



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DEL XANTORRIZOL,
AISLADO DE LA PLANTA *Iostephane heterophylla*
SOBRE EL ACOPLAMIENTO FARMACOMECANICO
DE ANILLOS DE AORTA TORACICA DE RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ELSA PACHECO RIVERA

ASESORES: DR. HECTOR PONCE MONTER

MVZ. DAVID PAEZ ESQUILIANO



CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

JURADO

MVZ Héctor Sumano López
Presidente

MVZ Carlos Villagran Vélez
Secretario

MVZ Jaime Alonso Navarro
Vocal

MVZ Enedina Silva Cabrera
Suplente

MVZ David Paez Esquiliano
Suplente

CONTENIDO

Resumen	1
I. Antecedentes	2
II. Planteamiento del problema	10
III. Objetivos	10
IV. Material y Métodos	11
V. Resultados	16
VI. Discusión y Conclusiones	17
VII. Cuadros, Graficos y Figuras	20
IX. Lista de Abreviaturas	38
X. Referencias	39

A DIOS

Por la finalización de esta obra. Por transformar mi vida con Su perfecto amor, Su Palabra, Su gracia y Su fortaleza. Porque un día estaremos juntos.

Juan 3:16

“Porque de tal manera amó Dios al mundo, que ha dado a su Hijo unigénito, para que todo aquel que en Él cree, no se pierda, más tenga vida eterna”.

DEDICATORIA

A MI FAMILIA

A MIS PADRES, Sebastián y Luz, por su gran amor y cuidado. Por el ejemplo de sus vidas, sus obras, y su gran valor. Por el hermoso apoyo durante mi carrera

A MIS HERMANOS Y SUS ESPOSAS, Alejandro, Gustavo y Lourdes, Rolando y Claudia, por el amor, cuidado y paciencia que tuvieron para con mi vida.

A MIS SIBRINOS, Paola, Rolando y Monserrat, por su alegría y compañía

Los Amo

AGRADECIMIENTOS

Al
Dr. Héctor Ponce Monter
MVZ. David Paez Esquiliano
Por la asesoría y el apoyo para este proyecto

a la
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

al
Laboratorio de Fisiología y Farmacología

a la
Unidad de Investigación Médica en Farmacología, Hospital
de Especialidades del Centro Médico Nacional,
"Siglo XXI" del IMSS

a
Mis Profesores de la Universidad

a

Mis Tíos

Genaro Rivera, Yolanda Palomo, Felipe Pacheco, Carlota Luna, Luisa Rivera, Francisco Rivera, Teresa Alquicida, Inocencio Pacheco, Carmen Tamayo, Luis Rivera, Dolores Maya, Cruz Pacheco, José Correa, Felipe Rivera, María Islas, Sara Pacheco, Guadalupe Rivera, Carlos Sandoval

a

Mis Primos, Sus Esposas e Hijos

a

Mis Amigos de la Universidad

Rita, Lulú, Marisol, Dinorah, Iván, Claudia, Salvador, Irianda, Francisco, Daniel G., Lilia, Vanesa, Ignacio L., Citlali, Daniel Ortega, Heidi Gándara, María de Jesús. A los chicos del centro de cómputo.

a

Mis Amigos Creyentes

Haydeé, Lupita, Daniel, Silvia, Sandra, Cesar, Benita, Delia, Sandra Ramos, Jaime y Paz, Jaimito, Julián, Polán y Lulú, Alejandro Rosales, Ruth, Alejandro Rosas, Sergio y Mari Carmen, Alberto, Fernando, Andrés y Cuckis, Verónica, Lulú, Itzei, Pepe, Claudia, Rocio, Marco y Magda, Alma, Toño y Selene, Graciela, Chela, Familia Campos, Sra. Mari, Sra. Yola, Esther, Jorge, Alicia

RESUMEN

PACHECO RIVERA ELSA. (Efecto vasorrelajante del xantorizol, aislado de la planta *Iostephane heterophylla* sobre el acoplamiento farmacomecánico de anillos de aorta torácica aislada de rata). Bajo la dirección del Dr Héctor Ponce Monter y el MVZ David Paez Esquiliano.

El presente estudio tuvo como objetivo demostrar y caracterizar el efecto vasorrelajante del xantorizol sobre la musculatura lisa de la aorta torácica de rata in vitro, mediante la utilización de 10 ratas machos adultos los cuales se sacrificaron y se obtuvieron 40 anillos de aorta torácica éstos se sometieron a 4 grupos experimentales y un control con 8 anillos de aorta por grupo; cada anillo se colocó en una cámara de tejidos aislados con condiciones optimas para su viabilidad. Los grupos experimentales se preincubaron a diferentes concentraciones de xantorizol (13.76 μM , 45.87 μM , 137.61 μM , 458.71 μM); después se les adicionaron dosis crecientes de noradrenalina (10^{-8} – 10^{-5} M) para estimular la contracción, al grupo control se le adiciono solamente dosis crecientes de noradrenalina (10^{-8} – 10^{-5} M). Los experimentos se realizaron en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional, "Siglo XXI" del IMSS. Los resultados se presentan en gráficas con curvas concentración-respuesta a noradrenalina; se obtuvieron valores promedio de CE_{50} y R_{max} de cada grupo, en donde se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) en la R_{max} de los cuatro grupos experimentales con respecto al control y una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) en la CE_{50} de los dos últimos grupos experimentales (137.61 μM y 458.71 μM) al grupo control. Se concluye que la preincubación de diferentes concentraciones del compuesto xantorizol aislado de la planta *Iostephane heterophylla* tiene efectos vasorrelajantes sobre la curva concentración-respuesta a noradrenalina en anillos de aorta torácica de rata macho adulta.

I. ANTECEDENTES

1.1 Antecedentes Etnobotánicos y Etnofarmacológicos

Todos los pueblos han adquirido información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas propias de su ambiente. Estos conocimientos, generalmente se transmiten verbalmente de generación en generación, sin embargo, existe información a este respecto, Teofrasto discípulo de Aristóteles en el año 372 A.C., escribió diez libros sobre la historia de las plantas y ocho sobre su uso; Galeno (131-200, D.C.) farmacéutico y médico griego, escribió veinte libros sobre medicina y farmacia, indicando el empleo y aun adulteraciones de las plantas medicinales; en China, India y Japón, entre muchos otros países, se han encontrado abundante información escrita sobre la flora medicinal. Si se logra difundir y estudiar científicamente esta información, como actualmente ya se esta realizando, la humanidad obtendrá sorprendentes e importantes sustancias que, de lo contrario, permanecerán ignoradas por muy largo tiempo, pues la civilización tiende a romper la cadena de tradición verbal que ha preservado esta información (Dominguez, 1985)

Es útil recordar que mediante la recopilación de datos de los recursos vegetales, se pone de manifiesto todo el interés que conserva la Química de las sustancias naturales y la farmacognosia. Pese a los progresos de la Farmacología Molecular, resulta útil buscar incansablemente nuevas estructuras químicas de origen natural que sirva de modelo a los químicos orgánicos para la elaboración de nuevos fármacos. Este interés se traduce en investigaciones internacionales, llevadas a cabo tanto por los organismos públicos como privados (Bruneton, 1991).

Existen en la actualidad una serie de fármacos de importancia a nivel terapéutico que se han extraído de plantas medicinales y que actualmente los principios activos se sintetizan e industrializan en todo el mundo (cuadro 1). A manera de ejemplo en el cuadro 2 se presentan una lista de extractos y compuestos puros aislados de plantas medicinales que tienen actividad vasorrelajante sobre la musculatura lisa vascular.

El interés sobre las propiedades curativas de las plantas medicinales ha aumentado notablemente en los últimos años. En México tanto las instituciones de educación superior como las del Sector Salud reconocen la importancia que estos recursos tienen en el desarrollo y producción de nuevos medicamentos. Actualmente existen en nuestro país cerca de 7000 especies vegetales en uso y botánicamente clasificadas, pero experimentalmente se han evaluado las propiedades de 100, es decir, cerca del 1.5% (Lozoya, 1993). Es por ello que en este estudio se ha validado el uso de una de las aplicaciones (antiespasmodica) que se le ha dado en la medicina popular mexicana a la planta medicinal *Iostephane heterophylla*.

1.2 Antecedentes de *Iostephane heterophylla*

Esta planta pertenece a la familia de las Compositae, es denominada con el nombre científico *Iostephane heterophylla*, sus nombres comunes son: hierba de oso, hierba del manso, *Tecpahitli* (Morelos), *Bauji* (Nayarit), *Corsoner* (Sonora) y escorcionera en el resto de México (INI, 1994). La medicina popular mexicana le ha atribuido diversas propiedades terapéuticas para el tratamiento de: a) afecciones cutáneas como heridas y llagas, en forma de emplasto; b) reumatismo y artritis por frotación de una tintura alcohólica y por extracto acuoso; c) Diabetes, desórdenes gastrointestinales, espasmo y padecimientos del hígado, como té. La *Iostephane heterophylla* es una hierba de tallo erecto que mide un metro de altura, las hojas son alargadas, las flores son de color amarillo y están rodeadas por pétalos de color lila. Esta planta es originaria de México, se distribuye desde el noreste del estado de Chihuahua y Sinaloa hasta el sur de Oaxaca; crece en climas semisecos B y templados C entre los 2100 y los 2900 msnm (Bye, y col., 1985; Bye, 1986; García, 1981).

