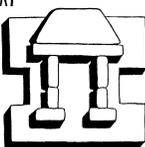




UNAM

IZTACALA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE  
*Casimiroa edulis* La Llave et Lex EN UN MODELO DE  
HIPERTENSIÓN AGUDA Y CRÓNICA”

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

ROCIO GENOVEVA NAVARRETE BASTIDA

ASESORA: Dra. BEATRIZ VÁZQUEZ CRUZ



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, 2004



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.

## MIEMBROS DEL JURADO

<b>PRESIDENTE</b>	<b>Dr. GUSTAVO VALENCIA DEL TORO</b>
<b>VOCAL</b>	<b>Dra. BEATRIZ VAZQUEZ CRUZ</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>M en C. CLAUDIA TZASNA HERNÁNDEZ DELGADO</b>
<b>SUPLENTE</b>	<b>M en C. DAVID SEGURA COBOS</b>
<b>SUPLENTE</b>	<b>Biol. EDITH LOPEZ VILLAFRANCO</b>

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Dra. Beatriz Vázquez Cruz por el papel que jugó en mi formación, por su amistad y apoyo en la realización de este trabajo.**

**A el M. en C. David Segura Cobos por su apoyo en el laboratorio, por su amistad y cooperación en la realización de este trabajo.**

**A el Dr. Gustavo Valencia del Toro por su cooperación en la revisión de este trabajo, su amistad y sus observaciones realizadas en la presente tesis.**

**A la Dra. Claudia Tzasna Hernández Delgado por su cooperación y observaciones realizadas en la presente tesis.**

**A la Biol. Edith López Villafranco por su cooperación y observaciones realizadas en la presente tesis.**

**A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Farmacología Isis Trujillo González e Hipólito Venegas Flores, por su apoyo y amistad en la realización de este trabajo.**

## **DEDICATORIA**

**A la memoria de mi padre Rutilo Navarrete Bautista que con su ejemplo me enseñó que con dedicación y amor puedes alcanzar tus sueños.**

**A mi madre Ángela Bastida Rodríguez y mis hermanos María Guadalupe, Anaismi Mirella, Marco Antonio y Lizbeth por su amor y amistad incondicional, y su apoyo durante estos cuatro años, por estar conmigo en las buenas y en las malas e impulsarme a seguir adelante.**

**A mis grandes y más cercanas amigas Delfa y Viviana, por tantos momentos compartidos, por su amistad y por nunca dejar que los problemas me entristecieran, por levantarme el ánimo y su eterna compañía. ¿Quién diría que nos volveríamos las mejores amigas en ese 14 de febrero de 2000? Gracias Chicas.**

**A mi familia materna y paterna por estar al pendiente de mis necesidades y por velar por nosotros constantemente.**

## ÍNDICE

Índice de figuras.....	IV
Índice de tablas.....	V
Lista de abreviaturas.....	VI
Resumen.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Mecanismos de regulación del tono vascular y la presión arterial.....	2
1.1.1 Regulación nerviosa.....	3
1.1.2 Regulación humoral.....	6
1.2 Hipertensión.....	13
1.2.1 Clasificación de la hipertensión (HTA).....	13
1.2.2 Aspectos generales de la hipertensión.....	16
1.3 Medicina tradicional.....	17
2. ANTECEDENTES .	
2.1 Botánicos.....	19
2.2 Etnobotánicos.....	23
2.3 Químicos.....	24
2.4 Farmacológicos.....	25
3. OBJETIVOS.....	27
4. MATERIAL Y MÉTODOS	
4.1 Material biológico.....	28
4.2 Material vegetal.....	28
4.3 Fármacos.....	30

4.4 Diseño experimental.	
4.4.1 Curva dosis respuesta del extracto acuoso en ratas normotensas.....	31
4.4.2 Curva dosis respuesta a Ang II.....	31
4.4.3 Curva dosis respuesta a Ang II en presencia y ausencia de extracto acuoso.....	31
4.4.4 Curva dosis respuesta a Histamina.....	32
4.4.5 Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de histamina.....	32
4.4.6 Inducción de hipertensión con L-NAME.....	32
4.4.7 Análisis estadístico.....	33
5. RESULTADOS	
5.1 Preparación del extracto acuoso.....	33
5.2 Registros de presión.....	33
5.3 Curva dosis respuesta con extracto acuosos de <i>C. edulis</i> en ratas normotensas.....	34
5.4 Curva dosis respuesta a Ang II.....	35
5.5 Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de <i>C. edulis</i> 100 mg/kg.....	36
5.6 Curva dosis respuesta a histamina.....	38
5.7 Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de histamina.....	39
5.8 Modelo de hipertensión dependiente de óxido nítrico.....	40
6. DISCUSIÓN	
6.1 Efecto del extracto acuoso de las hojas de <i>Casimiroa edulis</i> sobre la presión arterial sistólica de ratas normotensas.....	42
6.2 Efecto del extracto acuoso de las hojas de <i>Casimiroa edulis</i> sobre la presión arterial sistólica de ratas con hipertensión aguda.....	43

6.3 Efecto de histamina sobre la presión arterial sistólica de ratas normotensas e hipertensas.....	44
6.4 Efecto del extracto acuoso de <i>Casimiroa edulis</i> sobre la HTA dependiente de óxido nítrico.....	45
7. CONCLUSIÓN.....	48
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de <i>C. edulis</i> .....	20
Figura 2. Hojas de <i>C. edulis</i> .....	21
Figura 3. Frutos de <i>C. edulis</i> .....	21
Figura 4. Mapa de la distribución de <i>C. edulis</i> en la República Mexicana.....	22
Figura 5. Mapa de Tlaxcala. Ubicación geográfica de San Cosme Xalostoc.....	29
Figura 6. Obtención del extracto acuoso de <i>C. edulis</i> mediante un sistema de reflujo.....	29
Figura 7. Efecto del extracto acuoso de <i>C. edulis</i> en ratas normotensas, las ratas fueron anestesiadas con 45 mg/kg de pentobarbital sódico y se administraron dosis crecientes del extracto (10 a 100 mg/kg), el efecto se evaluó como incremento de la PAS en mmHg. Cada punto de la curva dosis respuesta representa la media $\pm$ EEM; n=6.....	34
Figura 8. Efecto de Ang II sobre la presión arterial sistólica (PAS) de ratas anestesiadas con pentobarbital sódico (45 mg/kg). Los resultados se muestran como la media $\pm$ EEM; n=4.....	35
Figura 9. Efecto del extracto acuoso de <i>C. edulis</i> (100 mg/kg) sobre la curva dosis respuesta a Ang II en la PAS de ratas anestesiadas. ( ) Curva dosis respuesta a Ang II. (o) Curva dosis respuesta a Ang II en presencia del extracto acuosos de <i>C. edulis</i> . Los resultados se muestran como la media $\pm$ EEM para una *p 0.05; n=4.....	36
Figura 10. Efecto del extracto acuoso de <i>C. edulis</i> (100 mg/kg d.u) sobre la	

curva a Ang II (25-250 ng/kg) en la PAS de ratas anestesiadas. ( )	
Curva dosis respuesta a Ang II. (o) Curva dosis respuesta a Ang II en presencia del extracto acuoso de <i>C. edulis</i> . Los resultados se muestran como la media $\pm$ EEM para una *p 0.05; n=4.....	37
Figura 11. Efecto de la histamina sobre la PAS de ratas anestesiadas con pentobarbital sódico (45 mg/kg). Se administraron dosis crecientes a histamina (10 a 100 $\mu$ g/kg). Cada punto de la curva dosis respuesta representa la media $\pm$ EEM; n=5.....	38
Figura 12. Efecto de histamina (100 $\mu$ g/kg) sobre la curva dosis respuesta a Ang II en la presión arterial sistólica. ( ) Curva dosis respuesta a Ang II. (o) Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de histamina. Los resultados se muestran con la media $\pm$ EEM; n=6.....	39
Figura 13. Efecto sobre la PAS de los animales que recibieron L-NAME, vehículo (control) y L-NAME + enalapril (5mg/kg). Cada barra representa la media $\pm$ EEM; *p 0.05; n=5. ....	40
Figura 14. Efecto del extracto acuoso de las hojas de <i>C. edulis</i> (95, 285 y 570 mg/kg) sobre la PAS de animales tratados con L-NAME y animales con L-NAME+enalapril (5 mg/kg). Cada barra representa la media $\pm$ EEM para una *p 0.05;n=5.....	41

### INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la presión e hipertensión arterial.....	13
---	----

## 1. INTRODUCCIÓN

La presión arterial (P) es el producto del gasto cardiaco (GC) por la resistencia vascular periférica (RVP) (Tresguerres, 1999). El gasto cardiaco está determinado por varios factores, entre ellos están: las propiedades contráctiles del corazón, la frecuencia y el ritmo cardiaco, la precarga, la actividad del sistema nervioso autónomo y la integridad funcional de las válvulas cardiacas, a su vez, la precarga está determinada por el volumen intravascular, el tono y la capacidad venosa. La resistencia vascular involucra la longitud del segmento arterial y tiene una relación inversa con la cuarta potencia del radio de la luz del vaso (Crawford, 2002). Por lo que la presión arterial está dada por:

$$P = GC \times RPT$$

P = Presión arterial

GC = Gasto cardiaco

RVP = Resistencia periférica total

La ecuación anterior es muy importante en fisiología cardiovascular, ya que indica que cualquier variación de la presión arterial debe ocurrir como consecuencia de cambios de GC y/o RPT (Tresguerres, 1999).

En el sistema circulatorio existe una presión máxima o sistólica (PAS), que corresponde a la fuerza ejercida por la sangre contra la pared vascular cuando es impulsada por el corazón durante la sístole, y una presión diastólica o mínima (PAD) que corresponde con la fuerza ejercida por la sangre contra la pared de los vasos durante la diástole ventricular o estado de relajación del corazón (Guillén del Castillo y Linares, 2002).

La presión sanguínea se mide en milímetros de mercurio (mmHg) y sus valores varían con la edad. Así, en un adulto joven estos valores considerados normales son de <120 mmHg para PAS y <80 mmHg para la PAD (Guillén del Castillo y Linares, 2002). La presión arterial media (PAM) es una variable cardiovascular muy importante, porque representa la presión promedio con la cual, la sangre llega a todos los tejidos del organismo y se calcula a partir de la siguiente fórmula:  $PAM = PAD + \frac{1}{3}(PAS - PAD)$ , es decir, la PAM es aproximadamente igual a la presión diastólica más un tercio de la diferencia entre las presiones sistólica y diastólica (Tresguerres, 1999).

## **1.1 MECANISMOS DE REGULACIÓN DEL TONO VASCULAR Y LA PRESIÓN ARTERIAL**

La función del corazón y las arterias consiste en bombear y transportar la sangre hacia los tejidos del organismo, pero su distribución hacia las diferentes regiones del organismo es una función que corresponde a las arterias pequeñas y a las arteriolas. La regulación del flujo sanguíneo periférico se encuentra sometido fundamentalmente a un doble control: central, por el sistema nervioso y local, en los tejidos, por las condiciones existentes en las proximidades de los vasos sanguíneos. La importancia relativa de estos mecanismos de control no es la misma en todos los tejidos, en algunas regiones del cuerpo, como la piel y el área visceral predomina la regulación nerviosa del flujo sanguíneo, mientras que en otras, como el corazón y el encéfalo, los factores locales son los más predominantes. Las arterias pequeñas y las arteriolas que regulan el flujo de la sangre en todo el organismo son denominados vasos de resistencia. Estos vasos ofrecen la mayor resistencia al flujo de la sangre hacia los tejidos y de este modo, son importantes en el mantenimiento de la presión arterial. Las fibras musculares lisas

representan el principal componente de las paredes de los vasos de resistencia. Por lo tanto, el músculo liso vascular es responsable del control de las resistencias periféricas totales y del tono venoso y arterial (Berne y Levy, 2001).

### **1.1.1 REGULACIÓN NERVIOSA DE LA PRESIÓN ARTERIAL**

#### **SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO**

##### **A) Sistema nervioso simpático**

La mayoría de los vasos sanguíneos reciben inervación del sistema nervioso simpático (SNS). Las fibras postganglionares liberan noradrenalina que se une a receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos de las fibras musculares lisas y provoca contracción del músculo liso vascular y, por unión con los receptores  $\alpha_1$ , aumenta la fuerza de contracción y la frecuencia cardiaca, lo que aumenta el GC, por lo tanto, la estimulación simpática aumenta la presión arterial por incremento de la resistencia periférica y del GC. La disminución del tono simpático produce vasodilatación. El tono vasoconstrictor simpático es el resultado de la activación continua de neuronas adrenérgicas, del bulbo ventrolateral rostral (Kandel et al., 2001)

##### **B) Sistema nervioso parasimpático**

El efecto de la estimulación del parasimpático sobre la resistencia periférica es menor, aunque existen algunas respuestas vasodilatadoras, como el sonrojo. En la vasodilatación parasimpática pueden intervenir mensajeros químicos no convencionales como el óxido nítrico (Kandel et al., 2001). La acetilcolina liberada por la fibra postganglionar parasimpática se une a receptores muscarínicos de las células del nodo seno auricular (NSA) y del nodo aurículo ventricular (NAV), y de las del tejido de conducción, provocando disminución de la frecuencia cardiaca y disminución de la

velocidad de conducción. Algunas fibras parasimpáticas terminan sobre fibras del simpático, inhibiendo la liberación de noradrenalina por parte de éstas y, por tanto, el efecto vasoconstrictor del simpático sobre los vasos sanguíneos. Las fibras parasimpáticas solo inervan directamente a las fibras musculares lisas de los vasos de los genitales externos, produciendo vasodilatación (Gal y et al., 2001).

