



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

“Disminución de la respuesta a Angiotensina II por  
interacción de un antagonista del receptor  $B_2$  de  
Bradicinina y un agonista del receptor  $AT_2$  de  
Angiotensina”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

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

**LUIS ALFREDO ROCHA CERÓN**

**A S E S O R A S:**

**DRA. LUISA MARTINEZ AGUILAR**

**DRA. JAZMÍN FLORES MONROY**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2016



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:**

A mis padres (Teresa y Sergio) y hermano (Fabian) por brindarme todo el apoyo necesario durante mi vida académica orientarme, darme consejos y opinión sobre mis decisiones, a impulsarme a dar lo mejor cada día y ser una persona Honesta, comprometida y responsable y enseñarme que cada día debe ser disfrutado como si fuera el último.

A mi mamá Teresa Cerón Torres † por brindarme todo su apoyo incondicional, su sabiduría y sobre todo su amor tan grande a lo largo de su vida.

A la Dra. Luisa Martinez Aguilar por brindarme la confianza y oportunidad para trabajar en su laboratorio, por su experiencia, conocimiento y enseñanza tanto en la cuestión académica como en la vida que me transmitió a través de sus pláticas y consejos.

A la Dra. Jazmín Flores Monroy por sus consejos recomendaciones y orientación a lo largo de mi estadía en el laboratorio, por las pláticas acerca de nuevos proyectos y por siempre tomarme en cuenta, además de charlas en las cuales intercambiábamos risas.

A Diego Lezama y Raúl Sampieri por todo el apoyo que me brindaban en la parte experimental y de investigación, por compartirme su conocimiento dándome opiniones consejos y ayudándome a resolver imprevistos y dudas, además de las charlas que compartíamos.

A Mariana García, Montserrat Chavarría, Andrea Hernández y cada uno de sus papás por formar una bonita amistad además de formar equipo en laboratorios y acoplarnos en nuestra forma de trabajar, por sus pláticas consejos confianza y apoyo incondicional que siempre me han brindado por todos aquellos malos y muchos bellos momentos que compartimos a lo largo de la universidad, por ser cómplices, por las risas, y llantos. Gracias por su amistad.

A cada uno de mis amigos que forman parte de mi vida, por su apoyo, palabras, consejos, su cariño hacia mí y por estar ahí en momentos de felicidad y tristeza.

A mis Profesores y honorable jurado por compartir su conocimiento conmigo y mis compañeros de carrera, por sus enseñanzas consejos y sabiduría y por la dedicación que tienen hacia la ciencia y en especial hacia esta licenciatura.

A la FESC-UNAM por brindarme un sitio y ambiente confortable y adecuado durante mis estudios de licenciatura.

Al programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) proyecto IN212213-3., Catedra PIAPIC30-FES-Cuautitlán-UNAM.

Muchas Gracias.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.  
Me dió dos luceros que, cuando los abro,  
perfecto distingo lo negro del blanco,  
y en el alto cielo su fondo estrellado,  
y en las multitudes el hombre que yo amo.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.  
Me ha dado el oído, que en todo su ancho  
graba noche y día; grillos y canarios.  
martillos, turbinas, chubascos  
y la voz tan tierna de mi enamorado.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.  
Me ha dado el sonido y el abecedario,  
con el las palabras que pienso y declaro:  
madre, amigo, hermano y luz, alumbrando  
la ruta del alma del que estoy amando.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.  
Me ha dado la marcha de mis pies cansados;  
con ellos anduve ciudades y charcos,  
playas y desiertos, montañas y llanos,  
y la casa tuya, tu calle y tu patio.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.  
Me dió el corazón, que agita su marco  
cuando miro el fruto del cerebro humano,  
cuando miro el bueno tan lejos del malo,  
cuando miro el fondo de tus ojos claros.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.  
Me ha dado la risa y me ha dado el llanto;  
así yo distingo dicha de quebranto,  
los dos materiales que forman mi canto  
y el canto de ustedes, que es el mismo canto,  
y el canto de todos, que es mi propio canto-

Gracias a la vida...

# ÍNDICE GENERAL

Página

Abreviaturas.....	I
Índice de Figuras.....	II
Índice de Tablas.....	III
Índice de Gráficas.....	III
<b>1.0 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2.0 GENERALIDADES.....</b>	<b>3</b>
2.1 Sistema Cardiovascular.....	3
2.1.1 Aparato circulatorio.....	4
2.1.2 Vasos sanguíneos.....	4
2.1.3 Aorta.....	7
2.1.4 Regulación de la presión arterial.....	8
2.2 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona.....	10
2.2.1 Angiotensinógeno.....	10
2.2.2 Renina.....	11
2.2.3 Enzima Convertidora de Angiotensina.....	11
2.2.4 Angiotensina II.....	12
2.2.5 Receptor $AT_1$ .....	13
2.2.6 Receptor $AT_2$ .....	15
2.3 Sistema Cinina Caliceína.....	16
2.3.1 Cininógenos.....	16
2.3.2 Caliceínas.....	16
2.3.3 Cininas.....	17
2.3.4 Bradicinina.....	17
2.3.5 Receptor $B_1$ .....	18
2.3.6 Receptor $B_2$ .....	18
2.4 Hipertensión Arterial.....	19
2.4.1 Clasificación.....	19
2.4.2 Etiología.....	21
2.4.3 Síntomas.....	24
2.4.4 Diagnóstico.....	25
2.4.5 Epidemiología.....	25
2.4.6 Tratamiento.....	27
2.5 Interacción Fármaco-Receptor.....	33
2.5.1 Receptores.....	33
2.5.2 Interacción receptor-ligando.....	33
2.5.3 Agonistas y Antagonistas.....	34
2.5.4 Interacción receptor-receptor.....	35

<b>3.0 OBJETIVOS</b> .....	39
3.1 Objetivo General.....	39
3.2 Objetivos Específicos.....	39
<b>4.0 HIPOTESIS</b> .....	39
<b>5.0 MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	40
5.1 Material.....	40
5.2 Diseño Experimental.....	41
5.3 Métodos.....	42
5.3.1 Preparación de compuestos y péptidos.....	42
5.3.2 Preparación de Solución Krebs.....	43
5.3.3 Toma de presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardíaca (FC).....	43
5.3.4 Obtención de anillos de aorta torácica de rata SHR y montaje en cámaras de tejido aislado.....	44
5.3.5 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de CGP 42112A (agonista del receptor $AT_2$ ) en anillos de aorta de rata SHR.....	45
5.3.6 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de Bk (agonista del receptor $B_2$ ) en anillos de aorta de rata SHR.....	45
5.3.7 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia del HOE 140 (antagonista del receptor $B_2$ ) en anillos de aorta de rata SHR.....	45
5.3.8 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia del CGP 42112A + Bk en anillos de aorta de rata SHR.....	46
5.3.9 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de CGP 42112A + HOE 140 en anillos de aorta de rata SHR.....	46

<b>6.0 RESULTADOS</b> .....	47
6.1 Determinación de la respuesta contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR.....	49
6.2 Determinación del efecto del agonista CGP 42112A en la respuesta contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR.....	50
6.3 Determinación del efecto del agonista Bk en la respuesta contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR.....	51
6.4 Determinación del efecto del antagonista HOE 140 en la respuesta contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR.....	52
6.5 Determinación del efecto de la interacción del agonista CGP 42112A y agonista Bk en la respuesta contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR.....	53
6.6 Determinación del efecto de la interacción del agonista CGP 42112A y antagonista HOE 140 en la respuesta contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR.....	54
<b>7.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	56
<b>8.0 CONCLUSIONES</b> .....	63
<b>9.0 PERSPECTIVAS</b> .....	63
<b>10.0 REFERENCIAS</b> .....	64
<b>ANEXO</b> .....	74



## ABREVIATURAS

<b>Ang I</b>	Angiotensina I
<b>Ang II</b>	Angiotensina II
<b>ARA II</b>	Antagonistas de los Receptores de Angiotensina
<b>AT<sub>1</sub></b>	Receptor tipo 1 de Angiotensina II
<b>AT<sub>2</sub></b>	Receptor tipo 2 de Angiotensina II
<b>BK</b>	Bradicinina
<b>B<sub>1</sub></b>	Receptor tipo 1 de Bradicinina
<b>B<sub>2</sub></b>	Receptor tipo 2 de Bradicinina
<b>CCR</b>	Curva Concentración Respuesta
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Ion Calcio
<b>cGMP</b>	Guanosin Monofosfato Ciclico
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>ECA</b>	Enzima Convertidora de Angiotensina
<b>EDHF</b>	Factor Hiperpolarizante Derivado del Endotelio
<b>EE</b>	Error Estándar
<b>FC</b>	Frecuencia Cardiaca
<b>FRET</b>	Transferencia de Energía de Resonancia de Foster
<b>GMP<sub>c</sub></b>	Guanosin Monofosfato cíclico
<b>HTA</b>	Hipertensión Arterial
<b>H<sup>+</sup></b>	Ion Hidrógeno
<b>IECA</b>	Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositol - 1,4,5-trifosfato

<b>K<sup>+</sup></b>	Ion Potasio
<b>MLCK</b>	Miosina de Cadena Ligera Quinasa
<b>Na<sup>+</sup></b>	Ion Sodio
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>NOS</b>	Óxido Nítrico Sintasa
<b>PA</b>	Presión Arterial
<b>PAS</b>	Presión Arterial Sistólica
<b>PAD</b>	Presión Arterial Diastólica
<b>PIP<sub>2</sub></b>	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
<b>SHR</b>	Rata Espontáneamente Hipertensa
<b>SRAA</b>	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	Ion Zinc

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.-</b> Sistema Cardiovascular.....	3
<b>Figura 2.-</b> Estructura de los vasos sanguíneos.....	6
<b>Figura 3.-</b> Aorta.....	7
<b>Figura 4.-</b> Efectos de la angiotensina II sobre el receptor <b>AT<sub>1</sub></b> en diferentes órganos.....	14
<b>Figura 5.-</b> Esquema General del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	15
<b>Figura 6.-</b> HTA en la población mundial.....	25
<b>Figura 7.-</b> Hipertensión en adultos.....	26
<b>Figura 8.-</b> Prevalencia de HTA por género y años.....	26
<b>Figura 9.-</b> Combinaciones posibles de antihipertensivos.....	32
<b>Figura 10.-</b> Formación de Homodímero.....	53
<b>Figura 11.-</b> Formación de Heterodímero.....	36
<b>Figura 12.-</b> Equipo Tail Cuff registro de la PAS, PAD y FC.....	43