1.3 Xantorrizol

De la raíz de la planta *Iostephane heterophylla* se obtuvieron varios componentes pertenecientes a la familia de los bisabolenos: xantorrizol, glucosido de xantorrizol, ácido traquilobanoico, y éster metil del ácido traquilobanoico (Aguilar, y col., 1995) De 112 g

de la planta (raíz seca) se obtuvieron 480 mg de xantorrizol con un rendimiento total de compuesto puro de 0.43 %. De acuerdo con estos resultados el compuesto puro de xantorrizol resulta ser el más abundante, que se aísla de *Iostephane heterophylla* (Aguilar, y col., 1995, Aguilar, y col.; 1993) Por esta razón y por los antecedentes etnobotánicos y etnofarmacológicos se propone estudiar el efecto de este compuesto sobre el acoplamiento farmacomecánico (AFM) de los anillos de aorta torácica aislados de rata macho. La estructura química del xantorrizol se presenta en la figura 1.

1.4 Noradrenalina

La noradrenalina NA (levarterenol, 1-noradrenalina, 1- β -[3,4-dihidroxifenil]- α -aminoetanol; figura 2) es una de las principales catecolaminas que se encuentran en el organismo (además de adrenalina y dopamina) que se forma por hidroxilación y descarboxilación del aminoácido tirosina. Es un mediador químico o neurotransmisor, liberado normalmente en el organismo, por la médula suprarrenal, terminaciones neuronales simpáticas posganglionares y el encéfalo donde hay neuronas secretadoras de noradrenalina (Ganong, 1997).

Esta catecolamina actúa sobre los receptores α y β adrenérgicos, pero tiene una mayor afinidad por los receptores α_1 . Estos receptores tienen formas características de serpiente, ligados a proteínas G (figura 5) (Ganong, 1997). La activación de los receptores adrenérgicos específicos por parte de la NA produce respuestas bioquímicas y fisiológicas, que implican mecanismos de transducción a través de "segundos mensajeros" (figura 6). Estos mecanismos en general aumentan la concentración citoplasmática de calcio, lo cual produce la contracción de músculo liso (Smith, 1993). Por tal motivo se utilizó noradrenalina para inducir la activación del acoplamiento farmacomecánico en el músculo liso de la arteria aorta torácica de la rata.

En forma general los efectos de la NA en el organismo son: aumenta la fuerza de contracción del corazón; vasoconstricción periférica por medio de los receptores α_1 y causa glucógenolisis (Goodman, 1996)

Dentro de los vasoconstrictores circulantes más potentes se encuentran la noradrenalina, la vasopresina, la angiotensina II y la endotelina. La noradrenalina se metaboliza por oxidación y metilación hasta productos inactivos (Ganong, 1997).

1.5 Características de la Aorta Torácica

La aorta torácica de la rata, forma parte del sistema circulatorio de alta presión, sus paredes contienen 3 capas que se denominan íntima, media y adventicia. La íntima es la capa interna de la pared del vaso, está revestida por células endoteliales y tejido conjuntivo laxo que presenta un engrosamiento de fibras elásticas. La media está constituida por músculo liso y tejido conjuntivo laxo, en esta capa existen más fibras elásticas de forma circular, en vez de longitudinal, lo que justifica que en la técnica utilizada en este trabajo, los anillos de aorta torácica se coloquen en forma horizontal dentro de la cámara de tejidos aislados. La adventicia, esta formada por tejido conjuntivo (figura 3) (Junqueira, 1990).

Las células del músculo liso de la capa media de la arteria están dispuestas en forma helicoidal alrededor del vaso, tienen una estructura fusiforme y son más pequeñas que las del músculo esquelético y a diferencia de éste, presentan un único núcleo en posición central, no contienen troponina, proteína reguladora de Ca^{2+} , en cambio contienen calmodulina que regula la concentración intracelular de este ion y en consecuencia el ciclo contracción-relajación (Guyton, 1997).

Las células del músculo liso contienen miosina y actina. La miosina del músculo liso esta constituida por hexámeros de dos cadenas pesadas y cuatro cadenas ligeras, esta proteína se encuentra dispersa entre los abundantes filamentos de actina. La actina es una proteína globular constituida por dos cadenas de moléculas esféricas de pequeño tamaño enrollado entre sí. Los filamentos de miosina y actina del músculo liso muestran una distribución más irregular y no se identifican claramente las líneas Z o los sárcómeros, como consecuencia el músculo liso no presenta al microscopio una estructura estriada. Los filamentos finos de actina se unen para formar áreas electrodensas, que pueden

encontrar sobre la membrana y dispersas en el interior de la célula. Las áreas electrodensas que se hallan en la membrana celular permiten la unión con otras células musculares, debido a estos enlaces se da la transmisión de la contracción de una célula a la siguiente (Figura 4) (Anderw, y col., 1994; Fernández, 1992; Guyton, 1997).

Los músculos lisos se clasifican en:

I. Tónicos, que responden a estímulos excitatorios con grado de despolarización (aorta, arterias pulmonares, tráquea e ileon).

II. Fásicos, que generan potenciales de acción y ondas eléctricas (conducto deferente, vena porta o taenia coli).

III. Mixtos, que tienen un patrón intermedio de contracción ó de tipo mixto, con contracciones fásicas superpuestas a los tónicos

De acuerdo a esta clasificación el músculo liso de la arteria aorta de rata es clasificado como tónico (Hiroshi, y col., 1993).

1.6 Proceso Contráctil del Músculo Liso de la Aorta Torácica

El proceso de la contracción está regulada por la concentración intracelular de Ca^{2+} ; ésta regulación depende de dos tipos de acoplamiento que son *Electromecánico* (AEM) y *Farmacomecánico* (AFM) (Andrew, y col., 1994; John, y col., 1993). En el AEM existen un efecto despolarizante de la membrana que aumenta la concentración de Ca^{2+} intracelular por incremento en la difusión de este catión a través de los canales activados por el voltaje o por la inducción de la liberación de Ca^{2+} intracelular desde el retículo sarcoplásmico (principal depósito intracelular de Ca^{2+}) (Andrew, y col., 1994; Fernández, 1992; John, y col., 1993).

El AFM se refiere a la respuesta contráctil del músculo liso inducida por neurotransmisores, hormonas, mediadores químicos y fármacos que activan receptores específicos que incrementan la concentración de Ca^{2+} intracelular, al aumentar la entrada de Ca^{2+} extracelular y liberar Ca^{2+} de almacenes intracelulares. (Andrew, y col., 1994; Fernández, 1992; John, y col., 1993).

La noradrenalina, al unirse a receptores α_1 adrenérgicos de la membrana plasmática del músculo liso (figura 6), modula directamente los canales iónicos o estimular la producción de mediadores intracelulares, denominado “segundos mensajeros”, esta modulación permite aumentar las concentraciones de Ca^{2+} intracelular. (Andrew, y col., 1994; Fernández, 1992; John, y col., 1993).

El receptor α_1 adrenérgico se encuentra acoplado a la proteína G, está se localiza en la cara citoplasmática de la membrana, y como respuesta modifica la actividad de la fosfolipasa C (FLC), o bien un conducto iónico. La fosfolipasa C hidroliza de manera específica un componente fosfolipídico de la membrana plasmática denominado 4,5 bifosfato de fosfatidilinositol (PIP_2); este a su vez produce dos segundos mensajeros, el diacilglicerol (DAG) y el 1,4,5 trifosfato de inositol (IP_3). El DAG activa a la proteína cinasa C la cual incrementa la concentración de la proteína contráctil llamada cadena ligera de la miosina (CLM). El IP_3 induce la liberación de Ca^{2+} de almacenes intracelulares (retículo sarcoplasmico) (figura 6) (Katzung, 1996).

Cuando las células del músculo liso de la arteria aorta se estimulan por noradrenalina, el calcio intracelular aumenta a una concentración de hasta $\geq 10^6$ M, lo que permite su unión a la proteína calmodulina. La unión calcio - calmodulina activa la cinasa de cadena ligera de la miosina, (MLCK) esta a su vez fosforila a la cadena ligera de miosina (MLC), facilitando su interacción con la actina, la formación de enlaces cruzados entre actina y miosina y la contracción muscular. (figura 7 y 8) (Andrew, y col., 1994; Fernández, 1992; Laragh., 1995).

La cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK) es activada por el complejo Ca^{2+} - Calmodulina, transfiriendo un grupo fosfato del ATP al grupo hidróxilo de la serina en la posición 19 y/o treonina de la cadena ligera de miosina ($\text{MLC} \sim \text{OH}$) de acuerdo con la siguiente reacción:



1.7 Proceso Relajante del Músculo Liso de la Aorta Torácica

Una disminución en la concentración de Ca^{2+} intracelular hasta 10^{-7} M inactiva a la MLCK y permite la desfosforilación de la MLC por la fosfatasa de la cadena ligera de miosina, desactivando la actomiosina ATPasa e impidiendo que se formen los enlaces cruzados con los filamentos de actina provocando con esto la relajación. Las concentraciones intracitoplasmáticas de Ca^{2+} decrecen al reincorporarse a las estructuras citoplasmáticas (retículo sarcoplásmico), o en su expulsión de la célula a través de la bomba calcio-ATPasa o del intercambiador sodio - calcio (Caster, 1990; Darnell, 1993)(figura 9)

La desfosforilación de la MLC, se lleva a cabo por la enzima hidrolítica fosfatasa de la cadena ligera de miosina del músculo liso de acuerdo con la siguiente reacción (Fernández, 1992):



1.7.1 Mecanismos de Desfosforilación y Disminución del Calcio

Intracelular

- La estimulación de la enzima Guanil Ciclasa (GC), inducida por agentes liposolubles o agonistas produce un segundo mensajero llamado guanosin monofosfato cíclico (GMPc), éste actúa estimulando a la proteína cinasa G (PrC-G), la cual desfosforila las cadenas ligeras de miosina, inhibiendo en forma directa la contracción (Katzung, 1996; Laragh, 1995; Guyton, 1997) (figura 9)
- El agente o fármaco puede fijarse a un receptor (ejem. β adrenérgico) en la parte extracelular y estar unido a una enzima llamada adeniliclasa (AC) por medio de una proteína Gs. Esta enzima produce un segundo mensajero llamado adenosin monofosfato cíclico (AMPc), el cual provoca la activación de una proteína cinasa A (PrC-A), la fosforilación de la MLCK por esta proteína cinasa reduce la afinidad de la unión de la MLC, al complejo calmodulina- Ca^{2+} ; como resultado, la fosforilación del

par de cadenas ligeras no puede tener lugar, y el músculo permanece en estado relajado. También, inhibe la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico, así como la bomba de calcio de la membrana celular; estos efectos disminuyen la concentración intracelular del ion calcio, con lo que se inhibe la contracción (Katzung, 1996. Laragh, 1995; Guyton 1997; Randall, 1997) (figura 9).

