un peso menor, podría estar explicado por el efecto anti hipertrófico de los estrógenos sobre la hipertrofia cardiaca Deroo 2006, Luo 2016, Iorga 2017, 2018. En el grupo WK-G+L también se observa un peso de VI izquierdo menor en el largo plazo aunque no es significativo.
En el grupo WK solo gestación se observa que no solo en corazón redujo su índice PC-PC en el corto plazo, sino además ese cambio se mantiene a largo plazo, el PC-PC en la SH-G+L también parece tener un efecto benéfico a largo plazo, porque esta relación es menor a largo plazo y podría estar relacionado con la reducción de la hipertrofia generada en el embarazo.

La tinción tricrómica de Masson se observa mayor fibrosis perivascular en el grupo SH nulípara en el protocolo a corto y largo plazo, lo que sugiere que tanto el embarazo como la lactancia contribuyen a reducir la fibrosis perivascular.

La longitud de los miocitos en el eje transversal en el protocolo de largo plazo muestra diferencias significativas entre las cepas en el grupo nulípara. Entre las SH-N y las SH-G+L también hay una diferencia significativa siendo menor los miocitos en el grupo SH-G+L lo que sugiere que el embarazo y la lactancia si tienen impacto en el tamaño de los miocitos en el largo plazo, lo que sugiere un efecto en la reducción de la hipertrofia desarrollada a largo plazo por la sobrecarga de presión, al hacer el comparativo con los resultados obtenidos en el corto plazo sugiere que el embarazo y la lactancia tienen un efecto para evitar que los miocitos continúen hipertrofiándose por efecto de la sobrecarga de presión.

En el protocolo de largo plazo la longitud de los miocitos en el eje longitudinal en el grupo WK-G aumenta e incluso sobrepasas el valor de los otros grupos de la misma cepa, así que podríamos sugerir que este efecto de reducción observado en el corto plazo no es definitivo y se modifica con el tiempo. En la cepa SH si se observan diferencias significativas en el tamaño de los miocitos con respecto al grupo control, donde es el grupo SH-G+L quien presenta la menor longitud, un comportamiento similar al obtenido en el eje transversal, lo que sugiere que el embarazo y la lactancia tiene un efecto benéfico para evitar el alargamiento de los miocitos, que no ocurre en el grupo nulípara, lo cual se ha mostrado que en la hipertensión arterial la HV concéntrica puede evolucionar a HV excéntrica, lo cual sugiere que dichos procesos podrían participar en el retraso de dicho cambio. Sin embargo es necesario un seguimiento durante un periodo de tiempo mayor para verificar si este efecto continúa o si se modifica cuando la edad de la rata es mayor. (Azevedo 2016, You 2018)

La cuantificación de hidroxiprolina por método espectrofotométrico arrojo, diferencias significativas entre el contenido de hidroxiprolina entre las cepas, observándose el mismo comportamiento entre las cepas, esto parece estar en relación a lo reportado por Virgen Ortiz 2019, donde en el embarazo tardío los niveles de TIMP-1 son mayores y estos se reducen en el post parto.

En el protocolo a largo plazo dicha distribución se mantiene en la cepa WK, sin embargo se modifica en la cepa SH, donde el mayor contenido de hidroxiprolina se

halló en el grupo SH-G+L, por lo cual es necesario realizar pruebas más sensibles que contribuyan a clarificar dicho resultado.

Los resultados obtenidos parecen apuntar que el mayor cambio en el sistema cardiovascular no se produce en el corazón sino a nivel vascular, porque los efectos son más prolongados que los observados en el corazón y tienen impacto en el mantenimiento de los valores de presión arterial en las ratas SH en niveles de normo tensión, en el largo plazo. Hay reportes de dichos cambios vasculares en vasos uterinos, es necesario estudiar dicho cambio en otros vasos que puedan tener un impacto sobre la presión arterial sistémica.

