



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTILÁN**

**EFFECTO DE LOS COMPUESTOS ANTIHIPERTENSIVOS
LQM-312 Y LQM-319 EN LA CAPTACIÓN DE GLUCOSA EN
CARDIOMIOCITOS AISLADOS DE RATAS HIPERTENSAS
POR UNA DIETA ALTA EN SAL**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A N:
RODRIGO GONZÁLEZ TERÁN
NALLELI TORRES GARDUÑO**

**ASESORAS: DRA. ROXANA CARBÓ ZABALA
DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR**

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a dios por darme la oportunidad de concluir un ciclo más, y por brindarme día con día la fuerza para salir adelante.

A mis padres por brindarme los valores, cariño y cuidados que me han permitido salir adelante, esta tesis es para ustedes, los amo.

A mi hermana por impulsarme a salir adelante y por las horas de diversión que me brinda.

A Nalleli por el gran esfuerzo que realizo para concluir este trabajo, no podría haber realizado algo mejor sin su ayuda, y a su familia.

A mis amigos por el apoyo y palabras de aliento.

A la Doctora Roxana por su guía, apoyo, paciencia, conocimiento y simpatía a través de lo largo de este trabajo.

A la Doctora Luisa por la valiosa oportunidad que nos brindo así como el continuo apoyo y paciencia brindada.

Al Instituto Nacional de Cardiología Dr. Ignacio Chávez por los recursos que se nos proporcionaron así como la asistencia de el maravilloso personal que siempre se mostro dispuesto a ayudarnos.

Se agradece el apoyo a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico DGAPA-UNAM por el apoyo brindado al proyecto IN224310 y a la FES-C por la Cátedra GVC-20.

A la UNAM por permitirme estudiar en la máxima casa de estudios, por la educación de alto nivel proporcionada así como los valores y excelentes profesores.

Rodrigo González Terán

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecerle a Dios por dejarme cumplir este sueño, que veía tan lejano, y por fin se está cumpliendo.

Agradezco a mis padres, por el apoyo incondicional, por los valores y educación que me han dado, por eso esta tesis va dedicada a ustedes. A mis hermanos igualmente quiero agradecer por el apoyo brindado y por los maravillosos momentos que siempre me hacen pasar.

A Rodrigo que es la otra mitad de este trabajo, por siempre estar a mi lado y el apoyo que siempre me ha brindado, al igual que a su familia.

A la Dra. Roxana Carbó Zabala por darnos su apoyo, conocimientos, tiempo y espacio, mi más sincero agradecimiento.

A la Dra. Luisa Martínez Aguilar por su generosidad al darnos la oportunidad de participar en este proyecto.

Al Instituto Nacional de Cardiología Dr. Ignacio Chávez por permitirnos realizar este trabajo en sus instalaciones, además del uso de equipo, espacio, reactivos y animales.

A mis amigos por compartir conocimientos, buenos momentos y darme ánimos para seguir con el proyecto, gracias.

Se agradece el apoyo a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico DGAPA-UNAM por el apoyo brindado al proyecto IN224310 y a la FES-C por la Cátedra GVC-20.

Y a la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por la formación otorgada, y orgullosamente pertenecer a la máxima casa de estudios. GRACIAS

Nalleli Torres Garduño

ÍNDICE GENERAL

	Página
1)INTRODUCCIÓN	1
2)ANTECEDENTES	2
2.1 Regulación de la Presión Arterial	2
2.1.1 Mecanismo de Acción Lenta	2
2.1.2 Mecanismo de Acción Rápida	3
2.1.3 Control Reflejo	3
2.2 Hipertensión	4
2.3 Papel de la sal como factor desencadenante del aumento de la presión Arterial	7
2.3.1 Hipertensión sensible al sodio	7
2.4 Hipertrofia cardiaca	9
2.5 Definición de Fármaco Antihipertensivo	10
2.5.1 Clasificación de Fármacos Antihipertensivos	11
2.5.2 Hipotensores de Acción Central	12
2.5.3 Bloqueadores de los receptores adrenérgicos α_1	13
2.5.4 Bloqueadores de los receptores adrenérgicos β	14
2.5.5 Bloqueadores de los receptores adrenérgicos α y β	14
2.5.6 Vasodilatadores Directos	16
2.5.7 Antagonistas del Ca^{2+}	16
2.5.7.1 Importancia del Ca^{2+} en la contractilidad cardiaca	17
2.5.8 Diuréticos	18
2.5.9 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	21
2.5.10 Fármacos Inhibidores de la ECA	24
2.5.11 Captopril	26
2.6 Antecedentes de los LQM 300's	27
2.7 Metabolismo Cardiaco	29
2.7.1 Hipoxia	32
2.8 Captación de Glucosa	35
2.8.1 Transportadores de Glucosa	35
2.8.2 Glut 1	38
2.8.3 Glut 4	39
3) OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo General	41
3.2 Objetivos Particulares	41
4) HIPÓTESIS	42
5) METODOLOGÍA	42
5.1 Animales	42
5.2 Alimento con NaCl	42
5.3 Medición de la Presión Arterial	43
5.4 Preparación y Administración de los Compuestos	43
5.5 Obtención de Miocitos	43
5.6 Miocitos aislados tratados con los anticuerpos Anti-Glut 1 y Anti-Glut 4 en oxigenación e hipoxia	45

5.7 Medición de la captación de glucosa	47
5.8 Análisis Estadístico	47
6) RESULTADOS	48
6.1 Modelo de HP	48
6.2 Efecto de la HP en la captación de glucosa de cardiomiocitos	51
6.3 Participación de los transportadores de glucosa (Gluts) en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa	52
6.4 Efecto del Captopril en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control e hipertensa y la participación de los Gluts	53
6.5 Efecto del LQM-312 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control e hipertensa y la participación de los Gluts	55
6.6 Efecto del LQM-319 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control e hipertensa y la participación de los Gluts	57
7) DISCUSIÓN DE RESULTADOS	59
8) CONCLUSIONES	64
9) PROYECCIONES	64
10) REFERENCIAS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Se esquematizan los patrones principales de HC según el tipo de sobrecarga hemodinámica que las origina en miocitos cardiacos	9
Figura 2. Representación gráfica de la acción de un hipotensor de acción central, como lo es la clonidina sobre el sistema nervioso regulando la PA	13
Figura 3. Esquema de Acción de fármacos bloqueadores α y β regulando la PA en el organismo	15
Figura 4. Esquematación del efecto de los fármacos moduladores de Ca^{2+} en el corazón	17
Figura 5. Representación gráfica de la acción de los diversos tipos de diuréticos en el sistema renal	20
Figura 6. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	21
Figura 7. Esquema de la acción de los iECA para la disminución de la PA	25
Figura 8. Estructura química del Captopril	26
Figura 9. Estructura de la changrolina, dividida en sus 3 regiones	27
Figura 10. Regulación de la vía glucolítica	31
Figura 11. Efecto de la hipoxia sobre el movimiento de los iones	34
Figura 12. Estructura de los GLUTS	35
Figura 13. Esquema del transporte de glucosa hacia el interior celular	36
Figura 14. Representación esquemática del reclutamiento de los Glut 1 y Glut 4 hacia la membrana plasmática de las células musculares, sujetas a estimulación por insulina, ejercicio, hipoxia e hiperglucemia	40

Figura 15. Sistema de Perfusión Retrógrada tipo Langendorff en corazón de rata	44
Figura 16. Cardiomiocitos de rata aislados	44

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Presión Sistólica y Diástolica durante el tratamiento con la dieta de sal, por 4 semanas y por 4 semanas sin la dieta	49
Gráfica 2. Frecuencia Cardíaca durante el tratamiento con la dieta de sal, por 4 semanas y por 4 semanas sin la dieta	49
Gráfica 3. Presiones Sistólicas de los diferentes grupos experimentales (mmHg)	50
Gráfica 4. Efecto de la hipoxia en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa	51
Gráfica 5. Participación de los Transportadores de Glucosa (Gluts) en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa	52
Gráfica 6. Panel A: Efecto del captopril en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control. Panel B: Efecto del captopril en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata Hipertensa	54
Gráfica 7. Panel A: Efecto del LQM-312 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control. Panel B: Efecto del LQM-312 en la captación de glucosa en cardiomiocitos de rata hipertensa	56
Gráfica 8. Panel A: Efecto del LQM-319 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control. Panel B: Efecto del LQM-319 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa	58

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1. Clasificación de acuerdo a los niveles de presión arterial (mmHg)	5
TABLA 2. Clasificación de los agentes antihipertensivos y algunos ejemplos	11
TABLA 3. LQM 312 Y 319	28
TABLA 4. Clasificación y características de los transportadores de glucosa	37
TABLA 5. Grupos Experimentales	45
TABLA 6. Modelo de Hipertensión	48

ABREVIATURAS

A	Adrenalina
Ac	Acetilcolina
ACTH	Hormona adrenocorticotrópica
ADH	Hormona antidiurética
ADP	Adenosin difosfato
AMP	Adenosin monofosfato
Ang I	Angiotensina I
Ang II	Angiotensina II
ATP	Trifosfato de adenosina
Ca²⁺	Calcio
Cl⁻	Cloro
DAG	Diacilglicerol
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
ENSA 2000	Encuesta Nacional de Salud 2000
FADH₂	Flavin adenindinucleótido
Gluts	Transportadores de Glucosa
GMPc	Guanosín monofosfatocíclico
HA	Hipertensión arterial
HAS	Hipertensión arterial sistémica
HC	Hipertrofia cardiaca
HP	Hipertensión
iECA	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
IP₃	Trifosfato de inositol
K⁺	Potasio
LQM	Laboratorio de Química Medicinal
Mg²⁺	Magnesio
NA	Noradrenalina
Na⁺	Sodio
N₂	Hipoxia
NADH	Dinucleótido de nicotinamida
O₂	Oxigenación
PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PNA	Péptido natriurético auricular
RTM	Regiones transmembrana
Tyr	Tyrosina

1) INTRODUCCIÓN

En la actualidad las enfermedades cardiovasculares tienen una gran incidencia en nuestro país ya que de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud (ENSA 2000), determinó que existe una prevalencia del 30.05% de personas que padecen Hipertensión Arterial (HA). En 1980 la tasa de mortalidad fue de 4.8 por cada 100,000 habitantes y para el año 2002 de 9.9 por cada 100,000 habitantes, aumentando en un 97% [1]; afectando principalmente a hombres, aunque también la padecen mujeres. Las edades van desde los 20 a los 69 años [2], y a partir de los 50 años la incidencia sobrepasa al 50%, es por esto que es de gran importancia la investigación en este rubro para encontrar fármacos más seguros y eficaces, que ayuden a controlar y curar este tipo de padecimientos. Se estima que la padecen alrededor de 20 millones de mexicanos, esta situación es preocupante ya que menos del 10% de los enfermos de hipertensión están controlados de manera debida. Controlar la HA disminuye el riesgo de padecer otro tipo de padecimientos como accidente cerebro-vascular, además el controlarla mejoraría las expectativas y la calidad de vida. La mayoría de las complicaciones relacionadas con la HA se pueden prevenir pero el poco conocimiento y control efectivo de la hipertensión por parte de profesionales y pacientes hacen más dramática la situación actual en salud pública [3].

El presente trabajo se realizó debido a que la hipertensión es una enfermedad de alta incidencia en la población mexicana, por lo tanto se busca desarrollar nuevos fármacos que sean altamente efectivos causando menos efectos adversos. A través de la presente tesis se probaron el LQM-312 y LQM.319, compuestos sintetizados en la FES-Cuautitlán en el Laboratorio de Química Medicinal a partir de la changrolina, éstos compuestos se sabe que poseen un efecto antihipertensivo, hipotensor y vasodilatador, por lo que se provocó hipertensión a ratas wistar proporcionándoles una dieta alta en NaCl para probar el efecto cardioprotector en la situación de hipoxia, a través de la modificación de los mecanismos de captación de glucosa de cardiomiocitos aislados.

2) ANTECEDENTES

2.1 Regulación de la presión arterial

Existen varios mecanismos partícipes en la regulación de la presión arterial como son:

2.1.1 Mecanismo de acción lenta:

Se activan después de algunas horas como ejemplo:

Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona: al reducirse el flujo renal o la volemia (cantidad de sangre total en el organismo en un momento dado), las células yuxtaglomerulares en los riñones excretan más renina a la sangre. La enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) y la renina reaccionan con sus sustratos correspondientes originando su forma activa Angiotensina II (Ang II), y ésta incrementa la PA a través de dos mecanismos: Por vasoconstricción arteriolar: provoca el incremento de resistencias vasculares o periféricas (fuerza que se opone al flujo de la sangre) y por excreción de aldosterona, produce reabsorción renal de sodio y agua y una elevación de la volemia [3].

Sistema Nervioso Simpático: La adrenalina (A) y la noradrenalina (NA) son hormonas que se excretan en la médula suprarrenal por estimulación del sistema nervioso simpático. Provocan un incremento del gasto cardiaco al aumentar la contractibilidad y la frecuencia cardiaca (es el número de veces que late el corazón por unidad de tiempo). Inducen la vasoconstricción arteriolar, ya que incrementan la resistencia periférica. Producen vasoconstricción venosa en piel y vísceras abdominales provocando el retorno venoso (volumen de sangre que retorna al corazón). La adrenalina causa vasodilatación arterial en el miocardio [3].

Sistema Endócrino: La hormona antidiurética (ADH) provoca vasoconstricción arteriolar ya que induce reabsorción de agua en el riñón; ésta es liberada por la hipófisis cuando disminuye la volemia. Asimismo, el péptido natriurético auricular (PNA) provoca vasodilatación e incrementa la excreción de iones y agua en el riñón,

disminuyendo la presión arterial y se excreta en las células auriculares cardíacas distendidas por el aumento del volumen sanguíneo [3].

2.1.2 Mecanismos de acción rápida:

Este tipo de mecanismo se activa casi inmediatamente después de que se registra un incremento o baja en la presión arterial, su activación está vinculada con el sistema nervioso autónomo y el centro cardiovascular, dentro del primero se encuentra el sistema nervioso simpático y sistema nervioso parasimpático [3].

Los impulsos aferentes son la entrada de información y avisan de un cambio en los valores de presión arterial al centro cardiovascular a través de receptores sensoriales periféricos (barorreceptores y quimiorreceptores) o impulsos en el cerebro [3].

El Sistema nervioso simpático ayuda al control de la circulación. Los estímulos simpáticos en los vasos regularizan el diámetro cambiando la resistencia vascular en las arteriolas evitando el paso rápido de la sangre de las arterias en adelante; acrecentando la presión arterial. La vasoconstricción provoca una elevación del retorno venoso en las venas. Mientras que el Sistema nervioso parasimpático regula las funciones cardíacas a través de fibras parasimpáticas que inervan al corazón a través del nervio vago. El producto de la estimulación parasimpática es un descenso de la contractibilidad miocárdica y de la frecuencia cardíaca [3].

Los Impulsos eferentes son la salida de información y emiten impulsos a través de nervios del sistema nervioso simpático y sistema nervioso parasimpático desde el centro cardiovascular hacia el resto del organismo [3].

2.1.3 Control Reflejo:

El mecanismo reflejo de retroalimentación negativa que conserva de manera involuntaria el rango de presión arterial en límites normales. Se controla mediante:

Los reflejos barorreceptores son terminales nerviosas que se encuentran en la pared de un vaso que pueden ser activadas por cambios en la presión arterial sobre la pared vascular. Éstos son muy importantes en los cambios de postura, ya que si una

persona se encuentra acostada y posteriormente se pone de pie o se sienta, habrá un descenso de la presión arterial en la parte superior del cuerpo y cabeza provocando así la estimulación de los senos carotídeos y aórticos los que inician de manera refleja una descarga simpática normalizando la presión arterial [3].

El reflejo de senos carotídeos tiene como función conservar los valores de presión arterial normales en el cerebro. Se acciona por inervación de los barorreceptores de las paredes de los senos carotídeos (arterias del cuello). El incremento de presión arterial alarga la pared de éstos, activando los barorreceptores. Los impulsos nerviosos se extienden al centro cardiovascular y éste por medio del sistema nervioso parasimpático dirige estímulos para reducir la presión arterial [3].

Los reflejos quimiorreceptores son los receptores que responden a la concentración de oxígeno en la sangre y se sitúan en la bifurcación carotídea y en el cayado aórtico. Estas células son sensibles a la presión parcial de O_2 , CO_2 y el pH cuando baja la presión arterial y disminuye la pO_2 ya que el flujo sanguíneo es más lento, provoca la estimulación de los quimiorreceptores; los que de manera refleja incrementan la presión arterial. Cabe mencionar que este tipo de reflejo sólo se produce ante una baja considerable en la presión arterial [3].

2.2 Hipertensión

La hipertensión arterial sistémica (HAS) es un padecimiento multifactorial, caracterizado por aumento sostenido de la presión arterial (PA) igual o mayor a 140/90 mm Hg [1]. La medición de la presión arterial consta de dos parámetros:

- Presión arterial sistólica (PAS): el término sístole hace referencia a la contracción del corazón; durante la sístole ventricular la presión arterial adquiere su valor máximo (presión sistólica) y sus valores son aproximadamente de 120 mm Hg
- Presión arterial diastólica (PAD): el término diástole hace referencia a la relajación del corazón; la presión mínima coincide con la diástole ventricular

(presión diastólica) y su valor 80 mm Hg relacionado con la elasticidad de las arterias que transmiten la energía desde sus paredes a la sangre durante la diástole

Para mantener un flujo equivalente en los sistemas pulmonar y sistémico, los ventrículos izquierdo y derecho mantienen el mismo gasto cardíaco. El gasto cardíaco es el volumen total de sangre por minuto bombeado por los ventrículos (frecuencia cardíaca X volumen sistólico) y aumenta durante el ejercicio físico intenso para transportar más oxígeno a los músculos. Existen diferentes formas de clasificar a la hipertensión por su nivel de presión (Tabla 1) y por su etiología.

Tabla 1. Clasificación de acuerdo a los niveles de presión arterial (mm Hg) [1]

Categoría	Sistólica	Diastólica
Óptima	<120	<80
Adecuada	120 a 129	80 a 84
Adecuada Alta	130 a 139	85 a 89
Hipertensión 1 (leve)	140 a 159	90 a 99
Hipertensión 2 (moderada)	160 a 179	100 a 109
Hipertensión 3 (grave)	≥180	≥110
Sistólica Aislada	≥140	<90

- Clasificación Etiológica de la HA [4]

La hipertensión arterial esencial es llamada así por el desconocimiento de su causalidad, aunque se ha encontrado alteraciones en la función vascular, renal, metabólica, y de los sistemas renina-angiotensina-aldosterona.

La hipertensión arterial secundaria es llamada así ya que es provocada por otra enfermedad o condición.

Por enfermedad renal que lo provoca una glomerulonefritis, el lupus eritematoso sistémico, la insuficiencia renal, los tumores, las malformaciones en el riñón, una estenosis en la arteria renal y la pielonefritis.

Enfermedad cardiovascular lo incitan la coartación de la aorta, la hipoplasia de la aorta abdominal y la arteritis.

Enfermedad Endocrina lo producen la Hiperplasia adrenal, el hipertiroidismo, la feocromocitoma e hipercalcemia.

Enfermedad Neurogénica lo originan la hiperventilación alveolar, un tumor cerebral, la encefalitis, la poliomielitis bulbar y los tumores cromafines.

Enfermedad Exógena se puede presentar por intoxicaciones por plomo y talio; por fármacos como: las aminas simpaticomiméticas, los inhibidores de la MAO combinados con tiramina, los anovulatorios, los esteroides, los antiinflamatorios no esteroideos, los vasoconstrictores nasales, las pomadas con mineralocorticoides o por alimentos como el regaliz.

Otras enfermedades que lo promueven son la policitemia, el estrés, las quemaduras, el síndrome carcinoide, la toxemia del embarazo y la preeclampsia y eclampsia, el ruido y una dieta rica en sodio.

Por otro lado la HA puede ser predispuesta por distintos factores como: factores de riesgo no modificables, factores de riesgo modificables y factores biológicos. Entre los factores de riesgo no modificables se encuentran: la edad, el sexo, el origen étnico, la herencia, cabe mencionar que este tipo de aspectos son inherentes al individuo. Los factores de riesgo modificables son aquellos que pueden ser disminuidos, evitados o eliminados, y entre ellos hallan: el tabaquismo, el sedentarismo, el alcoholismo y la dieta alimenticia. Y por último encontramos a los factores biológicos como la obesidad, las dislipidemias y la diabetes mellitus.

2.3 Papel de la sal como factor desencadenante del aumento de la PA

La cantidad de Na^+ presente en la dieta se ha acrecentado en las últimas décadas en los países occidentales, tal vez por un aumento en el consumo de alimentos preparados, por lo que incrementa la PA. Se recomienda en normotensos con alto riesgo de padecer hipertensión (diabéticos, mayores de 45 años, y pacientes con patología renal crónica) el consumo de menos de 100 mmol/día de Na^+ , mientras que en hipertensos, la ingesta diaria de Na^+ deberá limitarse a 65-100 mmol/día (4-5 gr de cloruro sódico). La excesiva restricción salina parece ser perjudicial para ciertos individuos, que son sensibles a la sal, aumentando las cifras de colesterol total, c-LDL, ácido úrico y resistencia insulínica [3].

