

46  
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**



**EFFECTO DE LA NIFEDIPINA, PROPRANOLOL  
Y NITROGLICERINA SOBRE EL  
MUSCULO LISO VASCULAR**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

**P R E S E N T A :**

**JAQUELINE SERRANO ORTIZ**

**DIRECTOR DE TESIS :**

**M. EN C. LUISA MARTINEZ AGUILAR**

**CUAUTITLAN IZCALLI. EDO. DE MEX.**

**1992**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

	pág.
<b>RESUMEN</b>	
<b>1) INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>2) GENERALIDADES</b> .....	<b>2</b>
2.1 Hipertensión Arterial.....	8
2.2 Farmacología de los fármacos antihipertensivos. ....	9
2.2.1 Concepto de antihipertensivos.....	9
2.2.2 Clasificación farmacológica de los antihipertensivos .....	10
2.2.3 Modo y mecanismo de acción de los fármacos antihipertensivos.....	11
2.3 Modelos experimentales en la Hipertensión arterial. ....	27
2.3.1 "in vivo" Modelos en rata.....	27
2.3.2 "in vitro" Modelos en rata.....	32
<b>3) OBJETIVOS</b> .....	<b>33</b>
<b>4) MATERIAL Y METODOS</b> .....	<b>34</b>
4.1 Curvas de viabilidad a la adrenalina en anillos de aorta de rata.....	34
4.2 Curvas dosis respuesta a la adrenalina.....	35

4.3 Efecto de la nifedipina, en anillos de aorta precontraídos con adrenalina .....	36
4.4 Efecto del propranolol en anillos de aorta precontraídos con adrenalina .....	37
4.5 Efecto de la nitroglicerina en anillos de aorta precontraídos con adrenalina .....	37
5) RESULTADOS .....	39
5.1 Curvas de viabilidad a la adrenalina en anillos de aorta de rata .....	39
5.2 Curvas dosis respuesta a la adrenalina .....	45
5.3 Efecto de la nifedipina en anillos de aorta precontraídos con adrenalina .....	52
5.4 Efecto del propranolol en anillos de aorta precontraídos con adrenalina .....	55
5.5 Efecto de la nitroglicerina en anillos de aorta precontraídos con adrenalina .....	57
6) DISCUSION DE RESULTADOS .....	62
7) CONCLUSIONES.....	68
8) BIBLIOGRAFIA .....	69

LISTA DE FIGURAS

	pág.
fig. ( 1 ) Formula estructural de algunos diuréticos de importancia en la terapia antihipertensiva .....	13
fig. ( 2 ) Formula estructural de algunos fármacos simpaticolíticos .....	15
fig. ( 3 ) Interacción de algunos fármacos simpaticolíticos con los receptores adrenérgicos .....	17
fig. ( 4 ) Formula estructural de otros ejemplos de fármacos simpaticolíticos .....	19
fig. ( 5 ) Regulación de la actividad contráctil del músculo liso vascular dependiente de $Ca^{++}$ .....	21
fig. ( 6 ) Formula estructural de algunos fármacos vasodilatadores .....	22
fig. ( 7 ) Esquema representativo del posible papel homeostático del sistema renina angiotensina .....	24
fig. ( 8 ) Formula estructural de algunos inhibidores de la ECA .....	26
fig. ( 9 ) Esquema representativo del modelo experimental de hipertensión en rata anestesiada .....	31
fig. ( 10 ) Esquema representativo de una cámara de organo aislado para anillo de aorta de rata .....	35
fig. ( 11 ) Esquema representativo del registro obtenido en las pruebas de viabilidad de tejido aislado .....	40

LISTA DE FIGURAS

( continuación ).

pág

fig. ( 12 ) Registro obtenido en el protocolo experimental de curva dosis respuesta a la adrenalina en anillo de aorta de rata .....	48
fig. ( 13 ) Efecto vasodilatador de la nitroglicerina, propranolol y nifedipina sobre la contracción inducida por adrenalina en anillos de aorta de rata .....	55

LISTA DE CUADROS

pág.

Cuadro ( 1 ) Resultados del Experimento 1 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	41
Cuadro ( 2 ) Resultados del Experimento 2 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	41
Cuadro ( 3 ) Resultados del Experimento 3 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	42
Cuadro ( 4 ) Resultados del Experimento 4 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	42
Cuadro ( 5 ) Resultados del Experimento 5 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	43
Cuadro ( 6 ) Resultados del Experimento 6 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	43
Cuadro ( 7 ) Resultados del Experimento 7 de	
Curvas de viabilidad en anillo de aorta de rata .....	44
Cuadro ( 8 ) Resultados de los experimentos individuales y promedio de las Curvas dosis respuesta a la adrenalina (serie experimental 1) .....	49
Cuadro ( 9 ) Resultados de los experimentos individuales y promedio de las Curvas dosis respuesta a la adrenalina (serie experimental 2) .....	51
Cuadro ( 10 ) Resultados experimentales del efecto de la nifedipina en anillo de aorta precontraída con adrenalina .....	56

LISTA DE CUADROS

( Continuación )

pág.

Cuadro ( 11 ) Resultados experimentales del efecto de  
propranolol en anillo de aorta precontraída con  
adrenalina ..... 58

Cuadro ( 12 ) Resultados experimentales del efecto de  
la nitroglicerina en anillo de aorta  
precontraída con adrenalina ..... 60

## LISTA DE GRAFICOS

pág.

gráf. ( 1 ) Curvas Dosis respuesta a la adrenalina, serie experimental 1 .....	50
gráf. ( 2 ) Curvas Dosis respuesta a la adrenalina, serie experimental 2 .....	52
gráf. ( 3 ) Linearización de la Curva dosis respuesta a la adrenalina serie experimental .....	53

## RESUMEN

Efectivamente, se sabe que el tejido aislado puede ser usado para obtener información acerca del posible mecanismo de acción de los fármacos así como de sus receptores (1). Esta información puede ser valiosa en la definición de la acción de los fármacos y en la designación de más agentes terapéuticos efectivos en el hombre (2).

En este estudio se propone manifestar la utilidad del modelo de anillo de aorta para estudiar el efecto de tres fármacos vasodilatadores con diferente mecanismo de acción sobre la respuesta contráctil a la adrenalina.

Se estableció la viabilidad y sensibilidad del anillo de aorta a la adrenalina al obtener respuestas similares en la misma preparación cada vez que se exponía a una concentración igual. En otra parte del protocolo se realizaron curvas dosis respuesta a la adrenalina, encontrándose una relación entre la dosis y el efecto. Al graficar estos resultados se observa que la respuesta inicial nos da un efecto muy significativo, por lo que se decidió repetir el experimento adicionando tres dosis menores a las que se tenían.

Para comprobar la utilidad de este modelo sobre los efectos vasodilatadores de los fármacos antihipertensivos, se probaron tres fármacos que actúan por diferente mecanismo de acción a saber el propranolol, la nifedipina y la nitroglicerina. Los resultados obtenidos muestran que el propranolol la nifedipina y la nitroglicerina presentaron relajación en las preparaciones aisladas de músculo liso (anillo de aorta).

## 1) INTRODUCCION

En la actualidad, la hipertensión arterial es uno de los padecimientos cardiovasculares que ha adquirido mayor importancia (9,4). Se sabe que influye importantemente en el desarrollo de las infecciones aterosclerosas, ó sea accidentes cerebrovasculares, infarto del miocardio y muerte súbita no traumática (4).

Como factor de riesgo, la hipertensión arterial es uno de los elementos que tiene mayor relación causal con el proceso ateroscleroso. Hay numerosas pruebas en favor de que la disminución de las cifras tensionales puede disminuir las complicaciones comunes, como se ha visto en la insuficiencia renal y los accidentes cerebrovasculares (4).

Según las estadísticas de vida promedio en México, entre 1969 y 1974 el número de defunciones anuales por enfermedad hipertensiva ha sido de 2000 a 2500 por 100,000 habitantes (4).

Debido a la alta mortalidad que se observa en esta enfermedad, se hace necesaria la búsqueda de nuevos fármacos antihipertensivos. Los modelos experimentales que se utilizan con este fin son: el modelo de rata desmedulada y descerebrada, el modelo de hipertensión mineralocorticoide, el modelo experimental de hipertensión renal de Goldblatt de uno y dos riñones y el modelo de anillo de aorta.

## 2) GENERALIDADES.

Cuando el ventrículo izquierdo se contrae, expulsa sangre hacia las arterias de la circulación general, crea presión que lo impulsa por todo el árbol arterial. La regulación de la presión arterial es uno de los temas más importantes de la fisiología de la circulación, y la hipertensión uno de los trastornos más comunes del cuerpo (a).

Presión arterial pulsátil. La presión sanguínea es la fuerza ejercida por la sangre contra la pared de los vasos sanguíneos (a). En lugar de impulsar un torrente continuo, el corazón expulsa un pequeño volumen de sangre con cada latido. En consecuencia la presión se eleva durante la sístole pero disminuye durante la diástole (a).

Hemodinámicamente, la presión sanguínea refleja la cantidad de sangre bombeada por el corazón ( gasto cardíaco ) y la distensibilidad del árbol arterial (a).

Regulación de la presión arterial. Básicamente se reconocen dos tipos de mecanismos mutuamente relacionados, para la regulación de la presión arterial: 1) Control nervioso. 2) Factores humorales, 3) Otros factores.

Control nervioso. Las alteraciones en frecuencia y contractilidad cardíaca, y en el grado de contracción de las

celulas de los vasos de resistencia y capacitancia estan gobernados por la actividad de nervios que conectan el sistema nervioso central con la periférica cardiovascular (67).

El flujo simpatico ( nervios adrenergicos ) a los vasos sanguineos perifericos se origina en neuronas localizadas en el centro vasomotor. La mayoria de las fibras postganglionares simpaticas liberan norepinefrina de sus terminales. Dependiendo del tejido, la unión de norepinefrina a su receptor tiene diferentes características farmacológicas. los receptores adrenergicos se dividen en  $\alpha$  y  $\beta$ . En el corazón la norepinefrina liberada se une principalmente a los receptores adrenergicos, causando un incremento en la frecuencia cardiaca, velocidad de conducción y contráctilidad, como consecuencia, el gasto cardiaco se incrementa. En los vasos sanguineos arteriales, la estimulación simpática da como resultado vasoconstricción y por lo tanto una resistencia vascular. También causa constricción venosa y por lo tanto un incremento en la resistencia. Las respuestas constrictoras arteriolares y venosas a la estimulación simpática y a la norepinefrina son mediadas predominantemente por la activación de receptores  $\alpha_1$  (8,9,10).

Los barorreceptores. Son terminaciones nerviosas que se encuentran en las paredes de las arterias carótidas internas (senos carotídeos) y en las paredes del arco aortico, y son estimuladas por la distensión. Los receptores transmiten sus impulsos hasta el

sistema nervioso central. Cuando la presión sanguínea se incrementa, los impulsos barorreceptores inhiben el centro simpático del bulbo y excitan el centro vagal. El efecto neto es: 1) vasodilatación en toda la circulación periférica y 2) disminución de la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción. Por lo tanto la excitación de los barorreceptores origina por vía refleja aumento de la presión arterial hacia los valores normales (4,5,6).

Los quimiorreceptores son células quimiosensibles que se han descrito en la aorta, las arterias carótidas, el corazón y los pulmones. Se estimulan los quimiorreceptores cuando se reduce la disponibilidad de oxígeno y por el exceso de bióxido de carbono y de iones hidrogeno que no se eliminan por la lentitud del flujo de la sangre. Las señales de los quimiorreceptores son transmitidas al centro vasomotor para excitarlo, y este aumenta en forma refleja la presión arterial para regresarla a valores normales (5,6,7,8).