12. Conclusiones

a. El peso corporal muestra un peso menor entre la cepa SH con respecto a la WK, siendo más representativo en el grupo nulípara
b. La PAS y PAD mostró una reducción significativa durante la gestación, siendo más evidente en las ratas SH, dicho valor se mantiene dentro de valores de normotensión para el grupo SH-G+L en el largo plazo
c. La frecuencia cardíaca mostró una tendencia a disminuir con respecto al basal, en los grupos que tuvieron embarazo.
d. El peso del corazón y el índice peso corazón/peso corporal en el grupo de G+L con respecto al grupo nulípara y al grupo gestación. Este fue más representativo en la cepa WK, en el protocolo de corto plazo
e. El embarazo y la lactancia tienen efecto en la reducción del peso del VI
f. La longitud de los miocitos en el corte transversal y longitudinal fue menor en el grupo SH-G+L con respecto a su control nulípara, tanto en el corto como en el largo plazo.
g. El contenido de hidroxiprolina fue más elevado en el grupo solo gestación con respecto a los otros grupos en el corto plazo, en el largo plazo el mayor contenido se encontró en el grupo SH-G+L

Perspectivas

- Estudiar los cambios a nivel vascular que se producen como consecuencia del embarazo y la lactancia en el largo plazo, hay reportes de estos cambios en vasos cercanos al útero y a los riñones, habría que analizar en otros vasos de grueso calibre que sean próximos al corazón
- Estudiar la densidad vascular en el corazón
- Estudiar la densidad de los miocitos en el corazón en los diferentes grupos experimentales.
- Hacer mediciones de especies reactivas de oxígeno, se han reportado cambios que podrían estar relacionados con la presencia de trastornos hipertensivos en el embarazo.
- Estudiar estos cambios en ratas con cardiomegalia

13. BIBLIOGRAFIA

ACOG Practice Bulletin No 203: *Chronic Hypertension in pregnancy*; Obstetrics & Gynecology; January 2019, 133:e26-e50

Adbuljalil K, Furness P, Johnson T, Rostami A, Soltani H; *Anatomical, physiological and metabolic changes with gestational age during normal pregnancy*; Clin Pharmacokinet 2012; 51(6):365-396

Azevedo P, Polegato B, Minicucci M, Paiva S, Zornoff L; *Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment;* Arquivos Brasileiros de Cardiología, 2016 Jan; 106(1): 62–69.

Barron W, Stamoutsos B and Lindheimer M; *Role of volumen in the regulation of vasopressin secretion during pregnancy in the rat*; J Clin Invest. 1984; 73(4):923-932

Barron, W. M; *Volume Homeostasis During Pregnancy in the Rat*; American Journal of Kidney Diseases, 1987 9(4), 296–302.

Berk B,Fujiwara K,Leboux S; *ECM remodeling in hypertensive heart disease*; J Clin Invest. 2007; 117(3)

Bernardo BC, Wekks KL, Pretorius L, McMullen JR. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutics strategies. Pharmacology and therapeutics. 2010; 128:191-227.

Boeldt D, Bird I; Vascular adaptation in pregnancy and endotelial dysfunction in preeclampsia; Journal Endocrinol january 2017; 232(1): R27-R44

Bramham K. et al; Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis; BMJ 2014

Bruel A, Christoffersen T, Nyengaard J; Growth hormone increases the proliferation of existing cardiac myocytes ande the total number of cardiac myocytes in the rat heart; Cardiovascular Research, 76 (2007) 400–408

Cabrera V, Villalobos M, Cruz F, P. Aguilar, Zamudio S, Flores G; Pregnancy improves cognitive deficit and neuronal morphology atrophy in the prefrontal cortex and hippocampus of aging spontaneously hypertensive rats; Synapse. 2017; 71:e21991

Cerutti, C., Barres, C., & Paultre, C; Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 1994; 266(5), H1993–H2000.

Chung E, Leinwand L.A. Pregnancy as a cardiac stress model; Cardiovascular Research; 2014, 101 561-570.

Cohn J, Ferrari R, Sharpe N, Cardiac Remodeling: Concepts and Clinical Implications: A Consensus Paper From an International Forum on Cardiac Remodeling, Journal of the American College of Cardiology Vol. 35, No. 3, 2000

Colao, A, Marzullo P, Di Somma C, Lombardi G; Growth hormone and the heart; Clin Endocrinol (Oxf). 2001 Feb; 54 (2): 137-54Conrad KP. Maternal vasodilatation in pregnancy: the emergency role of relaxin, Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011; R267-R275.