Existen efectos beneficiosos adicionales de la reducción de Na^+ en la dieta como: Aumento de la eficacia del tratamiento antihipertensivo farmacológico, reducción de la pérdida de K^+ inducida por los diuréticos, reducción de la proteinuria, reducción de la excreción urinaria de Ca^{2+} , disminución de la osteoporosis, disminución de la prevalencia de cáncer de estómago, disminución de la prevalencia de asma, disminución de la prevalencia de cataratas y protección contra el desarrollo de HTA [3].

2.3.1 Hipertensión sensible a Na^+

La sensibilidad al Na^+ es un término de uso reciente, y que desarrolla un alto número de pacientes hipertensos. Estudios recientes han demostrado que pacientes de edad avanzada tienen probabilidad de presentar HA debido a un daño progresivo en el riñón por factores como el estrés oxidativo y la predisposición genética.

La sensibilidad al Na^+ provoca un aumento del volumen intravascular provocado por el desequilibrio entre la AII y la excreción de Na^+ que despierta los mecanismos de elevación de la PA; este es el mecanismo inicial de defensa que utiliza el organismo

para promover la natriuresis. Cabe mencionar que más del 40% de los pacientes no son sodio sensibles en etapas tempranas; lo anterior tiene un gran impacto en la población hipertensa joven, como la mexicana. Infortunadamente, la mayoría de los hipertensos se detecta en forma tardía (> 40 años de edad), y debido a que no se puede detectar la HA en forma más temprana, más del 75% ya habrá desarrollado sensibilidad al Na^+ cuando acuda al médico. Por lo tanto es conveniente recomendar un baja ingesta de Na^+ [2].

Es de esperarse que una restricción de Na^+ provoque un efecto hipotensor pero en grupos como personas de edad avanzada, de raza negra, sujetos con HA, diabetes o nefropatía crónica, el efecto se puede ver contrarrestado, ya que tienen un sistema renina-angiotensina-aldosterona menos sensible, y la hipotensión no será muy notoria [5].

En los estudios experimentales se ha demostrado que el aumento de la ingestión de sal eleva más la presión arterial que el aumento de la ingestión de agua, ya que el agua pura se excreta normalmente por los riñones casi con la misma velocidad con la que se ingiere, mientras que la sal no se excreta tan fácilmente. A medida que se acumula la sal en el organismo aumenta indirectamente el volumen de líquido extracelular por 2 razones básicas: la primera cuando hay un exceso de sal en el líquido extracelular aumenta la osmolalidad del líquido, lo que a su vez, estimula el centro de la sed en el cerebro, haciendo que la persona beba cantidades extra de agua para normalizar la concentración extracelular de sal, resultando en un aumento del volumen de líquido extracelular. Y la segunda el aumento de la osmolalidad causado por el exceso de sal en el líquido extracelular también estimula el mecanismo secretor del eje hipotálamo-hipófisis posterior para segregar cantidades mayores de hormona antidiurética; a su vez, la hormona antidiurética provoca la reabsorción renal de cantidades mucho mayores de agua del líquido tubular renal, disminuyendo el volumen excretado de orina pero aumentando el volumen de líquido extracelular. La acumulación de una cantidad extra de sal en el organismo, aunque sea pequeña, provoca una elevación considerable de la presión arterial [6].

2.4 Hipertrofia Cardíaca

En diversas condiciones fisiológicas y/o patológicas surgen una variedad de estímulos como el estiramiento del miocardio producido por aumento de la carga hemodinámica y/o la liberación de factores humorales circulantes o provenientes de las mismas células cardíacas (mecanismos autócrinos y/o parácrinos) que a través de la activación de señales intracelulares, promueven el aumento del tamaño de los cardiomiocitos a expensas de la formación o agregado de sarcómeros. De esta manera los miocitos cardíacos crecen en largo y/o en ancho dando origen a la hipertrofia cardíaca (HC) [7].

La hipertrofia cardíaca puede ser provocada por factores naturales como es la sobrecarga hemodinámica, actividad física intensa, embarazo; o por circunstancias de sobrecarga hemodinámica patológica de presión y/o de volumen secundarias a hipertensión arterial, miocardiopatía primaria, infarto agudo de miocardio, estenosis o insuficiencias valvulares [7].

En estudios clínicos y en animales sugieren que un alto consumo de NaCl está asociado con la hipertrofia ventricular, independientemente de la PA [8]. (Ver Figura 1)



Figura 1. Se esquematizan los patrones principales de HC según el tipo de sobrecarga hemodinámica que las origina en miocitos cardíacos [7].

El tratamiento farmacológico de la HA tiene como objetivos el descenso de la PA además de disminuir el riesgo de complicaciones cardiovasculares y renales en el enfermo hipertenso a largo plazo.

El fármaco antihipertensivo ideal es aquel que posee las siguientes condiciones [9]:

- Deber ser activo por vía oral y por las vías parenterales
- Debe provocar un descenso de la presión arterial en forma progresiva hasta alcanzar los niveles normales o convenientes
- Dichos valores tensionales han de producirse tanto en posición de pie como acostada
- El fármaco ha de ejercer una acción antihipertensiva sostenida durante la administración prolongada de la misma
- Debe producirse alivio de los síntomas subjetivos
- Debe producirse un retroceso o una mejoría manifiesta del estado cardiaco anormal, evidenciado por los signos radiológicos y electrocardiográficos
- Debe producir el restablecimiento de la función renal si estaba alterada y de las lesiones retinianas
- No ha de provocar reacciones adversas ni hipotensión ortostática
- No debe producir tolerancia
- El fármaco debe ser económico, ya que ha de utilizarse en tratamientos prolongados

2.5 Definición de fármaco antihipertensivo

Un fármaco antihipertensivo es aquel fármaco que ayudara a disminuir la presión arterial a través de distintos mecanismos. Se clasifican en [4]:

- Hipotensores de Acción Central
- Bloqueadores de la Transmisión Adrenérgica: α Bloqueadores, β Bloqueadores y α y β Bloqueadores
- Vasodilatadores Directos

- Antagonistas del Calcio
- Diuréticos
- Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
- Antagonistas de los Receptores de Angiotensina II

2.5.1 Clasificación de Fármacos Antihipertensivos

Existen muchos grupos de fármacos antihipertensivos debido a su mecanismo de acción, en la tabla 2 se muestran algunos ejemplos.

Tabla 2. Clasificación de los agentes antihipertensivos y algunos ejemplos [4]:

Antihipertensivo	Ejemplos
Hipotensores de acción central	Metildopa, clonidina y moxonidina, alcaloides de la rauwolfia: reserpina.
Bloqueadores de la transmisión adrenérgica	<p>α Bloqueadores: doxazosina, prazosina y terazosina.</p> <p>β Bloqueadores: acebutolol, atenolol, isoprolol, propanolol y metoprolol.</p> <p>α y β Bloqueadores: carvedilol y labetalol.</p>
Vasodilatadores directos	Diazóxido, nitroprusiato sódico, hidralacina, y dihidralacina.
Antagonistas del Ca^{2+}	Nicardipina, felodipina, lercaridipino, nitrendipina, verapamilo y diltiazem.
Diuréticos	Tiacidas y ahorradores de potasio
Inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina	Benazepril, captopril, enalapril, espirapril y ramipril.
Antagonistas de los receptores de angiotensina II	Losartan, irbesartan y valsartan.

2.5.2 Hipotensores de Acción Central

Los hipotensores de acción central disminuyen la actividad del centro vasomotor del encéfalo, uniéndose al receptor adrenérgico α_1 , sintetizando a la adrenalina, lo cual produce una disminución de la actividad simpática y por consiguiente una vasodilatación. También reducen la frecuencia y el gasto cardíaco.

Los fármacos de acción central son agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos, ya que activan a los receptores adrenérgicos α_2 (centro vasomotor hipotalámico y tallo encefálico) para atenuar la salida de señales adrenérgicas vasoconstrictoras hacia el sistema nervioso simpático periférico, la activación de los receptores adrenérgicos α_2 presinápticos producen inhibición de la liberación de noradrenalina y por consiguiente vasodilatación. (Ver Figura 2).

Los hipotensores de acción central están indicados para pacientes hipertensos, especialmente los que padecen insuficiencia renal o afectación vascular cerebral. La metildopa es un profármaco; ya que al ser metabolizada en el sistema nervioso central para α -metilnoradrenalina, es un agonista de los receptores adrenérgicos α_2 . La clonidina y la metildopa son ejemplos de fármacos hipotensores de acción central. Son fármacos de segunda o tercera línea en el tratamiento de la hipertensión. La metildopa se usa en raras ocasiones, debido a que provoca ciertos efectos adversos. Es segura en el tratamiento de la hipertensión durante el embarazo, pacientes asmáticos y aquéllos que tienen insuficiencia cardíaca. No deben ser administrados en pacientes que sufren depresión, hepatopatías o feocromocitoma. Producen algunas reacciones adversas, como por ejemplo: sequedad de boca, sedación, hipotensión artostática, disfunción sexual masculina y galactorrea [10].

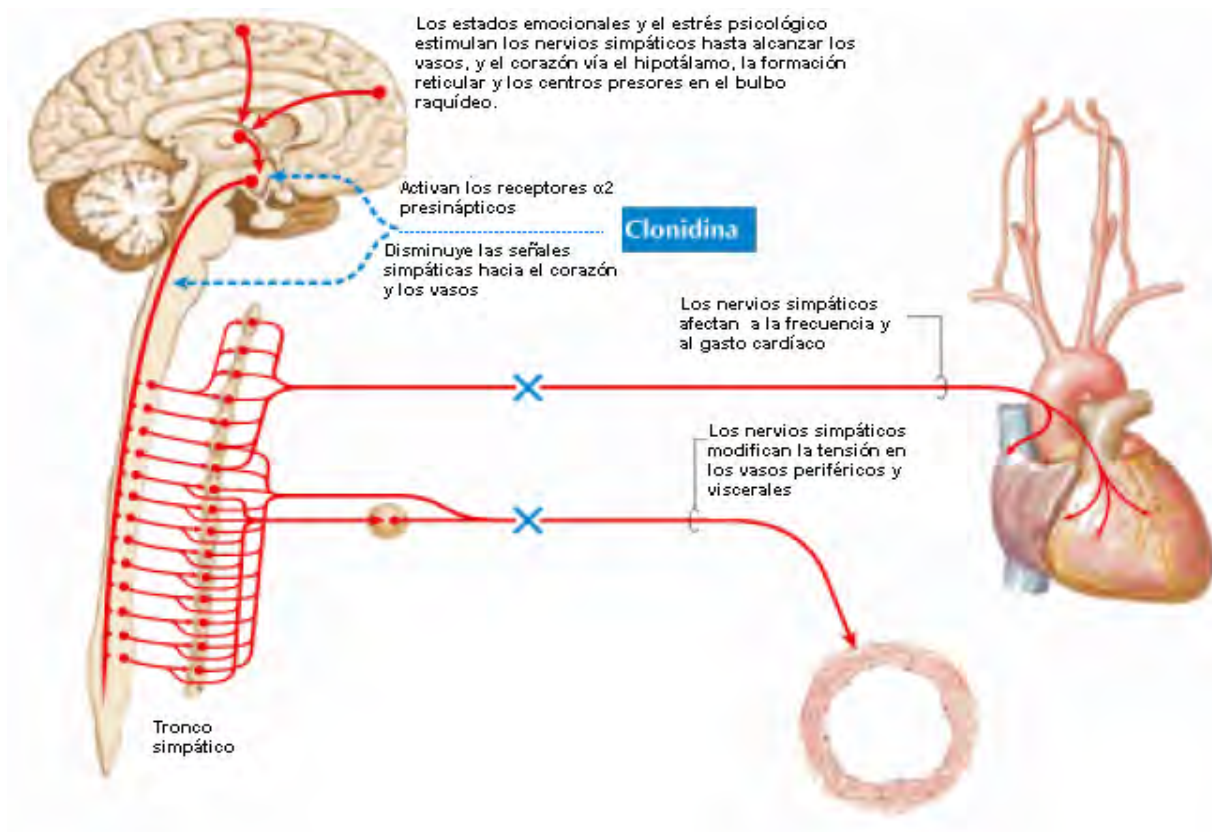


Figura 2. Representación gráfica de la acción de un hipotensor de acción central, como lo es la clonidina sobre el sistema nervioso regulando la PA [11].

2.5.3 Bloqueadores de los receptores adrenérgicos α_1

Los bloqueadores de los receptores adrenérgicos α_1 producen una inhibición de la vasoconstricción mediada por receptores adrenérgicos α_1 , disminuyendo las resistencias periféricas y la presión venosa. Esto se ve regulado por el bloqueo de la unión de catecolaminas a los receptores adrenérgicos α_1 postsinápticos, inhibiendo la vasoconstricción mediada por éstas e induciendo por tanto vasodilatación. Se usan en el tratamiento de la hipertensión, hiperplasia prostática y enfermedades de las arterias coronarias pero no deben ser administrados en personas que padezcan estenosis aórtica. Entre las reacciones adversas que producen se encuentran la hipotensión postural, mareo, cefalea acompañada de fatiga, debilidad, palpitaciones y náuseas. La prazosina y la doxazosina son ejemplos de bloqueadores de los receptores adrenérgicos α_1 [10].

2.5.4 Bloqueadores de los receptores adrenérgicos β

Estos fármacos bloquean a los receptores adrenérgicos β_1 del corazón, lo que origina una disminución de la frecuencia cardíaca, de la PAS, de la contractibilidad cardíaca y de la demanda de oxígeno del miocardio, el efecto antihipertensivo se puede explicar por un antagonismo competitivo de las catecolaminas sobre los receptores adrenérgicos periféricos.

Esto se debe a que estos receptores son parte del sistema de la adenilciclase, ya que el receptor adrenérgico β se encuentra acoplado a ésta y la proteína G sufre un cambio conformacional cambiando a G_s en forma activada y tiene como consecuencia la formación de AMPc a partir de ATP. Este segundo mensajero intracelular es el responsable de la estimulación β [12].

Los bloqueadores β se emplean para tratar la angina de pecho, arritmias inducidas por aumento de tono simpático, hipertensión, tirotoxicosis, glaucoma y ansiedad; se contraindican para pacientes asmáticos, bradicardia, hipotensión. Además los antagonistas de los receptores adrenérgicos β_1 pierden selectividad cuando se emplean a dosis altas. Pueden producir los siguientes efectos secundarios: broncoespasmo, insomnio y fatiga, mareo, frialdad de extremidades, bradicardia, bloqueo cardíaco, hipotensión y disminución de la tolerancia a la glucosa en pacientes diabéticos. El propanolol, atenolol y el metoprolol son ejemplos de fármacos β bloqueadores adrenérgicos [10].

2.5.5 Bloqueadores de los receptores adrenérgicos α y β

Son fármacos utilizados en el tratamiento de la hipertensión y actúan bloqueando a los receptores adrenérgicos β_1 en el corazón, los receptores adrenérgicos β_2 en los músculos bronquiales y vasculares y los receptores adrenérgicos α_1 en los músculos lisos vasculares. La potencia β -bloqueadora es de 3 a 7 veces mayor que la actividad α . Por otra parte se ha observado que el labetalol posee una actividad agonista β_2 intrínseca que contribuye al efecto vasodilatador. Adicionalmente muestran un efecto estabilizante de la membrana similar al de la quinidina, aunque sólo es evidente con dosis elevadas.

El labetalol se diferencia de otros bloqueadores β como el propranolol en que no reduce la filtración glomerular ni el flujo renal, probablemente a que el efecto combinado de las actividades α y β modifica poco el gasto cardíaco. Como resultado de estas propiedades, el labetalol ocasiona una vasodilatación y una reducción de las resistencias periféricas sin producir grandes cambios en la frecuencia cardíaca, el gasto cardíaco o el volumen-latido. Se deben utilizar con precaución en pacientes con hipertiroidismo o tirotoxicosis debido a que pueden enmascarar la taquicardia propia de estas enfermedades [10]. (ver Figura 3)

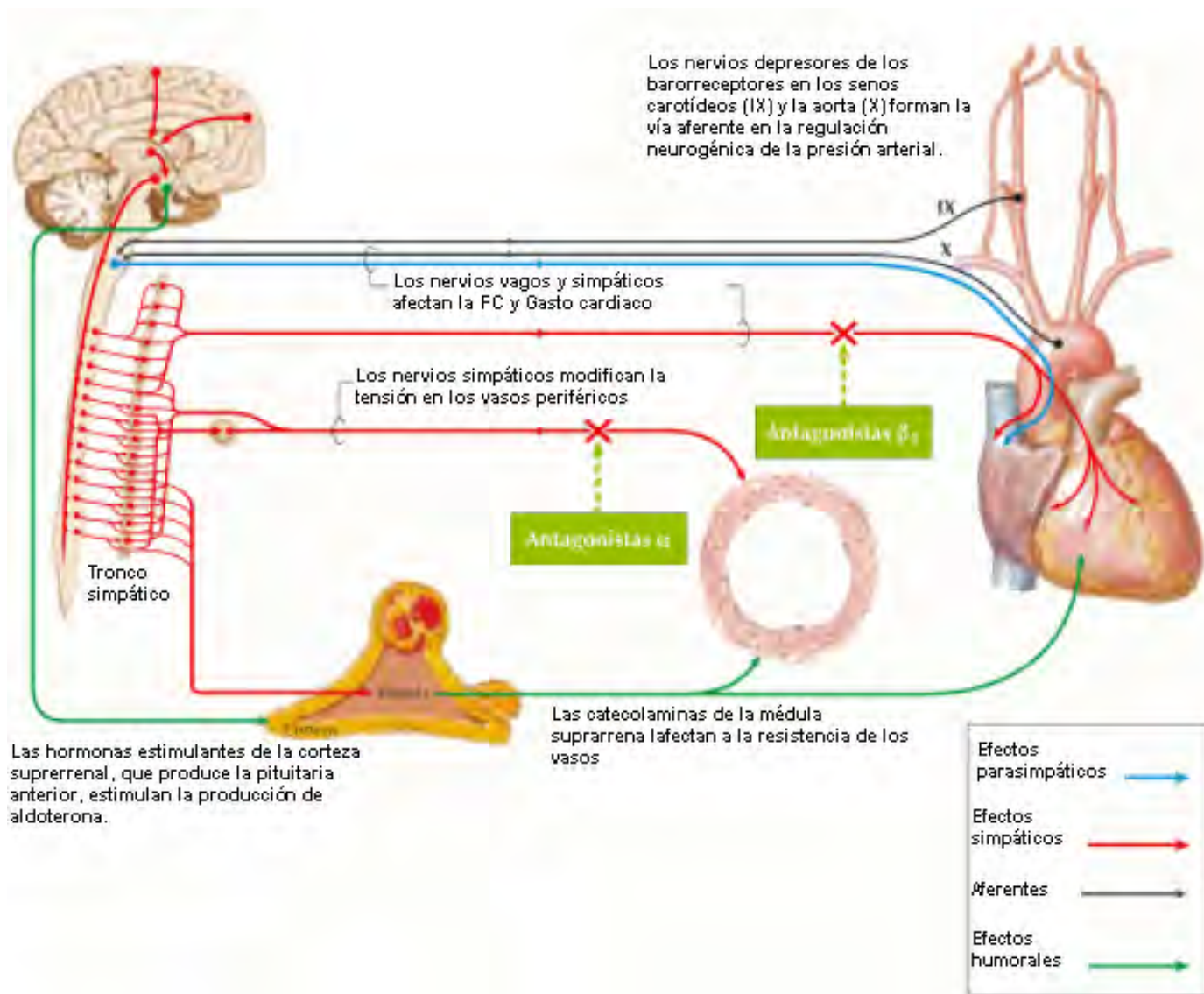


Figura 3. Esquema de Acción de fármacos bloqueadores α y β regulando la PA en el organismo [11].

2.5.6 Vasodilatadores Directos

Estos fármacos producen vasodilatación directa al activar la guanililciclase y por este motivo aumenta los niveles de GMPc (guanosín 3',5'monofosfato cíclico); se relaja el músculo liso en los vasos de resistencia precapilares, disminuyendo las resistencias periféricas y por lo tanto la PA. Se utilizan en el tratamiento de la hipertensión y en la insuficiencia cardíaca, la hidralacina se administra por vía oral mientras que el nitroprusiato sódico se administra por vía intravenosa. Pueden producir reacciones adversas como: náuseas, vómitos, cefalea, dolor abdominal y palpitaciones. Como ejemplos de este tipo de fármacos tenemos a la hidralacina y el nitroprusiato sódico entre otros [10].

2.5.7 Antagonistas del Ca²⁺

Estos fármacos bloquean los canales de Ca²⁺ de tipo L, atenuando la entrada de Ca²⁺ en las células cardíacas y vasculares. El reducido nivel de Ca²⁺ intracelular que esto conlleva provoca una disminución de la contractilidad y por lo tanto se produce vasodilatación provocando así disminución de la PA, baja de la postcarga por la aminoración de la presión arteriolar; aumento el flujo sanguíneo coronario, disminución de la contractibilidad cardíaca y por lo tanto aminoración del consumo de oxígeno por el miocardio, así como disminución de la Frecuencia Cardíaca (FC). (Ver Figura 4) Los bloqueadores de los canales de Ca²⁺ son utilizados en la profilaxis y en el tratamiento de la angina de pecho e hipertensión no deben ser administrados a pacientes que estén en shock cardiogénico o estenosis aórtica avanzada e insuficiencia cardíaca grave. Pacientes que estén tomando bloqueadores adrenérgicos β o que padezcan bradicardia grave ya que pueden producir efectos secundarios como: hipotensión, erupciones cutáneas, taquicardia, además periféricos y rubefacción acompañada de mareo. El verapamilo, diltiacem y nifedipino constituyen ejemplos de agentes bloqueadores de los canales de Ca²⁺. Éstos producen menos efectos secundarios que los bloqueadores β [10].

