

11261  
12  
2oj

**EFFECTO DE DIVERSOS ANTIHIPERTENSIVOS EN LA  
REACTIVIDAD VASCULAR DEPENDIENTE DEL  
ENDOTELIO DE RATAS ESPONTANEAMENTE  
HIPERTENSAS.**

Tesis que para obtener el grado de Maestro en Ciencias Biomédicas en el área  
de Farmacología, presenta el M.C. Víctor Ransanz Arias.

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional  
Autónoma de México.

Ciudad Universitaria, noviembre de 1992.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **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.

# I. INDICE GENERAL

II. LISTA DE FIGURAS .....	iv
III. LISTA DE TABLAS .....	v
IV. LISTA DE ABREVIATURAS .....	vi
V. RESUMEN .....	vii
<b>I. ALGUNAS GENERALIDADES IMPORTANTES DE LA HTA.</b> .....	<b>1</b>
1.1 Introducción .....	1
1.2 El estudio de la HTA .....	1
1.3 Clasificación de la HTA .....	2
1.4 La HTA de origen renovascular .....	3
1.5 La HTA por enfermedad del parénquima renal .....	3
1.5.1 La HTA por glomerulonefritis aguda .....	3
1.5.2 La HTA por uremia .....	3
1.6 La HTA por aldosteronismo primario .....	4
1.7 La HTA por feocromocitoma .....	4
1.8 La HTA por coartación de la aorta .....	5
1.9 La HTA esencial .....	5
1.10 El sistema nervioso y la HTA .....	7
1.11 El riñón y algunos sistemas humorales en la HTA .....	9
1.11.1 Los neurotransmisores adrenérgicos y la HTA .....	9
1.11.2 La serotonina y la HTA .....	9
1.11.3 El sistema renina-angiotensina-aldosterona y la HTA .....	10
1.11.4 El sistema cininas-bradicinina-kalitreina y la HTA .....	10
1.11.5 El ANF, los digitálicos endógenos y la HTA .....	11
1.12 El sistema cardiovascular y la HTA .....	11
1.12.1 La hipertrofia del sistema cardiovascular y la génesis de la HTA esencial .....	12
<b>2. EL ENDOTELIO, LA REACTIVIDAD VASCULAR Y LA HTA.</b> .....	<b>14</b>
2.1 Introducción .....	14
2.2 La relajación dependiente del endotelio .....	15
2.2.1 La prostaciclina .....	15
2.2.2 El EDRF .....	15
2.2.2.1 Comprobación de que es un factor endotelial: bioensayo del "sandwich" .....	15
2.2.2.2 Naturaleza y origen del EDRF .....	16
2.2.2.3 Mecanismo de acción .....	16
2.2.2.4 Efecto del EDRF en la agregación y en la adhesión plaquetarias .....	16
2.2.2.5 Factores que liberan EDRF .....	16
2.2.2.6 Factores que inhiben la acción del EDRF .....	16
2.2.2.7 Modelos <i>in vivo</i> vs. <i>in vitro</i> .....	16

2.2.2.8 El Ca <sup>++</sup> y el EDRF . . . . .	17
2.2.2.9 Evidencia que apoya la existencia de distintos EDRF . . . . .	17
2.3 La relajación independiente del endotelio . . . . .	17
2.4 La vasoconstricción dependiente del endotelio . . . . .	18
2.4.1 Factores contráctiles derivados de la vía de la cicloxigenasa . . . . .	18
2.4.2 La endotelina . . . . .	18
2.5 Algunos cambios morfológicos de los vasos en la HTA . . . . .	19
2.6 La relajación vascular en distintos modelos de HTA . . . . .	19
2.6.1 La relajación en los vasos de ratas SHR . . . . .	19
2.6.2 La relajación en los vasos de ratas SHR propensas a infartos cerebrales . . . . .	19
2.6.3 La relajación dependiente del endotelio en ratas transgénicamente hipertensas . . . . .	19
2.6.4 La relajación dependiente del endotelio en vasos de ratas Dahl . . . . .	20
2.6.5 La relajación dependiente del endotelio en los vasos de conejos hipertensos por la ligadura de la aorta . . . . .	20
2.6.6 La relajación dependiente del endotelio en los vasos de ratas hipertensas por administración de DOCA . . . . .	20
2.7 La contracción vascular en distintos modelos de HTA . . . . .	20
2.7.1 La contracción vascular en las ratas SHR . . . . .	20
2.7.2 La contracción de los vasos de ratas hipertensas por la administración de DOCA . . . . .	20
2.7.3 La contracción de los vasos de las ratas Dahl . . . . .	21
2.8 Otros factores que modifican la reactividad vascular . . . . .	21
2.8.1 La edad . . . . .	21
2.8.2 La aterosclerosis . . . . .	21

### **3. ALGUNOS FÁRMACOS UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA HTA.**

3.1 Introducción . . . . .	21
3.2 La prazosina . . . . .	21
3.3 El verapamil . . . . .	22
3.4 La nitrendipina . . . . .	22
3.5 La pelanserina . . . . .	23
3.6 El indorrenato . . . . .	23
3.7 El propranolol . . . . .	24

### **4. FASE EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS EN LA REACTIVIDAD VASCULAR**

4.1 introducción . . . . .	24
4.2 Objetivos . . . . .	24
4.2.1 Primer objetivo . . . . .	24
4.2.2 Segundo objetivo . . . . .	24
4.2.3 Tercer objetivo . . . . .	24
4.3 Material y métodos . . . . .	25
4.4 Estadística . . . . .	25
4.5 Resultados . . . . .	26
4.5.1 La relajación dependiente del endotelio en aortas de ratas de distintas	

edades .....	26
4.5.2 El efecto de los tratamientos en la reactividad vascular de las ratas SHR ...	26
4.5.2.1 La presión arterial .....	26
4.5.2.2 La relajación dependiente del endotelio .....	26
4.5.2.3 La relajación independiente del endotelio .....	27
4.5.2.4 La contracción vascular .....	28
4.5.2.5 Correlación entre la relajación y la presión arterial .....	29
4.6 Discusión .....	29
4.7 Conclusiones .....	32
<b>5. REFERENCIAS .....</b>	<b>33</b>

## II. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Interacción de factores genéticos y ambientales como los más importantes en la génesis de la HTA esencial. ....	5
Figura 2. La hipertrofia vascular como un factor de retroalimentación positiva de la hipertensión arterial. ....	13
Figura 3. Estructura molecular de la prazosina. ....	22
Figura 4. Estructura molecular del verapamil. ....	22
Figura 5. Estructura molecular de la nitrendipina. ....	23
Figura 6. Estructura molecular de la pelanserina. ....	23
Figura 7. Estructura molecular del indorrenato. ....	23
Figura 8. Estructura molecular del propranolol. ....	24
Figura 9. Relaciones en aortas de ratas de distintas edades y cepas. Se observaron diferencias significativas según la edad y/o la cepa (ANADEVA: $p < 0.05$ ). ....	26
Figura 10. Efecto del tratamiento con prazosina (B) y propranolol (C) en la relajación por acetilcolina (Dunnett: * $p < 0.05$ , ** $p < 0.01$ ). ....	27
Figura 11. Efecto del tratamiento con pelanserina (B) e indorrenato (C) en la relajación de acetilcolina (Dunnett: * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ ). ....	27
Figura 12. Efecto del tratamiento con nitrendipina (B) y con verapamil (C) en la relajación de acetilcolina (Dunnett: * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ ). ....	28
Figura 13. Comparación de los tratamientos de verapamil e indorrenato, con la relajación por acetilcolina en las ratas WKY (Dunnett: * $p < 0.05$ ). ....	28
Figura 14 Efecto del tratamiento con prazosina (B) y propranolol (C) en la relajación dependiente del endotelio inducida por histamina. ....	28
Figura 15. Efecto del tratamiento con pelanserina (B) e indorrenato (C) en la relajación dependiente del endotelio inducida por histamina. ....	28
Figura 16. Efecto del tratamiento con nitrendipina (B) y verapamil (C) en la relajación dependiente del endotelio inducida por histamina. ....	29
Figura 17. Relajación de nitroglicerina en animales tratados con prazosina. La figura A corresponde a anillos normales y la B a anillos sin endotelio. ....	29
Figura 18. Correlación entre la presión arterial (8h) y la relajación inducida por acetilcolina ( $10^{-6}$ M) ( $p > 0.05$ ). ....	30

### III. LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Presión arterial sistólica de ratas SHR sometidas a distintos tratamientos. ....	26
Tabla 2. $CI_{50}$ de acetilcolina y nitroglicerina obtenidas de curvas dosis-respuesta en anillos de aorta de ratas SHR .....	27
Tabla 3. Contracciones por metoxamina en anillos de aorta de rata SHR sometidas a tratamientos con distintos fármacos .....	29

#### IV. LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica  
ADP: Difosfato de adenosina  
ANF: Factor auricular natriurético  
ANADEVA: Análisis de varianza  
ATP: Trifosfato de adenosina  
CI<sub>50</sub>: Concentración inhibitoria del 50%  
DE<sub>50</sub>: Dosis efectiva del 50%  
DOCA: Desoxicorticosterona  
ECA: Enzima convertidora de angiotensina  
EDRF: Factor relajante derivado del endotelio (*endothelial derived relaxing factor*)  
EDHF: Factor hiperpolarizante derivado del endotelio (*endothelial derived hyperpolarizing factor*)  
ET: Endotelina  
g: gramos  
GABA: Acido gamma amino butírico  
h: hora  
Hg: Mercurio  
HTA: Hipertensión arterial  
kg: kilogramo  
L: Longitud  
mm: milímetros  
NO: óxido nítrico  
 $\eta$ : viscosidad  
 $\omega$ : grosor de la pared de un vaso  
 $\pi$ : 3.1416  
P: Presión  
p: probabilidad  
Q: Flujo sanguíneo  
r: radio  
r<sub>i</sub>:radio interno  
RNA: Acido ribonucleico  
RNAm: Acido ribonucleico mensajero  
SHR: ratas espontáneamente hipertensas (*spontaneously hypertensive rat*)  
SHRSP: ratas espontáneamente hipertensas propensas a infartos cerebrales (*spontaneously hypertensive rat stroke prone*)  
T: Tensión  
WKY: ratas normotensas Wistar Kyoto  
5-HT: serotonina (5-Hidroxitriptamina)

## V. RESUMEN

El endotelio vascular es un tejido relevante en el control local de la vasculatura; secreta factores contráctiles y relajantes cuya repercusión funcional es importante. La hipertensión arterial (HTA) es una de las enfermedades que más daña el endotelio de los vasos; encontrar los medios para revertir este daño se convierte en un tema fundamental. En el presente estudio exploramos el efecto de los siguientes tratamientos en el endotelio aórtico de ratas espontáneamente hipertensas (SHR): un antihipertensivo central con actividad agonista 5-HT<sub>1A</sub> (indorrenato), un antagonista 5-HT<sub>2</sub> y  $\alpha_1$  (pelanserina), un vasodilatador (nitroglicerina), un bloqueador  $\beta$  no selectivo (propranolol), un bloqueador  $\alpha_1$  de alta afinidad (prazosina), y dos antagonistas de calcio (verapamil y nitrendipina). Los fármacos se administraron por vía oral dos veces diarias, durante dos semanas. Al finalizar el tratamiento, se estudió la reactividad de la aorta torácica en cámaras para órgano aislado. Encontramos que todos los tratamientos, con excepción del de prazosina, beneficiaron en distinto grado la relajación dependiente del endotelio, inducida por acetilcolina, pero no la inducida por histamina. El tratamiento que produjo mayor beneficio endotelial fue el de verapamil. El indorrenato fue el que mayor aumento produjo en la sensibilidad del agente colinérgico. En el análisis de los tratamientos no se observó correlación entre la disminución de la presión arterial y el incremento en la relajación inducida por acetilcolina. Inferimos que otros factores no identificados, colaterales a la disminución de la presión arterial, están involucrados en el beneficio endotelial.

En esta tesis comenzamos citando algunas generalidades importantes de la HTA, después comentaremos en detalle la fisiología endotelial, la reactividad vascular y la relación que tienen ambas con la HTA. Posteriormente se citarán las características más sobresalientes de algunos fármacos utilizados en el estudio experimental de la HTA. Se abordará la fase experimental del efecto de fármacos antihipertensivos en la reactividad vascular, tema central de la tesis. Finalmente citaremos los resultados y la discusión de nuestros hallazgos con respecto a los de otros laboratorios.

# 1. ALGUNAS GENERALIDADES IMPORTANTES DE LA HTA.

## 1.1 Introducción

La HTA en el ser humano es la enfermedad degenerativa más importante de los países desarrollados (ver revisiones: Williams, 1983<sup>1</sup>, Dustan, 1982<sup>2</sup>, Sokolov, 1983<sup>3</sup>, Robins, 1979<sup>4</sup>, Folkow, 1982<sup>5</sup>). Junto con otras enfermedades crónicas no transmisibles, en Latinoamérica ha adquirido importancia debido a que su prevalencia tiende a ser semejante a la de los países desarrollados.<sup>6</sup>

En México (1990), las enfermedades cardiovasculares ocupan el primer lugar de mortalidad,<sup>7</sup> el 11% de estas muertes se deben a HTA, pero muy probablemente este porcentaje sea mucho mayor. La enfermedad hipertensiva tiene una incidencia mas importante en el norte del país que en cualquier otra región de la república. En la década de 1980-1990, la tasa de mortalidad creció de 4.7 a 7.9 (por cada 100 mil habitantes).<sup>7</sup> Se considera que en Latinoamérica su incidencia varía entre el 10 y 20%, es decir casi una quinta parte de la población padece HTA.<sup>6,8</sup> La importancia de esta enfermedad se refleja en la creación de programas para la detección y prevención, implantados en nuestro país, Brazil, Cuba, Chile y Venezuela.<sup>6</sup>

Las cifras límite tensionales consideradas como patológicas son arbitrarias, y se establecieron en relación al riesgo de morbi-mortalidad de los pacientes. Para esto, se tomaron en cuenta factores como raza, edad, sexo, etc. En general, se acepta que cifras sistólicas mayores de 140 mm de Hg y diastólicas mayores de 90 mm de Hg son patológicas. Es importante indicar que en el 90-95% de los casos, la causa de esta enfermedad es desconocida; solo en un pequeño número de casos se puede identificar la etiología.

## 1.2 El estudio de la HTA.

Idealmente la HTA debería estudiarse en el ser humano. Sin embargo, cuando los experimentos no son factibles, se utilizan animales hipertensos. Algunos de los mas importantes son las cepas de ratas hipertensas SHR: (ver Folkow, 1982<sup>5</sup>)

1. La rata hipertensa de Nueva Zelanda, desarrollada por Smirk y Hall.
2. La cepa de Okamoto y Aoki, en Japón.
3. La cepa Milán generada por Bianchi en Italia.
4. La cepa Sabra de Ben Ishay en Israel.

Dahl y su grupo desarrollaron las ratas sensibles y las resistentes a la HTA, producida por dieta alta en sal.

Otro modelo animal es el de Goldblat, quien indujo HTA renal por ligadura de la arteria renal. La técnica original fue introducida en 1934 y actualmente existen variantes en ratas, perros y conejos.<sup>5</sup>

Se puede inducir HTA aguda por infusión de distintas sustancias vasoconstrictoras como la angiotensina II,<sup>9</sup> la endotelina<sup>10</sup> y la epinefrina.<sup>11</sup> También es posible inducir HTA en ratas, por administración crónica de desoxicorticosterona (DOCA).<sup>12,13,14</sup> Esta sustancia es un mineralocorticoide, similar a la aldosterona, que aumenta la presión arterial por retención de líquidos y electrolitos.

En otros modelos se induce HTA mediante una lesión neurológica. Este es el caso de la denervación de barorreceptores, lesiones del núcleo del tracto solitario (del bulbo) y de lesiones en la región anteroventral del tercer ventrículo.<sup>15</sup>

Finalmente existen los modelos de animales transgénicos. En ellos, un gen de alguna sustancia involucrada en el control de la presión arterial (v.gr. renina ó angiotensina II), tiene su expresión aumentada ó disminuída.<sup>16,17</sup>

1.3 **Clasificación de la HTA** (ver Williams, 1983<sup>1</sup> y Dustan, 1982<sup>2</sup>).

Clinicamente es conveniente clasificar la HTA según su gravedad en (ver revisión: Dustan, 1982<sup>2</sup>):

1. **HTA lábil**: presión arterial ocasionalmente elevada.
2. **HTA limítrofe ó "borderline"**: presión arterial entre 140/90 mm de Hg y 160/95 mm de Hg.
3. **HTA leve**: presión diastólica entre 95 y 104 mm Hg.
4. **HTA moderada**: presión diastólica entre 105 y 114 mm de Hg.
5. **HTA severa**: presión diastólica entre 115 y 140 mm de Hg.
6. **HTA maligna**:<sup>1,3</sup> cifras mayores de 200/140 mm de Hg.
7. **HTA acelerada**:<sup>1</sup> Aumento significativo de la presión arterial en corto tiempo, asociada a daño vascular pero sin papiledema.
8. **HTA resistente**:<sup>18,19</sup> La presión arterial no puede reducirse a menos de 150-160/100 mm de Hg, a pesar de un régimen combinado de tres grupos de fármacos, eligiendo un fármaco por grupo:

1. Diuréticos.
2. Antiadrenérgicos ó vasodilatadores ó antagonistas de calcio.
3. Antagonistas de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA).

Según la etiología la HTA se suele clasificar en: (ver Williams, 1983<sup>1</sup>)

1. **Causas que aumentan la presión arterial sistólica**: El incremento de la presión arterial sistólica es común en ancianos. Se presenta cuando las cifras sistólicas son mayores ó iguales a 160 mm de Hg, pero las diastólicas menores de 95 mm de Hg. Entre las causas más comunes tenemos:
  - a. El decremento de la elasticidad vascular por aterosclerosis.
  - b. El aumento del volumen latido del corazón secundario a:
    1. Fistula arteriovenosa.

2. Tirotoxicosis.
3. Enfermedad hiperkinética cardíaca.
4. Fiebre.
5. Factores psicogénicos.
6. Regurgitación aórtica.

7. Persistencia del conducto arterioso (vaso normalmente cerrado que deriva de la bifurcación de las arterias pulmonares hacia la aorta).

2. **Causas que aumentan la presión arterial diastólica y sistólica**: Este incremento mixto es más frecuente, se caracteriza por incremento de las resistencias periféricas y puede deberse distintas causas:

- a. Causas de origen renal
  1. Pielonefritis crónica.
  2. Glomerulonefritis aguda ó crónica.
  3. Enfermedad renal poliquística.
  4. Estenosis renovascular ó infarto renal.
  5. Otras enfermedades renales severas (*v.gr.* la nefrosclerosis arteriolar, la nefropatía diabética, etc.).
6. Neoplasias productoras de renina (*v.gr.* carcinomas renales: hipernefoma ó adenocarcinoma).
- b. Causas de origen endócrino.
  1. Anticonceptivos orales: es la causa más usual de HTA secundaria.<sup>1</sup> Ocurre por retención de líquidos y aumento en las resistencias periféricas por acción de la angiotensina II.
  2. Hiperfunción adrenocortical
    - a. Enfermedad y síndrome de Cushing.
    - b. Hiperaldosteronismo primario.
    - c. Síndromes adrenogenitales, congénitos ó hereditarios (alteraciones en la 17- $\alpha$  y 11- $\beta$  hidroxilasas).
  3. Feocromocitoma (neoplasia hiperproductora de catecolaminas).
  4. Mixedema (infiltración cardiovascular de mucopolisacáridos).
  5. Acromegalia (HTA secundaria a hipertrofia cardiovascular).
- c. Causas de origen neurológico.
  1. Psicológicas.
  2. Síndrome diencefálico.
  3. Disautonomía familiar Riley-Day (HTA por inestabilidad autonómica).

4. Poliomielitis (bulbar).
5. Polineuritis (por porfiria aguda ó intoxicación por plomo).
6. Hipertensión aguda intracraneana.
7. Sección medular.
- d. Causas misceláneas
  1. Coartación de la aorta.
  2. Incremento en el volumen intravascular (por transfusión excesiva ó policitemia vera).
  3. Poliarteritis nodosa.
  4. Hipercalcemia.
- e. Causas de origen desconocido relacionadas con las siguientes enfermedades:
  1. HTA esencial
  2. Toxemia del embarazo.
  3. Porfiria aguda intermitente.

**1.4 La HTA de origen renovascular** (ver revisiones: Dustan, 1982,<sup>2</sup> Williams, 1983,<sup>1</sup> Sokolov 1983,<sup>3</sup> Robins, 1979<sup>20</sup>).

La prevalencia de la HTA de origen renovascular varía entre el 1 y el 20% del total de casos. La causa es una estenosis de la arteria renal, generalmente debida a una displasia vascular que disminuye la perfusión renal y estimula al sistema renina-angiotensina-aldosterona. Se manifiesta con un aumento en el gasto cardíaco, y en las resistencias periféricas. Es común encontrar aumento del ritmo cardíaco, de la frecuencia de eyección del ventrículo izquierdo, y de la relación:

$$\frac{\text{Volumen-sanguíneo-central}}{\text{Volumen-sanguíneo-total}}$$

La relación indica un decremento en la capacitancia venosa y una centralización de la sangre.