Barorreceptor cardiopulmonar. Estos receptores sensibles al estiramiento están localizados en las arterias pulmonares y en las aurículas. A causa de que la presión sanguínea que prevalece en estas partes del sistema circulatorio es baja, estos receptores se llaman "receptores de presión baja". La información aferente de estos receptores viaja tanto con las fibras vagales como con las fibras simpáticas. Ya que estos receptores se localizan en la parte

de capacitancia de "presión baja" del sistema circulatorio, se sugiere que estos receptores perciben el grado de llenado de la circulación. Algunos estudios indican que las alteraciones en la actividad del reflejo cardiopulmonar afectan la resistencia renal vascular y el flujo sanguíneo renal via cambios en la actividad nerviosa simpática renal. Estudios recientes apoyan una influencia directa a bajas frecuencias de actividad del nervio simpático renal aferente sobre el proceso de reabsorción tubular, por lo tanto se sugiere que el reflejo cardiopulmonar contribuye a la homeostasis de volumen y a mantener el balance ácido base (c.p.).

#### Control por factores humorales.

**Glándulas adrenales.** La estimulación del sistema nervioso simpático ( SNS ) provoca no solo la activación nerviosa directa de vasos sanguíneos y del corazón; también causa la liberación de epinefrina y norepinefrina por la medula suprarrenal. estas provocan en el sistema circulatorio esencialmente los mismos efectos que una estimulación simpática directa (c.p.).

**Sistema renina angiotensina.** El principal sitio de síntesis y liberación de renina es el aparato yuxtaglomerular en el riñón. En el plasma la renina circula primariamente en forma inactiva. Algunas enzimas proteolíticas tales como la tripsina, kalikreina o pepsina pueden ser capaces de activar a la renina (c.p.). La liberación de la renina esta gobernada por la actividad nerviosa

simpática eferente renal via una actividad estimuladora de receptores  $\alpha$ . La presión transmural en las arteriolas aferentes a nivel de células yuxtaglomerulares y los quimiorreceptores de la mácula densa que perciben cambios en la frecuencia, liberación y contenido de fluido tubular. Después de su liberación y conversión a forma activa, la renina actúa sobre la globulina  $\alpha_2$  del plasma, el angiotensinógeno, para producir angiotensina I, la cual interactúa con una enzima convertidora de angiotensina para proporcionar la angiotensina II, esto ocurre principalmente en pulmones y vasos sanguíneos periféricos. La angiotensina II presenta un número de efectos en el sistema cardiovascular y también facilita la liberación de norepinefrina en la unión neuroefectora adrenérgica  $\alpha_1$ , además actúa sobre la corteza suprarrenal estimulando la síntesis y liberación de aldosterona causando un aumento en la retención de sodio y agua, con aumento del volumen del líquido extracelular y de sangre circulante, lo cual incrementa el gasto cardíaco  $\alpha$ .

**Aldosterona.** Su papel en la regulación de la presión sanguínea está relacionado con los efectos de esta hormona sobre la reabsorción tubular. Los factores primarios que influyen en la secreción de aldosterona por las cápsulas suprarrenales, incluyen el nivel de hormona adrenocorticotrófica en el plasma, la concentración de angiotensina II y la concentración de potasio en el fluido extracelular  $\alpha, \beta$ .

**Hormona antidiurética.** Los factores que determinan la liberación de esta hormona antidiurética a partir de la neurohipófisis son el osmorreceptor hipotalámico y un control no osmótico, que se sugiere ocurre vía barorreceptores de alta y baja presión. La información aferente de estas vías es transferida al sistema nervioso central. Los dos efectos más prominentes de la hormona antidiurética son que incrementa la permeabilidad tubular de agua y que causa vasoconstricción (6,10,27).

**Hormona natriurética.** La evidencia original para la existencia de tal hormona se basó en experimentos en los cuales el volumen del fluido extracelular en animales fue expandido rápidamente, en tales animales pudo ser aislada una sustancia circulante contribuyente del control de la excreción urinaria de sodio (9,14). En estudios más recientes algunos autores sugieren la existencia de inhibidores del transporte endógeno de sodio (4). Esta sustancia podría tener un efecto general sobre el transporte activo de sodio incluyendo transporte tubular renal (4).

**Otros factores. Factor de Relajación del Endotelio (FRDE).** Diversas sustancias endógenas producen relajación arterial dependiente del endotelio vascular. Este tejido, cuando es estimulado por tales sustancias, libera un compuesto inestable de corta duración el FRDE (factor relajante del endotelio) el cual difunde y actúa sobre el músculo liso vascular adyacente,

relajándolo, el calcio y el ATP ( adenosintrifosfato ) parecen desempeñar un papel crítico en la liberación de dicho factor (11,12,13).

No obstante que los inhibidores de la fosfolipasa y de la lipoxigenasa evitan la relajación dependiente del endotelio vascular, sugiriendo que el FRDE es un metabolito del AA ( ácido aráquidónico ) la falta de especificidad de estos bloqueadores ha dificultado el llegar a resultados concluyentes (14,15).

Numerosos resultados experimentales apoyan la sugerencia de que el FRDE actúa estimulando a la guanilato ciclasa en el músculo liso vascular, lo que conduce a un incremento de GMP cíclico. Esto provoca un cambio en el patrón de fosforilación de proteínas, incluyendo defosforilación de la cadena ligera de la miosina, lo cual se asocia con relajación arterial (17,18).

## 2.1. Hipertensión arterial.

Según los expertos de la OMS ( organización mundial de la salud ), el término de hipertensión arterial designa un aumento de la presión de la sangre de las arterias que corresponde a una enfermedad de etiología múltiple y patogenia plurifactorial que se caracteriza clínicamente por la elevación de la presión arterial mínima o diastólica por encima de los 90 mm de mercurio en personas de menos de 45 años medida en condiciones basales (19).

Clasificación de la hipertensión. La hipertensión se puede clasificar en a) hipertensión secundaria b) hipertensión esencial (3,10).

Hipertensión secundaria. es cuando el aumento de presión arterial es consecuencia de otro trastorno o puede atribuirse a una causa plenamente identificada (3,10,20), como ejemplos de este tipo de hipertensión podemos nombrar la hipertensión renal, el hiperaldosteronismo primario, el Síndrome de Cushing y la coartación de la aorta (3,10).

Hipertensión esencial. aproximadamente en un 90% de los pacientes con hipertensión se desconoce la causa del incremento anormal en la presión sanguínea. En este tipo de hipertensión es evidente que un trastorno simple, no parece ser el responsable (3,10). La hipertensión parece ser causada por una combinación de diversas anomalías (20).

## 2.2) Farmacología de los fármacos antihipertensivos.

### 2.2.1) Concepto de antihipertensivos

Con el nombre de hipotensores se designan los agentes que provocan descenso de la presión arterial; como se emplean en la hipertensión arterial se les denomina también antihipertensivos (22).

2.2.2. CLASIFICACION FARMACOLOGICA DE LOS ANTIHIPERTENSIVOS. Por su sitio primario o mecanismo de acción (2).

A) Diuréticos

1. Tiazidas y agentes relacionados (hidroclorotiazida, hidroflumetizida, ciclotiazida, clortalidona etc).
2. Diuréticos del asa (furosemida, bumetamida, ácido etacrínico)
3. Diuréticos ahorradores de potasio (triamtireno, espironolactona, amilorida).

B) Fármacos Simpaticolíticas

1. Agentes de acción central (metildopa, clonidina, guanabenz, guanfacina)
2. Antagonistas,  $\beta$ -adrenérgicos (propranolol, metoprolol)
3. Antagonistas  $\alpha$ -adrenérgicos (prazosin, fenoxibenzamina, fentolamina)
4. Antagonistas mixtos (labetalol)
5. Agentes bloqueadores adrenérgicos (guanetidina, guanatrel, reserpina)
6. Agentes bloqueadores ganglionares (trimetafán)

C) Vasodilatadores

1. Arteriales (hidralazina, minoxidil, diazóxido, bloqueadores de los canales de calcio).
2. Arteriales y venosos (nitroglicerina, dinitrato de isorbide, nitrito de isorbide, nitroprusiato etc ).

D) Inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (captopril, enalapril)

2.2.3. MODO Y MECANISMO DE ACCION DE LOS FARMACOS ANTIHIPERTENSIVOS (21,22).

#### A) DIURETICOS

Las Tiazidas y los compuestos relacionados constituyen los agentes antihipertensivos más frecuentemente usados. Probablemente, sus efectos sean múltiples e incluyan reducción del volumen de líquido intersticial con la consiguiente reducción de la rigidez de la pared vascular. Además de la saluresis inducida por la droga.

Diuréticos que actúan a nivel del asa de Henle. (Furosemida y ácido etacrínico), actúan principalmente inhibiendo la reabsorción de electrolitos en la rama ascendente del asa de Henle (21,23).

Diuréticos ahorradores de potasio. Espiro lactona y compuestos similares, se consideran antagonistas competitivos de la Aldosterona disminuyendo la reabsorción de sodio y la secreción de potasio (21,24).

Modo de acción de los diuréticos antihipertensivos. puede aceptarse que los diuréticos, por la depleción de agua y sodio que producen, disminuyen el volumen sanguíneo con la consiguiente reducción del retorno venoso al corazón y disminución del gasto

cardíaco por lo que la presión arterial desciende (22). La fig. 1 nos muestra la estructura de algunos fármacos pertenecientes a este grupo.

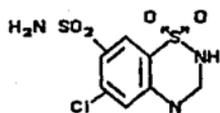
#### B) AGENTES SIMPATICOLÍTICOS.

**Agentes de acción central.** Modo de acción. La clonidina ( y sus afines, guanabenz y guanfacina) y la metildopa son útiles agentes antihipertensivos que actúan inhibiendo la salida del tránsito neural simpático del SNC (Sistema Nervioso Central)(22). Algunos ejemplos de este grupo se pueden observar en la fig. 2.

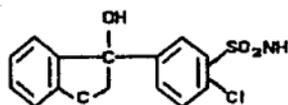
**Metildopa.** Actualmente se cree que la metildopa ejerce su efecto hipotensor dentro del SNC en virtud de su conversión a  $\alpha$ -metilnoradrenalina, un potente agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico. Por analogía con las acciones de la clonidina, esto llevaría a una disminución del flujo simpático desde el SNC (23).

**Clonidina.** Sus acciones principales son las de un agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico de acción central, la clonidina es claramente sólo un agonista parcial y así sus efectos en un sitio dado depende de la concentración endógena de noradrenalina. Si la concentración (es decir la tasa de liberación) de noradrenalina es alta, la clonidina parece estar actuando como un antagonista. Otros agonistas  $\alpha_2$ -adrenérgicos de acción central son el guanabenz y la guanfacina, por lo que actúan de manera similar (21,24).

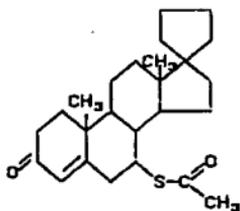
**Antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos.** Propranolol. Es un agente bloqueador  $\beta_1$ -adrenérgico no selectivo muy potente, sin actividad simpaticomimética intrínseca. se sabe que los agonistas



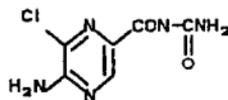
Hidroclorotiazida.



Clortalidona



Espirolactona



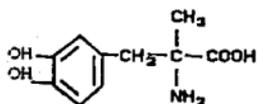
Amilorida

fig.(1) Formula estructural de algunos diureticos de importancia en la terapia antipertensiva.

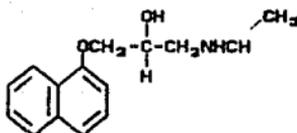
despues de la estimulación nerviosa simpática podría contribuir a los efectos antihipertensivos del fármaco. Existen además bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos selectivos como es el caso de metoprolol, acebutol, atenolol etc. (8,20).

**Antagonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos.** Los agentes bloqueadores  $\alpha$ -adrenérgicos se unen selectivamente a la clase de receptores adrenérgicos y así interfieren en la capacidad de las aminas simpaticomiméticas para iniciar acciones en estos sitios. La fenoxibenzamina ( y su congénere la dibenamina ) se unen en forma covalente al receptor alfa y producen un tipo de bloqueo irreversible e insuperable. La fentolamina, la talazolina y el prazosin se unen de modo reversible y antagonizan las acciones de las aminas simpaticomiméticas competitivamente (21,23). La interacción entre estos fármacos y su sitio receptor es mostrada en la fig. 3

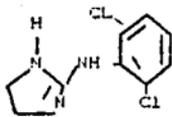
**Prazosin.** El prazosin es el primer miembro de una clase de antagonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos periféricos que derivan de la quinazolina. El mecanismo de acción del prazosin es el bloqueo competitivo de los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos vasculares postsinápticos. La selectividad permite que el prazosin bloquee la respuesta contráctil del músculo liso vascular a la noradrenalina sin interferir con su actividad en los sitios  $\alpha_2$  (8,20), vease su estructura en la fig. 2



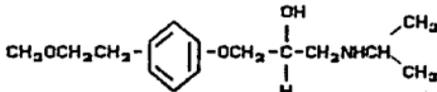
a) Metildopa



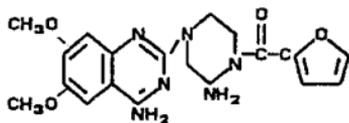
b) Propranolol



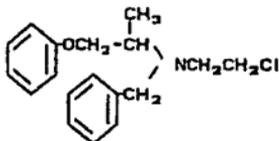
b) Clonidina



b) Metoprolol



c) Prazosin.



c) Fenoxibenzamina.

fig.( 2 ) Formula estructural de los fármacos simpaticolíticos.  
 a)Agentes de accion central. b) Antagonistas β-adrenérgicos.  
 c)Antagonistas α-adrenergicos.

mixto de actividad bloqueadora  $\beta$  adrenergica no selectiva y bloqueadora  $\alpha_1$  selectiva. tambien inhibe la recaptación de norepinefrina en terminaciones nerviosas. Su formula estructural aparece en la fig.4

Agentes bloqueadores  $\beta$ -adrenergicos. Todos los  $\beta$ -bloqueantes tienen capacidades para reducir la presion arterial. Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual tal bloqueo reduce la presión arterial durante su administracion cronica no se ha establecido, los mas plausibles parecen ser una combinación de reducción de volumen minuto e inhibición de la secrecion de renina. Ambos efectos son resultado del bloqueo de receptores  $\beta_1$ -adrenergicos. (21,24). En la fig.3 se muestra la interacción de estos fármacos con su receptor.

Reserpina. La reserpina antagoniza la captación de norepinefrina por los granulos cromafinicos aislados, aparentemente al inhibir el mecanismo de captacion de la membrana de los granulos que depende de  $ATP-Mg^{2+}$ . Esto puede ser irreversible pues al parecer la restauración de las reservas intraneuronales normales de norepinefrina depende del transporte de nuevas vesiculas de almacenamiento por el axón. Su formula estructural se puede apreciar en la fig.4

Guanadrel y Guanetidina. tienen propiedades farmacologicas semejantes y parecen ejercer su accion antihipertensiva bloqueando la liberación de norepinefrina de terminaciones nerviosas adrenergicas (23,24).



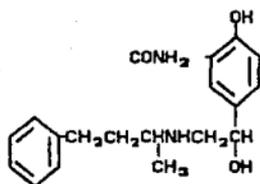
**Agentes bloqueadores ganglionares.** Hexametonio y Trimetafan. (Véase la fig.4) Estos agente deterioran la transmisión compitiendo con ACh ( acetilcolina ) por sitios receptores colinérgicos ganglionares o bloqueando el canal cuando esta abierto. El trimetafan actua por competencia con ACh analoga al mecanismo de acción del curare en la unión neuromuscular. EL bloqueo del canal con hexametonio parece producirse despues que aquel se abre. Esto acorta la duracion del flujo de corriente, porque el canal abierto se ocluye o cierra. El potencial postsináptico excitatorio inicial (EPSP) se bloquea y la transmision ganglionar se inhibe (21,22).

modo de accion.El bloqueo de los ganglios simpaticos interrumpe el control adrenergico de las arteriolas y produce vasodilatación, mejor circulación sanguínea periférica en algunos lechos vasculares, y un descenso en la presión arterial (21,22).

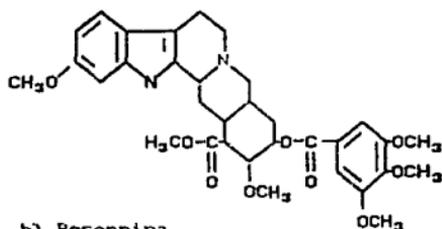
### C) VASODILATADORES.

**Arteriales.** Hidralazina. La hidralazina causa una relajación directa del músculo liso vascular arteriolar. El mecanismo de este efecto puede ser similar al de los nitratos orgánicos ya que parece involucrar la activación de la guanilato ciclasa y acumulación de guanosina 3',5'-monofosfato (GMP cíclico).

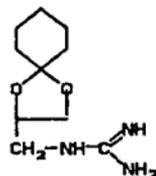
Minidoxil, es un potente vasodilatador actua directamente sobre las células del músculo liso vascular y su mecanismo de acción probablemente sea similar al de la hidralazina.



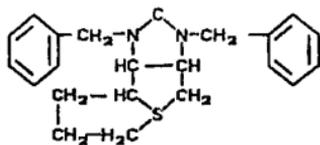
a) Labetalol



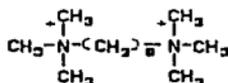
b) Reserpina.



b) Guanadrel.



c) Trimetafán



c) hexametonio.

fig (4) Formulas estructurales de algunas drogas simpaticolíticas.

a) Antagonistas mixtos, b) Agentes bloqueadores adrenérgicos, c) Agentes bloqueadores ganglionares.

bloqueadores del canal de calcio. Fleckenstein sugirió que el mecanismo de acción de estos agentes estaba relacionado con la inhibición de la entrada de calcio en las células o su movilización desde depósitos intracelulares, otros sugieren que estimula la expulsión del calcio ya sea expulsando el calcio activamente a expensas de energía metabólica a través de la hidrólisis de ATP ó por intercambio del calcio con alguna otra partícula que se mueve para bajar su gradiente electroquímico. Otros proponen que algunos antagonistas del calcio interactúan con la calmodulina o inhiben la entrada de calcio a través de los canales operados por receptor como es el caso del verapamil. Los posibles sitios de acción de los antagonistas de calcio aparecen en la fig. 5

Arteriales y venosos. Nitrovasodilatadores. Existe fuerte evidencia experimental de que los nitrovasodilatadores actúan estimulando a la guanilato ciclasa en el músculo liso vascular, lo que conduce a incrementos del GMP cíclico y en la actividad de la proteína cinasa dependiente de GMP cíclico, que provocan cambios en la fosforilación de proteínas incluyendo defosforilación de la cadena ligera de la miosina proceso que se relaciona con la vasodilatación, el efecto relajante parece asociarse a disminución en la disponibilidad del calcio intracelular. Los nitrovasodilatadores parecen actuar a través del radical libre

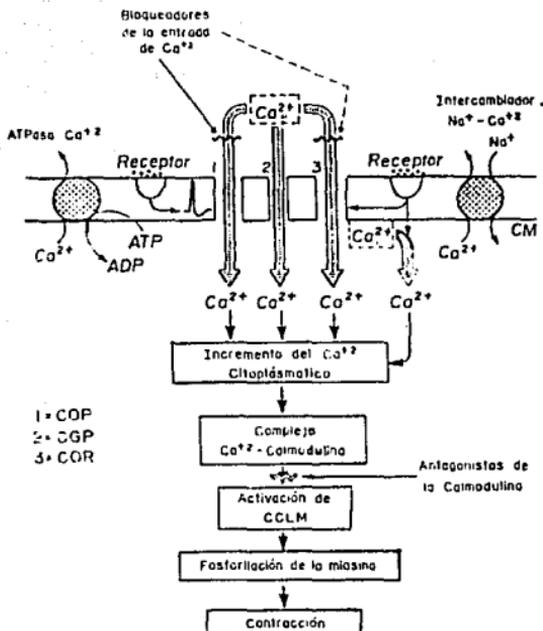
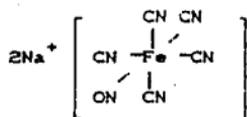
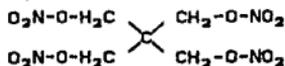


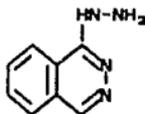
Fig. (5B) Regulación de la actividad contráctil del músculo liso vascular dependiente del calcio. Los niveles de calcio citoplasmático se incrementan por la entrada de calcio a través de canales operados por potencial (1, COP) una vía de "goteo" pasivo de calcio (2, CGP) entrada de calcio que ocurre en condiciones de reposo) y canales de calcio accionados por el receptor (3, COR). La ocupación del receptor por un agonista específico (...) también puede inducir liberación de calcio a partir de almacenes intracelulares o puede despolarizar (...) la membrana celular y activar los canales accionados por el potencial. El calcio activa la cinasa de la cadena liviana de la miosina (CCLMD) al unirse a la calmodulina. La cinasa de la cadena liviana de la miosina activada, cataliza la fosforilación de la miosina, lo cual incrementa las interacciones entre la actina y la miosina dando como resultado la contracción. Los niveles de calcio citoplasmático disminuyen por la operación de bombas en la membrana celular, incluyendo una ATPasa de calcio (a la izquierda) y un cotransportador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (a la derecha) que promueve la salida del calcio. = inhibido por los bloqueadores de la entrada de calcio. = inhibido por compuestos hidrofóbicos incluyendo la pimozida y la trifluoperazina. (Tomado de la Ref. 9).



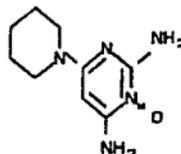
a) Nitroprusiato de sodio.



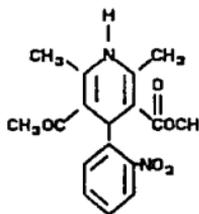
a) Tetranitrato de pentaetriol.



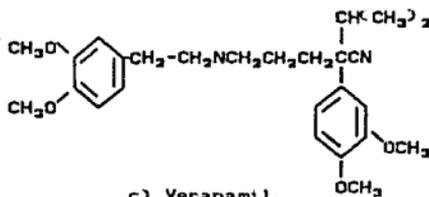
b) Hidralazina.



b) Minoxidil.



c) Nifedipina.



c) Verapamil.

Fig.( B ). Formula estructural de algunos farmacos vasodilatadores.

a) Nitrovasodilatadores ( vasodilatadores arteriales y venosos );

b) vasodilatadores arteriales; c) bloqueadores del canal de calcio

(vasodilatadores arteriales y venosos ).

reactivo oxido nitrico (NO) que liberan de los S-nitrosoles formados al interactuar dicho radical con grupos SH tisulares o por medio de ambos mecanismos. Se ha sugerido la existencia de receptores intracelulares especificos para estos compuestos, los cuales tendrian un grupo SH o hemo en su sitio activo (20). Dentro de este grupo de fármacos se incluyen nitratos organicos como la nitroglicerina y el dinitrato isorbide, nitratos como el de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ) y el de amilo, nitroprusiato de sodio (NPN), nitroso compuesto etc. (20, vease la fig. 6

#### INHIBIDORES DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA.

**Antagonistas de la angiotensina II.** Los antagonistas utiles de la angiotensina II son congenerees levemente modificados en los cuales la actividad agonista esta profundamente atenuada por el remplazo de fenilalanina en posicion 8 con algun otro aminoácido (21,23).