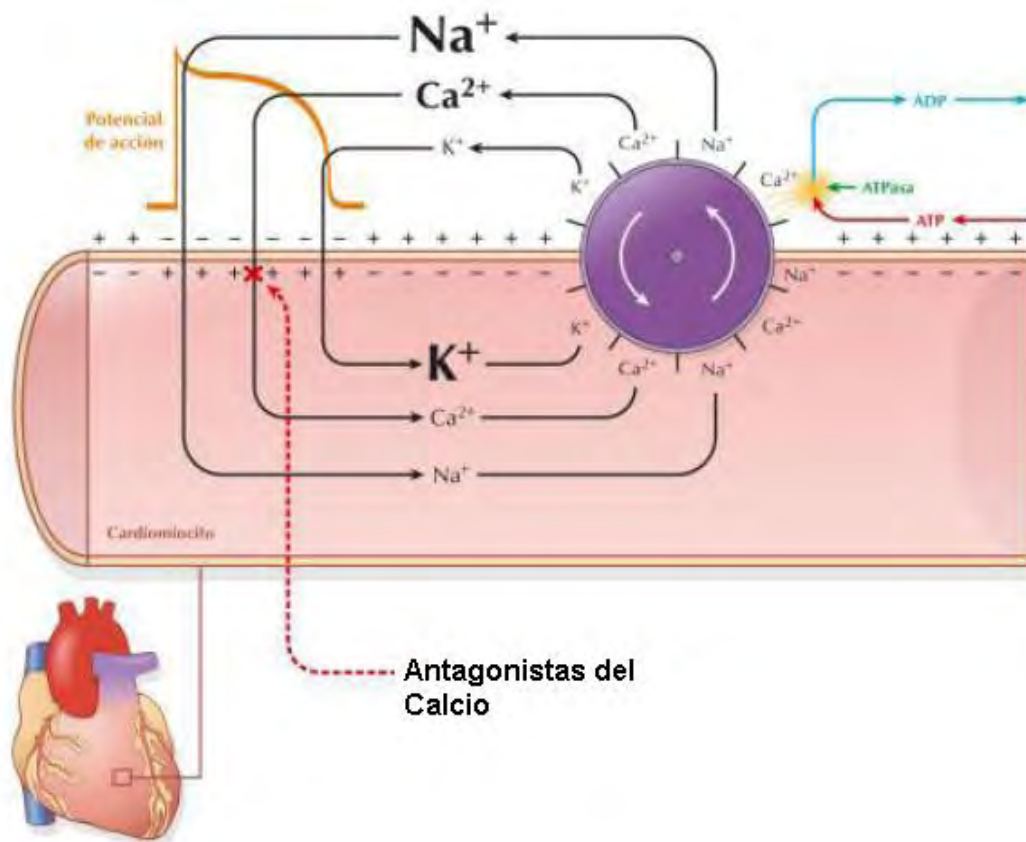


Figura 4. Esquematización del efecto de los fármacos moduladores de Ca²⁺ en el corazón [11].

2.5.7.1 Importancia del calcio en la contractilidad cardiaca

La contracción del corazón se produce por la entrada de calcio (Ca²⁺) en los canales de tipo L, lo que provoca un elevación de calcio en el citoplasma, este Ca²⁺ es proveniente del retículo endoplásmico y el espacio extracelular. El Ca²⁺ que extracelular entra en el retículo endoplásmico, provocando que se libere mas Ca²⁺. En la contracción los niveles de Ca²⁺ intracelulares se elevan 10,000 veces más que cuando se encuentra en reposo. Ya que se fija a la troponina C y cambia la posición de los filamentos de miosina y actina, produciendo la contracción. Cuando el Ca²⁺ es expulsado del citoplasma la contracción cesa, esto se puede observar por 2 mecanismos uno de ellos es cuando el Ca²⁺ es bombeado fuera de la célula a través de un intercambiador Na⁺/Ca²⁺, que bombea hacia fuera un ion de Ca²⁺ por 3 iones de sodio que entran a la célula y el otro es cuando el Ca²⁺ es secuestrado dentro del retículo sarcoplásmico, a través de la ATPasa bombreadora de Ca²⁺ [10].

2.5.8 Diuréticos

Los diuréticos son fármacos que actúan sobre los riñones aumentando el volumen urinario al reducir la reabsorción de sal y agua desde los túbulos. Existen distintos tipos de diuréticos: diuréticos de asa, diuréticos tiacídicos y diuréticos ahorradores de potasio. (Ver Figura 5)

Los diuréticos de asa actúan, como su nombre indica, en el asa de Henle, particularmente en la porción gruesa de la rama ascendente. Debido a que circulan unidos a las proteínas plasmáticas, éstos no sufren filtración glomerular y en lugar de ello se excretan por el túbulo contorneado proximal. Actúan inhibiendo al cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ que existen en la membrana luminal. Esto origina un aumento de la cantidad de Na^+ que llega al túbulo colector, motivo por el cual se produce un aumento de la secreción de K^+ y H^+ . También resulta inhibida la reabsorción de Ca^{2+} y Mg^{2+} , debido a la disminución de la diferencia de potencial entre uno y otro lado de la célula, que sucede normalmente como efecto de la recirculación del K^+ ; provocan la excreción del 15 al 25% del sodio filtrado, en lugar del 1% o menos, que se reabsorbe en condiciones normales. Por esta razón, pueden llegar a producir diuresis de 4 L al día [10].

Se utilizan en el edema agudo de pulmón, hiperpotasemia, hipertensión, hipercalcemia no deben ser administrados a aquellos pacientes que tengan un deterioro renal grave, sólo se pueden administrar con extrema precaución a los pacientes que estén tomando glucósidos cardiotónicos o antibióticos aminoglucósidos. Pueden producir pérdida de potasio, hipotensión e hipovolemia, hiperuricemia, déficit de calcio y de magnesio como efectos adversos. La furosemida, la bumetanida son ejemplos de diuréticos de asa [10].

Los diuréticos tiacídicos actúan en la porción inicial del túbulo distal. Alcanzan su lugar de acción tras sufrir filtración glomerular y secreción tubular. Inhiben el cotransportador de Na^+/Cl^- de la membrana luminal. Al igual que los diuréticos de asa, aumentan la secreción de K^+ y de H^+ a los túbulos colectores, si bien, a diferencia de aquéllos, disminuyen la excreción de Ca^{2+} a través de un mecanismo

que implica posiblemente una estimulación del intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en la membrana basolateral; esta estimulación es originada por una disminución de la concentración de Na^+ en la célula tubular; muestran una potencia diurética moderada, produciendo la excreción del 5 al 10% del Na^+ filtrado, lo que da lugar a la producción de 1 a 2 L de orina al día [10].

Este tipo de diuréticos se emplean para tratar la hipertensión, edemas secundarios, hepatopatía o síndrome nefrótico; no deben ser administrados a pacientes que presenten hipopotasemia, hiponatremia o hipercalcemia, por los que estén tomando glucósidos cardiotónicos. Provocan efectos secundarios como pérdida de potasio, hipopotasemia, alcalosis, hiperuricemia, hiponatremia e hipermagnesemia con hipercalcemia. La hidroclorotiacida, indapamida, clortalidona constituyen ejemplos de agentes diuréticos tiacídicos [10].

Los Diuréticos ahorradores de potasio actúan en la última porción del túbulo distal y en el túbulo colector. Existen 2 clases de diuréticos ahorradores de potasio los bloqueadores de los canales de Na^+ , por ejemplo amilorida, estos agentes bloquean la reabsorción de Na^+ en las células principales y de esta manera reducen la diferencia de potencial entre ambos lados de la célula y la secreción de K^+ . La secreción de H^+ por las células intercalares también resulta disminuida por la reducción de la diferencia de potencial entre una y otra vertiente de la célula tubular, y el otro son los antagonistas de la aldosterona, por ejemplo la espironolactona. La espironolactona es un antagonista competitivo de los receptores de la aldosterona, y por este motivo disminuye la reabsorción de Na^+ y la secreción de K^+ y de H^+ . El grado de diuresis va a depender de los niveles de aldosterona; producen una diuresis ligera y dan lugar a la excreción de entre un 2 y un 3% del Na^+ filtrado. Se utilizan comúnmente en conjunto con diuréticos que eliminen K^+ , para mantener los niveles normales de K^+ y para el tratamiento de la hipertensión; es por esta razón que no son muy recomendables para su administración. No deben ser administrados a personas que padezcan una insuficiencia renal. Al interaccionar con los IECA, incrementan el riesgo de hiperpotasemia. Entre los efectos adversos que provocan se encuentran

hiperpotasemia y acidosis metabólica. Los antagonistas de la aldosterona producen: disfunción sexual masculina y trastornos menstruales [10].

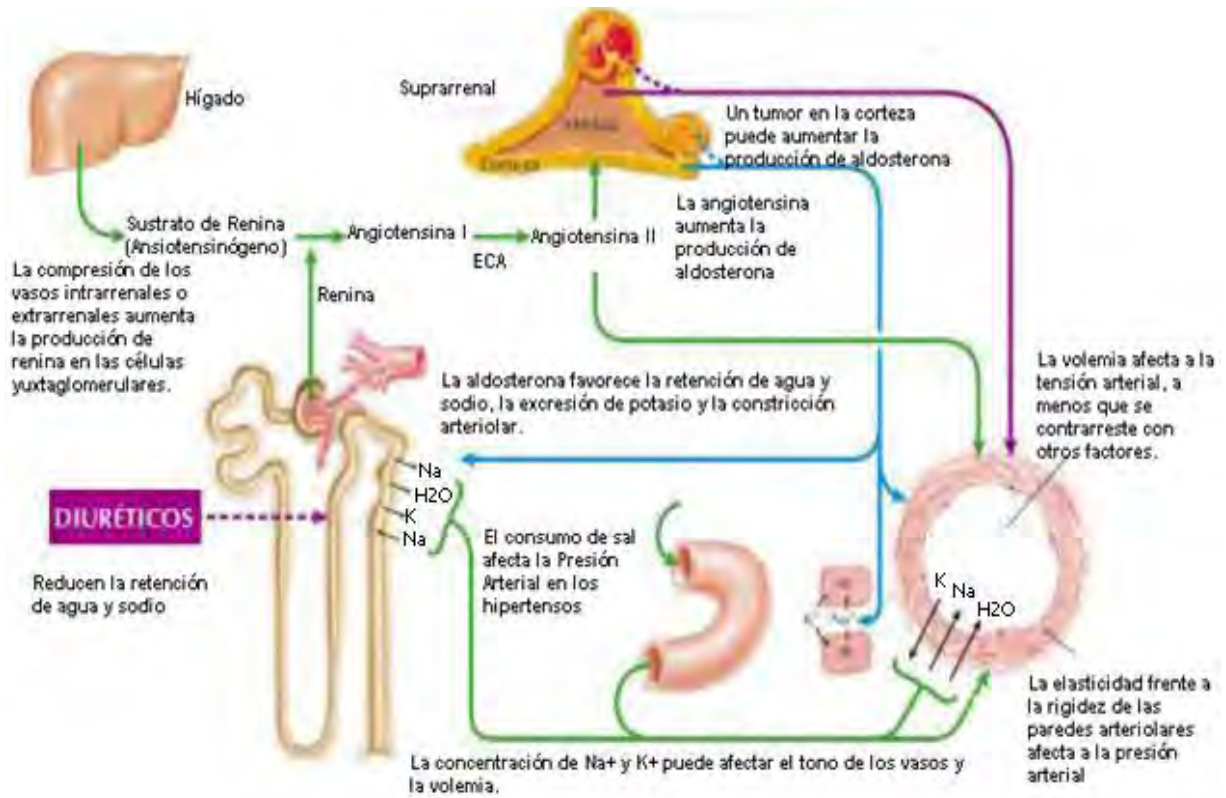


Figura 5. Representación gráfica de la acción de los diversos tipos de diuréticos en el sistema renal [11].

2.5.9 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

El organismo dispone de una serie de sistemas para la regulación de la presión arterial, entre ellos se encuentra éste sistema. Se trata de un mecanismo de control de la presión sanguínea, localizado en el riñón; dependiente de la enzima proteolítica renina, secretada por células renales especializadas. Cuando la presión sistólica disminuye excesivamente, el riñón produce mayor cantidad de renina con el fin de aumentar la presión hasta valores medios normales. La angiotensina junto a la aldosterona son otros elementos efectores del sistema cuyo papel en la homeostasia cardiovascular y en el balance de Na^+ es de primer orden tanto en condiciones fisiológicas como patológicas [4]. (Ver Figura 6)

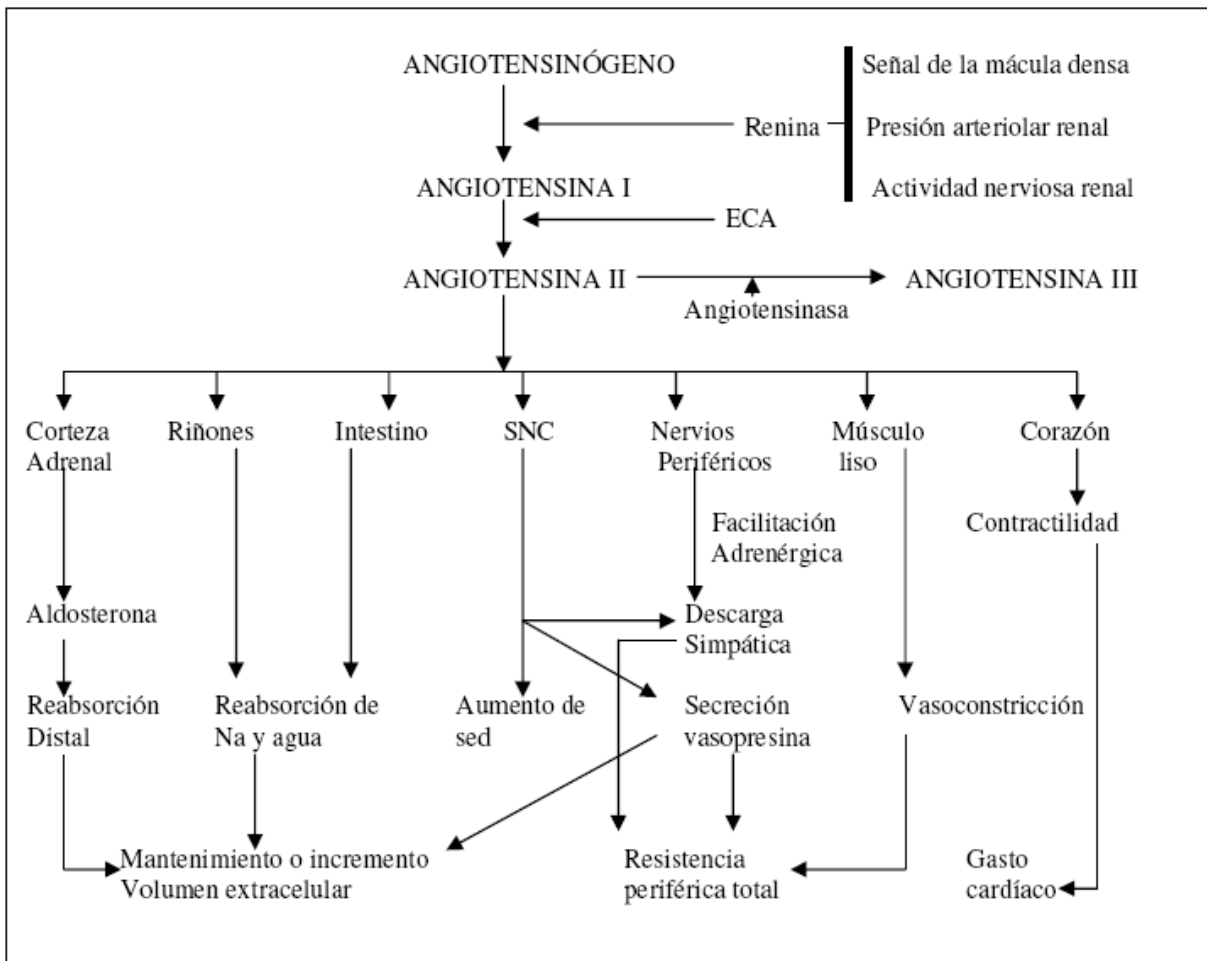


Figura 6. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona [3].

La renina es una proteasa secretada por las células yuxtaglomerulares de las arteriolas aferentes del riñón que actúa sobre el angiotensinógeno, transformándolo en angiotensina I (Ang I), la cual, a su vez, pasa a angiotensina II (Ang II) a través de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA). Para que se libere renina es necesario un descenso del Ca^{2+} citosólico. La elevación de los niveles de renina en un paciente hipertenso implica el predominio de la vasoconstricción sobre la sobrecarga de volumen. La Ang II, el K^+ de la dieta y la vasopresina y el péptido natriurético auricular, actúan mediante un mecanismo de retroalimentación, inhibiéndola y las prostaglandinas PGE_2 y PGI_2 , caídas de volumen o disminuciones salinas la estimulan. La conversión en Ang II se realiza en el pulmón, y se inactiva por la acción de angiotensinasas presentes en los tejidos y células del torrente sanguíneo [3].

Existen factores que estimulan la liberación de renina como [12]:

- ❖ Aumento de la actividad simpática β_1
- ❖ Disminución de la PA
- ❖ Menor resorción de Na^+ en el túbulo distal
- ❖ Reducción de volemia

Las angiotensinas son polipéptidos que se producen a partir de una globulina α_2 plasmática, sintetizada en el hígado en forma de glicoproteína denominada angiotensinógeno, a partir del cual, y por la acción de diferentes enzimas, se originan las angiotensinas [4].

La Ang I es un decapeptido que es sustrato de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) que se encuentra en el endotelio vascular. La ECA convierte a la Ang I a Ang II un octapeptido que es un potente vasoconstrictor, éste es de vital importancia para la secreción de aldosterona.

La Ang II actúa a nivel del músculo liso vascular, corazón, riñones, sistema nervioso central y terminaciones adrenérgicas, produciendo retención de volumen a través de la estimulación de aldosterona y vasoconstricción periférica. La Ang II también contribuye a la hipertrofia vascular, cardíaca y mesangial, estimulando la liberación de catecolaminas por la medula adrenal y el aumento de ACTH y ADH.

A largo plazo la Ang II ejerce un efecto proliferativo y lesivo vascular a través de su interacción con factores de crecimiento como el factor de crecimiento fibroblástico y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas [3].

La actividad del sistema de señales de la Ang II comienza por la ocupación del receptor de Ang II que estimula a la fosfodiesterasa (fosfolipasa C), quien transforma el bifosfato de fosfatidilinositol en trifosfato de inositol (IP_3) y diacilglicerol (DAG), y éstos activan a la enzima proteína cinasa C que transfiere un grupo fosfato del ATP a ésta proteína, así los mensajeros finales de ésta vía de señales del inositol son: IP_3 que favorece la liberación de Ca^{2+} a partir de los retículos sarcoplásmicos intracelulares y la vasoconstricción. La proteína cinasa C es una señal de amplificación y estimula los protooncogenes la activación de ésta proteína C desencadena hipertrofia ventricular. Existe una familia de subtipos del receptor de Ang II entre los que se encuentran los receptores AT_1 y AT_2 . El receptor AT_1 es el encargado las respuestas principales de la Ang II; mientras que los receptores AT_2 son importantes en situaciones fisiopatológicas al presentarse durante la hipertrofia y en la insuficiencia cardíaca [12].

Existen fármacos que se utilizan para el tratamiento de la hipertensión llamados antagonistas de la angiotensina que producen una inhibición a nivel del receptor de la Ang II, produciendo vasodilatación y por lo tanto una reducción de las resistencias periféricas. Se usan en el tratamiento de la hipertensión pero están contraindicados para mujeres gestantes y que estén en lactancia no deben consumir antagonistas de la angiotensina y pueden presentarse reacciones adversas como mareo, cefalea y

fatiga, hipotensión ortostática, hiperpotasemia, erupciones cutáneas e hipotensión. El losartán y el EXP3174 son ejemplos de agentes antagonistas de la angiotensina.

Por otro lado la aldosterona es un esteroide que es liberado en respuesta a la Ang II o la estimulación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) [12] que induce la síntesis de canales de sodio y de moléculas ATPasa bombadora de Na^+/K^+ en la membrana luminal de los túbulos colectores de la corteza renal; dando lugar a la reabsorción de una mayor cantidad de Na^+ y por consiguiente de agua. Este mecanismo permite que el volumen sanguíneo y la PA regresen a los valores normales [4]. La aldosterona disminuye la eliminación de sodio a través de la orina y la reabsorción de sodio a nivel tubular provoca que se reabsorba agua.

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) es una proteasa que posee 2 grupos de zinc. Estos grupos participan en el sitio de alta afinidad en el que interactúan la AI o los inhibidores de la ECA [12]. La ECA provoca la inactivación de la bradicinina, que es una sustancia que tiene un efecto vasodilatador, además ésta es estimulada por la calicreína y degradada por la ECA a Ang II [3].