## **Sistema nervioso central (SNC)**

### **A) Reflejos del sistema cardiovascular**

**REFLEJO BARORRECEPTOR:** Los barorreceptores (o presorreceptores) son receptores de estiramiento situados en los senos carotídeos y en el cayado aórtico (Duane, 2003). Los impulsos que parten del seno carotídeo ascienden por las fibras aferentes del nervio del seno carotídeo, que es una rama del nervio glossofaríngeo. Los impulsos que nacen en los barorreceptores del cayado aórtico alcanzan el bulbo a través de las fibras aferentes de los nervios vagos. Las fibras procedentes de ambos grupos de barorreceptores se dirigen hacia el núcleo del tracto solitario (NTS) en el bulbo raquídeo. El NTS es la zona de proyección central de los quimiorreceptores y los barorreceptores. Su estimulación inhibe los impulsos nerviosos simpáticos hacia los vasos sanguíneos periféricos y produce vasodilatación (efecto depresor), mientras que la destrucción experimental del NTS provoca constricción. Las terminaciones nerviosas barorreceptoras en las paredes del seno carotídeo y del cayado aórtico detectan variaciones en la presión arterial, una elevación de la presión provoca un incremento de la frecuencia de descarga de los barorreceptores, mientras que el descenso genera una reducción de sus descargas (Duane, 2003). Además de los barorreceptores aórticos y del seno carotídeo, también existen receptores cardiopulmonares; ambos tipos de

receptores son necesarios para completar el proceso de la regulación de la presión arterial. Los receptores cardiopulmonares dan inicio a unos reflejos a través de los nervios aferentes y eferentes simpáticos y vagales. Estos reflejos tienen una actividad tónica y pueden modificar las resistencias periféricas como respuesta a los cambios de las presiones intracardiacas, venosas y vasculares pulmonares (Berne y Levy, 2001).

**REFLEJO QUIMIORRECEPTOR:** El reflejo quimiorreceptor mantiene la homeostasis de la composición de gases de la sangre mediante el ajuste de la respiración, el gasto cardiaco y el flujo sanguíneo periférico; la disminución de la presión arterial de  $O_2$  ( $PO_2$ ) y el aumento de la presión de  $CO_2$  ( $PCO_2$ ) detectados por los receptores de los cuerpos carotídeos y aórticos, son transmitidos por las fibras aferentes del glosofaríngeo y el vago que terminan en el núcleo solitario. En el bulbo, la vía refleja para producir efectos cardiovasculares es paralela a la del reflejo barorreceptor. Una disminución de la  $PO_2$  en la sangre activa este reflejo y favorece un aumento de la frecuencia cardiaca y del tono vascular (Duane, 2003).

### 1.1.2 REGULACIÓN HUMORAL

La regulación humoral significa regulación por sustancias secretadas o absorbidas en los líquidos corporales, como hormonas o iones. Algunas de estas sustancias se forman en glándulas especiales y después son transportadas por la sangre a todo el cuerpo. Otras se producen en zonas bien definidas de tejido y causan solo efectos circulatorios locales. Entre los factores humorales más importantes que afectan a la circulación figuran los siguientes:

#### AGENTES VASOCONSTRICTORES

- **Noradrenalina**

La noradrenalina es un neurotransmisor vasoconstrictor de gran potencia. Cuando el sistema nervioso simpático es estimulado en la mayor parte del cuerpo, durante el estrés o el ejercicio, las terminaciones nerviosas simpáticas que inervan a los tejidos liberan noradrenalina que estimula el corazón, las venas y las arteriolas. La síntesis de noradrenalina se inicia en el axoplasma de las terminaciones nerviosas de las fibras adrenérgicas y termina en las vesículas (Guyton, 2001). La noradrenalina actúa sobre el músculo cardíaco estimulando la frecuencia cardíaca y fuerza de contracción. Aumenta la fuerza de contracción actuando sobre los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos que activan el sistema del segundo mensajero monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), que a su vez aumenta la corriente intracelular de  $Ca^{2+}$  en el músculo, provocando vasoconstricción. La activación de los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos disminuye también el umbral de activación de las células marcapasos cardíacas del NSA, aumentando así la frecuencia cardíaca (Kandel et al., 2001).

- **Adrenalina**

La adrenalina es una hormona vasoconstrictora de menor potencia que la noradrenalina, y en algunos casos, incluso induce una discreta vasodilatación, como ocasionalmente ocurre en el corazón, dilatando las arterias coronarias cuando está aumentada la actividad cardiaca (Bermúdez et al., 2000).

La unión de la adrenalina al receptor  $\alpha_1$  provoca la activación de la fosfolipasa C (PLC) mediada por una proteína Gq y la posterior hidrólisis de un fosfolípido de membrana, el fosfatidilinosito 1-4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ ) para formar dos moduladores o segundos mensajeros, el inositol-1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) y el diacilglicerol (DAG). El  $IP_3$  se une a receptores específicos que provocan la salida de  $Ca^{2+}$  del retículo endoplásmico liso, incrementando los niveles de  $Ca^{2+}$  citosólico (Jara, 2001).

- **Angiotensina (sistema renina-angiotensina-aldosterona)**

El sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) es un importante modulador de la presión arterial. La renina que es sintetizada y liberada predominantemente por las células yuxtglomerulares del riñón, cataliza la formación de angiotensina I (Ang I) a partir del angiotensinógeno, una  $\alpha$ -globulina plasmática precursora que actúa como sustrato, posteriormente la Ang I, la cual es un decapeptido, es procesada por la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en el octapeptido angiotensina II (Ang II). Los efectos biológicos principales de este sistema están mediados por Ang II al actuar sobre sus receptores AT1. Estos efectos comprenden la vasoconstricción de los vasos, la estimulación de la síntesis y liberación de aldosterona que estimula la reabsorción tubular renal de sodio (Crawford y DiMarco., 2002). La secreción de renina a partir de las células yuxtglomerulares está controlado de manera predominante por tres vías: i) cambios en la concentración de NaCl, ii) cambios en la presión arterial en los vasos

preglomerulares y iii) estimulación nerviosa simpática de los receptores  $\alpha$  del aparato yuxtaglomerular (Goodman y Gilman, 1996).

La Ang II es un vasoconstrictor extremadamente potente y tiene otros efectos, además de los que afectan a la circulación; persiste en la sangre 1 ó 2 minutos debido a que se inactiva con rapidez por la acción de múltiples enzimas sanguíneas y tisulares denominadas en conjunto angiotensinasas (Guyton, 2001).

Durante su permanencia en la sangre, la Ang II ejerce dos efectos principales que pueden elevar la presión arterial. El primero de ellos: la vasoconstricción que se produce rápidamente. El segundo mecanismo por el cual, Ang II eleva la presión arterial es aumentando la reabsorción de  $\text{Na}^{2+}$  y de agua a nivel renal. De esta forma, aumenta el volumen de líquido plasmático, que eleva la presión arterial a lo largo de un periodo de horas y días. Este efecto a largo plazo, que actúa sobre el mecanismo del volumen de líquido extracelular, es incluso, más potente que el mecanismo vasoconstrictor agudo para terminar de normalizar la presión arterial tras un periodo de hipotensión (Guyton, 2001).

- **Vasopresina (ADH)**

La vasopresina, también llamada hormona antidiurética (ADH), se forma en el hipotálamo, pero es transportada por el centro de los axones nerviosos hasta la glándula hipófisis, de donde se secreta hacia la sangre. La ADH es aún más poderosa que la angiotensina como vasoconstrictor y constituye quizás la sustancia constrictora más potente de todo el cuerpo (Guyton, 1994). La ADH regula pérdidas renales de agua. Su liberación por la neurohipófisis está regulada fundamentalmente por los cambios de osmolaridad y volumen sanguíneos. La ADH actúa uniéndose a sus receptores V2 en la membrana de las células del conducto colector de la nefrona. Tras

la unión, se activa la adenilato-ciclasa, aumenta la producción de AMPc, éste se traslada a la membrana luminal, activa la proteína cinasa A, ésta fosforila las proteínas de membrana, aumentando la permeabilidad de la membrana luminal al agua (Jara, 2001).

- **Endotelina**

Es un péptido de 21 aminoácidos producido por las células endoteliales en respuesta a la estimulación por diversas sustancias, incluyendo trombina, factor B transformador del crecimiento, interleucina 1, epinefrina, Ang II, arginina, vasopresina, ionóforos de calcio y éster forbol (Bermúdez et al., 2000). La superfamilia de las endotelinas (ET) está constituida por tres isoformas (ET-1, ET-2 y ET-3). La célula endotelial puede producir sólo ET-1 (Meaney et al., 1999). La endotelina es un vasoconstrictor endógeno muy potente, se produce por múltiples tipos celulares y con receptores ampliamente expresados. Los receptores de endotelina actúan acoplados a la proteína G, y su activación produce la movilización de las reservas de  $Ca^{2+}$  intracelular y un aumento en la entrada de calcio desde el líquido extracelular provocando vasoconstricción, la respuesta contráctil de inicio, es más lenta que con otros vasoconstrictores. Los efectos de la endotelina son: vasoconstricción sistémica, disminución del flujo renal y filtrado glomerular, aumento de la presión intraglomerular, natriuresis y diuresis total con disminución de la osmolaridad urinaria, y proliferación mesangial (Jara, 2001).

- **Serotonina**

Es un potente vasoconstrictor: los vasos locales se contraen y disminuye el flujo sanguíneo en al área lesionada (Aaronson et al., 2001).

## **AGENTES VASODILATADORES**

- **Óxido nítrico**

El óxido nítrico (NO) se sintetiza en las células endoteliales por acción de la enzima sintasa de óxido nítrico, que es dependiente de calcio y calmodulina, esta enzima utiliza L-arginina, NADPH y oxígeno como cosustratos y FAD, FMN, grupo hemo y tetrahidrobiopterina como cofactores y sus productos son citrulina, ON y agua (Hicks, 2001). El mecanismo fisiológico que estimula la síntesis basal de ON es el flujo sanguíneo pulsátil a lo largo de las células endoteliales y el aumento de la presión arterial (Bermúdez et al., 2000). El ON formado se difunde al músculo liso vascular donde activa a la enzima guanilato ciclasa y aumenta así los niveles de guanidina monofosfato cíclico (GMPc), que produce relajación del tejido muscular. Esta relajación es más intensa en las arterias que en las venas (Hicks, 2001). El mecanismo por el cual el GMPc disminuye el tono vascular es mediante la activación de la cinasa de la cadena ligera de miosina, la cual, al ser fosforilada, disminuye la afinidad de esta proteína por el adenosina trifosfato (ATP), lo cual induce una disminución de la contracción del músculo liso vascular. La actividad del ON es mayor en las arterias de mayor diámetro, que son las que están sometidas a los cambios mecánicos más grandes, ocasionado por el flujo sanguíneo pulsátil y por el estrés de rozamiento, no obstante, la producción de ON es mayor en los vasos de resistencia, es decir, las arterias de menor diámetro (Bermúdez et al., 2000).

- **Prostaciclina (PGI<sub>2</sub>)**

Es un metabolito del ácido araquidónico sintetizado y liberado a partir del endotelio vascular y el músculo liso. Sus efectos vasodilatadores están mediados por la acción de los receptores específicos de PGI<sub>2</sub> en la membrana, que también se enlazan al sistema

de la ciclase de adenilato que activa a una serie de cinasas intracelulares induciendo relajación (Brounwald, 1999).

- **Factor hiperpolarizante**

El endotelio de las arterias estimuladas por estrés de estiramiento es capaz de liberar además de óxido nítrico, otro factor relajador, llamado factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF). Su liberación puede ser inducida por acetilcolina, bradicinina, histamina y trombina, es calcio calmodulina dependiente de Ca y CAM y actúa en la célula muscular lisa mediante la apertura de canales lentos de potasio (Bermúdez et al., 2000).

- **Histamina**

La histamina ejerce un efecto vasodilatador fuerte sobre las arteriolas y, como la bradicinina, también tiene la capacidad de aumentar, en forma importante, la porosidad de los capilares y permite la filtración, tanto de líquido como de proteínas plasmáticas hacia los tejidos (Guyton, 1994).

- **Bradicinina**

Es un nonapéptido formado a partir de precursores de la cinina que tiene efecto potente como vasodilatador dependiente del endotelio. Las células endoteliales producen y liberan bradicinina localmente en respuesta al flujo. De esta manera se une a los receptores de bradicinina B2, los cuales se encuentran en el endotelio para activar la vía L-arginina-NO. La bradicinina no tiene efecto vasodilatador directo, sin embargo, actúa indirectamente promoviendo la liberación de NO y EDHF (Bermúdez et al., 2000).

- **Péptido natriurético auricular (ANP)**

Es un polipéptido de 28 aminoácidos que liberan los miocitos auriculares cuando son estirados por un aumento del volumen auricular. El ANP puede causar tanto natriuresis como diuresis al incrementar el índice de filtración glomerular, disminuir la secreción de renina y aldosterona, y reducir la reabsorción de  $\text{Na}^+$  a través de toda la nefrona. El ANP también dilata las arteriolas y aumenta la permeabilidad capilar. A nivel celular, el ANP estimula una guanilato ciclasa asociada a la membrana, incrementando la concentración de GMPc intracelular provocando vasodilatación (Aaronson et al., 2001).

## 1.2 HIPERTENSIÓN

### 1.2.1 Clasificación de la Hipertensión

La hipertensión (HTA) puede clasificarse de acuerdo a sus valores de presión (PAS Y PAD) y a su etiología.

#### **Clasificación de la presión arterial en adultos de 18 años o más.**

De acuerdo con el VI Comité Nacional Conjunto Americano en la Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial 1997 (Tabla 1).

Categoría	PAS mmHg	PAD mmHg
Óptima	<120	<80
Normal	<130	<85
Normal alta	130-139	85-89
<b>HIPERTENSIÓN</b>		
Estadio 1	140-159	90-99
Estadio 2	160-179	100-109
Estadio 3	180	110

Tabla 1. Clasificación de la presión e hipertensión arterial.