<b>Figura 13.-</b> Activación del receptor $AT_1$ .....	57
<b>Figura 14.-</b> Activación del receptor $AT_2$ .....	58
<b>Figura 15.-</b> Activación del receptor $B_2$ .....	59
<b>Figura 16.</b> Antagonismo del receptor $B_2$ .....	60
<b>Figura 17 .</b> Heterdímero de los receptores $AT_2$ y $B_2$ .....	62

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.-</b> Valores promedio de presión arterial en adultos sanos.....	9
<b>Tabla 2.-</b> Clasificación de la hipertensión arterial.....	21
<b>Tabla 3.-</b> Valores promedio $\pm$ EE de la presión arterial sistólica , presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca del grupo control SHR .....	49
<b>Tabla 4.-</b> Valores promedio $\pm$ EE de la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca del grupo CGP 42112A.....	50
<b>Tabla 5.-</b> Valores promedio $\pm$ EE de la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca del grupo BK.....	51
<b>Tabla 6.-</b> Valores promedio $\pm$ EE de la presión arterial sistólica , presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca del grupo HOE 140.....	52
<b>Tabla 7.-</b> Valores promedio $\pm$ EE de la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca del grupo CGP 42112A + Bk.....	53
<b>Tabla 8.-</b> Valores promedio $\pm$ EE de la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca del grupo CGP 42112A + HOE 140.....	54

## Índice de Gráficas

<b>Gráfica 1.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo control SHR.....	49
<b>Gráfica 2.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo CGP 42112A. ....	50
<b>Gráfica 3.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo Bk.....	51

<b>Gráfica 4.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo HOE 140.....	52
<b>Gráfica 5.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo CGP 42112A + Bk.....	53
<b>Gráfica 6.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo CGP 42112A + HOE 140 .....	54
<b>Gráfica 7.-</b> Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR y todos los grupos <b>a)</b> CGP 42112A <b>b)</b> Bk <b>c)</b> HOE 140 <b>d)</b> CGP 42112A + Bk <b>e)</b> CGP 42112A + HOE 140.....	55

## 1.0 INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es una de las principales enfermedades crónicas esenciales que afecta a la población mexicana y al sector salud, con una prevalencia que va en aumento, además de que es considerada una de las principales causas de muerte en el país debido a las complicaciones que se presentan, tales complicaciones se relacionan directamente con la magnitud del aumento de la tensión arterial y el tiempo de evolución de la enfermedad [1].

La hipertensión arterial es una enfermedad compleja en su fisiopatología en la cual concurren, sobre una base genética, una serie de anomalías de los mecanismos de regulación de la presión arterial que generan cambios precoces en el sistema vascular del individuo y sólo en forma tardía, una elevación persistente de las cifras tensionales [2].

La HTA se caracteriza básicamente por la existencia de una disfunción endotelial con ruptura del equilibrio entre los factores relajantes del vaso sanguíneo (óxido nítrico, factor hiperpolarizante derivado del endotelio EDHF) y los factores vasoconstrictores (principalmente endotelinas), por eso es que el Sistema Renina Angiotensina Aldosterona está estrechamente involucrado en la patología. Este sistema además de sus acciones propiamente vasculares, induce estrés oxidativo a nivel tisular, que produce tanto cambios estructurales como funcionales, especialmente disfunción endotelial, que configuran la patología hipertensiva, lo que conlleva a una afectación del control de la presión arterial [3].

Existen por lo menos 4 receptores a la Ang II cada uno de ellos con características propias como son:  $AT_1$ ,  $AT_2$ ,  $AT_3$  y  $AT_4$ . Ang II no distingue los receptores  $AT_1$  y  $AT_2$ , se une al receptor  $AT_2$  con afinidad similar a la del receptor  $AT_1$  y la acción funcional dependerá por lo tanto de que receptor se encuentre con más expresión en el organismo [4].

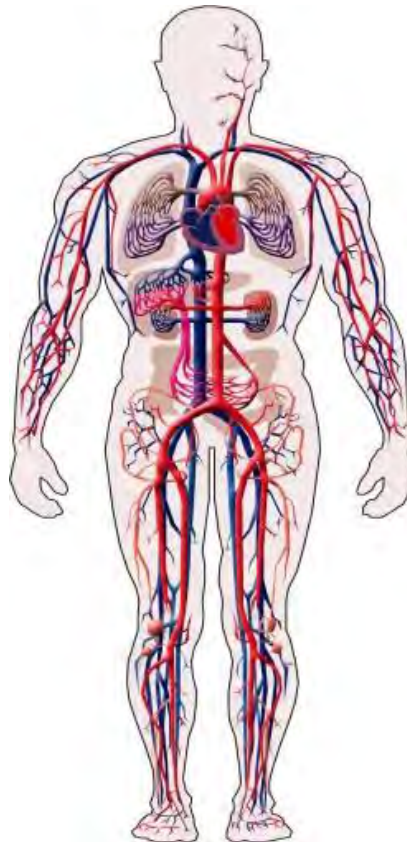
Debido a la necesidad sobre un conocimiento a fondo de la fisiopatología de la hipertensión arterial surgen investigaciones en las cuales se involucran a los receptores de sustancias endógenas y exógenas que pueden estar involucradas en la regulación de la presión arterial, así Abadir y Col. demostraron en células PC12W que para aumentar la

producción de óxido nítrico, existe la formación de un heterodímero entre los receptores  $AT_2$  de Angiotensina y  $B_2$  de Bradicinina. El resultado del tratamiento combinado entre un antagonista  $B_2$  y un agonista  $AT_2$  fue un incremento del 250% de la formación del heterodímero. La asociación física entre la dimerización de estos dos receptores se inició con la actividad de varias vías de señalización y el aumento de la producción de NO y GMPc [5]. El propósito de este estudio fue demostrar si funcionalmente la formación del heterodímero agonista  $AT_2$  + agonista  $B_2$  disminuye la respuesta contráctil a la Ang II en comparación con la formación del heterodímero agonista  $AT_2$  + antagonista  $B_2$  en anillos de aorta de rata SHR.

## 2.0 GENERALIDADES

### 2.1 SISTEMA CARDIOVASCULAR

El sistema cardiovascular tiene por función originar y mantener la circulación sanguínea. Está integrado por un órgano central, el corazón y el aparato circulatorio; el corazón actúa como una bomba aspirante e impelente y es el encargado de crear el impulso necesario para que la sangre, sea transportada e irrigada a los tejidos por medio de una red compleja de arterias, arteriolas y capilares, y regresa al corazón por las vénulas y venas [6].



**Figura 1.** Sistema Cardiovascular. Arterias (rojo) y venas principales (azul) para la circulación sanguínea [6].

### 2.1.1 APARATO CIRCULATORIO

El aparato circulatorio contribuye a la homeostasis de otros sistemas del cuerpo a través del transporte y distribución de la sangre, llevando sustancias y retirando los desechos [7].

### 2.1.2 VASOS SANGUÍNEOS

Los vasos sanguíneos son los responsables del transporte de sustancias y desechos, forman un sistema cerrado de conductos que reciben la sangre del corazón, la transportan hacia los tejidos y luego la devuelven al corazón [6,7].

Arterias [7,8]

La pared de las arterias tiene tres capas o tunicas:

- 1) Interna
- 2) Intermedia
- 3) Externa

La capa más interna es la túnica íntima, compuesta de un revestimiento de epitelio escamoso simple llamado endotelio, una membrana basal y una lámina elástica, que es una capa de tejido elástico. El endotelio es una túnica continua de células que reviste la cara interna de todo el sistema cardiovascular. La íntima es la más cercana a la luz a través del cual fluye la sangre.

La capa intermedia o la túnica media es la más gruesa y consta de fibras elásticas y de músculo liso, dispuestas circularmente alrededor de la luz. Dada su abundancia de fibras elásticas, las arterias tienen alta distensibilidad, lo cual significa que su pared se estira o expande sin desgarrarse en respuesta a pequeños incrementos de presión.

La capa o túnica externa (o adventicia) se compone principalmente de fibras elásticas y de colágena.

El sistema nervioso autónomo inerva por medio de fibras simpáticas el músculo liso vascular. El aumento de la actividad simpática habitualmente estimula la contracción del músculo liso y, con ella, la de la pared vascular y el angostamiento de su luz.



Esta reducción del diámetro vascular se denomina vasoconstricción. En contraste, al disminuir la estimulación simpática o en presencia de ciertas sustancias (como NO,  $K^+$ ,  $H^+$  y ácido Láctico), se relajan las fibras del musculo liso. Ello hace que se incremente el diámetro de los vasos, fenómeno llamado vasodilatación [7,8].

### Arteriolas

Una arteriola es un conducto de muy pequeño diámetro que distribuye sangre a los capilares. Las arteriolas, que se ramifican cerca de las arterias, poseen una túnica intima como la arterial, otra media de musculo liso y unas cuantas fibras elásticas, así como una externa formada principalmente por fibras elásticas y de colágena. En las arteriolas de menos calibre, cercanas a los capilares, las túnicas constan de poco más que un anillo de células endoteliales rodeado por unas cuantas células de musculo liso dispersas.

Las arteriolas desempeñan una función clave en la regulación del flujo sanguíneo que va de las arterias a los capilares.

Cuando se contrae el musculo liso arteriolar, con la vasoconstricción consecuente, disminuye el torrente sanguíneo en los capilares, y cuando se relaja, la vasodilatación hace que aumente dicho flujo. Los cambios de diámetro arteriolar también pueden tener efectos significativos en la presión sanguínea [6].

### Capilares

Los capilares son vasos microscópicos que por lo regular conectan las arteriolas con las vénulas. Los capilares llegan a casi todas las células del cuerpo, si bien su distribución varía con la actividad metabólica del tejido correspondiente.

Su principal función consiste en el intercambio de nutrimentos y desechos entre la sangre y las células de los tejidos a través del líquido intersticial.

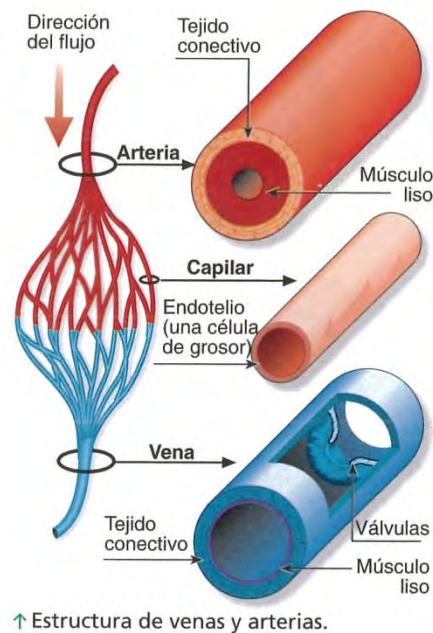
Las capilares solo tienen una capa de células epiteliales (endotelio) y membrana basal, sin túnicas media o externa [7,8].