Conrad KP, Shroff S; Effects of Relaxin on Arterial Dilation, Remodeling, and Mechanical Properties; Curr Hypertens Rep (2011) 13:409–420

Conrad KP; Emerging Role of Relaxin in the Maternal Adaptations to Normal Pregnancy: Implications for Preeclampsia; Semin Nephrol. 2011 January; 31(1): 15–32

Constantine M; Physiologic and pharmacokinetics changes in pregnancy; Frontiers in Pharmacology; April 2014, 5(65)

Deroo B, Korach K; Estrogen receptors and human disease; The Journal of Clinical Investigation, Volume 116 Number 3 March 2006

Diez J, González A, López B, Querejeta R; Mechanisms of Disease: pathologic structural remodeling is more than adaptive hypertrophy in hypertensive heart disease; Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine, April 2005, Vol 2, No 4

Du X, Bathgate R. Samuel C, Dart A, Summers R, Cardiovascular effects of relaxin: from basic science to clinical therapy, Nature Reviews Cardiology, Volume 7, January 2010

Ducas R, et al; Cardiovascular magnetic resonance in pregnancy: Insights from the cardiac hemodynamic imaging and remodeling in pregnancy (CHIRP) study; Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance 2014, 16:1

Elher E; Cardiac cytoarchitecture-Why the “hardware” is important for heart function!, Biochimica et Biophysica Acta 1863 (2016) 1857–1863

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino, 2016

Fan D, Takawalw A, Lee J, Kassiri Z; Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracelular matrix remodeling in heart disease; Fibrogenesis & Tissue Repair, 2012, 5: 15

Foo L, Tay J, Lees C, McEniery C, Wilkinson I; Hypertension in Pregnancy: Natural History and Treatment Options, Blood Pressure Monitoring and Management, Curr Hypertens Rep (2015) 17:36

Formigli, L. et al. Paracrine effects of transplanted myoblasts and relaxin on postinfarction heart remodelling. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2007; 11, 1087–1100

Gelse K, Po¨schlb E, Aigner T; Collagens—structure, function, and biosynthesis; Advanced Drug Delivery Reviews 55 (2003)

Goldstein J, Sites C, Toth M; Progesterone stimulates cardiac muscle protein synthesis via receptor-dependent pathway; Fertitilty and Sterility, 2004, 82, 2.

Groer M, Jevitt C, Sahebzamani F, Beckstead J, Keefe D, Breastfeeding Status and Maternal Cardiovascular Variables Across the Postpartum; Journal of the women health, Volume 22, Number 5, 2013

Gutkowska J, Jankowski M; Oxytocin revisited: Its role in cardiovascular relation; Journal of Neuroendocrinology, 2012, 24, 599-608

Hilfiker D. Struman I. Hoch M. Podewski E. Sliwa K. 16-kDa Prolactin and Bromocriptine in Postpartum Cardiomyopathy, Current Heart Failure Reports, Volume 9, Number 3, September 2012

Horseman N. Gregerson K. Prolactin actions, Journal of Molecular endocrinology, Volume 52, October 2013

Ignacak A, Kasztelnik M, Sliwa T, Korbut R, Rajda K, Guzik T; Prolactin-no only Lactotrophin, a new view of the old hormone, Journal of Physiology and Pharmacology 2012, 63, 5, 435-443

Iorga A, Li J, Sharma S, Umar S, Bopassa J, Nadadur R, Centala A, Ren S, Saito T, Toro L, Wang Y, Stefani E, Eghbali M; Rescue of Pressure Overload-Induced Heart Failure by Estrogen Therapy; Journal of the American Heart Association 2016;5

Iorga A, Umar S, Ruffenach G, Aryan L, Li J, Sharma S, Motayagheni N; Estrogen rescues heart failure through estrogen receptor beta activation; Biology of Sex differences 2018 9:48

Kehat I., Molkentin J., Molecular pathways underlyning cardiac remodeling during pathophysiological stimulation; Circulation 2010:122

Leo C, Jelinic M, Marshall S, Novak J, Tare M, Conrad K, Parry L; Vascular actions of relaxin: nitric oxide and beyond; British Journal of Pharmacology (2017) 174, 1002-1014