- El agente o fármaco puede fijarse a canales de calcio con compuerta operada de voltaje y bloquear las vías de entrada de calcio sensibles al voltaje (Danell, 1993; Katzung, 1997) (figura 9).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe escasa documentación científica sobre el efecto del xantorizol sobre la musculatura lisa vascular que pudiera relacionarse con algunas de las propiedades curativas atribuibles mencionadas en la introducción. Este estudio pretende investigar el efecto vasorrelajante del xantorizol aislado de *Iostephane heterophylla* sobre el acoplamiento farmacomecánico (AFM) de anillos de aorta torácica, aislados de rata.

III. OBJETIVO

Demostrar y caracterizar el efecto del xantorizol sobre el acoplamiento farmacomecánico de la aorta torácica aislada de rata macho adulta.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe escasa documentación científica sobre el efecto del xantorrizol sobre la musculatura lisa vascular que pudiera relacionarse con algunas de las propiedades curativas atribuibles mencionadas en la introducción. Este estudio pretende investigar el efecto vasorrelajante del xantorrizol aislado de *Iostephane heterophylla* sobre el acoplamiento farmacomecánico (AFM) de anillos de aorta torácica, aislados de rata.

III. OBJETIVO

Demostrar y caracterizar el efecto del xantorrizol sobre el acoplamiento farmacomecánico de la aorta torácica aislada de rata macho adulta.

IV. MATERIAL Y METODOS

4.1 Animales

Se utilizaron 10 ratas Sprague Dawley machos, adultos de aproximadamente 250 g de peso, obtenidas del bioterio del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS. Los animales permanecieron en un cuarto con ambiente controlado, alimento para roedores (purina) y agua ad libitum.

4.2 Soluciones

La composición de las soluciones utilizadas son:

- Solución Ringer bicarbonato, concentración milimolar (mM): NaCl 118, KCl 4.75, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, Glucosa 11, CaCl₂ 1.8.
- Solución Ringer Krebs con concentración alta de potasio (mM): NaCl 62.75, KCl 60, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, Glucosa 11, CaCl₂ 1.8.
- Los pesos moleculares de las sales que componen las sustancias anteriores, son los siguientes NaCl 58.44, KCl 74.56, MgCl₂ 246.50, KH₂PO₄ 136.09, NaHCO₃ 84.01, Glucosa 180.2, CaCl₂ 147.02.

4.3 Drogas

La noradrenalina como sustancia agonista α_1 adrenérgico. se utilizó en forma de bitartrato de noradrenalina (Sigma No. Cat A0937).

Las sales que se utilizaron para preparar las soluciones Ringer, todas fueron grado reactivo y adquiridas en la casa Sigma.

25 mg de xantorizol se disolvieron en un mL de solvente (dimetil sulfóxido y etanol 2:5); de esta solución (25 μ g/mL) se hicieron las diluciones correspondientes para que al adicionarse 20 μ L de los diferentes diluciones quedará una concentración final en el baño de tejidos aislados de 13.76, 45.87, 137.61 y 458.7 μ M.

4.4 Diseño Experimental

4.4.1 Técnica de Obtención y Montaje del Tejido

Los animales se sacrificaron de acuerdo con las recomendaciones del reglamento para el cuidado de los animales de la FMVZ de la UNAM (Aluja, 1998), con el fin de evitar su sufrimiento se les administró (intraperitonealmente) una sobre dosis de pentobarbital sódico (150 mg/Kg)

Se incidió la cavidad torácica, se removieron cuidadosamente los pulmones para poder exponer el corazón y el techo de la cavidad torácica, donde se localizó la arteria aorta adosada por el tejido conjuntivo a la pared de la cavidad. Se obtuvo un segmento de 2 cm aprox. de aorta en su posición torácica, desprendiéndola de la cavidad sin dañarla ni perforarla.

El segmento obtenido de la arteria se colocó en un frasco con solución Ringer bicarbonato a temperatura ambiente y previamente oxigenada con una mezcla de 5% de CO₂ en O₂ antes de su transporte del bioterio al laboratorio.

En el laboratorio, los tejidos fueron colocados en una caja de petri con solución Ringer bicarbonato a temperatura ambiente y previamente oxigenada. Bajo una lupa con luz se limpiaron los restos de tejido adiposo y conjuntivo, adheridos a la arteria.

La aorta se dividió en cuatro anillos de la misma longitud (0.3 cm). Cada anillo se colocó entre dos ganchos especiales de acero inoxidable (figura 10). Los cuales tienen en cada uno de sus extremos un hilo de aproximadamente 5 cm de largo.

Los ganchos con los anillos aorticos fueron montados en la cámara de tejidos aislados (5 mL de volumen), atando el hilo del gancho más corto al tapón de la base de la cámara y el más largo al gancho del transductor de tensión FTO3®, procurando que el

tejido no quede ni muy flojo ni muy tenso (figura 11). La tensión final se estableció con un tensor adaptado con un tornillo sin fin y con el sistema de calibración adjunta al transductor. La porción de la aorta quedó inmersa en 5 mL de solución Ringer bicarbonato. Durante todo el experimento los anillos de aorta torácica se mantuvieron a 2 g de tensión, a 37° C de temperatura, con burbujeo constante de una mezcla gaseosa de 5% de CO₂ en oxígeno y un pH de 7.4.

El polígrafo Grass ® modelo 7B se calibró para que el desplazamiento de la pluma de 2 cm, corresponda a 2 g de tensión, de manera que está tensión duro todo el tiempo del experimento. Se eligió esta tensión ya que los anillos de aorta torácica aislada de rata, desarrollan su máxima amplitud contráctil al estímulo de una solución Ringer Krebs con concentración alta de K⁺ (60 mM). Los tejidos se dejaron durante una hora para que se estabilizarán, lavando cada 10 min con solución Ringer bicarbonato fresca precalentada a 37° C.

4.4.2 Prueba de Viabilidad del Tejido

Cuando el tejido se estabilizó, se procedió a su prueba de viabilidad que consistió en estimular varias veces los anillos con la solución Ringer Krebs con alta concentración en potasio (60 mM) hasta obtener dos respuestas semejantes (son semejantes cuando la diferencia en la amplitud de la contracción fue menor del 10 %). El tejido que no cumplió con este requisito se desecho. Después de realizar la prueba de viabilidad se procedió a iniciar el protocolo experimental (Ponce, 1997).

4.4.3 Clasificación de Tratamiento Experimentales y Control

Se establecieron 5 grupos en donde uno fue el control y los cuatro restantes, experimentales. El número de anillos de aorta aislada de rata macho adulto fue de 6 - 8 para cada tratamiento. En los grupos experimentales, el xantorrizol se disolvió en una mezcla de dimetil sulfóxido y etanol (DMSO: Et-OH 2:5), para obtener las concentraciones finales en el baño de 5 mL de 13.76, 45.87, 137.61 y 458.7 µM.

Grupo 1 Control

Se construyeron curvas concentración respuesta a noradrenalina en presencia y en ausencia del vehículo (0.4 %). Después de comprobar la viabilidad de los anillos de aorta torácica aisladas de rata, se incubaron con el vehículo por un período de 15 minutos, posteriormente se adicionó en forma acumulativa la noradrenalina (10^{-8} - 10^{-5} M), para construir la curva concentración respuesta.

Para cada concentración de noradrenalina se dejó pasar el tiempo necesario, durante el cual se registró de manera continua, hasta que la contracción llegó a su límite y se pudo aplicar la siguiente concentración del agonista.

Grupo 2 Experimental

Los anillos de aorta aislados de ratas se incubaron con $13.76 \mu\text{M}$ de xantorizol por un período de 15 minutos y después se construyeron las curvas concentración respuesta a noradrenalina (10^{-8} - 10^{-5} M) en forma acumulativa.

Grupo 3 Experimental

Los anillos de aorta aislados de ratas se incubaron con $45.87 \mu\text{M}$ de xantorizol por un período de 15 minutos y después se construyeron las curvas concentración respuesta a noradrenalina (10^{-8} - 10^{-5} M) en forma acumulativa.

Grupo 4 Experimental

Los anillos de aorta aislados de ratas se incubaron con $137.61 \mu\text{M}$ de xantorizol por un período de 15 minutos y después se construyeron las curvas concentración respuesta a noradrenalina (10^{-8} - 10^{-5} M) en forma acumulativa.

Grupo 5 Experimental

Los anillos de aorta aislados de ratas se incubaron con $458.7 \mu\text{M}$ de xantorizol por un período de 15 minutos y después se construyeron las curvas concentración respuesta a noradrenalina (10^{-8} - 10^{-5} M) en forma acumulativa.