## Vénulas

Cuando varios capilares se unen, forman pequeños conductos llamados vénulas, que reciben sangre de los capilares y la drenan en las venas, las vénulas más pequeñas, que son las más cercanas a los capilares solo tienen íntima o endotelio y media, con unas cuantas fibras de músculo liso y fibroblastos dispersos [7].

## Venas

Estos vasos constan básicamente de las tres mismas capas que las arterias, el grosor relativo de cada una es distinto, su íntima es más delgada que la arterial y la media mucho más fina que en las arterias, con fibras de músculo liso y elásticas relativamente escasas. La túnica externa de las venas es su capa más gruesa y consta de fibras de colágena y elásticas, además poseen distensibilidad suficiente para adaptarse a las variaciones de volumen y presión de la sangre que fluye por ellas, si bien no están diseñadas para soportar presiones elevadas [7,9].



**Figura 2.** Estructura de los vasos sanguíneos. Representación de arterias, capilares y venas y sus diferentes capas que los conforman [9].

### 2.1.3 AORTA

La aorta es la principal arteria del cuerpo humano, sale de la porción superior del ventrículo izquierdo atrás del tronco pulmonar, y es la encargada de distribuir por todo el organismo la sangre de la circulación sistémica y así alimentar a todas las células [7].

La aorta se divide en tres porciones [10]:

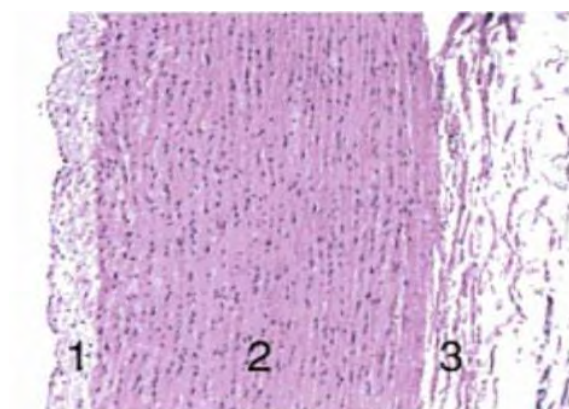
- Aorta ascendente
- Arco aórtico
- Aorta descendente, a su vez esta se divide de acuerdo a la parte del cuerpo en la que se encuentra:
  - o Torácica
  - o Abdominal

Las capas que componen a la aorta son [9]:

**Intima:** es la capa más interna. Está en contacto con la sangre y está formada por las células endoteliales y el conjuntivo subintimal.

**Media:** es una disposición de láminas concéntricas de naturaleza elástica que transcurren paralelamente y donde se halla tejido conjuntivo y células musculares lisas y fibroblastos.

**Adventicia:** es la capa arterial más externa y relativamente delgada; muy rica en colágeno, fibroblastos y una red laxa de fibras elásticas.



**Figura 3.** Corte Histológico de aorta, teñido con H-E; 100X 1) Intima, 2) Media y 3) Adventicia [9].

#### 2.1.4 REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial es la presión hidrostática ejercida por la sangre contra las paredes de los vasos sanguíneos, es generada por la contracción de los ventrículos. La PA está determinada por el gasto cardíaco (Frecuencia Cardíaca, contractibilidad y presión de llenado), volemia y resistencia vascular, la PA es mayor en la aorta y en las grandes arterias sistémicas [11].

Varios sistemas de retroalimentación negativa interconectados controlan la presión arterial a través del ajuste de la frecuencia cardíaca, el volumen sistólico, la resistencia vascular sistémica y el volumen sanguíneo [7].

Regulación nerviosa de la presión arterial [7]

El sistema nervioso regula la presión sanguínea a través de circuitos de retroalimentación negativa que se producen como reflejos de dos tipos:

##### 1) Reflejos barorreceptores

Son receptores sensoriales, sensibles a la presión, están localizados en la aorta, arterias carótidas internas y otras grandes arterias en el cuello y tórax. Ellos envían impulsos al centro cardiovascular para ayudar a regular la presión sanguínea. Los dos reflejos barorreceptores más importantes son: el reflejo del seno carotideo y el reflejo aórtico.

##### 2) Reflejos quimiorreceptores

Son receptores sensoriales que controlan la composición química de la sangre, están localizados cerca de los barorreceptores del seno carotideo y del arco de la aorta. Estos quimiorreceptores detectan cambios en el nivel sanguíneo de  $O_2$ ,  $CO_2$  e  $H^+$ , enviando impulsos al centro cardiovascular.

### Regulación hormonal de la presión arterial [7]

Algunas hormonas ayudan a regular la presión arterial y el flujo sanguíneo alterando el gasto cardíaco, cambiando la resistencia vascular sistémica o ajustando el volumen sanguíneo total.

Sistemas y hormonas que regulan la presión arterial:

- 1) Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
- 2) Adrenalina y Noradrenalina
- 3) Hormona Antidiurética
- 4) Péptido Natriurético auricular

**Tabla 1.-** Valores promedio de presión arterial en adultos sanos [9].

	Presión Sistólica (PS) mm Hg	Presión Diastólica (PD) mm Hg
Hombres	124.8	79.9
Mujeres	120.7	76.9

## 2.2 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

El sistema Renina Angiotensina Aldosterona es uno de los sistemas más importantes en el control cardiovascular y en el control de la patogénesis de enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto se considera como una diana muy exitosa en la terapia de este tipo de patologías [12].

El SRAA cumple una función fundamental en el mantenimiento de la presión arterial y el volumen extracelular. El sistema consiste en una serie de proteínas y péptidos que reaccionan en cascada para desencadenar una serie amplia de acciones, este sistema se encuentra presente en varios órganos como el riñón, corazón, vasos sanguíneos y cerebro, ejerciendo numerosas acciones locales [13].

La cascada del SRAA está conectada a un sistema de transducción de señales en el que la renina actúa sobre el angiotensinógeno para liberar Ang I, entonces Ang I se convierte en Ang II por la enzima convertidora de Angiotensina (ECA), se encuentra principalmente en células endoteliales. Las acciones de Ang II se transmiten por dos receptores acoplados a proteína G, el receptor  $AT_1$  y  $AT_2$ . Sin embargo, la mayoría de los efectos cardiovasculares de Ang II se transportan por el receptor  $AT_1$  [12, 14].

### 2.2.1 ANGIOTENSINÓGENO

También conocida como Serpin A8 es una proteína de 485 aminoácidos que da origen a todas las angiotensinas. Esta proteína se forma como preangiotensinógeno y pierde el péptido señal cuando la célula lo secreta como angiotensinógeno, actúa como inhibidor de la serina proteasa [15].

La síntesis primaria de esta proteína es en el hígado y es secretada de forma directa al plasma después de su producción, angiotensinógeno de *Homo sapiens* presenta una homología con *Mus musculus* y *Rattus norvegicus* [13, 16].

### 2.2.2 RENINA

La renina es una aspartilproteasa que posee una sola cadena polipeptídica de 406 aminoácidos y es secretada por las células yuxtarglomerulares de la arteriola eferente, se produce como prorenina y se secreta tanto renina activa como prorenina. [13]

La función de esta endopeptidasa específica es generar Ang I a partir de angiotensinógeno en el plasma, iniciando una cascada de reacciones que producen una elevación de la presión arterial y el aumento de la retención de sodio por el riñón. [17]

### 2.2.3 ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA [14].

La ECA es una metaloproteasa de zinc de dos dominios, de cadena única de 1306 aminoácidos, también se denomina como cinasa II y es una dipeptidil carboxipeptidasa que separa dos aminoácidos del extremo carboxiterminal de la Ang I para formar Ang II y, de manera simultánea participa en el sistema Cinina-Calicreina a través de la desactivación de la Bradicinina mediante la liberación del dipeptido Phe-Arg del extremo terminal del péptido.

Existen tres isoformas:

1. ECA somática (principal en la producción de Ang II)
2. ECA testicular o germinal
3. ECA plasmática o soluble

La ECA tiene una actividad óptima a un pH de 7 a 8 y cae rápidamente con la disminución de este.

#### 2.2.4 ANGIOTENSINA II [18]

La Ang I (decapéptido) es transformada por la ECA en Ang II (octapéptido) al eliminar dos residuos C-terminales, es una hormona que actúa de forma endocrina, autocrina y paracrina.

Ang I: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe | His-Leu

Ang II: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

La Ang II es la principal hormona efectora del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona con una vida media de 1-2 min y es inactiva por las aminopeptidasas presentes en muchos tejidos y en altas concentraciones en los eritrocitos. No obstante esta no es la única vía por la cual se sintetiza Ang II [19].

Las funciones vasculares de la Ang II incluyen el aumento de la presión arterial a través del incremento de la resistencia vascular periférica al actuar de forma directa sobre las células musculares lisas de los vasos y generar su contracción. Las arterias medianas y pequeñas responden más a la Ang II que los vasos grandes. La contracción se produce en forma principal en los vasos del riñón, la piel, el mesenterio, las arterias coronarias y en el encéfalo. Los vasos del pulmón y el músculo esquelético responden menos a la Ang II. Además de la vasoconstricción, la Ang II estimula el crecimiento de las células musculares lisas de los vasos, lo que desencadena una respuesta hipertrófica [13].

Además existen otro tipo de angiotensinas como la angiotensina III o también denominada angiotensina (2-8), que se forma por efecto de la aminopeptidasa sobre la angiotensina II, o por efecto de la ECA sobre la angiotensina I la angiotensina III y la II causan efectos cualitativamente similares. La angiotensina III es casi igual que la II en la estimulación de la secreción de aldosterona: sin embargo, la angiotensina III solo tiene entre 10 y 25% de potencia que la angiotensina II para aumentar la presión arterial, la angiotensina (1-7), que es un heptapéptido puede ser producido en diversos tejidos; en los vasos, su producción es



consecuencia de la acción de endopeptidasas tisulares sobre la angiotensina I y la angiotensina II. En el músculo liso vascular puede obtenerse a partir de angiotensina I y II mediante metaloendopeptidasas y propilendopeptidasas.

La angiotensina (1-7) es un vasodilatador que puede conferir efectos cardioprotectores al oponerse a las acciones de la angiotensina II sobre el crecimiento y la reactividad vascular, este efecto vasodilatador es mediado por la liberación de NO y de Bk endotelial [20].