**Según su etiología la HTA se clasifica en:**

#### **Hipertensión primaria o esencial (HTAE)**

La HTA esencial, primaria o idiopática se define como la PA anormalmente elevada, no asociada a enfermedades que cursan secundariamente con hipertensión o a un trastorno monogénico hipertensivo (Hernando, 2003). El 95 % de todos los pacientes hipertensos presentan HTAE (Castro, 2000). La HTAE es el resultado de un proceso en el que intervienen dos tipos de factores: los que inician la desregulación de

la PA o inductores y los que determinan la elevación de la PA o efectores (Hernando, 2003).

**a) Elementos inductores:**

- **Genes**

Los estudios de asociación o ligamento utilizando genes candidatos (o sea los relacionados con la patología de la hipertensión) han permitido identificar hasta ahora un amplio número de genes o de *loci*, cuyos polimorfismos se asocian significativamente con la HTA, o sea, la prevalencia de HTA es significativamente mayor entre los portadores de esos polimorfismos que entre los no portadores. Los genes así identificados se pueden clasificar en tres grupos: a) los que codifican las enzimas que participan en la síntesis de sustancias vasoactivas, b) los que codifican receptores de las sustancias vasoactivas, hormonas del metabolismo con propiedades vasoactivas y proteínas de señal acopladas a receptores, y c) los que codifican péptidos o proteínas con funciones diversas en la regulación de la homeostasis cardiovascular (precursores de sustancias vasoactivas, sustancias vasoactivas propiamente dichas, proteínas implicadas en la reabsorción renal de sodio, factores de crecimiento con proteínas vasoactivas y proteínas del transporte de lípidos con actividad vascular) (Hernando, 2003).

- **Factores ambientales**

La prevalencia de HTAE se asocia con la presencia de dos tipos de factores ambientales: a los propios del individuo como son, la raza negra, edad avanzada, sexo masculino, estado hormonal, obesidad y dislipidemia y los dependientes del medio, entre éstos se encuentran los factores hipertensivos relacionados con el estilo de vida del sujeto como factores alimenticios (elevada ingesta de sal y/o alcohol, baja ingesta

de potasio y/o calcio), factores psicosociales (estrés) y factores relacionados con el grado de actividad física (vida sedentaria) y otros relacionados con el lugar geográfico (la HTA es más prevalente en ciertas latitudes que en otras, incluso dentro de un mismo país) y el nivel socio-cultural (Hernando, 2003).

**b) Elementos efectores:**

Las interacciones entre los factores genéticos y ambientales, dan lugar a influencias desfavorables sobre los factores intermedios como hiperactividad simpática, disfunción endotelial con predominio de sustancias vasoconstrictores sobre las vasodilatadoras, retención renal de sodio y agua, propiciando la expansión del volumen del líquido extracelular, hipercontractibilidad cardíaca y alteraciones estructurales de la pared arterial. Como resultado de las alteraciones de estos factores, se elevan los factores reguladores de la PA, aumentando el GC y la RPT. Por lo tanto, la HTAE puede considerarse como el resultado de un proceso de desregulación de la PA. (Hernando, 2003).

**Hipertensión secundaria**

La hipertensión secundaria puede resultar de una variedad de enfermedades y trastornos en contraste con la hipertensión primaria (Melvin y col., 1995). En menos del 10 % de los casos, la elevación de la presión arterial puede atribuirse a un proceso o factor conocido. Las causas habituales de esa hipertensión secundaria son: 1.- Enfermedades del parénquima renal y renovasculares que trastornan la regulación del volumen o activan el SRAA, o actúan por ambos mecanismos. 2.- Trastornos endocrinos a menudo de la corteza suprarrenal, asociado con hipersecreción de aldosterona (aldosteronismo secundario) y cortisol, catecolaminas o ambos. 3.-

Anticonceptivos orales que pueden elevar la presión arterial por la activación del SRAA e hiperinsulinemia (Aaronson et al., 2001).

### **1.2.2 ASPECTOS GENERALES DE LA HIPERTENSIÓN**

En general, se estima que entre el 20 y 30 % de la población adulta en nuestro país padece alguna forma de HTA y entre los individuos mayores de 60 años la prevalencia es superior al 50 % (Bertolasi et al., 2000).

El gran avance logrado en el conocimiento de esta enfermedad, la posibilidad de contar con estudios accesibles para la identificación de los mecanismos fisiopatológicos, el desarrollo de métodos complementarios de evaluación de los órganos blanco (cerebro, sistema cardiovascular y riñón) y de detección de formas secundarias de HTA, así como la introducción al mercado de nuevos fármacos antihipertensivos de excelente eficacia y mejor tolerancia, han cambiado el pronóstico de esta patología. Sin embargo, en contraste con el progreso logrado en el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión, muchos pacientes no están adecuadamente controlados debido a múltiples causas. En primer lugar, un gran número de personas no se someten a controles regulares y por ende desconocen su condición de hipertensas. Esta condición es agravada por el hecho de que muchos que saben que son hipertensos, no están bajo tratamiento o bien son tratados en forma irregular e insuficiente. El número de pacientes que abandonan el tratamiento es grande (aproximadamente, un 50%) y está dado por el costo del tratamiento antihipertensivo, por la presencia de efectos colaterales que alteran la calidad de vida y por la indicación de múltiples tomas diarias (Bertolasi et al., 2000). Son por estas razones que las

personas recurren a tratamientos alternativos entre los cuales cabe destacar el uso de las plantas medicinales.

### **1.3 MEDICINA TRADICIONAL**

Las plantas medicinales constituyen un importante recurso natural, particularmente en los países del tercer mundo, donde muchos de sus habitantes recurren a la medicina tradicional popular para curar sus enfermedades. Además, existe una cantidad notable de medicamentos patentados cuya formulación contiene al menos un producto derivado de ellas (Lechuga et al., 2000). Por lo que en los últimos años se han multiplicado las investigaciones sobre la validación fitoquímica, farmacológica y clínica de numerosos principios activos derivados de los vegetales (Sánchez, 1993).

La fitoquímica probablemente ha estudiado entre un 5 y un 15% de la diversidad vegetal existente en el mundo con relación a su composición química y su actividad biológica (Peña, 1990). Cada año se reportan en la literatura aproximadamente 1,500 nuevos productos naturales provenientes de plantas, los cuales constituyen hasta un 25% del total de bs que se utilizan en la industria farmacéutica. Los demás no son viables por su toxicidad o por su baja actividad biológica (Mantell, 1985). De las plantas se extraen productos químicos y muchos de ellos tienen valor terapéutico y comercial como los fármacos, dichos productos forman parte de lo que se conoce como metabolitos secundarios y son derivados de compuestos del metabolismo primario de las plantas. Usualmente se presentan en pequeñas cantidades y juegan un papel específico como mediadores químicos en procesos ecológicos (Peña, 1990).

Existe una tendencia de sustituir el uso de los compuestos sintéticos (medicamentos y alimentos) con productos naturales que no ejerzan efectos

perjudiciales en la salud humana. Por ello los metabolitos secundarios cobran importancia vital como productos estratégicos dadas sus aplicaciones en las diferentes ramas de la industria de transformación. Dentro de la más importante está la industria farmacéutica (Lara, 1990).

No es nada fácil calcular el valor económico de la producción y consumo de las plantas medicinales, tanto a nivel de los metabolitos primarios como secundarios. Los metabolitos primarios son sustancias que se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, un ejemplo de estos metabolitos primarios son: aminoácidos de proteínas comunes, nucleótidos, lípidos, ácidos carboxílicos, etc. En las plantas superiores estos componentes están concentrados en toda la planta. Los metabolitos secundarios son sustancias que tienen una distribución restringida a ciertas plantas (a veces es característico de un género dado o de una especie), son producto de un metabolismo especial, ejemplos de estos metabolitos secundarios son: alcaloides, terpenoides, flavonoides, entre otros (Delfín y Chino, 1998). Son estos metabolitos secundarios, presentes en concentraciones muy bajas, los que ejercen un efecto biológico o farmacológico en los seres humanos (Heywood, y Synge, 1991; Wagner y Farnsworth, 1994; Sumner, 2000).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Botánicos

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Casimiroa edulis* La Llave et Lex:

REINO: Plantae

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Dicotiledónea

SUBCLASE: Rosidae

ORDEN: Sapindales

FAMILIA: Rutaceae

SUBFAMILIA: Toddalioideae

GENERO: *Casimiroa*

ESPECIE: *Casimiroa edulis* La Llave et Lex.

NOMBRES COMÚNES: Zapote blanco, matasano, cacchique en lengua maya, Ceaxmisttea en Otomí y Cochitzapoti en Náhuatl que significa “fruto dulce que produce sueño”(Códice Florentino, 1980, escrito aproximadamente entre 1560 y 1576).

ETIMOLOGÍA: *Casimiroa* en honor de Casimiro Gómez de Ortega (1740-1818) físico, botánico español, director del Jardín Botánico de Madrid. *edulis*, del latín *edulis-e*, comestible, por sus frutos (Olmos, 2000).

LUGAR DE ORIGEN: Especie nativa de México y América Central.

DESCRIPCIÓN: *C. edulis* es un árbol perennifolio de 6-10 m de altura, con copa ancha y tronco grueso, con la corteza de color gris (Figura 1), sus hojas son largamente pecioladas, digitalizadas, normalmente con cinco foliolos aunque algunas veces se encuentran hojas con tres y siete foliolos, éstas son de forma

elíptica u ovals, de 10 a 18 cm de longitud, de color verde brillante (Figura 2). Flores pentámeras en cortas panículas, de color verde amarillento o blancuzco, fragantes (Martínez, 1987). Frutos drupáceos, globosos o ligeramente alargado, de color verde amarillento, liso, de 6 a 10 cm de diámetro (Figura 3). El exocarpo es delgado, de sabor amargo. El mesocarpo (pulpa), es blanco o algo amarillento, de consistencia cremosa, de sabor dulce. El fruto maduro posee de uno a cinco semillas de 3-5 cm de largo y 2-3 cm de ancho (Zavaleta-Mancera, 1991).

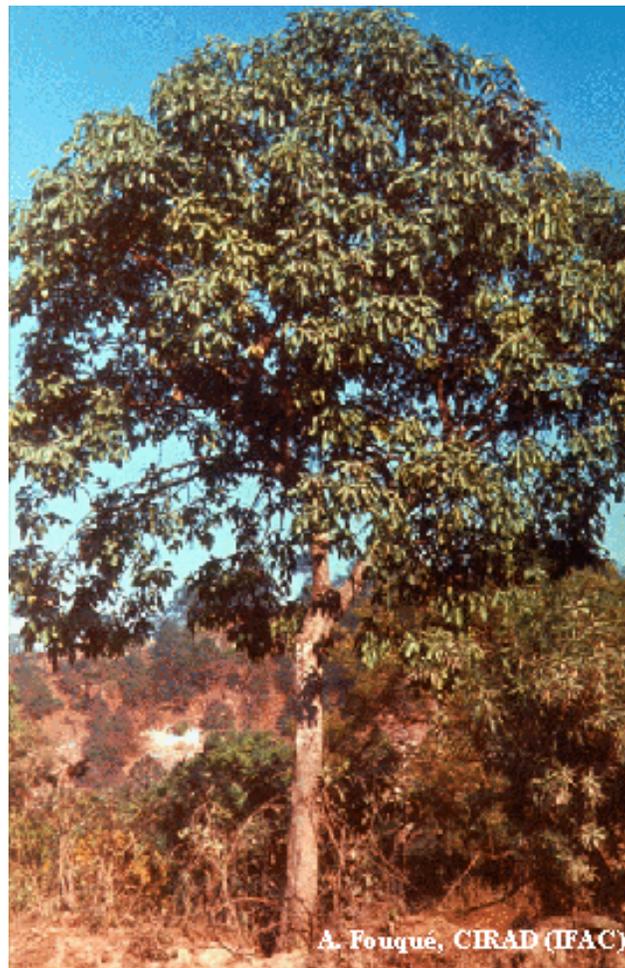


Figura 1. Árbol de *C. edulis*.



Figura 2. Hojas de *C. edulis*.



Figura 3. Frutos de *C. edulis*.

ECOLOGIA: Habita en climas cálidos, semicálidos y templados desde los 500 a los 2600 m.s.n.m. cultivada en huertos familiares o asociada a bosques tropicales caducifolio o subcaducifolio, matorral xerófilo, bosque espinoso, mesófilo de montaña y mixto de pino encino (Zavaleta-Mancera, 1991; Argueta, 1994 y Sánchez, 1998).

DISTRIBUCIÓN: Es una especie nativa de México y América Central. En México se distribuye en los estados de Baja California Norte y Sur, Chiapas, Distrito Federal, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán y Chihuahua (Cabrera, 1981; Aguilar- Contreras, 1982 ;Argueta, 1994; Martínez et al., 1995 y Olmos, 2000) (Figura 4).



Fig. 4. Mapa de la distribución de *Casimiroa edulis* La Llave et Lex en la República Mexicana.

## 2.2 Etnobotánicos

Los estudios etnobotánicos de medicina tradicional popular muestran que el pueblo mexicano usa las hojas y semillas de *C. edulis* de manera frecuente en el tratamiento de la hipertensión, siempre con resultados positivos (Argueta, 1994).

En el siglo XVI el Códice Florentino la menciona como somnífero.

Francisco Hernández (1576) relata que las hojas machacadas curan las diarreas de los niños, el polvo de las semillas quemadas curan la úlcera infectada, también es útil como cicatrizante. Los frutos ingeridos ayudan a conciliar el sueño, además de ser muy útil para el tratamiento de padecimientos inflamatorios.

A finales del siglo XIX, en datos para la Materia Médica Mexicana, se relata que las investigaciones realizadas por el Instituto Médico Nacional (1898) se obtuvieron en la mayoría de los casos resultados positivos, utilizado como: hipnótico, anticonvulsionante y antitérmico, calmante de dolor, la agitación, el delirio y favorece el sueño (Argueta, 1994).