Mediante un sistema de registro isométrico convencional se registró la respuesta contráctil y se midió como la amplitud de la respuesta contráctil expresada en porcentaje (%). Se tomó como 100% la amplitud de la respuesta contráctil inducida por la solución Ringer Krebs con alta concentración en potasio (60 mM). Todas las respuestas contráctiles se expresaron en porcentajes.

4.5 Análisis Estadístico

La concentración efectiva cincuenta (CE_{50}) se determinó mediante el programa de SIGMA PLOT y se expresó en concentración molar, y la respuesta máxima (R_{max}) se expresó en porcentaje. Los resultados se expresan en promedios (\pm) y desviaciones estándar y se analizaron por la prueba de Bonferroni. Se consideró una diferencia significativa cuando $p \leq 0.005$.

V. RESULTADOS

La noradrenalina aumento la actividad contrátil del músculo liso de aorta torácica, en forma dependiente de la concentración, como se muestra en la grafico 1. La preincubación de los tejidos con 0.4% del solvente (DMSO: Et-OH 2:5) por 15 minutos no modificó significativamente la CE_{50} y la R_{max} de la curva concentración respuesta a la NA (grafico1).

Grupo2

La preincubación de los anillos de aorta torácica durante 15 minutos con 13.76 μ M de xantorizol modifico significativamente ($p < 0.001$) la R_{max} de la NA y no modificó significativamente ($p > 0.05$) la CE_{50} . (grafico 2, cuadro3)

Grupo 3

La preincubación de los anillos de aorta torácica durante 15 minutos con 45.87 μ M de xantorizol desplazó la curva de noradrenalina hacia la derecha (grafico 3), modificando significativamente ($p < 0.001$) la R_{max} de la NA y no modificó significativamente ($p > 0.05$) la CE_{50} . (cuadro 3)

Grupo 4

La preincubación de los anillos de aorta torácica durante 15 minutos con 137.61 μ M de xantorizol desplazó la curva de noradrenalina hacia la derecha (grafico 4), modificando en forma significativa tanto la R_{max} ($p < 0.001$) como la CE_{50} ($p < 0.05$) (cuadro 3)

Grupo 5

La preincubación de los anillos de aorta torácica durante 15 minutos con 458.71 μ M de xantorizol desplazó la curva de noradrenalina hacia la derecha (grafico 5), modificando en forma significativa tanto la R_{max} ($p < 0.001$) como la CE_{50} ($p < 0.001$) (cuadro 3)

VI. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Este trabajo muestra que el xantorizol, aislado de la planta medicinal *Iostephane heterophylla* inhibe en forma dependiente de la concentración, la contracción del músculo liso vascular de la aorta torácica aislada de rata macho, inducida por noradrenalina. Debido a que en la literatura no se reportan estudios sobre el mecanismo de acción del xantorizol, el efecto vasorrelajante en la aorta torácica aislada de rata puede explicarse como una acción no específica sobre la contracción inducida por la noradrenalina, así pues dicha acción podría explicarse por un efecto directo sobre el músculo liso vascular o de una acción sobre el endotelio vascular, sin embargo en los experimentos de Ponce en el año 2000, obtuvo de la preincubación de los anillos de aorta torácica con L-NAME, inhibidor de óxido nítrico (ON), que el xantorizol no induce la liberación del ON del tejido endotelial y que el efecto vasorrelajante es consecuencia de una acción directa inespecífica del xantorizol sobre alguno de los pasos involucrados en el proceso de la contracción, los cuales podrían ser los siguientes:

- a) El xantorizol puede ser una sustancia antagonista de la noradrenalina que se una a receptores α_1 adrenérgicos, ocupándolos y regulando directamente los canales iónicos dependientes de receptores o la producción de segundos mensajeros (IP_3), dando como resultado la disminución de Ca^{2+} intracelular y la unión a la proteína calmodulina y así reduciendo la contracción de la aorta. Las curvas de los grupos experimentales se desplazan hacia abajo de la curva control, lo que nos indica que el compuesto se comporta como una droga con características de antagonista no competitivo (Katzung, 1996)
- b) Estimulando la producción de AMPc (segundo mensajero) al unirse al receptor β_1 adrenérgico. El segundo mensajero activa la proteína cinasa A (PrC-A) la cual estimulará la fosforilación de la cinasa de la cadena ligera de miosina (CLMK), provocando que no pueda darse la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina, y

así el músculo permanecerá relajado cuando se le agregue la NA (Laragh, 1995; Katzung, 1996)

c) Produciendo intracelularmente un segundo mensajero llamado guanosin monofosfato cíclico (GMPc), el cual estimulará una proteína cinasa G, que ayudará a la desfosforilación de la enzima MLC inhibiendo en forma indirecta la contracción (Laragh, 1995; Katzung, 1996).

d) El compuesto entra a la célula y se une a los receptores de membrana del retículo sarcoplasmico inhibiendo de manera directa la salida de Ca^{2+} . (Laragh, 1995)

De los resultados obtenidos se concluye que el xantorizol es un compuesto con propiedades vasorrelajantes, que actúa sobre las células del músculo liso de la aorta torácica aislada de rata y no sobre endotelio vascular. Otros investigadores en la actualidad han estudiado diversas plantas con propiedades relajantes en aorta, como es el caso de Slish en Estados Unidos, que menciona cerca de 31 plantas con efectos relajantes sobre músculo liso vascular, en este trabajo utilizo extractos de plantas medicinales, mecánicamente retiró el endotelio vascular y pudo observar la contracción con el uso de noradrenalina. Por otro lado, en la India Fahim en 1999 estudio en anillos de aorta de ratas albinas cerca de cuatro compuestos de plantas, obteniendo como resultado que dichas sustancias tuvieron efectos vasorrelajantes, sugiriendo que pueden estimular la síntesis del óxido nítrico. Pui-Hay But en China en el año 2000 realizó un trabajo utilizando un extracto metanólico y dos compuestos puros aislados de la planta *Caesalpinia sappan*, en donde se examinó los efectos relajantes en aorta torácica de rata, inhibiendo químicamente la función del endotelio con L-NAME y sugiere que el extracto y los dos compuestos producen óxido nítrico, obteniendo la vasorrelajación. En el cuadro 2 se citan trabajos de compuestos y extractos de diversas plantas medicinales en todo el mundo, que tienen efectos relajantes en aorta torácica de rata.

Como se describió en los antecedentes de este trabajo, los estudios científicos en México acerca de las plantas medicinales han sido muy pocos (1.5% de 7000 especies) (Lozoya, 1993), por lo que este estudio respalda científicamente uno de las atribuciones (antiespasmódicas) que se le dan a la planta *iosstephane heterophylla*.

Con esta investigación se propone, que se realicen más estudios que fundamenten toda aquella medicina popular mexicana utilizada en la salud de los humanos y animales, ya que podríamos perder un gran herramienta para la terapéutica veterinaria y humana

VII. CUADROS, GRAFICOS Y FIGURAS

CUADRO 1.

Fármacos aislados de plantas (Heywood, 1991)(Bruneton, 1991)

Fármaco	Acción	Especie (familia)
Vinblastina (VLB) Vincristina (VCR)	Antitumoral	<i>Catharanthus roseus</i> (Apocynaceae)
Areocolina	Antihelmítico	<i>Areca Catecho</i> (Palmae)
Tubocurarina	Relajante del músculo esquelético	<i>Chondodendron tomentosum</i>
Quinidina	Antiarrítmico	<i>Chichona Nedgenana</i> (Rubiaceae)
Monocrotalina	Antitumoral	<i>Crotalaria Sessiliflora</i> (Leguminosae)
Escopolamina	Sedante	<i>Datura metel</i> (Solanaceae)
Cocaína	Anésteico local	<i>Erythroxylum coca</i>
Rotenona	Pesticida	<i>Lonchocarpus nicou</i> (Leguminosae)
Yohimbina	Antídoto	<i>Pausinystalia yohimbe</i> (Rubiaceae)
Fisostigmina	Inhibidor de la colinesterasa	<i>Physostigma venenosum</i> (Leguminosae)
Pilocarpina	Parasimpáticomemético	<i>Pilocarpus jaborandi</i> (Rutaceae)
Deserpulina	Antihipertensivo	<i>Rauwolfia canescens</i> (apocynaceae)
Piretrinas	insecticida	<i>Chysanthemem cineranaefolium</i>
Digoxina Digitoxina	Cardiotónico	<i>Ruscus aculeatus</i>
Atropina	Antagonista competitivo	<i>Atropo belladonna</i> (Sulianaceas)
Ácido salicílico	Analgésico, antipirético y antiinflamatorio.	<i>Salix alba</i>

CUADRO 2.