2.5.10 Fármacos Inhibidores de la ECA

Producen una inhibición de la ECA y como consecuencia de esto, dan lugar a una reducción de los niveles de Ang II y aldosterona, aumentando así los niveles de bradicinina. Esto produce vasodilatación y posteriormente una disminución de las resistencias periféricas y una reducción de la retención de sodio, con escasa variación de la frecuencia y gasto cardíaco.

Los inhibidores de la ECA tienen un efecto adrenérgico indirecto. La Ang II favorece la liberación de NA a partir de terminaciones adrenérgicas de las neuronas y promueve también el tono adrenérgico por activación central y al facilitar la transmisión ganglionar. La Ang II aumenta la vasoconstricción secundaria a la estimulación del receptor α , por lo tanto la Ang II suscita efectos adrenérgicos, lo cual

tiene como resultado una mayor actividad de vasoconstricción de la NA [12]. (Ver Figura 7)

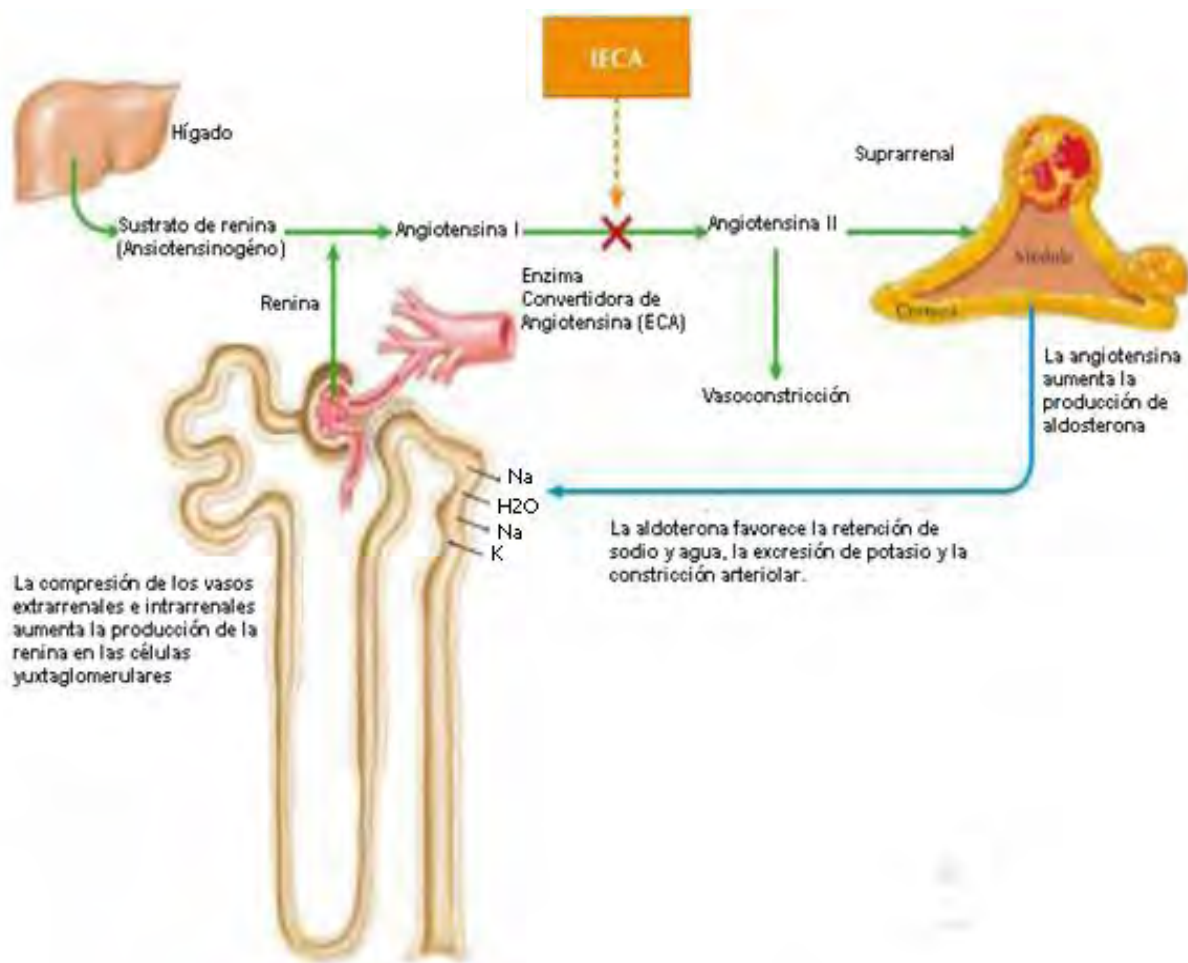


Figura 7. Esquema de la acción de los iECA para la disminución de la PA [11].

Se usan en todos los grados y tipos de hipertensión, en la insuficiencia cardiaca y en las alteraciones de la función renal, no deben administrarse en embarazo, enfermedades vasculares renales y cuando se padece estenosis aórtica, pueden tener las siguientes reacciones adversas: hipotensión, mareo acompañado de cefalea, diarrea y calambres musculares. Captopril y enalapril constituyen ejemplos de inhibidores de la ECA.

2.5.11 Captopril

El captopril pertenece al grupo de medicamentos llamados iECA. Se usa principalmente para tratar la hipertensión; actúan al inhibir el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, produciendo una reducción de las concentraciones séricas de angiotensina II y aldosterona. Es el primer inhibidor de la ECA comercializado que contiene una mitad sulfhidrilo. (ver Figura 8)

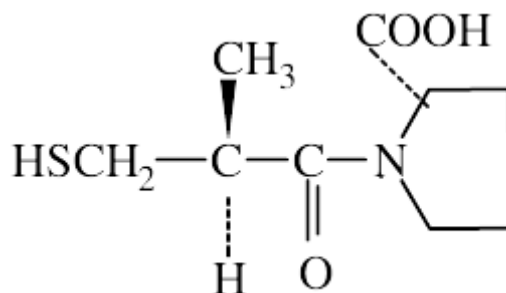


Figura 8: Estructura química del captopril

El Captopril disminuye la PA en individuos normales disminuyendo el Na⁺ en hipertensos con aumento de la actividad de la renina plasmática. Sin embargo su administración continua desciende la PA en individuos normales normosódicos y en la mayoría de los hipertensos sin que la baja guarde relación con los niveles de actividad de renina plasmática.

Mecanismo de Acción: el Captopril se une al grupo activo de la ECA a través de su grupo sulfhidrilo, bloqueando competitivamente a la enzima convertidora y reduce los niveles plasmáticos y tisulares de Ang II y aldosterona. Originando vasodilatación arteriovenosa y disminuyendo los niveles plasmáticos de NA y vasopresina [13].

2.6 Antecedentes LQM 300's

En el Laboratorio de Química Medicinal (LQM) de la FES-Cuautitlán, el cual está a cargo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano, se han sintetizado una serie de compuestos a partir de la molécula base de la changrolina (que proviene de la planta febrifugina encontrada en China y fue el primer antimalárico). Strout e investigadores [14] se dieron cuenta que la molécula de la changrolina poseía características diferentes a otras moléculas encontradas en otros productos del mercado; dividiendo a la molécula en 3 regiones:

Región1 heteroatómica que contiene quinazolina

Región 2 aromática con el bis(pirrolidimilmetil) fenol

Región 3 enlazante entre las dos regiones.

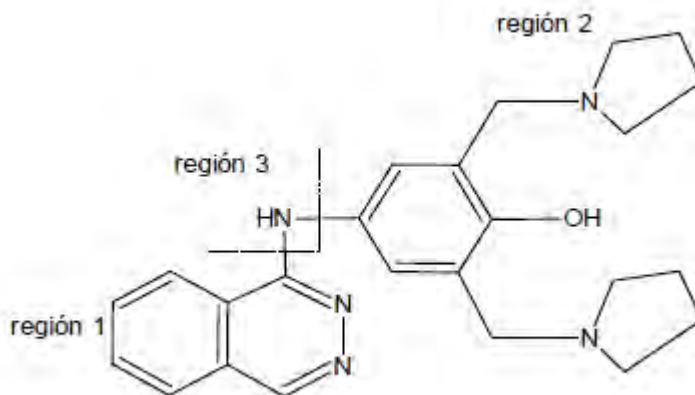


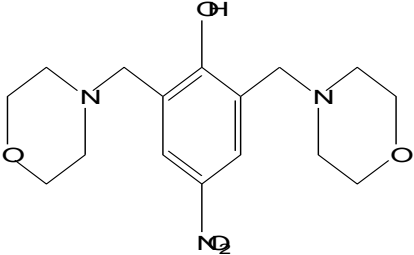
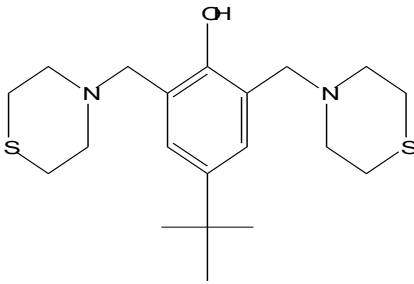
Figura 9. Estructura de la changrolina, dividida en sus 3 regiones [14].

El grupo de Química Medicinal de la FESC retomó dichas investigaciones planteando el estudio de compuestos semejantes a la changrolina, en los cuales los grupos pirrolidínicos se sustituyan por morfolina, tiomorfolina y piperidina. Para ello, utilizaron dispositivos computacionales de primera generación, en la síntesis de los compuestos, además del uso de técnicas espectroscópicas como Resonancia Magnética Nuclear, Infrarrojo, y Espectrometría de Masas, las cuales permiten determinar la estructura química de los compuestos sintetizados.

Con este tipo de investigación, se pretende brindar un tratamiento terapéutico efectivo con menos efectos secundarios, y con menor costo comparado con los actuales medicamentos.

A estos compuestos se les han realizado estudios de actividad biológica tanto en modelos "in vivo" como "in vitro" comprobando su efecto hipotensor, antihipertensivo y vasodilatador en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar. En el presente trabajo se realizaron experimentos tratando de comprobar su efecto cardioprotector en cardiomiocitos aislados durante la hipoxia, todo esto en el laboratorio de la Dra. Carbó en el Instituto Nacional de Cardiología. Se utilizaron los LQM-312 y LQM-319 y a continuación, se puede observar su estructura química y nombre IUPAQ en la siguiente tabla:

Tabla 3. LQM 312 Y 319

Estructuras de los Compuestos Utilizados		
LQM	Nombre Químico	Estructura Química
LQM-312	2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol	
LQM-319	4-tert-butil-2,6-bis(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol	

2.7 Metabolismo Cardíaco

El corazón es una bomba encargada de mandar sangre al cuerpo y sensible a los cambios que sufre el individuo en casos como la HA. El metabolismo cardíaco es aeróbico y necesita de un aporte constante de oxígeno para poder realizar sus funciones. El corazón utiliza diversas fuentes de energía como: carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, piruvato, lactato, cuerpos cetónicos, entre otros [15].

En condiciones de reposo, el músculo cardíaco consume normalmente ácidos grasos para aportar la mayoría de la energía, y no carbohidratos (aproximadamente el 70% de su energía procede de los ácidos grasos). El metabolismo cardíaco puede activar mecanismos de glucólisis anaeróbica para obtener energía en condiciones anaerobias o de isquemia. Por desgracia la glucólisis consume cantidades de ácido láctico en el tejido cardíaco que es quizás una de las causas de dolor cardíaco en las afecciones cardíacas isquémicas.

La oxidación de ácidos grasos es el mecanismo constitutivo de obtención de energía del corazón donde la mayor fuente (60-90%) es de acetil coenzima A en la mitocondria. Ésta puede provenir también de la transferencia de piruvato glucolítico. Esa acetil coenzima A entra al ciclo de ácidos tricarbónicos (ciclo de Krebs) donde es oxidada y utilizada para producir las coenzimas reducidas (nicotina-adeninucleótido o NADH y flavin-adenin-dinucleótido o FADH₂) que se utilizan como cofactores enzimáticos para la cadena respiratoria o de transporte de electrones. En condiciones de oxigenación la cadena de transferencia de electrones saca de la mitocondria protones y fosforila el ADP produciendo ATP (fosforilación oxidativa) [15].

La glucólisis es la vía metabólica constitutiva vital y su ausencia no es compatible con la vida. Se la considera como la ruta metabólica que transforma la glucosa en piruvato en ausencia de oxígeno con una ganancia neta de 2 moléculas de alta energía (ATP). Si hay O₂ se prosigue con la oxidación de ácidos grasos, si no es la única manera de obtener energía por parte de la célula cardíaca [16].

Si el aporte sanguíneo es adecuado, el metabolismo energético muscular es aeróbico: en caso contrario, si se instaura un proceso anaeróbico con acumulación

progresiva de catabolitos que no pueden ser adecuadamente degradados (ácido láctico y otros metabolitos), con disminución consiguiente del rendimiento muscular. En este momento el corazón necesita aumentar o modificar su metabolismo.

El aumento metabólico se consigue por 4 mecanismos [17]:

- Aumentando el gasto cardiaco, es decir, la circulación sanguínea por mayor acción de bombeo.
- Produciéndose una redistribución sanguínea en beneficio de la musculatura activa.
- Aumentando la extracción del oxígeno de la sangre ya que varía en cada momento y depende fundamentalmente de 3 factores: Tensión de la pared del corazón o tensión intramiocárdica, estado contráctil y frecuencia cardíaca [18]
- Cambiando de vía de obtención de ATP; de ácidos grasos a glucólisis.

El metabolismo de los ácidos grasos de cadena larga inhibe el transporte de glucosa. La presencia de altos niveles de ácidos grasos inhibe el complejo de la piruvato deshidrogenasa y la tasa de oxidación de glucosa es menor de modo que la glucólisis que ocurre genera lactato en lugar de piruvato, produciendo la acidificación que se observa en la isquemia en la que además hay limitación del aporte de oxígeno [15].

La inhibición de la entrada de glucosa por los ácidos grasos ocurre a nivel de las siguientes enzimas: hexocinasa, fosfofructocinasa, piruvato cinasa y piruvato deshidrogenasa. Estos pasos reguladores son importantes en la vía de la glucólisis; los cuales se activan o inhiben dependiendo de la actividad, los requerimientos metabólicos del músculo cardiaco y el ATP derivado de la oxidación de las grasas que a su vez los puede inhibir. En las células hay poca glucosa libre y la mayor parte de la glucosa intracelular existe en forma fosforilada [19].

El último paso de la oxidación de la glucosa que puede ser inhibido por los ácidos grasos es la conversión del piruvato a acetil-CoA. La oxidación del piruvato a acetil-CoA es catalizada por el complejo de la piruvato deshidrogenasa. Cuando se acelera el flujo de piruvato por la piruvato deshidrogenasa las células cardiacas se benefician, ya que menos piruvato se convierte en lactato, paso metabólico que da

como resultado la acidificación intracelular [20]. La actividad de esta enzima es regulada por el nivel de ATP y de calcio. Cuando se elevan los niveles de ATP producto final de ciclo de Krebs y de la fosforilación oxidativa, el complejo piruvato-deshidrogenasa se inhibe haciendo más lenta la formación de acetil-CoA y por lo tanto de ATP [19,21]. (Ver Figura 10)

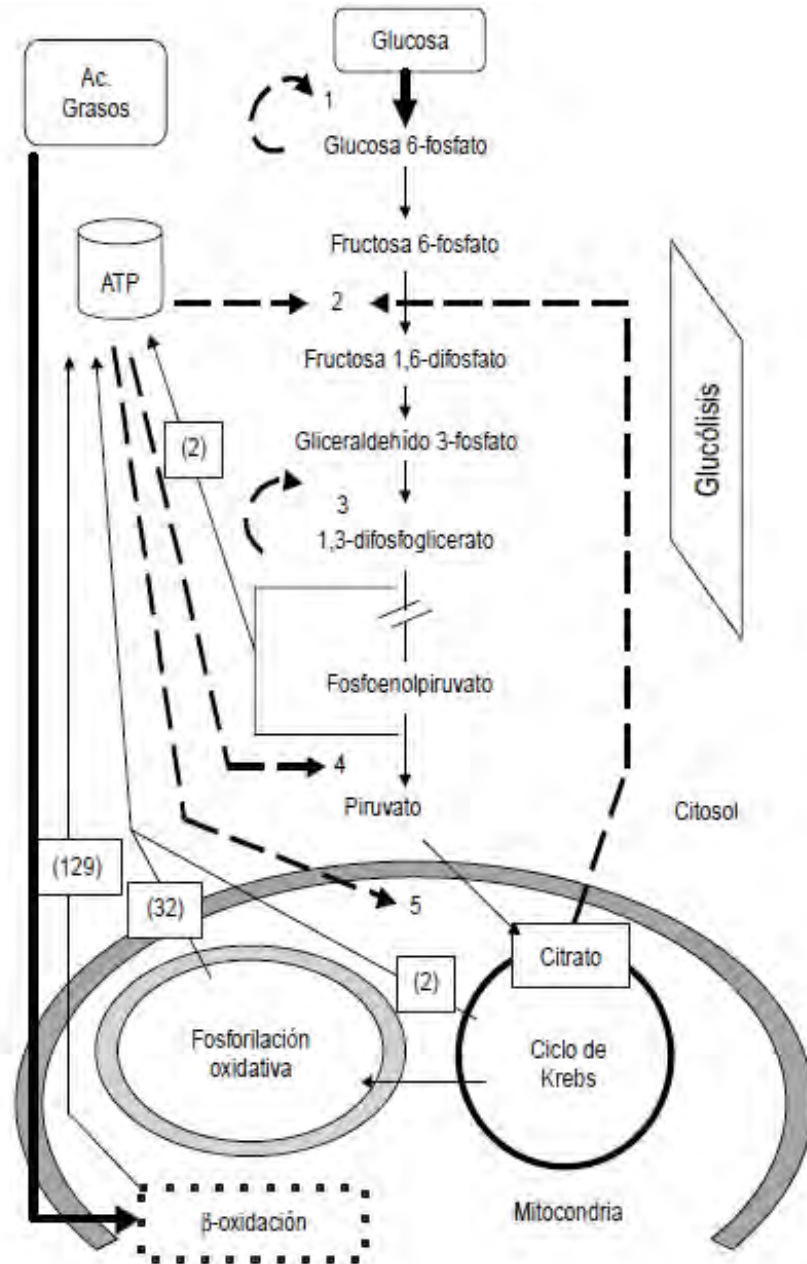


Figura 10. Regulación de la vía glucolítica. Inhibiciones representadas por las líneas punteadas. (1) Hexocinasa; (2) fosfofructocinasa; (3) gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GADPH); (4) piruvato cinasa; (5) piruvato deshidrogenasa. ATP = adenosin trifosfato. Los números entre paréntesis son los ATP producidos por cada vía [15].

2.7.1 Hipoxia

El corazón es un órgano que responde a una deficiencia de flujo sanguíneo, aumentando su utilización energética [6]. Es durante la hipoxia que el metabolismo cardíaco cambia de ser dependiente de ácidos grasos a carbohidratos para optimizar la obtención de energía. La oxidación de carbohidratos y ácidos grasos disminuye, mientras que la glucólisis para producir ATP aumenta y el glucógeno se convierte en la mayor fuente de ATP [15].

Se ha observado que existen varios factores que controlan la glucólisis durante la hipoxia:

Control por nucleótidos de adenina: El Adenosin Trifosfato (ATP) se rompe a Adenosin Monofosfato (AMP) y fosfato y ambos estimulan la actividad de la fosfofructocinasa y de la fosforilasa B, incrementando el metabolismo de carbohidratos.

Control por hidrogeniones y el dinucleótido de nicotinamida (NADH): Durante la glucólisis se forman iones hidrógeno y el NADH y la utilización de éstos por vías mitocondriales se ve inhibido por la hipoxia, cuando la conversión de piruvato a lactato utiliza protones y NADH. Durante una perfusión adecuada, casi todos los protones se difunden en el espacio extracelular, pero durante isquemia se acumulan y exceden el sistema de amortiguamiento intracelular afectando la actividad de la fosfofructocinasa. También inhiben la reoxidación mitocondrial de NADH su subsecuente salida al citosol por la lanzadera de malato-aspartato para poder ser utilizado por la reacción de la deshidrogenasa del 3-fosfogliceraldehído.

Control por la disminución de la respiración por ácidos grasos: La oxidación de los ácidos grasos puede inhibir la glucólisis durante el metabolismo oxidativo a nivel de la actividad de la fosfofructocinasa y este proceso acumula citrato. Durante la hipoxia los ácidos grasos no pueden ser metabolizados para ceder citrato de modo que el flujo glucolítico no se inhibe. También cuando falta oxígeno como en la hipoxia,

disminuye el ATP cualquiera que sea su origen y consecuentemente disminución de los procesos que lo utilizan. Disminuye la inhibición del transporte y fosforilación de glucosa y la actividad de la piruvato deshidrogenasa por el ATP producido por los ácidos grasos [15,22].

En el corazón hipóxico también disminuye el consumo de oxígeno y las concentraciones de nucleótidos de adenosina y de potasio en las mitocondrias. La disminución en los procesos fosforilativos por estos cambios, reduce la actividad del ciclo de Krebs [23].

La capacidad fosforilante de la mitocondria cae dramáticamente bloqueando el transporte de electrones. El daño mitocondrial es decisivo para determinar la reversibilidad del daño cardíaco. La hipoxia también modifica la concentración intracelular de iones. Cuando bajan las reservas de ATP se bloquea la ATPasa de Na^+ / K^+ y se empieza a acumular Na^+ en el interior lo que despolariza a la célula. Esto desvía el equilibrio de potasio haciendo que este ion salga de la célula, repolarizándola en la misma proporción de la despolarización producida por el Na^+ , entonces hay pérdida de K^+ [24]. A su vez los niveles bajos de ATP alteran la permeabilidad al K^+ por los canales rectificadores entrantes de K^+ sacando K^+ y también se activan canales de K^+ dependientes de ATP, que en condiciones normales están cerrados, por lo que ahora sale más K^+ [25].