### 2.2.5 RECEPTOR $AT_1$

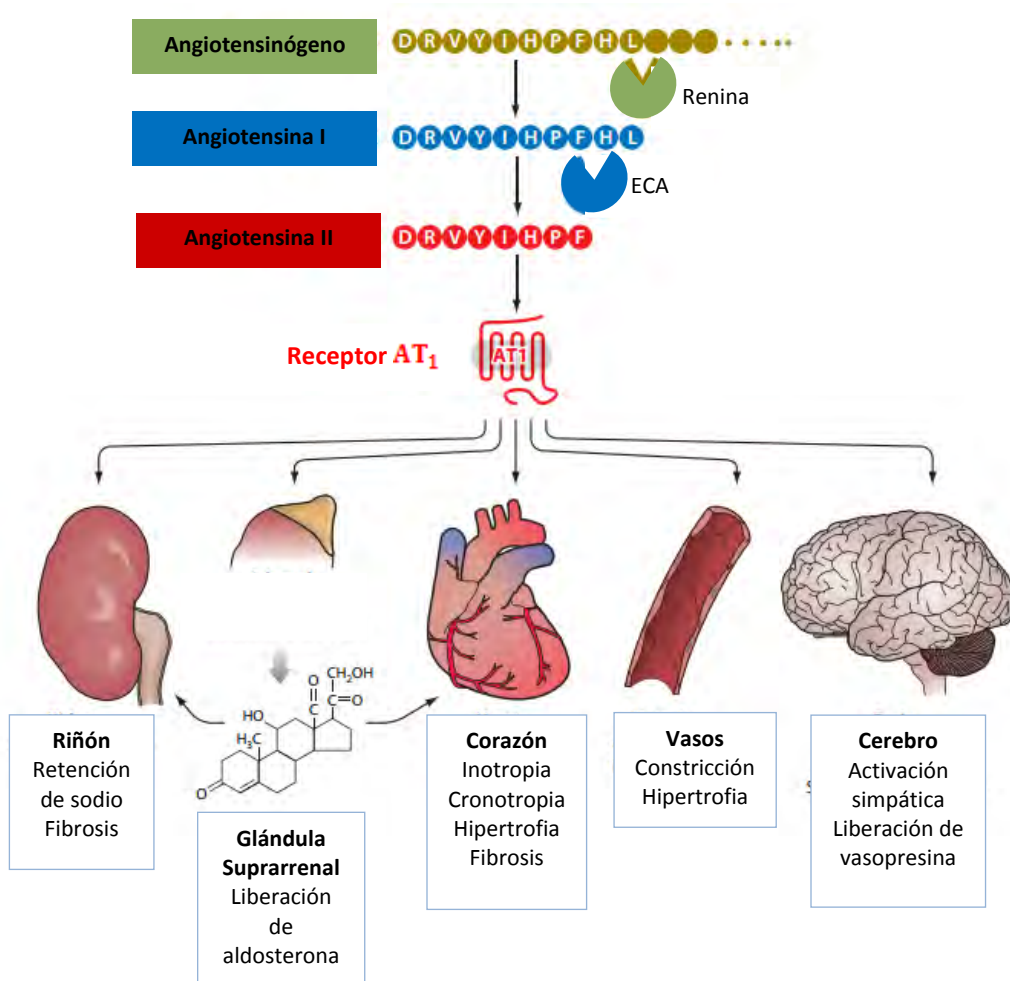
El  $AT_1$  es un receptor transmembranal de siete dominios el cual esta acoplado a proteína G, tiene una masa molecular de 41 KDa y es codificado por un gen en el cromosoma 3 (3q2.4).  $AT_1$  se localiza en glándulas suprarrenales, músculo liso vascular, riñón y corazón [21, 22].

La estimulación del receptor  $AT_1$  produce la activación de la fosfolipasa C y la movilización del calcio hacia el interior de la célula fomentando la contracción muscular, induce la activación de la proteincinasa C y cinasa MAP, además produce la estimulación de la transcripción génica y la actividad de la oxidasa de NADH/NADPH con lo cual se encamina la formación del ion superóxido y peróxido de hidrógeno.

Una vez estimulado el receptor  $AT_1$  por la Ang II, inicia una secuencia de transcripciones que conllevan a una serie de efectos sistémicos actuando de dos formas.

1. Como hormona circulante: produciendo vasoconstricción, estimulación de la síntesis de aldosterona y vasopresina.
2. Efecto local (autocrino y paracrino): estimulando la proliferación celular de miocitos y musculo liso vascular, formación de colágeno e induciendo la apoptosis celular.

El  $AT_1$  altera directamente a la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) con lo que disminuye la producción de óxido nítrico [14].



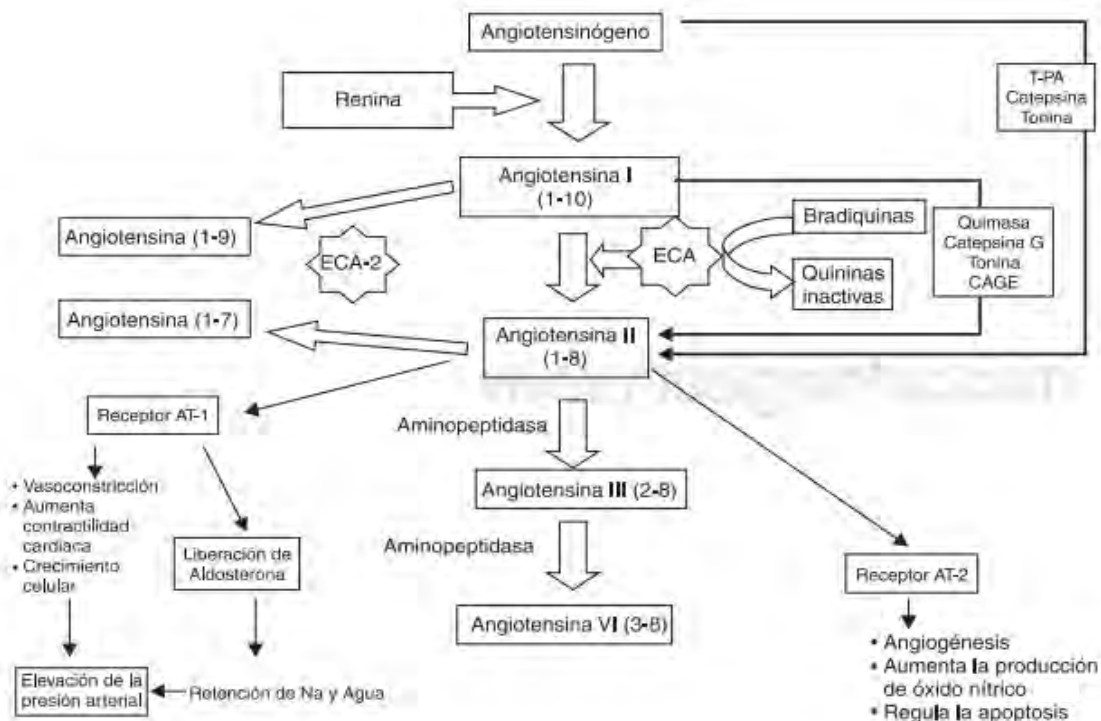
**Figura 4.** Efectos de la angiotensina II sobre el receptor **AT<sub>1</sub>** en diferentes órganos [12].

## 2.2.6 RECEPTOR $AT_2$

Al igual que  $AT_1$  el receptor  $AT_2$  de angiotensina es un receptor transmembranal acoplado a proteína G, es codificado por un gen en el cromosoma X (Xq23), se encuentra expresado principalmente en tejidos fetales y en adulto su distribución es en aorta, arterias coronarias, y se encuentra en mucho menor densidad en comparación con los tejidos fetales [23,24].

$AT_2$  se expresa o aumenta su regulación por una reactivación genética fetal como en una lesión vascular, infarto al miocardio, insuficiencia cardiaca, cicatrización de heridas y lesión de nervios periféricos.

La unión de Ang II al receptor  $AT_2$  tiene efectos en la regulación de la apoptosis, vasodilatación, antiproliferación y modulación de la formación de matrices, además de que compensa el efecto del receptor  $AT_1$  desempeñando una función importante en el desarrollo, diferenciación celular y reparación de tejidos [3].



**Figura 5.** Esquema General del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. El angiotensinógeno es convertido a angiotensina I por la renina, angiotensina I es transformada a su vez a angiotensina II por la ECA y esta a su vez se convierte en angiotensina III y IV mediante la aminopeptidasa A y N respectivamente. La ECA2 transforma a la angiotensina I en angiotensina (1-9) y a la angiotensina II en angiotensina (1-7) que puede unirse a su receptor MAS. La Ang II al unirse a su receptor  $AT_1$  genera vasoconstricción y libera aldosterona lo que eleva la PA, mientras que su unión al receptor  $AT_2$  aumenta la producción de NO y regula la apoptosis [14].

## 2.3 SISTEMA CININA-CALICREÍNA

El sistema cinina-caliceína es un sistema poco definido de proteínas sanguíneas que participan en la regulación de la presión arterial, reduce el tono vascular, estimula el flujo sanguíneo renal, estimula la excreción de sodio, potasio y agua, y es un factor modulador de crecimiento, además de que tiene importancia en el proceso de inflamación, coagulación y dolor [25]. Este sistema está constituido por moléculas peptídicas generadas a partir de proteínas plasmáticas denominados cininógenos, mediante la participación de serin-proteasas específicas denominadas caliceínas [26]. Los efectos del SCC, son mediados por la estimulación de los receptores  $B_1$  y  $B_2$  responsables de modular la acción final de las cininas [27].

### 2.3.1 CININÓGENOS

Los dos sustratos de las caliceínas son:

- a) cininógeno de elevado peso molecular
- b) cininógeno de bajo peso molecular, los cuales provienen de un solo gen [28].

### 2.3.2 CALICREÍNAS

Las caliceínas son un grupo de serin-proteasas y son clasificadas de acuerdo con su origen, ya sea plasmático o tisular, son diferenciadas por su peso molecular, especificidad de sustrato, características inmunológicas y el tipo de cininas que generan.

- a) Caliceína Tisular: glucoproteína de 29KD, presente en riñón, páncreas, glándulas salivales, cerebro, tejido cardiovascular, músculo esquelético y leucocitos, actúa sobre el cininógeno de bajo peso molecular generando calidina o lys-bradicinina
- b) Caliceína plasmática de 36 KD actúa sobre el cininógeno de elevado peso molecular generando a la bradicinina [26].

### 2.3.3 CININAS

Son péptidos vasoactivos responsables del efecto biológico final del SCC, a nivel celular estos péptidos son capaces de promover el transporte de cloruro y glucosa, liberar neurotransmisores, activar vía de fosfolipasa A2, estimular liberación de PGE2 y de NO [27,29].

Estas cininas tienen una vida media en plasma de 15 s ya que son rápidamente inactivadas por cininasas circulantes, de las cuales, las formas principales son las cininasa I y la cininasa II, esta última identificada como la ECA, punto en que convergen ambos sistemas de péptidos vasoactivos [30].