Efectos vasorrelajantes de otros compuestos

Extracto Crudo (EC) o Producto Puro (PP)	Agonista	Dosis vasorrelajante	Autores
Enodictyol (PP) <i>Satureja abovata</i>	Noradrenalina KCl	<ul style="list-style-type: none"> Noradrenalina CI_{50} de $6.11 \pm 0.3 \times 10^{-5}$ KCl CI_{50} de $2.96 \pm 0.1 \times 10^{-4}$ 	Sánchez de Rojas, VR, y col. 1999.
Lueteolin <i>Gentiana arisanensis</i>	Ca^{2+} K^+ Noradrenalina	<ul style="list-style-type: none"> Para los tres agonistas fue CI_{50} de $156 \mu M$ 	Lin-ChunNam, Kuo y col; 1997
Ocotene (PP) <i>Cassipoua filiformes</i>	Epinefrina	CE_{50} 3 a $10 \mu M$	Chang-Ching Wei y col; 1997
Hidroalcohol (EC) <i>Eugenia uniflora</i>	Noradrenalina	R_{max} 7.02 (4.77 – 10.00) $\mu g/ml$	Wazlawik-E y col; 1997.
Hidroalcohol (EC) <i>Catuama sp</i> <i>Paulina cupana</i> <i>Trichilia cupana</i> <i>Phychu petalum</i> (alcaloide) <i>Trichilia catigua</i> <i>Rhizomes officinals</i> <i>Zingiber officinals</i>	Noradrenalina	CE_{50} de 293 $\mu g/ml$	Calixto-JB y col; 1997.
Naringenin (PP) <i>Satureja abovata</i>	Noradrenalina 10^{-6} KCl 80mM	<ul style="list-style-type: none"> Para noradrenalina CI_{50} de $1.93 \pm 0.3 \times 10^{-6}$ Para KCl IC_{50} de $1.67 \pm 0.2 \times 10^{-4}$ 	Sánchez de Rojas, VR y col; 1996.
Roemerine Anonaine Dehydroroemerine Prazodina Nifedipina Diltazem <i>Annona cherimoli</i>	Noradrenalina	CI_{50} $5.8 \pm 0.7 \times 10^{-6} M$ CI_{50} $1.1 \pm 0.1 \times 10^{-5} M$ CI_{50} $2.3 \pm 0.1 \times 10^{-5} M$ CI_{50} $5.1 \pm 0.4 \times 10^{-10} M$ CI_{50} $4.6 \pm 1.8 \times 10^{-8} M$ CI_{50} $6.2 \pm 2.0 \times 10^{-6} M$	Chula-S y col; 1995.

CUADRO 2.

Efectos vasorrelajantes de otros compuestos (continuación)

Extractos acuosos <i>Chiranthodendron petadactylon</i> <i>Galphimia glauca</i> <i>Ipomoea</i> <i>Junglas regia</i> <i>Toxodum mucronatum</i>	Noradrenalina	R_{max} 0.5 - 2mg/ml	Perusquia-M y col. 1995
Barbenne (PP) <i>Captis pp</i>	Noradrenalina	R_{max} 1×10^{-6} M	Wong-KK; 1998
Centaurein y centaureiam (Flavonoides PP) <i>Centaurea corcuboriensis</i>	Noradrenalina Potasio	<ul style="list-style-type: none"> • Para Noradrenalina Cl_{50} de $16.7 \pm 1.9 \mu\text{M}$ • Para KCl Cl_{50} de $1.61 \pm 3.1 \mu\text{M}$ 	Orallo-F y col. 1998
Vismadine <i>Ammi visnaga</i>	KCl	R_{max} 1×10^{-5} M	Duarte-J y col. 1997
Hegenamine <i>Aconitum japonicom</i>	Noradrenalina	R_{max} 1×10^{-5} M	Wong-KaiKong y col; 1997
Bibenzylisoquinolines (alcaloides) Aromolina Cepharanthine Berbamine Isotetrandine N-methylcodanone papavennine <i>Stephania cepharantha</i>	Potasio	Cl_{50} 0.8 μM Cl_{50} 1.5 μM Cl_{50} 2.4 μM Cl_{50} 3.0 μM Cl_{50} 33 μM Cl_{50} 720 μM (respectivamente)	Kamiya-T y col. 1993.
Glaucine (alcaloide) <i>Platycapnus spicata</i>	Noradrenalina Potasio	<ul style="list-style-type: none"> • Para Noradrenalina Cl_{50} de $160 \pm 16 \mu\text{M}$ • Para Potasio Cl_{50} de $90 \pm 14 \mu\text{M}$ 	Loza-I y col; 1993.
Tetrandrine y dibenzylisoquinoline (alcaloides) <i>Stephania tetrandra</i>	Noradrenalina KCl	Cl_{50} 10^{-5} M	Wong-KK; 1998.

(en donde Cl_{50} concentración inhibidora cincuenta; CE concentración efectiva; R_{max} respuesta máxima)

CUADRO 3.

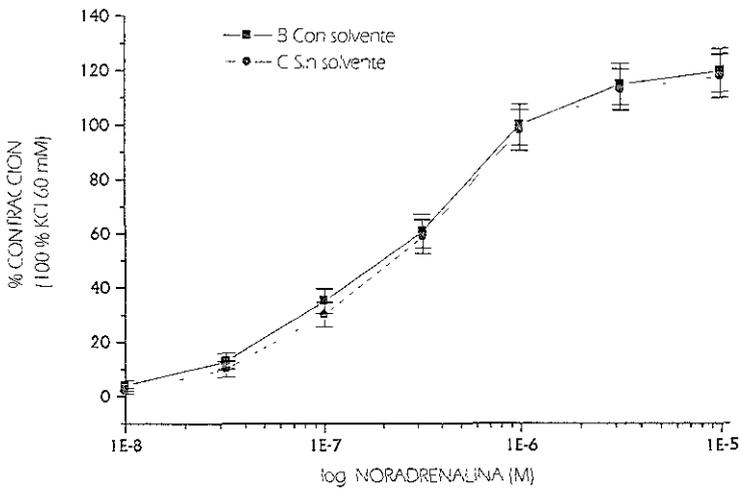
Promedio de las concentraciones efectivas cincuenta (CE_{50}) y de la respuesta máxima (R_{max}) en cada uno de los grupos

TRATAMIENTO	CE_{50} [μ M]	R_{max} [%]
I CONTROL (noradrenalina) n = 8	0.26 ± 0.02	117.19 ± 1.27
II. EXPERIMENTAL (13.76 μ M de xantorrizol) n= 8	0.27 ± 0.69 NS	$98.75 \pm 0.84^{**}$
III. EXPERIMENTAL (45.87 μ M de xantorrizol) n= 8	0.63 ± 0.91 NS	$84.80 \pm 2.2^{**}$
IV. EXPERIMENTAL (137.61 μ M de xantorrizol) n= 8	$1.20 \pm 0.72^*$	$61.85 \pm 6.57^{**}$
V. EXPERIMENTAL (458.7 μ M de xantorrizol) n= 6	$2.20 \pm 0.43^{**}$	$37.39 \pm 6.81^{**}$

Los valores representan el promedio (\pm) desviación estándar, n= número de anillos de aorta torácica aislada de rata macho adulta. Los resultados se analizaron por la prueba de Bonferroni, * $p \leq 0.05$ ** $p \leq 0.001$; NS= no significativo.

GRAFICO 1.

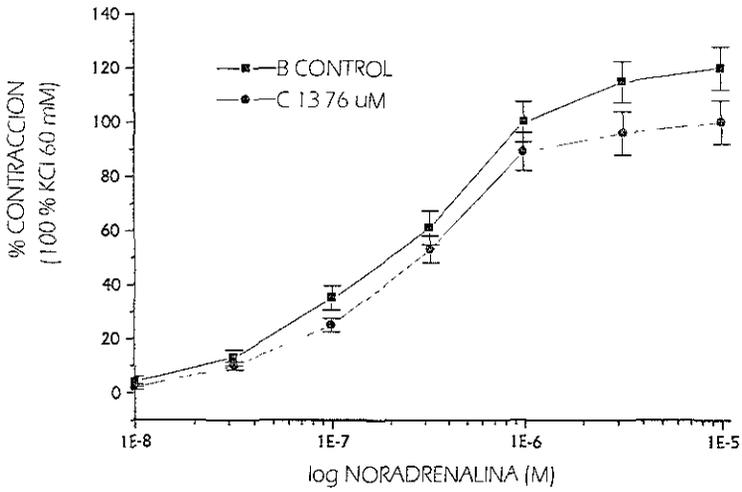
Curva concentración-respuesta a noradrenalina de anillos de aorta aisladas de rata en presencia y ausencia del solvente (DMSO: Et-OH 2:5)



Después de la adición del solvente no se observó una diferencia de las curvas al agregarle las concentraciones crecientes de noradrenalina

GRAFICO 2.

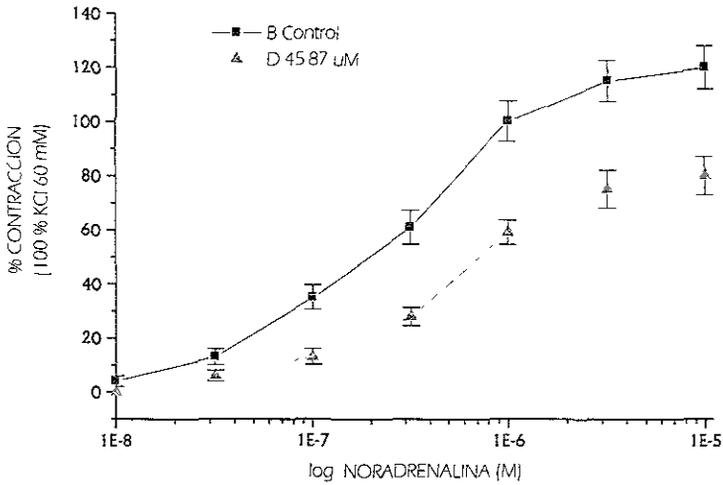
Curva concentración-respuesta a noradrenalina de anillos de aorta aisladas de rata en presencia de 13.76 μM de xantorizol



Después de la preincubación con una concentración baja de 13.76 μM de xantorizol, (curva C), la curvas se desplazó hacia la derecha al agregarle concentraciones crecientes de noradrenalina

GRAFICO 3.