Ocasionalmente se encuentran niveles altos de renina que, en conjunto con los de angiotensina II, se correlacionan con el incremento de la presión arterial.

**1.5 La HTA por enfermedad del parénquima renal** (ver revisiones: Dustan, 1982<sup>2</sup>, Williams,

1983<sup>1</sup>, Robins, 1979<sup>20</sup>, Sokolov, 1983<sup>3</sup>).

Varias enfermedades del parénquima renal precipitan HTA. Entre las mas importantes están la glomerulonefritis aguda y la uremia por insuficiencia renal crónica. A diferencia de la HTA renovascular, en la HTA por enfermedades del parénquima se presenta un mayor incremento de la renina plasmática. El gasto cardíaco es generalmente normal, excepto cuando se presenta uremia y anemia. El volumen sanguíneo generalmente está aumentado y puede presentarse con o sin insuficiencia renal.

#### **1.5.1 La HTA por glomerulonefritis aguda.**

Las causas de la glomerulonefritis aguda son variadas, desde infecciones bacterianas hasta enfermedades sistémicas como el Lupus eritematoso.<sup>21</sup> La glomerulonefritis es una enfermedad aguda que se caracteriza por presentar hematuria, proteinuria, azotemia, retención de sal y líquidos. La retención de líquidos ocurre por disminución de la tasa de filtración glomerular y por una exagerada reabsorción de Na<sup>+</sup> y agua en los segmentos distales de la nefrona. El aumento en el volumen de líquidos puede provocar edema e HTA. En ocasiones, se puede encontrar un estado hiperdinámico con aumento del gasto cardíaco, congestión circulatoria, aumento en la presión vascular pulmonar e hipertensión diastólica. Las resistencias periféricas pueden estar disminuidas ó ligeramente aumentadas.

#### **1.5.2 La HTA por uremia.**

Se conoce como el síndrome de uremia a los signos y síntomas asociados a la insuficiencia renal crónica, independientemente de la causa que la origine.<sup>2,22</sup> Las características más sobresalientes de este síndrome son la HTA y la anemia, aunque también se observa intolerancia a los carbohidratos, hiperuricemia e hipertrigliceridemia.

En la insuficiencia renal crónica ocurre un desbalance en la homeostasis de electrolitos, agua, y en la depuración sanguínea. En algunos de estos casos el incremento en la presión arterial,

es dependiente de la concentración de renina, y en otros de la retención de líquidos y electrolitos.

En los casos de HTA severa dependiente de renina, se encuentra el gasto cardíaco disminuido, pero las resistencias periféricas considerablemente aumentadas. Al realizar una nefrectomía a los pacientes, baja notablemente la presión arterial por disminución de las resistencias periféricas y aumenta el gasto cardíaco. Se piensa que este fenómeno se debe a una disminución en la cantidad de la angiotensina II, que es un potente vasoconstrictor.

Los pacientes con HTA causada por un desbalance de agua y electrolitos, presentan las siguientes características: gasto cardíaco elevado (probablemente debido a la anemia); resistencias periféricas moderadamente incrementadas; aumento en el  $\text{Na}^+$ , correlacionado directamente con la presión arterial diastólica.

Se ha visto que el síndrome de uremia, disminuye la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, principalmente en los eritrocitos y en el sistema nervioso central. Esta enzima es considerada importante en la regulación del volumen celular y del potencial transmembrana.

#### **1.6 La HTA por aldosteronismo primario (ver: Dustan, 1982<sup>2</sup>, Williams GH, 1983<sup>1</sup>).**

La aldosterona favorece la retención de sodio y facilita la excreción de potasio causando hipokalemia. Experimentalmente, se puede inducir HTA en pacientes normotensos, mediante una infusión de aldosterona y  $\text{Na}^+$ . Es interesante que si no administramos  $\text{Na}^+$ , no se presenta HTA. El aldosteronismo primario es una entidad rara; ocurre en menos del 1% del total de los casos de HTA. Es producida por un adenoma solitario hiperproductor de aldosterona en la glándula suprarrenal.

En el aldosteronismo primario, el gasto cardíaco está frecuentemente elevado. Sin embargo al suscitarse la HTA, esta elevación se correlaciona

negativamente con el aumento en la presión arterial; es decir, a mayor presión menor gasto. El volumen intravascular juega un papel muy importante en esta patología. Tanto el volumen plasmático, como el sanguíneo total, están frecuentemente elevados y se correlacionan positivamente con la presión arterial y con el incremento de las resistencias periféricas totales. La angiotensina II y la renina se encuentran disminuidas, y se pierde el control que tienen éstas sobre la aldosterona. Los pacientes presentan HTA leve ó moderada, y cuando se les extirpa el adenoma, la hipertensión se revierte. En casos severos, esto no sucede, probablemente porque también presentan HTA esencial.

El hiperaldosteronismo primario no es el único caso de HTA secundaria a una sobreproducción de esteroides, pero sí la más frecuente. El síndrome y la enfermedad Cushing también pueden causar HTA por sobreproducción de glucocorticoides y en ocasiones de mineralocorticoides. Colateralmente a las alteraciones hidroelectrolíticas conocidas, los glucocorticoides, pudieran contribuir al aumento de la presión arterial sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona y/o sobre la reactividad vascular. Otra enfermedad aún menos frecuente, que conlleva HTA, es el síndrome adrenogenital, en el que por deficiencias en la  $17-\alpha$  ó  $11-\beta$  hidroxilasas, aumenta la producción de desoxicorticosterona (DOCA) que retiene  $\text{Na}^+$  y aumenta el volumen circulante.

#### **1.7 La HTA por feocromocitoma (ver: Landsberg, 1983,<sup>23</sup> Williams, 1983,<sup>1</sup> Dustan 1982<sup>2</sup>).**

El feocromocitoma es un tumor del tejido cromafínico que libera epinefrina y norepinefrina a la circulación. Se localiza con frecuencia en la médula adrenal y en los ganglios simpáticos (paragangliomas).

Las alteraciones funcionales dependen del aumento de las catecolaminas. La HTA puede ser sostenida ó eventual; el gasto cardíaco y las

resistencias periféricas se encuentran generalmente aumentadas, en cambio el volumen plasmático y la actividad plasmática de renina están generalmente reducidos.

### 1.8 La HTA por coartación de la aorta (ver: Williams, 1983,<sup>1</sup> Dustan, 1982<sup>2</sup> ).

La coartación es una obstrucción parcial congénita de la aorta que produce HTA sistólica. En este tipo de HTA, las resistencias periféricas y el gasto cardíaco se pueden encontrar aumentados. La perfusión sanguínea de todos los órganos, con excepción del riñón, se encuentra incrementada; por esto se considera una HTA hiperdinámica.

### 1.9 La HTA esencial (ver: Folkow, 1982,<sup>5</sup> Dustan, 1982,<sup>2</sup> Sokolov, 1983,<sup>3</sup> Williams, 1983,<sup>1</sup> Robins, 1979<sup>4,20</sup>).

La HTA esencial, idiopática ó primaria, es una enfermedad de causa desconocida. Probablemente sus causas son múltiples y entre éstas, se sugieren las alteraciones en cualquiera de los mecanismos reguladores de la presión arterial. Cerca del 90% de todas las enfermedades hipertensivas son de este tipo. Aparece entre los 25 y 55 años de edad, y es peor el pronóstico a menor edad. Dentro de los múltiples factores posiblemente implicados en la génesis de esta enfermedad, sobresalen los genéticos y los ambientales (ver Fig. 1).<sup>5,24</sup>

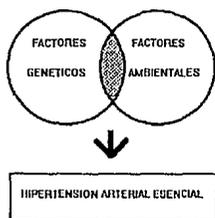


Figura 1. Interacción de factores genéticos y ambientales como los más importantes en la génesis de la HTA esencial.

La predisposición genética puede manifestarse como trastornos estructurales, bioquímicos ó fisiológicos en distintos órganos y sistemas. En el hombre la herencia de esta enfermedad, es de tipo multifactorial,<sup>1,4,5,20</sup> es decir, no se circunscribe a un gen específico, sino que es una herencia poligénica. Los hijos de ambos padres hipertensos tienen una predisposición del 46%, mientras los hijos de padres normotensos del 3%.<sup>25</sup> Resulta interesante que esta enfermedad es mas observada en los pacientes de sexo femenino<sup>4,20</sup> y en la raza negra.<sup>4,25</sup>

En su lugar de origen los chinos tienen una baja incidencia de HTA, pero se incrementa al emigrar a los Estados Unidos. Esta y otras observaciones, sugieren que factores ambientales colaboran notablemente en la aparición de esta enfermedad.<sup>1,5,20,26</sup> Entre los factores ambientales más importantes están la ingestión de NaCl y lípidos en la dieta, el tabaquismo y el estrés. De estos, los más estudiados son la ingestión de NaCl<sup>1,5,26,27</sup> y el estrés.<sup>5</sup>

La reducción de peso generalmente disminuye la presión arterial, aunque no siempre a cifras normales. La ingesta de NaCl se regula por medio de un fino control neurohumoral, donde intervienen la hormona antiidiurética, la aldosterona, la angiotensina,<sup>28</sup> el factor auricular natriurético (ANF: *atrial natriuretic factor*),<sup>29</sup> y el digitalico endógeno.<sup>30</sup> Cualquier cambio en estos mecanismos de control puede alterar la presión arterial.

No se considera el NaCl un factor etiológico aunque sí permisivo y, en ocasiones facilitador de la HTA primaria. Las poblaciones de individuos genéticamente normotensos, son refractarios a la inducción de HTA por ingesta de sal, es decir, su presión arterial no se modifica aunque incrementen notablemente la dieta en sal. Un grupo reducido de individuos con predisposición genética desarrolla HTA, aunque solo se les duplique la ingesta. Estos individuos desarrollan aumento en la hemodinamia, es decir, incremento en el gasto cardíaco sin compensación de las resistencias

periféricas. La predisposición genética de la hipersensibilidad a la sal, parece ser heredada de manera poligénica.<sup>5</sup>

Es interesante señalar que los pacientes con HTA esencial, en especial los que tienen la renina plasmática baja, presentan reducción en la presión arterial cuando se les disminuye la ingesta de Na<sup>+</sup> y/o se les administra drogas natriuréticas.<sup>30</sup>

Las diferencias en la personalidad favorecen respuestas distintas a las mismas situaciones. La sociedad moderna se caracteriza por abundantes estímulos psicosociales y psicofísicos que precipitan el estrés.<sup>5</sup> Constantemente estos cambios disparan reacciones de defensa e inducen cambios hormonales que son suficientes para aumentar la presión arterial media y el gasto cardíaco. Varias hormonas se modifican en situaciones de defensa: la epinefrina, la adrenocorticotropina (ACTH), los glucocorticoides, los mineralocorticoides, la hormona antidiurética y el sistema renina-angiotensina-aldosterona. Existe una correlación clara entre el estrés y el incremento agudo de la presión arterial, sin embargo, esta correlación no es tan evidente con la HTA crónica.<sup>15</sup>

Las alteraciones psicoemocionales influyen notablemente en la hemodinámica cardiovascular, y pudieran precipitar la HTA en pacientes genéticamente predispuestos. Sobre todo si estas alteraciones provocan cambios estructurales como la hipertrofia vascular.<sup>5</sup>

La hipertensión esencial leve tiene una ocurrencia del 71.5%. Se presenta con mayor frecuencia en pacientes jóvenes y se suele relacionar con cambios hemodinámicos importantes: el gasto cardíaco y la presión diastólica se encuentran elevados sin poderse contrarrestar por las resistencias periféricas. También se observan, aumentos en la frecuencia cardíaca y en la frecuencia media de eyección ventricular. Hay disminución del período de preinyección del ventrículo izquierdo, así como

de la relación ventricular:

$$\frac{\text{Período-de-preinyección}}{\text{Tiempo-de-eyección}}$$

Las causas que precipitan estos cambios han sido ampliamente estudiadas y, al parecer, son consecuencia de una respuesta adrenérgica incrementada. La excreción urinaria de catecolaminas aumenta cuando los pacientes se someten a cambios ortostáticos. La frecuencia cardíaca aumenta por acción de los receptores  $\beta$  y por disminución del flujo parasimpático. El incremento del gasto cardíaco es consecuencia de aumentos en la frecuencia cardíaca y en el volumen latido. El aumento del volumen latido se debe al incremento en la contractilidad miocárdica y al decremento de la capacitancia venosa.

Se ha demostrado que los pacientes tienen aumentada la relación:

$$\frac{\text{Volumen-sanguíneo-central}}{\text{Volumen-sanguíneo-total}}$$

lo que se correlaciona con el incremento del volumen latido y/o gasto cardíaco. Llama la atención que a pesar de estos cambios, el volumen circulante se encuentra normal ó hasta disminuído. Algunos autores han reportado que los pacientes presentan niveles altos de renina plasmática; esto es muy poco frecuente en los pacientes de raza negra.

La frecuencia de la HTA esencial moderada y severa es de 28.5 %. No se debe a un estado hiperdinámico y hay poca evidencia de aumento en la actividad adrenérgica. Los cambios hemodinámicos encontrados dependen de las alteraciones crónicas que produce la HTA en los vasos y en el corazón.

Se distinguen dos cuadros clínicos; los que no presentan cardiomegalia y los que sí. En los primeros, el gasto cardíaco y la frecuencia de eyección del ventrículo izquierdo son normales, pero las resistencias vasculares totales están

elevadas y el trabajo del corazón está aumentado. El volumen extracelular puede ser normal pero el plasmático está deprimido, lo que indica que la relación:

$$\frac{\text{Volumen-plasmático}}{\text{Volumen-intersticial}}$$

está disminuida.

Cuando hay cardiomegalia disminuye la contractilidad y el gasto cardíaco. Se incrementan el período de preinyección y la relación del ventrículo izquierdo:

$$\frac{\text{Período-de-preinyección}}{\text{Tiempo-de-eyección}}$$

Las resistencias periféricas se encuentran aumentadas en todo el organismo, con mayor énfasis en el riñón, y menor en el músculo esquelético. Hay poca evidencia de alteración en el sistema nervioso; la maniobra de ortostatismo y de valsalva son normales, aunque en ocasiones, se han reportado disminuidas.

**1.10 El sistema nervioso y la HTA** (ver: Ferrario, 1991,<sup>15</sup> Folkow, 1982,<sup>5</sup> Dustan, 1982<sup>2</sup>).

Las alteraciones que presentan los pacientes hipertensos en el sistema nervioso son diversas. Frecuentemente padecen cefaleas occipitales matutinas, mareo, vértigo, *tinitus*, visión borrosa, síncope, oclusiones vasculares y hemorragias. Hay evidencia clínica de un reajuste en los reflejos mediados por barorreceptores carotídeos y aórticos.<sup>5</sup>

En la retina, la enfermedad hipertensiva se inicia con un espasmo focal, acompañado de un angostamiento global de las arteriolas, con hemorragias, exudados y papiledema. Si estas lesiones son debidas a un episodio agudo, generalmente se revierten cuando éste desaparece.

Es interesante el hecho de que algunas enfermedades psiquiátricas se asocian fuertemente a HTA, como la depresión y especialmente los trastornos afectivos del tipo de la alteración afectiva bipolar.<sup>15</sup>

Se ha visto que las ratas SHR presentan disminución de las vías gabaérgicas inhibitorias en la región ventrolateral del bulbo (neuronas vasomotoras), que desempeña un importante papel en el control de la presión arterial. También hay evidencia de que estas ratas tienen niveles altos de ACTH y alteración en el sistema límbico, lo que puede facilitar el desarrollo de la enfermedad hipertensiva.<sup>5</sup>

El origen de la HTA en el sistema nervioso puede relacionarse con alteraciones de alguna estructura importante en el control de la presión arterial.<sup>15</sup> El control de la presión arterial está ejercido directamente ó indirectamente en la corteza, el cerebelo, el sistema límbico, el hipotálamo, el cerebro medio, el bulbo, la médula espinal, el seno carotídeo y el arco aórtico. Las estructuras en las que se ha encontrado un control directo son el hipotálamo, el bulbo, y la médula.<sup>31</sup>

El sistema nervioso autónomo controla la presión arterial mediante la regulación vascular periférica, la frecuencia y la fuerza de contracción cardíacas. Las neuronas sensibles a la osmolaridad del volumen extracelular, regulan la ingesta de agua y la excreción urinaria, y modulan la presión arterial mediante acción de las glándulas suprarrenales y de la hipófisis.<sup>15</sup>

También resulta interesante señalar que la actividad de los centros nerviosos involucrados en el control de la presión arterial, puede modificarse farmacológicamente (ver revisiones: Scriabine, 1982<sup>32</sup> y Brody, 1991<sup>33</sup>) con agonistas 5-HT<sub>1</sub>, agonistas  $\alpha_2$ , GABA, agonistas dopaminérgicos, antagonistas de la aldosterona y antagonistas de angiotensina.

Sin duda alguna, el bulbo raquídeo es la estructura de mayor importancia en la regulación de la presión arterial. Recibe vías aferentes de

los barorreceptores carotídeos y aórticos, así como de mecanorreceptores sensibles al llenado sanguíneo de las cámaras cardíacas. También contiene los componentes básicos neuronales que integran el control para los reflejos cardiovasculares. Y tiene núcleos de interneuronas que conectan vías aferentes de vísceras, con motoneuronas parasimpáticas del tallo cerebral y premotoneuronas simpáticas. El bulbo tiene fibras que ascienden hacia el puente e hipotálamo, y fibras aferentes de los nervios glosofaríngeo y vago.

Algunos autores han postulado que las alteraciones en algún núcleo o núcleos del sistema nervioso central pueden ser los responsables de un flujo simpático aumentado, y que, por circunstancias particulares de orden genético y/o ambiental inician el padecimiento.<sup>33</sup>

El núcleo del tracto solitario es uno de los núcleos más importantes del bulbo raquídeo; regula el control de reflejos, así como funcionamiento cardiovascular, respiratorio y gastrointestinal. Recibe conexiones de regiones o núcleos con regulación cardiovascular como:

- El núcleo paraventricular del hipotálamo
- El núcleo supraóptico del hipotálamo
- La porción ventrolateral de la médula (neuronas simpáticas)
- La banda diagonal de Broca
- El núcleo intermediolateral (neuronas simpáticas preganglionares)
- Los núcleos de la estria *terminalis*
- Los núcleos de la amígdala
- El núcleo fastigial del cerebelo
- Algunas regiones de la corteza

Otros núcleos del tallo cerebral influyen en el flujo simpático y parasimpático. Por ejemplo, las neuronas preganglionares parasimpáticas, situadas en la región dorsal del núcleo motor del vago y del núcleo ambiguo. Todas integran parte del arco reflejo barorreceptivo y su actividad se regula por los cambios cardiovasculares.

En el tallo cerebral también se encuentran

núcleos de neuronas simpáticas preganglionares, que forman parte del arco reflejo barorreceptivo. Están localizadas en la porción caudal del núcleo del facial, en la región ventro lateral. Al destruir intencionalmente estos grupos neuronales se observa una disminución en la presión arterial.<sup>15</sup> Esta zona ventrolateral recibe conexiones de otras regiones bulbares, como del campo tegumental lateral y de vías extrabulbares (hipotálamo y amígdala). Además, se piensa que estas neuronas están involucradas en las reacciones de defensa e hipoalgesia. Mas importate aún, es que las neuronas de esta región presentan actividad de marcapaso. Esta sincronización puede actuar como un efecto sumatorio temporal y espacial en la regulación del flujo simpático; esto reviste gran importancia, ya que un marcapasos alterado pudiera ser origen de la HTA.<sup>15</sup>

Las alteraciones observadas en las vías involucradas en el control barorreceptivo, pueden deberse a factores humorales<sup>34</sup> y/o a cambios crónicos de las estructuras involucradas (v.gr. la hipertrofia vascular<sup>15</sup>). La aldosterona, la norepinefrina y la prostaciclina aumentan la sensibilidad de los barorreceptores; en cambio, la endotelina y los ionóforos de calcio, la disminuyen. Algunos prostanoides se encuentran reducidos en la HTA, y se ha pensado que esto se relaciona con un aumento en la sensibilidad de los barorreceptores.<sup>5,35</sup> Hormonas tales como la vasopresina, liberada por grupos de células bulbares y neuronas magnocelulares de los núcleos paraventriculares y supraópticos, también pudieran tener influencia en el control de la presión arterial por influencia en los reflejos barorreceptivos. En todos estos casos se ha visto que el endotelio juega un papel fundamental en la regulación de la sensibilidad de los barorreceptores.<sup>35</sup>

Aunque el sistema simpático es el controlador mas rápido y poderoso de la presión arterial, los factores humorales pueden modificar, en plazos mas largos, el tono vascular y los líquidos corporales. Las alteraciones en estos dos niveles pueden tener una influencia determinante en el

desarrollo de la HTA esencial.