**Saralasin.** La saralasin y drogas relacionadas compiten con la angiotensina II por sus receptores. Dado que su actividad agonista residual es de solo aproximadamente 1% de la angiotensina II, se comportan como inhibidores competitivos en presencia de esta ultima. En ausencia del péptido actuan como esta (21,24)

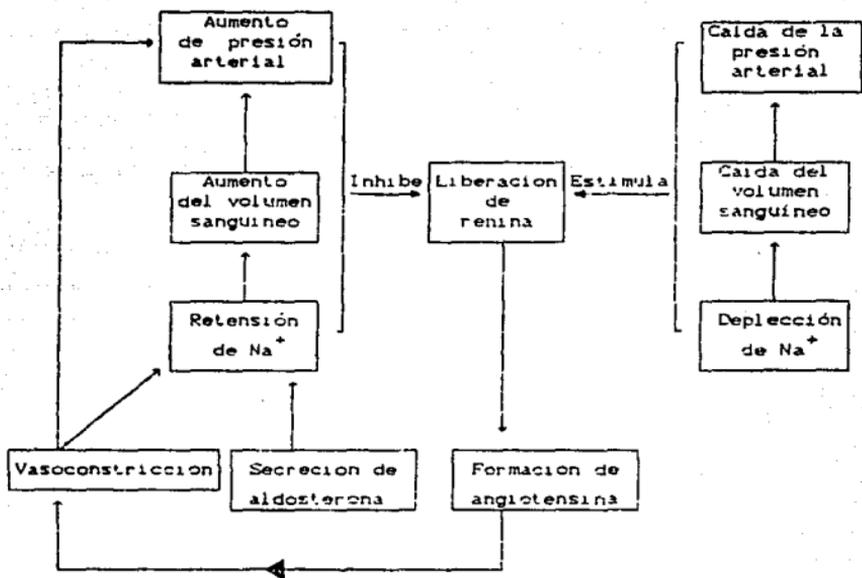


Fig ( 7 ) Esquema representativo del posible papel homeostático del sistema renina angiotensina, tomado de la ref 21.

Inhibidores de la ECA (Enzima de conversión). Captopril, Bloquea la conversión de angiotensina I relativamente inactiva en angiotensina II, no bloquea las respuestas a la angiotensina I y carece de actividad agonista. Su efecto antihipertensivo lo ejerce al bloquear la dipeptidildipeptidasa, enzima encargada de la formación de angiotensina II, iniciada por la renina circulante, adicionalmente dicha enzima también actúa inhibiendo la bradicina, por lo que al bloquear a la enzima convertidora, se produce un aumento del autacoide, lo cual también puede contribuir al efecto antihipertensivo del captopril. Entre los fármacos en investigación de este tipo podemos mencionar al enalapril (21,22). La estructura de estos fármacos se aprecia en la fig.8

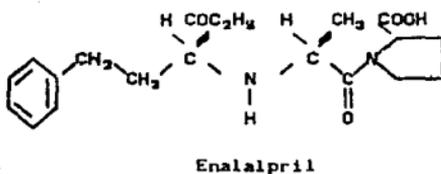
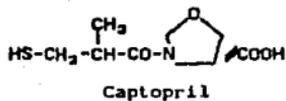


Fig ( 8 ) Formulas estructurales del Captopril y Enalapril, ambos inhibidores de la ECA (enzima de conversión de angiotensina).

2.3 Modelos experimentales en la hipertensión arterial. Al tener diferentes formas de hipertensión originadas por diferentes causas un solo modelo para el estudio de la hipertensión no es suficiente, por lo que se ofrece a continuación una breve revisión de los modelos experimentales más conocidos.

### 2.3.1 "in vivo" Modelos en rata.

Modelo experimental de rata desmedulada. También llamado de "hipertensión neurogénica" es producido por sección de los nervios amortiguadores, los cuales transmiten por impulso de los barorreceptores arteriales a la médula oblonga (28). Este modelo es ideal para estudiar las respuestas presoras inducidas por los agonistas adrenérgicos alfa, además de que permite eliminar gran parte de la influencia que tiene el SNC (sistema nervioso central) sobre la regulación de la presión arterial, y así tener la seguridad de que los cambios de tal parámetro se deben principalmente a la activación de los receptores adrenérgicos  $\alpha$  previo bloqueo de los receptores  $\beta$  (27,29,30,31).

Resumiendo este modelo consiste en lo siguiente. Las ratas son desmeduladas y descerebradas utilizando un estilete de acero el cual es insertado en la fisura infraorbital produciendo destrucción inicial del encefalo y a continuación de la médula espinal por introducción del estilete a través del canal medular (27,27) después se seccionan los nervios vagos a nivel cervical, la presión arterial es medida mediante el modelo de rata anestesiada (32).

**Modelo experimental de hipertensión encefálica.** Este modelo se consigue mediante una inyección de caolín en la cisterna magna, mismo que se produce por el bloqueo que ocasiona el caolín en las vías linfáticas de reabsorción del líquido cefalorraquídeo, produciéndole entonces un aumento de la presión endocraneana y por consiguiente de la presión arterial (28). Este modelo puede ser aplicable a rata, ratón y conejo. Una vez producida la hipertensión se pueden hacer estudios con fármacos antihipertensivos, en los que se mide la presión arterial ya se esfigmomanométricamente (29), o con el método de rata anestesiada que se describe más adelante.

**Modelo experimental de un riñón y de dos riñones tipo Goldblatt.** Al buscar un componente renal para la hipertensión esencial Goldblatt y Col en 1934 pusieron pinzas en ambas arterias renales de perros. Más tarde las pinzas se insertaron en varias ocasiones, de tal manera que se pudiera observar el efecto de la obstrucción unilateral. Sin embargo, según el grado de constricción aplicada, la oclusión unilateral producía solo hipertensión transitoria, para obtener hipertensión permanente, era necesario pinzar ambas arterias renales o poner una pinza en una y extirpar el otro riñón (30,31).

Desde la publicación del trabajo de Goldblatt la hipertensión renovascular ha sido inducida en ratas, conejos, borregos y monos. Aunque se han observado algunas diferencias en la duración de la hipertensión, se han podido establecer las siguientes conclusiones: el análogo experimental de la hipertensión

renovascular en el hombre es el pinzamiento unilateral de la arteria renal sin extirpar el otro riñón. es decir, " la hipertension de Goldblat con dos riñones y una pinza ". Cuando una arteria renal se ocluye con una grapa y el otro riñón se extirpa, es decir la hipertension de Goldblat de un riñón se introduce otra causa importante de retención de sodio, sencillamente debido a carencia relativa de masa renal funcional. Asi pues esto representa un modelo de hipertension renovascular, junto con enfermedad cronica del parenquima renal (8,33,34)

Un incremento en la liberación de renina es la causa de la elevacion inicial en la presión arterial en ambos modelos. Pero cuando alguno de los riñones no ha sido pinzado, la retención de sodio causada por la sintesis de aldosterona, que a su vez se debe a la estimulación de la angiotensina se vuelve mas importante y se presenta mas rapido en el modelo de una pinza y un riñón (11,33,36).

Modelo experimental de hipertension mineralocorticoide. Es ocasionada por la excesiva produccion y liberación de esteroides endogenos con actividad mineralocorticoide ( deoxicorticosterona o aldosterona o ambos).

En experimentos con animales la administracion de deoxicorticosterona ( DOCA ) provee un almacen de forma que sostiene la accion. produce una elevación de la presión sanguínea y acelera grandemente el desarrollo de otras formas de hipertension. El tratamiento con DOCA incrementa la frecuencia de hipertension, en las ratas en lugar de agua se dan 2% (peso o volumen) de

solución de NaCl. Por selección se pueden producir cepas de ratas que difieren en su sensibilidad a la hipertensión. Una variante a este modelo es el modelo SAL-DOCA. Que consiste en lo siguiente: a los animales previamente anestesiados les es removido un riñón, después de la operación los animales se mantienen con una solución 1% de NaCl como agua para beber e inyección subcutáneamente con una solución de DOCA para seleccionar finalmente de esta cepa las ratas hipertensas (6,63,30).

Modelo de presión arterial en ratas anestesiadas. Se utilizan ratas macho (180 a 350g), a las que previa anestesia general con pentobarbital sódico, se les coloca una cánula en la traquea para facilitar la ventilación pulmonar. La presión arterial es registrada continuamente por medio de un cateter (este contiene heparina para evitar la coagulación) insertado en la arteria femoral derecha para el registro de la presión arterial, se utiliza un Transductor de presión P-1000B acoplado a un Fisiografo. La administración de los fármacos se realiza a través de una cánula colocada en la vena femoral izquierda. ( Este modelo es complementario y se utiliza junto con alguno de los anteriores para la medición de la presión arterial) Un esquema representativo de este modelo es presentado en la fig. 9 (32,30).

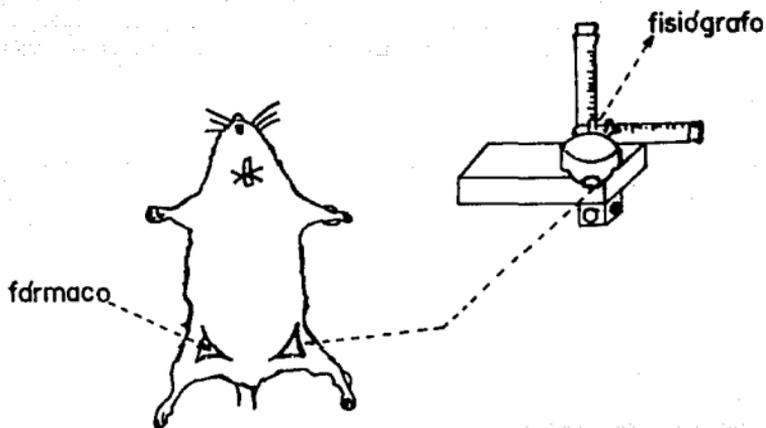


Fig ( 9 ) Esquema representativo del modelo experimental de hipertensión en rata anestesiada, utilizando el transductor de presión P100B de la marca Narco Biosystem tomado de la ref. 32.

### 2.3.1. "In vitro" Modelos en rata.

Modelo experimental de anillo de aorta sin endotelio. Desde el trabajo inicial de la acetilcolina sobre aorta de conejo (Furchgot y Zawadski; 1980), la acción inhibitoria de varios agentes en una variedad de tejido vascular son explicados parcialmente o completamente dependiente de la presencia del endotelio vascular. Este efecto inhibitorio resulta de la estimulación de la liberación de una sustancia inhibitoria FDRE ( Factor de Relajación Derivado del Endotelio ) (15,16).

La remoción del endotelio del anillo de aorta, ya sea mecánica (por frotación de la capa íntima de la arteria) ó enzimática (por pretratamiento con colagenasa) conduce a la desaparición de la relajación (15). El procedimiento consiste en lo siguiente: una rata normal es descerebrada con posterior extracción de la aorta torácica, se limpia esta de tejido conectivo y grasa, obteniéndose dos anillos de aproximadamente 4mm de longitud, se elimina el endotelio de uno de ellos ya sea por remoción mecánica o enzimática, teniendo el otro anillo como control cada uno es colocado en cámaras de organo aislado con solución Krebs para finalmente realizar pruebas con los diferentes fármacos (12,16,17,18).

El modelo anterior es una variante del modelo "in vitro" de anillo de aorta, que es el modelo utilizado en la elaboración de este trabajo.

**3) OBJETIVO:**

1) Comprobar el efecto de la nifedipina, propranolol y nitroglicerina en anillo de aorta de rata.