Li J, Umar S, Amjedi M, Lorga A Sharma S, Nadadur R, Regitz V, Eghbali M; New frontiers in heart hypertrophy during pregnancy, Am J Cardiovascular Disease, 2010; 2(3):192-207

Li L, Xu J, He L, Peng L, Zhong Q, Chen L, Jiang Z; The role of autophagy in cardiac hypertrophy; Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2016, 48(6), 491–500

Liu L, Arany Z; Maternal cardiac metabolism in pregnancy, Cardiovascular Research (2014) 101, 545–553

Lumbers E, Pringle K; Roles of the circulating renin-angiotensin-aldosterone system in human pregnancy; Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2014; 306:R91–R101

Lundgren Y, Karlsson K, Ljungblad U; Circulatory changes during pregnancy in spontaneously and renal hypertensive rats; Clinical Science 1979; 57, 337s-339s.

Lupton SJ, Chiu CL, Lujic S, et al; Association between parity and breastfeeding with maternal high blood pressure, Am J Obstet Gynecol2013; 208:454.e1-7.

Luo T, Kyung J; The Role of Estrogen and Estrogen Receptors on Cardiomyocytes: An Overview; Canadian Journal of Cardiology Volume 32, 2016

Marshall S, Huei C, Girling J, Tare M, Beard S, Hannan N, Parry L, Relaxin treatment reduces angiotensin II-induced vasoconstricción in pregnancy and protects against endothelial dysfunction, Biology of Reproduction, 2017. 96(4), 895-906

Mendelson M, Karas R; The protective effects of estrogen on the cardiovascular system; The New England Journal of Medicine, 1999 Volume 340 Number 23

Mezzacappa E, Kelsey R, Katkin E. Breast feeding, bottle feeding, and maternal autonomic responses to stress, Journal of Psychosomatic Research. 2005; 58 (4): 351–365.

Napso T, Yong H, Lopez-Tello J, Sferruzzi A; The role of placental hormones in the mediating maternal adaptations to support pregnancy and lactation, Frontiers in Physiology, 2018; 9: 1091

Ooi J, Bernando B, McMullen J; The therapeutic potential of miRNAs regulated in settings of physiological cardiac hypertrophy; Future Medical Chemistry, 2014, volumen 6, number 2, 205-222

Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2010. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2011

Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2014

Organización Mundial de la Salud. Las 10 principales causas de defunción 2016 [base de datos en línea]. Recuperado de https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death

Orschal J, Khalil R; Gender, sex hormones, and vascular tone; Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 286: R233–R249, 2004

Ouzounian J, Elkayam U; Physiologic Changes During Normal Pregnancy and Delivery, Cardiol Clin 30 (2012) 317–329

Parikh A, Patel D, McTiernan C, Xiang W, Haney J, Yang L, Lin B, Kaplan A, Bett G, Rasmusson R, Shroff S, Schwartzman D, Salama G, Relaxin suppresses atrial fibrillation by reversing fibrosis and myocyte hypertrophy, and increasing conduction velocity and sodium current in spontaneously hypertensive rat hearts, Circulation Research, Vol 113, num 3, june 2013

Pelmeiro C, Anand R, Kaur I, Basasubramaniyam N, Schwarcz M, Weiss I; Growth hormone and the cardiovascular system, Cardiology in Review 2012;20: 197–207

Perrine G., Nelson J., Corbelli J., Scanlon K., Lactation and Maternal Cardio-Metabolic Health; Annu Rev Nutr. 2016 July 17; 36: 627–645

Peters S, Yang L, Guo Y, Chen Y, Bian Z, Du J, Yang J, Li S, Li L, Woodward M, Chen Z; Breastfeeding and the Risk of Maternal Cardiovascular Disease: A Prospective Study of 300 000 Chinese Women; Journal of the American Heart Association, 2017:10, 1161

Raleigh J, Toldo S, Das A, Abbate A, Salloum F; Relaxin' the Heart: A Novel Therapeutic Modality Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics, 2015

Sanghavi M. Rutherford J. Cardiovascular Physiology of Pregnancy; Circulation (2014)

Salerni S, Francescomarino S, Cadeddu C, Acquistapace F, Maffeis S, Gallina S; The different role of sex hormones on female cardiovascular physiology and function: not only oestrogens; Eur J Clin Invest 2015; 45 (6): 634–645