En el siglo XX Maximino Martínez lo consigna como: anticonvulsionante, antipirético, antirreumático, antiséptico, hipnótico hipotensor, para irrigaciones gastrointestinales, sedante, vasodilatador y analgésico (Argueta, 1994).

Luis Cabrera lo reporta para el tratamiento de la arteriosclerosis, como diaforético, diurético e hipnótico (Argueta, 1994).

La Sociedad Farmacéutica de México lo indica como diurético e hipnótico (Argueta, 1994).

### 2.3 Químicos.

Se han realizado varias investigaciones relacionadas con las propiedades químicas de *C. edulis* usando material de origen Mexicano (Argueta, 1994).

- En la semilla se han identificado derivados  $N^{\alpha},N^{\alpha}$ -dimetil histamina, alcaloides: edulina, edulein, casimiroidina y casimiroina, 1-metil-2-fenil-4-quinolona, palmitamida y, alcaloides quinólicos N-benzoil-tiramina; flavonoides: zapotidina, zapoterin, zapotin, zapotinin, camferido; cumarinas: 9-hidroxi-4metoxi-furano-benzopirona; felopterín, el 5-metoxi-8-geraniol-oxi-psorales, triterpenos, obacunona y los colesterolos daucosterol y beta-sitosterol, los ácidos grasos, esteárico, linoleico y oleico, el alcanol, puranol, la obawnona, el beta sitosterol, oxalato de calcio, sulfato y cloruro de potasio, silicato de sodio (Argueta, 1994.,Cabrera, 1981., Dreyer, 1968, Khaleel, 2002).
- En las hojas se han identificado la metil y dimetil-histamina, alcaloides: casimiroina, skimianine, eduleina; el flavonoide rutín; la cumarina escopoletina metil éter, isipimpinellin, 1-metil-2-fenil-4-quinolona, N-hetriacontane. (Romero et al.,1983; Argueta, 1994 y Khaleel, 2002).
- En la corteza se han identificado los alcaloides: casimiroina, eduleina, edulinina, edulitina, gama-fagarina y casimiroinol, dictamnina y skimianina y los flavonoides 5-6-dimetoxi-flavona y zapotín (Argueta, 1994).
- En la raíz se han identificado los alcaloides casimiroina, eduleina, edulinina, edulitina, gama-fagarina y casimiroinol, dictamnina, los flavonoides 5-6-dimetoxi-flavona y zapotína (Argueta, 1994).

- En las ramas se ha identificado el alcaloide casimiroina, edulen y metil-fenilquinolona, además de la cumarina escopoletín-metil-eter (Argueta, 1994).

## 2.4 Farmacológicos

Los compuestos químicos presentes en las hojas de *Casimiroa edulis* han sido reportados en otras plantas, algunas pertenecientes a la misma familia botánica de las Rutaceas, además se ha reportado que dichos compuestos poseen efectos fisiológicos, por ejemplo, con escopoletina se ha encontrado que *in vitro*, inhibe la síntesis de óxido nítrico (Kim et al., 1999 y Kang et al., 1999), inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa (Lee et al., 2004), esta involucrada en la movilización de calcio intracelular (Oliveira et al., 2001 y Suzuki et al., 2003); skimianina ejerce un efecto inhibitor sobre la actividad motora espontánea (Cheng, 1986), produce un bloqueo de las funciones cardiovasculares en altas concentraciones (Cheng et al., 1990); rutin que posee actividad vasoprotectora, sin embargo, estos compuestos han sido aislados de otras plantas, aunque son los mismos que presenta *C. edulis*.

Una de las actividades mejor evaluadas y comprobadas de *C. edulis* es la hipotensora, la cual se ha observado con diferentes tipos de extractos preparados con varias partes de la planta y en especial con la semilla. Estudios más recientes han demostrado que los efectos hipotensores de tales extractos tienen una amplia e importante aplicación medicinal puesto que produce vasodilatación periférica persistente acompañada de un ligero efecto sedante sobre el SNC, lo que ayuda a explicar la hipotensión reportada en animales normotensos (Lozoya et al., 1977;

Lozoya-Legorreta et al., 1978; Magos y Vidrio, 1991; Vidrio y Magos, 1991; Magos et al., 1995; Magos et al., 1999).

Los estudios realizados con *C. edulis* para investigar el efecto antihipertensor se ha hecho en modelos experimentales con animales íntegros y/o en tejidos de animales normotensos. Dichos estudios muestran que los extractos de las semillas de *C. edulis* disminuyen la presión arterial y causan vasorelajación *in vitro*, (Vidrio y Magos, 1991; Magos et al., 1995; Lozoya et al., 1997).

En estudios recientes de Vázquez (2002), se ha encontrado que el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* tiene efecto antihipertensor *in vivo*, al administrarse por vía oral durante un periodo de 20-25 días en ratas con hipertensión inducida por coartación de la aorta, disminuye la PAS y la reactividad vascular renal. Sin embargo, el mecanismo involucrado en este modelo es dependiente de Ang II y por lo tanto no se encuentran alterados los factores vasodilatadores como el óxido nítrico, que es el más importante, además, no se ha utilizado otra vía de administración diferente con el extracto de hojas de *C. edulis*. Por lo cual en el presente estudio se tiene como objetivo:

### 3. OBJETIVOS

#### **Objetivo General:**

Estudiar el efecto del extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* La Llave et Lex en un modelo hipertensión aguda dependiente de Ang II y un modelo de hipertensión dependiente de NO.

#### **Objetivos particulares:**

- Preparar extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis*.
- En ratas normotensas realizar curvas dosis respuesta con extracto acuoso de *C. edulis*, histamina y Ang II.
- Realizar curvas dosis respuesta a Ang II en presencia del extracto acuoso de *C. edulis* en ratas.
- Realizar curvas dosis respuesta a Angiotensina II en presencia de histamina
- Evaluar el efecto del extracto acuoso de *C. edulis* en ratas con hipertensión por L-NAME.

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1 Material biológico**

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar, de 300-350 gramos, que fueron proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. Los animales se mantuvieron en condiciones ambientales con agua y alimento *ad libitum*. Todos los grupos experimentales se integraron de 5-6 individuos.

### **4.2 Material vegetal**

Las hojas de la planta se obtuvieron en el Municipio de San Cosme Xalostoc, Estado de Tlaxcala (Figura 5) en el año 2004. Un ejemplar se depositó en el Herbario de la FES Iztacala (IZTA), UNAM para su identificación botánica por la Biol. Edith López Villafranco y se registro con el número de inventario 28906.

Para la preparación del extracto acuoso se pesaron 10 gramos de hojas secas de *C. edulis*, se pulverizaron y suspendieron en 500 ml de agua destilada, posteriormente se colocaron en un sistema de reflujo por 30 minutos a 80° C (Figura 6), se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró con papel Watman No. 1; el sobrenadante se colocó en vasos de precipitado y se dejó secar en un horno a 60° C, posteriormente se obtuvo el extracto seco. Para ser utilizado, se suspendió con solución salina isotónica 0.9%, se ajustó a pH fisiológico de 7.4.

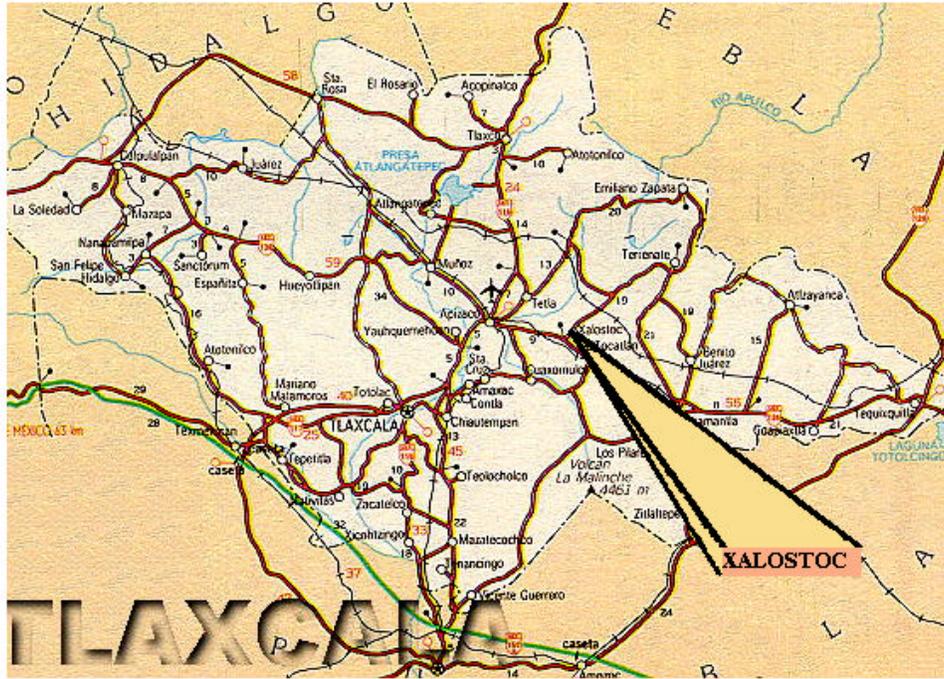


Figura. 5. Mapa de Tlaxcala. Ubicación geográfica de San Cosme Xalostoc.



Figura. 6. Obtención del extracto acuoso de *C. edulis* mediante un sistema de reflujo.

### 4.3 Fármacos

- Angiotensina (SIGMA, angiotensin II 1 mg/ml). Para la preparación de angiotensina se realizaron diluciones 1:10 (solución salina isotónica 0.9%) para llegar a una solución de 1 µg/kg, a partir de esta solución se calculó la dosis, ajustada al peso de las ratas, para la realización de la curva dosis respuesta 25-250 ng/kg.
- Histamina (SIGMA, histamine dihydrochloride). Para la preparación de histamina se realizaron diluciones 1:10 (solución salina isotónica 0.9%) para llegar a una solución de 100 µg/kg, a partir de esta solución se calculó la dosis, ajustada al peso de las ratas, para la realización de la curva dosis respuesta 10-100 µg/kg.
- L-NAME (SIGMA, Nw-Nitro-L-arginine metil ester hydrochloride) Para la preparación de L-NAME se ajustó la dosis de 70 mg/kg/día al peso corporal de el animal y se disolvió en 40 ml de agua destilada.
- Enalapril ( Siegried Rhein, Maleato de enalapril o enaladil 10 mg). Para la preparación del enalapril se ajustó la dosis (5 mg/kg) al peso de los animales cada tercer día, y se suspendió en agua destilada.

#### **4.4 Diseño experimental**

##### **4.4.1 Curva dosis respuesta del extracto acuoso en ratas normotensas**

Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (45 mg/kg, i.p), posteriormente se colocaron en una tabla de disección; con ayuda de material de disección se localizó la vena femoral, colocando un catéter en contra del torrente sanguíneo, el cual contenía solución salina y 10 U de heparina/ml para evitar la coagulación, a través de esta cánula se le administró el extracto acuoso, la Ang II e histamina. Posteriormente, se localizó la arteria carótida externa y se colocó un catéter de igual manera que el anterior, en contra del flujo de la arteria y el otro extremo estuvo conectado a un transductor de presión (Narco Byo-Sistem mod P1000B) que a su vez estuvo conectado a un fisiógrafo (mod. DPM-4B) para realizar los registros de PAS. El extracto acuoso de *C. edulis* se administró a dosis de 10-100 mg/kg.

##### **4.4.2 Curva dosis respuesta a Ang II (Curva control)**

Una vez que el registro de la presión se hizo estable, se administró Ang II a dosis crecientes (25-250 ng/kg), hasta obtener una respuesta máxima.

##### **4.4.3 Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de extracto acuoso de *C. edulis***

Se obtuvo la curva dosis respuesta con Ang II (curva control), se dejó nuevamente que el registro de la PAS regresara al registro basal inicial (estado de normotensión), enseguida se administró el extracto acuoso a la dosis 100 mg/kg.,

y se realizó nuevamente la curva dosis respuesta a Ang II, utilizando la máxima dosis que en la curva control.

#### **4.4.4 Curva dosis respuesta a histamina**

Para conocer si el efecto del extracto acuoso de *C. edulis* se debe a los derivados de histamina descritos en la planta y si este efecto se asemeja con la de un fármaco estándar (histamina). En un grupo experimental se realizaron curvas dosis respuesta con histamina en un rango de 10-100 µg/kg (curva control), para posteriormente comparar este efecto con el observado con el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis*.

#### **4.4.5 Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de histamina**

Para conocer el efecto que presenta Ang II en presencia de histamina, en un grupo experimental se realizaron curvas dosis respuesta de Ang II (25-250 ng/kg) en presencia de histamina (100 µg/kg).

#### **4.4.6 Inducción de hipertensión con L-NAME**

Para producir la hipertensión con L-NAME, se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar de 300-350 grs, se dividieron en 4 grupos. El L-NAME (70 mg/kg/día v.o) en el agua de beber, el enalapril (5 mg/kg) y el extracto se administraron por v.o mediante una cánula. El tratamiento con el L-NAME se realizó por 10 días; posteriormente se tomó el registro de la presión. El grupo A se trató con L-NAME. El grupo B con el L-NAME y con el extracto de *C. edulis* en 3 dosis, este grupo se dividió a su vez en tres subgrupos, al subgrupo B1 95 mg/kg, el subgrupo B2 285 mg/kg y el subgrupo B3 570 mg/kg. El grupo C se trató con solución salina 0.9%

(vehículo), y el grupo D con el L-NAME y enalapril. La dosis de cada compuesto fue ajustada cada tercer día según la ingesta de agua y el peso de cada animal.

#### **4.4.7 Análisis estadístico**

Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  el error estándar de la media. Las diferencias entre los grupos fueron evaluados mediante la prueba t Student no pareada. Se consideró que el nivel de  $p < 0.05$  es un resultado estadísticamente significativo.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO**

Con el extracto de *C. edulis* se obtuvo un rendimiento de 32.4% a partir de 5 gramos de hojas secas.