#### 4) MATERIAL Y METODOS

4.1 Curvas de viabilidad a la adrenalina en anillos de aorta de rata. Se emplearon ratas Wistar macho entre 200-350 g de peso, a las que se sacrificaron por descerebramiento y se les extirpo la aorta torácica, la cual se colocó en una caja petri que contenia solución de Krebs 37 °C, se limpió de grasa y de tejido conectivo para posteriormente cortarla en forma de anillos de aproximadamente 4mm de ancho, uno de los cuales se colocó entre dos ganchos de alambre inoxidable (Nikron) en una cámara de organo aislado con capacidad de 20 ml, perfundida constantemente con solución de Krebs de la siguiente composición g/l:  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.29;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0.37;  $KH_2PO_4$ , 0.16; NaCl, 6.9; Dextrosa, 2.1; KCl, 0.35;  $NaHCO_3$ , 2.1; la cual es termorregulada a 37°C y burbujeada constantemente con un oxigenador. Con un hilo se fijo un extremo de uno de los ganchos que sostienen el anillo al fondo de la cámara, y por el otro lado se fijan a un transductor miográfico B-33 (Narco Biosystem) el cual se acopló a un fisiografo modelo DMP-4D de la misma marca, para el registro de la tensión ( la fig.10 nos muestra un esquema de este sistema). Una vez colocado el anillo de aorta en la cámara de tejido aislado se le somete a una tensión de reposo de 3.0g y se deja estabilizar durante un promedio de media hora, después del periodo de estabilización y con la finalidad de establecer la sensibilidad y viabilidad de esta preparación se adiciono a la cámara de organo aislado 0.1ml de adrenalina a una concentración de  $31\mu g/2ml$  (10), que es dejada en contacto durante 30 segundos, se lava y se repite la aplicación, con intervalos de 15

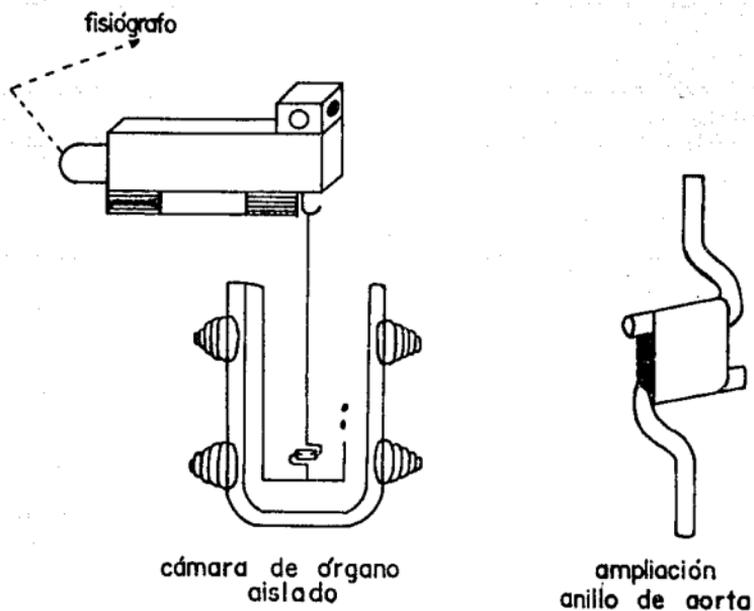


Fig C 10 ) Esquema representativo de una cámara para tejido aislado, el Transductor y la preparación biológica utilizada en el desarrollo del protocolo experimental "in vitro".

segundos, obteniendo 3 respuestas consecutivas.

**4.2 Curvas dosis respuesta a la adrenalina.** Se emplearon anillos de aorta de rata ( el procedimiento de obtencion asi como las características de los animales de los cuales fueron obtenidos los anillos son similares a las descritas para curvas de viabilidad a la adrenalina ), que fueron colocados en una camara de organo aislado, a los que se les aplico una una tension inicial de 3.0g y 30 minutos de estabilizacion, despues de lo cual se procede a correr una curva dosis-efecto a la adrenalina usando las siguientes concentraciones: 0.01 $\mu$ g/2ml; 0.031 $\mu$ g/2ml; 1 $\mu$ g/2ml; 3.1 $\mu$ g/2ml; 10 $\mu$ g/2ml; 31 $\mu$ g/2ml; 100 $\mu$ g/2ml; 310 $\mu$ g/2ml; 1000 $\mu$ g/2ml; 3100 $\mu$ g/2ml; cada concentracion fue dejada en contacto con la preparacion aproximadamente 30 segundos, despues de los cuales se adicionaba la siguiente concentracion. El volumen de adiccion a la camara fue de 0.1 ml para todas las concentraciones.

**4.3. Efecto de la nifedipina en anillos de aorta precontraidos con adrenalina.** Se emplearon anillos de aorta obtenidos de ratas Wistar macho de 200-350g de peso, que fueron colocados en camaras de organo aislado como lo muestra la fig. 10 ( el procedimiento empleado en la preparacion de los anillos de aorta y las condiciones a las que se mantuvieron estos fueron ya descritas en las curvas de viabilidad a la adrenalina ). despues se aplico a esta preparacion una tension de reposo de 3.0g y se dejo estabilizar durante un periodo de 30 min, para la precontracion del

anillo se adiciono 0.1ml de adrenalina de una concentración de  $31\mu\text{g}/2\text{ml}$ . se dejo en contacto con la preparacion un tiempo minimo de 2 min. antes de adicionar 0.1ml de nifedipina de concentración de  $5\text{mg}/\text{ml}$ . despues de observar el efecto del fármaco se lavó la preparaci3n con soluci3n Krebs.

4.4. Efecto del propranolol en anillos de aorta precontraidos con adrenalina. Se emplearon anillos de aorta obtenidos de ratas Wistar macho de 200-350g de peso, que fueron colocados en camaras de organo aislado como lo muestra la fig. 10 ( el procedimiento empleado en la preparacion de los anillos de aorta y las condiciones a las que se mantuvieron estos, fueron ya descritas en las curvas de viabilidad a la adrenalina ). despues se aplico a esta preparaci3n una tension de reposo de 3.0g y se dejo estabilizar durante un periodo de 30 min. Para la precontracci3n del anillo se adiciono 0.1ml de adrenalina de una concentraci3n de  $31\mu\text{g}/2\text{ml}$ . se dejo en contacto con la preparaci3n un tiempo minimo de 2 min. antes de adicionar 0.1ml de propranolol de una concentraci3n de  $0.1\text{mg}/\text{ml}$ . despues de observar el efecto del fármaco se lavó la preparaci3n con soluci3n Krebs.

4.5. Efecto de la nitroglicerina en anillos de aorta precontraidos con adrenalina. Se emplearon anillos de aorta obtenidos de ratas Wistar macho de 200-350g de peso, que fueron colocados en camaras de organo aislado como lo muestra la fig. 10 ( el procedimiento empleado en la preparaci3n de los anillos de aorta y las condiciones a las que se mantuvieron estos fueron ya descritas en

las curvas de viabilidad a la adrenalina ). despues se aplico a esta preparaci3n una tensi3n de reposo de 3.0g y se dejo estabilizar durante un periodo de 30 min. para la precontracci3n del anillo se adicioneo 0.1ml de adrenalina de una concentraci3n de 31µg/2ml. se dejo en contacto con la preparaci3n un tiempo m3nimo de 2 min. antes de adicionar 0.1ml de nitroglicerina de una concentraci3n de 1mg/1ml , despues de observar el efecto del f3rmaco se lav3 la preparaci3n con soluci3n Krebs.

Farmacos utilizados. Los compuestos usados en la preparaci3n de la soluci3n Krebs se pesaron con anterioridad a excepci3n del  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  que se pesaron diariamente y se diluyeron con agua destilada.

Del clorhidrato de adrenalina se prepararon dos soluciones madre, una con una concentraci3n de 1µg/2ml y otra con otra concentraci3n 3.1 µg/2ml empleando para su disoluci3n agua destilada, las soluciones madre se preparan para su uso diariamente y a partir de estas se tomar3n las al3cuotas para preparar las diluciones necesarias; De la nitroglicerina se preparo una soluci3n de concentraci3n 1mg/1ml, utilizando para su preparaci3n soluci3n salina; De la nifedipina se preparo una soluci3n de concentraci3n 5mg/2ml disolviendo la nifedipina en una mezcla 1:1 de propilenglicol, soluci3n salina a ba3o maria; De el propranolol se preparo una soluci3n de concentraci3n igual a 10mg/1ml, utilizando para su preparaci3n soluci3n salina.

## 5) RESULTADOS.

5.1 Curvas de viabilidad a la adrenalina en anillos de aorta de rata. Se realizaron 7 experimentos con 5 respuestas cada uno, la figura 11 muestra el registro obtenido para uno de estos experimentos, en cada uno de estos registros se midió la amplitud de respuesta, medida a partir de la basal, los datos de amplitud son transformados a tensión muscular en  $\bar{g}$ , considerando la calibración del fisiografo, en la que 8cm de amplitud corresponden a un tono muscular de  $8.7\bar{g}$ . Los cuadros 1 al 7 muestran los valores numéricos de la contracción obtenida en esta preparación. Los valores se dan por experimento obteniendo el valor promedio ( $\bar{x}$ ), el Error standar ( $\sigma$ ) y el Coeficiente de Variación (C.de V.). Los valores de tono muscular fueron analizados mediante el metodo estadístico ANOVA ( Analisis de Varianza ) y los resultados de los calculos del mismo se resumen en una tabla ANDEVA en la pág. 45.

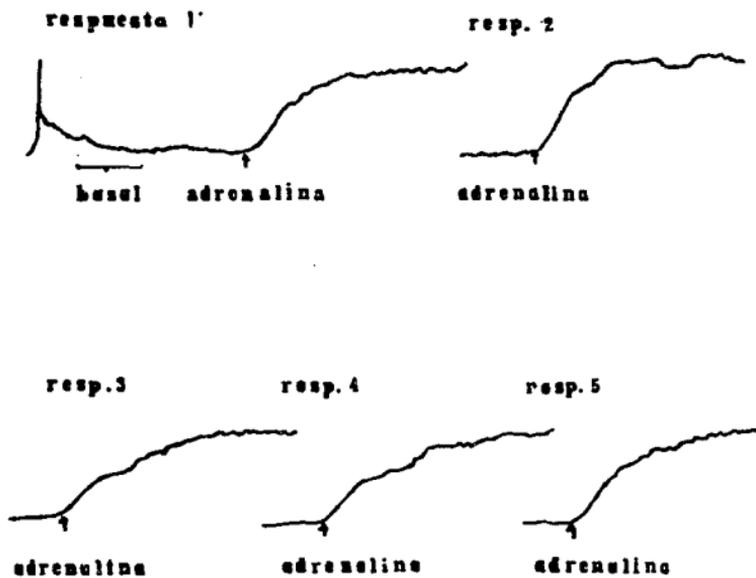


Fig No 11 registro fisiográfico para un experimento de curvas de viabilidad a la adrenalina en anillo de aorta de rata, en el se aprecian 5 respuestas a la exposición a adrenalina 31µg/ml.

Cuadro 1. Prueba de Viabilidad en Anillo  
de Aorta de Rata.

Experimento 1	Amplitud (cm)	Tono Muscular (g)
Respuesta 1	1.1	1.60
Respuesta 2	1.4	2.03
Respuesta 3	1.6	2.32
Respuesta 4	1.6	2.32
Respuesta 5	1.3	1.69
Promedio		2.03
$\sigma_{n-1}$		0.31
C. de V.		15.04%

Cuadro 2. Prueba de Viabilidad en Anillo  
de Aorta de Rata

Experimento 2	Amplitud (cm)	Tono muscular (g)
Respuesta 1	1.5	2.18
Respuesta 2	1.8	2.61
Respuesta 3	2.2	3.19
Respuesta 4	2.0	2.9
Respuesta 5	2.0	2.9
Promedio		2.75
$\sigma_{n-1}$		0.39
C. de V.		13.88%

Cuadro 3. Prueba de Viabilidad en anillo  
de Aorta de Rata.

Experimento 3	Amplitud (cm)	Tono muscular (%)
Respuesta 1	0.6	0.87
Respuesta 2	0.65	0.94
Respuesta 3	0.65	0.94
Respuesta 4	0.65	0.94
Respuesta 5	0.60	0.87
Promedio		0.932
σ-s		0.037
C. de V.		3.97%

Cuadro 4. Prueba de Viabilidad en Anillo  
de Aorta de Rata.

Experimento 4	Amplitud (cm)	Tono Muscular (%)
Respuesta 1	2.2	3.19
Respuesta 2	2.2	3.19
Respuesta 3	2.2	3.19
Respuesta 4	2.6	3.77
Respuesta 5	*	*
Promedio		3.34
σ-s		0.29
C. de V.		8.68%

la respuesta cinco no se efectuó por interrupción  
en la corriente eléctrica.

Cuadro 5. Prueba de Viabilidad en Anillo  
de Aorta de Rata.