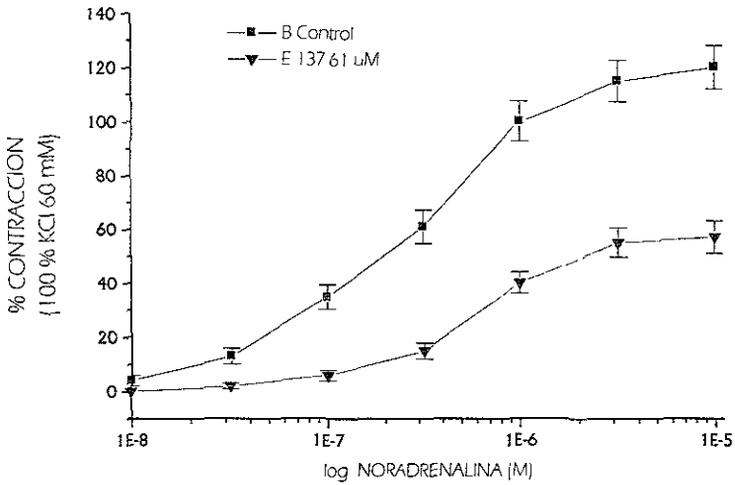
Curva concentración-respuesta a noradrenalina de anillos de aorta aisladas de rata en presencia de 45.87 μM de xantorrizol



Después de la preincubación con una concentración baja de 45.87 μM de xantorrizol, (curva D), la curva se desplazó hacia la derecha al agregarle concentraciones crecientes de noradrenalina

GRAFICO 4.

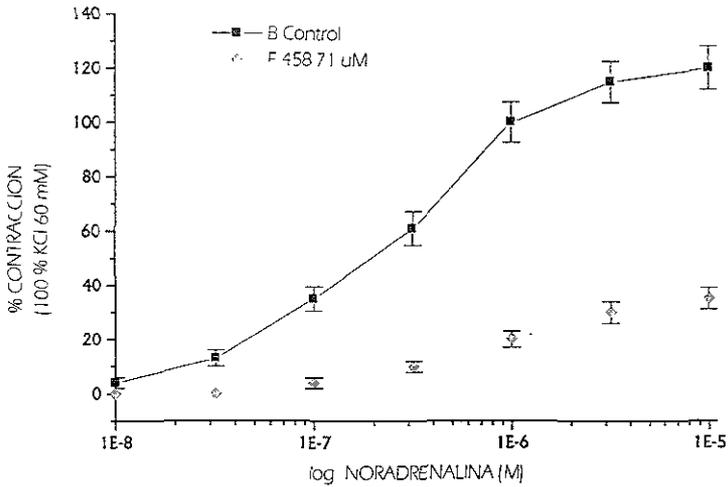
Curva concentración-respuesta a noradrenalina de anillos de aorta aisladas de rata en presencia de 137.61 μM de xantorrizol



Después de la preincubación con una concentración alta de 137.6 μM de xantorrizol, (curva E), la curvas se desplazó la derecha al agregarle concentraciones crecientes de noradrenalina

GRAFICO 5.

Curva concentración-respuesta a noradrenalina de anillos de aorta aisladas de rata en presencia de $458.71 \mu\text{M}$ de xantorizol



Después de la preincubación con una concentración muy alta de $458.71 \mu\text{M}$ de xantorizol, (curva F), la curvas se desplazó la derecha al agregarle concentraciones crecientes de noradrenalina

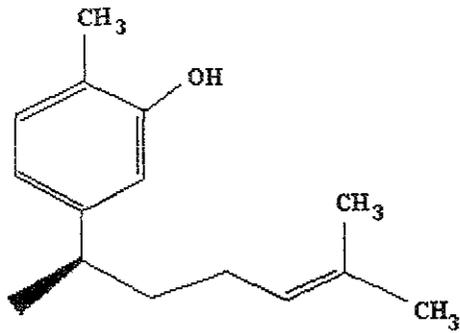


FIGURA 1.

Estructura química del xantorrizol

(Modificado de. Aguilar M Y and Delgado G: Novel bisabolene glycoside and other constituents from roots of medicinal *Iostephane Heterophylla*, 1996)

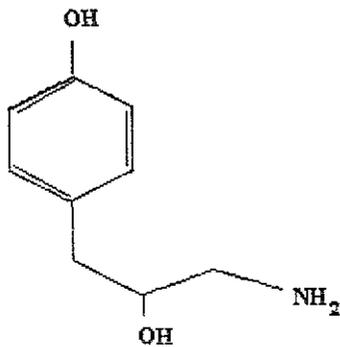


FIGURA 2.

Estructura química de la noradrenalina

(Modificado de Guyton G A Tratado de Fisiología Médica, 1997)

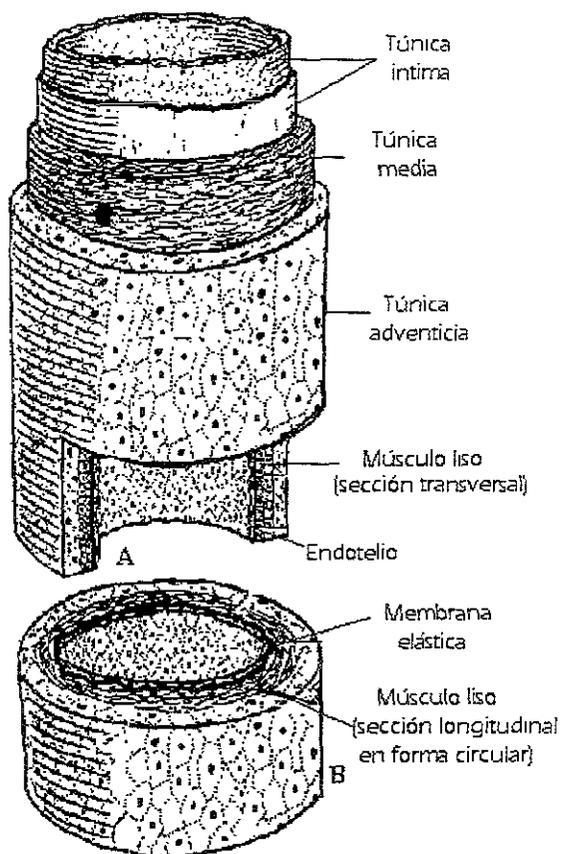


FIGURA 3.
Organización mural de la arteria. Sección longitudinal (A) y sección transversal (B)

(Modificado de Banks J W Histología Veterinaria, 1996).

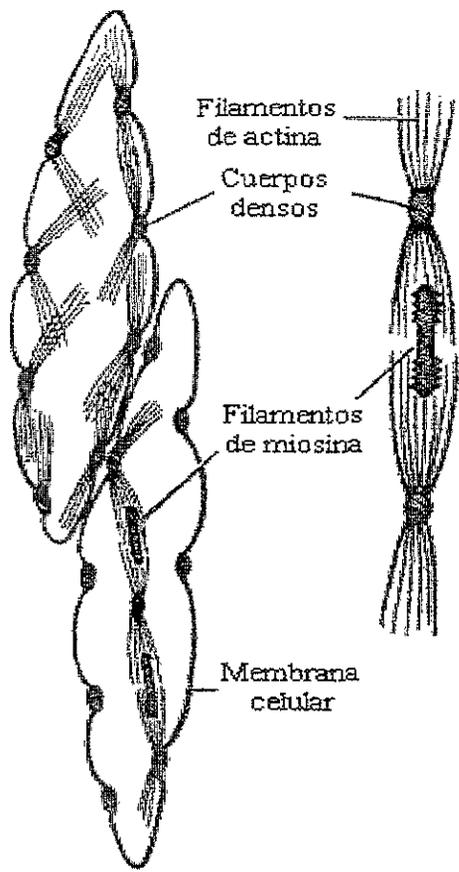


FIGURA 4.

Estructura física del músculo liso. La fibra superior izquierda muestra la irradiación de filamentos de actina desde los cuerpos densos. La fibra inferior derecha muestra la relación entre los filamentos de actina y miosina.

(Modificado de: Guyton G.A. Tratado de Fisiología Médica, 1997)

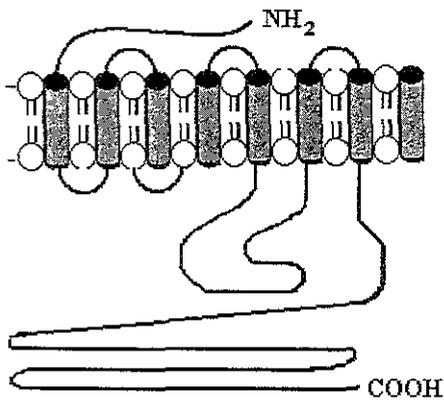


FIGURA 5.
Esquematación de un receptor α_1 adrenérgico.

(Modificado de Goodman y Gilman: Las Bases Farmacológicas de la terapéutica, 1996)

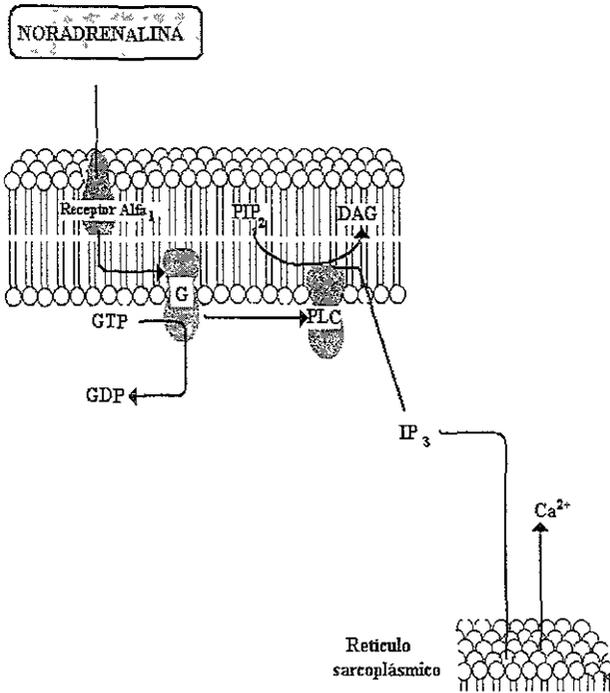


FIGURA 6.