### 1.11 El riñón y algunos sistemas humorales en la HTA.

Los pacientes hipertensos presentan lesiones ateroscleróticas en las arteriolas y en los capilares glomerulares; como consecuencia, la tasa del filtrado glomerular disminuye y se precipitan trastornos tubulares como proteinuria y hematuria microscópica. La nefrosclerosis puede ser maligna o benigna, y, aunque el daño renal siempre se suscita, solo el 10% de las muertes ocurren por insuficiencia renal.<sup>20</sup>

El riñón es causante de distintas formas de HTA, de origen renovascular o parenquimatoso (ver clasificación). Como órgano encargado de la regulación de los líquidos y de las sustancias vasoactivas, el riñón se ha considerado como el órgano más importante en la génesis de la HTA primaria. Cualquier alteración funcional, puede precipitar cambios en los líquidos y electrolitos que repercuten en la presión arterial.<sup>20</sup>

#### 1.11.1 Los neurotransmisores adrenérgicos y la HTA.

El 80% de los pacientes jóvenes con HTA limítrofe (*borderline*) y moderada, presentan cifras elevadas de norepinefrina. Aunque este es un fenómeno bien documentado, la correlación estricta entre el aumento de la presión arterial y los niveles sanguíneos de catecolaminas es controversial.<sup>15,36</sup>

Se ha sugerido que el estrés es un factor desencadenante de la HTA, y que las catecolaminas participan directamente en el daño vascular.<sup>37</sup> Concretamente Floras ha postulado a la epinefrina como la catecolamina más involucrada en la génesis de la hipertensión esencial, y ha citando las siguientes razones: (ver revisión: Floras, 1992<sup>11</sup>)

1. Cuando la epinefrina se administra exógenamente a ratas, se produce HTA sostenida.
2. Las respuestas hemodinámicas mediadas por

norepinefrina ó por activación del sistema simpático, se potencian con epinefrina exógena ó endógena.

3. Hay evidencia de que la epinefrina aumenta la liberación de norepinefrina en los humanos.

4. La epinefrina liberada de las glándulas suprarrenales, actúa como cotransmisor en las terminales nerviosas simpáticas, estimulando la liberación de norepinefrina a través de receptores  $\beta_2$  presinápticos.

5. La epinefrina liberada puede ser incorporada a las células nerviosas y transformarse en norepinefrina; esto facilita su almacenamiento y refuerza la capacidad del sistema nervioso simpático.

6. Pacientes hipertensos jóvenes frecuentemente presentan cifras elevadas de epinefrina sérica.

Aunque todas estas razones sugieren a la epinefrina como causa de por lo menos un tipo de HTA esencial, Floras refiere que es necesario tener mayor evidencia experimental para documentar su hipótesis.<sup>11</sup>

#### 1.11.2 La serotonina y la HTA.

En el sistema nervioso, la serotonina se localiza principalmente en terminaciones nerviosas perivasculares cerebrales, algunas de ellas noradrenérgicas y está bien identificado como neurotransmisor y cotransmisor en las vías noradrenérgicas.<sup>38</sup> La serotonina tiene efecto inhibitorio presináptico en neuronas de plexos entéricos y en el sistema nervioso central, esto último puede repercutir en la estabilidad del sistema cardiovascular.<sup>39</sup>

La serotonina tiene la capacidad de producir hipotensión arterial cuando se administra centralmente.<sup>32,40</sup> Se piensa que esto sucede a través de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, ya que fármacos como el 8-OH-DPAT<sup>7</sup> y el indorrenato<sup>32</sup> median este efecto. En la periferia, generalmente los receptores 5-HT<sub>2</sub> median contracción del músculo liso vascular, por lo que fármacos antagonistas como la ketanserina<sup>41</sup> y la pelanserina,<sup>42</sup> pueden inducir hipotensión arterial (ver adelante).

Cabe señalar que los vasos de pacientes y animales hipertensos, presentan aumento en la sensibilidad a la contracción vascular mediada por serotonina, y tienen el recambio plaquetario y la recaptura de la amina disminuidas, lo que puede aumentar la disponibilidad de la serotonina.<sup>43,44</sup>

Hasta la fecha no queda claro si la serotonina es la responsable de algún tipo de HTA. Sin embargo, es evidente su importancia en el control central del flujo simpático y en la contracción de la vasculatura periférica.

### 1.11.3 El sistema renina-angiotensina-aldosterona y la HTA (ver revisión: Carretero, 1991<sup>45</sup>).

Resulta interesante que aproximadamente el 20% de los pacientes hipertensos esenciales tienen la renina baja y el 15% alta.<sup>3</sup> En el riñón, el sistema renina-angiotensina puede regular localmente funciones como la filtración glomerular y la homeostasis de líquidos y electrolitos.<sup>28,45</sup> No se localiza exclusivamente en los riñones; se han descrito RNA mensajeros que codifican para renina y angiotensina en arterias, cerebro, riñones, corazón, y glándulas adrenales entre otras.<sup>45,46</sup>

Debido a la diversidad de su localización, su acción se observa en muy diversos niveles. Tiene efectos de tipo endócrino (en tejidos distantes), autócrino (en la misma célula), paracrino (en tejido contiguo), e intracrino (dentro de la célula).<sup>45</sup>

La angiotensina II, la endotelina, la vasopresina y los estímulos mecánicos promueven la expresión de diversos factores de crecimiento que pueden ser importantes en la hipertrofia vascular, y por lo tanto en la HTA. Entre los mas sobresalientes están los oncogenes c-fos y el c-myc.<sup>45</sup> Adicionalmente, la angiotensina II es un potente vasoconstrictor y regulador de la homeostasis de líquidos y electrolitos a niveles central<sup>5,15</sup> y renal.<sup>28</sup> También se ha visto que estimula la síntesis de proteínas en el músculo liso vascular de ratas, en forma dependiente de

calcio.<sup>47</sup>

Cualquier alteración en la síntesis, liberación o integridad de los factores involucrados en este poderoso sistema, pudiera participar en la génesis de la HTA.

### 1.11.4 El sistema cininas-bradicinina-kalikeína y la HTA (ver revisión: Carretero, 1991<sup>45</sup>).

Las cininas son potentes vasodilatadores oligopéptidicos que poseen la estructura de la bradicinina implícita. Se generan de cininógenos por enzimas conocidas como cininogenasas; una de éstas es la kalikeína plasmática. Las cininas juegan un papel importante en el control local de la vasculatura del riñón, de la glándula submaxilar y del complejo útero-placentario. Relajan el músculo liso vascular mediante la liberación de prostaglandinas y del factor relajante derivado del endotelio (EDRF: *Endothelial Derived Relaxing Factor*).<sup>48,49</sup> Se conocen dos subtipos de receptores de estas sustancias; el B1 y el B2. Ambos pueden mediar vasoconstricción ó vasodilatación, dependiendo del modelo estudiado.<sup>50</sup>

En el riñón el sistema de las cininas favorece la perfusión renal, especialmente a nivel papilar y participa en el control de electrolitos.<sup>45</sup>

El papel de las cininas en la HTA no se conoce con claridad. Sin embargo, hay pacientes hipertensos con daño renal que presentan cifras normales de kalikeína; otros, cifras bajas. En familias con predisposición a la HTA, la concentración de kalikeína plasmática es inversamente proporcional a la incidencia de HTA; es decir, un mayor incremento en la presión arterial se correlaciona con una menor concentración plasmática de kalikeína. Esto hace posible la utilización de la kalikeína como un marcador genético de HTA.

Finalmente, es interesante mencionar que hay ratas con alteración en el gen expresor de la kalikeína que cursan con HTA.<sup>45</sup>

### 1.11.5 El ANF, los digitálicos endógenos y la HTA.

Los digitálicos endógenos y el ANF se incrementan al aumentar el volumen plasmático circulante; ambos pueden mediar natriuresis renal.<sup>30</sup> Constantes esfuerzos se hacen para determinar la estructura molecular de los digitálicos endógenos.

El ANF es un péptido auricular que se libera por estimulación de los receptores auriculares sensibles a cambios de volumen. El ANF es capaz de relajar directamente el músculo liso vascular en humanos<sup>51</sup> y animales.<sup>52</sup> Cuando se administra exógenamente, es capaz de disminuir la presión arterial en ratas normotensas y en ratas SHR,<sup>53</sup> por relajación vascular mediada por la guanilato ciclasa.<sup>54</sup> Esta vasodilatación es menor en las ratas SHR que en sus controles normotensos.<sup>55</sup>

El efecto natriurético del ANF se produce por medio de la estimulación de receptores específicos en el riñón.<sup>29</sup> Se han identificado receptores en el glomérulo y en el tubo colector que estimulan la guanilato ciclasa y disminuye la síntesis de aldosterona.

El papel del ANF en la génesis de la HTA esencial no está descrito, principalmente porque su fisiología aún esta en debate.<sup>29</sup> Algunos estudios han sugerido que los niveles plasmáticos de ANF en animales y humanos hipertensos son normales, aunque cuando ocurre insuficiencia cardíaca asociada a HTA, están aumentados.<sup>56</sup>

Blaustein y Hamlyn (1991) han sugerido que los digitálicos endógenos, más que el ANF, están involucrados en la génesis de la HTA.<sup>30</sup> Postulan dos fases en las que los digitálicos pueden actuar en el organismo; una aguda y otra crónica. En la primera, no modifican la presión arterial, pero aumentan la natriuresis y la diuresis por inhibición de la bomba de  $\text{Na}^+$  localizada en las membranas basolaterales de las células tubulares y por incremento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, secundario al desajuste del intercambio  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  en las membranas lumbales (borde en cepillo).

En la fase crónica, los autores explican que al encontrarse los digitálicos crónicamente elevados inhiben las bombas de  $\text{Na}^+$  en arterias, venas y sistema nervioso simpático. El aumento en el tono venoso disminuiría el volumen venoso central y, por otro lado, el aumento de los tonos arterial y simpático incrementarían las resistencias periféricas. El aumento en la presión arterial puede ser contrarrestada por los controles fisiológicos, pero llegaría el momento en que los controles no funcionasen y se estableciese la enfermedad hipertensiva. En esta etapa, ocurriría un aumento en la diuresis por incremento en la presión de perfusión renal, que mantendría la fase hipertensiva con volumen sanguíneo y gasto cardíaco normales, pero resistencias periféricas aumentadas. Posteriormente, el aumento en la presión arterial produciría otros trastornos estructurales, como el modelaje cardiovascular descrito por Folkow (ver adelante: hipertrofia cardiovascular).

Aunque Blaustein y Hamlyn refieren que su hipótesis aún es incompleta y no explica cabalmente el fenómeno de la génesis de la HTA, queda abierta la posibilidad de que tanto los digitálicos endógenos como el ANF, pudiesen participar en el desarrollo de algún tipo de HTA.

### 1.12 El sistema cardiovascular y la HTA.

Después de la isquemia miocárdica, la HTA es la segunda causa de muerte relacionada con el corazón. Un tercio de estas muertes se deben a insuficiencia cardíaca.<sup>4</sup> La HTA aumenta el trabajo del corazón y es uno de los factores causantes de la hipertrofia cardiovascular. El grosor del ventrículo izquierdo llega a ser de 25 mm,<sup>4</sup> cuando normalmente es de 9 a 15 mm,<sup>57</sup> y el peso global del corazón de 500-700 g,<sup>4</sup> cuando normalmente es de 250 g.<sup>58</sup> La hipertrofia ventricular se suscita hacia el interior de la cámara en forma concéntrica.<sup>4</sup>

La cardiomegalia se asocia a un incompleto vaciamiento de la sangre, a un incremento en la

sobrecarga de las aurículas y de la circulación pulmonar. Cuando la HTA llega a grados avanzados, el corazón puede presentar insuficiencia y dilatación importante de sus cavidades, lo que empeora su situación.

La aterosclerosis no es una característica intrínseca de la HTA, aunque, se encuentra considerablemente asociada.<sup>59,60</sup> Los casos de angina de pecho en pacientes hipertensos son frecuentes, debido a los siguientes factores:

1. Aumento del trabajo cardíaco.
2. Incremento en la demanda de oxígeno.
3. Aumento de la insuficiencia coronaria
4. Incremento de la masa del miocardio

### 1.12.1 La hipertrofia del sistema cardiovascular y la génesis de la HTA esencial (Ver revisiones: Folkow, 1982,<sup>5</sup> 1990,<sup>61</sup> Lever, 1986<sup>62</sup>).

La hipertrofia del ventrículo izquierdo se considera como un evento que se suscita por la conjunción de factores múltiples, entre los que destacan la sobrecarga de trabajo, la raza, la edad, el estadio de la enfermedad hipertensiva, la infiltración de colágena y el aumento de los factores reguladores del crecimiento.<sup>63,64</sup>

La estructura normal de los vasos y del corazón es muy importante para el control adecuado de la presión arterial. Normalmente las arteriolas de resistencia son los vasos que controlan la presión arterial. Esto se debe a que el flujo sanguíneo (Q) está en relación a la cuarta potencia del radio arterial (r); es decir, al variar levemente el radio, se modifica sustancialmente el flujo sanguíneo (ver revisiones: Milnor, 1980,<sup>65</sup> Folkow, 1982,<sup>5</sup> 1990,<sup>61</sup> Shchiffirin, 1992<sup>66</sup>). Esta relación está expresada matemáticamente por la ley de Poiseuille:

$$Q = \frac{\pi (P_1 - P_2) r^4}{8\eta L} \quad (1)$$

donde el flujo (Q) es directamente proporcional al cambio en la presión (P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub>) dentro del vaso, y al radio (r), pero inversamente proporcional a la longitud del vaso (L) y a la viscosidad de la sangre (η).

Por otro lado, la tensión en la pared de un cilindro elástico (T) es proporcional a la presión transmural (P) y al radio interno (r<sub>i</sub>) pero inversamente proporcional al grosor de la pared del vaso (ω). Esto se muestra en la modificación a la ley de Laplace:

$$T = \frac{Pr_i}{\omega} \quad (2)$$

Si la tensión en la pared (T) y la presión transmural (P) no cambian, la relación ω/r<sub>i</sub> tampoco se modificará; pero si aumenta P, la relación ω/r<sub>i</sub> aumenta, y la tensión vascular se mantiene constante. Así, los vasos mantienen siempre la misma tensión, variando la presión y/o el grosor de su pared en relación al radio interno (ω/r<sub>i</sub>). Este concepto ha sido de gran importancia en la comprensión de la hemodinamia en la HTA.

Mientras la sección de la arteriola se acerca más al esfínter precapilar, la relación ω/r<sub>i</sub> aumenta hasta llegar a ser de 1/4. Tomando en consideración la ley de Laplace modificada (ecuación 2), las arteriolas precapilares tienen mayor grosor de la pared en relación al radio interno (ω/r<sub>i</sub>) y, por lo tanto, mayor capacidad para modificar la presión arterial y el flujo sanguíneo sin cambiar la tensión vascular. En las venas, los cambios importantes en el radio interno tienen menos efecto en el incremento de la presión venosa y del flujo porque tienen una relación ω/r<sub>i</sub> muy pequeña (v.gr. 1/40). Esto es importante debido a que las venas necesitan tener grandes cambios en su radio interno, para aumentar su capacitancia, que es una de sus funciones esenciales.<sup>5,61</sup>

Así, los vasos pueden modificar agudamente la presión arterial cambiando su radio interno, y crónicamente incrementando el grosor de sus paredes (ω).

Los bebés que empiezan a caminar, necesitan incrementar la presión arterial, y lo hacen por hipertrofia de la capa media de las arterias, lo que aumenta la relación  $\omega/r_i$ . De la misma manera, es probable que la causa de hipertrofia de injertos venosos en puentes de arterias coronarias (*by-pass*) sea el aumento inusual de la presión arterial a la que están sometidos.<sup>5</sup>

En la HTA existe una hiperreactividad hemodinámica; pequeños estímulos aumentan notablemente la presión arterial. Es muy importante señalar que esta hiperreactividad se debe al aumento de la relación  $\omega/r_i$  por hipertrofia del músculo liso vascular, y no estrictamente por aumento en la sensibilidad de los distintos neurotransmisores.<sup>3</sup> Esto puede ser la razón de algunas divergencias en la reactividad vascular de distintos modelos de HTA (ver adelante).

Los estímulos excitatorios mediados por neurotransmisores o sustancias vasoactivas, y los cambios hiperreactivos estructurales, se refuerzan conjuntamente en una retroalimentación positiva.<sup>5,62</sup> El aumento de la presión arterial produce hipertrofia, y el aumento de grosor de la pared incrementa la presión arterial. En otras palabras, una descarga aumentada y constante del sistema simpático o del sistema renina-angiotensina, puede producir vasoconstricción que a su vez aumentaría imperceptiblemente la presión arterial. Este aumento en la presión arterial produciría una ligera hipertrofia, que incrementaría aún más la presión arterial. De esta manera se establecería un ciclo vicioso de retroalimentación positiva. Así, cualquier factor desencadenante de HTA, puede cambiar ligeramente el  $r_i$  de las arterias y sin embargo producir cambios hemodinámicos importantes. Los estímulos pueden ser tan pequeños y variados, que son difíciles de detectar (Fig. 2).<sup>62</sup>

Actualmente se sabe que la hipertrofia vascular origina un aumento de la presión arterial. De la misma manera, se sabe que la HTA produce hipertrofia vascular, pero desconocemos cual de los dos fenómenos ocurre primero.

Las ratas SHR tienen cierta predisposición genética a desarrollar primero hipertrofia vascular y secundariamente HTA. Pero en el ser humano aún se desconoce el trastorno primario que desencadena la HTA esencial.<sup>5,67</sup> Entre los posibles factores causales de la HTA primaria en los vasos, están las alteraciones propias del músculo liso vascular.<sup>68,69,70</sup> Estas alteraciones pueden ser intrínsecas o extrínsecas. Las alteraciones intrínsecas más importantes pueden estar dadas a nivel de membrana, receptores, transducción de señales, transporte de iones, metabolismo, y proteínas contráctiles.<sup>70</sup>

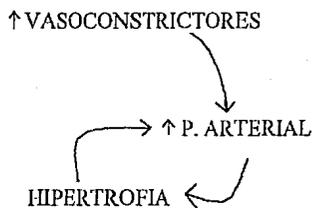


Figura 2. La hipertrofia vascular como un factor de retroalimentación positiva de la hipertensión arterial.

Algunos de los factores extrínsecos, que pudieran alterar el músculo liso vascular, son los factores humorales y los neurotransmisores. Los hemos analizado brevemente (ver riñón e HTA), pero otros factores como los del crecimiento, los citaremos, enseguida.

Es muy probable que el endotelio vascular juegue un papel importante en la hipertrofia del músculo liso (ver revisión: Gibbons, 1990<sup>71</sup>). Su localización es ideal para detectar cambios hemodinámicos, hormonales y reacciones inflamatorias. El endotelio está en estrecha comunicación con el músculo liso, por medio de uniones estrechas (*tight junctions*); puede mediar cambios estructurales en el músculo liso por liberación de sustancias vasoactivas, moduladoras

de la matriz extracelular y promotoras o inhibidoras del crecimiento celular. Muchas de las sustancias vasoactivas son además factores de crecimiento.

La angiotensina II se encuentra localizada en el endotelio de los vasos, como parte del sistema local de renina-angiotensina.<sup>72</sup> Activa a los protooncogenes c-myc y c-fos, el factor A de crecimiento derivado de plaquetas, el factor transformador de crecimiento  $\beta$  y el factor de crecimiento de fibroblastos.<sup>71</sup> La endotelina, un péptido vasoactivo, induce crecimiento mediado por el oncogen c-myc. Otros neurotransmisores, como la serotonina, los leucotrienos, los tromboxanos y la sustancia P, también han sido identificados como elementos del crecimiento celular.<sup>71</sup>

Se han agrupado las sustancias de crecimiento derivadas del endotelio en promotoras ó inhibidoras.<sup>73,74</sup>

#### Factores promotores del crecimiento

- Factores de crecimiento derivado de plaquetas (AA, AB, BB).
- Factor de crecimiento de fibroblastos (ácido y básico).
- Factor I de crecimiento parecido a la insulina (*insulin-like growth factor*).
- Factor de crecimiento derivado del endotelio
- Interleucina I.
- Angiotensina II.
- Endotelina.

#### Factores inhibitorios del crecimiento

- Prostaciclina.
- EDRF.
- Heparán sulfato.
- Factor transformador de crecimiento  $\beta$ 1.

Es interesante señalar que los nitrovasodilatadores, el ANF y el EDRF tienen capacidad inhibitoria del crecimiento celular.

Debido a los factores de crecimiento, así como a otras sustancias vasoactivas recientemente descubiertas, el endotelio vascular es candidato

de primer orden en el control local de la vasculatura. Al estar en contacto directo con la sangre, es susceptible de ser promotor o blanco de diversas patologías,<sup>75</sup> y de estar expuesto a controles endócrinos y paracrinos.