Experimento 5	Amplitud (cm)	Tono Muscular (g)
Respuesta 1	4.1	5.95
Respuesta 2	4.1	5.95
Respuesta 3	3.7	5.37
Respuesta 4	3.7	5.95
Respuesta 5	4.1	5.95
Promedio		5.83
$\sigma_{n-1}$		+ 0.26
C. de V.		4.45%

Cuadro 6. Prueba de Viabilidad en Anillo  
de Aorta de Rata.

Experimento 6	Amplitud (cm)	Tono Muscular (g)
Respuesta 1	2.3	3.34
Respuesta 2	2.4	3.40
Respuesta 3	2.2	3.19
Respuesta 4	2.3	3.34
Respuesta 5	2.3	3.34
Promedio		3.33
$\sigma_{n-1}$		+ 0.023
C. de V.		2.78%

Cuadro 7. Prueba de Viabilidad en anillo  
de Aorta de rata.

Experimento 7	Amplitud (cm)	Tono Muscular (g)
Respuesta 1	3.8	5.08
Respuesta 2	3.8	5.51
Respuesta 3	3.8	5.51
Respuesta 4	3.8	5.51
Respuesta 5	*	*
Promedio		5.40
$\sigma$ -s		0.215
C de V		3.98%

la respuesta 5 no se llevó a cabo debido  
a interrupción en la corriente eléctrica.

## ANALISIS DE VARIANZA

Grupo	Media	N
1	2.032	5
2	2.756	5
3	.912	5
4	3.335	4
5	5.718	5
6	3.338	5
7	5.403	4
gran media	3.295	33

variable: tono muscular.

Fuente de variación	suma de cuadrados	grados de libertad	cuadrado medio	razón de variación
Entre los grupos	84.958	6	14.160	204.733
Dentro de los grupos	1.798	26	0.069	
Total	86.757	32		

valor crítico de F con 6 y 26 grados de libertad y  $\alpha = 0.05$

$F = 2.47$ .

Decisión: como la razón de varianzas calculada es de 204.733 y este valor es mayor a el valor crítico de F ( 2.47 ) se rechaza la hipótesis de igualdad entre medias.

5.2 Curvas dosis respuesta - la adrenalina. Después de haber determinado la viabilidad del tejido de aorta en la serie experimental anterior, se realizaron 8 experimentos de curvas dosis respuesta a la adrenalina para establecer cuantitativamente la relación entre la dosis y la magnitud de la respuesta obtenida. El registro para uno de estos aparece en la figura 12, en el que se puede apreciar un incremento en la respuesta al adicionar concentraciones crecientes de adrenalina. Al igual que para curvas de viabilidad, en cada registro se midió la amplitud de respuesta, una vez obtenidos estos datos la amplitud se transformo a por ciento de respuesta, considerando al máximo de contracción de ese anillo como 100% de respuesta, los valores numéricos de la serie uno de curvas dosis respuesta a la adrenalina son mostrados en el cuadro 8, estos se dan por experimento obteniendo el valor promedio y el error estandar, gráficando los valores de la dosis en el eje de las abcisas vs los valores promedio en el eje de las ordenadas se obtuvo la gráfica 1, en donde cada punto corresponde al promedio del por ciento de respuesta para cada concentración y la línea vertical representa el error estandar, en esta gráfica se observa que para la dosis inicial de  $1\mu\text{g}/2\text{ml}$  de adrenalina, se obtiene un por ciento de contracción del 20%, que es un valor muy alto para ser el inicial de una curva dosis respuesta, por lo que se realizo una segunda serie experimental de curvas dosis respuesta a la adrenalina, en la que se adicionaron 4 dosis de adrenalina de concentración menor a  $1\mu\text{g}/2\text{ml}$  (0.01, 0.031, 0.1,  $0.31\mu\text{g}/2\text{ml}$ ). Los

resultados de esta serie experimental se obtienen de igual manera que para la serie uno, estos valores numéricos se muestran en el cuadro 9 y la gráfica de los mismos es la grafica 2, en la cual se observa una respuesta inicial menor.

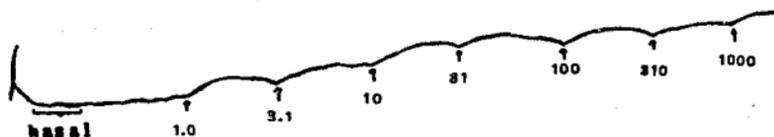
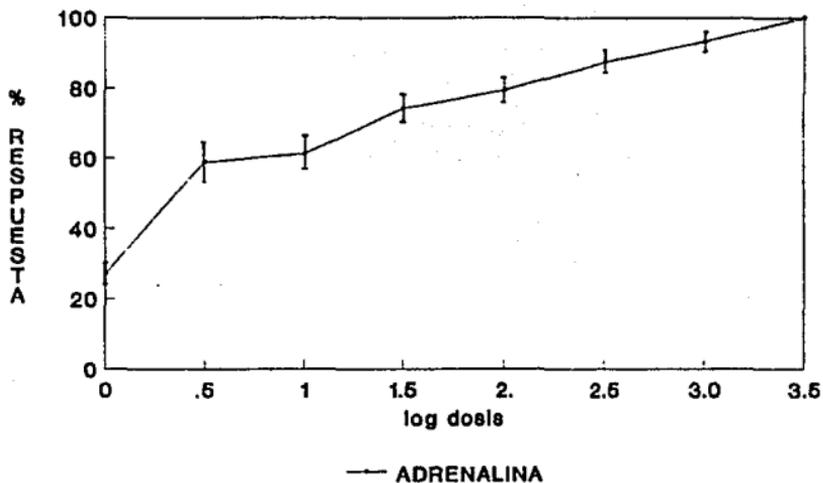


Fig. No 12 registro fisiográfico para un experimento de curva dosis respuesta a la adrenalina en anillo de aorta de rata. (concentraciones de adrenalina empleadas:  $1\mu\text{g}/2\text{ml}$ ,  $3.1\mu\text{g}/2\text{ml}$ ,  $10\mu\text{g}/2\text{ml}$ ,  $31\mu\text{g}/2\text{ml}$ ,  $100\mu\text{g}/2\text{ml}$ ,  $310\mu\text{g}/2\text{ml}$ ,  $1000\mu\text{g}/2\text{ml}$ .)

Cuadro No 8 Resultados de la serie experimental uno para curvas dosis respuesta gradual a la adrenalina dados en % de respuesta

Dosis( $\mu\text{g/ml}$ )	1.0	3.1	10	31	100	310	1000	3100
Log dosis	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
Exp. 1	0	14.70	44.12	82.35	88.24	91.12	94.72	100
Exp. 2	0	52.61	63.13	73.66	73.66	84.18	94.10	100
Exp. 3	27.27	45.45	54.55	68.19	72.73	81.82	90.91	100
Exp. 4	37.50	75.00	71.43	83.33	87.50	100	100	100
Exp. 5	17.85	72.73	63.64	63.64	72.73	81.82	81.82	100
Exp. 6	28.57	68.57	71.43	71.43	91.43	97.14	100	100
Exp. 7	22.22	55.56	72.22	72.22	77.78	83.33	100	100
Exp. 8	29.17	41.66	50.00	50.00	70.63	79.17	83.93	100
Promedios	27.04	58.80	61.31	74.05	79.36	87.33	93.19	100
$\sigma_{n-1}$	6.78	13.37	10.70	9.93	8.34	7.78	7.18	0
C. de V.	23.06%	22.74%	17.45%	13.41%	10.5%	8.9%	7.70%	0

## CURVA DOSIS RESPUESTA GRADUAL AORTA DE RATA

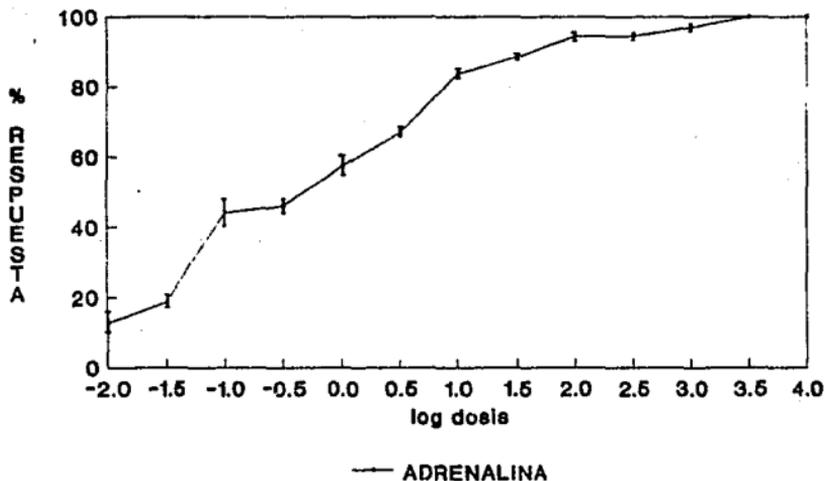


Gráf. ( 1 ). Curva dosis Respuesta a la adrenalina. En esta gráfica se muestran el efecto de concentración ( %) provocado por la adición de diferentes dosis de adrenalina en anillos de aorta de rata. Serie experimental 1.

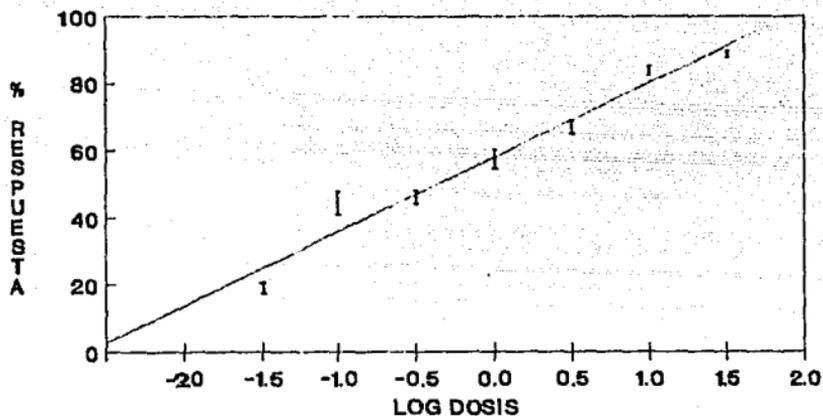
Cuadro No 9 Resultado de las curvas dosis respuesta gradual  
a la adrenalina dados en % de respuesta

Log Dosis	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	$\bar{x}$	$\sigma_{n-1}$
-2	25	21.43	0.0	6.67	10.53	12.72	5.7
-1.5	31.5	21.43	8.01	16.67	15.79	18.68	3.9
-1	41.67	50.0	72.12	20.0	36.84	44.12	8.5
-0.5	50.0	50.0	56.0	26.67	47.37	46.01	5.0
0	58.23	53.70	64.09	36.78	73.68	57.30	6.1
0.5	66.67	64.29	76.24	53.33	73.68	66.84	2.2
1.0	70.80	75.02	76.21	66.67	84.21	83.72	2.9
1.5	83.33	85.71	80.11	80.0	89.47	88.50	1.8
2.0	83.33	89.16	88.40	86.90	94.74	94.43	1.9
2.5	91.67	93.10	96.13	96.55	94.74	94.43	0.9
3.0	100	93.10	100	100	100	96.95	1.67
3.5	100	100	100	100	100	100	0

## CURVA DOSIS RESPUESTA GRADUAL AORTA DE RATA



Gráf. ( 2 ). Curva dosis respuesta a la adrenalina. En esta gráfica se muestran el efecto de concentración ( % ) provocado por la adición de diferentes dosis de adrenalina en anillos de aorta de rata. Serie experimental 2.



— ADRENALINA

$b = 3.7$   
 $m = 20.8$   
 $r = 0.9948$

Gráf. ( 3 ). Linearización de la Curva dosis respuesta a la adrenalina. mediante la regresión se obtuvo la dosis efectiva media de adrenalina  $\log 0.5$  (  $3.1\mu\text{g}/2\text{ml}$ ), cada punto representa la respuesta promedio de 5 experimentos y las líneas verticales el error estandar de los mismos.