### 2.3.4 BRADICININA

La bradicinina es una hormona peptídica constituida por 9 aminoácidos:

Arg -Pro -Pro -Gly - Phe -Ser -Pro -Phe -Arg.

Bradicinina es liberada como consecuencia a estados inflamatorios, traumas, quemaduras, shocks, alergias y algunas enfermedades cardiovasculares, esta hormona influye en el tono vascular y la permeabilidad, y actúa disminuyendo la presión sanguínea, causando vasodilatación por medio de la secreción de prostaciclina, NO y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio [31].

Este péptido se produce por desdoblamiento proteolítico del cininógeno de elevado peso molecular por acción de la calicreina plasmática y sus efectos tienen lugar a través de la activación del receptor  $B_2$  [30, 32].

### 2.3.5 RECEPTOR $B_1$

$B_1$  es un receptor acoplado a proteína G para activar gran parte de las mismas vías de transducción de señales que activa el receptor  $B_2$ , es codificado en el cromosoma 14 (14q32.2), responde al metabolito de la bradicinina que es la des-Arg-bradicinina, la activación de este receptor estimula la producción de NO al activar la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) [28,33].

Los receptores  $B_1$ , generalmente, no se expresan en tejidos normales, sino son inducidos en ciertas situaciones patológicas, como daño tisular o estrés y particularmente en procesos inflamatorios crónicos [30].

### 2.3.6 RECEPTOR $B_2$

El receptor  $B_2$  de bradicinina es un receptor acoplado a proteína G, es codificado en un gen del cromosoma 14 (14q32.2), este receptor activa a fosfolipasas A2 y C, la activación de la fosfolipasa C activa la vía de  $IP_3$ -  $Ca^{2+}$  estimulando la actividad de PKC y también de NO por parte de la eNOS, cuando se activa la fosfolipasa A2 se libera ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana y es transformado en diversos derivados mediadores de la inflamación [28,34].

El receptor  $B_2$  está presente en forma constitutiva en la mayoría de las células, los tejidos son activados por bradicinina y calidina [26].

## 2.4 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión arterial se define como el aumento de la presión sanguínea arterial de forma crónica en valores por encima de 140 mmHg en presión sistólica y 90 mmHg en presión diastólica [2].

La HTA es un trastorno generalizado que afecta a uno de cada seis adultos y es un factor que incrementa la incidencia de enfermedades cardiovasculares, además de que esta patología coexiste con otros factores de riesgo como obesidad, diabetes mellitus, tabaquismo, sedentarismo, etc., es una de las principales causas de mortalidad en México ya que aproximadamente el 30% de la población mexicana padece HTA por lo que se ha convertido en un problema de salud [35].

### 2.4.1 CLASIFICACIÓN

La hipertensión puede clasificarse de acuerdo a la etiología y causas que presenta el paciente, estos tipos son:

- Hipertensión primaria

También se le conoce como HTA esencial, en la cual el incremento de la presión arterial es desconocida. La hipertensión esencial constituye alrededor del 80 – 95% de la población adulta con hipertensión [36].

- Hipertensión secundaria [36,37]

En la cual la causa del incremento de la presión es conocida debido a enfermedades endocrinas, de riñones u de otros órganos. La hipertensión secundaria comprende el 5 – 20 % restante de los casos de hipertensión, además de que los pacientes que padecen este tipo de hipertensión son potencialmente susceptibles de tratamiento en la mayoría de los casos debido al conocimiento de su fisiopatología.

- a) Hipertensión renal: es la más frecuente de las secundarias y es causada por estenosis de la arteria renal, glomerulonefritis crónica, esclerosis renal, pielonefritica y nefropatía.
  - b) Hipertensión endocrina: Numerosas secreciones hormonales pueden producir hipertensión secundaria incluso:
    - Glándulas suprarrenales: en aldosteronismo primario, síndrome de Cushing, virilismo suprarrenal y feocromocitoma.
    - Glándula paratiroides: hipercalcemia en hipoparatiroidismo.
    - Anticonceptivos orales: el componente de estrógeno de los anticonceptivos orales estimula la síntesis hepática del sustrato de renina.
  - c) Hipertensión asociada con coartación de la aorta: causa hipertensión sistólica en la parte superior del organismo debido a la propia constricción. La hipertensión diastólica es consecuencia de cambios en la circulación.
  - d) Hipertensión neurogénica: las causas psicogenicas, la polineuritis, el aumento de la presión intracraneana y la sección de la medula espinal son todas causas infrecuentes de hipertensión secundaria.
- Hipertensión maligna
- La hipertensión maligna es una hipertensión arterial rápidamente progresiva caracterizada, desde el punto de vista anatomopatológico, por lesiones arteriolares graves y clínicamente por la existencia de presión arterial (PA) muy elevada, hemorragias y exudados retinianos y a menudo aunque no necesariamente, edema de papila.
- Las cifras de PA suelen ser superiores a 120 mmHg de diastólica, y el concepto de rápidamente progresiva nos indica que de no tratarse cuidadosamente aparecen sucesivas lesiones vasculares en órganos diana que condicionan el pronóstico de la enfermedad y puede llegar a ser fatal. [38]



**Tabla 2.** Clasificación de la hipertensión arterial [37].

<b>Categoría</b>	<b>Presión Sistólica (mm Hg)</b>	<b>Presión Diastólica (mm Hg)</b>
<b>Optima</b>	120	80
<b>Normal</b>	130	85
<b>Normal- Alta</b>	130 - 139	85 - 89
<b>Grado I</b>	140 - 159	90 – 99
<b>Grado II</b>	160 - 179	100 – 109
<b>Grado III</b>	>180	> 110
<b>Hipertensión Sistólica Aislada</b>	$\geq 140$	$\geq 90$

#### 2.4.2 ETIOLOGÍA

Aunque la causa de la hipertensión arterial se desconoce con certeza debido a ser una patología multifactorial, se han implicado factores constitucionales y de estilo de vida, ya sea de manera individual o colectiva, como factores contribuyentes. Dentro de los factores de riesgo constitucionales no modificables se incluyen el antecedente familiar de HTA, aumento de la presión arterial relacionado con el envejecimiento y etnia. Otro factor que parece contribuir a la hipertensión es la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia que acompaña a trastornos metabólicos como la diabetes mellitus tipo 2 [39].

- Antecedentes familiares

La inclusión de la herencia como factor contribuyente al desarrollo de la hipertensión se respalda por el hecho de que la hipertensión es más frecuente entre personas con antecedentes familiares que padecen este trastorno. Se cree que la contribución genética a la HTA es de hasta un 50% la fuerza de la predicción depende de la definición de los antecedentes familiares positivos y los factores ambientales [39].

- Resistencia a la insulina y alteraciones metabólicas

La insulina favorece la retención renal de sodio con el consecuente aumento del volumen intravascular, incrementa la actividad del SNS aumentando las resistencia periféricas y el gasto cardiaco, favorece la proliferación de las células musculares lisas, facilitando la aterogenesis y parece provocar, una alteración en el transporte transmembranal incrementando la concentración de calcio intracelular y aumentando la resistencia vascular. Un mecanismo que ayuda a explicar la relación entre la resistencia a la insulina y la HTA es una asociación es un grado mayor o menos de obesidad acompañado del sedentarismo. Se ha demostrado que el ejercicio físico regular mejora todas las alteraciones metabólicas y hemostáticas que sufren los pacientes con resistencia a la insulina. [40]

- Obesidad

Se ha sugerido que la distribución de grasa podría ser un indicador más preciso del riesgo de hipertensión que el sobrepeso como tal, estudios han identificado una relación entre la HTA y el aumento en el índice cintura/cadera (obesidad central). Parece que la grasa abdominal o visceral causa mayor resistencia a la insulina intolerancia a la glucosa, dislipidemia, hipertensión y nefropatía crónica que la grasa subcutánea. También empiezan a comprenderse los efectos neuroendocrinos del tejido adiposo excesivo en la presión arterial. La evidencia indica que la leptina quizá sea un vínculo entre la adiposidad y la actividad simpática cardiovascular, esta hormona actúa en el hipotálamo donde aumenta la presión arterial mediante la activación del SNS. Además existen investigaciones que apoyan la activación del SRAA mediante el angiotensinógeno derivado de los adipocitos y sobre la capacidad del tejido adiposo para aumentar la concentración de aldosterona mediante la síntesis de factores que inducen la generación de aldosterona [39].

- Consumo bajo de potasio

Las cantidades bajas de potasio en la dieta se ha relacionado con el aumento de la PA desarrollando HTA y accidentes cerebrovasculares.

Los efectos beneficiosos del K puede ser debidos a la disminución de la respuesta vascular a otros vasoconstrictores, además parece existir una relación del  $K^+$  con los cambios en la excreción de  $Na^+$ , la retención de sodio inducida por bajos niveles de potasio en la dieta, contribuye a elevar la PA en 5 – 7 mmHg en pacientes con HTA.

Así estos mecanismos que explican la influencia del potasio en la presión arterial suponen un cambio en la proporción entre el sodio y el potasio en la dieta, un efecto natriuretico y la supresión del SRAA [39,40].

- Consumo de sal

El consumo elevado de sal es un factor etiológico en el desarrollo de la HTA, aun no se tiene bien dilucidado como es que el consumo de sal contribuye al desarrollo de hipertensión. Es posible que la sal aumente el volumen sanguíneo, lo que eleva la sensibilidad de los mecanismos cardiovasculares o renales a las influencias del SNS, o que ejerza un efecto un efecto a través de algún otro mecanismo, como el SRAA.

Cual quiera que sea el mecanismo, muchos estudios han demostrado que una reducción en el consumo de sal puede reducir la presión arterial [39].

- Consumo de alcohol

El consumo de cantidades excesivas de alcohol por periodos prolongados induce el desarrollo de HTA. Sin embargo, la presión arterial puede mejorar o regresar a la normalidad cuando se reduce o elimina la ingesta de alcohol. Se desconoce el mecanismo por el cual el alcohol ejerce su efecto en la presión arterial. Se ha sugerido que los factores de estilo de vida, como la obesidad y la falta de ejercicio pueden ser elementos acompañantes.

El aumento de PA se observa en distintos tipos de bebidas alcohólicas, en varones y mujeres y en diversos grupos étnico [39].

- Tabaquismo

El tabaco puede elevar de forma transitoria, la PA en aproximadamente 5 – 10 mmHg. El uso crónico de tabaco no se ha asociado con un incremento de la incidencia de la HTA.

El cigarro se debe evitar en la población en general, y en hipertensos en particular, ya que aumenta marcadamente el riesgo de enfermedad coronaria y parece estar relacionado con la progresión hacia insuficiencia renal [40].