También se ven afectadas las ATPasas de Ca^{2+} de la membrana, no permitiendo la salida del Ca^{2+} fuera de la célula, así como la del retículo endoplásmico, el cual recaptura el Ca^{2+} del citosol a este organelo, subiendo los niveles de este ion dentro de la célula. En estas condiciones, como se contrae la célula, se empieza a acumular Na^+ y Ca^{2+} , situación que lleva a la muerte celular [26]. (Ver Figura 11)

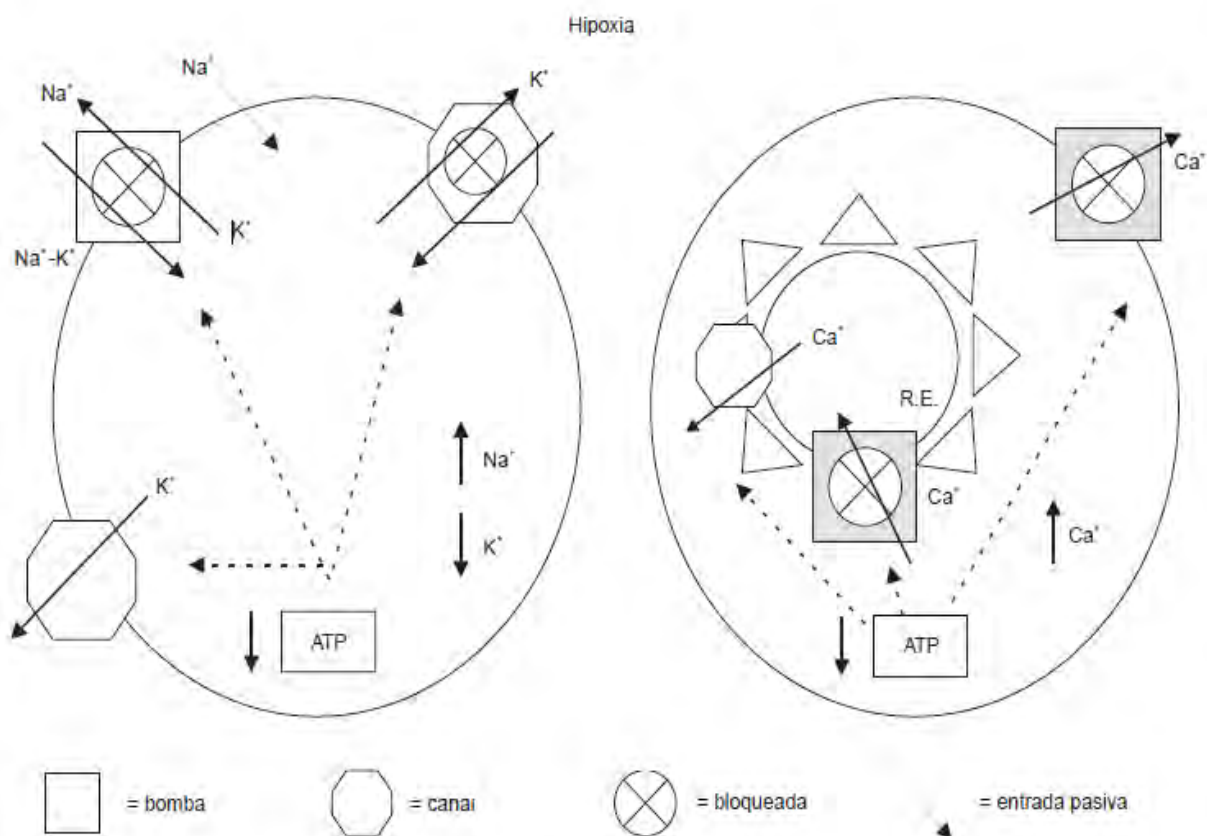


Figura 11. Efecto de la hipoxia sobre el movimiento de los iones. ATP = adenosin trifosfato; Ca = calcio; K = potasio; Na = sodio; R.E. = retículo endoplásmico [15].

En el citoplasma se observa una reducción del glucógeno, fosfocreatinina y ATP, mientras que el fosfato y el lactato se incrementan causando acidosis. La hipoxia vacía el tejido cardíaco de sustancias receptoras de radicales libre permitiendo a estas moléculas degradar a los fosfolípidos de las membranas e incrementando su permeabilidad iónica al Ca^{2+} , el cual se acumula en el citoplasma. Este Ca^{2+} induce una despolarización diastólica y causa arritmias por oscilaciones postpotencial [27]. Como ya se mencionó el corazón depende de la glucosa para sobrevivir en la hipoxia de ahí la importancia de la captación de glucosa.

2.8 Captación de Glucosa

La glucosa entra a las células a través de un proceso de difusión facilitada (si la concentración de glucosa es mayor a un lado de la membrana que al otro, se transportará mas glucosa desde el área de mayor a la de menor concentración que en la dirección opuesta) dependiente de un gradiente de concentración, de los requerimientos metabólicos de la célula y de la regulación por otras vías metabólicas. En este proceso intervienen los transportadores de glucosa conocidos como Gluts. Desde hace mucho tiempo se conoce que el metabolismo de la glucosa provee de energía a los tejidos dañados [28,29] y protege a los tejidos energéticamente.

2.8.1 Transportadores de Glucosa (Gluts)

Los transportadores de glucosa son un conjunto de proteínas transmembranales, responsables de introducir carbohidratos a la célula y poseen especificidad por uno o más carbohidratos, afinidad por el sustrato, están distribuidos tisularmente y su regulación está dada por la actividad de hormonas [30] y otros fenómenos.

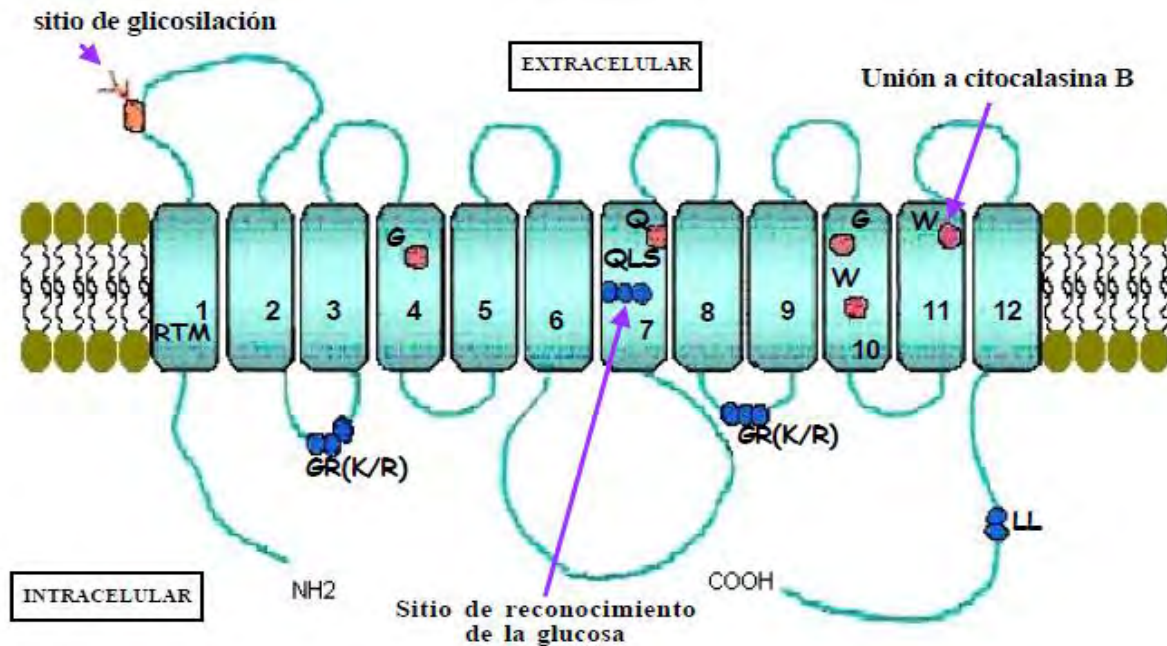


Figura 12. Estructura de los GLUTs. Las terminaciones amino y carboxilo se encuentran en la parte citoplasmática y presentan una serie de aminoácidos muy conservados entre todos los

transportadores. G = glicina; R = arginina; Q = glutamina; L = leucina; K = lisina; S = serina; W = triptófano [31].

Se han identificado 14 Gluts, las cuales, se agrupan de acuerdo a similitudes en secuencia, valores de Km, especificidad al sustrato (glucosa, fructosa y/o galactosa), respuesta a bloqueadores específicos citocalasina y forskolina. Se componen de 12 regiones transmembrana (RTM) conectadas por lazos hidrofílicos.

La glucosa entra a la célula en 4 etapas: a) se une al transportador en la cara externa de la membrana; b) el transportador cambia de conformación y la glucosa y su sitio de unión quedan localizados en la cara interna de la membrana; c) el transportador libera la glucosa al citoplasma; y d) el transportador libre cambia nuevamente de conformación, expone el sitio de unión a la glucosa en la cara externa y retorna a su estado inicial [32] (ver Figura 13)

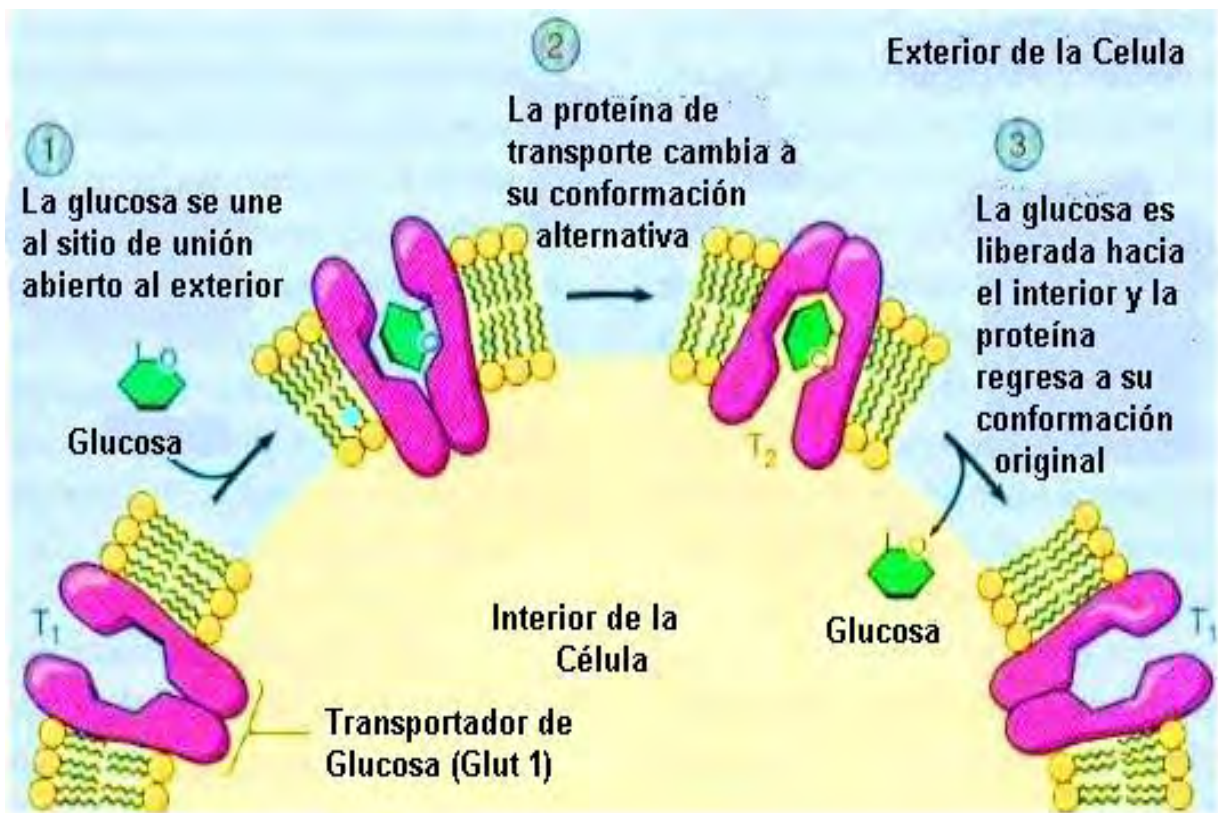


Figura 13. Esquema del transporte de glucosa hacia el interior célula [31]

Tabla 4. Clasificación y características de los transportadores de glucosa [31,32].

Transportador	Número de AA	Km (mM)	Transporta	Localización en los Tejidos	Función	Enfermedades Relacionadas
GLUT 1	664	1.6	Glucosa, Galactosa	Eritrocitos, Barreras hematoencefálica, placentaria y de la retina, corazón, astrocito, nefrona, neuronas y linfocitos	Ingreso basal de Glucosa	Síndrome de deficiencia de transporte de glucosa tipo I
GLUT 2	522	17	Glucosa, Galactosa, Fructosa	Células B pancreáticas, hígado, intestino delgado, nefrona proximal	Sensor de glucosa en la membrana basolateral de intestino y riñón	Síndrome de Fanconi-Bickel
GLUT 3	596	2	Glucosa, Galactosa	Cerebro, placenta, hígado, riñón, corazón y linfocitos	Ingreso basal de Glucosa	Reestrcción del crecimiento intrauterino fetal
GLUT 4	509	5	Glucosa	Musculo esquelético y cardiaco, tejido adiposo, linfocitos y tejidos sensibles a la insulina	Ingreso de glucosa estimulado por insulina	Diabetes tipo II
GLUT 5	501	No Aplica	Fructosa, No muestra afinidad por la glucosa	Yeyuno, espermatozoides, riñón, células de la microglía	Transporte de fructosa	Algunas células cancerígenas, HPTG ⁺ e HPINS
GLUT 6	507		Glucosa	Cerebro, Bazo y Leucocitos	Ingreso de Glucosa estimulado por insulina	Células tumorales de cáncer de mama
GLUT 7			Glucosa y fructosa	Intestino delgado, colon, testículo, próstata		No descritas
GLUT 8	477		Glucosa	Testículos, placenta y tejidos dependientes de insulina	Ingreso de Glucosa	No descritas
GLUT 9	540		Glucosa	Riñón e hígado, intestino delgado, placenta, pulmones y leucocitos	Ingreso de Glucosa	Participa en la preimplantación del embrión
GLUT 10	541		Glucosa	Hígado y Páncreas	Ingreso de Glucosa	Diabetes tipo II
GLUT 11	496		Glucosa	Músculo esquelético, corazón, riñón, tejido adiposo, placenta, páncreas	Ingreso de Glucosa	No descritas
GLUT 12	617		Glucosa	Músculo esquelético, tejido adiposo, Intestino delgado	Ingreso de Glucosa	Nefrotatía diabética, hiperglucemia, hipertensión
GLUT 13	629		Glucosa Mio-insitol acoplado a H ⁺	Cerebro	Ingreso de Glucosa	No descritas
GLUT 14	497 y 520		Glucosa	Testículos	Ingreso de Glucosa	No descritas

Los miocitos cardiacos poseen Glut 1 y Glut 4, a continuación abordaremos algunas de las características de éstos.

2.8.2 GLUT 1

El Glut-1 parece ser el transportador de glucosa más ampliamente distribuido en todos los tejidos. Este se expresa en numerosos tejidos fetales y adultos como los eritrocitos, células endoteliales, células nerviosas, placenta, glóbulos blancos, células de la retina, riñón (mesangio), tejido adiposo, corazón, entre otros. Este Glut posee una alta afinidad por la glucosa ($K_m=1-2$ mM) por lo que es capaz de transportarla al interior de las células prácticamente a cualquier concentración por lo que se considera como un transportador basal de glucosa que mantiene su concentración intracelular estable [30]. Durante el desarrollo fetal hay expresión de Glut 1 en los estadios de oocito y blastocisto y luego en los diferentes tejidos fetales. La expresión en el músculo esquelético depende al parecer, del estado de desarrollo su mayor expresión se encuentra durante la gestación y disminuye luego del nacimiento. Se expresa en muy poca cantidad en el músculo del adulto. La expresión de este Glut puede variar dependiendo del estado de desarrollo [31]. Su función principal sería mantener la glucosa basal en la célula y posibilitar la entrada de glucosa en reposo no aumenta en el músculo con el entrenamiento, ni ayunando, ni consumiendo carbohidratos durante y posterior al entrenamiento. Sí aumenta la hexoquinasa post ejercicio para que la glucosa se fosforile y quede atrapada en la célula muscular.

La función del ejercicio físico en la insulina, está determinada por las células beta del páncreas que libera insulina ante un incremento del azúcar; la que se une a transportadores de proteína de la sangre Glut 1 y Glut 4 para introducir la glucosa a las células musculares, hepáticas, adipocitos entre otras. La insulina para que tenga efecto en el músculo esquelético debe unirse a un receptor.

2.8.3 GLUT 4

El Glut 4 es un transportador de alta afinidad para la glucosa ($K_m=5$ mM) que se expresa fundamentalmente en tejido muscular estriado, tejido muscular cardíaco y adipocito. Este transportador no se expresa en tejidos embrionarios (ni pre ni post-implantación) y es único en el sentido de la regulación de su localización en el citosol o en la membrana por la insulina. En condiciones basales, la vasta mayoría de las moléculas de Glut-4 se encuentran localizadas dentro de vesículas en el citosol que forman 2 tipos de compartimientos bien definidos, ya que un grupo de estas vesículas responden a la señal de la insulina y otro grupo responde fundamentalmente al estímulo que representa la actividad física. Este comportamiento representa un mecanismo muy fino de regulación del metabolismo de la glucosa al tejido muscular cuando es lo suficientemente elevada como para estimular la secreción de insulina y que en última instancia favorecerá la entrada del excedente de glucosa al interior muscular [30]. Algunos estudios recientes demuestran que el ejercicio aumenta la transcripción genética del Glut 4 dependiente de la concentración de energía intracelular y la concentración de calcio [33]. Sería la disminución en la concentración de ATP intramuscular inducida por el ejercicio, lo que estimula el aumento de Glut 4 y de la enzima citrato sintetasa (enzima que transforma la Acetyl CoA en citrato, precursor de ácidos grasos en el ciclo de Krebs). Ciertos ácidos grasos no esterificados también inhiben al citrato sintetasa [34]. El ejercicio a través del AMP, activado por la proteína quinasa trasladaría a los Glut4 a la membrana [35]. La AMPK (AMP kinasa, isoforma $\alpha 2$) aumenta entonces la traslocación del Glut4 y aumenta también la oxidación de ácidos grasos [36]. La hipoxia recluta a los transportadores de glucosa Glut 4 de unas vesículas intracelulares hacia la membrana de la célula favoreciendo la entrada de glucosa a las células de corazón de rata [37]. (Ver Figura 14) También induce de manera crónica la expresión de ARNm del Glut 1 en el miocardio [38].

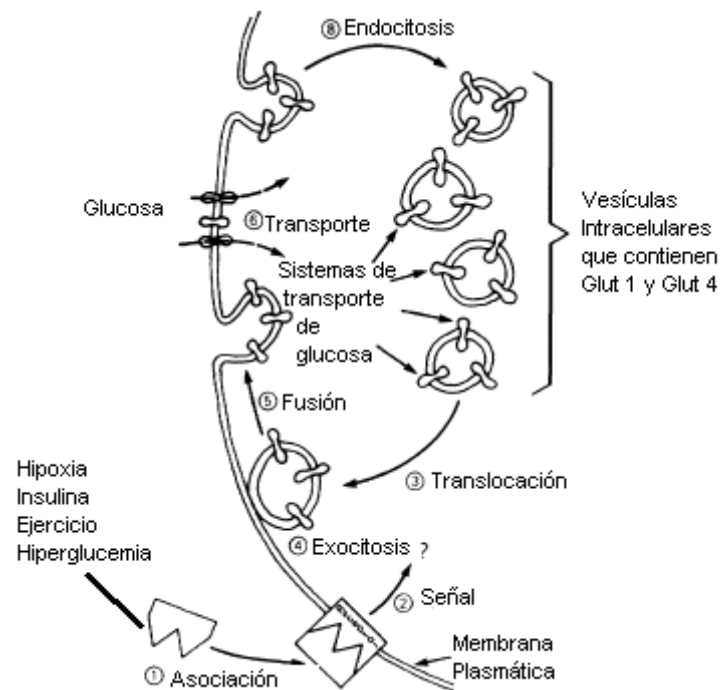


Figura 14. Representación esquemática del reclutamiento de los Glut 1 y Glut 4 hacia la membrana plasmática de las células musculares, sujetas a estimulación por insulina, ejercicio, hipoxia e hiperglucemia [39].

Durante el ejercicio, el flujo sanguíneo puede aumentar hasta 20 veces [40], favoreciendo con ello la disponibilidad de la glucosa y su captación por la célula. Asimismo durante el ejercicio, la permeabilidad y transporte de la glucosa al interior de la sarcómera se incrementan con la fuerza de la contracción y la intensidad del ejercicio que se esté realizando [41]. Por último, una vez que la glucosa se encuentra dentro de la célula muscular, es fosforilada irreversiblemente por la hexocinasa y su utilización como sustrato energético se incrementa proporcionalmente a la intensidad del ejercicio [42].