**5.3 Efecto de la nifedipina en anillos de aorta precontraídos con adrenalina.** Para estudiar el efecto de la nifedipina en esta preparación se realizaron 8 experimentos, en la fig. 13 iniciso A se presenta el registro fisiográfico de uno de los experimentos, en el que se observa, primero la precontracción con adrenalina como un incremento en la amplitud y por tanto en el tono muscular, y la relajación producida por nifedipina como una disminución del tono, la relajación se reporta en % de respuesta, tomando el 100% de relajación cuando se elimina totalmente la precontracción con adrenalina, en el cuadro 10 aparecen los resultados por experimento, el valor promedio, la desviación estandar y el coeficiente de variación.

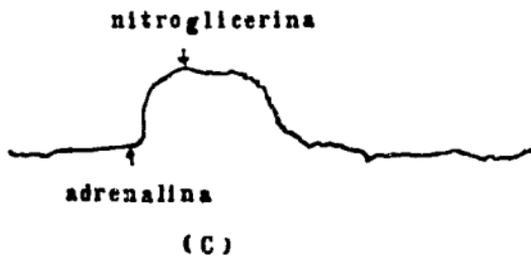
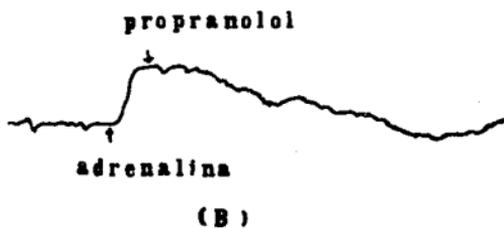
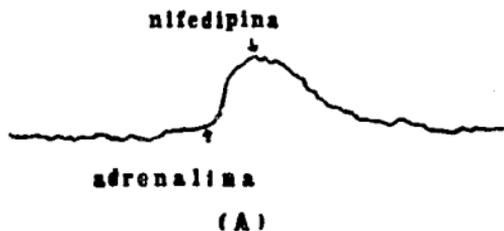


Fig. No 13 Registro fisiográfico para un experimento, en el que se aprecian el efecto vasodilatador de la nitroglicerina (A), propranolol (B) y nifedipina (C) sobre la contracción inducida por adrenalina en anillos de aorta de rata.

Cuadro No.10 Resultados del efecto de la nifedipina en anillos de aorta precontraída con adrenalina 31µg/ml.

Experimento	porcentaje de vasodilatación Nifedipina ( 5mg/2ml)
1	100%
2	100%
3	100%
4	87.5%
5	100%
6	100%
7	100%
8	100%
Promedio	98.44%
$\sigma_{n-1}$	+4.42
C. de V.	4.48%

5.4 Efecto de el propranolol en anillos de aorta precontraídos con adrenalina. Para estudiar el efecto de el propranolol, en esta preparación, se realizaron 8 experimentos, en la fig.13 iniciso B se presenta el registro fisiográfico de uno de estos experimentos, en el que se observa, primero la precontracción con adrenalina como un incremento en la amplitud y por tanto en el tono muscular, y la relajación producida por el propranolol como una disminución del tono, la relajación se reporta en % de respuesta, tomando el 100% de relajación cuando se elimina totalmente la precontracción con adrenalina, en el cuadro 11 aparecen los resultados por experimento, el valor promedio, la desviación estandar y el coeficiente de variación.

Cuadro No.10 Resultados del efecto del propranolol  
 en anillos de aorta precontraídos con adrenalina 31µg/ml.

Experimento	Porcentaje de vasodilatación Propranolol ( 10mg/ml)
1	33.33%
2	77.78%
3	100.0%
4	133.3%
5	100.0%
6	100.0%
7	100.0%
8	100.0%
Promedio	93.05%
on-1	28.44
C. de V.	30.56%

5.5 Efecto de la nitroglicerina en anillos de aorta precontraídos con adrenalina. Para estudiar el efecto de la nitroglicerina en esta preparación, se realizaron 8 experimentos, en la fig. 13 inciso C se presenta el registro fisiográfico de uno de los experimentos, en el que se observa, primero la precontracción con adrenalina como un incremento en la amplitud y por tanto en el tono muscular, y la relajación producida por nitroglicerina como una disminución del tono, la relajación se reporta en % de respuesta, tomando el 100% de relajación cuando se elimina totalmente la precontracción con adrenalina, en el cuadro 12 aparecen los resultados por experimento, el valor promedio, la desviación estandar y el coeficiente de variación.

Cuadro No.11 Resultados del efecto de la nitroglicerina en anillos de aorta precontraídos con adrenalina

Experimento No	porciento de vasodilatacion Nitroglicerina ( 1mg/ml)
1	100%
2	100%
3	100%
4	100%
5	100%
6	100%
7	100%
8	100%
Promedio	100%
$\sigma_{n-1}$	0
C. de V.	0

Análisis estadístico ANOVA, para los resultados de porcentaje de vasodilatación, el grupo 1 corresponde a los valores obtenidos para la vasodilatación con nifedipina, el grupo 2 pertenece a los resultados de porcentaje de vasodilatación con propranolol y el grupo 3 a los valores de vasodilatación producida por nitroglicerina.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Grupo	Media	N
1	98.438	8
2	93.051	8
3	100.00	8
gran media	97.163	24

variable: porcentaje de vasodilatación	suma de cuadrados	grados de libertad	cuadrado medio	razón de variación
Entre los grupos	212.635	2	106.318	0.385
Dentro de los grupos	5797.945	21	276.093	
Total	6010.580	23		

valor crítico de F con 2 y 21 grados de libertad y  $\alpha = 0.05$  (45).

F = 3.47.

Decisión: como la razón de variación 0.385 es menor a el valor crítico de F ( 3.47 ), se deduce que no hay diferencia significativa entre el porcentaje de vasodilatación producida por estos fármacos a las concentraciones con las que se trabajo.

## 8) DISCUSION

Durante la última década, se ha producido una asombrosa evolución en el tratamiento de la hipertensión arterial (42). El enfoque actual acerca del tratamiento inicial con un solo fármaco refleja la mayor concientización del médico, porque con ello se disminuyen los factores de riesgo cardiovascular. De hecho, en la actualidad un tratamiento antihipertensivo es considerado dependiendo de la presencia y las características de la enfermedad (edad avanzada, deterioro renal, insuficiencia cardiaca congestiva, etc (43).

En 1988 el "Joint National Committee" agregó los antagonistas del calcio y los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) en sus recomendaciones para el tratamiento de primera línea (44).

La experiencia clínica ha mostrado que tanto los inhibidores de la ECA como los antagonistas del calcio son equivalentes o superiores en eficacia a los medicamentos tradicionales de primera línea. Esto está basado sobre los índices fisiológicos y bioquímicos, además de la calidad de vida (45).

Por otro lado, es importante e interesante, la búsqueda y desarrollo de nuevos fármacos que sean útiles en este padecimiento cardiovascular. Para ello, es necesario de primera instancia contar con uno ó varios modelos experimentales ( "in vivo" e "in vitro" ) que resulten apropiados para probar la actividad antihipertensiva de ellos.

Durante la realización de este trabajo se pensó en contar con un modelo "in vitro", el cual nos ayudará a comprobar el efecto de varios fármacos prototipos en la hipertensión arterial. propranolol, nifedipina y nitroglicerina (8,21,22,24).

El modelo experimental "in vitro" que se utilizó fue el de anillo de aorta de rata, aunque existen otros modelos como son el modelo de rata desmedulada, modelo de hipertensión mineralocorticóide, modelo de hipertensión renal de uno y dos riñones, modelo de hipertensión encefálica, modelo de presión arterial en rata anestesiada etc. (9,10,27,32,33). La finalidad de ocupar esta preparación fue que en el laboratorio de farmacología se contaba con el equipo necesario para montar dicha preparación; además, de ser un modelo sencillo y fácil de realizar, ya que para algunos modelos "in vivo" se requiere de otro equipo más costoso y sofisticado en su montaje.

Debido a la manipulación que requiere esta preparación para su montaje, se sugiere por estudios previos, la prueba de viabilidad (30), y para este caso, se realizaron 7 experimentos encontrando que en cada uno de los experimentos, el registro de las 5 respuestas de contracción a la adición de adrenalina fueron casi idénticas ( ver fig. 11 ), en ninguno de los experimentos se obtuvo una desviación estandar mayor a  $\pm 0.30$ . Para poder comparar la diferencia existente entre un experimento y otro se determinó el coeficiente de variación, de los siete experimentos realizados, solo los experimentos 1 y 3, tienen un coeficiente de variación

mayor a 10% y menor a 15% . los 5 experimentos restantes tienen un coeficiente de variación menor al 10% . Los valores experimentales de tono muscular resultantes de esta prueba de viabilidad, se trataron además mediante el método estadístico de ANOVA ( Análisis de Varianza ), encontrando que la variabilidad existente dentro de grupos ( cuadrado medio= 0.069 ) es menor que la variabilidad existente entre los grupos ( cuadrado medio= 14.180 ) (45). La variación dentro de cada grupo se explica por la variabilidad biológica del tejido, ya que se ha observado que la respuesta a una dosis fija de un fármaco, varía en el tejido aislado de un momento a otro (46). La variación entre grupos se debe principalmente a las características individuales de cada tejido aislado, ya que estos tejidos provienen de animales distintos, por lo que debido a sus características propias, no tienen la misma intensidad de respuesta, aun tratándose de la misma dosis.

Por otra parte en el laboratorio de Farmacología no se cuenta con equipo de uso exclusivo para investigación y con un mantenimiento adecuado, incrementando así la variabilidad entre grupo y grupo. Como consecuencia la razón de varianza ( 204.733 ) fue mayor que el valor crítico de F ( 2.47 ) (45), por lo que se deduce que la media de respuesta entre experimentos no es igual, es decir que aunque en todos los experimentos se presenta una respuesta inmediata a la adición de adrenalina, la magnitud de esta respuesta por el tejido no es la misma para todos los tejidos.

En resumen se encontró que la manipulación en la preparación del anillo de aorta, sí nos permitió una respuesta a la adrenalina en todos los experimentos, aunque es necesario minimizar, la variabilidad entre grupos en las siguientes etapas experimentales, para conseguir esto, se trato de que el equipo fuese utilizado casi exclusivamente para la realización de este protocolo experimental, además de que el mantenimiento del equipo fuese mejor y se presentaron los resultados en porcentaje de respuesta para que pudieran compararse.

Una vez determinada la viabilidad del tejido mediante el experimento anterior, se realizaron curvas dosis respuesta a la adrenalina, con la finalidad de encontrar el comportamiento de esta preparación ante este agente químico y así poder determinar la concentración adecuada de esta catecolamina para poder precontraer a la preparación para probar los efectos del propranolol, nifedipina y nitroglicerina, los resultados fueron graficados (gráf. 1 ), observándose en esta gráfica una respuesta promedio alta ( 27.04% ) para la concentración inicial, por lo que no tenía la forma sigmoidal descrita para una curva dosis respuesta (2). Se decidió adicionar cuatro dosis menores a la curva dosis respuesta que ya se tenía, nuevamente se gráfico los resultados de estos experimentos ( gráf. 2 ), obteniendo una gráfica como la que se esperaba. Estos resultados fueron tratados con regresión lineal (gráf. 3 ) para determinar la dosis efectiva media de adrenalina,

resultando de  $3.1\mu\text{g}/2\text{ml}$ , una concentración poco mayor a esta ( $31\mu\text{g}/2\text{ml}$ ) se utilizó en la realización del siguiente protocolo experimental.