Samak M, Fatullayev J, Sabashniov A, Zeriouh M, Schmack B, Farag M, Popov A, Dohmen P, Choi Y, Wahlers T, Weymann A; Cardiac hypertrophy; an

introduction to molecular and celular basis; Medical Science Monitor Research; 2016; 22:75-79

Samuel S, Royce S, Hewitson T, Denton K, Cooney T, Bennett, Anti-fibrotic actions of relaxin, British Journal of Pharmacology (2017) 174 962–976

Sarinitis I, Papanastasopoulos P, Manousi M, Baikoussis N, Apostolakis E; The Cytoskeleton of the Cardiac Muscle Cell; Hellenic J Cardiol 2012; 53: 367-379

Sarwan M, Du X, Dschietzing T, Summers R; The actions of relaxin on the human cardiovascular system; British Journal of Pharmacology (2017) 174, 933-949

Say L. et al. Global causes of maternal death: WHO systematic analysis; Lancet Glob Health; may, 2014

Schack-Nielsen L, Michelsen K; Breast feeding and future health; Current Opinion in clinical Nutrition and Metabolic Care; 2006 9:289-296

Seely E, Ecker J; Chronic Hypertension in Pregnancy; Circulation.2014; 129:1254-1261.

Sequeira V, Nijenkamp L, Regan J,Velden J; The physiological role of cardiac cytoskeleton and its alterations in heart failure; Biochimica et Biophysica Acta 1838 (2014) 700–722

Slangen B, Out I, Janssen B, Peeters L; Blood pressure and heart rate variability in early pregnancy in rats; American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology; october 1997; 273(4): H1794-H1799

Tan E K, Tan E L; Alterations in physiology and anatomy during pregnancy, Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology (2013) 1–12

Teichman A, Unemori E, Teerlink J, Cotter G, Metra M; Relaxin: review of biology and potential role in treating heart failure; Current Heart Failure Rep (2010) 7:75-82

Thomas P, Pang Y; Protective actions of progesterone in the cardiovascular system: Potential role of membrane progesterone receptors (mPRs) in mediating rapid effects; Steroids 78 (2013) 583-588

Vélez J, Chamorro G, A study of prevention and regression of cardiac hypertrophy with a prolactin inhibitor in a biological model of ventricular hypertrophy caused by aorto caval fistulae in rat; Cardiovascular Pathology 2013; 22:357-367

Virgen A, Limón S, Salazar D, Melnikov V, sanchez E, Castro M; Matrix metalloproteinases system and types of fibrosis in rat heart during late pregnancy and postpartum; Medicina 2019, 55, 199

Weber K, Sun Y, Bhattacharya S, Ahokas R, Gerling I; Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart; Naturee Reviews Cardiology, Volume 10, January 2013

Whelton et al. (2018) ACC/AHA/AAPA/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/ NMA/PCNA Guideline for prevention, detection, evaluation and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Hypertension, june 2018; 71:e13-e115

Wiklund P, Xu L, Lyytika A, Saltevo J, Wang Q, Vo E, Munukka E, Cheng S, Alen M, Keina S, Cheng S; Prolonged breast-feeeding protects mothers from later-life obesity and related cardio-metabolic disorders; Public Health Nutrition; 15(1), 67-74

Wilson S, Ayaz S, Levy P, Relaxin: a novel agent for the treatment of acute heart failure, Pharmacotherapy 2015; 35(3):315-327

Yoder S, Thornburg L, Bisognano J; Hypertension in pregnancy and women of childbearing age; The American Journal of Medicine; october 2009, Vol 122, No 10

You J, Wu J, Zhang Q, Ye Y, Wang S, Huang J, Liu H, Wang X, Zhang W, Bu L, Li J, Lin L, Ge J, Yunzeng Z; Differential cardiac hypertrophy and signaling pathways in pressure versus volume overload; American Journal of Physiology Heart Circulation Physiology 2018, 314:H552-H562

Zanati S, Medeiros V, Cuadrado L, García C, Carlos J, Vaz de Arruda L, Peracoli J, Bojikian B; Disproportionate pregnancy-induce myocardial hypertrophy in women with essential hypertension; American Journal of Hypertension; june 2013, 26(6)