- Estrés

El estrés es un estimulante del SNS. Los individuos hipertensos y los que probablemente presentan hipertensión sufren mayor estrés o responden a él de manera diferente.

Además es el estrés no por sí solo aumenta la PA, sino que también puede generar un aumento en el consumo de grasas y alcohol algunos otros factores que en conjunto pueden llevar al desarrollo de HTA por estimulación del SNS quien es el responsable en la participación de las primeras etapas de esta patología [40].

### 2.4.3 SÍNTOMAS

La mayoría de las personas que sufren de HTA no presentan síntomas. En algunos casos, pueden sentirse palpitaciones en la cabeza o el pecho, dificultad respiratoria, mareos y otros síntomas físicos. Cuando no hay síntomas de advertencia, la enfermedad puede pasar desapercibida durante muchos años.

Debido a que en muchos de los pacientes que padecen hipertensión arterial no presentan síntomas no saben que tienen la presión elevada lo cual puede conllevar a que se presenten problemas como enfermedad coronaria, accidentes cerebrovasculares o insuficiencia renal [41, 42].

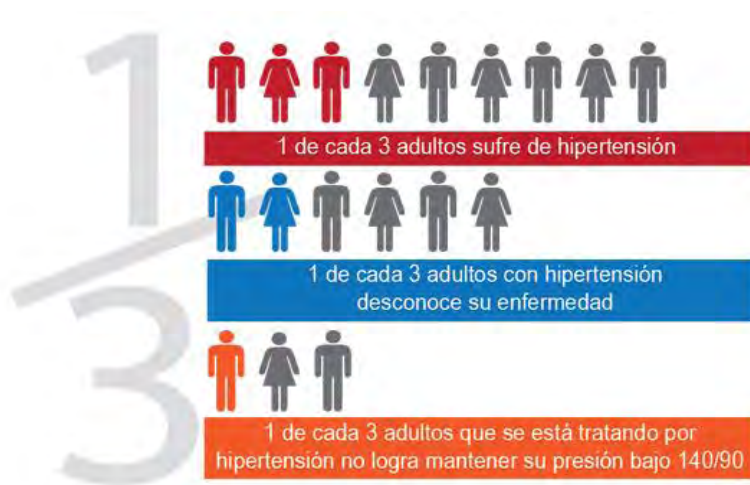
#### 2.4.4 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de HTA es clínico. La historia clínica será encaminada en busca de la etiología, realizando una anamnesis detallada incluyendo historia familiar, factores de riesgo y una exploración física completa, para identificar la posible presencia de signos y síntomas relacionados con la HTA [43].

El método por el cual se diagnostica la hipertensión arterial es la medición periódica de la tensión arterial que se puede realizar con dispositivos electrónicos y de mercurio (esfigmomanómetro), y esta debe encontrarse con cifras iguales o mayores a 140/90 mmHg [2,44].

#### 2.4.5 EPIDEMIOLOGÍA

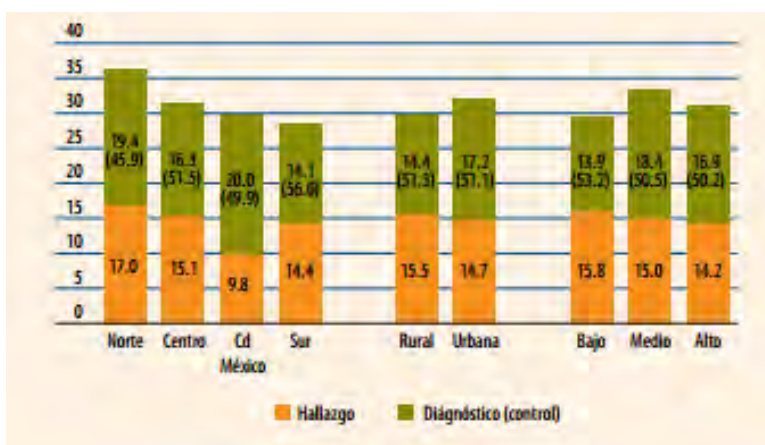
La HTA es una enfermedad con alta prevalencia alrededor del mundo y nuestro país no escapa a esta realidad, ya que aproximadamente el 30% de la población mexicana padece hipertensión arterial., es un factor de riesgo de muerte en el mundo y afecta tanto a hombres como a mujeres, una tercera parte de la población que padece hipertensión desconoce su enfermedad y uno de cada tres personas que se está tratando por HTA no consigue mantener su presión arterial por debajo del límite de 140/90 mmHg [45].



**Figura 6.** HTA en la población mundial [45].

De acuerdo con la ENSANUT la prevalencia actual de HTA en México es de 31.5%, y es más alta en adultos con obesidad que en adultos con un índice de masa corporal normal, además del 100% de adultos hipertensos 47.3% desconocía que padecía HTA.

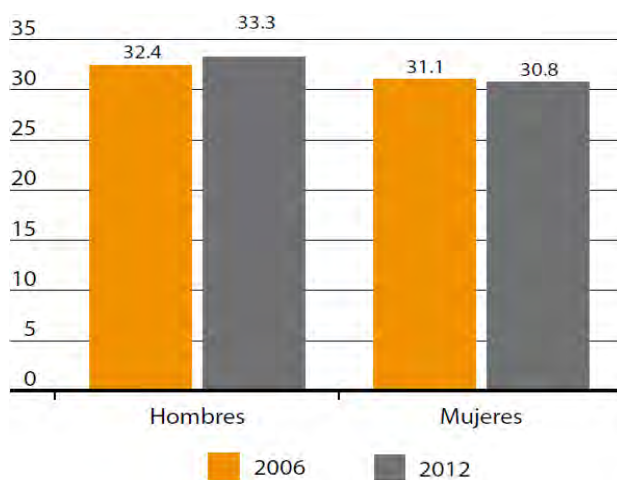
La prevalencia de HTA varía de acuerdo con regiones localidades y nivel socioeconómico, esto se relaciona con el estilo de vida como el tabaquismo, obesidad y consumo de sodio además de la urbanización y el medio ambiente en el que se habita [1].



**Figura 7.** Hipertensión en adultos, estratificado por región, localidad y nivel socioeconómico [1].

El valor entre paréntesis representa el porcentaje de adultos hipertensos y diagnosticados que mantienen cifras de tensión arterial bajo control

En México se ha mantenido constante la HTA, en los últimos seis años, tanto en hombres (32.4% frente a 33.3%) como en mujeres (31.1% frente a 30.8%).



**Figura 8.** Prevalencia de HTA por género y años de encuesta

#### 2.4.6 TRATAMIENTO.

Una vez que la HTA es detectada, la intervención terapéutica puede reducir el curso y la severidad de la patología. El manejo dietético, incluyendo la pérdida de peso, junto con una variedad de medicamentos que manipulan el manejo de sal y agua, o la actividad autónoma sobre el sistema cardiovascular, pueden ser usados para tratar la hipertensión. Sin importar cuál sea la causa original, los agentes que reducen el volumen plasmático o la resistencia periférica total (o ambas) disminuirán la presión sanguínea hasta un valor normal. Además un programa regular de ejercicio aeróbico puede ser utilizado para ayudar a reducir la presión elevada [44].

Clasificación del tratamiento de HTA:

- Tratamiento no farmacológico
- Tratamiento farmacológico

##### Tratamiento no farmacológico

Es aplicable a la población en general, como prevención primaria, y a población hipertensa como parte inicial y fundamental del tratamiento, está dirigido a disminuir la ingesta de sodio, alcohol y la grasa de origen animal, a la conversión del peso ideal, aporte dietético de potasio, calcio y magnesio mediante la ingesta de frutas y verduras ricas en estos, asociando todas estas medidas al cambio de estilo de vida como son la práctica de ejercicio aeróbico y una adecuada alimentación además de un monitoreo constante de la presión arterial [35].

##### Tratamiento farmacológico

En la actualidad se dispone de una gran variedad de fármacos antihipertensivos que permiten seleccionar la terapéutica adecuada según el tipo de paciente, su principal beneficio es la reducción de la presión arterial. Se conocen siete clases de agentes antihipertensivos: [44,35]

- Inhibidores de la renina

Los inhibidores de renina actúan en el punto inicial de la activación del SRAA y, en consecuencia reducen la formación de Ang I y Ang II sin afectar al metabolismo de las quininas. La elevada especificidad de la renina por su sustrato, el angiotensinogeno, constituye la base para considerar, a priori, que la inhibición de la renina sea la forma más atractiva de bloquear al SRAA.

Uno de los fármacos inhibidores de la renina mayor conocido es el Aliskiren el cual se une al sitio activo de la molécula de renina, bloqueando la fragmentación del angiotensinogeno, previniendo la formación de Ang I.

Numerosos estudios clínicos han demostrado al menos equivalencia o una mayor disminución de la presión arterial comparados con los fármacos existentes, pero con menos efectos colaterales.

Aliskiren, posee efectos sinérgicos cuando se combina con diuréticos tiazidicos, IECA, bloqueadores de los receptores de Angiotensina y bloqueadores de los canales de calcio, ambos en términos de eficacia y tolerabilidad. [46, 47]

- $\beta$  – Adrenérgicos

Son fármacos que tienen afinidad y especificidad por los receptores B adrenérgicos pero no activan la enzima adenilciclase como lo hacen los agonistas adrenérgicos por lo que disminuyen de esta forma la actividad simpática mediada por estos receptores.

El mecanismo de acción antihipertensivo no está completamente esclarecido, parece estar asociado a la disminución del gasto cardiaco e inhibición de liberación de renina desde el aparato yuxtglomerular por bloqueo de receptores adrenérgicos  $B_1$ , bloqueo presináptico de  $\beta$ - adrenoreceptores con reducción de la salida de noradrenalina reduciendo el efecto sobre los vasos lo que disminuye el tono vasoconstrictor y la resistencia periférica, otros efectos adicionales que pueden contribuir con su capacidad de disminuir la PA incluyen producción de NO, activación de receptores  $B_2$ , bloqueo de la entrada de calcio, apertura de canales de potasio y reducción del estrés oxidativo [48, 49].



- Diuréticos

Un grupo de fármacos que modifican el transporte iónico en diferentes sitios de la nefrona y estimular la excreción renal de agua y electrolitos, especialmente de sodio y cloro. El aumento en la excreción de sodio es limitada en el tiempo y compensada por mecanismos homeostáticos, de los cuales el SRAA es de los más importantes. La eliminación de agua produce reducción del volumen extracelular y del gasto cardiaco que es responsable de la reducción de la presión arterial a corto plazo. Posteriormente, y como consecuencia de la activación del SRAA y del sistema adrenérgico, se recupera el gasto cardiaco y el volumen extracelular, pero disminuyen las resistencias vasculares periféricas por un mecanismo todavía desconocido que probablemente está ligado a algún canal iónico y a la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras.