Para comprobar el efecto antihipertensivo de la nifedipina, propranolol y nitroglicerina se realizaron 8 experimentos por cada uno de los fármacos, la precontracción del anillo de aorta (dosis mayor a la dosis efectiva media) se realizó para que se pudiera apreciar el efecto vasodilatador de estos fármacos, los resultados se obtuvieron en porcentaje de vasodilatación, encontrándose para el caso de la nifedipina un promedio de 98.4% de inhibición de la precontracción con adrenalina, con un coeficiente de variación de 4.49%, es decir que inhibe casi totalmente la contracción provocada por la adrenalina. El propranolol provoca casi un 100% de inhibición de la precontracción en 8 de los experimentos y en los experimentos 1 y 2 valores aproximados al 50%, es probable que en la realización de estos dos experimentos se hayan tenido errores experimentales o bien debidos a la variabilidad biológica, aunque el coeficiente de variación fue de 30.58% podemos decir que se confirma el efecto vasodilatador del propranolol aunque este no sea total. Los resultados obtenidos para los 8 experimentos con nitroglicerina, dieron un valor promedio del porcentaje de vasodilatación de 100% y un coeficiente de variación de 0%, comprobando estos valores el efecto antihipertensivo de la nitroglicerina. Los valores experimentales de porcentaje de

vasodilatación de los fármacos nifedipina, propranolol y nitroglicerina, fueron tratados mediante el método estadístico ANOVA ( los resultados de los cálculos se presentan en la pág 67). Encontrando que no hay diferencia significativa entre la respuesta a los tres fármacos, ya que la razón de varianzas (0.385) es menor que el valor crítico determinado (3.47).

## 7) CONCLUSIONES

1) Se valoró la preparación del anillo de aorta de rata en la prueba de viabilidad.

2) En este modelo experimental "in vitro" se realizaron curvas dosis respuesta a la adrenalina, con la finalidad de estudiar el comportamiento de esta preparación ante la presencia de diferentes dosis de esta catecolamina.

3) Se comprobó el efecto vasodilatador de la nifedipina, propranolol y nitroglicerina en anillos precontractados con adrenalina.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

8) BIBLIOGRAFIA.

1) MURAMATSU, I.; KIGOSHI, S. AND OSHITA, M. (1990). Two Distinct  $\alpha_2$ -adrenoceptor Subtypes Involved in noradrenaline contraction of the rabbit Thoracic Aorta; British Journal Pharmacology; 101, pág. 662-666.

2) KENAXIN, T.P. (1984). The Classification of Drugs and Drugs Receptors in isolated Tissues; Farmacology Reviews, vol 36, No.3, pág 103-222.

3) DOMARUS, A. Y. Y FARRERAS, V.P. (1978). Medicina Interna Tomo 1; Angiología ( anomalías vasculares ); 1a. Reimpresión; Editorial Marín S. A., pág 552-588.

4) GONZALEZ, C. A. ( 1980 ). Hipertensión arterial 1980, primer curso interamericano sobre hipertensión arterial; Ediciones médicas actualizadas. Capítulo uno, Introducción; pág 1-15, 214.

5) GUYTON, A. (1984). Tratado de Fisiología Médica; Quinta reimpresión Capítulo 21,22. Regulación de la presión arterial; Editorial el Ateneo; pág 264-289.

6) Rodicio, J. L.; Romero, J.C. (1987). Tratado de hipertensión; Capítulo 4, regulación de la tensión arterial; Capítulo 5. Sistema renina angiotensina; Capítulo 6 aldosterona; Editorial Salvat; primera edición; pág 30-85.

7) ARGOS, ( 1988 ). Enciclopedia Temática; Medicina (1) capítulo 612.1 Sangre y la circulación; Editorial Argos-Bergara; pag. 64-71.

8) BOWMAN, W. C.; RAND, M. J. (1980). Textbook of Pharmacology; Capítulo 23. The cardiovascular system and drugs affecting the circulation.; Blackwell Scientific publications; pag 23.1- 23.68.

9) FLORES, M. M. E. (1988). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias; Acerca del papel que desempeña el Antagonismo del Calcio en el Efecto Vasodilatador del TP2519 y de la Xetoserina; Sección de Terapéutica Experimental del Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

10) VANDER, J. A.; ( 1988 ); Fisiología Renal; Capítulo 5 control de la hemodinamia renal; (Segunda edición en español); Tercera edición Mc graw Hill pág.4-85.

11) WEST, S. E.; TODD, W. R. Y Co (1969) Bioquímica médica; Nueva Editorial Interamericana ; Cuarta edición; pág 519.

12) IBARRA, B.M. (1990). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias; Efecto del Tratamiento Antihipertensivo con Pelanserina Sobre las Respuestas Mediadas por el endotelio en la Aorta de Ratas Espontáneamente Hipertensas; Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

13) CASTILLO, H. C.; CASTILLO, H. E.; CHAVARRIA, B. J. L. Y VALENCIA, H. I. (1990). Factor Relajante del Endotelio Vascular (FRDE); Acta Médica vol. XXIV, Núms 95-98, pp. 53-58.

14) LEON, G.H. de; (1987). Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias . Determinación del contenido auricular y del efecto relajante del factor auricular natriurético en 2 modelos de hipertención arterial experimental; Sección de terapéutica experimental Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

15) BULLOCK, R. G. AND TAYLOR, S. G. (1988); Influence of the vascular endothelium on Agonist-Induced Contraction and Relaxations in Rat Aorta; British Journal Pharmacol 99, pág 819-830.

16) ASANO, M.; MASUSAWA, K.; KOJIMA, M.; AOKI, K. AND MATSUDA, T. (1988). Comparison of inhibitory effects of Calcium Channel Blockers and that of a Calmodulin Antagonist in Strip of Mesenteric Arteries from Espontaneosly Hypertensive and Normotensive rats; Japanesse Journal of Pharmacology vol.48; pág 77-80.

17) ROSEMEYER, R.B. AND HOPE, W. (1990). Evidence that  $A_2$ -purinoceptor are Involved in Endothelium-depent Relaxations of the Rat Thoracic Aorta; British Journal Pharmacology vol.100, pág 576-580.

18) MORRISON, K. AND POLLOCK, D. (1990). Impairment of Relaxations to Acetylcholine and Nitric Oxide by a Phorbol Esther in Rat Isolated Aorta; British Journal Pharmacology, vol. 101; pág432-436.

19) PASSMORE, R.; ROBSON J. S.; (1971) Tratado de enseñanza integrada de la medicina; Capitulo 18 Enfermedades del corazon; Vol. 3 Medicina, cirugía y patología de los sistemas; edición en español; pág 480-490.

20) BERKOW, R.; BONDY, D. y Co. (1986). El manual Merck. transtornos cardiovasculares generalizados. séptima edición en español; Nueva editorial interamericana; Publicado por Merck Sharp y Dohmne research laboratories; pág 325-370.

21) GOODMAN, J. Y GILMAN (1986). Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica; Capítulo 32 agentes Antihipertensivos y Farmacoterapia de la Hipertensión; Séptima edición; Editorial Médica Panamericana; pág. 784-809.

22) LITTER, M. (1986). Compendio de Farmacología; Capitulo 24 Los Hipotensores; Tercera edición; Editorial el Ateneo; pág. 232-249.

23) KATZUNG, B. G. (1986). Farmacología básica y clínica; Capítulo 11 agentes antihipertensivos; Segunda edición editorial el Manual Moderno; pág 111- 132.

24) MEYERS, F. H. Y JAWETZ. (1977). Manual de Farmacología Clínica; Capítulo 12. Tratamiento medicamentoso de la hipertensión esencial; Tercera Edición; Editorial el Manual Moderno; pág 117-130.

25) DR. ZANCHETTI (1978). La Metildopa en la hipertensión; una revisión de la experiencia clínica a largo plazo con metildopa; capítulo 1 metildopa: su historia y su desarrollo; Merck Sharp y Dohme International División Merck Co; pág 3-21.

26) CASTILLO, H. C.; CASTILLO, H. E.; CHAVARRIA, B. J. L. Y VALENCIA, H. I. (1989). Mecanismo de Acción de los Nitrovasodilatadores; Acta Médica XXIV, Nums. 93-94, pág 67-70.

27) ANGULO, E. A. (1988). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias; Modulación de las Respuestas Adrenergicas por las Hormonas Glucocorticoides y Mineralocorticoides en Ratas Descerebradas y Desmeduladas; Sección de Terapéutica Experimental del Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

28) FASCIOLO, J.C. (1939). Hipertensión Arterial Nefrógica; Estudio Experimental; Facultad de ciencias Médicas Instituto de Fisiología Buenos Aires Argentina, pág 12-136.

29) BOLAROS, J.F.J. (1986). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias; Estudio de la Dependencia Física Producida por Morfina y TR5379 Sobre la Presión Arterial en la rata con Vagotomía bilateral y Sección espinal alta; Sección de Terapéutica Experimental Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

30) CASTILLO, H. C. (1986). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias; Farmacología Comparativa de Algunas Efedrinas y sus Derivados N-Borados; Sección de Terapéutica experimental del departamento de farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

31) GANONG, F.W. (1986 ). Fisiología Médica; Capítulo 33 Homeóstasis Cardiovascular en la salud y la enfermedad, Novena Edición; Editorial el Manual Moderno; Pág 531-534.

32) MCLEOD, L. J. (1975). Pharmacological Experiments on Intact Preparations; Chapter 11 Experiments in Pharmacology; Chapter 111 the Cardiovascular System; by the staff of the departament of pharmacology. First edición; Churchill Livingstong Publisher;

Longman Grove pág. 17-67.

33) KAPLAN, N. M.; LIEBERMAN, E., CARSLIO, P. R. (1985). Hipertensión clínica; capítulo 7. Hipertensión renovascular, Modelos experimentales; Segunda edición; Editorial el Manual Moderno, pág. 302-304.

34) MERCEDES DE LA CRUZ, F. (1990). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias; Caracterización Farmacológica de las Respuestas Inducidas por diversos Agonistas serotoninérgicos en la Arteria Coronaria Circunfleja Izquierda del Perro; Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

35) FLORES, B. A. M. (1980). Tesis para Obtener el Grado de Maestro en Ciencias; Evaluación de los Efectos Antiadrenérgicos neuronal y antihipertensivo del Bromuro de Quinudío (MA 540) en la Rata; Departamento de Farmacología y Toxicología; CINVESTAV-IPN.

36) KAKIHANA, H ; SUNO, M. AND NAGAOKA, A. (1988). Antihypertensive Efect of CV-4093.HCl, a new Calcium Antagonist in Three Rat Models of Hipertension; Japanese Journal Pharmacol vol48, No 2, pág 223-226.

- 37) AONO, J. AND SAKAI, K. (1988). Investigations into the Mechanism of the Antihypertensive Effect of SGB-1534, a Novel  $\alpha_1$ -Adrenoceptor Antagonist in Rats; Japanese Journal Pharmacology, vol 48, No2, pag 229-239.
- 38) TABRIZCHY, R. AND PANG, C. C. (1990). Adrenalectomy Abolishes Antagonismo  $\alpha$ -adrenoceptor Mediated Hipotension by a  $\beta$ -blocker in Conscious Rats; British Journal Pharmacology; vol. 101, pag 358-362.
- 39) PARKER, G. W. AND MARTIN, P. (1989). Technique for Cardiovascular Monitoring in Awake Thetered Rats; Laboratory Animal Science; vol.39, No.5.
- 40) BULLOCK, R. G. AND TAYLOR, S. G. (1988); Influence of the vascular endothelium on Agonist-Induced Contraction and Relaxations in Rat Aorta; British Journal Pharmacol 89, pag 819-830.
- 41) FURCHGOTT, R.F. ZAWADSKI., (1980); Acetylcholine relaxes arterial smooth muscle by relaxing substance from endothelial cells; Fed. proc. 39, 581.
- 42) REID, J.L., (1988); Present challenges and future strategies. J. Hypertens; vol 6; pag 3-8.

43) HOLLENBERG, N.K. (1987); Introduction: Calcium blockers in patients with hipertensión; Am. Journal Medical; 82 (Suppl. 3B); pág 1-2.

44) 1988 JOINT NATIONAL COMMITTEE (1988); the 1988 report of the Joint National committee on detection, Evaluation and treatment of High Blood pressure; Arch Intern. Med. 148; pág 1023-1038.

45) WAYNE W. DANIEL (1980); Bioestadística; Base para el análisis de las ciencias de la salud; Capítulo 1, organización y resumen de los datos; Capítulo 7 Analisis de varianza; Editorial Limusa; pág 27,193-237.