## **2. EL ENDOTELIO, LA REACTIVIDAD VASCULAR Y LA HTA.**

### **2.1 Introducción**

El conocimiento del control de la vasculatura mediante fibras nerviosas simpáticas, y parasimpáticas, así como sus respectivos neurotransmisores, la norepinefrina y la acetilcolina, se ha enriquecido en los últimos 10 años. Se han postulado nuevas vías nerviosas; no adrenérgicas no colinérgicas, nuevos neurotransmisores como el ATP, el polipéptido vasoactivo intestinal, la sustancia P, la serotonina, el neuropéptido Y, y otras.<sup>76,77,78</sup>

El endotelio vascular comenzó a adquirir importancia, a partir de 1976, cuando Moncada *et al.* encontraron en microsomas de aorta, una sustancia con propiedades relajantes del músculo liso: la prostaciclina.<sup>79</sup> Posteriormente, Weksler *et al.* demostraron que la prostaciclina se encontraba en el endotelio de los vasos, y que probablemente inflúa como antiagregante plaquetario y antitrombótico.<sup>80</sup>

En 1980, Furchgott y Zawadzki propusieron que la acetilcolina induce liberación de una sustancia lábil, distinta de la prostaciclina, a la que nombraron EDRF.<sup>81</sup> Cabe la posibilidad, de que existan factores relajantes no caracterizados, distintos de la prostaciclina y del EDRF.<sup>82,83,84</sup>

La intensa investigación en este campo ha demostrado que el endotelio desempeña un papel importante en el control local de la vasculatura, secretando no solo sustancias relajantes, sino además varios factores contráctiles.<sup>84,85,86,87,88,89</sup> También, se ha encontrado que el endotelio posee importantes enzimas, como la enzima

convertidora de la angiotensina, que promueve la conversión de angiotensina I en angiotensina II; un potente agente vasoconstrictor involucrado en la regulación fisiológica de la presión arterial.<sup>72</sup>

Algunas enfermedades sistémicas como la HTA, la aterosclerosis y la *diabetes mellitus*, dañan severamente al endotelio y al músculo liso vasculares. De hecho, se ha postulado que el endotelio está relacionado con la génesis de la HTA esencial de entre otras enfermedades.<sup>34,75</sup>

Desde el punto de vista terapéutico, tiene enorme interés encontrar tratamientos que mejoren, regeneren o protejan el endotelio en la HTA; este es el tema central de esta tesis.

## 2.2 La relajación dependiente del endotelio.

La relajación del músculo liso, inducida por agentes que liberan sustancias provenientes del endotelio, se ha denominado relajación dependiente del endotelio, y la inducida directamente en el músculo liso, relajación independiente del endotelio. Como se mencionó, los mediadores endoteliales que inducen relajación son el EDRF y la prostaciclina, aunque es probable que existan otros.

### 2.2.1 La prostaciclina

La prostaciclina es un potente agente vasodilatador (ver revisiones: Moncada, 1979,<sup>90</sup> 1986,<sup>91</sup> Gryglewski, 1988,<sup>92</sup> Campbell, 1990<sup>93</sup>). Se encuentra entre 10 y 20 veces más concentrada en el endotelio que en el músculo liso, y se sintetiza a partir del araquidonato en la vía de la ciclooxigenasa por una enzima conocida como prostaciclina sintetasa. Sus efectos biológicos están mediados por el AMPc, segundo mensajero producido por la estimulación de la adenilato ciclasa. La secreción basal de prostaciclina a partir del endotelio vascular aumenta por la fricción de la sangre en los vasos (*shear stress*) y por la hipoxia.

En la aorta de rata, la prostaciclina es capaz de producir relajación a dosis bajas y contracción a

dosis altas, siendo estas últimas menores en presencia del endotelio.<sup>94</sup> Este prostanoides impide la agregación y la adhesión plaquetarias,<sup>94</sup> siendo el antagonista fisiológico del tromboxano A<sub>2</sub>, que promueve la agregación plaquetaria y media contracción dependiente del endotelio.<sup>86,87,95</sup>

Entre los fármacos que liberan prostaciclina del endotelio (ver revisiones) están: la bradicinina, la sustancia P, la trombina, el ácido araquidónico, las interleucinas, el factor de crecimiento epidérmico, el ATP, y la acetilcolina. Esta última media su efecto relajante principalmente por liberación de EDRF.<sup>96</sup>

En lo que respecta al papel de la prostaciclina en la HTA esencial, hay información que sugiere que en los pacientes hipertensos, la biosíntesis de la prostaciclina está disminuída. Esto pudiera contribuir al incremento de las resistencias periféricas que se observa en la HTA.<sup>97</sup>

**2.2.2 El EDRF** (ver revisiones: Furchgott, 1983,<sup>48</sup> 1984,<sup>98</sup> 1989,<sup>88</sup> 1989,<sup>99</sup> Moncada, 1988,<sup>100</sup> 1989,<sup>96</sup> 1990,<sup>101</sup> 1991,<sup>102</sup> Tolins, 1991,<sup>103</sup> Shepherd, 1991<sup>34</sup>).

En 1980 Furchgott y Zawadzki propusieron que el endotelio de aorta de conejo, cuando es estimulado por la acetilcolina, libera una sustancia inestable distinta de la prostaciclina, capaz de relajar el músculo liso. El efecto relajante desaparece cuando se remueve mecánicamente el endotelio. Dedujeron que se trataba de un mediador endotelial, al que llamaron Factor Relajante Derivado del Endotelio (EDRF).<sup>81</sup>

#### 2.2.2.1 Comprobación de que es un factor endotelial: bioensayo del "sandwich".

Mediante el empleo de un bioensayo llamado "sandwich", se determinó que es una sustancia que se difunde del endotelio al músculo liso. Este modelo consiste en colocar dos vasos muy cerca uno del otro, uno de ellos sin y el otro con endotelio. Cuando se aplica acetilcolina, el vaso

que carece de endotelio se relaja; al desendotelizar ambos vasos, no se observa relajación alguna. Con este experimento se demostró la liberación de una sustancia del endotelio que migra al músculo liso y provoca relajación.<sup>88</sup>

#### 2.2.2.2 Naturaleza y origen del EDRF.

Ha existido controversia acerca de la naturaleza del EDRF. La evidencia sugiere que se trata de óxido nítrico (NO)<sup>100,104</sup> o de un derivado nitrosotiol,<sup>105,49</sup> ambos provenientes del metabolismo de la L-arginina.<sup>106</sup> La enzima sintetasa de EDRF, localizada en el endotelio, es dependiente de NADPH- y Ca<sup>++</sup>, es selectiva del enantiómero L de la arginina y puede ser inhibida por la N<sup>G</sup>-monometil-L-arginina (L-NMMA).<sup>101</sup>

#### 2.2.2.3 Mecanismo de acción.

Se ha comprobado que el EDRF relaja la musculatura lisa de la aorta de rata, activando la enzima guanilato ciclasa soluble, localizada en el citoplasma.<sup>88,105,49,107</sup> Esta enzima incrementa los niveles intracelulares de GMPc y favorece la fosforilación y desfosforilación de las cadenas ligeras de miosina,<sup>107,108</sup> hecho que se considera importante para que se induzca la relajación. Algunos autores han sugerido que el EDRF es capaz de mediar su efecto relajante a través de la hiperpolarización de las células por la entrada de iones K<sup>+</sup>,<sup>109</sup> existe la posibilidad de que esto lo produzca un factor relajante distinto del EDRF.<sup>84</sup>

#### 2.2.2.4 Efecto del EDRF en la agregación y en la adhesión plaquetarias.

Resulta interesante que el EDRF inhibe la agregación<sup>110</sup> y la adhesión plaquetarias,<sup>111</sup> acciones que son potenciadas y compartidas por la prostaciclina.<sup>88</sup> Seguramente ambas sustancias desempeñan un importante papel fisiológico en este contexto.

#### 2.2.2.5 Factores que liberan EDRF.

El EDRF es liberado del endotelio por diversos factores (ver revisiones: Furchgott, 1983,<sup>48</sup> 1984,<sup>98</sup> 1989,<sup>88</sup> 1989,<sup>99</sup> Moncada, 1988,<sup>100</sup>

Förstermann, 1986,<sup>112</sup> Gryglewski, 1988,<sup>22</sup> Vanhoutte, 1989,<sup>84</sup> Marshall, 1990<sup>93</sup>) entre las más notables tenemos la presión de choque de la sangre (*shear stress*),<sup>113,114</sup> la acetilcolina (M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub>),<sup>81,115</sup> la bradicinina,<sup>88</sup> la histamina (H<sub>1</sub>),<sup>116</sup> la norepinefrina (α<sub>2</sub>),<sup>117,118</sup> la vasopresina (VP<sub>1</sub>),<sup>84</sup> la serotonina (5-HT<sub>1</sub>),<sup>119</sup> el ATP (P<sub>2γ</sub>),<sup>77,120</sup> el ADP,<sup>120</sup> el ionóforo de calcio A23187,<sup>88</sup> la trombina (T<sub>1</sub>),<sup>84</sup> el araquidonato,<sup>121</sup> la sustancia P,<sup>88</sup> y el factor activador de plaquetas<sup>120</sup> entre los más conocidos.

#### 2.2.2.6 Factores que inhiben la acción del EDRF.

Algunos factores que inhiben la acción del EDRF (ver revisión: Furchgott, 1989<sup>88</sup>) son, la anoxia, los inhibidores de la fosfolipasa A<sub>2</sub> (la quinacrina y la bromofenacil bromida), los inhibidores de la lipoxigenasa (ácido cicosaterainóico y el ácido noardihidro guayarático), los inhibidores de la guanilato ciclasa (azul de metileno), la hemoglobina y oxihemoglobina,<sup>122,123</sup> los agentes bloqueadores de la cadena respiratoria ó fosforilación oxidativa y algunos agentes reductores como la hidroquinona, ditiotreitól, fenidona y pirogallol.<sup>88</sup> En 1987, Moncada *et al.* reportaron que un derivado de la L-arginina la L-NMMA<sup>101</sup> es un inhibidor selectivo de la sintetasa de NO; actualmente existen diversas moléculas con características inhibitorias similares.<sup>102</sup>

#### 2.2.2.7 Modelos *in vivo* vs. *in vitro*.

Los primeros reportes de la existencia del EDRF se hicieron a partir de experimentos que utilizaron modelos *in vitro*. Se ha podido documentar la importancia fisiológica de este fenómeno en preparaciones *in vivo* de mesenterio de conejo<sup>124</sup> y de arterias piales de ratón entre otras.<sup>125</sup> El tratamiento con inhibidores del óxido nítrico aumenta la presión arterial,<sup>102</sup> esto demuestra el hecho de que hay una secreción basal de esta sustancia.

No hay duda del importante papel del EDRF en el control local de la vasculatura, pero algunos autores han discutido la existencia de dicha secreción basal *in vivo* en algunos modelos

experimentales.<sup>49</sup>

### 2.2.2.8 El $\text{Ca}^{++}$ y el EDRF.

Existe evidencia de que el incremento de la concentración intracelular de calcio proveniente del espacio extracelular o de depósitos intracelulares, es determinante para que se produzca o libere el EDRF (ver revisiones: Rubanyi, 1988,<sup>126</sup> Försterman, 1986,<sup>112</sup> Furchgott, 1983,<sup>48</sup> 1984,<sup>98</sup> 1989,<sup>88</sup> Jacob, 1990<sup>127</sup>). La respuesta de relajación dependiente del endotelio inducida por distintos agonistas es dependiente de  $\text{Ca}^{++}$ . En un medio sin calcio y al estimular el endotelio no se detecta el segundo mensajero del EDRF, el GMPc. En cambio, si en este mismo medio se induce relajación con un vasodilatador como el nitroprusiato, sí se encuentra evidencia del GMPc.<sup>126</sup> Esto indica que la falta de calcio impide la liberación del EDRF, pero no la activación de la guanilato ciclasa.

En células endoteliales de aorta porcina y bovina en cultivo, se han descrito canales de calcio operados por receptores muscarínicos, purinérgicos y por bradicinina. Adicionalmente, el  $\text{Ca}^{++}$  induce relajación dependiente del endotelio en las coronarias, al entrar por un canal desconocido ya que no se bloquea ni con verapamil ni con dihidropiridinas.<sup>128</sup> Se ha reportado que un agonista de los canales L dependientes de voltaje, el Bay K8644, no lleva a la producción del EDRF,<sup>129</sup> lo que cuestiona la existencia de canales L en el endotelio vascular.

### 2.2.2.9 Evidencia que apoya la existencia de distintos EDRF.

Hay reportes que sugieren la presencia de distintos tipos de EDRF. Por ejemplo, las arterias coronarias sin endotelio superfundidas desde una preparación con endotelio, normalmente se relajan cuando se les infunde acetilcolina o bradicinina. Cuando estas coronarias son incubadas con ouabaina, la respuesta relajante de acetilcolina se bloquea; no así la inducida por bradicinina.<sup>82</sup> En un modelo similar, Boulanger *et al* (1989) encontraron que la ouabaina bloquea la relajación inducida por ADP pero no por bradicinina, ni por el ionóforo de calcio

A23187.<sup>83</sup>

De esta manera se sugiere la existencia de al menos dos factores relajantes dependientes del endotelio: el primero, liberado por ADP y acetilcolina que se bloquea con ouabaina, el segundo, liberado por bradicinina y A23187. Uno de estos mediadores seguramente es el EDRF (NO), y el otro puede ser el mediador descrito por Vanhoutte *et al.* como Factor Hiperpolarizante Derivado del Endotelio (EDHF: *Endothelial Derived Hyperpolarizing Factor*). Se piensa que este último induce relajación, mediante la hiperpolarización del músculo liso vascular,<sup>84,109</sup> a diferencia del EDRF (NO) que estimula a la guanilato ciclasa.<sup>88,105,49,107</sup>

## 2.3 La relajación independiente del endotelio.

La relajación independiente del endotelio puede inducirse por fármacos capaces de mediar la vasodilatación directamente en el músculo liso. Los nitrovasodilatadores producen relajación mediante la estimulación de la guanilato ciclasa, utilizando el GMPc como segundo mensajero.<sup>130</sup> Los agonistas o abridores de canales de  $\text{K}^{+}$ , median relajación por hiperpolarización del músculo liso; entre estos están el diazóxido, el minoxidil, el pinacidil y la chromakalina entre otros.<sup>131</sup> Aún se desconoce el mecanismo de acción preciso de un vasodilatador muy utilizado, la hidralazina. Se le ha adjudicado que media la relajación por hiperpolarización del músculo liso. También se han reportado efectos como la liberación de EDRF y otros paradójicos como el aumento de la renina plasmática y de norepinefrina.<sup>131,132</sup>

Existen diferencias importantes de la reactividad vascular en las distintas especies de animales, como en los diferentes vasos.<sup>133</sup> Inclusive se han observado diferencias entre segmentos de un solo vaso.<sup>134</sup> Esto es importante porque no siempre se puede generalizar un efecto encontrado en un solo vaso o en una sola especie animal.

## 2.4 La vasoconstricción dependiente del endotelio.

Un gran número de sustancias son capaces de inducir contracción en el músculo liso.<sup>135</sup> El endotelio juega un papel modulador de las respuestas contráctiles de distintos agonistas. Por ejemplo, la contracción vascular aumenta cuando se remueve el endotelio de los vasos, lo que sugiere que existe una liberación basal de factores relajantes que "pre-relajan" al músculo liso. Esto se ha observado con distintos agonistas, entre los que destacan los  $\alpha$ <sup>136,137,138</sup> y la 5-HT.<sup>117</sup>

Adicionalmente a este efecto modulador, se ha descrito que el endotelio posee factores contráctiles que migran al músculo liso para inducir contracción. Se han encontrado tres tipos principales de sustancias contráctiles. Las primeras son las derivadas de la vía de la ciclooxigenasa, como la prostaglandina H<sub>2</sub>, el tromboxano A<sub>2</sub> y los radicales libres. La segunda es la endotelina, que es una sustancia peptídica y en tercer lugar, los factores contráctiles de naturaleza desconocida (ver revisiones: Furchgott, 1989,<sup>88</sup> Vanhoutte 1989,<sup>84</sup> Lüscher, 1992,<sup>89</sup> Katusiç, 1991<sup>139</sup>).

### 2.4.1 Factores contráctiles derivados de la vía de la ciclooxigenasa.

Algunas de las primeras sospechas de factores contráctiles endoteliales, emergieron de observaciones en que la hipoxia y el aumento de la presión, producen contracción dependiente del endotelio.<sup>140,141</sup> Se sugirió que la contracción por hipoxia podría estar mediada por la endotelina,<sup>142</sup> y la contracción inducida por el aumento en la presión por algún derivado de la vía de la ciclooxigenasa, posiblemente la prostaglandina, H<sub>2</sub> o algún otro factor desconocido.<sup>89,141</sup>

Se sabe que el mediador de la contracción inducida por el estiramiento mecánico de los vasos, es un factor de naturaleza prostanoide derivado de la vía de la ciclooxigenasa; es muy probable que también sea la prostaglandina H<sub>2</sub><sup>88,89</sup>

El tromboxano A<sub>2</sub>, otro vasoconstrictor proveniente de la vía de la ciclooxigenasa, es liberado por la acetilcolina<sup>86,87</sup> y posiblemente por otros agonistas.<sup>89</sup>

Otro factor contráctil, también derivado de la ciclooxigenasa, es algún anión superóxido; se piensa que sus propiedades constrictoras están mediadas principalmente, por inhibición directa del EDRF.<sup>89</sup>

Finalmente, resulta de gran interés que los productos de la ciclooxigenasa (TxA<sub>2</sub> y Pg H<sub>2</sub>) pueden estimularse por diversos factores: (ver revisión: Katusiç, 1991<sup>139</sup>)

- Angiotensinas I y II
- Acido araquidónico
- ATP
- ADP
- O<sub>2</sub><sup>-</sup>
- 5-HT
- Sustancia P
- Estiramiento mecánico de los vasos

### 2.4.2 La endotelina (ver revisiones: Ånggård, 1990<sup>143</sup>, Simonson, 1991<sup>144</sup>).

Se sospechaba de su existencia debido a que una sustancia con cualidades constrictoras, proveniente del medio de cultivo de células endoteliales, se inhibía por tripsina.<sup>145</sup> Esto sugirió su naturaleza peptídica, y colateralmente se infirió que su acción era independiente del metabolismo del ácido araquidónico. Se observó que no era afectada por bloqueadores adrenérgicos, histaminérgicos ni serotoninérgicos.<sup>145</sup> Posteriormente, este factor se describió como un péptido de 21 aminoácidos, y el grupo de Mazaki lo demoninó endotelina en 1988.<sup>85</sup>

La endotelina (ET) es 10 veces más potente que la angiotensina II, es el vasoconstrictor conocido mas potente. Se han identificado distintas moléculas con sus respectivos RNAm: la ET-I, la ET-II, la ET-III,<sup>143</sup> y la endotelina  $\beta$  ó factor

contráctil vasoactivo intestinal.<sup>144</sup> Se piensa que la ET-I deriva de una preproendotelina que, por medio de una endopeptidasa, se convierte a Big-ET-1, y ésta a su vez se metaboliza, por la enzima convertidora de endotelina para dar ET-1.<sup>85</sup> La endotelina se libera del endotelio por la angiotensina II, la arginina-vasopresina, la trombina, y el ionóforo de calcio A23187.<sup>89</sup> Recientemente se ha propuesto que la hipoxia también podría ser un factor liberador de importancia.<sup>142</sup> Al parecer su mecanismo de acción está mediado a través de trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>), que libera calcio del retículo sarcoplásmico.<sup>144</sup>

La relevancia fisiológica de la endotelina está siendo estudiada, hay evidencia que aumenta las resistencias periféricas, la frecuencia y la fuerza de contracción cardíacas.<sup>144</sup> Hay reportes que sugieren que la ET-I está aumentada en los pacientes hipertensos.<sup>146</sup>

## 2.5 Algunos cambios morfológicos de los vasos en la HTA

La lámina subendotelial en la HTA presenta un aumento de elastina, de colágena, y de células plasmáticas precipitadas.<sup>147</sup> Las células endoteliales presentan aumento en la permeabilidad y en la cantidad de retículo endoplásmico, polirribosomas y filamentos de actina.<sup>148</sup> Las células y sus núcleos están desalineados,<sup>149</sup> hay incremento en la longitud y en la complejidad de las uniones apretadas.<sup>150</sup> Las mitosis y el número de células endoteliales están aumentadas.<sup>151</sup> Se incrementa la adherencia de células circulantes, principalmente de granulocitos, monocitos y linfocitos, aunque no de plaquetas.<sup>148,152</sup> Los cambios morfológicos de la íntima (endotelio y lámina subendotelial) varían en relación al modelo experimental utilizado. Pero en general, la íntima presenta aumento en su grosor, a expensas de la lámina subendotelial, e hipertrofia de las células endoteliales.

## 2.6 La relajación vascular en distintos

## modelos de HTA.

### 2.6.1 La relajación en los vasos de ratas SHR.

Se ha observado disminución en las respuestas relajantes inducidas por adenosina, nitroglicerina, isoproterenol,<sup>153</sup> y nitroprusiato de sodio.<sup>154</sup> También se ha visto una disminución en la relajación dependiente del endotelio inducida por acetilcolina,<sup>155,156,157,158</sup> histamina<sup>158</sup> y por el ionóforo de calcio A23187.<sup>154</sup>

En 1987 Sim *et al.*, reportaron que ratas SHR que extrañamente registraron cifras de presión arterial normales, presentaron relajación dependiente del endotelio similar a la de los controles normotensos. Pero, cuando se les indujo HTA por la ligadura de la arteria renal izquierda, la relajación dependiente del endotelio se redujo notablemente.<sup>158</sup> Esto último apoya la hipótesis de que el aumento en la presión arterial y no la carga genética, es responsable de la alteración funcional del endotelio.

