

AUTORES UAM: Luis Condezo-Hoyos, Silvia M. Arribas, Angel L. López de Pablo, M. Carmen González, Javier F. Regadera

TITULO: Aplicaciones de técnicas de microscopía confocal y tensión isométrica para el estudio de la insuficiencia venosa

PALABRAS CLAVE: elastina, colágeno, varices, tensión isométrica, microscopia confocal.

OBJETIVOS. Desarrollar técnicas para el estudio de la función y composición de la pared venosa, con objeto de avanzar en el estudio de su fisiología y patología (1).

MATERIAL Y MÉTODOS. Se obtienen venas de pacientes sometidos a safenectomía interna, separándose dos zonas: patológica y normal en base a criterios ecográficos. Cada zona se dividió en 3 segmentos para determinar: 1) la función, 2) la cantidad de elastina y colágeno y 3) la estructura. La purificación de colágeno y elastina se obtuvo mediante digestión con NaOH 0.1N a 100°C, durante 45 min. El sobrenadante se guardó para la determinación de colágeno y la elastina se pesó y se utilizó para ensayos de mecánica. La función activa y la mecánica pasiva de la vena intacta o la elastina purificada se determinaron mediante adaptación del método de tensión isométrica (2) en un baño de órganos en presencia y ausencia de calcio, respectivamente. La estructura de la pared se estudió mediante microscopía confocal de fluorescencia (3) en secciones longitudinales intactas teñidas con un colorante nuclear y anticuerpos de colágeno.

RESULTADOS. Los estudios de microscopía confocal permiten determinar la ubicación y número de las distintas células, la distribución de colágeno y de elastina de la pared venosa. Las técnicas de tensión isométrica permiten evaluar la respuesta venosa a agentes contráctiles y vasodilatadores y la respuesta pasiva del vaso a la deformación mecánica y la contribución relativa de la elastina.

CONCLUSIONES. Los resultados obtenidos por el momento evidencian diferencias cuantitativas y cualitativas en la distribución celular, de colágeno y de elastina, que afectan al comportamiento mecánico de las venas varicosas. Consideramos que la combinación de estas técnicas permitirá un importante avance en el estudio fisiopatológico de la insuficiencia venosa.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1) Walli, M.A. et al. *Int. Angiol.* 21:337-343, 2002
- 2) Angus J.A. and Wright C.E. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 44:395-407, 2000
- 3) Arribas S.M. et al. *J Physiol* 584: 5-9, 2007.