Estimulación de segundos mensajeros por efecto de receptores α_1 adrenérgicos.. Donde G proteína G; PLC fosfolipasa C; IP₃ 1,4,5 trifosfato de inositol; PIP₂ 4,5 bifosfato de fosfatidilinositol; DAG diacilglicerol; GTP guanosin trifosfato; GDP guanosin difosfato

(Modificado de randall D and Warren B. Animal Physiology, 1997)

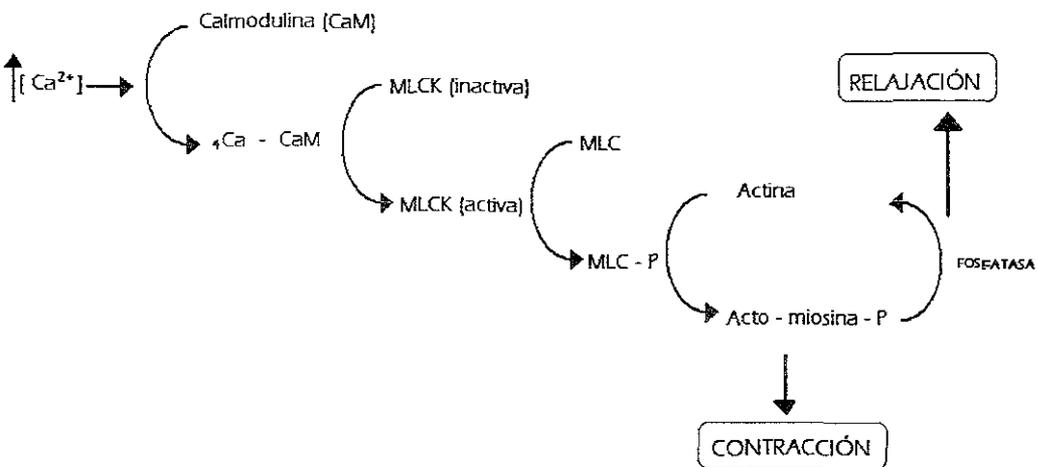


FIGURA 7.
Ciclo de la contracción-relajación.

(Modificado de Lzragh J H and Brenner B M. Hypertensión: Pathophysiology, Diagnosis and management, 1995)

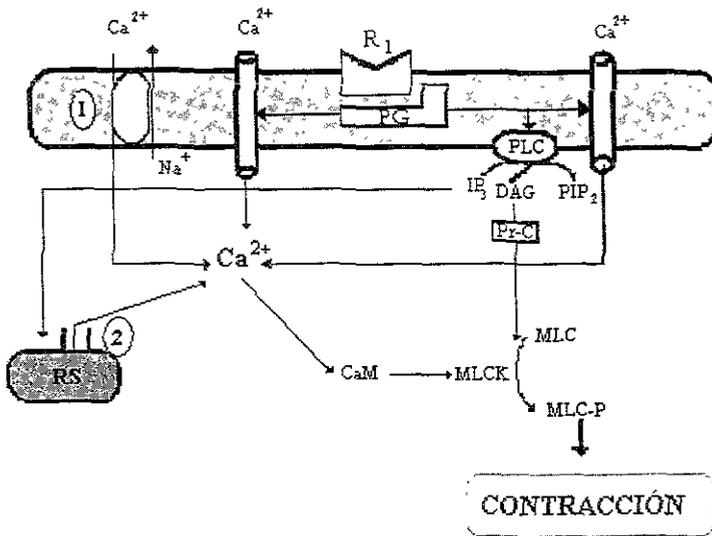


FIGURA 8.

Mecanismos celulares para el aumento de Ca^{2+} intracelular. Donde R_1 , es receptor ooplado a PG, proteína G; PLC fosfolipasa C; IP_3 1,4,5 trifosfato de inositol; PIP_2 4,5 bifosfato de fosfatidilinositol; DAG diacilglicerol; Pc-C la proteínasa C; RS Reticulo sarcoplásmico; CaM complejo calcio-calmodulina, MLCK cinasa de la cadena ligera, de miosina; MLC cadena ligera de miosina; MLC cadena ligera de miosina; ① Intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ y ② IP_3 opera canales de Ca^{2+} en el reticulo sarcoplásmico.

(Modificado de Laragh J H and Brenner B M Hypertensión Pathophysiology, Diagnosis and management, 1995)

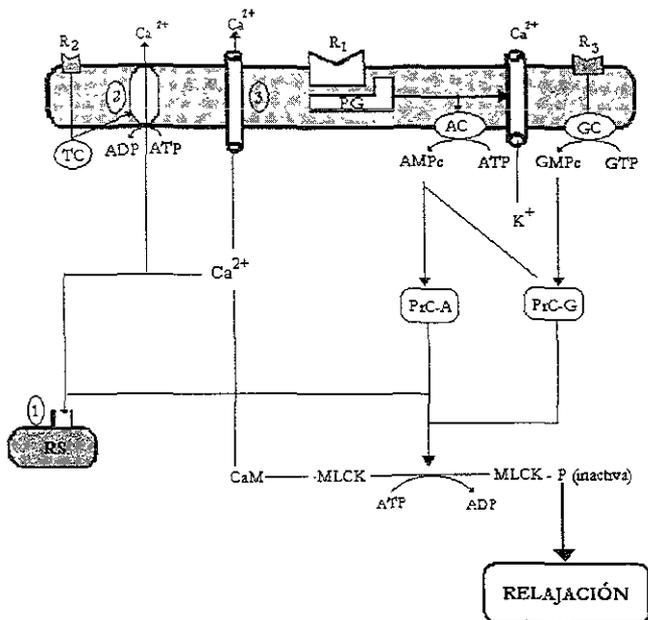


FIGURA 9.

Mecanismos celulares para la inhibición de la contracción. Donde R₁, es receptor ocoplado a PGs proteína G; AC adenilciclasa; R₂ receptores acoplados a TC tirocincinasa, R₃ receptores acoplados a GC guanilciclasa; PrC-A proteína cinasa A; PrC-G proteína cinasa G; EM Potencial eléctrico de membrana RS Reticulo sarcoplasmico; CaM complejo calcio-calmodulina, MLCK cinasa de la cadena ligera, de miosina; MLC cadena ligera de miosina; MLC cadena ligera de miosina; ①Bomba de Ca²⁺ del RS y ② Bomba de Ca²⁺ en la membrana plasmática

(Modificado de: Laragh J H and Brenner B M. Hypertensión: Pathophysiology, Diagnosis and management, 1995)

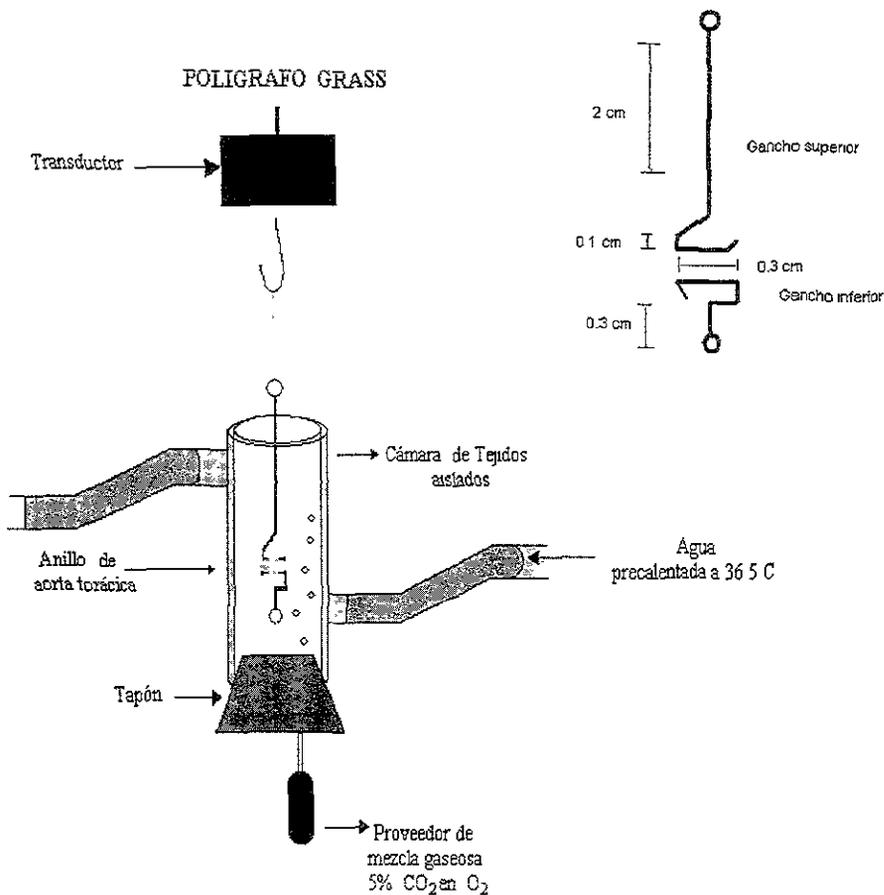


FIGURA 10.

Esquema de un anillo de aorta torácica aislada de rata macho, montado sobre 2dos ganchos de acero inoxidable dentro de la cámara de tejidos aislados.