### 2.6.2 La relajación en los vasos de ratas SHR propensas a infartos cerebrales (SHRSP: *spontaneously hypertensive rat stroke prone*).

Esta cepa es una variante de ratas SHR que presentan mayor incidencia de infartos cerebrales. En ratas de este tipo también se observó disminución en la relajación dependiente del endotelio a la acetilcolina, en cambio, se encontró aumento en la relajación "independiente" del endotelio a nitroprusiato de sodio.<sup>159</sup>

### 2.6.3 La relajación dependiente del endotelio en ratas transgénicamente hipertensas.

En un estudio preliminar, estas ratas presentaron disminución de las relajaciones dependientes e independientes del endotelio, al ser inducido por acetilcolina y nitroglicerina respectivamente.<sup>17</sup> El hecho de que la relajación por nitroglicerina esté alterada, sugiere la posibilidad que el músculo liso también este dañado. Cabe señalar que si estas ratas no se tratan con fármacos inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), se mueren antes de que cumplan 20 semanas de edad (Comunicación personal de

Brum JM, 1992).

#### **2.6.4 La relajación dependiente del endotelio en vasos de ratas Dahl.**

Estas ratas, desarrollan HTA debido a su especial sensibilidad a NaCl. Se exploró la relajación dependiente del endotelio en aortas de estos animales, y se observó que la acetilcolina, el ADP y la trombina indujeron una relajación mucho menor que las obtenidas en aortas de los animales control.<sup>157</sup>

#### **2.6.5 La relajación dependiente del endotelio en los vasos de conejos hipertensos por la ligadura de la aorta.**

Este modelo permite obtener distintas porciones de aorta, una bajo el influjo de la HTA (arriba de la ligadura), y otra en condiciones de normotensión (debajo de la ligadura). Se observó que la aorta sometida a HTA presentó disminución de la relajación dependiente del endotelio a acetilcolina y al ionóforo de calcio A23187. En contraste la porción inferior a la ligadura, presentó una reactividad vascular normal.<sup>160</sup> Este experimento apoya la hipótesis de que la disminución de la relajación se debe al aumento en la presión arterial.

#### **2.6.6 La relajación dependiente del endotelio en los vasos de ratas hipertensas por administración de DOCA.**

En este modelo de HTA, se les realiza a las ratas una nefrectomía unilateral y se les coloca un implante (pellet) que libera el mineralocorticoide. Generalmente se realizan los experimentos después de 4-6 semanas de tratamiento; cuando se establece la HTA. En un estudio realizado por King *et al.* se analizaron cambios en la presión de perfusión en arterias mesentéricas, y se demostró que la acetilcolina pero no el nitroprusiato, induce relajación dependiente del endotelio.<sup>13</sup> Las relajaciones obtenidas en los animales hipertensos fueron similares a los de animales control. Esto sugiere diferencias entre el presente y otros modelos de HTA.

## **2.7 La contracción vascular en distintos modelos de HTA.**

### **2.7.1 La contracción vascular en las ratas SHR.**

En las ratas SHR, las respuestas contráctiles inducidas por la serotonina se encontraron aumentadas en comparación con los vasos de animales normotensos.<sup>119,154</sup> También se encontraron aumentadas las contracciones inducidas por radicales libres derivados del oxígeno.<sup>161</sup> En contraste, Konishi *et al.* encontraron que la respuesta a la epinefrina en la aorta de las ratas SHR, es menor que los controles.<sup>155</sup> Otros autores postulan que lo reportado por Konishi solo sucede cuando se utilizan dosis altas de noradrenalina.<sup>158</sup>

Se ha reportado que la acetilcolina induce contracción dependiente del endotelio en aortas de ratas SHR, en concentraciones mayores de las necesarias para producir relajación.<sup>162</sup> Se postuló que este fenómeno se debe a la liberación de un producto de la vía de la cicloxigenasa distinto de la prostaciclina y del tromboxano A<sub>2</sub>, probablemente sea prostaglandina H<sub>2</sub>.<sup>89</sup>

### **2.7.2 La contracción de los vasos de ratas hipertensas por la administración de DOCA.**

En un modelo de mesenterio perfundido de ratas DOCA, se infirió que la contracción del músculo liso vascular inducida por la norepinefrina está aumentada. La presión de perfusión mesentérica se incrementó directamente más que en las ratas normotensas. Esta respuesta adrenérgica del lecho vascular fue constante después de haber removido el endotelio.<sup>13</sup>

En los vasos de estas ratas se ha observado un aumento en el tono espontáneo del músculo liso, que es dependiente del endotelio y del calcio.<sup>14</sup> Es decir, el aumento del tono desaparece cuando se quita el endotelio de las preparaciones, o el calcio del medio celular. Llama la atención, en este modelo, el hecho de que las contracciones inducidas por norepinefrina sean mayores y que el tono de los vasos esté aumentado.

### 2.7.3 La contracción de los vasos de las ratas Dahl.

En este tipo de HTA secundaria a la ingesta de sodio, los vasos se contraen mas que sus respectivos controles normotensos, en respuesta a la serotonina y a la noradrenalina.<sup>157</sup> Esto también apoya el hecho de que en la HTA hay hiperreactividad contráctil, ya sea de origen farmacológico o estructural (ver hipertrofia cardiovascular).<sup>5</sup>

## 2.8 Otros factores que modifican la reactividad vascular.

### 2.8.1 La edad.

El aumento en la edad produce cambios en los vasos muy parecidos a los que produce la HTA.<sup>68</sup> Hay aumento en las contracciones vasculares,<sup>163</sup> probablemente debido mas a un desbalance de los mecanismos relajantes que a un aumento de factores contráctiles endoteliales.<sup>164</sup> No hay evidencia de que las relajaciones dependientes del endotelio o las vasodilatadoras estén disminuídas, con excepción de las relajaciones inducidas por agonistas  $\beta$ .<sup>163,165</sup> Solo cuando la edad se asocia a HTA, se incrementa el daño endotelial y disminuye la relajación dependiente del endotelio.<sup>166</sup>

En algunos vasos como las coronarias, la norepinefrina puede producir cambios opuestos, como contracción en perros jóvenes y relajación en perros adultos.<sup>134</sup>

### 2.8.2 La aterosclerosis.

En la aterosclerosis, las relajaciones dependientes del endotelio inducidas por acetilcolina y trombina, se encuentran disminuídas.<sup>49</sup> Es posible que esto se deba a una disminución de la liberación de EDRF,<sup>167</sup> y/o al efecto de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).<sup>168</sup> Se piensa que el grado de disminución de la relajación dependiente del endotelio, es proporcional al tamaño de la lesión ateromatosa vascular.<sup>169</sup> Solamente en casos extremos de aterosclerosis se presenta decremento en la relajación "independiente" del endotelio inducida por la nitroglicerina.<sup>49,169</sup>

Las contracciones por serotonina y por KCl están generalmente aumentadas en sensibilidad, pero disminuídas en la respuesta máxima.<sup>89,49,167,169,170</sup> Adicionalmente, las contracciones producidas por agonistas  $\alpha$  adrenérgicos, como noradrenalina y clonidina están disminuídas cuando se comparan con las contracciones de vasos de animales control.<sup>169</sup> En general, esto es parecido a lo observado en la HTA.

Como hemos observado, las respuestas vasculares de contracción y relajación varían dependiendo del modelo de HTA estudiado. Es posible que esto se deba a las diferencias en la relación  $\omega/r$ , como postula Folkow (ver hipertrofia en sistema cardiovascular). Pero podemos decir que en general, las respuestas a los agentes constrictores están aumentadas y a los vasodilatadores están notablemente disminuídas. Actualmente es muy importante determinar las afecciones específicas de la HTA en los distintos mecanismos de transducción de señales farmacológicas y sus interacciones con los factores del endotelio.

## 3. ALGUNOS FÁRMACOS UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA HTA.

### 3.1 Introducción.

De la gran variedad de fármacos utilizados para el control de la presión arterial, hemos escogido algunos de nuestro interés particular; citaremos las características pertinentes para esta tesis. Dos de ellos, la pelanserina y el indorrenato son patentes de origen mexicano y son fármacos en fase de desarrollo.

### 3.2 La prazosina.

Es un antagonista selectivo  $\alpha_1$ , al igual que la trimazosina, la doxasosina, la terazosina, y la tolazolina (ver revisiones: Cavero, 1980,<sup>171</sup> Graham, 1979,<sup>172</sup> Rudd, 1986,<sup>173</sup> van Zwieten, 1990<sup>174</sup>). Al bloquear los receptores vasculares postsinápticos, la prazosina impide la

vasoconstricción mediada por norepinefrina; reduce las resistencias periféricas y disminuye la presión arterial. Relaja independientemente del endotelio, tanto arterias como venas.<sup>175</sup> La hipotensión severa de la primera dosis, se atribuye a la relajación venosa.

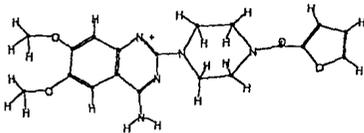


Figura 3. Estructura molecular de la prazosina.

La prazosina no produce taquicardia refleja como la fentolamina (bloqueador  $\alpha_1/\alpha_2$ ) ya que carece de afinidad por los receptores  $\alpha_2$  presinápticos que normalmente inhiben la descarga de noradrenalina en la sinapsis. La prazosina disminuye la precarga del corazón, y es posible que tenga algún efecto inhibitorio del flujo simpático central.<sup>176</sup> Se absorbe por vía oral con una biodisponibilidad del 70%. Las máximas concentraciones plasmáticas se obtienen en 1-3 horas después de su administración oral. Se une a proteínas plasmáticas, generalmente a la glicoproteína ácida  $\alpha_1$ . El 5% de la prazosina absorbida se encuentra libre en el plasma, y se metaboliza extensamente en el hígado. Tiene una vida media de 3 h; la duración del efecto es de 4-6 horas.

En ratas SHR se ha reportado que el tratamiento con prazosina no modifica la masa cardíaca.<sup>177</sup>

### 3.3 El verapamil.

Junto con las dihidropiridinas y el diltiazem, el verapamil es un antagonista de los canales lentos de calcio<sup>178,179</sup> que bloquea la contracción del músculo liso vascular. El calcio en el interior de la célula reacciona con la calmodulina; también activa la miosina-quinasa, que a su vez fosforila las cadenas ligeras de miosina que parece iniciar la interacción actina-miosina para producir la contracción muscular.<sup>131</sup>

A diferencia de las dihidropiridinas, el verapamil disminuye considerablemente la fuerza de contracción y la frecuencia cardíaca,<sup>179</sup> probablemente debido a que impide la fase de repolarización.<sup>180,181</sup> Algunos autores han sugerido que su mecanismo antihipertensivo se debe a la acción que tiene sobre el incremento en la filtración glomerular.<sup>182</sup>

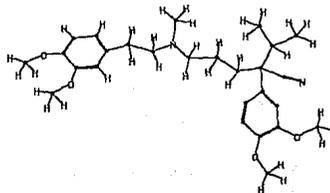


Figura 4. Estructura molecular del verapamil.

Se absorbe por vía oral, pero tiene una biodisponibilidad baja del 20% debido al metabolismo de primer paso en hígado. Su efecto máximo es a las 5 horas, con variaciones en distintos pacientes. La vida media es de  $4.8 \pm 2.4$  horas.

Con base en estudios morfológicos de ratas SHR<sup>183</sup> y en modelos de aterosclerosis, se ha sugerido que los antagonistas de calcio pueden tener un efecto protector de diversos vasos.<sup>184</sup>

### 3.4 La nitrendipina.

Es una dihidropiridina mas vasoselectiva que la nifedipina,<sup>185</sup> bloquea los canales lentos (L) de calcio dependientes de voltaje.<sup>186</sup> La nitrendipina relaja el músculo liso arterial, reduce las resistencias periféricas totales, disminuye la presión arterial, incrementa el flujo coronario e incrementa la fuerza de contracción del miocardio.<sup>185</sup> Aunque la liberación del EDRF es dependiente de calcio,<sup>126</sup> las dihidropiridinas no bloquean su acción en la aorta de la rata<sup>181,187</sup> En cambio, sí bloquean la respuesta de contracción lenta de estas arterias, inducida por agonistas  $\alpha_1$ ,

y  $\alpha_2$  postsinápticos.<sup>188</sup>

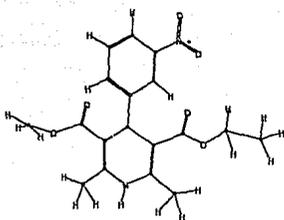


Figura 5. Estructura molecular de la nitrendipina.

La nitrendipina, como otras dihidropiridinas, se absorbe por vía oral, es metabolizada en el hígado, se une a las proteínas plasmáticas, y su vida media es de 90-120 min.<sup>189</sup>

### 3.5 La pelanserina.

Es una quinazolinodiona de acción similar a la ketanserina, bloquea los receptores vasculares 5-HT<sub>2</sub> y  $\alpha_1$ . Se absorbe por tracto gastrointestinal, y produce vasodilatación e hipotensión arterial en perros y ratas hipertensas renales.<sup>42,190,191</sup> La administración crónica de pelanserina baja paulatinamente la presión arterial; cuando se interrumpe, la presión arterial regresa a los valores iniciales en forma lenta. Por ejemplo, en perros hipertensos renales, tarda 15 días aproximadamente.<sup>191</sup>

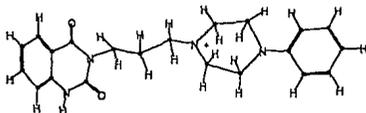


Figura 6. Estructura molecular de la pelanserina

En ratas desmeduladas y en anillos de aorta de conejo, la pelanserina bloquea los receptores de serotonina (5-HT<sub>2</sub>).<sup>192</sup> Inhibe el recambio de

fosfatidil inositol inducido por serotonina en la aorta de conejo. Este recambio es una estimación de la producción de trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>),<sup>193</sup> un segundo mensajero que provoca la contracción del músculo liso, por liberación de calcio intracelular.<sup>194,195</sup> A dosis altas, se ha propuesto que la pelanserina tiene una acción vasodilatadora independiente de los receptores 5-HT<sub>2</sub> y  $\alpha_1$ , probablemente por bloqueo de la entrada del calcio.<sup>196</sup>

En perros, la pelanserina, después de absorbida por vía oral, alcanza una concentración máxima a las 2.58 h y tiene una vida media de 18 horas.<sup>191</sup>

### 3.6 El indorrenato.

Después de conocer que la serotonina podía mediar la hipotensión arterial en el sistema nervioso central, y que este efecto era bloqueado por la metisergida,<sup>40</sup> se encontró que el indorrenato también producía hipotensión arterial central. El indorrenato es un agonista serotoninérgico caracterizado como 5-HT<sub>1A</sub>,<sup>197</sup> es capaz de disminuir la presión arterial y la frecuencia cardíaca, muy probablemente, por disminución del flujo simpático.<sup>198,199,200,201</sup>

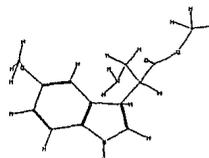


Figura 7. Estructura molecular del indorrenato.

Es un antihipertensivo en desarrollo, que se absorbe por vía gastrointestinal; ha sido probado en administraciones agudas y crónicas, en perros hipertensos renales, en ratas SHR y en ratas DOCA.<sup>198,199,200,201</sup> Adicionalmente, se ha caracterizado como ansiolítico en ratas<sup>202</sup> posiblemente por su acción 5-HT<sub>1A</sub> en el hipocampo.<sup>197</sup>

**3.7 El propranolol** (ver revisiones: Hoffman 1991<sup>176</sup> y van Zwieten, 1990<sup>174</sup>).

Está bien documentado que los bloqueadores  $\beta$  no selectivos sin actividad intrínseca, como el propranolol, al ser administrados agudamente disminuyen la frecuencia cardíaca, la presión arterial, el gasto cardíaco y la renina plasmática. También aumentan las resistencias periféricas y la noradrenalina plasmática. En contraste, el tratamiento prolongado reduce la presión arterial, el gasto, y la frecuencia cardíaca, sin afectar la renina plasmática y las resistencias periféricas. El mecanismo preciso por el cual el propranolol baja la presión aún se desconoce.<sup>174</sup>

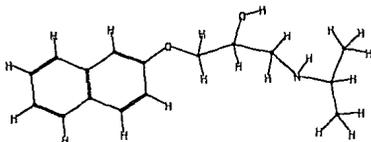


Figura 8. Estructura molecular del propranolol.

El bloqueo de los receptores  $\beta$  disminuye el metabolismo de la glucosa, la lipólisis y el consumo de oxígeno en el corazón. Adicionalmente, pueden bloquear la liberación de renina del aparato yuxtglomerular, que normalmente se libera por acción del sistema nervioso simpático. El propranolol impide el mecanismo presináptico de liberación de norepinefrina mediado por receptores  $\beta$ , otro mecanismo que colateralmente disminuye el tono simpático.

El propranolol puede prevenir el desarrollo de hipertensión arterial en ratas SHR, y es antiaterogénico en conejos hipercolesterolémicos.<sup>203</sup>

Este bloqueador  $\beta$  se absorbe por vía oral y se metaboliza en un 75% cuando pasa por vez primera al hígado; se une a proteínas plasmáticas en un 90%, fácilmente atraviesa la barrera hematoencefálica,<sup>176</sup> y su vida media es de 3.9 h.

## 4. FASE EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS EN LA REACTIVIDAD VASCULAR.

### 4.1 introducción.

Es importante descubrir un agente terapéutico, que tenga beneficio en las enfermedades que cursan con daño endotelial, como la aterosclerosis, la HTA, la isquemia, la vasculitis y otras. Algunos antecedentes en nuestro laboratorio sugirieron que la pelanserina tenía cierta actividad benéfica en el endotelio de los vasos de animales hipertensos. Nuestra hipótesis se centra en preguntarnos si este efecto benéfica se debe al mecanismo de acción de la pelanserina ó al decremento de la presión arterial.

### 4.2 Objetivos.

#### 4.2.1 Primer objetivo.

Determinar el efecto individual y en conjunto de la edad y de la HTA, en la relajación dependiente del endotelio.

#### 4.2.2 Segundo objetivo.

Establecer las diferencias de reactividad colinérgica de la aorta torácica, entre las ratas normotensas WKY y las ratas hipertensas SHR.

#### 4.2.3 Tercer objetivo.

Determinar en las ratas SHR, si el tratamiento con los siguientes fármacos modifica la reactividad vascular: propranolol, nitrendipina, verapamil, pelanserina, prazosina e indorrenato. Explorar en este modelo la actividad de agentes relajantes dependientes del endotelio (acetilcolina e histamina), independientes del endotelio (nitroglicerina), y la contracción inducida por agonistas  $\alpha_1$  (metoxamina e indanidina).

### 4.3 Material y métodos.

En todos los experimentos se agruparon conjuntos de 8 a 13 animales. En los experimentos en los que se trató de observar la influencia de la edad y de la HTA en la reactividad vascular, se estudiaron las cepas WKY y SHR de las siguientes edades en semanas: 7-9, 14-18, 28-36, >70. Los experimentos donde se intentó observar el efecto de los tratamientos en la reactividad vascular, se realizaron con ratas SHR de 22-24 semanas de edad, debido a que a partir de esta edad la restricción en la relajación dependiente del endotelio a acetilcolina, fue similar a la de los grupos de edades subsecuentes (28-36 y >70). Todos los experimentos se realizaron con ratas macho mantenidos en las mismas condiciones de alimentación, temperatura e higiene. A los animales tratados se les administró un sólo tratamiento por grupo. Las dosis se calcularon en mg/kg/día: verapamil 30, nitrendipina 30, pelanserina 60, indorrenato 20, propranolol 30, prazosina 4 y control (vehículo). Todos los fármacos se homogenizaron en solución de metilcelulosa al 0.5%, con objeto de tener el mismo vehículo para todos los tratamientos. Se administraron oralmente con una sonda de hule, 2 veces diarias (c/12 h) por 14 días. A todas las ratas se les registró la presión arterial sistólica los días 1,7 y 14, por medio de un esfigmomanómetro colocado en la cola del animal (IITC, Inc, Calif U.S.A).