Se ha observado que el Ca^{2+} liberado del retículo sarcoplásmico y mitocondrias por la hipoxia, influye en forma directa (unión y fusión de vesículas a la membrana celular), o indirecta (a través de la activación de PI-3K o de alguna isoforma de la PKC) en la activación y translocación de las vesículas portadoras de GLUT-4 y la captación de glucosa [43,44].

3) OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto cardioprotector de los compuestos 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol (LQM-312) y del 4-tert-butil-2,6-bis(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol (LQM-319) mediante la captación de glucosa en cardiomiocitos de rata hipertensa durante la hipoxia, para determinar la activación de los transportadores de glucosa Glut 1 y Glut 4.

3.2 Objetivos Particulares

- Generar el modelo de hipertensión por medio de una dieta alta en NaCl.
- Caracterizar el modelo a través de la medición de presión, recolecta de orina, consumo de agua y comida.
- Determinar la respuesta metabólica a la hipoxia en el modelo de hipertensión, a través del consumo de glucosa.
- Determinar que transportadores de glucosa, de los 2 a estudiar Glut 1 y Glut 4, pueden ser responsables del consumo de glucosa durante la hipertensión en oxigenación e hipoxia.
- Evaluar el consumo de glucosa en oxigenación e hipoxia, con Captopril como control positivo de un antihipertensivo.
- Determinar que transportadores de glucosa intervienen en el efecto del Captopril.
- Evaluar la captación de glucosa durante la oxigenación e hipoxia en animales controles tratados con los LQM-312 y LQM-319, e identificar la participación de los transportadores de glucosa del corazón Glut 1 y Glut 4.
- Evaluar la captación de glucosa durante la oxigenación e hipoxia en animales hipertensos tratados con los LQM-312 y LQM-319, e identificar la participación de los transportadores de glucosa del corazón Glut 1 y Glut 4.

4) HIPÓTESIS

Los compuestos LQM-312 y LQM-319 presentan un efecto antihipertensivo; por lo que tendrán una acción cardioprotectora ya que al disminuir el desgaste del corazón se regulariza el metabolismo cardiaco así como la expresión de los transportadores de glucosa Glut 1 y Glut 4.

5) METODOLOGÍA

5.1 Animales: Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar de peso entre 300 y 400 gramos (g) de 6 meses de edad. La manipulación de los animales, utilizados en este trabajo, está basada bajo las especificaciones del “Tratado de Helsinki” el cual menciona que durante el proceso de investigación, deben considerarse especialmente los factores que puedan afectar al medio ambiente, y debe respetarse el bienestar de los animales utilizados con fines de investigación. Se alimentó a los grupos controles con alimento Lab Diet 5001 y agua *ad libitum*; mientras a los animales hipertensos (HP) se les alimentó con una dieta rica en NaCl (10% p/p), por 4 semanas; y agua *ad libitum*, para así inducir la hipertensión. Además se mantuvieron en condiciones de limpieza y ciclos día/noche en un bioterio controlado.

5.2 Alimento con NaCl: Se molió muy finamente el alimento Lab Diet 5001, agregó a éste por cada kilogramo 222 g de almidón, y se adicionó un 10% (p/p) de NaCl, se mezcló y agregó agua hasta formar una pasta homogénea, se moldearon formas cúbicas pequeñas similares a los nutricubos, y se dejaron secar éstas para que endurecieran nuevamente.

5.3 Medición de la Presión Arterial: La presión arterial se midió en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cardiología: Dr. Ignacio Chávez en animales conscientes con el método del manguillo-cola. Las ratas se introdujeron en una caja especial. La presión arterial sistólica, diastólica y frecuencia cardiaca se obtuvieron mediante la colocación de un sensor en la cola cada rata, el cual está conectado a un amplificador SPAM que convierte los impulsos provenientes del animal en señales gráficas que detecta la computadora con ayuda del software SIEVART 1. Se calculó la media. Las grabaciones fueron tomadas de seis determinaciones independientes, utilizando este software desarrollado en el Instituto Nacional de Cardiología Dr. Ignacio Chávez en el departamento de Instrumentación.

5.4 Preparación y administración de los compuestos: 0.1 g de cada compuesto (Captopril, LQM-312 y LQM-319), se diluyó en 300 μ L de HCl 0.1N (Solución A), ya que se buscaba obtener una dosis de 1 mg/kg de peso/día, de administración vía oral a las ratas; se tomó 0.1 mL de esta solución y se llevó a volumen de 0.3 mL con agua glucosada (Solución B), y así se administró a cada rata, esa dosis por 7 días. La concentración final administrada del compuesto fue de 0.35 mg de compuesto/mL de solución. Los compuestos se administraron para animales controles después de medir la presión por 7 días y para animales HP después de 4 semanas de dieta de sal y medición de la presión arterial igualmente por 7 días.

5.5 Obtención de Miocitos: Los animales se sacrificaron por decapitación, posteriormente se extrajeron los corazones de la cavidad torácica y se colocaron en una solución de Tyrode (Tyr) (NaCl 140 mM, KCl 5 mM, $MgCl_2$ 1 mM, HEPES 5 mM, Heparina, Glucosa 10 mM y $CaCl_2$ 1 mM) a 2° C burbujeada con gas carbógeno 95% O_2 , 5% CO_2 (PO_2 160 mm Hg- PCO_2 21.3 mm Hg). Los corazones se montaron en un sistema de perfusión retrógrada tipo Langendorff y perfundieron durante 5 min con la misma solución a 37° C. La reperfusión retrógrada permite a la solución deseada fluir por las arterias coronarias e irrigar el tejido de la forma más natural. Seguido de 5 min de otra solución similar libre de calcio sin recircular. (Ver Figura 15)



Figura 15. Sistema de Perfusión Retrógrada tipo Langendorff en corazón de rata. Imagen elaborada por Rodrigo González Terán y Nalleli Torres Garduño.

Se continuó la perfusión con una solución de digestión (Tyrode con 0.03 % de colagenasa tipo II y 2% albúmina sérica bovina) por 6 min en recirculación. Los corazones se quitaron del sistema de perfusión, se seccionaron los ventrículos, se cortaron en pequeños trozos y se colocaron en la misma solución de digestión a 37° C por 7 minutos más con agitación suave, todo en oxigenación. Se filtraron las células dispersas a través de una malla de nylon de 200 μm en tubos de plástico de 20 mL. Se centrifugaron los tubos (1500 rpm por 3 min) y retiraron los sobrenadantes, las células se lavaron 3 veces más resuspendiéndolas en Tyrode sin Ca^{2+} y después centrifugándolas. (Ver Figura 16)



Figura 16. Cardiomiocitos de rata aislados. Imagen elaborada por Rodrigo González Terán y Nalleli Torres Garduño.

5.6 Miocitos aislados tratados con los anticuerpos Anti-Glut 1 y

Anti-Glut 4 en oxigenación e hipoxia: Se colocaron aproximadamente 4×10^4 células o 100 mg de tejido fresco en tubos Eppendorff; y se añadieron 200 μ L de cada una de las siguientes soluciones: **A)** Solución de Tyrode, **B)** Solución Tyr con Anticuerpo (Ab) policlonal contra el transportador Glut 1 dilución 1:1000 y **C)** Solución Tyr con Ab policlonal contra el transportador Glut 4 dilución 1:10,000; todas estas soluciones se incubaron por una hora para cada condición (oxigenación, hipoxia). Para los grupos oxigenados (+O₂) se burbujeó la solución con carbógeno 5% O₂, 5% CO₂ (PO₂ 160 mm Hg-PCO₂ 21.3 mm Hg) por 5 min, para la hipoxia (-O₂) se burbujearon las soluciones con Nitrógeno 95% N₂, 5% CO₂ (PO₂ 21.3 mm Hg-PCO₂ 27.3 mm Hg) por 5 min.

En la tabla 5 se muestran todos los grupos experimentales.

Tabla 5. Grupos Experimentales

Grupos Control		Grupos Hipertensos (HP)	
Control		Control HP	
A_C) Captación de glucosa con Tyrode (Tyr) en condiciones control en oxigenación (O ₂).	B_C) Efecto de la hipoxia (N ₂) en la captación de glucosa.	A_{HP}) Captación de glucosa con Tyr en condiciones control en O ₂ .	B_{HP}) Efecto de la N ₂ en la captación de glucosa.
C_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de O ₂ .	D_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N ₂ .	C_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de O ₂ .	D_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N ₂ .
Captopril			
Captopril		HP-Captopril	
E_C) Captación de glucosa con Tyr en condiciones control en O ₂ .	F_C) Efecto de la N ₂ en la captación de glucosa.	E_{HP}) Captación de glucosa con Tyr en condiciones control en O ₂ .	F_{HP}) Efecto de la N ₂ en la captación de glucosa.
G_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de		G_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de	

glucosa en condiciones de O_2 . H_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N_2 .	glucosa en condiciones de O_2 . H_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N_2 .
---	--

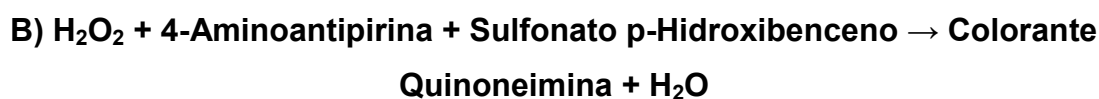
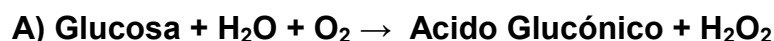
LQM-312

LQM-312	HP LQM-312
I_C) Captación de glucosa con Tyr en condiciones control en O_2 . J_C) Efecto de la N_2 en la captación de glucosa. K_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de O_2 . L_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N_2 .	I_{HP}) Captación de glucosa con Tyr en condiciones control en O_2 . J_{HP}) Efecto de la N_2 en la captación de glucosa. K_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de O_2 . L_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N_2 .

LQM-319

LQM-319	HP LQM-319
M_C) Captación de glucosa con Tyr en condiciones control en O_2 . N_C) Efecto de la N_2 en la captación de glucosa. O_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de O_2 . P_C) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N_2 .	M_{HP}) Captación de glucosa con en condiciones control en O_2 . N_{HP}) Efecto de la N_2 en la captación de glucosa. O_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de O_2 . P_{HP}) Efecto del bloqueo de los transportadores de glucosa: Glut 1 (1:1000) y Glut 4 (1:10,000) en la captación de glucosa en condiciones de N_2 .

5.7 Medición de la captación de glucosa: Al terminar los 60 min de incubación, se centrifugaron las células a 1500 rpm durante 2 min y se tomaron 2 μL de sobrenadante y se depositaron en cada pozo de una placa de ELISA, se agregaron 200 μL de reactivo de Trinder 100, para leer posteriormente en el equipo: BIORAD-Benchmark Plus. El principio del reactivo Trinder 100 es debido a la enzima glucosa oxidasa por medio de la siguiente reacción:



La reacción A se cataliza con glucosa oxidasa y la reacción B con peroxidasa, la glucosa se oxida a ácido glucónico y peróxido de Hidrógeno debido a la glucosa oxidasa. El peróxido reacciona con la peroxidasa y la 4-Aminoantipirina y el Sulfonato p-Hidroxibenceno para formar un colorante, el cual tiene su máxima absorbancia a 505 nm. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de glucosa. La sensibilidad nos dio un cambio en la absorbancia de 0.003 que corresponde a 2 mg/dL en la concentración de glucosa y posee una linealidad de hasta 750 mg/dL.

5.8 Análisis Estadístico: Para facilitar el análisis de los resultados, estos se expresaron como μg de glucosa/ g de tejido fresco/ h. Se calculó el porcentaje de cada experimento individual y se sacó el promedio y los errores estándar de los experimentos. Las diferencias estadísticamente significativas se analizaron utilizando un análisis de varianza de una vía se consideró estadísticamente significativo cuando la $P < 0.05$ una prueba de t de Student pareada considerando estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$ y $n = 20$.

6) RESULTADOS

6.1 Modelo de HP: A las ratas de 1 mes de tratamiento con dieta de sal, se les midió el peso final, consumo de agua y comida, y orina excretada. Los resultados se muestran en la tabla No. 6:

Tabla 6. Modelo de Hipertensión

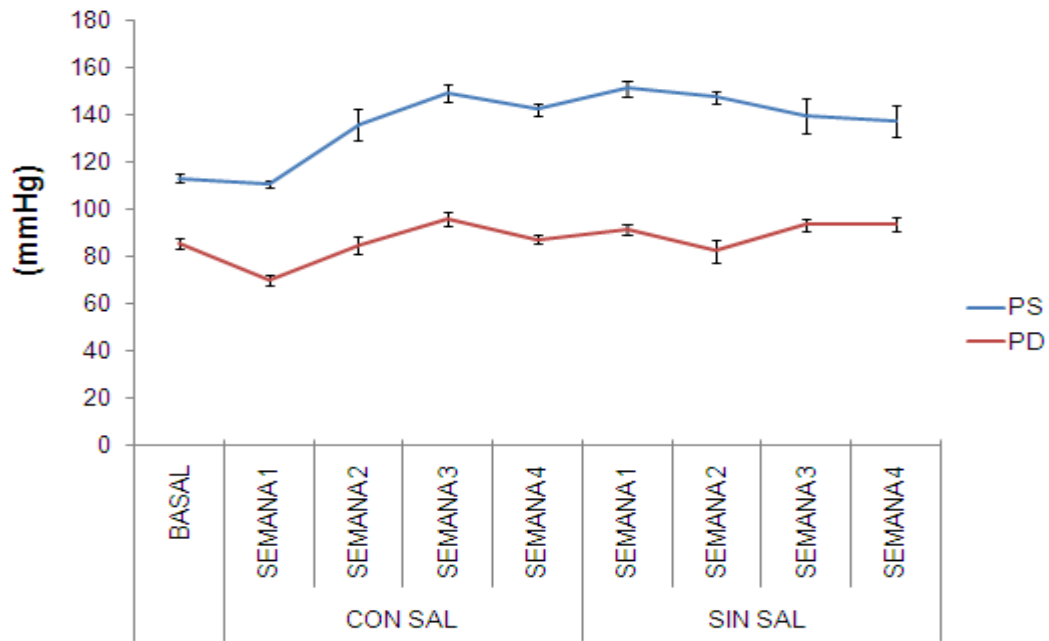
Parámetros	ANIMALES CONTROL		ANIMALES HP	
	Peso Inicial	Peso Final	Peso Inicial	Peso Final
PESO (g)	278.33	297.5	250.41	272.5
CROQUETAS (g)	22.47		23.46	
AGUA (mL)	34.44		128.85*	
ORINA (mL)	3.76		24.08*	

*= Indica una diferencia significativa contra su control. Valor promedio de una n=20, p<0.01.

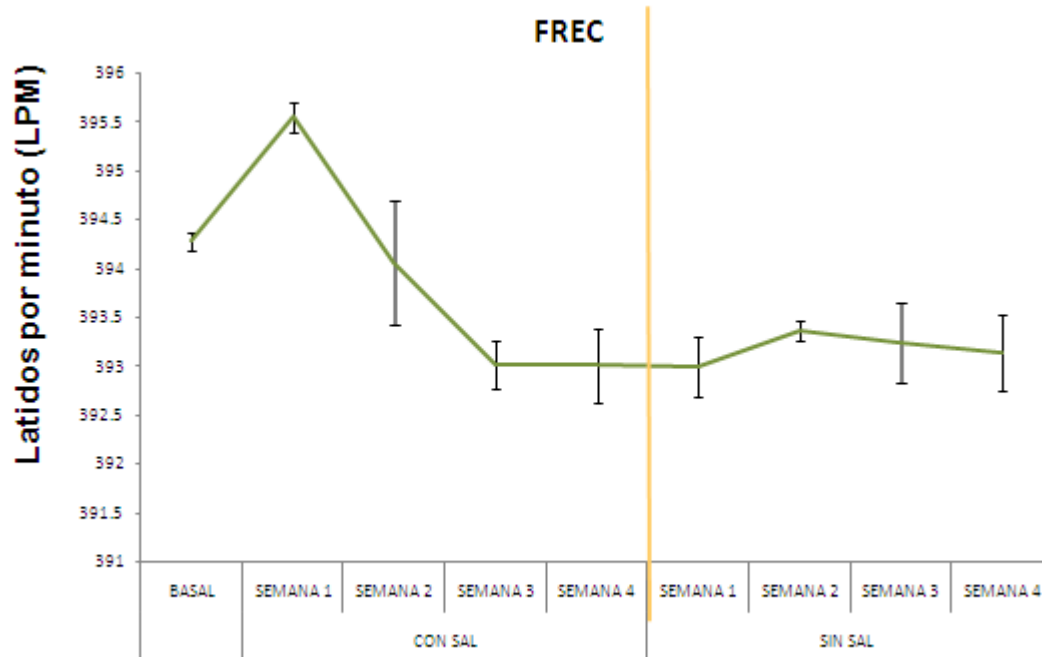
En la tabla 6 se observan los parámetros que caracterizan el modelo de sal para producir hipertensión, se puede ver que no se modifica: el peso, consumo de croquetas, pero si el consumo de agua y orina ya que los valores se triplican.

En la gráfica 1 y 2 se muestran las presiones promedio tanto sistólica como diastólica y frecuencia cardíaca de animales durante el tratamiento con la dieta de sal, por 4 semanas y por 4 semanas sin la dieta.

UNAM
FES-CUAUTILÁN

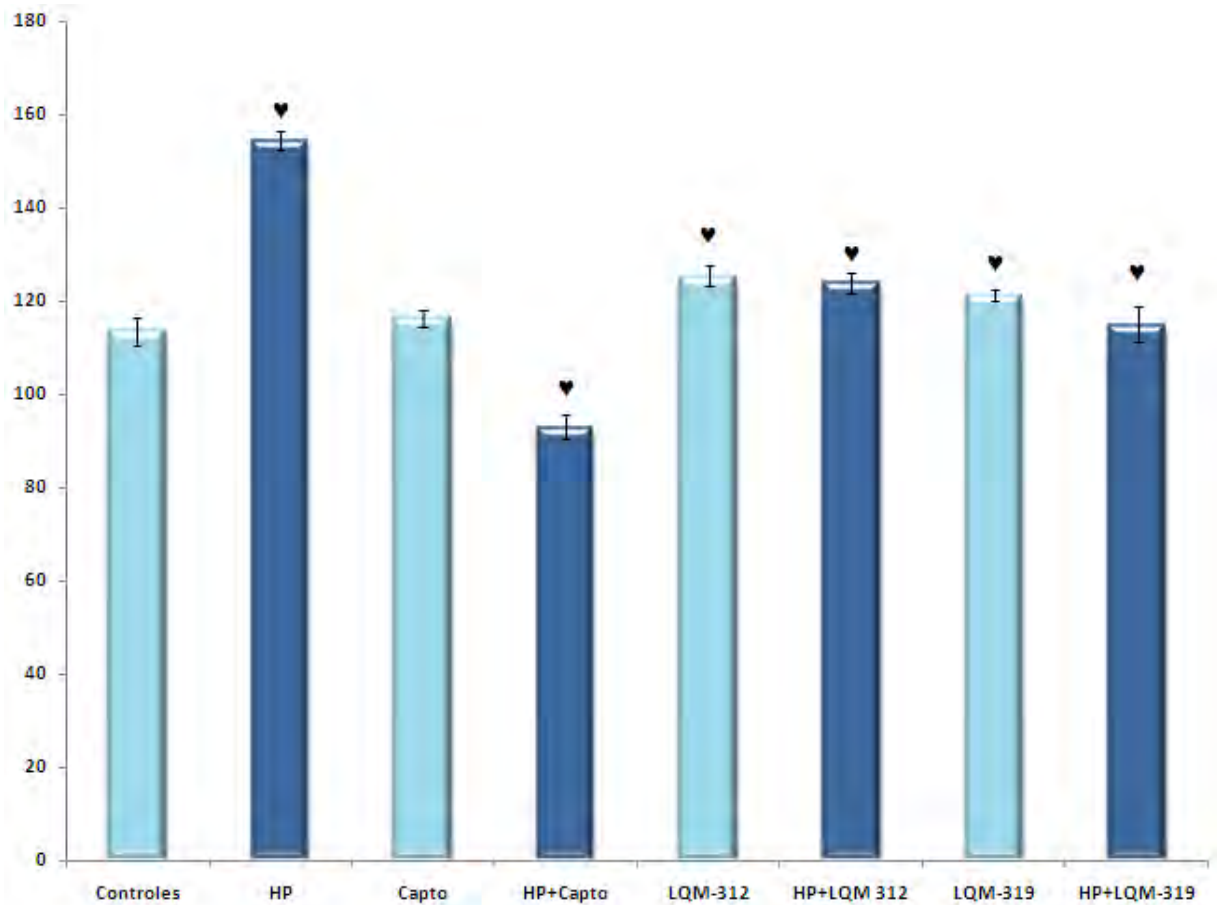


Gráfica 1. Presión Sistólica y Diastólica durante el tratamiento con la dieta de sal, por 4 semanas y por 4 semanas sin la dieta.



Gráfica 2. Frecuencia Cardiaca durante el tratamiento con la dieta de sal, por 4 semanas y por 4 semanas sin la dieta.

Se les midió la presión a lo largo del tratamiento y después de una semana del tratamiento con los compuestos (Captopril, LQM-312 y LQM-319). (ver Gráfica 3)



Gráfica 3. Presiones Sistólicas de los diferentes grupos experimentales (mm Hg). ♥ $p < 0.05$ comparado contra su control.