(Modificado de Ponce M.H y Villanueva T. Centro Médico "Siglo XXI", 1999)

VIII. LISTA ABREVIATURAS

AC	Adenilcicasa
ACE	Acetilcolinesterasa
AEM	Acoplamiento electromecánico
AFM	Acoplamiento farmacomecánico
AMPc	Adenosín monofosfato ciclico
ATP	Adenosín trifosfato
CaM	Calmodulina
CE ₅₀	Concentración efectiva cincuenta del fármaco que produce la mitad del efecto máximo.
GMPC	Guanil monofosfato ciclico
CI ₅₀	Concentración inhibitoria cincuenta
DAG	Diacilglicerol
DE ₅₀	Dosis efectiva media
DL ₅₀	Dosis Letal cincuenta
Em	Potencial eléctrico de membrana plasmática
E _{max}	Efecto farmacológico máximo
GMPC	Guanosín monofosfato ciclico
IP ₃	Inositol 1,4,5-trifosfato
log	Logaritmo común
MAO	Monoaminoxidasa
MLCK	Cinasa de la cadena ligera de miosina
MLC	Cadena ligera de miosina
NA	Noradrenalina
ON	Oxido nítrico
pD ₂	Logaritmo negativo de CE ₅₀
PIP ₂	4,5 difosfato de fosfatidilinositol
PLC	Fosfolipasa C
PM	Peso molecular
PrC-A	Proteína cinasa A
PrC-C	Proteína cinasa C
PrC-G	Proteína cinasa G
R _{max}	Respuesta farmacológica máxima

IX. REFERENCIAS

1. Aguilar MI and Delgado G. Novel bisabolene glicoside and other constituents from roots of the medicant plant *losthephane heterophylla*. Natural prod. Lett. 1995:7, 155-162.
2. Aguilar MI; Delgado G; Byes R; Linares E. Bisabolenos, polycyclic diterpenoids and other constitutens from the roots of *losthephane heterophylla*. Phytochemistry. 1993, 33:5, 1161-1163
3. Aluja S. Aline Reglamento para el cuidado de los animales en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México 1988
4. Andrew P. Somlyo & Avril V. Somlyo. Signal transduction and regulation in smooth muscle. Nature 1994 372;231-236.
5. Banks J. W Histología en veterinaria aplicada. México: Ed Manual Moderno. 1996.
6. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. España: Ed Acribia. 1991.
7. Bye, R. Medical plants of the Tarahumara indians of Chihuahua. A multidisciplinary study (Tyson R. A. And Elerick, D.V., eds), San Diego Museum Paper, no.19. San Diego, CA. 1985 p. 77.
8. Bye, R. Medical plants of the Sierra Madre: Comparative study of tarahumara and mexican market plants .Econ Botany 1986.40 p103.
9. Calixto-JB; Cabrini-DA. Herbal medicine Catuama induces endothelium-dependent and -independent vasorelaxant action on isolated vessels from rats, guinea-pigs and rabbits. Phytotherapy-Research. 1997, 11: 1, 32-38.
10. Caster ME. and Miller JD. Uterine function molecular and cellular aspects. Editorial Plenum press. 1990.
11. Chang-CW; Ko-FN; Su-MJ; Wu-YC; Teng-CM; Chang-CW; Ko-FN; Su-MJ; Wu-YC; Teng-CM. Pharmacological evaluation of ocoteine, isolated from *Cassythia filiformis*, as an alpha1-adrenoceptor antagonist in rat thoracic aorta. Japanese-Journal-of-Pharmacology. 1997, 73: 3, 207-214,
12. Chulia-S; Ivorra-MD; Cave-A; Cortes-D; Nooguera-MA; D'-Ocon-MP Relaxant activity of three aporphine alkaloids from *Annona cherimolia* on isolated aorta of rat. Journal-of-Pharmacy-and-Pharmacology. 1995, 47: 8, 647-650.

13. Darnell J, Harvey L. Biología celular y molecular. 2nd España: Omega 1993
14. Duarte-J, Vallejo-I; Perez-Vizcaino-F; Jimenez-R; Zarzuelo-A; Tamargo-J. Effects of visnadine on rat isolated vascular smooth muscles. *Planta-Medica*. 1997, 63: 3, 233-236.
15. Domínguez AJ. Investigación fitoquímica. México. Limusa 1985.
16. Fahim M., M. Zahid- A, M.S.Y Khan;Hakeem -AH; Hussain ME. Endothelium modulated vasorelaxant response of a polypharmaceutical herbal drug (lipotab) and its individual constituents. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999, 66, 97-102
17. Fernández Tres Guerras JA. Fisiología humana. Editorial Interamericana. España 1992.
18. Ganog FW. Fisiología médica. 9nd México: Ed Manual Moderno, 1997.
19. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. México 1981
20. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. México . 9nd n. México: McGrawHill 1996
21. Guyton AC. Tratado de fisiología. 9nd México. Ed McGrawHill 1997.
22. Heywood V and Hugh S. Conservation of medicinal plants. Cambridge Ed Olayiwola 1991
23. Hiroshi O, Karaki Hiedeaki. Different Ca²⁺ sensitivity in phasic and tonic types of smooth muscles. *Biol signals* 1993;2;253-262.
24. INI.. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana . Tomo11-1ª. Ed. Mex. 1994
25. John BW. Bases fisiológicas de la práctica médica. 12ª edición. Ed Panamericana. Argentina 1993
26. Junqueira LC. Histología básica. 3rd ed. España: Salvat 1990
27. Katzung Bertran G. Farmacología básica y clínica. 6nd edición
28. Kamiya-T, Sugimoto-Y, Yamada-Y. Vasodilator effects of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania cepharantha*. *Planta-Medica*. 1993, 59: 5, 475-476.
29. Laragh J.H; brenner, B.M. Hypertension: pathophysiology and management. Second edition NewYork Ed Raven Press 1995.
30. Lin-ChunNan; Kuo-ShihHsein, Chung-Meiling; Ko-FengNien; Teng-CheMing; Lin-CN; Kuo-SH, Chung-MI, Ko-FN; Teng-CM. A new flavone C-glycoside and antiplatelet and

- vasorelaxing flavones from *Gentiana arisanensis*. *Journal-of-Natural-Products*. 1997, 60: 8, 851-853.
31. Loza-I; Orallo-F; Verde-I; Gil-Longo-J; Cadavid-I; Calleja-JM. A study of glaucine-induced relaxation of rat aorta. *Planta-Medica*. 1993, 59: 3, 229-231.
32. Lozoya . La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. México: Secretaria de Salud 1993.
- 33 Orallo-F; Lamela-M; Camina-M; Uriarte-E; Calleja-JM. Preliminary study of the potential vasodilator effects on rat aorta of centaurein and centaureidin, two flavonoids from *Centaurea corcubionensis*. *Planta-Medica*. 1998, 64. 2, 116-119.
- 34 Perusquia-M; Mendoza-S; Bye-R; Linares-E; Mata-R. Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *Journal-of-Ethnopharmacology*. 1995, 46: 1, 63-69.
35. Ponce MH. Efecto no-genómico de hormonas y antihormonas esteroides sobre el acoplamiento excitación-concentración del útero aislado de rata. (tesis de doctorado). México CINVESTAV-UAT, México, 1997.
36. Ponce MH, Campos GM; Oropeza MV; Villanueva T; Aguilar MI; Delgado G. Xanthorrhizol induces endothelium-independent relaxation of rat thoracic aorta. *Life Sciences* 2000 67:327-333
- 37 Pui-Hay BP; Yi-Wu X, Dong Sheng M; Hong-Xi X; Hui Dong. Vasorelaxing effects of *Caesalpinia sappan* Involvement of endogenous nitric oxide.
- 38 Randall David, warren burgren. *Animal physiology*. 4nd ed. USA: Russel Fernald 1997.
- 39 Sanchez-de-Rojas-VR; Somoza-B; Ortega-T; Villar-AM. Different mechanisms involved in the vasorelaxant effect of flavonoids isolated from *Satureja obovata*. *Planta-Medica*. 1996, 62: 6, 554-556.
40. Sanchez-de-Rojas-VR, Somoza-B; Ortega-T; Villar-AM; Tejerina-T. Vasodilatory effect in rat aorta of eriodictyol obtained from *Satureja obovata*. *Planta-Medica*. 1999, 65: 3, 234-238.
41. Sumano LH, Ocampo CL. *Farmacología veterinaria*. 2nd ed. México: McGraw-Hill, 1997.
42. Sligh F Donald, Usuda H; Arvigo R; Balick MJ. Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology* 199; 66, 159-165.
43. Smith CM. *Farmacología*. Buenos Aires: Panamericana 1993.

44. Wazlawik-E; Silva-MA-da; Peters-RR; Correia-JFG; Farias-MR; Calixto-JB; Ribeiro-do-Valle-RM; Da-Silva-MA. Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta. *Journal-of-Pharmacy-and-Pharmacology*. 1997, 49: 4, 433-437.
45. Wong-KaiKong; Lo-ChiFang; Chen-ChiMing; Wong-KK; Lo-CF; Chen-CM. Endothelium-dependent higenamine-induced aortic relaxation in isolated rat aorta. *Planta-Medica*. 1997, 63: 2, 130-132.
46. Wong-KK. Differential effect of tetrandrine on aortic relaxation and chronotropic activity in rat isolated aorta and atria. *Planta-Medica*. 1998, 64: 7, 663-665.
47. Wong-KK. Mechanism of the aortic relaxation induced by low concentrations of berberine. *Planta-Medica* 1998, 64: 8, 756-757.