### **5.2 REGISTRO DE PRESIÓN**

La preparación de los organismos para la canulación de la arteria carótida y la vena femoral se manejaron sin complicaciones. La mayoría de los organismos presentaron una presión arterial sistólica de (PAS)  $130\pm 4$  mmHg.

### 5.3 CURVA DOSIS RESPUESTA DEL EXTRACTO ACUOSO EN RATAS NORMOTENSAS

La administración del extracto acuoso de *C. edulis* en animales normotensos a dosis crecientes de 10 a 100 mg/kg produjo un decremento de la PAS de  $14.7 \pm 2$  mmHg con la dosis de 10 mg/kg, posteriormente se recuperó mientras se continuaba con la curva y tendió a mantenerse estable con pequeños incrementos y decrementos sobre su presión basal de  $130 \pm 4$  mmHg (figura 7).

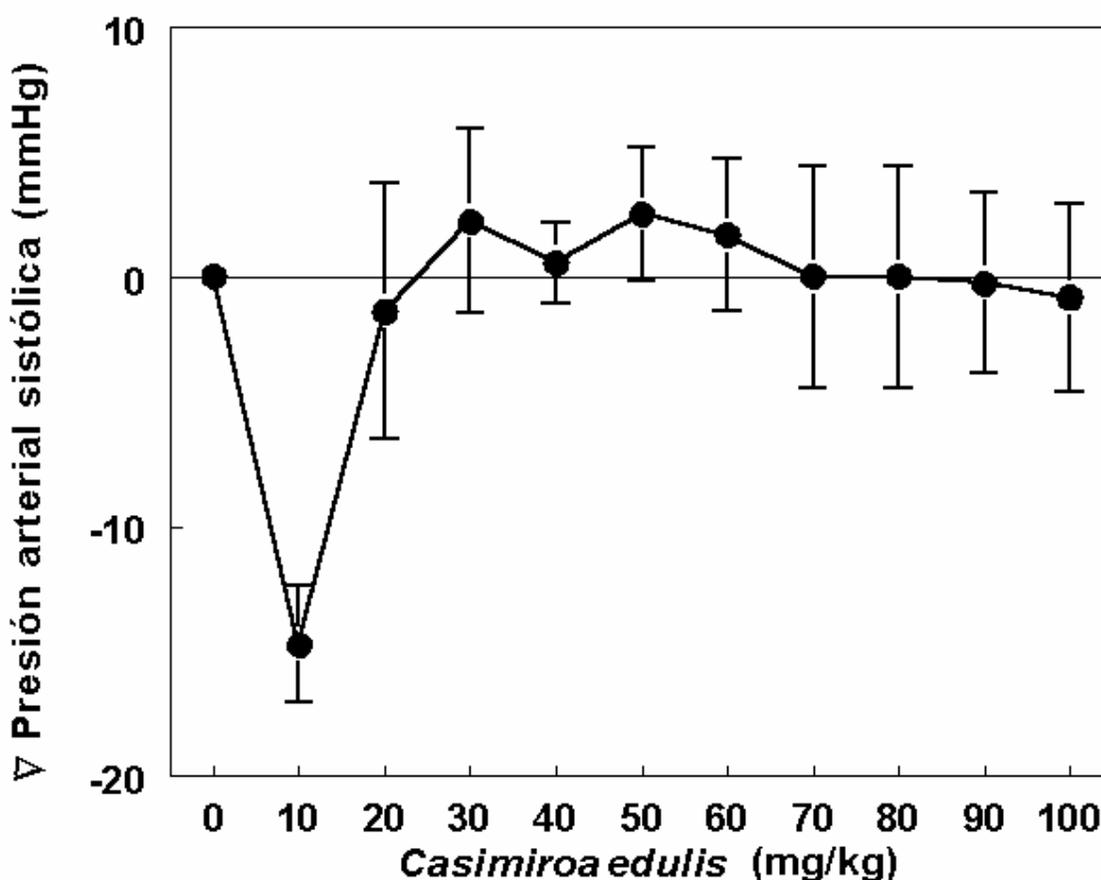


Figura 7. Efecto del extracto acuoso de *C. edulis* en ratas normotensas, las ratas fueron anestesiadas con 45 mg/Kg de pentobarbital sódico y se administraron dosis crecientes del extracto (10 a 100 mg/kg), el efecto se evaluó como incremento de la PAS en mmHg. Cada punto de la curva dosis respuesta representa la media  $\pm$  EEM; n=6.

#### 5.4 CURVA DOSIS RESPUESTA A ANGIOTENSINA II

La curva dosis respuesta a Ang II mostró incremento en la PAS dependiente de la dosis. Las ratas sometidas a la curva dosis respuesta a Ang II, mostraron una PAS de  $168 \pm 7$  mmHg con la dosis con que se alcanzó el efecto máximo de Ang II (100 ng/kg), con respecto a la PAS basal de  $130 \pm 4$  mmHg que presentaron al inicio del registro de presión, lo que nos indica un incremento de PAS de  $38 \pm 7$  mmHg (figura 8).

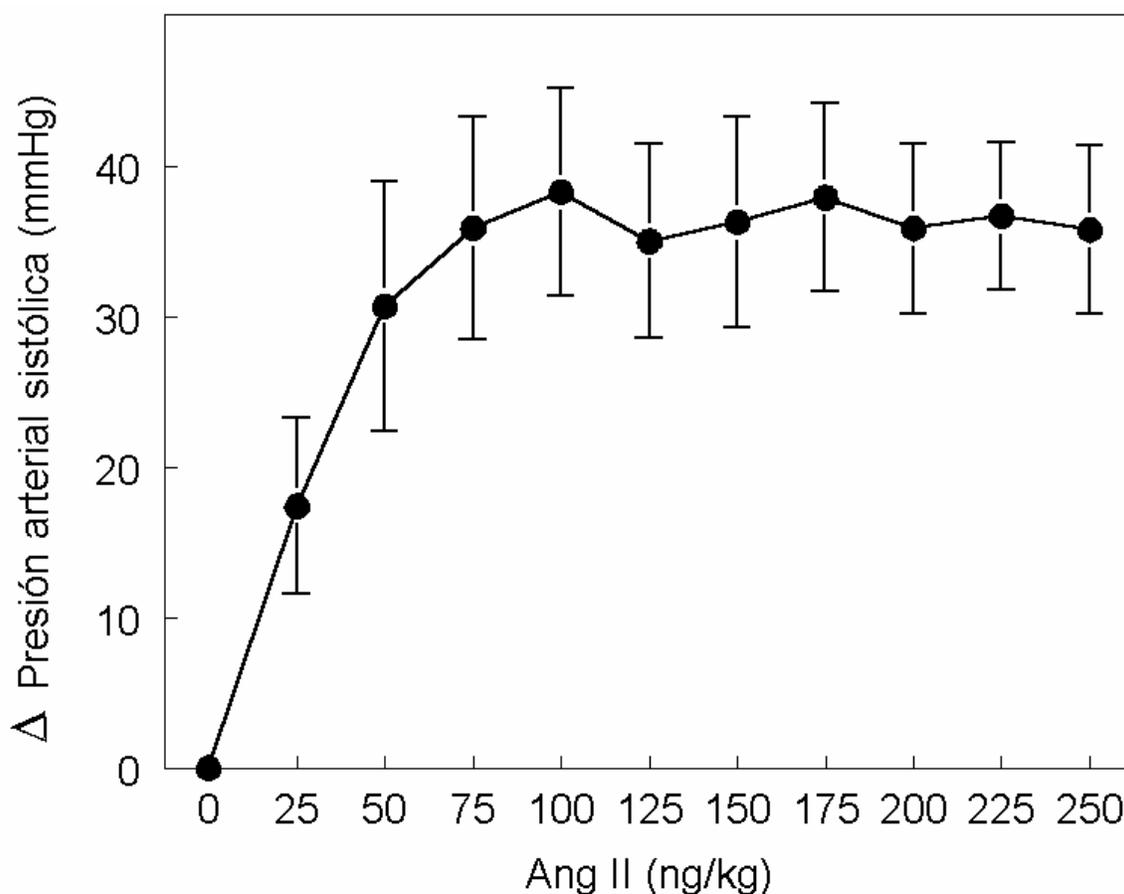


Figura 8. Efecto de Ang II sobre la presión arterial sistólica (PAS) de ratas anestesiadas con pentobarbital sódico (45 mg/kg). Los resultados se muestran como la media  $\pm$  EEM; n=4.

### 5.5 CURVA DOSIS RESPUESTA A ANG II EN PRESENCIA DE *C. edulis* 100 mg/kg.

Al realizar la curva dosis respuesta a Ang II en presencia del extracto de *C. edulis* en una dosis única de 100 mg/kg, se observó disminución de la respuesta máxima de Ang II (100 ng/kg) de 24 mmHg, es decir, que el efecto máximo vasoconstrictor producido con angiotensina II fue reducido, lo cual, se refleja en la disminución de la PAS de ratas anestesiadas (figura 9).

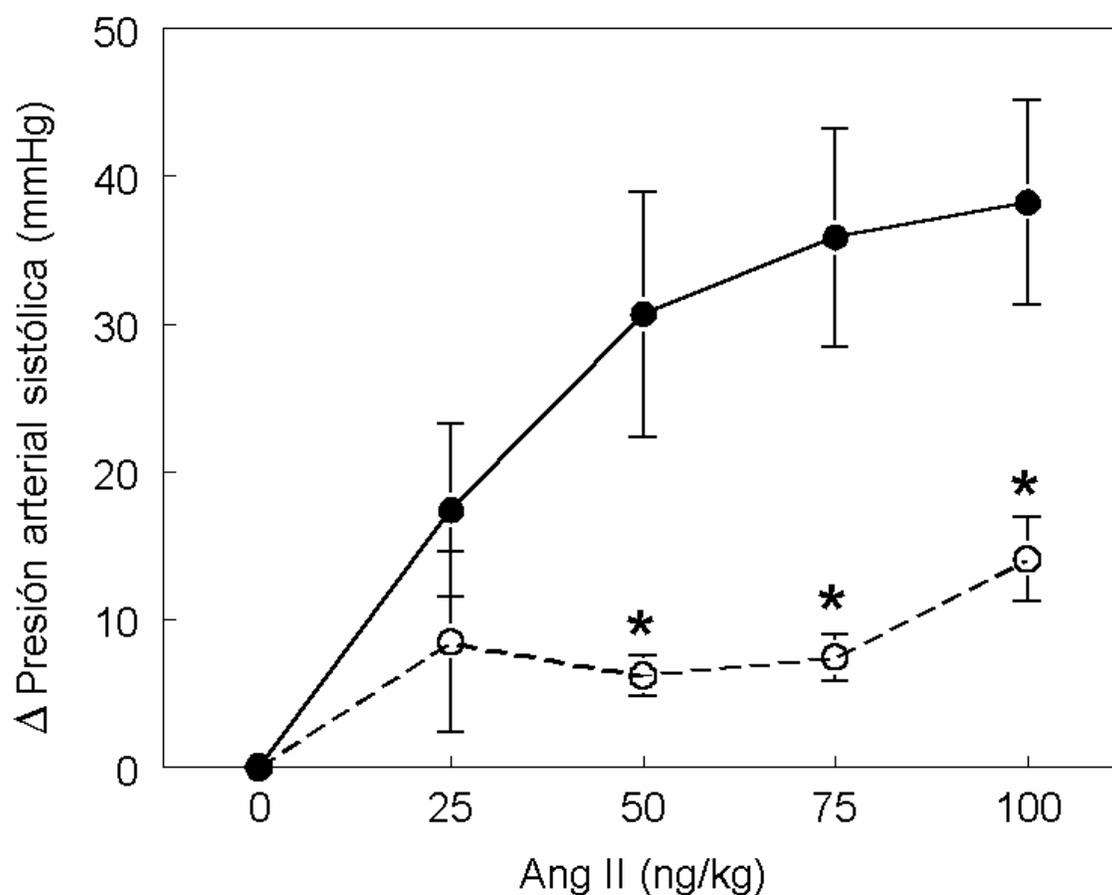


Figura 9 Efecto del extracto acuoso de *C. edulis* (100 mg/kg) sobre la curva dosis respuesta a Ang II en la PAS de ratas anestesiadas. (●) Curva dosis respuesta a Ang II. (○) Curva dosis respuesta a Ang II en presencia del extracto acuoso de *C. edulis*. Los resultados se muestran como la media  $\pm$  EEM para una \*p < 0.05; n=4.

El efecto antagonista de el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* sobre la PAS de ratas normotensas, es superado al incrementar la dosis de Ang II, lo que nos indica que el extracto produce un antagonismo competitivo sobre Ang II, ya que no se observan diferencias significativas entre las curvas al aumentar la dosis de el agonista Ang II (figura 10).