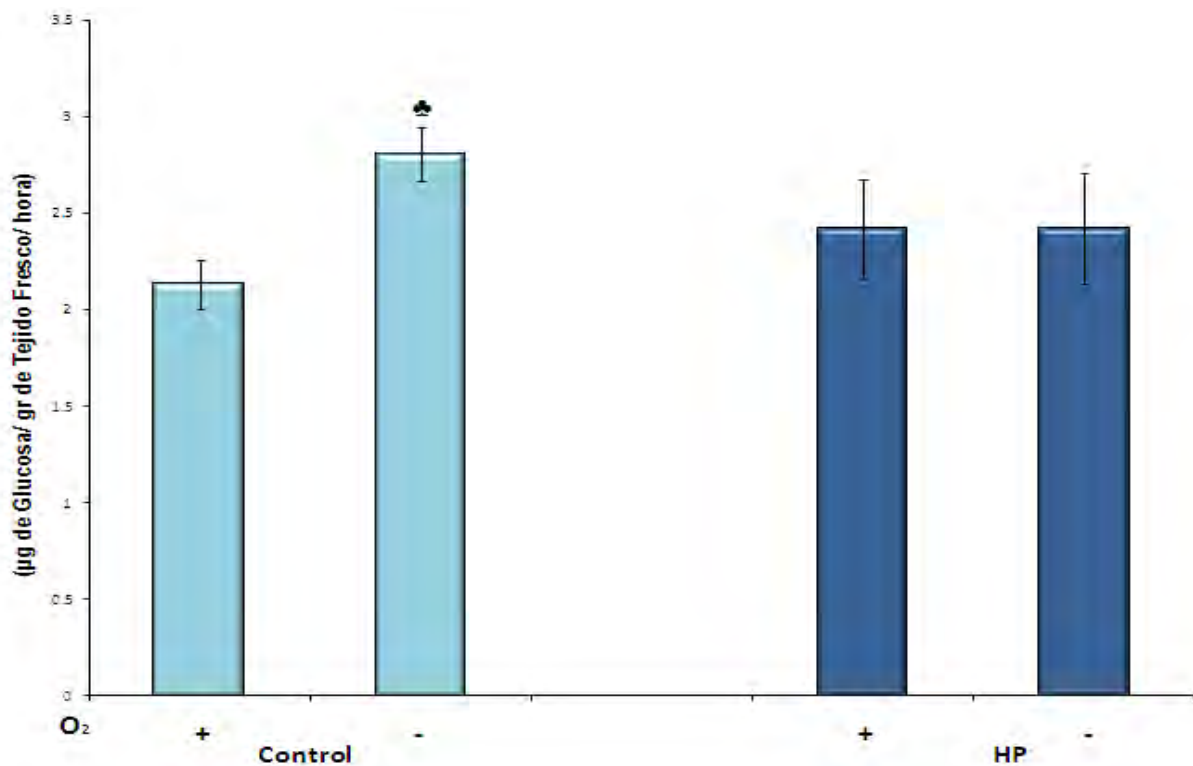
6.2 Efecto de la HP en la captación de glucosa de cardiomiocitos

Animales Control

El consumo basal de los cardiomiocitos es de 2.13 ± 0.12 μg de Glucosa/ gr de Tejido Fresco/ hora; cuando se sometieron a condiciones de hipoxia aumentó a 2.80 ± 0.13 μg de Glucosa/ gr de Tejido Fresco/ hora, o sea un 31.35% más. (Ver Gráfica 4)

Animales Hipertensos

Las células cardiacas de animales HP consumen 2.41 ± 0.25 μg de Glucosa/ gr de Tejido Fresco/ hora, aumentando 0.40% respecto a su control, sin ser estadísticamente significativos, al exponerlos a la hipoxia no se ven cambios metabólicos dados por esta condición; por lo que tienen el mismo consumo. (Ver Gráfica 4)



Gráfica 4. Efecto de la hipoxia en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa. ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado.

6.3 Participación de los transportadores de glucosa (Gluts) en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa.

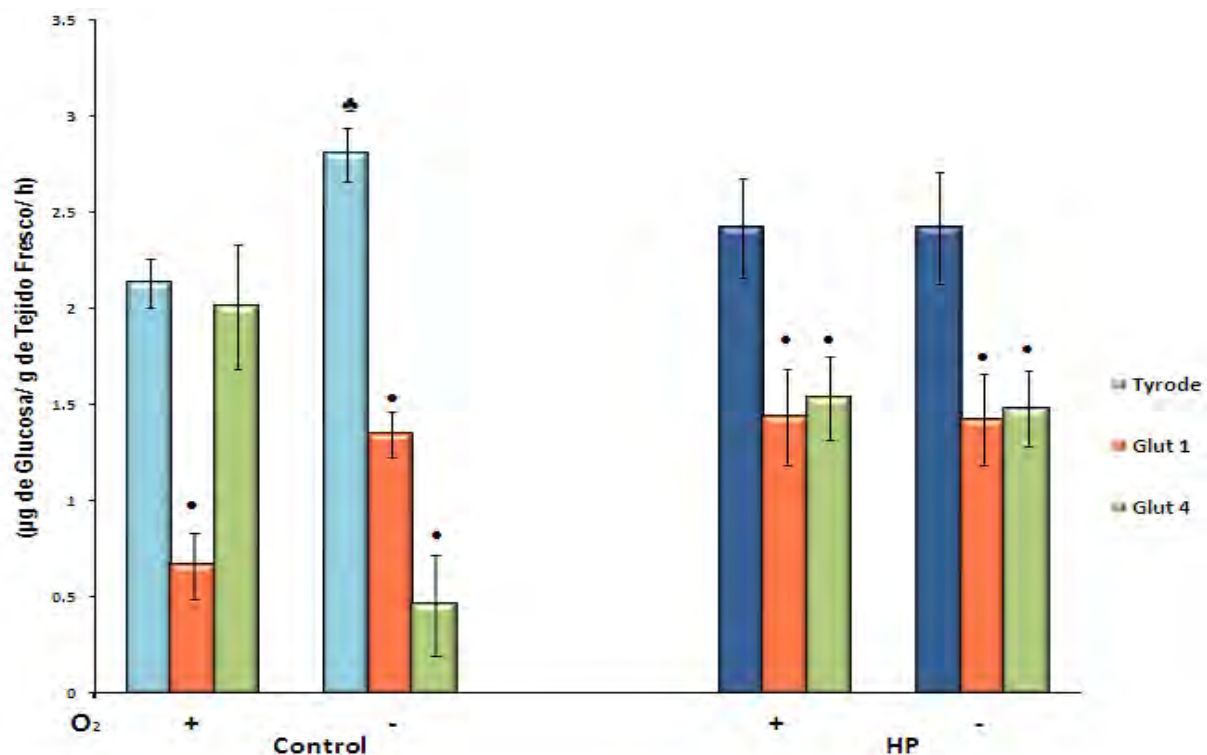
Para probar la participación de los dos transportadores de glucosa del corazón, las células fueron tratadas con Tyrode en la presencia de anticuerpos policlonales que reconocen el dominio extracelular de los transportadores.

Animales Control

Cuando las células fueron tratadas con Tyrode en oxigenación, la captación de glucosa fue bloqueada con el anticuerpo anti-Glut 1, sin que el anticuerpo anti-Glut 4 tuviera efecto. Durante la hipoxia hubo un bloqueo significativo de la captación de glucosa tanto con el anticuerpo anti-Glut 1 como con el anticuerpo anti-Glut 4. (Ver Gráfica 5)

Animales Hipertensos

En células de animales hipertensos, en condiciones de oxigenación la captación de glucosa se vio bloqueada por ambos anticuerpos (anti Glut-1 y anti Glut-4) así como en hipoxia. (Ver Gráfica 5)



Gráfica 5. Participación de los Transportadores de Glucosa (Gluts) en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa. $\clubsuit p < 0.05$ contra el control oxigenado y $\bullet p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode.

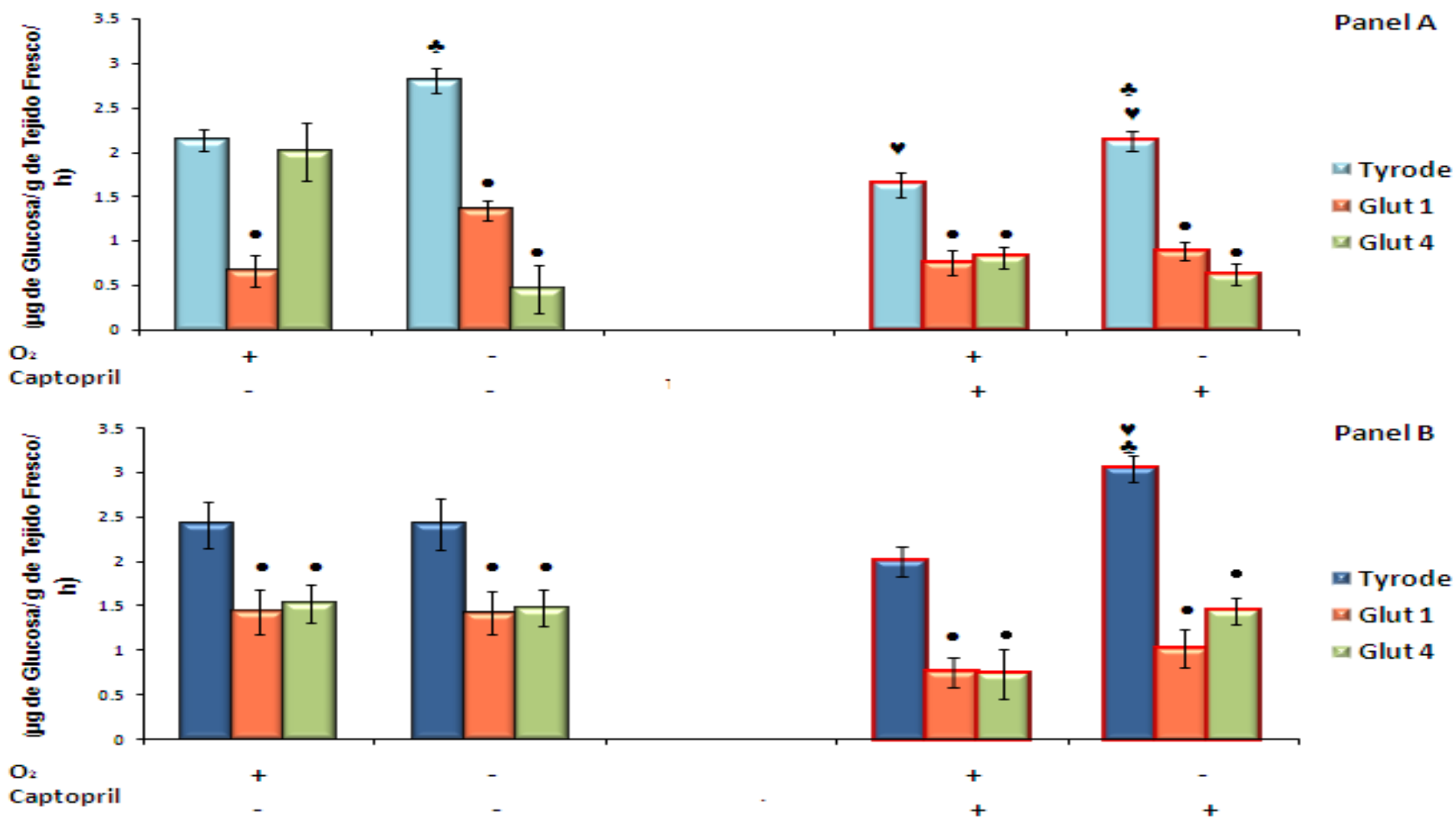
6.4 Efecto del captopril en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control e hipertensa y la participación de los Gluts

Animales Control

En animales sanos tratados con captopril, se observó una disminución en la captación de glucosa, tanto en oxigenación como en hipoxia, y una diferenciación en el comportamiento por parte de los anticuerpos contra Glut 1 y Glut 4, bloqueando a los 2 transportadores. Al someterlos a condiciones de hipoxia aumenta la captación en un 29.26% con respecto a su control, y la captación de glucosa se ve bloqueada significativamente por los anti-Glut 1 y anti-Glut 4. (Ver Gráfica 6 Panel A)

Animales Hipertensos

En animales hipertensos tratados con captopril la captación de glucosa no fue muy diferente en oxigenación, y además se puede ver un bloqueo más significativo por parte de los anticuerpos anti-Glut 1 y anti-Glut 4. Durante la hipoxia se ve aumentada la captación de glucosa; los anticuerpos bloquearon tanto al Glut 1 como al Glut 4. (Ver Gráfica 6 Panel B)



Gráfica 6. Panel A: Efecto del captopril en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control. ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado, • $p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode y ♥ $p < 0.05$ comparando tratamiento. **Panel B:** Efecto del captopril en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata Hipertensa. ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado y • $p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode y ♥ $p < 0.05$ comparando tratamiento.

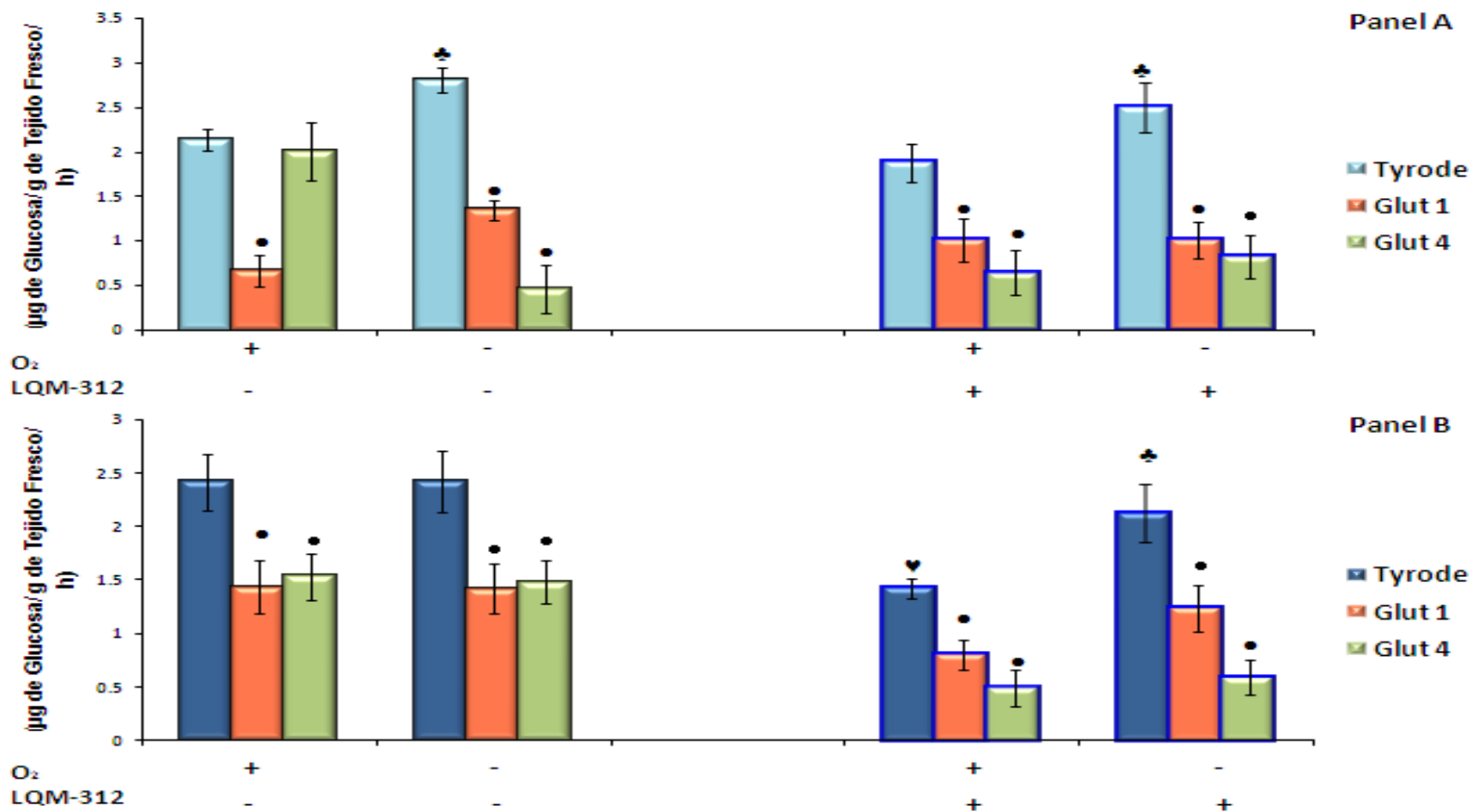
6.5 Efecto del LQM-312 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control e hipertensa y la participación de los Gluts

Animales Control

En animales sanos tratados con el fármaco LQM-312; se disminuyó la captación de glucosa en oxigenación, además podemos observar un bloqueo en la captación de glucosa por el anti-Glut 1 y por el anti-Glut 4, cuando sometimos a hipoxia se observó aumentada la captación de glucosa, e igualmente vemos bloqueados tanto el Glut 1 como el Glut 4 por los anticuerpos, aunque el comportamiento metabólico es muy parecido en oxigenación e hipoxia. (Ver Gráfica 7 Panel A)

Animales Hipertensos

En animales hipertensos y tratados con el fármaco LQM-312; disminuye la captación de glucosa, y se ve un bloqueo significativo de los transportadores Glut 1 y 4 por los anticuerpos, en condiciones oxigenadas. En estado de hipoxia la captación de glucosa es significativa, pero los anticuerpos bloquean nuevamente a los transportadores de glucosa. (Ver Gráfica 7 Panel B)



Gráfica 7. Panel A: Efecto del LQM-312 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado, • $p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode. **Panel B:** Efecto del LQM-312 en la captación de glucosa en cardiomiocitos de rata hipertensa ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado, • $p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode y ♥ $p < 0.05$ comparado tratamiento.

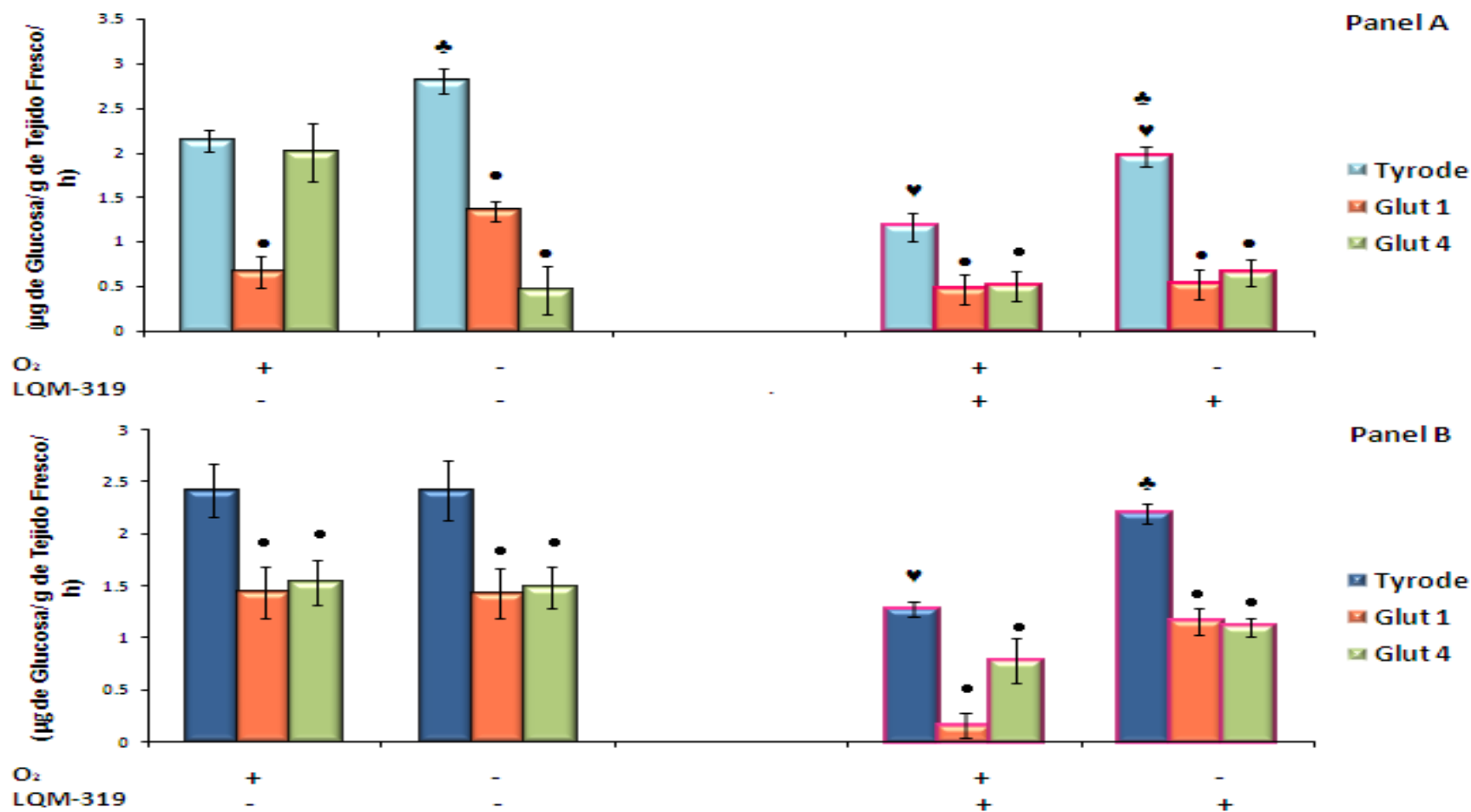
6.6 Efecto del LQM-319 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control e hipertensa y la participación de los Gluts.