Existen diferentes tipos de diuréticos, pero para el tratamiento de la HTA son de elección las tiazida. Los diuréticos de asa, también se han utilizado, pero no son fármacos de primera línea. Los diuréticos de potasio se emplean sobre todo en dosis bajas asociados a las tiazidas para compensar la pérdida urinaria de potasio que pueden producir estas [50].

- Bloqueadores del canal de calcio

Son ampliamente usados, con un buen perfil de eficacia/tolerancia, y que pueden ser de primera elección en determinadas elecciones. Este tipo de fármacos reducen el paso del calcio al musculo cardiaco y a las paredes de los vasos sanguíneos. Esto relaja a los vasos. Los vasos relajados permiten que la sangre fluya más fácilmente, reduciéndose la resistencia periférica y la disminución de la presión arterial. Este grupo de fármacos responden mejor en ancianos, los individuos de raza negra y los pacientes que no restringen la ingesta de sal [51].

- Vasodilatadores

Los vasodilatadores son un conjunto de fármacos muy variados, cuyo efecto principal es originar la vasodilatación que puede ser venosa, arterial o mixta, actúan relajando el musculo liso vascular, lo que disminuye la resistencia y, por lo tanto, la presión arterial, el mecanismo de acción por el cual se logra la vasodilatación es muy variable los principales fármacos vasodilatadores son: [52]

- Nitratos
- Nitroprusiato sódico
- Bloqueadores de los canales de calcio
- Otros vasodilatadores

- Antagonistas del receptor  $AT_1$

Los antagonistas del receptor  $AT_1$  (ARA II) son compuestos peptídicos altamente potentes, que bloquean selectiva y específicamente a los receptores  $AT_1$ , además de que este nuevo grupo de fármacos como alternativa en la intervención en el SRAA, carece de propiedades agonistas intrínsecas y de acción sobre la degradación de Bradicinina.

En presencia de un ARA II, la Ang II sintetizada puede estimular a los receptores  $AT_2$ , que no se encuentran bloqueado y cuya expresión, además puede haberse incrementado tras el bloqueo de los receptores  $AT_1$ . La estimulación de los receptores  $AT_2$  es importante ya que:

- Aumenta la liberación de óxido nítrico, bradisinina y prostaglandinas
- Inhibe el crecimiento y la proliferación de células musculares cardíacas y lisas vasculares y endoteliales.
- Regula la activación del SRAA a través de ña inhibición de la síntesis de renina.

El losartan es el prototipo de estos fármacos. Los ARA II tienen la ventaja de inhibir de un modo más completo la acción de la Ang II, en comparación con los IECA.

El efecto máximo antihipertensivo se alcanza a las 3 – 6 semanas de tratamiento [53, 54, 55].

- Inhibidores de la ECA

Actualmente es uno de los grupos farmacológicos más utilizados en el tratamiento de la HTA leve a moderada y en la insuficiencia cardiaca congestiva, debido a que son bien tolerados y muy efectivos.

Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina actúan sobre el SRAA inhibiendo de forma competitiva, específica y reversible a la ECA, enzima que transforma la Ang I en Ang II por lo que se reducen las concentraciones tisulares y plasmáticas de esta hormona, por consiguiente se reduce de igual modo la concentración de aldosterona, generando así una disminución del efecto vasoconstrictor.

La ECA interviene catalizando la degradación de la bradicinina. La inhibición de este proceso incrementa la concentración de bradicinina y puesto que ésta estimula la síntesis de prostaglandinas, ambas sustancias pueden contribuir a los efectos farmacológicos de los IECA .

Por lo que se dice que este grupo de fármacos actúan a través de un doble mecanismo.

El primer IECA con suficiente potencia y especificidad se obtuvo del veneno procedente de una víbora (*Bothrops jaracara*). Este compuesto sólo era efectivo por vía parenteral. A partir de él, se empezaron a desarrollar nuevas estructuras de las que surgió el primer representante del grupo: captopril [37, 56].

### **Monoterapia Vs Terapia combinada**

Se puede iniciar el tratamiento con un solo antihipertensivo que inicialmente se administrará a una dosis baja. Si con esto no controla la PA, hay dos opciones:

- Se aumenta hasta el máximo la dosis con el mismo agente farmacológico
- Se cambia por un agente de otra clase, siguiendo el mismo enfoque escalonado.

La capacidad de cualquier antihipertensivo de alcanzar el objetivo de PA deseada no supera el 30 %.

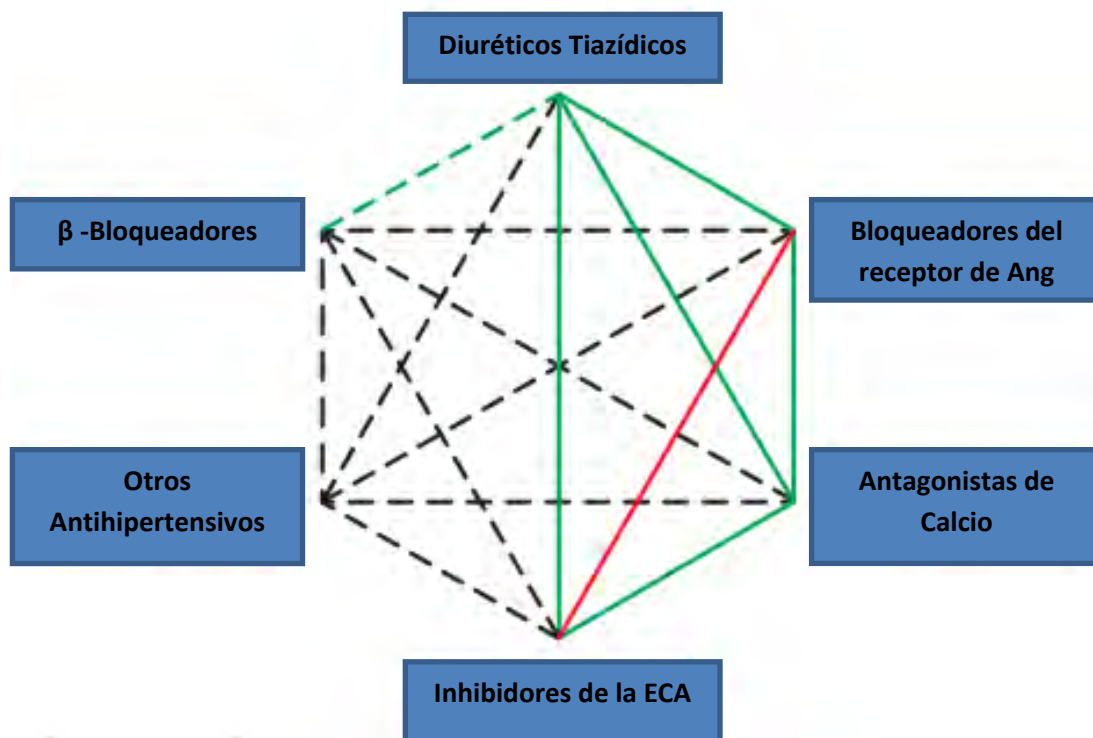
Estudios demuestran que el tratamiento combinado de dos agentes antihipertensivos constituye uno de los regímenes más utilizados, La evidencia a favor de la terapia

combinada inicio en las guías Europeas en el 2003 donde recomiendan su uso como tratamiento inicial en aquellos pacientes cuya presión arterial es alta o pacientes de alto riesgo cardiovascular además de que el tratamiento combinando es particularmente valido en pacientes diabéticos y con insuficiencia renal [57].

Algunos de los beneficios de la terapia combinada son [58] :

- Se utilizan dos o más medicamentos antihipertensivos cuyo mecanismo de acción sea complementario.
- Las dosis son menores que las utilizadas cuando se usan como monoterapia (reduciendo la posibilidad de efectos secundarios).
- La eficacia antihipertensiva es mucho mayor

Se muestran algunas de las combinaciones posibles de agentes antihipertensivos que han sido estudiados y se utilizan en la actualidad.



**Figura 9.** Combinaciones posibles de agentes antihipertensivos. Líneas verdes continuas: combinaciones preferidas, línea verde punteada: combinación útil (con limitación), líneas negras punteadas: combinaciones posibles pero no han sido bien estudiadas y línea roja continua: no se recomienda la combinación [59].

## 2.5 INTERACCIÓN FÁRMACO RECEPTOR

### 2.5.1 RECEPTORES

Todas las células tienen proteínas llamadas receptores a los cuales se les unen moléculas de señalización e inician una respuesta fisiológica, existen diferentes receptores que son específicos para ciertas moléculas, hay cientos tipos de receptores en las células, y diferentes tipos de células tienen diferentes poblaciones de receptores.

Los receptores son generalmente proteínas transmembrana, que se unen a moléculas de señalización fuera de la célula y , posteriormente , transmiten la señal a través de una secuencia de interruptores moleculares para vías de señalización interna.

Los receptores de membrana se dividen en tres clases principales:

- Receptores acoplados a proteína G
- Receptores de canales iónicos
- Receptores ligados a enzimas

Además de los receptores de membrana existen receptores en el interior de la célula o incluso en el núcleo. Estos receptores normalmente se unen a moléculas que pueden pasar a través de la membrana celular [60].

### 2.5.2 INTERACCIÓN RECEPTOR - LIGANDO (FÁRMACO).

La mayoría de los fármacos actúan sobre receptores de mediadores endógenos, actúan también estabilizando una determinada conformación del receptor ya sea activa, inactiva o intermedia, es así como surge el concepto de agonista y antagonista. La interacción de un fármaco con el receptor provoca cambios de conformación que pueden traducirse en una respuesta agonista o antagonista [60,61].

La activación de un receptor ya sea por un fármaco o por una sustancia endógena consta de tres fases:

- Reconocimiento consiste en la interacción específica entre el ligando (endógeno o exógeno) y su receptor, y depende tanto de la estructura del fármaco como de la del receptor.
- Transducción consiste en las modificaciones celulares y moleculares desencadenadas por asociación ligando receptor. Se activan moléculas de señalización intracelular, como los segundos mensajeros, y las proteínas de señalización intracelular, cuya función es generar un segundo mensajero o activar la siguiente molécula de señalización intracelular (proteínas adaptadoras, fosforilación de otras proteínas, etc.). en la transducción, se produce una amplificación de la señal, de forma que la estimulación de un solo receptor permite, por amplificación intracelular, la aparición de una respuesta
- Respuesta funcional, está determinada por el efecto observable, consecuencia de la modificación de acontecimientos bioquímicos [61,62].