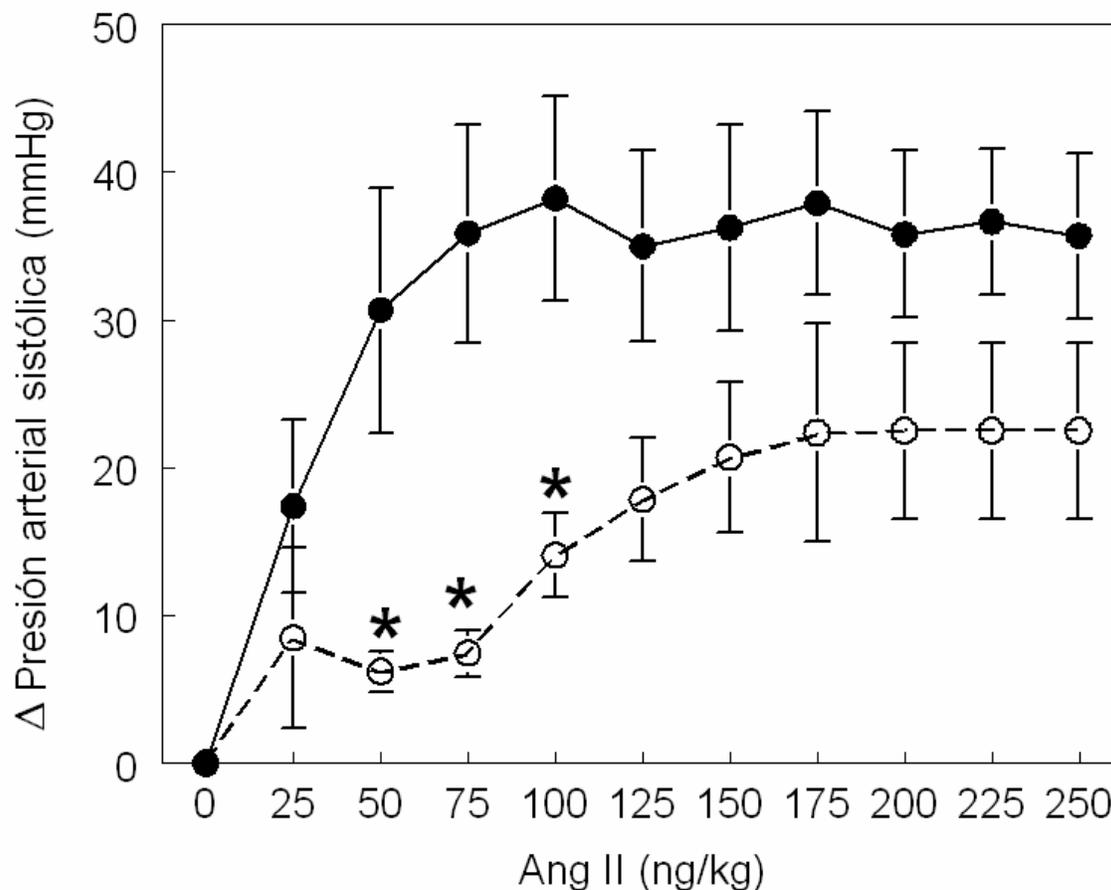


Figura 10. Efecto del extracto acuoso de *C. edulis* (100 mg/kg d.u) sobre la curva a Ang II (25-250 ng/kg) en la PAS de ratas anestesiadas. (●) Curva dosis respuesta a Ang II. (○) Curva dosis respuesta a Ang II en presencia del extracto acuosos de *C. edulis*. Los resultados se muestran como la media  $\pm$  EEM; \*p 0.05, n=4.

## 5.6 CURVA DOSIS RESPUESTA A HISTAMINA

Al realizar la curva dosis respuesta a histamina (10-100  $\mu\text{g/kg}$ ) en animales normotensos anestesiados, se observó disminución de la PAS dependiente de la dosis, el efecto máximo se obtuvo con la dosis de 30  $\mu\text{g/kg}$  y corresponde a una disminución de la PAS de  $50 \pm 5$  mmHg (figura 11).

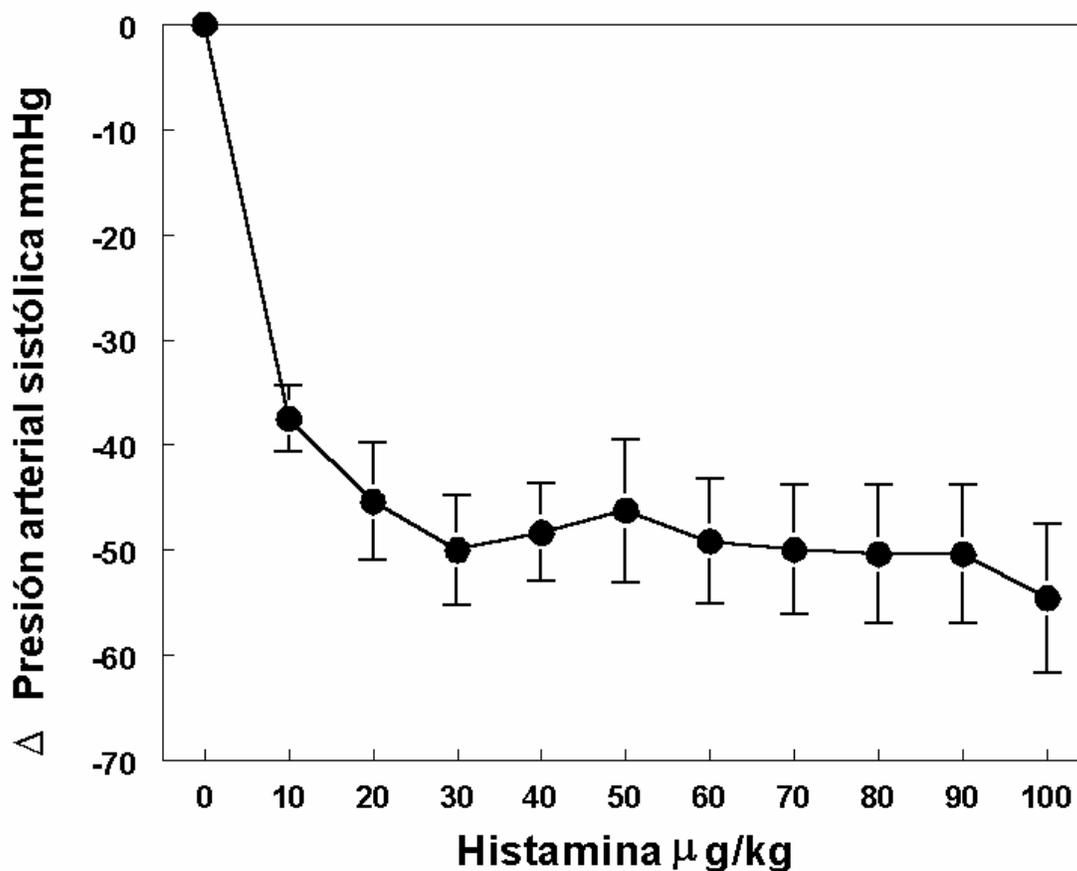


Figura 11. Efecto de la histamina sobre la PAS de ratas anestesiadas con pentobarbital sódico (45 mg/kg). Se administraron dosis crecientes a histamina (10 a 100  $\mu\text{g/kg}$ ). Cada punto de la curva dosis respuesta representa la media  $\pm$  EEM;  $n=5$ .

### 5.7 CURVA DOSIS RESPUESTA A ANG II EN PRESENCIA DE HISTAMINA

Al realizar la curva dosis respuesta a Ang II en dosis de 25-250 ng/kg, en presencia de histamina (100  $\mu$ g/kg d.u.), se observó que histamina no modificó el efecto hipertensor en la curva dosis respuesta a Ang II (figura 12).

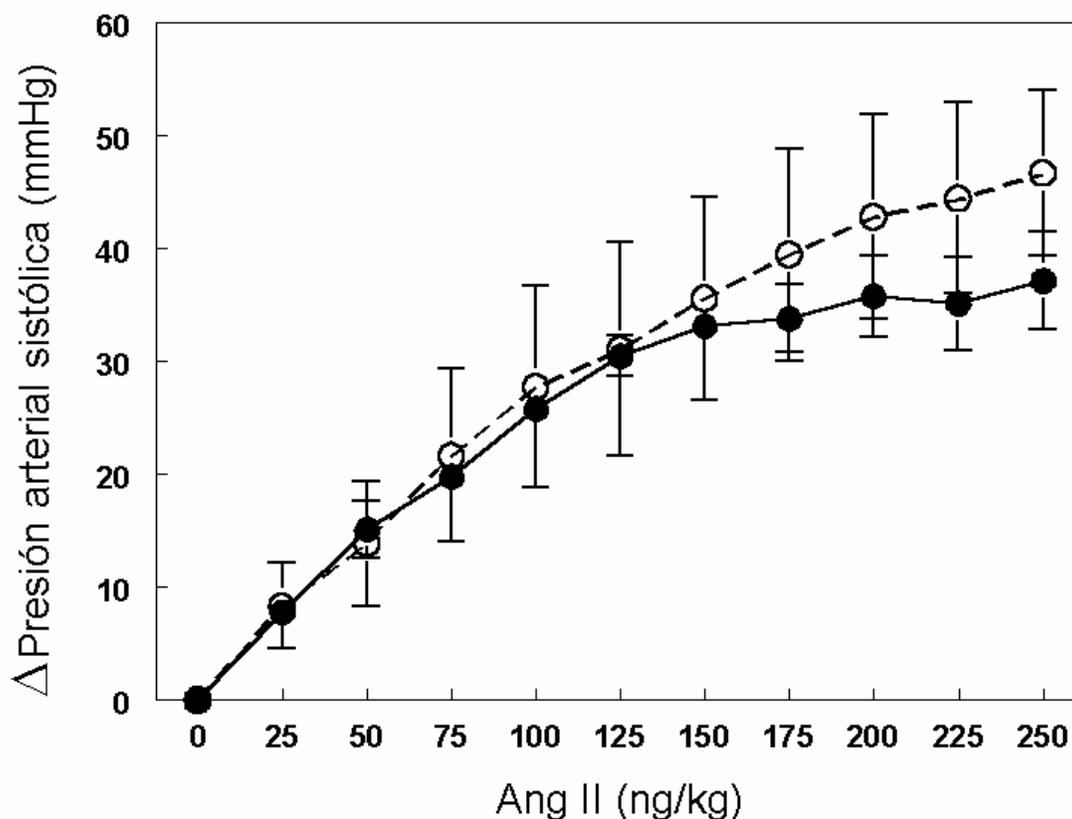


Figura 12. Efecto de histamina (100  $\mu$ g/kg d.u) sobre la curva dosis respuesta a Ang II (25 a 250 ng/kg) en la presión arterial sistólica. (○) Curva dosis respuesta a Ang II. (●) Curva dosis respuesta a Ang II en presencia de histamina. Los resultados se muestran con la media  $\pm$  EEM; n=6.

## 5.8 MODELO DE HIPERTENSIÓN DEPENDIENTE DE ÓXIDO NÍTRICO

El grupo de ratas que recibió L-NAME durante 10 días, mostró un incremento de la PAS de  $62 \pm 3$  con respecto al grupo de ratas control ( $130 \pm 4$  mmHg) que recibió vehículo durante el mismo periodo. Por otra parte, el grupo de ratas que recibió L-NAME+enalapril (5 mg/kg) mostraron una disminución significativa de la PAS de  $44 \pm 13$  mmHg con respecto al grupo de ratas que recibió L-NAME (figura 13).

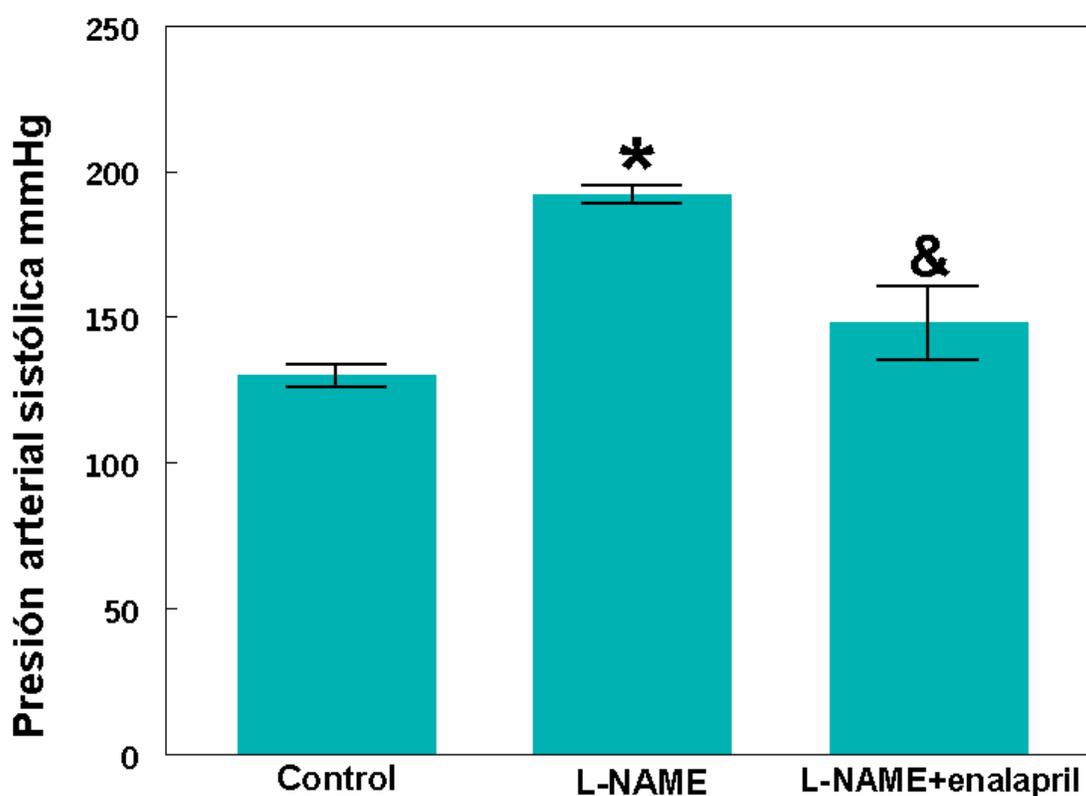


Figura 13. Efecto sobre la PAS de los animales que recibieron L-NAME, vehículo (control) y L-NAME + enalapril (5mg/kg). Cada barra representa la media  $\pm$  EEM; \* $\&p$  0.05; n=5.

\* L-NAME Vs Control.

& L-NAME Vs L-NAME+enalapril.