Tanto en los experimentos de edad como en los de tratamientos, las ratas se sacrificaron de un golpe en la nuca. Se extirpó la aorta torácica, se colocó en solución de Krebs-Ringer (en mM: NaCl 118, Dextrosa 11.6, NaHCO<sub>3</sub> 25, KCl 4.7, MgSO<sub>4</sub> 1.1 CaCl<sub>2</sub> 2.5, y Na-EDTA 0.026), burbujeada con una mezcla de 95% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub> a temperatura ambiente. La aorta se limpió cuidadosamente de grasa y tejido conectivo. Se seccionó en anillos de aproximadamente 3 mm de ancho; y a la mitad del total de ellos se les quitó el endotelio mediante fricción suave con un forceps. Los anillos se colocaron entre ganchos de alambre inoxidable, uno atado al

fondo de una cámara para tejido aislado (10 ml) y otro a un transductor isométrico de tensión (FT03, Grass, Inc, MA, U.S.A). Las cámaras se llenaron de Krebs-Ringer a 37°C, burbujeado con la mezcla gaseosa. El transductor de tensión se conectó a un polígrafo (RPS 7C8, Grass Inc, MA, U.S.A) para registrar cambios en la tensión isométrica. Todos los anillos se sometieron a una tensión inicial de 5g, que en experimentos previos se determinó como óptima. Durante un período de equilibrio de 2 h, todos los anillos se estimularon con norepinefrina (10<sup>-7</sup> M) hasta obtener contracciones reproducibles. En la última contracción se verificó la funcionalidad del endotelio mediante la relajación inducida por acetilcolina (10<sup>-6</sup> M.). Los anillos a los que se les removió el endotelio no presentaron respuesta relajante.

En los experimentos de edad se realizaron curvas dosis-respuesta a acetilcolina (10<sup>-9</sup>-10<sup>-4</sup> M.) y en los tratamientos se realizaron un máximo de cuatro curvas dosis-respuesta: relajación con acetilcolina (10<sup>-9</sup>-10<sup>-4</sup> M.), histamina (10<sup>-6</sup>-10<sup>-3</sup> M.) y nitroglicerina (10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup> M.), y contracción con indanidina (10<sup>-7</sup>-3.1x10<sup>-5</sup> M.) y metoxamina (10<sup>-7</sup>-10<sup>-4</sup> M.).

Los datos de cada experimento se capturaron en una computadora PC-XT por medio de un convertidor analógico-digital (Mondragón J, Instituto Nacional de Cardiología, 1989) y se contabilizaron automáticamente con un sistema diseñado para experimentos de órgano aislado (Hoyo-Vadillo C y Ransanz V, CINVESTAV, 1990).

### 4.4 Estadística.

La influencia individual de la edad o de la HTA, en la relajación dependiente del endotelio se analizó mediante un análisis de varianza (ANADEVA) de una vía. La influencia de ambos factores (edad e HTA) se obtuvo con un análisis de dos vías. La comparación entre los diversos grupos experimentales, con respecto a un mismo control, se hizo mediante un análisis de varianza, seguida de la prueba de Dunnett. La

concentración inhibitoria 50 ( $CI_{50}$ ) se obtuvo mediante la regresión lineal por el método de los mínimos cuadrados, de los datos comprendidos entre el 20-80% de cada curva. La dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ ) se obtuvo de igual manera. Todas las operaciones se realizaron con un programa estadístico (Salazar L, CINVESTAV, 1990) basado en los procedimientos descritos por Tallarida y Murray 1981,<sup>204</sup> con excepción del análisis de dos vías, que se realizó con el programa Statgraphics, 1989.

#### 4.5 Resultados.

##### 4.5.1 La relajación dependiente del endotelio en aortas de ratas de distintas edades.

A mayor edad de los animales normotensos (WKY), se observó un decremento sutil, pero significativo, de la relajación dependiente del endotelio a acetilcolina (ANAEVA:  $p<0.05$ ). En las ratas SHR, la disminución de la relajación ocurrió a una edad mas temprana (14-18 semanas) y fue mas pronunciada que en las WKY (Fig. 9). Se observó que tanto la edad como la HTA, en forma individual y conjunta, son factores que disminuyen significativamente la relajación inducida por acetilcolina (ANAEVA  $p<0.05$ ).

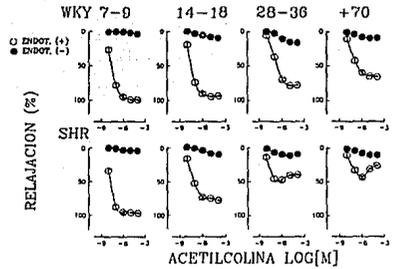


Figura 9. Relaciones en aortas de ratas de distintas edades y cepas. Se observaron diferencias significativas según la edad y/o la cepa (ANAEVA:  $p<0.05$ ).

##### 4.5.2 El efecto de los tratamientos en la reactividad vascular de las ratas SHR.

###### 4.5.2.1 La presión arterial.

Todos los tratamientos, con excepción del de propranolol, disminuyeron la presión arterial (Tabla 1). El efecto antihipertensivo, se observó por más de 8 horas y tuvo tendencia a desaparecer antes de la siguiente dosis. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el primer y el último día de tratamiento. Esto indica que el efecto antihipertensivo fue temporal y no sostenido.

###### 4.5.2.2 La relajación dependiente del endotelio.

La relajación dependiente del endotelio inducida por acetilcolina, fue significativamente mayor en los vasos de animales tratados que en los de animales control. La única excepción se presentó con

Tabla 1. Presión arterial sistólica de ratas SHR sometidas a distintos tratamientos.

Fármaco	n	Día 1			Día 7			Día 14
		hora 0	hora 4 (Δ)	hora 8 (Δ)	hora 0 (Δ)	hora 4 (Δ)	hora 8 (Δ)	hora 0 (Δ)
control	12	191±3.7	-10±3.7	-6±3.8	2±3.7	-5±4.0	-7±3.8	-5±4.0
prazosina	13	193±3.7	-48±3.1**	-37±4.5**	5±4.0	-54±5.0**	-51±6.2**	-13±9.1
verapamil	10	182±4.0	-27±5.1**	-29±6.0**	0.5±3.2	-28±3.8**	-18±3.8**	-2±2.8
nifedipina	8	200±5.4	-9±3.1	-33±6.6**	-15±6.0*	-30±3.9**	-33±3.5**	-9±4.8
peluserina	13	195±4.0	-32±6.4**	-34±5.2**	-14±5.8	-51±7.4**	-47±4.2**	-14±3.7
propranolol	10	184±4.8	-5±4.0	-1±6.0	-6±6.0	-3±6.0	-3±5.0	-7±5.0
indorenato	11	185±3.9	-63±5.7**	-26±6.3**	3±12.8	-37±6.5**	-20±4.2**	-0.9±2.3

Todos los tratamientos se administraron por vía oral, ver métodos para las dosis. Los valores del día 1 están expresados como medias ± E.E.M y el resto como incrementos o decrementos de este valor (\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$  ANOVA-DUNNETT respecto del día 1).

el tratamiento de prazosina (Fig. 10); a pesar de que disminuyó la presión arterial (Tabla 1), la relajación colinérgica fue similar a la de los animales control.

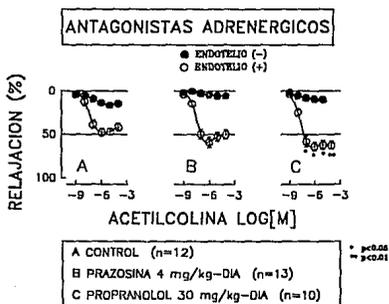


Figura 10. Efecto del tratamiento con prazosina (B) y propranolol (C) en la relajación por acetilcolina (Dunnett: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ).

Tabla 2.  $CI_{50}$  de acetilcolina y nitroglicerina obtenidas de curvas dosis-respuesta en anillos de aorta de ratas SHR

Tratamiento	ACETILCOLINA		NITROGLICERINA	
	con endotelio	sin endotelio	con endotelio	sin endotelio
control	6.78±0.20	7.06±0.28	7.38±0.17	
prazosina	6.20±0.42	6.01±0.23**	6.59±0.12**	
verapamil	7.19±0.14	6.72±0.22	7.02±0.11	
nitrendipina	7.06±0.21	7.04±0.22	7.27±0.22	
pelanserina	6.99±0.25	6.90±0.24	6.96±0.10	
propranolol	6.85±0.24	6.86±0.26	7.12±0.21	
indorrenato	7.44±0.11	7.05±0.13	7.27±0.11	

Los valores son las medias ± E.E.M. Las  $CI_{50}$  están expresadas como -Log. Los asteriscos señalan diferencias significativas en comparación con el grupo control (ANOVA \*\*  $p < 0.01$ )

Las  $CI_{50}$  de acetilcolina fueron estadísticamente iguales en todos los grupos estudiados cuando se

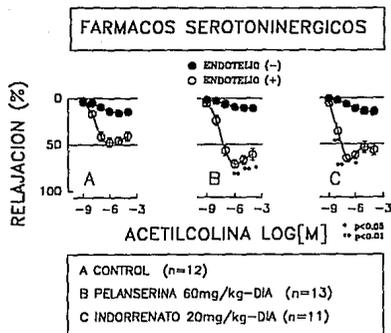


Figura 11. Efecto del tratamiento con pelanserina (B) e indorrenato (C) en la relajación de acetilcolina (Dunnett: \*  $p < 0.05$  y \*\*  $p < 0.01$ )

compararon con ANADEVA-Dunnett (Tabla 2). El efecto de los tratamientos se observó en la respuesta máxima y no en la sensibilidad a la acetilcolina. El tratamiento que incrementó la relajación a las dosis mas pequeñas de acetilcolina ( $10^{-8}$  M.) fue el de indorrenato (Fig. 11), pero el que mayor incremento produjo en la relajación máxima, fue el de verapamil (Fig. 12). Ambos tratamientos (indorrenato y verapamil) desplazaron la curva dosis-respuesta de acetilcolina a la izquierda de manera significativa con respecto de los controles normotensos (ANADEVA-Dunnett:  $p < 0.05$ ). Las diferencias también se observaron en algunas de las dosis administradas (Fig. 13).

La relajación dependiente del endotelio mediada por histamina, no se afectó por ninguno de los tratamientos (Fig. 14,15, 16), el efecto máximo y las  $CI_{50}$  fueron similares a la de animales control (datos no mostrados).

#### 4.5.2.3 La relajación independiente del endotelio.

El único tratamiento que modificó la relajación independiente del endotelio a la nitroglicerina fue el de prazosina. Se observó un desplazamiento paralelo, a la derecha, de la curva-dosis

respuesta. Las respuestas máximas no mostraron modificación (Fig. 17); esto indica una disminución en la sensibilidad de este fármaco (Tabla2).

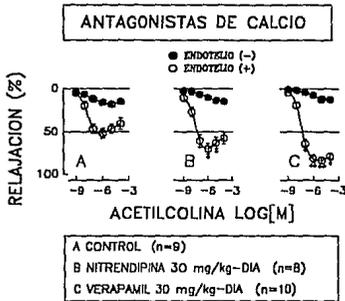


Figura 12. Efecto del tratamiento con nitrendipina (B) y con verapamil (C) en la relajación de acetilcolina (Dunnett: \* $p < 0.05$  y \*\*  $p < 0.01$ ).

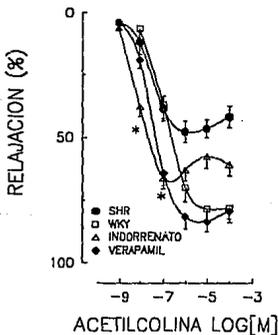


Figura 13. Comparación de los tratamientos de verapamil e indorrenalato, con la relajación por acetilcolina en las ratas WKY (Dunnett: \* $p < 0.05$ )

#### 4.5.2.4 La contracción vascular.

En ninguno de los tratamientos administrados se observaron diferencias en las contracciones máximas de metoxamina e indanidina. Las  $DE_{50}$  de las curvas dosis-respuesta tampoco se modificaron (Tabla 3). La remoción del endotelio no evidenció diferencias de los tratamientos en las contracciones vasculares de ambos agonistas (ver para metoxamina: Tabla 3).

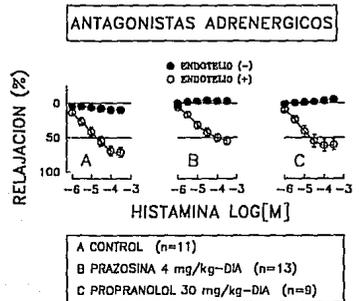


Figura 14 Efecto del tratamiento con prazosina (B) y propranolol (C) en la relajación dependiente del endotelio inducida por histamina.

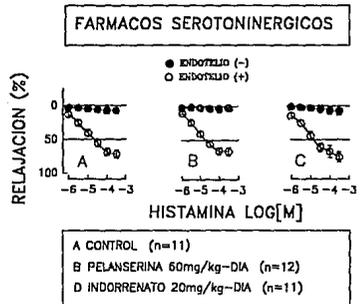


Figura 15. Efecto del tratamiento con pelanserin (B) e indorrenalato (C) en la relajación dependiente del endotelio inducida por histamina.

#### 4.5.25 Correlación entre la relajación y la presión arterial.

Como se puede apreciar en la figura 18, no se observó correlación lineal entre la relajación por acetilcolina ( $10^{-6}$  M) y la disminución de la presión arterial (8 horas). Apparently the diminution of the pressure arterial no fue el único factor responsable de la mejoría observada en el endotelio vascular con los tratamientos farmacológicos.

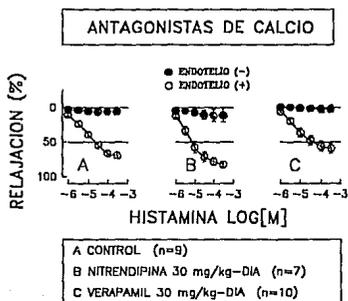


Figura 16. Efecto del tratamiento con nitrendipina (B) y verapamil (C) en la relajación dependiente del endotelio inducida por histamina.

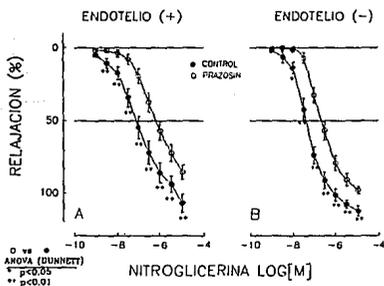


Figura 17. Relajación de nitroglicerina en animales tratados con prazosina. La figura A corresponde a anillos normales y la B a anillos sin endotelio.

#### 4.6 Discusión

Encontramos que la edad disminuye significativamente la relajación dependiente del endotelio mediada por acetilcolina y que la HTA potencia esta incapacidad funcional (Fig. 9). El tratamiento individual con drogas con mecanismos de acción diferentes como la pelanserina, el indorrenato, el propranolol, y antagonistas de calcio (verapamil y nitrendipina), revierten la deficiencia en la relajación dependiente del endotelio mediada por acetilcolina, pero no la inducida por histamina. Encontramos que no todos los tratamientos incrementaron la relajación en igual magnitud y que no existió una correlación entre el grado de disminución de la presión arterial y la relajación dependiente del endotelio (Fig 18). El tratamiento con indorrenato produjo el mayor aumento en la sensibilidad a la acetilcolina (Fig. 11 y Tabla 2); el tratamiento con verapamil fue el que mas incrementó el efecto máximo inducido por acetilcolina (Fig 12).

Como los fármacos empleados en los tratamientos tienen mecanismos de acción

Tabla 3. Contracciones por metoxamina en anillos de aorta de rata SHR sometidas a tratamientos con distintos fármacos

Tratamiento	con endotelio		sin endotelio	
	-Log EC <sub>50</sub>	respuesta máxima (g)	-Log EC <sub>50</sub>	respuesta máxima (g)
control	5.78±0.15	1.58±0.14	6.12±0.11	1.70±0.13
prazosina	5.91±0.20	1.75±0.15	6.10±0.17	1.79±0.15
verapamil	5.75±0.32	1.88±0.19	6.14±0.08	1.96±0.11
nitrendipina	5.76±0.14	1.48±0.09	5.95±0.09	1.75±0.08
peluserina	5.55±0.12	1.75±0.13	5.99±0.08	1.91±0.12
propranolol	5.48±0.12	1.67±0.17	6.15±0.11	1.88±0.17
indorrenato	5.47±0.22	1.62±0.13	5.76±0.19	1.99±0.18

Los valores son las medias ± E.E.M. expresados como -Log EC<sub>50</sub>

distintos, aparentemente el único factor en común, fue la disminución de la presión arterial. El efecto de la presión arterial en el endotelio vascular ha sido estudiado por Lockette *et al.*, quienes encontraron una notable disminución de la relajación dependiente del endotelio en ratas unilateralmente nefrectomizadas, a las que indujeron HTA renovascular con un clip en la arteria renal. Después de haber alcanzado un efecto hipertensor sostenido, se les removió el clip; en consecuencia, la presión arterial disminuyó y la relajación dependiente del endotelio se normalizó.<sup>156</sup> Apoyando este estudio, Lüscher *et al.* señalan que la disminución de la presión arterial inducida por una combinación de fármacos antihipertensivos (reserpina, hidroclorotiazida e hidralazina), incrementa la relajación dependiente del endotelio.<sup>205</sup> El estudio de Lockette sugiere que la presión arterial es la responsable del daño funcional endotelial, y, en conjunto con el de Lüscher, evidencia que el daño endotelial puede revertirse al disminuir la presión arterial.

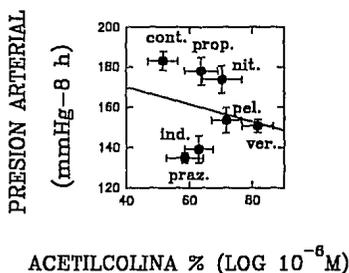


Figura 18. Correlación entre la presión arterial (8h) y la relajación inducida por acetilcolina ( $10^{-6}$  M) ( $p > 0.05$ ).

Algunas observaciones en contraposición a los datos de Lockette y Lüscher, son los reportados por Clozel *et al.* (1990), quienes señalan que los inhibidores de la ECA revierten el daño endotelial en las ratas SHR, pero no así la hidralazina, a pesar que ambos fármacos redujeron la presión arterial en forma similar.<sup>206</sup> Ransanz y Hong (1991) publicamos que el

captopril no modificó la relajación dependiente del endotelio por acetilcolina, pero disminuyó la sensibilidad a la nitroglicerina en ratas SHR de 16 semanas de edad.<sup>207</sup> El panorama se hace más confuso ya que Shimamura *et al.* (1991) encontraron que la hidralazina sí beneficia el endotelio vascular de ratas SHRSP.<sup>208</sup>

Las discrepancias encontradas entre los distintos laboratorios seguramente se deben a que no hay una estricta comparatividad entre los grupos experimentales. Por ejemplo, la edad puede modificar la respuesta endotelial de los animales; como se muestra en la Figura 9 esto es mayor cuando se asocia a HTA. Otros factores que deben tomarse en cuenta al comparar distintos tratamientos, son la duración de la administración de la droga, los efectos secundarios de los fármacos y las dosis utilizadas. En los experimentos que reportamos en esta tesis, consideramos la edad de 22-24 semanas como ideal, debido a que la restricción de la relajación dependiente del endotelio ya no crece sustancialmente, y es probable que sea más fácilmente reversible.

Se observó beneficio endotelial en las aortas de nuestros animales hipertensos con todos los tratamientos administrados, excepto con el de prazosina, siendo el que mayor efecto antihipertensivo produjo (ver Tabla 1). Al analizar por el método de mínimos cuadrados la correlación entre el incremento de la relajación endotelial inducida por los tratamientos, y la disminución de la presión (8hr), no encontramos ( $p > 0.05$ ) una correlación estadísticamente significativa. Esto sugiere que el incremento del efecto relajante inducido por acetilcolina no se debe estrictamente a la disminución de la presión arterial, sino que existan otros factores responsables del beneficio del daño funcional del endotelio. De hecho, Shultz y Raij han reportado que es posible producir mejoría endotelial en condiciones de normotensión, en ratas tratadas con hidralazina y captopril, pero no con enalapril (inhibidor de la ECA). Observaron que se incrementó la relajación dependiente del endotelio inducida por acetilcolina y por ADP,

sin que se observara un decremento en la presión arterial.<sup>209</sup> Este estudio, junto con el nuestro, sugieren que otros mecanismos, distintos a la disminución de la presión arterial, pueden ser los responsables del beneficio endotelial.

Los tratamientos que administramos facilitaron la relajación dependiente del endotelio, inducida por acetilcolina pero no por histamina. Cabe señalar que, en la aorta de rata, la histamina libera EDRF por medio de sus receptores  $H_1$ .<sup>116</sup> La acetilcolina relaja los vasos, principalmente por liberación de EDRF, aunque adicionalmente puede liberar factores contráctiles endoteliales como el  $TXA_2$ <sup>86,87</sup> y la prostaglandina  $H_2$ .<sup>210</sup> Obviamente el beneficio endotelial observado, puede deberse al aumento de factores relajantes derivados del endotelio o bien, a la disminución de factores contráctiles; el esclarecimiento de esto es un tema importante.

Ninguno de los tratamientos que administramos, con excepción del de prazosina, modificaron la relajación independiente del endotelio evocada por la nitroglicerina. El tratamiento con prazosina a pesar de su importante efecto hipotensor, no modificó la respuesta relajante a la acetilcolina (ver Fig. 10). Cabe mencionar, que este tratamiento fue el único que disminuyó la sensibilidad a la nitroglicerina, ejemplificado por un desplazamiento a la derecha de la curva dosis-respuesta (ver Fig. 17). El mecanismo de relajación de la nitroglicerina y del EDRF es el mismo; estimulan a la guanilato ciclasa soluble y median la relajación del músculo liso por el GMPc (ver Castillo, 1990<sup>130</sup> y Rapaport 1983<sup>107</sup> respectivamente). Por esta coincidencia es posible pensar que la prazosina altera el mecanismo de vasorelajación mediado por la guanilato ciclasa, disminuyendo la sensibilidad del nitrovasodilatador, y oscureciendo el posible efecto benéfico de la hipotensión arterial en el endotelio.