Animales Control

En animales sanos administrados con el compuesto LQM-319 podemos observar que se disminuye la captación de glucosa en un 45.07%, con un bloqueo muy amplio por parte de ambos anticuerpos en oxigenación. En situación de hipoxia la captación de glucosa aumenta, los transportadores de glucosa se ven bloqueados por los anticuerpos contra Glut 1 y Glut 4. (Ver Gráfica 8 Panel A)

Animales Hipertensos

En animales hipertensos más el tratamiento con el fármaco LQM-319 la captación de glucosa en condiciones de oxigenación disminuyó respecto a su control en un 47.30% y podemos ver un bloqueo total por parte del anti-Glut 1 para el transportador, aunque también el Glut 4 se muestra bloqueado por el anticuerpo, pero en menor medida. En la hipoxia aumenta la captación siendo estadísticamente significativas para el control, en cuanto a los transportadores de glucosa podemos decir que se ven bloqueados por el anticuerpo pero en mucha menor proporción que en condiciones de oxigenación, en ambos transportadores. (Ver Gráfica 8 Panel B)



Gráfica 8. Panel A: Efecto del LQM-319 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata control ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado, • $p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode y ♥ $p < 0.05$ comparando tratamiento. **Panel B:** Efecto del LQM-319 en la captación de glucosa de cardiomiocitos de rata hipertensa ♣ $p < 0.05$ contra el control oxigenado, • $p < 0.05$ comparado con su control de Tyrode y ♥ $p < 0.05$ comparando tratamiento.

7) DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente trabajo muestra como los compuestos LQM-312 y LQM-319 benefician al corazón de rata de su deterioro durante la hipoxia. Se analizó su acción como antihipertensivos, tomando al captopril como control positivo, además se evaluó la captación de glucosa por sus células aisladas y la participación de los transportadores de glucosa.

La hipertensión es una enfermedad de alta incidencia en la población mexicana, por lo cual se buscan nuevos compuestos, con actividad antihipertensiva que posean menos efectos secundarios, además de acciones benéficas para el corazón. En la FES-Cuautitlán en el Laboratorio de Química Medicinal, se han sintetizado una serie de moléculas provenientes de la changrolina (primer antimalárico) y se han sustituido partes de la molécula original, dando pie a nuevos compuestos (LQM's) los cuales en otros estudios han demostrado distintas propiedades como antihipertensivos o antiarrítmicos; los LQM-312 y LQM-319 fueron utilizados en esta tesis por sus características hipotensoras, antihipertensivas y vasodilatadoras.

En las ratas hipertensas por sal, se observó que la dieta de sal no modifica valores como la cantidad de alimento consumido, ni el peso final del animal; contrariamente si modifica los valores de agua y orina, ya que ambos valores se ven triplicados con respecto a animales sanos. Cabe mencionar que se observó un cambio en el comportamiento de los animales aumentando su agresividad, al final del mes de administración de dieta.

En la primera semana de administración de dieta, se observa una depresión en el valor de presión, esto puede explicarse por un mecanismo de compensación por parte del animal [45]. Sin embargo, la PA comienza a aumentar paulatinamente conforme el tiempo.

Se tomó la presión cada semana, e inicial, y a los quince días, pero sólo el 50% de la población era hipertensa, por lo que se decidió prolongar el tratamiento a un mes. Al mes de tratamiento y evaluando todos los animales, se puede decir que la tercera semana es la que manifiesta un pico más alto de presión, sin embargo se sigue manteniendo alta hasta el final.

A otro grupo experimental que no se usó para los experimentos, se le retiró la dieta de sal al mes de administrarla, para ver si se mantenían en hipertensión, y así fue. Sin embargo no presentaron daños histológicos ni en riñón ni en corazón. Cabe mencionar que tal vez se deba al poco tiempo de la dieta de sal siendo éste muy corto para provocar hipertensión crónica, este tratamiento se puede prolongar disminuyendo el porcentaje de sal en la dieta, ya que es muy alto el 10% de sal, y de seguir con la administración de ésta el animal presenta alteraciones como pérdida en la movilidad de sus extremidades, mayor agresividad y en casos aislados la muerte. Así que se puede decir que el modelo de sal es efectivo para provocar hipertensión, aunque para producir hipertensión crónica por lo que suponemos se necesita un porcentaje aproximado del 6-7% de NaCl.

Los valores de frecuencia cardiaca, no sufren cambios significativos a través del tratamiento. En la semana 1 del tratamiento hay un alza de la FC, esto se debe a la manipulación de los animales aumentando su nivel de estrés y por consiguiente sus niveles de FC, estos disminuyen conforme los animales se van acostumbrando a la manipulación y al proceso de medición de presión arterial. Podemos decir que solo la dieta de sal modifica la presión, pero no la FC.

De los compuestos utilizados como antihipertensivos se obtuvo la mejor respuesta a través del Captopril. Este medicamento se sabe que actúa mediante la vía de renina-angiotensina-aldosterona, inhibiendo a la enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) [13]. Los otros dos compuestos LQM-312 y LQM-319 también tienen un buen poder hipotensor, pero no tan bueno como el Captopril. Podemos suponer que éstos actúan por la misma vía puesto que tienen un comportamiento similar.

En los experimentos realizados en miocitos aislados, se observó una captura significativa de glucosa, tanto en condiciones de oxigenación como de hipoxia. Esta no fue tan alta como lo reportado por Probs y col [46] pero similar a lo hallado por Cartee y col. [47]. La captación aumentó significativamente durante la hipoxia, como ha sido previamente reportado por Kao y col. [48] y Opie [49].

La utilización de carbohidratos y ácidos grasos está regulada por las tasas de consumo y producción de componentes de alta energía en el músculo cardíaco. Los

ácidos grasos son el sustrato principal del metabolismo cardíaco, cuando los niveles circulantes de glucosa se elevan en el estado postprandial, la contribución de la glucosa al metabolismo oxidativo puede convertirse en el dominante [50]. Se ha calculado que el requerimiento energético cardíaco que no es cubierto por los ácidos grasos se satisface en proporciones iguales por la glucosa y el lactato [50].

El corazón es un órgano que responde a una deficiencia de flujo sanguíneo, aumentando su utilización energética [6]. Y es durante la hipoxia donde el metabolismo cardíaco cambia de ser dependiente de ácidos grasos a carbohidratos.

La captación de glucosa en animales control aumenta significativamente en la hipoxia, no siendo así en animales HP. La captación de glucosa basal en HP es ligeramente mayor solo en un 0.40%; ya su metabolismo anaerobio se encuentra activado desde que está en condiciones de oxigenación. En los resultados no hay diferencia significativa pero si la tendencia a consumir más glucosa en HP.

Se conocen varios factores que incrementan el transporte de glucosa en el músculo cardíaco, como la actividad metabólica y funcional de la célula, cambios en la disponibilidad de sustratos, entre ellos los ácidos grasos y el ejercicio; además los transportadores participan en el aumento del consumo de glucosa.

Cuando se realizaron los experimentos para ver la participación de los transportadores de glucosa, se observó que en animales control en condiciones de oxigenación Glut 1 es el responsable del consumo basal de glucosa, como se ha reportado en estudios [30]; sin embargo Glut 4 no participa. En condiciones de hipoxia ambos transportadores de glucosa participan. Contrariamente en animales HP, ambos transportadores participan tanto en oxigenación como en hipoxia. Esto podría deberse al estado de emergencia en el que se encuentra el corazón, y como existe un trabajo excesivo aumenta la expresión de Glut 4 independientemente de la condición de oxigenación en la que se encuentre.

La hipoxia recluta a los transportadores de glucosa Glut 4 de unas vesículas intracelulares hacia la membrana de la célula favoreciendo la entrada de glucosa a las células de corazón de rata [37]. También induce de manera crónica la expresión de ARNm del Glut 1 en miocardio [38]. Los resultados obtenidos apoyan la participación del Glut 4 en la hipoxia, ya que se encontró que la presencia de los

autocuerpos anti-Glut 4, durante la incubación en condiciones de hipoxia, bloquearon la entrada de glucosa. Aunque también se presentó un bloqueo de la captura mediada por el Glut 1, esto debido a que el transportador ya existe de manera basal en el tejido.

El Captopril en animales control disminuye en un 23.00% la captación de glucosa, siguiendo el comportamiento de captación de glucosa en la hipoxia. En cuanto a los transportadores de glucosa, estudios indican que el Captopril produce una expresión de Glut 4, explicando porque éste se encuentra activo en condiciones de oxigenación, y su captación en hipoxia [52]. En animales HP tratados con Captopril, vemos una tendencia al disminuir el consumo sin ser significativa; sin embargo el Captopril revierte la no respuesta a la hipoxia durante la HP, quizás mejorando el metabolismo. Además aumenta, sobre todo en hipoxia, la captación de glucosa por parte de los Gluts 1 y 4, ya que están activados. Es importante observar que el Captopril regula el metabolismo cardiaco.

La captación de glucosa del LQM-312 es muy parecida a los animales control; sin embargo al igual que el Captopril, ya se observa la participación de los 2 transportadores desde la oxigenación y con una respuesta muy similar durante la hipoxia. En animales HP tratados con el fármaco, se observa una reducción muy significativa del consumo basal y una clara respuesta en la hipoxia, con la participación de los 2 transportadores, tanto en oxigenación como en hipoxia, pudiéndose decir que el efecto cardioprotector es evidente.

Cuando se utilizó el fármaco LQM-319, se observó que disminuye la captación en animales controles, y si hubo participación de los dos transportadores, siendo muy parecido al LQM-312 y al Captopril. En los animales HP tratados con el fármaco disminuye la captación de glucosa y de igual manera ambos transportadores se encuentran activados, pero se ve claramente que el Glut 1 tiene una mayor respuesta metabólica que el Glut 4 en la oxigenación. Debido posiblemente a que los compuestos administrados pueden presentar actividad en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, como se ha demostrado anteriormente ya que estos tienden a expresar glut 4 independientemente de la acción de la insulina en los músculos y masa renal [53].

En condiciones de hipoxia en las células tratadas con los compuestos LQM-312, LQM-319 y Captopril, la glucosa entra a la célula utilizando los transportadores Glut 1 y 4, los cuales pudieran estar incrementados en número por la acción de la hiperglucemia; aportando el sustrato necesario como combustible.

Cuando se utilizaron los anticuerpos contra los transportadores de glucosa 1 y 4 de animales HP, tratados con los compuestos y el Captopril, se encontró que los dos participaban en sus efectos benéficos en la hipoxia, ya que existen reportes de que la hipoxia [37] genera un mayor número de transportadores Glut 4.

Los compuestos LQM-312 y LQM-319 ayudan al corazón en la hipoxia disminuyendo el daño y previniendo el futuro deterioro celular; esto debido a que utilizan los transportadores de glucosa Glut 1 y Glut 4, provocando una aceleración de la única vía que puede utilizar para obtener ATP durante la hipoxia.

8) CONCLUSIONES

- Se provocó hipertensión a las ratas a través del modelo de dieta alta en NaCl, además de la estandarización de este modelo.
- Se logró evaluar el efecto cardioprotector de los compuestos LQM-312 y LQM-319 en cardiomiocitos de rata hipertensa durante la hipoxia. Captopril, LQM-312 y LQM-319 tienen el mismo efecto en condiciones normales o sanas, promoviendo una mejor captación de glucosa mediada por los dos transportadores estudiados.
- En el caso de animales hipertensos el Captopril es el que mejor efecto hipotensor tiene y a pesar de su actividad Glut 4, su transporte se da principalmente por Glut 1.
- El LQM-312 se observó que el Glut 4 participa mayormente que el Glut 1.
- En el caso de LQM-319 en la oxigenación es el Glut 1 quien participa mayoritariamente, mientras que en la hipoxia son los dos transportadores los encargados de rescatar al corazón.
- Los compuestos LQM-312 y LQM-319 tienen un buen efecto como antihipertensivos además de activar a los transportadores de glucosa 1 y 4 regulando el metabolismo cardíaco.

9) PROYECCIONES

- Este trabajo apoya el uso de los compuestos LQM-312 y LQM-319 en la clínica, como antihipertensivos promotores de la cardioprotección.

10) REFERENCIAS

1. Moragrega AJL y cols. (2005). Definición, clasificación, epidemiología, estratificación de riesgo, prevención primaria. Revista Mexicana de Cardiología 16 (2):7-13
2. Rosas M, y cols. (2004). Hipertensión arterial en México. Guías y recomendaciones para su detección, control y tratamiento. Comité Institucional para el Estudio y Prevención de la Hipertensión Arterial Sistémica. Archivos de Cardiología México. 74:134-157.
3. Manual de Hipertensión Arterial en la Práctica Clínica de Atención Primaria. (Junio 2006). Sociedad Andaluza de Medicina de Familia. Grupo de Hipertensión Arterial.
4. Ruíz Martínez M.A. (2003). Manual de farmacia practica. Universidad de Granada, España. Pág. 257-303.
5. Guía de 2007 para el manejo de la hipertensión arterial Grupo de trabajo para el manejo de la hipertensión arterial de la European Society of Hypertension (ESH) y la European Society of Cardiology (ESC)
6. Guyton AC, Hall JE. (1997). Tratado de Fisiología Médica. México. Editorial Interamericana, Mc Graw Hill, Novena Edición.
7. Ennis IL, Escudero E. Hipertrofia cardiaca. Sección de Hipertensión Arterial
8. Kotchen TA. (2009). Sodium Chloride and Aldosterone. Harbingers of Hypertension-related Cardiovascular Disease. American heart Association, Inc. December 8
9. Litter Manuel. (1986). Compendio de Farmacología. Tercera Edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. Pág. 259.
10. Taylor M, Reide P. (1999). Principios de Farmacología. Editorial Harcourt Brace. Barcelona, España. Pág. 79-102.
11. Raffa RB, Rawls SM. (2008). Netter Farmacología Ilustrada. Elsevier Masson. Barcelona, España.

12. Opie, Gersh. (1990). Fármacos en Cardiología. 5ª Edición. México. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Pp. 1, 134-139
13. Flórez J. (1998). Farmacología. 3ª edición. Masson. S.A. Barcelona. Pág. 343-347.
14. Scout DM, Mtier WL y col. (1983). Synthesis and Antiarrhythmic and Parasympatholytic Properties of Substituted Phenols. 1. Heterorylamine Derivatives. J. Med. Chem. 26, 808-813.
15. Carbó R, Guarner V. (2003). Cambios en el metabolismo cardíaco y su posible aprovechamiento en la terapéutica (Parte I) Archivos de Cardiología de México 73:3:2003
16. Stryer L. (1990). Bioquímica. 3a Edición. Barcelona. Reverté; 2: 355-475.
17. Martí JA., Desoille H. (2002). Medicina del Trabajo. 2ª Edición Editorial Masson. Barcelona, España. Pp. 455-456
18. Cátedra 1 de Fisiología Humana. Facultad de Medicina. Universidad del Nordeste. Fisiología del Ejercicio
19. Lenhinger. (1982). Bioquímica. Editorial Omega. Barcelona, España.
20. Calvani y col. (2000). Regulation by carnitine of myocardial fatty acid on carbohydrate metabolism under normal and pathological conditions. Basic Res Cardiol; 95:75-83.
21. Depre C, Vanoverschelde JLJ, Taegmeyer H. (1999). Glucose for the heart. Circulation. 99:578-588
22. Opie LH: (1971/72); Substrate utilization and glycolysis in the heart. Cardiology 56: 2-21.
23. De Micheli A. (1993). Trayectoria de la eletrocardiografía mexicana. Arch Inst Cardiol Mex 1993; 63: 259-266.
24. Kameyama M, Kakei M, Sato R, Shibasaki T, Matsuda H, Irisawa H. (1989). Intracellular Na⁺ activates a K⁺ channel in mammalian cardiac cells. Nature; 309: 354-356.
25. Shimoni Y, Light PE, French RJ. (1998). Altered ATP sensitivity of ATP-dependent K⁺ channels in diabetic rat hearts. Am J Physiol; 275 (Endocrinol Metab 38): E568-E576.

26. Macleod TF, Prasad K. (1972). Influence of glucose on the transmembrane action potential of papillary muscle. J Gen Physiol 1972; 53: 792-815.
27. Hoerter J. (1976). Changes in the sensitivity to hypoxia and glucose deprivation in the isolated perfused rabbit heart during perinatal development. Pfluegers Arch 1976; 363: 1-6.
28. De Michelli, Medrano GA, Villareal A, Sodi Pallares D. Efecto protector de la solución glucosa-insulina-potasio en el daño miocárdico producido por umentina. Arch Inst Cardiol Mex 45:469-486.
29. De Michelli A. (1993). Trayectoria de la electrovectografía mexicana. Arch Inst Cardiol Mex 63:259-266.
30. Valmore Bermudez, y cols. (2007). Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica vol. 26 No. 002. Sociedad Venezolana de Farmacología Clínica y Terapéutica pp. 76-86
31. Castrejón V, Carbó R, Martínez M. (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el Transporte de la glucosa. REB 26(2): 49-57
32. Díaz DP, Burgos LC (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. IATREIA / Vol. 15/No.3 / Septiembre
33. Mac Lean P, y cols. (2000). “Muscle glucose transporter (GLUT4) gene expression during exercise” Exerc-Sport-Science-Rev 28(4):148-52 Oct
34. Ivy JL y cols. (1999). “Attenuating the decline in ATP arrests the exercise training induced increases in muscle Glut4 protein and citrate synthase activity” Acta Physiol Scand Jan: 165(1): 71-9
35. Goodyear L. (2000). “AMP-activated protein kinase: a critical signaling intermediary for exercise-stimulated glucose transport?” Exerc-Sport-Science-Rev 28(3): 113-6; Jul
36. Zhi Ping Chen y cols. (2000). “AMPK signaling in contracting human skeletal muscle: acetyl-CoA carboxylase and NO synthase phosphorylation” AJP279(5):E1202-6;Nov

37. Sun D, y cols. (1994). Ischemia induces translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 to the plasma membrane of cardiac myocytes. 89,2:793-798
38. Brosius FC y cols. (1997). Persistent myocardial ischemia increases Glut 1 glucose expression in both ischemic and non. Ischemic heart regions. J. Mol Cell Carciol 29:6,1675-1685.
39. Kawanaka K, Han DH, Nolte LA, Hansen PA, Nakatani A, Holloszy JO. (1999). Decreased insulin-stimulated GLUT-4 translocation in glycogen supercompensated muscles of exercised rats. Am J Physiol 276:E907-E912
40. Aslesen R, Jensen J. (1998). Effects of epinephrine on glucose metabolism in contracting rat skeletal muscles. Am J Physiol 275:E448-E456.
41. Ihlemann J, Ploug T, Hellsten Y, Galbo H. (1999). Effect of tension on contraction-induced glucose transport in rat skeletal muscle. Am J Physiol 277 (2 Pt 1):E208-E214.
42. Bergman BC, Brooks GA. (1999). Respiratory gas-exchange ratios during graded exercise in fed and fasted trained and untrained men. J Appl Physiol 86:479-487.
43. Hayashi T, Wojtaszewski JF, Goodyear LJ. (1997). Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. Am J Physiol 273:E1039-E1051.
44. Khayat ZA, Tsakiridis T, Ueyama A, Somwar R, Ebina Y, Klip A. (1998). Rapid stimulation of glucose transport by mitochondrial uncoupling depends in part on cytosolic Ca²⁺ and Cpkc. Am J Physiol 275:C1487-C1497.
45. Castro del Pozo S. (2006). Manual de Patología General. 6a Edición. Masson. S.A. Barcelona. Pág. 229-230.
46. Probst I, Sphar R, Schweickhardt C, Hunneman DH. (1986). Carbohydrate and fatty acid metabolism of cultured adult cardiac myocytes. Am J Physiol 250:H853-860.
47. Cartee GD, Douen AG, Ramlal T, Klip A, Holloszy JO. (1991). Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. J Appl Physiol; 70(4):1593-1600.

48. Kao, RL, Christman EW, Luh SL, Kraus JM, Tyers GFO, Williams EH. (1980). The effects of insulin and anoxia in the metabolism of isolated mature rat cardiac myocytes. Arch Biochem biophys; 203:587-590.
49. Opie LH. (1992). Cardiac metabolism-emergence, decline and resurgence (Part 1). Cardiovas Res; 26:721-733.
50. Opie LH. (1972). Substrate utilization and glycolysis in the heart. Cardiology; 56:2-21.
51. Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. (1997). Regulation of myocardical carbohydrate metabolism under normal and ischemic conditions. Potential for pharmacological interventions. Cardiovasc Res; 33:243-257.
52. Katayama S, Inaba M, Maruno Y, Morita T, Awata T, Oka Y. (1997). Glucose intolerance in spontaneously hypertensive and wistar-kyoto rats. Enhanced gene expression and synthesis of skeletal muscle glucose transporter 4. Hypertens Res; 20:279-286.
53. Prada P, Okamoto M, Naoko L, Fabres U, Heimann J, Serman M. (2000). High or low salt diet from weaning to adulthood effect on insulin sensitivity in wistar rats. Hypertension (part 2); 424-429.