El grupo de ratas que recibió L-NAME+C.*edulis* con dosis de 95, 285 y 570 mg/kg mostraron decrementos significativos en la PAS de 34±4, 33±5 y 53±11 mmHg respectivamente alcanzando valores cercanos a los obtenidos por el grupo que recibió L-NAME+enalapril, un fármaco antihipertensivo usado como control (figura 14)

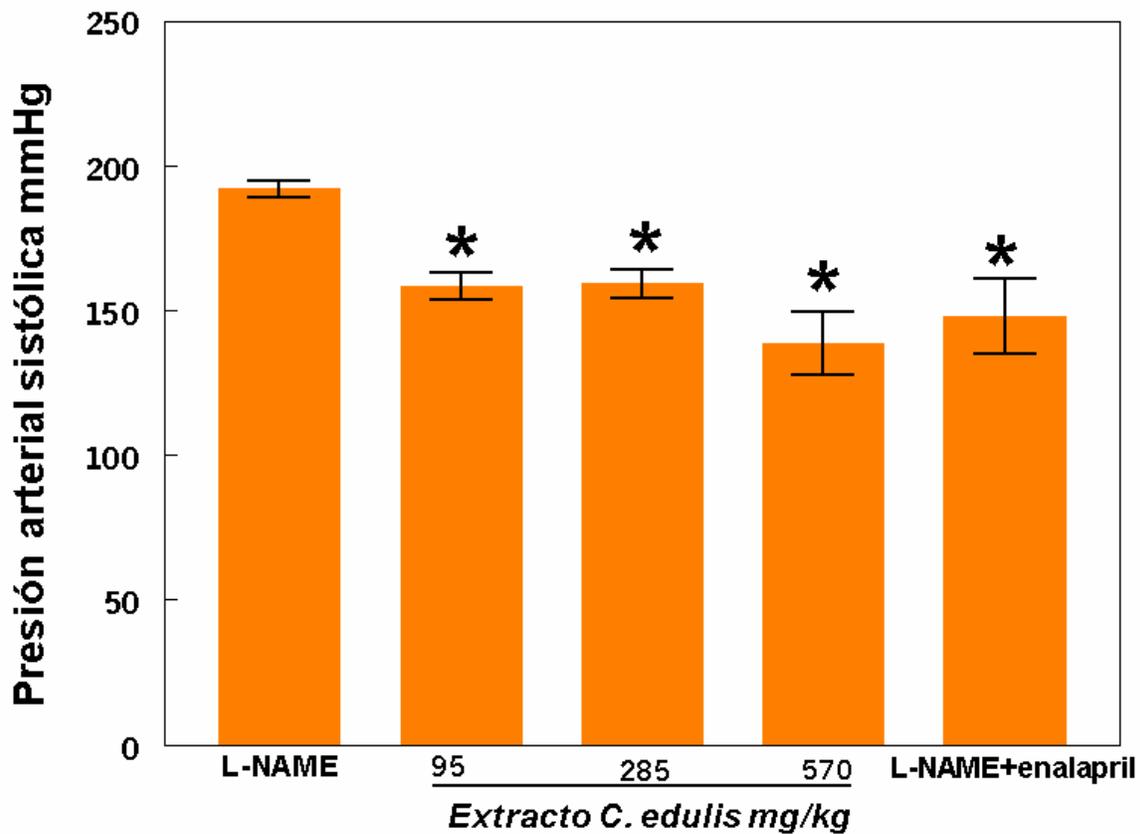


Figura 14. Efecto del extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* (95, 285 y 570 mg/kg) sobre la PAS de animales tratados con L-NAME y animales con L-NAME+enalapril (5 mg/kg). Cada barra representa la media ± EEM para una \*p 0.05;n=5.

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Casimiroa edulis* SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA DE RATAS NORMOTENSAS

Los resultados muestran que el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* disminuye la presión sanguínea en ratas normotensas anestesiadas, efecto que se observó en la curva dosis respuesta con el extracto en dosis de 10-100 mg/kg (figura 7); como se puede observar en la curva, existe un decremento inicial de  $14.7 \pm 2$  mmHg de corta duración, ya que la presión arterial sistólica (PAS) se recuperó en pocos segundos, este efecto hipotensor de corta duración, también se observó con histamina (figura 11). En estudios realizados por Magos y col. (1999) utilizando extracto metanólico de las semillas de *C. edulis*, también observaron la hipotensión inmediata y transitoria y lo atribuyeron a los derivados de histamina que encontraron en estos extractos (monometilhistamina y dimetilhistamina), dichos derivados al actuar sobre los receptores a histamina H1 localizados en el músculo liso vascular y endotelio vascular, producen vasorrelajación y consecuentemente disminución de la PAS. Por lo cual consideramos que posiblemente también en las hojas se encuentran estos compuestos derivados de histamina y sean los responsables del efecto hipotensor observado.

En contraste, en otras curvas dosis-respuesta con el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* con dosis de 20-200 y 40-400 mg/kg observamos incremento de la PAS. Magos et al (1999) también observaron este efecto con el extracto de *C. edulis*, y lo atribuyeron al acetónido de sinefrina encontrado en semillas, el cual incrementa la presión sanguínea y frecuencia cardiaca mediante un mecanismo  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos, sin embargo, este compuesto no se encuentra en las hojas. Por

otra parte, García-González (1994) encontró que el extracto de hojas de *C. edulis* incrementó transitoriamente la presión, sin embargo, no se encontró el mecanismo por el cual *C. edulis* incrementa la presión, por lo tanto, se sugiere que la hipertensión observada con nuestro extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* podría deberse a la presencia de compuestos hipertensores presentes en las hojas. Dichos compuestos se expresan cuando la dosis administrada es mayor, como las utilizadas en este trabajo.

## **6.2 EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Casimiroa edulis* SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA DE RATAS CON HIPERTENSIÓN AGUDA**

El objetivo de realizar curvas dosis respuesta a Ang II fue generar un estado de hipertensión aguda y observar el efecto del extracto de las hojas de *C. edulis* sobre la hipertensión producida con Ang II. Se observaron incrementos de la PAS debido a la acción vasoconstrictora que produce Ang II al interactuar con sus receptores AT1, produciendo aumento de la resistencia periférica total (respuesta presora rápida), además estimula la liberación de catecolaminas y endotelinas, que también incrementan la resistencia periférica total, contribuyendo al mantenimiento de la hipertensión.

La administración de Ang II incrementó la PAS en 38 mmHg, con la dosis de 100 mg/kg se observó el efecto máximo. El extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* en dosis de 100 mg/kg, disminuyó la respuesta a Ang II, lo que nos sugiere que en el extracto existen compuestos que disminuyen la PAS aumentada por acción de Ang II, es decir el extracto mostró un efecto antagonista sobre la Ang II,

dicho antagonismo es de tipo competitivo, ya que al aumentar la concentración del agonista (Ang II), se supera el efecto de el extracto de las hojas de *C. edulis*.

### **6.3 EFECTO DE HISTAMINA SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA DE RATAS HIPERTENSAS**

El objetivo de realizar curvas dosis respuesta a histamina fue observar el efecto que se presenta con histamina en dosis de 10-100  $\mu$ g/kg sobre la PAS de ratas anestesiadas y compararlo con el observado con el extracto de las hojas de *C. edulis* (10 a 100 mg/kg).

Se observó una disminución de  $50 \pm 5$  mmHg en dosis de 30  $\mu$ g/kg de histamina y de  $14.7 \pm 2.37$  mmHg en dosis de 10 mg/kg de extracto, ambos efectos hipotensores fueron transitorios, lo que nos sugiere que posiblemente el extracto acuoso de *C. edulis* tiene poca concentración de estos derivados de histamina o bien que la afinidad de los derivados por el receptor H1 es menor que la de histamina.

Al realizar la curva dosis respuesta a Ang II en presencia de una dosis única de histamina (100  $\mu$ g/kg) se observó que histamina a la dosis administrada no modificó la curva dosis respuesta a Ang II (figura 12), lo que nos sugiere que el efecto antihipertensor del extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* en ratas hipertensas con Ang II, no se debe a los derivados de histamina y que posiblemente el efecto antihipertensor se deba a otros compuestos presentes en las hojas, debido a que cada agonista (Ang II e histamina) usa receptores diferentes y por lo tanto no produce algún tipo de antagonismo fisiológico.

## **6.4 EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO SOBRE LA HTA DEPENDIENTE DE ÓXIDO NÍTRICO**

Los resultados obtenidos en la medición de la presión arterial mostraron que la administración oral de L-NAME (N<sup>0</sup> nitro-L-arginina-metil éster) en dosis de 70 mg/kg/día durante un periodo de 10 días, incrementó la presión arterial sistólica (PAS) de manera sostenida indicando la aparición de hipertensión crónica (figura 13). El L-NAME es un antagonista competitivo del precursor natural L-arginina en el sitio catalítico de la enzima sintasa de óxido nítrico (Solari, 1999), inhibiendo así la síntesis de óxido nítrico (ON) lo que permite que los compuestos vasoconstrictores incrementen su efecto vasoconstrictor y aumente la presión sanguínea (Rodrigo et al., 2000; Jonhson, 2002; Rees et al., 1990). Navarro (1994) y Ferrer et al (1998) encontraron que a largo plazo la hipertensión inducida por la administración de inhibidores de la síntesis de ON produce una elevación en la resistencia periférica, de igual forma se ha encontrado que la inhibición crónica de ON con L-NAME incrementa la presión arterial media (PAM) y que el sistema nervioso simpático (SNS) ejerce un papel importante en el mantenimiento de la presión inducida por un tratamiento crónico con L-NAME (Cassia et al., 2002). Algunos estudios han revelado que la hipertensión producida por la administración crónica de inhibidores de la sintasa de óxido nítrico (SON), activan el sistema renina angiotensina (Jover et al., 1993; Pollock et al., 1993; Qiu et al., 1994) ya que la inhibición crónica de Ang II mostró que es capaz de prevenir y revertir la hipertensión provocada por la administración de L-NAME (Bank et al., 1994; Qiu et al., 1998), también se sugiere que esta hipertensión se mantiene por la interacción de varios mecanismos, incluyendo la activación del SNS y el sistema renina

angiotensina (Bank et al., 1994; Dampney et al., 1996; Qiu et al., 1998), así mismo la angiotensina II estimula la enzima convertidora de endotelina 1 que hidroliza a la gran endotelina y forma el péptido ET-1, otro potente vasoconstrictor, que al actuar sobre su receptor ET<sub>A</sub> conduce a la activación de la fosfolipasa C (PLC) que hidroliza el fosfolípido fosfatidil inositol, formando diacilglicerol (DAG) e inositoltrifosfato (IP3), el cual abre las puertas del retículo endoplasmático para permitir la salida de Ca<sup>2+</sup> al citosol. El tono del miocito y la tensión que éste genera durante la contracción es proporcional a la cantidad de Ca<sup>2+</sup> en el citosol, razón por la cual la unión de la ET-1 con su receptor conduce a la contracción muscular (Meaney et al., 1999).

El extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* administrado por vía oral durante un periodo de 10 días, disminuyó la PAS de los grupos de ratas con hipertensión crónica dependiente de ON (figura 14), los grupos que recibieron tratamiento con enalapril (fármaco inhibidor de la ECA) también mostraron disminución de la PAS llegando a valores similares con el grupo control. Los grupos que recibieron el extracto con las diferentes dosis mostraron decrementos de la PAS sin diferencia significativa al compararlos con los grupos tratados con enalapril (figura 15). Este efecto fue observado por Vázquez (2002) en un modelo de hipertensión dependiente de Ang II, en el cual se administró el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* por un periodo de 20-25 días por vía oral, lo que nos indica que posiblemente el extracto al ser administrado por vía oral, las sustancias vasodilatadoras son mejor absorbidas que las vasoconstrictoras, ya que el efecto hipertensor no se observa en estos grupos, al igual que aquellos a los que se les administró L-NAME y extracto acuoso con las dosis de 95, 285 y 570 mg/kg.

El extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* posee un efecto hipotensor, debido posiblemente a la presencia de los derivados de histamina, sin embargo, este efecto es de corta duración, lo que nos indica que probablemente estos compuestos se encuentran en cantidades pequeñas en las hojas. Mientras que en los modelos de hipertensión aguda y crónica, el extracto mostró efecto antihipertensor al administrarlo por vía intravenosa y oral, respectivamente, indicando la presencia de compuestos vasodilatadores o mediadores de la vasodilatación, como lo son otros compuestos presentes en las hojas con efectos fisiológicos que podrían explicar el efecto hipotensor e hipertensor del extracto, como escopoletina, que se ha encontrado que es un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico (Kim et al., 1999; Lee et al., 2004), skimianina que ejerce un efecto inhibidor sobre la actividad motora espontánea (Cheng et al., 1986).

Aunque aun falta estudiar los mecanismos por los cuales el extracto acuoso de *C. edulis* produce el efecto antihipertensor, con los resultados obtenidos es posible mencionar que el extracto acuoso de las hojas de *C. edulis* posee ambos efectos, uno vasodilatador y otro vasoconstrictor, siendo el efecto vasodilatador el más importante en los modelos de hipertensión estudiados en este trabajo.

## **7. CONCLUSIÓN**

El extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* La Llave et Lex. posee efecto hipotensor atribuido a los derivados de histamina presentes en la hojas y un efecto antihipertensor, el cual no se puede atribuir únicamente a los derivados de histamina si no que, a la presencia de otros compuestos.