El tratamiento con indorrenato (agonista, 5-HT<sub>1A</sub><sup>197</sup>) disminuye el flujo simpático, y en consecuencia, la presión arterial y la frecuencia cardíaca, por lo que pudiera disminuir la fuerza

de contracción y el gasto cardíaco.<sup>199,200</sup> No se descarta que tenga un efecto secundario de vasoconstricción periférica,<sup>211</sup> a pesar de ser un potente agente hipotensor. Es importante señalar que el tratamiento con indorrenato mejoró la relajación de acetilcolina en las dosis más bajas ( $10^{-6}$  M)(ver Fig. 11), esto pudiera tener consecuencias terapéuticas ya que en condiciones fisiológicas, es más factible encontrar este tipo de concentraciones de acetilcolina.

En nuestro estudio, el fármaco que indujo mayor beneficio en la restricción relajante dependiente del endotelio fue el verapamil; junto con la nitrendipina son antagonistas de calcio. Los antagonistas de calcio al ser aplicados agudamente, producen relajación vascular.<sup>212,213</sup> e inhiben la contracción del músculo liso,<sup>214</sup> la pelanserina comparte estas propiedades a dosis altas.<sup>42</sup> Estudios del grupo de Fleckenstein sugieren que los antagonistas de calcio poseen cierta actividad vasoprotectora,<sup>183</sup> pero nuestro estudio es el primero en demostrar que los antagonistas de calcio benefician la relajación dependiente del endotelio vascular en la HTA.

Aunque el calcio es imprescindible para la liberación de EDRF, los antagonistas de calcio que utilizamos no tienen efecto sobre el endotelio debido a la imposibilidad que tienen de bloquear los canales sensibles.<sup>215,216,217,218</sup> El efecto endotelial aquí reportado, no parece deberse al decremento de la producción o liberación de endotelina,<sup>219,220,221,222</sup> quedando abierta la posibilidad de inhibición de otros factores contráctiles.

El verapamil, a diferencia de la nitrendipina, tiene un efecto bloqueador de la conducción del corazón. Esto se refleja en una disminución de la frecuencia y fuerza de contracción.<sup>179,180,181</sup> Esta reducción de la frecuencia cardíaca y fuerza de contracción, en conjunción con la hipotensión arterial, pueden disminuir la fricción de la sangre en los vasos conocido como *shear stress*.

Los tratamientos con antagonistas de calcio que

administramos, principalmente el verapamil, benefician la relajación inducida por acetilcolina, sin afectar significativamente las respuestas contráctiles de metoxamina e indanidina (ver Tabla 3), por lo que no cabría la posibilidad que el incremento en la relajación está debida a un decremento en la contracción vascular.

El tratamiento con propranolol, a pesar de que no disminuyó la presión arterial, incrementó significativamente, aunque menos que el verapamil, la relajación dependiente del endotelio a acetilcolina. Esto nos sugiere que otro factor, colateralmente a la disminución en la presión arterial sistólica, pueda ser el causal del beneficio endotelial, como lo sugieren Shultz y Raj (1989),<sup>209</sup>

El propranolol, al igual que el verapamil, disminuye la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción,<sup>174,176</sup> Esto contribuiría a la disminución del *shear-stress* sin modificar la presión arterial sistólica.

#### 4.7 Conclusiones.

En el presente estudio encontramos que distintos mecanismos farmacológicos que producen hipotensión arterial sistólica, inducen beneficio en la relajación dependiente del endotelio por acetilcolina pero no por histamina. No hay una estricta correlación entre la disminución de la presión arterial y la relajación dependiente del endotelio, por lo que sugerimos que la disminución en la presión arterial, no es el único factor responsable. Especulamos que la disminución del *shear-stress* pudiera tener influencia en la relajación mediada por el endotelio, ya que fármacos como el verapamil y el propranolol tienen efecto endotelial sin disminución notable de la presión arterial. Para comprobar esta hipótesis será necesario elaborar otros diseños experimentales.

## 5. REFERENCIAS

1. Williams GH, Braunwald E: Hypertensive vascular disease, en Petersdorf RG, Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD (Eds): Principles of internal medicine. New York, McGraw Hill, 1983, pp 1475-1488
2. Dustan HP: Pathophysiology of hypertension, en Hurst JD et al (Eds): The heart. New York, Mc Graw-Hill, 1982, pp 1171-1181
3. Sokolov M: Heart and great vessels, en Krupp MA, Chatton MJ (Eds): Medical diagnosis and treatment. Los Altos, CA, 1983, Lange Medical Publications, pp 164-257
4. Robins SL, Cotran RS: Heart, en Robins SL, Cotran RS (Eds) The pathologic basis of disease. Philadelphia, Saunders, 1979, pp 643-711
5. Folkow B: Physiological aspects of primary hypertension. *Physiol Rev* 1982;62:347-504
6. Ruiz L: Hypertension in Latin America. *Hypertension* 1988;11(Suppl I):I-233-I-235
7. Conferencia Magistral: "La Hipertensión Arterial en México" Dr. Jaime Sepúlveda, subsecretario de la Secretaría de Salud, II Congreso Nacional de HTA, septiembre, 1992.
8. Espino-Vela J: HTA, en Espino-Vela (Ed): Como cuidar su corazón, enfermedades del corazón prevención y tratamiento. México, D.F., Méndez Oteo, 1981, pp 97-116
9. Caravaggi AM, Bianchi G, Brown JJ, Lever AF, Morton JJ, Powell-Jackson JD, Robertson JIS, Semple PF: Blood pressure and plasma angiotensin II concentration after renal artery constriction and angiotensin infusion in the dog. *Circ Res* 1976;38:315-321
10. Kiowski W, Lüscher TF, Linder L, Bühler FR: Endothelin-1-Induced vasoconstriction in humans, reversal by calcium channel blockade but not by nitrovasodilators or endothelium-derived relaxing factor. *Circulation* 1991;83:469-475
11. Floras JS: Epinephrine and the genesis of hypertension. *Hypertension* 1992;19:1-18
12. Seyle H, Hall CE, Rowley EM: Malignant hypertension produced by treatment with desoxycorticosterone acetate and sodium chloride. *Can Med Assoc J* 1943;49:88-91
13. King CM, Weeb RC: The endothelium partially obscures enhanced microvessel reactivity in DOCA hypertensive rats. *Hypertension* 1988;12:420-427

14. Rinaldi G, Bohr D: Endothelium-mediated spontaneous response in aortic rings of deoxycorticosterone acetate-hypertensive rats. *Hypertension* 1989;13:256-261.
15. Ferrario CM, Averill DB: Do primary dysfunctions in neural control of arterial pressure contribute to hypertension? *Hypertension* 1991;18(Suppl I):I-38-I-51
16. Mullins JJ, Peters J, Ganten D: Fulminant hypertension in transgenic rats harboring the mouse ren-2 gene. *Nature* 1990;344:541-544
17. Brum JM, Moriguchi A, Brosnithan KB, Ganten D, Ferrario CM: Endothelium-dependent and independent mechanisms in isolated vessels of hypertensive transgenic rats (TGR). *The FASEB J* 1992;6:A1457 (Abstract)
18. Gifford RW: Resistant hypertension introduction and definitions. *Hypertension* 1988;11(Suppl II):II-65-II-66
19. Frohlich ED: Classification of resistant hypertension. *Hypertension* 1988;11(Suppl II):II-67-70
20. Robins SL, Cotran RS: The kidney, en Robins SL, Cotran RS (Eds): *The pathologic basis of disease*. Philadelphia, Saunders, 1979, pp 1115-1185
21. Glasscock RJ, Brenner BM: The major glomerulopathies, en Petersdorf RG, Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD (Eds): *Principles of internal medicine*. New York, McGraw Hill, 1983, pp 1632-1642
22. Brenner BM, Lazarus M: Chronic renal failure: pathophysiologic and clinical considerations, en Petersdorf RG, Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD: *Principles of internal medicine*. New York, McGraw Hill, 1983, pp 1662-1618
23. Landsberg L, Young JB: Pheocromocytoma, en Petersdorf RG, Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD: *Principles of internal medicine*. New York, McGraw Hill, 1983, pp 657-661
24. Williams RR, Hunt SC, Hasstedt SJ, Hopkins PN, Wu LL, Berry TD, Stults BM, Barlow GK, Shumacher MC, Lifton RP, Lalouel JM: Are there interactions and relations between genetic and environmental factors predisposing to high blood pressure? *Hypertension* 1991;18(Suppl I);I-29-I-37
25. Falkner B: Is there a black hypertension? *Hypertension* 1987;10:551-553
26. Luft FC, McCarron DA; Heterogeneity of hypertension: the diverse role of electrolyte intake. *Annu Rev Med* 1991;42:347-355

27. Dustan HP, Kirk KA: The case for or against salt in hypertension. *Hypertension* 1988;13:696-705
28. Cogan MF: Angiotensin II: a powerful controller of sodium transport in the early proximal tubule. *Hypertension* 1990;15:451-458
29. Blain EH: Atrial natriuretic factor plays a significant role in body fluid homeostasis. *Hypertension* 1990;15:2-8
30. Blaustein MP, Hamlyn JM: Pathogenesis of essential hypertension, a link between dietary salt and high blood pressure. *Hypertension* 1991;18(Suppl II):III-184-III-185
31. Koizumi K, Brooks CB: The autonomic system and its role in controlling body functions, in Mountcastle VB (Ed): *Medical physiology*. St Louis MO, Mosby, 1981, pp 893-922
32. Scriabine A, Taylor DG, Hong E: Central control of arterial pressure by drugs, in Jucker E (Ed). Basel, Birkhauser Verlag, 1982, pp 354-371
33. Brody MJ, Varner KJ, Vasquez EC, Lewis SJ: Central nervous system and the pathogenesis of hypertension, sites and mechanisms. *Hypertension* 1991;18(suppl III):III-7-III-12
34. Shepherd JT, Katusic ZS: Endothelium-derived vasoactive factors: I endothelium-dependent relaxation. *Hypertension* 1991;18(suppl III):III-76-III-85
35. Chapleau MW: Are arterial pressure and deformation the sole determinants of baroreceptor activity? *Hypertension* 1992;19:278-280
36. Esler M, Jennings G, Korner P, Willett I, Dudley F, Hasking G, Anderson W, Lambert G: Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension* 1988;11:3-20
37. Pauletto P, Scannapieco G, Pessina AC: Sympathetic drive and vascular damage in hypertension and atherosclerosis. *Hypertension* 1991;17(suppl III):III-75-III-81
38. Rand MJ, Majewski H, Story DF: Modulation of neuroeffector transmission, in Antonaccio JM: *Cardiovascular pharmacology*, 1990, Raven Press, New York, pp 229-292
39. Mylecharane EJ, Philips CA, Markus JK: Prejunctional inhibitory receptors for serotonin, in Vanhoutte PM: *Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium*. Raven Press, New York, 1988, pp 235-241
40. Nava-Félix P, Hong E: Nature of the central serotonin receptors mediating hypotension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1979;1:461-466

41. Van Neuten JM, Janssen PAJ, Van Beek J, Xhonneux R, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM: Vascular effects of ketanserin (R 41 468), a novel antagonist of 5-HT serotonergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:217-230
42. Hong E, 1985: TR-2515. *Drugs of the future* 1985;10:929-93
43. Vanhoutte PM et al: Serotonergic mechanisms in hypertension, focus on the effects of ketanserin. *Hypertension* 1988;11:111-133
44. Vanhoutte PM: Platelet-derived serotonin, the endothelium and cardiovascular disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17(suppl 5):V-6-V-12
45. Carretero OA, Scicli AG: Local hormonal factors (intracrine autocrine, and paracrine) in hypertension. *Hypertension* 1991;18(suppl 1):I-58-I-69
46. Webb DJ, Cockcroft JR: Circulating and tissue renin-angiotensin systems: the role of the endothelium, en Warren JB (Ed): *The endothelium an introduction to current research*. New York, Wiley-Liss, 1990, pp 65-80
47. Berk BC, Vekshtein V, Gordon HM, Tsuda T: Angiotensin II-stimulated protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1989;13:305-314
48. Furchgott RF: Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983;53:557-572
49. Marshall JJ, Kontos HA: Endothelium-derived relaxing factors, a perspective from in vivo data. *Hypertension*, 1990;16:371-386
50. Tsuru H: Heterogeneity of the vascular effects of bradykinin, in Vanhoutte PM (Ed): *Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium*. New York, Raven Press, 1988, pp 479-482
51. Bolli O, Muller FB, Raine AEG, Erne P, Resink TJ, Lider L, Buehler FR: Vascular effects of arterial natriuretic peptides, en Vanhoutte PM (Ed): *Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium*. New York, Raven Press, 1988, pp 129-135
52. Winquist RJ, Baskin EP, Faison EP, Wallace AA: Species and regional vascular heterogeneity to atrial natriuretic factor, in Vanhoutte PM (Ed): *Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves, and endothelium*. New York, Raven Press, 1988, pp 119-122

53. De Mey JG: Atrial natriuretic peptides and blood pressure, in Vanhoutte PM (Ed): Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves, and endothelium. Raven Press, New York, 1988, pp 123-128
54. Ohlstein EH, Berkowitz BA: Atrial natriuretic factor and production of cyclic GMP, en Vanhoutte PM (Ed): Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves, and endothelium. New York, Raven Press, 1988, pp 113-117
55. De León H, Castañeda-Hernández G, Hong E: Factor auricular natriurético. Arch Inst Cardiol Mex 1988;58:351-371
56. Hedner J, Hedner T, Pettersson A, Towle AC, Persson B, Edvardsson N, Swedberg K, Nilsson G, Andersson OK: Atrial natriuretic peptides in cardiovascular disease, in Vanhoutte PM (Ed): Vasodilatation, vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves, and endothelium. Raven Press, New York, 1988, pp 137-143
57. Guadalajara JF: Anatomía clínica del corazón, en Guadalajara JF (Ed): Cardiología. Mendez Cervantes, México D.F., 1981, pp 15-39
58. Testut L, Latarjet A: Angiología: Corazón, en Testut L, Latarjet A (Eds): Compendio de anatomía descriptiva. Salvat Editores, México, D.F., 1980, pp 239-262
59. Bonjers G, Glukhova M, Hansson G, Postnov Y, Reidy MA, Schwartz SM: Hypertension and atherosclerosis, cause and effect, or two effects with one unknown cause? Circulation 1991;84(suppl VI):VI-2-VI-16
60. Heistad DD, Lopez AG, Baumbach GL: Hemodynamic determinants of vascular changes in hypertension and atherosclerosis. Hypertension 1991;17(suppl III):III-7-III-11
61. Folkow B: Structural factor in primary and secondary hypertension. Hypertension 1990;16:89-101
62. Lever AF: Slow pressor mechanisms in hypertension: a role for hypertrophy of resistance vessels? J Hypertension 1986; 4:515-524
63. Frohlich ED: The heart in hypertension: unresolved conceptual challenges. Hypertension 1988;11(suppl I):I-19-I-34
64. Frohlich ED: The heart in hypertension: A 1991 overview. Hypertension 1991;18(suppl III):III-62-III-68
65. Milnor WR: Principles of hemodynamics, en Mountcastle VB: Medical physiology. St Louis MO, Mosby, 1980, pp 1017-1032

66. Schiffrin EL: Reactivity of small blood vessels in hypertension: Relation with structural changes. Hypertension 1992;19(suppl II):II-1-II-9
67. Mulvany ML, Aalkjaer C, Christensen J: Changes in noradrenaline sensitivity and morphology of arterial resistance vessels during development of high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Hypertension 1980;2:664-671
68. Michel JB, De Roux N, Plissonnier D, Anidjar S, Salzmann JL, Levy B: Pathophysiological role of the vascular smooth muscle cell. J Cardiovasc Pharmacol 1990;16(suppl I):I-4-I-11
69. Swales JD: Is there a cellular abnormality in hypertension? J Cardiovasc Pharmacol 1991;18(supl XVIII):XVIII-39-XVIII-44
70. Bohr DF, Dominiczak AF, Webb RC: Pathophysiology of the vasculature in hypertension. Hypertension 1991;18(Suppl III):69-75
71. Gibbons GH, Dzau VJ: Endothelial function in vascular remodeling, en Warren JB (Ed): The endothelium: an introduction to current research. New York, Wiley-Liss, 1990, pp 81-93
72. Dzau VJ, Safar ME: Large conduit arteries in hypertension: role of the vascular renin-angiotensin system. Cir Res 1988;77:947-954
73. Dzau VJ, Gibbons GH: Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. Hypertension 1991;18(Suppl III):III-115-III-121
74. Chobanian AV: 1989 Corcoran lecture: Adaptative and maladaptative responses of the arterial wall to hypertension. Hypertension 1990;15:666-674
75. Luscher TF: The endothelium target and promoter of hypertension? Hypertension 1990;15:482-485
76. Bevan JA, Brayden JE: Nonadrenergic neural vasodilator mechanisms. Cir Res 1987;60:309:326
77. Lincoln J, Burnstock G: Neural-endothelial interactions in control of local blood flow, en, Warren JB (Ed): The endothelium an introduction to current research, New York, Wiley-Liss, 1990, pp 21-32
78. Burnstock G: Mechanism of interaction of peptide and nonpeptide vascular neurotransmitter systems. J Cardiovasc Pharmacol 1987;10(Suppl II):II-74-II-81

79. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263:663-665
80. Weksler BB, Marcus AJ, Jaffe EA: Synthesis of prostaglandin I<sub>2</sub> (prostacyclin) by cultured human and bovine endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:3922-3926
81. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of the arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376
82. Hoeffner U, Feletou M, Flavahan NA, Vanhoutte PM: Canine arteries release two different endothelium-derived relaxing factors. *Am J Physiol* 1989;257:H330-H333
83. Boulanger C, Hendrickson H, Lorenz RR, Vanhoutte PM: Release of different relaxing factors by cultured porcine endothelial porcine cells. *Cir Res* 1988;77:947-954
84. Vanhoutte PM: Endothelium and control of vascular function, state-of-the-art lecture. *Hypertension* 1989;13:658-667
85. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Goto K, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-415
86. Altieri RJ, Kiritsy-Roy JA, Catravas JD: Acetylcholine-induced contractions in isolated rabbit pulmonary arteries: role of thromboxane A<sub>2</sub>. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;236:535-541
87. Shirahase H, Usui H, Kurahashi K, Fujiwara M, Fukui K: Possible role of endothelium thromboxane A<sub>2</sub> in the resting tone and contractile responses to acetylcholine and arachidonic acid in canine cerebral arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987;10:517-522
88. Furchgott R, Vanhoutte PM: Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989;3:2007-2018
89. Lüsher TF, Boulanger CM, Dohi Y, Yang: Endothelium-derived contracting factors. *Hypertension* 1992;19:117-130
90. Moncada S, Vane JR: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1979;30:293-331
91. Moncada S, Flower RJ, Vane JR: Prostaglandinas, prostaciclina tromboxano A<sub>2</sub> y leucotrienos, en Goodman y Gilman (Eds): Las bases farmacológicas de la terapéutica, México DF, Editorial Médica Panamericana, 1986, pp 627-639

92. Gryglewski RJ, Botting RM, Vane JR: Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension* 1988;12:530-548
93. Campbell WB: Lipid-derived autacoids: eicosanoids and platelet-activating factor, en Goodman and Gilman (Eds): *The pharmacological basis of therapeutics*, New York, Pergamon Press, 1990, pp 600-617
94. Van Dam J, Maddox YT, Ramwell PW, Kot PA: Role of the vascular endothelium in the contractile response to prostacyclin in the isolated rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;239:390-394
95. Kanmura Y, Itoh T, Kuriyama H: Mechanisms of vasoconstriction induced by 9,11-epithio-11,12-methano-thromboxane A<sub>2</sub> in the rabbit coronary artery. *Circ Res* 1987;60:402-409
96. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Endothelium-derived vasodilators, en Catravas JD, Gillis CN, Ryan US (Eds): *Vascular endothelium, receptors and transduction mechanisms*, New York, Plenum press, 1989, pp 217-223
97. Minuz P, Barrow SE, Cockcroft JR, Ritter JM: Prostacyclin and thromboxane biosynthesis in mild essential hypertension. *Hypertension* 1990;15:469-474
98. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Jothianandan D: Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984;6(Suppl II):II-336-II-343
99. Furchgott RF: Endothelium-dependent vasodilation and the nature of the endothelium-derived relaxing factor, in Catravas JD, Gillis CN, Ryan US (Eds): *Vascular endothelium, receptors and transduction mechanisms*, New York, Plenum Press, 1989, pp 205-216
100. Moncada S, Palmer RML, Higgs EA: The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1988;12:365-372
101. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: Endogenous regulator of vascular tone, en Warren JB (Ed): *The endothelium, an introduction to current research*, New York, Wiley-Liss, 1990, pp 1-6
102. Moncada S, Plamer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142
103. Tolins JP, Shultz PJ, Raij L: Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of vascular tone and remodeling, update on humoral regulation of vascular tone. *Hypertension* 1991;17:909-916

104. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526
105. Ignarro LJ: Nitric oxide, a novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension* 1990;16:447-483
106. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-666.
107. Rapoport RM, Murad F: Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ Res* 1983;52:352-357
108. Rapoport RM, Draznin MB, Murad F: Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 1983;306:174-176
109. Kausar K, Stekiel WJ, Rubanyi G, Harder DR: Mechanism of action of EDRF on pressurized arteries: effect on K<sup>+</sup> conductance. *Cir Res* 1989;65:199-204
110. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S: The anti-agregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987;92:639-646
111. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S: The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;148:1482-1489
112. Förstermann U: Properties and mechanisms of production and action of endothelium-derived relaxing factor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986;8(suppl 10):X-45-X-51
113. Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S: Control of regional blood flow by endothelium-derived relaxing nitric oxide. *Hypertension* 1990;15:486-492
114. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignarro LJ: Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991;17:187-193
115. Catravas JD, Lengrand AB, Ryan US, Aronstam RS: Muscarinic receptors on endothelial cells, en Catravas JD, Gillis CN, Ryan US (Eds): *Vascular endothelium, receptors and transduction mechanisms*, New York, Plenum Press, 1989, pp 77-88
116. Leusen I, Van de Voorde J: Endothelium dependent responses to histamine en Vanhoutte PM (Ed): *Vasodilatation, vascular smooth muscle peptides, autonomic nerves and endothelium*. New York, Raven Press, 1988, pp 469-474

117. Cocks TM, Angus JA: Endothelium-dependent relaxation of coronary artereries by noradrenaline and serotonin. Nature 1983;305:627-630
118. Angus JA, Cocks TM, Satoh K: The alpha adrenoceptors on endothelial cells. Fed Proc 1986;45:2355-2359
119. Vanhoutte PM, Luscher TF: Serotonin and the blood vessel wall. J Hypertens 1986;4:29-35
120. Houston DS, Shephard JT, Vanhoutte PM: Adenine nucleotides, serotonin, and endothelium-dependent relaxations to platelets. Am J Physiol, 1985;248:H389-H395
121. De Mey J, Claeys M, Vanhoutte PM: Endothelium dependent inhibitory effects of acetylcholine, adenosine triphosphate, thrombin and arachidonic acid in the canine femoral artery. J Pharmacol Exp Ther 1982;222:166-173
122. Fujiwara S, Kassel NF, Sasaki T, Nakagomi T, Lehman RM: Selective hemoglobin inhibition of endothelium-dependent vasodilation of rabbit basilar artery. J Neurosurg 1986;64-445-452
123. Tsuiki K: Selective augmenting effect of oxi-Hb on the contractions of cerebral arteries elicited by various vasoactive substances. NYV 1988;16:1155-1162 (abstract)
124. Criscione L, Mull K, Forney Prescott M: Endothelial cell loss enhances the pressor response in resistance vessels. J Hypertens 1984;2(suppl):441-444
125. Rosenblum WI, Nelson GH: Endothelium-dependent constriction demonstrated in vivo in mouse cerebral arterioles. Circ Res 1988;63:837-843
126. Rubanyi GM, Vanhoutte PM: Calcium and activation of the release of endothelium-derived relaxing factor. Ann NY Acad Sci 1988;522:226-233
127. Jacob R, Sage SO, Rink TJ: Aspects of calcium signalling, in endothelium, en Warren JB (Ed): The endothelium, an introduction to current research, New York, Wiley-Liss, 1990, pp 33-44
128. Kikkawa K, Murata S, Nagao T: Endothelium-dependent calcium-induced relaxation in the presence of  $Ca^{2+}$  in canine depolarized coronary arteries. Br J Pharmacol 1989;93:700-706
129. Spedding M, Schini V, Schoeffter P, Miller RC: Calcium channel activation does not increase release of endothelial-derived relaxant factors (EDRF) in rat aorta although tonic release of EDRF may modulate calcium channel activity in smooth muscle. J Cardiovasc Pharmacol 1986;8:1130-1137

130. Castillo C, Hong E: Fármacos vasodilatadores que actúan estimulando la guanilato ciclasa en el músculo liso. Arch Inst Cardiol Méx 1991;61:375-384

131. Weiss GB, Winqvist RJ, Silver PJ: Vascular smooth muscle and vasodilators, en Antonaccio JM (Ed): Cardiovascular Pharmacology, New York, Raven Press, 1990, pp 75-105

132. Gerber JG, Nies AS: Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension, en Goodman and Gilman (Eds): The pharmacological basis of therapeutics, New York, Pergamon press, 1990, pp 784-813

133. Vanhoutte PM, Miller VM: Heterogeneity of endothelium-dependent responses in mammalian blood vessels. J Cardiovasc Pharmacol 1985;7(Suppl III):III-12-III-23

134. Toda N, Okamura T, Miyazaki M: Age-dependent changes in the response of isolated beagle coronary arteries to transmural electrical stimulation and catecholamines. J Pharmacol Exp Ther 1986;238:319-26

135. Bolton TB: Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. Physiol Rev 1979;59:607-718

136. Allan G, Brook CD, Cambridge D, Hladkis KYK: Enhanced responsiveness of vascular smooth muscle to vasoconstrictor agents after removal of endothelial cells. Br J Pharmacol 1983;79:334 (abstract)

137. Egleme C, Godfraind T, Miller RC: Enhanced responsiveness of rat isolated aorta to clonidine after removal of the endothelial cell. Br J Pharmacol 1984;81:16-18

138. Carrier OG, White RE: Enhancement of  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  adrenergic agonist induced vasoconstriction by removal of endothelium in rat aorta. J Pharmacol Exp Ther 1985;232:682-687

139. Katušić ZS, Shepherd JT: Endothelium-derived vasoactive factors: II endothelium-dependent contraction. Hypertension 1991;18(suppl III):III-86-III-92

140. Rubanyi GM, Vanhoutte PM: Hypoxia releases a vasoconstrictor substance from the canine vascular endothelium. J Physiol (Lond) 1985;364:45-46

141. Harder Dr, Sanchez-Ferrer C, Katalin K, Stekiel WJ, Rubanyi GM: Pressure releases a transferable endothelial contractile factor in cat cerebral arteries. Circ Res 1989;65:193-198

142. Zaragoza R, Pederson T, Budzik GP, Opgenorth TJ, Wu-Wong JR: Acute oxygen depletion stimulates endothelin release from cultured bovine aortic endothelial cells. *FASEB J* 1992;6:A1835 (abstract)
143. Ånggård EE, Botting RM, Vane JR: Endothelium-derived vasoconstrictor factors, ed: Warren JB (Ed): *The endothelium an introduction to current research*. New York, Willey-Liss, 1990, pp 7-20
144. Simonson MS, Dunn MJ: Endothelins: a family of regulatory peptides, state of the art lecture. *Hypertension* 1991;17:856-863
145. Gillespie MN, Owasoyo JO, McMurtry IF, O'Brien RF: Sustained coronary vasoconstriction provoked by a peptidergic substance released from endothelial cells in culture. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;236:339-343
146. Shichiri M, Hirata Y, Ando K, Emori T, Ohta K, Kimoto S, Ogura M, Inoue A, Marumo F: Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension* 1990;15:493-496
147. Haudenschild CC, Prescott MF, Chobanian AV. Effects of hypertension and its reversal on aortic intima lesions of the rat. *Hypertension* 1980;2:33-44
148. Gabbiani G, Elemer G, Gulepa Ch, Vallotton MB, Badonnel MC, Hunter I: Morphologic and functional changes of the aortic intima during experimental hypertension. *Am J Pathol* 1979;96:399-422
149. Limas C, Westrum B, Iwai J, Limas CJ: Aortic morphology in salt-dependent genetic hypertension. *Am J Pathol* 1982;107:378-394
150. McGuire PG, Twietmeyer TA: Aortic endothelial junctions in developing hypertension. *Hypertension* 1985;7:483-490
151. Schwartz SM, Benditt EP: Aortic endothelial cell replication: 1. Effects of age and hypertension in the rat. *Circ Res* 41:248-255, 1977
152. Limas C, Westrum B, Limas CJ, Cohn JN. Effect of salt on the vascular lesion of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1980;2:477-489
153. Cohen ML, Berkowitz BA: Decreased vascular relaxation in hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 1976;196:396-406
154. Winquist RJ, Bunting PB, Baskin EP, Wallace AA: Decreased endothelium-dependent relaxation in New Zealand genetic hypertensive rats. *J Hypertension* 1984;2:541-545

155. Konishi M, Su C: Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hipertensive rats. Hypertension 1983;5:881-886
156. Lockette W, Otsuka Y, Carretero O: The loss of endothelium-dependent vascular relaxation in hypertension. Hypertension 1986;8(suppl II):II-61-II-66
157. Lüscher TF, Raij L, Vanhoutte PM: Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. Hypertension 1987;9:157-163
158. Sim MK, Sigh M: Decreased responsiveness of the aortae of hypertensive rats to acetylcholine, histamine and noradrenaline. Br J Pharmac 1987;90:147-150
159. Tesfamariam B, Halpern W: Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in resistance arteries from hypertensive rats. Hypertension 1988;11:440-444
160. Miller MJS, Pinto A, Mullane KM: Impaired endothelium-dependent relaxations in rabbits subjected to aortic coarctation hypertension. Hypertension 1987;10:164-170
161. Auch-Schwek W, Katusic ZS, Vanhoutte PM: Contractions to oxygen-derived free radicals are augmented in aorta of the spontaneously hypertensive rat. Hypertension 1989;13:859-864
162. Lüscher TF, Vanhoutte PM: Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. Hypertension 1986;8:344-348
163. Vanhoutte PM: Aging and vascular responsiveness. J Cardiovasc Pharmacol 1988;12(suppl 8):VIII-11-VIII-18
164. Docherty JR: Cardiovascular responses in ageing: a review. Pharmacol Rev 1990;42:103-125
165. Fleisch JH, Hooker CS: The Relationship between age and relaxation of vascular smooth muscle in the rabbit and rat. Cir Res 1976;38:243-249
166. Hongo K, Nakagomi T, Kassell NF, Sasaki TM, Lehman M, Vollmer DG, Tsukahara T, Ogawa H, Torner J: Effects of aging and hypertension on endothelium-dependent vascular relaxation in rat carotid artery. Stroke 1988;19:892-897
167. Heistad DD, Lopez AG, Baumbach GL: Hemodynamic determinants of vascular changes in hypertension and atherosclerosis. Hypertension 1991;17(suppl III):III-7-III-11

168. Henry PD: Effects of low-density lipoproteins and hypercholesterolemia on endothelium-dependent vasodilation. *Current Opinion in Lipidology* 1991;2:306-310
169. Verbeuren TJ, Jordaens FH, Zonnekeyn LL, Van Hove CE, Coene MC, Herman AG: Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. Endothelium-dependent and endothelium-independent contractions and relaxations in isolated arteries of control and hypercholesterolemic rabbits. *Circ Res* 1986;58:552-564.
170. Kishi Y, Numano F: Contractions in normal and atherosclerotic rabbit aortas. *Mech Ageing Dev* 1984;26:357-369
171. Cavero I, Roach AG: The pharmacology of prazosin, a novel antihypertensive agent. *Life Sci* 1980;27:1525-1533
172. Graham RM, Pettinger WA. Prazosin. *N Eng J Med* 1989;300:232-236
173. Rudd P, Blaschke TF: Agentes antihipertensivos y farmacoterapia de la HTA, en Goodman y Gilman (Eds): *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, México DF, Editorial Panamericana, 1986, pp 747-767
174. van Zwieten PA: Antihypertensive drugs interacting with the sympathetic nervous system and its receptors, en Antonaccio MJ: *Cardiovascular Pharmacology*. Raven Press, New York, 1990, pp 37-73
175. Spokas EG, Folco G, Quilley J, Chander P, McGiff JC: Endothelial mechanism in the vascular action of hydralazine. *Hypertension* 1983;5:107-111
176. Hoffman BB, Lefkowitz RJ: Adrenergic receptor antagonists, en Goodman and Gilman (Eds): *The pharmacological basis of therapeutics*. New York, McMillan, 1990, 221-243
177. Pegram BL, Kobrin I, Natsume T, Gallo AJ, Frohlich ED: Systemic and regional hemodynamic effects of acute and prolonged treatment with urapidil or prazosin in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Med* 1984;?:64-73
178. Frohlich ED: Clinical pharmacology of calcium antagonists, satellite symposium on calcium antagonists. *Hypertension* 1988;11(suppl I):I-222-224
179. Murad F: Drugs used for the treatment of angina: organic nitrates, calcium channel blockers, and  $\beta$ -adrenergic antagonists, en Goodman and Gilman: *The pharmacological basis of therapeutics*, New York, Pergamon Press, 1990, pp 764-783

180. Ehara T, Daufmann R: The voltage-and time-dependent effects of (-)-verapamil on the slow inward current in isolated cat ventricular myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1978;207:49-55
181. Spedding M, Cavero I: Calcium antagonists: a class of drugs with a bright future. Part II. Determination of basic pharmacological properties. *Life Sci* 1984;35:575-587
182. Lin H, Young DB: The antihypertensive mechanism of verapamil, alteration of glomerular filtration rate regulation. *Hypertension* 1988;11:639-644
183. Fleckenstein A, Frey M, Zorn J, Fleckenstein-Grün G: Experimental basis of the long-term therapy of arterial hypertension with calcium antagonists. *Am J Cardiol* 1985;56:3H-14H
184. Henry PD: Calcium channel blockers and atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16(suppl 1):I-12-I-15
185. Garthoff B, Kazda S, Knorr A, Luckhaus G, Stoepel K: Pharmacology of a new antihypertensive calcium antagonist: nitrendipine, en Scriabine A, Vanov S, Deck K (Eds): Nitrendipine, Baltimore-Munich, Urban and Schwarzenberg, 1984, pp 11-24
186. Hermsmeyer K, Sturek M, Rusch NJ: Calcium channel modulation by dihydropyridines in vascular smooth muscle. *Ann NY Acad Sci* 1988;522:25-31
187. Schoeffter P, Miller RC: Role of sodium-calcium exchange and effects of calcium entry blockers in endothelial-mediated responses in rat isolated aorta. *Mol Pharmacol* 1986;30:53-57
188. Nelson L, Scarborough, Carrier GO: Nifedipine and alpha adrenoceptors in rat aorta. I. Role of extracellular calcium in alpha-1 and alpha-2 adrenoceptor-mediated contraction. *J Pharmacol Exp Ther* 1984;231:597-602
189. Triggle DJ: Calcium antagonists, en Antonaccio MJ (Ed): Cardiovascular Pharmacology. Raven press, New York, 1990, pp 107-160
190. Hong E, Rion R, Rojas G: Mechanism of the antihypertensive effect of TR2515, a potent serotonin antagonist. *Proc West Pharmacol Soc* 1984;27:1-4
191. Flores-Murrieta FJ, Castañeda-Hernández G, Hong E: Pharmacokinetics and antihypertensive effect of pelanserin in renal hypertensive dogs. *Arzneim Forsch* 1992;42:1105-1108
192. Hong E, Rion R, Uc MR, Mena MA: Blockade of vascular 5-HT receptors and antihypertensive activity produced by some quinazolinone derivatives. *Fed Proc* 1982;41:1647

193. Villalobos-Molina R, Castillo C, Hong E: Pelanserin inhibition of serotonin-induced phosphatidylinositol turnover and contraction in rabbit aorta. *Drug Development Research* 1991;23:281-287
194. van Breemen C: Cellular mechanisms regulating [Ca<sup>2+</sup>] smooth muscle. *Annu Rev Physiol* 1989;51:315-329
195. Berridge MJ, Irvine RF: Inositol trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature* 1984;312:315-321
196. Hong E, Peón JM, Flores E: Mechanism of the vasodilatation induced by ketanserin and TR2515. *Pharmacologist* 1985;27:260 (Abstract)
197. Dompert WU, Glaser T, Traber J: 3H-TVX Q 7821: Identification of 5-HT<sub>1</sub> binding sites as target for a novel putative anxiolytic. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1985;328:467-470
198. Safdy ME, Kurchacova E, Schut RN, Vidrio H, Hong E: Tryptophan analogues. 1. Synthesis and antihypertensive activity of positional isomers. *J Med Chem* 1982;25:723-730
199. Hong E: A Serotonergic antihypertensive agent, in Singer and Ondarza (Eds): *Molecular basis of drug action*, Amsterdam, Elsevier, 1981, pp 248-253
200. Hong E, Rión R, Vidrio H: Stimulation of central serotonin receptors as a novel mechanism of antihypertensive activity, in Bevan JA, Fujiwara M, Maxwell RA, Mohori K, Shibata S, Toda N (Eds): *Vascular neuroeffector mechanisms*, 4<sup>th</sup> international symposium, New York, Raven Press, 1983, pp 273-277
201. Hong E, Rión R, Aceves J, Benitez-King G, Anton-Tay F: Further evidence for a central antihypertensive effect of indorenate. *Proc West Pharmacol Soc* 1987;30:1-3
202. Fernández-Guasti A, Escalante A, Hong E, Agmo A: Behavioural actions of the serotonergic ansiolytic indorrenate. *Pharmacol Biochem Behav* 1990;37:83-88
203. Chobanian AV, Brecher P, Chan C: Effects of propranolol on atherogenesis in the cholesterol-fed rabbit. *Cir Res* 1985;56:755-762
204. Tallarida Rj, Murray RB: *Manual of pharmacologic calculations, with computer programs*, New York, Springer-Verlag 1981, pp 55-57
205. Lüscher TF, Vanhoutte PM, Raij L: Antihypertensive treatment normalizes decreased endothelium-dependent relaxations in rats with salt-induced hypertension. *Hypertension* 1987;9(suppl III):III-193-III-197

206. Clozel M, Kuhn H, Hefti F: Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and of hydralazine on endothelial function in hypertensive rats. Hypertension 1990;16:532-540
207. Ransanz V, Hong E: Captopril does not modify endothelial dependent vascular reactivity in spontaneous hypertensive rat (SHR). Proc West Pharmacol Soc 1991;34:157-159
208. Shimamura K, Osugi S, Moriyama K, Sunano S: Impairment and protection of endothelium-dependent relaxation in aortae of various strains of spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol 1991;17(Suppl 3):III-133-III-136
209. Shultz PJ, Raij L: Effects of antihypertensive agents on endothelium-dependent and endothelium-independent relaxations. Br J Clin Pharmacol 1989;28:151S-157S
210. Kato, Iwama Y, Okumura K, Hashimoto H, Ito T, Satake T: Prostaglandin H<sub>2</sub> may be the endothelium-derived contracting factor released by acetylcholine in the aorta of the rat. Hypertension 1990;15:475-482
211. Hong E, Castillo C, Márquez JA: Interaction between several S<sub>1A</sub> and  $\alpha_1$  agonists on rabbit aortic rings. Proc West Pharmacol Soc 1989;32:235-237
212. Cattaneo EA, Rinaldi GJ, Cingolani HE: Effect of calcium antagonists on aortae isolated from normotensive and hypertensive rats; relaxation and calcium influx blockade. Can J Cardiol 1990;6:212-218
213. Altura BM, Altura BT: Comparative effects of nitrendipine and verapamil on isolated blood vessels of dogs, in Scriabine A, Vanov S, Deck K (Eds): Nitrendipine. Baltimore-Munich, Urban and Schwarzenberg, 1984, pp 293-309
214. Vanhoutte PM: Calcium entry blockers and vascular smooth muscle. Circulation 1982; 65 (suppl I):I-11-I-19
215. Mügge A, Peterson T, Harrison DG: Release of nitrogen oxides from cultured bovine aortic endothelial cells is not impaired by calcium channel antagonists. Circulation 1991;83:1404-1409
216. Johns A, Lategan TW, Lodge NJ, Ryan US, Van Breemen C, Adams DJ: Calcium entry through receptor-operated channels in bovine aortic endothelial cells. Tissue and Cell 1987;19:733-745

217. Colden-Stanfield M, Schilling WP, Ritchie AK, Eskin SG, Navarro LT, Kunze DL: Bradykinin-induced increases in cytosolic calcium and ionic currents in cultured bovine aortic endothelial cells. *Circ Res* 1987;61:632-640

218. Jacob R, Sage SO, Rink TJ: Aspects of calcium signalling, in endothelium in Warren JB (Ed): *The Endothelium, an introduction to current research*, New York, Wiley-Liss, 1990, pp 33-44

219. Walnöfer A, Weir S, Rüeg U, Cauvin C: The mechanism of action of endothelin-1 as compared with other agonists in vascular smooth muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13(Suppl 5):V-23-V-31

220. Ohlstein EH, Horohonich S, Hay DWP: Cellular mechanism of endothelin in rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;250:548-555

221. Chabrier PÈ, Auguet M, Roubert P, Lonchampt MO, Gillard V, Gillon J-M, Delafotte S, Barquet P: Vascular mechanism of action of endothelin-1: effect of  $Ca^{2+}$  antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13(Suppl 5):V-32-V-35

222. Stasch J-P, Kazda S: Endothelin-1 induced vascular contractions: interaction with drugs affecting the calcium channel. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13(Suppl 5):V-63-V-66