---

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aaronson, P., Ward, J., Wiener, C., Schulman, S. y Gill, J. 2001. El sistema cardiovascular en esquemas. Medicina stm Editores, Barcelona, España: 6-78.
- Aguilar-Contreras, A. 1982 Plantas tóxicas de México. Instituto Mexicano del Seguro Social, México,
- Argueta, V. A. 1994. Atlas de plantas de la medicina tradicional mexicana II. Ed. Instituto Indigenista, México:1413-1414.
- Bank, N., Aynedjian, H. S y Khan, G. A.1994. Mechanism of vasoconstriction induced by chronic inhibition of nitric oxide in rats. *Hypertension*. 24:322-328.
- Bermúdez, A. F., Bermúdez, P. J y Cano, P. C. 2000. Cardiopatía isquémica. Ed. Mc Graw-Hill. Interamericana, Venezuela: 1-17,87-135, 295-335.
- Berne, R. M y Levy, M. N. 2001. Fisiología. 3ª ed. Ed. Harcout, Madrid, España: 256-264.
- Bertolasi, C., Barrero, C., Gimeo, G., Liniado, G y Mauro, V. 2000. Cardiología 2000. Tomo 3. Editorial médica panamericana. España: 2665.
- Braunwald, 1999. Tratado de cardiología. Vol I. 5a ed Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México: 387-412, 879.
- Cabrera, L. 1981. Plantas curativas de México. 2ª. ed, Libromex. Editores. México.:263-265.
- Cassia T. Bergamaschi., Vinicia C. Biancordi., Oswaldo V. Lopes y Ruy R. Campos. 2002. Effects of angiotensin blockade in the rostral ventrolateral

- 
- 
- medulla on maintenance of hipertensión induced by chronic L-NAME treatment. *Brain Research*. 927(2):195-199.
- Castro, B. A. 2000. Enfermedades cardiovasculares en la mujer. Ed. Masson, Barcelona, España: 123-143.
- Cheng, J. T. 1986. Effect of skimmianine on animal behavior. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* May, 128(1):35-43.
- Cheng, J. T., Chang, S. S y Che, I. S. 1990. Cardiovascular effects of skimianine in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* Jul-Aug, 306:65-74.
- Crawford, M y DiMarco, J. 2002. Cardiología. Vol. 1. Ediciones Harcourt, Madrid, España: 3.2.1-3.2.10.
- Dampney, R. A., Hirooka, Y., Potts, P. D y Head, G. A.1996. Fuctions of angiotensin peptides in the rostral ventrolateral medulla. *Clinic. Exp. Pharmacol. Physiol.* S105-S111.
- Delfín, L. B y Chino, V. S. 1998. Biomoléculas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México: 3577-3581.
- Dreyer, L. D. 1968. Citrus Bitter Principles. IX. Extractives of *Casimiroa edulis* Llave et Lex. The exstructure of zapoterin. *J. Org. Chem.* 33 (9): 3577-3581.
- Duane, E. 2003. Principios de neurociencia. 2ª ed. Ed. Elsevier, España: 301,476-492.

- 
- 
- Ferrer V., Fonseca J. C., García R. R y Martínez A. 1998. Óxido nítrico. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas. *MEDISAN*. 2(3):45-53.
- Gal, I. B., López, G. M., Marín, V. A y Prieto, M. J. 2001. Bases de la fisiología. Ed. Tebar, Madrid, España: 344-348.
- García-González, M. 1994. Acciones de *Casimiroa edulis* (Rutaceae) sobre la presión arterial media y frecuencia cardiaca de ratas albino. *Revista de Biología Tropical*. Vol. 42. Issue 1-2.
- Goodman y Gilman. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol. 1. 9ª ed. Ed. Mc Graw-Hill. México: 785-811.
- Guillen del Castillo, M y Linares, G. 2002. Bases biológicas y fisiológicas del movimiento humano. Ed. Médica Panamericana, Madrid, España: 253-277.
- Guyton, A. C. 1994. Fisiología y fisiopatología. 5ª ed. Ed. Interamericana, México: 143-170, 237-244.
- Guyton, H. 2001. Tratado de fisiología médica. 10ª ed. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México: 220-221, 242-250.
- Hernando, A.L. 2003. Nefrología Clínica. 2ª ed. Ed. Médica Panamericana, Madrid, España: 71-125
- Heywood, V y Syngé, H. 1991. Conservation of medicinal plants. Cambridge University, London, Gran Bretaña. 362p.
- Hicks, J.J. 2001. Bioquímica. Ed. Mc Graw-Hill, México: 756-765.

---

---

Jara, A. A. 2001. Endocrinología. Ed. Medica Panamericana, Madrid, España: 11-12, 290.

Johnson, R. 2002. Papel Potencial del Daño Renal en la Patogenia de la Hipertensión Arterial. Conferencias destacadas del XX Congreso conjunto de las Sociedades de Nefrología, Trasplante e hipertensión, Pucon. En Web. <http://www.medwave.cl/congresos/Hipertension/1.act>.

Jover, B., Herizi, A., Ventre, F., Dupont, M y Mimran, A. 1993. Sodium and angiotensin in hypertension induced by chronic nitric oxide inhibition. *Hypertension*. 21:944-948.

Kandel, R.E., Schwartz, H, J y Jessell, M. T. 2001. Principios de neurociencia. 4a ed. Ed. McGraw Hill/Interamericana, España: 967-968.

Kang, T. H., Pae, H. O., Jeong, S. J., Yoo, J. C., Choi, B. M., Jun, C. D., Chung, H. T., Miyamoto, T., Higuchi, R y Kim, Y. C. 1999. Scopoletin, an inducible nitric oxide synthesis inhibitory active constituent from *Artemisia feddei*. *Planta Medica*. Jun; 65(5): 400-403.

Khaleel, A. E. 2002. 2-Phenyl-4-quinoline alkaloids from *Casimiroa edulis* Llave et Lex. (Rutaceae). *Monatshefte für Chemie*. 133: 183-187.

Kim, N. Y., Pae, H. O., Ko, Y. S., Yoo, J. C., Choi, B. M., Jun, C. D., Chung, H. T., Inagaki, M., Higuchi, R y Kim, Y. C. 1999. In vitro inducible nitric oxide synthesis inhibitory active constituents from *Fraxinus rhynchophylla*. *Planta Medica*. Oct; 65 (7): 656-658.

- 
- 
- Lara, M. 1990. La nueva biotecnología agrícola, una agricultura intensiva más segura para el medio ambiente. En: ¿Biotecnología para el progreso de México? Suárez, B. Coordinadora. Centro de Ecodesarrollo. México.
- Lara, O. F y Márquez, A. C. 1990. Plantas medicinales de México. Composición, usos y actividad biológica. UNAM, México. DF:137p.
- Lechuga, C. J. A., Meraz, V. S., Orozco, V. J., García, S. M. D. y Cruz, S. F. 2000. Algunos aspectos de la micropropagación de plantas medicinales. *DINTEL*. 6: 67-80.
- Lee, J. H., Lee, K. T., Yang, J. H., Back, N. I y Kim, D. K. 2004. Acetylcholinesterase inhibitors from the twigs of *Vaccinium oldhami* Miquel. *Arch. Pharm. Res.* Jan, 27(1):53-56.
- Linares, E y Bye, R. 1990. Selección de plantas medicinales de México. Ed. Limusa. México: 221-222.
- Lozoya, X., Romero, G., Olmedo, M y Bondani, A. 1977. Farmacodinamia de los extractos alcohólico y acuosos de la semilla de *Casimiroa edulis*. *Archivos de investigación médica*, 8(2): 145-154.
- Lozoya-Legorreta, X., Rodríguez-Reynaga, D y Enriquez-Habib, R. 1978. Aislamiento de una sustancia hipotensora de la semilla de *Casimiroa edulis*. *Archivos de Investigación Médica*, 9 (4): 565-573.
- Magos, G., Vidrio, H y Enríquez, R. 1995. Pharmacology of *Casimiroa edulis*; III. Relaxant and contractile effects in rat aortic rings. *Journal of Ethnopharmacology*. 47 (1): 1-8.

- 
- 
- Magos, A. G y Vidrio, H. 1991. Pharmacology of *Casimiroa edulis*. Part I. Blood Pressure and heart rate effects in the anesthetized rat. *Planta Medica*. 57: 20-24.
- Magos, A. G., Vidrio, H., Reynolds, W. F y Enríquez, R. G. 1999. Pharmacology of *Casimiroa edulis* IV. Hypotensive effects of compound isolated from methanolic extracts in rats and guinea pigs. *Journal of ethnopharmacology*. 64: 35-44.
- Magos, G. A. 1999. Estudio farmacológico y químico de los metabolitos secundarios de la semilla de *Casimiroa edulis* responsables de la actividad cardiovascular en roedores. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Mantell, S.H., Mathews, J.A. y Mc.Kee, R.A. 1985. Principles of plant Biotechnology: Introduction to Genetic Engineering in plants. Blackwell scientific. Publications. Oxford. Gran Bretaña. En: Lechuga, C.J. A., Meraz, V.S., Orozco, V.J., García, S. M.D. y Cruz, S.F. 2000. Algunos aspectos de la micropropagación de plantas medicinales. *DINTEL*. 6: 67-80.
- Martínez, A. M., Evangelista, O. V., Mendoza, C. M., Morales, G. G., Toledo, O. G y Wong, L. A. 1995. Catálogo de plantas útiles de la sierra norte de Puebla, México. UNAM. Instituto de Biología. UNAM: 221.
- Martínez, M. 1987. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Ed. Fondo de Cultura Económica, México: 981.
- Meaney, E., Cervantes, J. L y Alemán, C. 1999. El papel del endotelio en las enfermedades cardiovasculares. Hipertensión arterial e insuficiencia

- 
- 
- cardiaca. Bases biológicas de la vasoprotección. Ed. Grupo mercadotecnia de Innovación y Desarrollo. México. D.F: 1-34.
- Melvin, D. C., Maurice S y Malcom, B. M. 1995. Cardiología clínica. Ed. El manual moderno, México: 293-376.
- Navarro, C. 1994. Oxido nítrico, función renal y presión arterial. *Am. J. Hiper*, 1(3): 141-144.
- Oliveira, E. J., Romero, M. A., Silva, M. S., Silva, B. A y Medeiros, I. A. 2001. Intracellular calcium mobilization as a target for the spasmolyti action of scopoletin. *Planta Medica*. Oct; 67(7):605-608.
- Olmos, T. O. 2000. Aspectos etnobotánicos y uso de zapote blanco. *Casimiroa edulis*, en la Sierra Tarahumara. En Web:  
<http://www.cucba.udg.mx/es/paginter/coaxican/Zapote.htm>
- Peña, L. M. 1990. Some examples of economically important plant secondary metabolites. En: Production of secondary metabolites from plant Tissue Culture and its Biotechnological Perspectives Loyola-Vargas, V.M. y CICY. Yucatán, México.
- Pollock, D. M., Polakowski, J. S., Divish, B. J y Opgenorth, T. J. 1993. Angiotensin blockade reverses hypertension during long-term nitric oxide synthase inhibition. *Hypertension*. 21:660-666.
- Qiu, C., Engels, K y Baylis, C.1994. Angiotensin II and alpha 1-adrenergic tone in chronic nitric oxide blockade induced hypertension. *Am. J. Physiol*. 266:R1470-R1476.

---

---

Qiu, C., Muchant, D., Bierwaltes, W. H., Rausen, L y Baylis, C. 1998. Evolution of chronic nitric oxide inhibition hypertension relationship to renal function. *Hypertension*. 31(1):21-23.

Rees, D. D., Palmer, R. M., Schulz, R., Hodson, H. F y Moncada, S. 1990. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthases in vitro and in vivo. *British Journal Pharmacology*.

Rodrigo, J., Alonso, D., Fernández, A. P., Serrano, J., López J. C., Encinas J. M., Fernández, V. P., Castro S., Peinado, M. A., Pedrosa, J. A., Richard, A., Martínez-Murillo., Santacana, M., Bentura, M. L y Uttenthal R. 2000. El óxido nítrico: síntesis, neuroprotección y neurotoxicidad. *Anales del sistema sanitario de Navarra*. 23( 2): 195-236.

Romero, M. L., Escobar, L. I., Lozoya, X y Enríquez, R. G. 1983. Determination of imidazole derivatives and rutin in aqueous and organic extracts. *Journal of Chromatography A*. 281: 245-251.

Sánchez, J.C. 1993. Utilización industrial de plantas medicinales. Seminario-Taller sobre utilización Industrial de Plantas Medicinales. Organizado por la ONUDI. Panajachel, Guatemala, 11-17 de Julio de 1993. En: El mercado Farmacéutico y las plantas medicinales.

---

---

Sánchez, L. 1998. Árboles ornamentales. En Web:  
[www.arbolesornamentales.com/casimiroaedulis.htm](http://www.arbolesornamentales.com/casimiroaedulis.htm)

Solari, L. A. 1999. Disfunción endotelial: impacto en la enfermedad arterial crónica. Primera revista electrónica de medicina interna. Revista Electrónica de SMIBA. (3). Sitio Web:  
[http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba\\_03/endotelial01.htm](http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba_03/endotelial01.htm)

Sumner, J. 2000. The natural history og medicinal plants. Timber Prees, Oregon, USA. 235p.

Suzuki, Y., Yoshimaru, T., Matsui, T., Inoue, T., Niide, O., Nunomura, S y Ra, C. 2003. Fc epsilon RI signaling of mast cells activates intracellular production of hydrogen peroxide : role in the regulation of calcium signals. *Journal Immunology*. Dec 1;171(11):6117-6127.

Tresguerres, F. J. 1999. Fisiología Humana. Mc Graw-Hill. España: 592-597.

Vázquez, M, M. 2002. Efecto de *Casimiroa edulis* La Llave & lex. (Zapote blanco) en la hipertensión arterial inducida en rata, por coartación de la aorta. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.

Vidrio, H y Magos, G. A. 1991. Pharmacology of *Casimiroa edulis*; II. Cardiovascular effects in the anesthetized dog. *Planta Medica*. 57: 217-220.

---

---

Wagner, H y Farnsworth, N.1994. Economic and Medicinal Plant Research.  
Academic Press limited, San Diego California, USA. 329p.

Zavaleta-Mancera. H. A y Engleman, E. M. 1991. Anatomía de la semilla de *Casimiroa edulis* (Rutaceae), “zapote blanco” durante su desarrollo. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 51: 67-81.

Zavaleta-Mancera. H. A y Engleman, E. M. 1991. Anatomía del fruto de *Casimiroa edulis* (Rutaceae), “zapote blanco” durante su desarrollo. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 51: 53-65.