### 2.5.3 AGONISTAS Y ANTAGONISTAS

Los agonistas ocupan los receptores por afinidad y activan mecanismos efectores distales, con lo que inducen una respuesta.

Los agonistas pueden clasificarse como:

Totales o parciales.

Los agonistas totales producen una respuesta biológica máxima y tienen eficacia máxima, lo cual es independiente de su potencia. Los agonistas parciales producen menos del 100% de la respuesta biológica máxima incluso cuando existe una ocupación total de los receptores. Los antagonistas ocupan a los receptores sin activar a los mecanismos efectores distales, lo cual refleja su carencia de actividad intrínseca.

Los antagonistas se clasifican en reversibles e irreversibles. Los reversibles, se disocian con facilidad de su receptor, en tanto los antagonistas irreversibles, forman un enlace covalente estable con su receptor. Los antagonistas no producen respuesta; más bien, sus efectos se revelan a partir de la presencia de agonistas. [62]

#### 2.5.4 INTERACCIÓN RECEPTOR –RECEPTOR

Los receptores acoplados a proteína G median un gran número de procesos fisiológicos y son blanco de muchos de los fármacos clínicamente importantes, aproximadamente la mitad de los medicamentos actúan a través de GPCR [63].

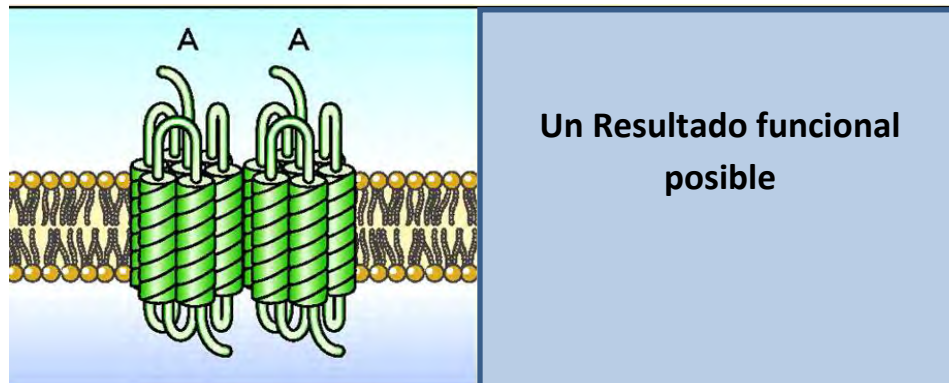
El concepto de interacción receptor – receptor se introdujo en la década de 1980, donde los receptores interactúan físicamente, mecanismos alostéricos permiten que surja una actividad integradora intermolecular de los GPCR formando homodímeros, heterodímeros o mosaicos de receptores [64].

Como consecuencia de este tipo de interacciones intermoleculares de los receptores se puede conducir a cambios en el reconocimiento de agonistas y la señalización intracelular debido a una cooperatividad de los GPCR.

Este tipo de interacciones se ha identificado y demostrado mediante las técnicas de FRET y BRET [65].

Homodímero

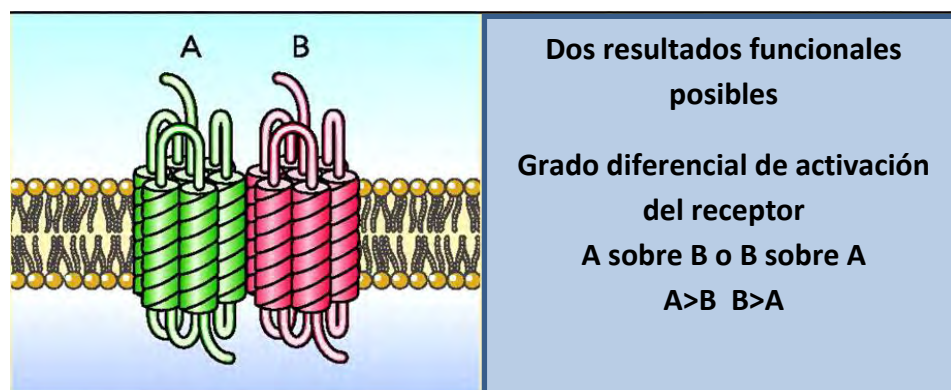
Complejo macromolecular formado por dos unidades monoméricas idénticas (Figura 10)



**Figura 10.** Esquema de formación de un homodímero de dos receptores [66].

## Heterodímero

Complejo macromoleculer formado por dos unidades monoméricas distintas (Figura 11)



**Figura 11.** Esquema de la formación de un heterodímero de dos receptores [66].

La heterodimerización está emergiendo como un proceso importante implicado en la especialización de la función de alguno de los receptores implicados, este tipo de interacción receptor - receptor existe en diferentes tejidos además de que regula eventos patológicos [67].

Estos complejos de receptores representan entidades funcionales que median distintas respuestas biológicas con ello se han identificado varios mecanismos que regulan la función y propiedades de los GPCR, uno de estos mecanismos es el CrossTalk entre distintos GPCR. Estas propiedades sugieren que los homodímeros y los heterodímeros son nuevos blancos farmacológicos en la terapéutica de patologías [67].



## CGP 42112A

CGP 42112A es un agonista potente y altamente selectivo al receptor de Ang II  $AT_2$ , es muy útil para ensayos de unión competitiva, aislamiento de receptores y estudios de autorradiografía. Los estudios de unión del compuesto CGP al receptor  $AT_2$  tienen éxito incluso en tejidos difíciles, tejidos con densidades bajas de  $AT_2$  o mezclas de los subtipos de receptores de la angiotensina [68].

Tiene aplicaciones potenciales en estudios cardiovasculares y en investigación de la vasodilatación.

Propiedades fisicoquímicas [69]:

Fuente biológica: sintética

Ensayo:  $\geq 95\%$

Forma: solido

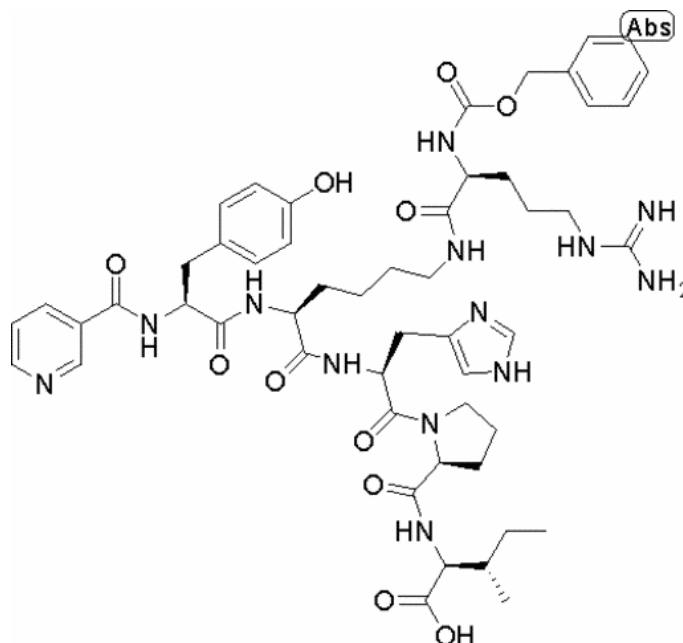
Color: Blanco

Temperatura de Almacenamiento:  $-20^\circ C$

Secuencia de aminoácidos:

Tyr-Z-Arg-Lys-His-Pro-Ile

Estructura química del CGP 42112A [70]:



## HOE 140

HOE 140 es un antagonista in vitro altamente potente y selectivo del receptor  $B_2$  de bradicinina, además de que tiene elevada duración de acción y tolerabilidad, se ha probado en diferentes modelos in vivo y en comparación con el conocido antagonista de Bk D-Arg [Hyp<sup>2</sup>, Thi<sup>5</sup>, 8, D-Phe<sup>7</sup>]. HOE 140 es altamente potente y de acción prolongada en la inhibición de las respuestas inducidas por hipotensores en rata. La magnitud y duración de la inhibición confirmaron los hallazgos obtenidos en los experimentos de la presión arterial en la rata.

Este compuesto ha demostrado que es un antagonista altamente potente y de larga acción in vivo en diferentes especies y modelos animales. Esto hace que sea apropiado para investigar más a fondo el papel fisiológico y fisiopatológico de BK [71].

Propiedades fisicoquímicas:

Peso molecular: 1304.52

Forma: sólido

Color: blanco

Ensayo:  $\geq 94\%$

Temperatura de almacenamiento:  $-20^\circ\text{C}$

Secuencia de aminoácidos [72]:

Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-Tic-Oic-Arg

### 3.0 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

Determinar la respuesta de la combinación de un antagonista  $B_2$  y un agonista  $AT_2$  mediante la realización de Curvas Concentración Respuesta a Ang II en anillos de aorta de rata SHR para comprobar si el antagonista y agonista promueven a una disminución de la respuesta vasoconstrictora.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Medición la presión arterial sistólica, diastólica y frecuencia cardiaca de los diferentes grupos de ratas SHR.
- Obtención de los anillos de aorta de rata SHR
- Realización de las Curvas Concentración Respuesta a Ang II en anillos de aorta de rata SHR en presencia y ausencia con CGP 42112A, HOE 140, Bk, CGP 42112A + HOE 140 y CGP 42112A + BK y comparar la respuesta que causan.

### 4.0 HIPÓTESIS

Se sabe por estudios teóricos que la formación del heterodímero del antagonista del receptor  $B_2$  a bradicinina y el agonista del receptor  $AT_2$  a Ang II promueve en células PC12W una vía de señalización que genera como segundo mensajero al GMPc y a la formación de NO por lo que se espera que esta combinación sobre la actividad contráctil a Ang II en anillos de aorta de rata SHR provoque una mayor respuesta vasodilatadora.

## 5.0 MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 MATERIAL

#### Reactivos biológicos

Ratas Espontáneamente Hipertensas (SHR), machos de 6 meses de edad. La hipertensión se corrobora mediante la toma de presión en el equipo Tail cuff.

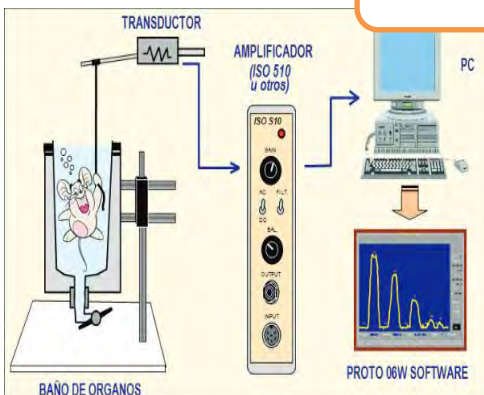
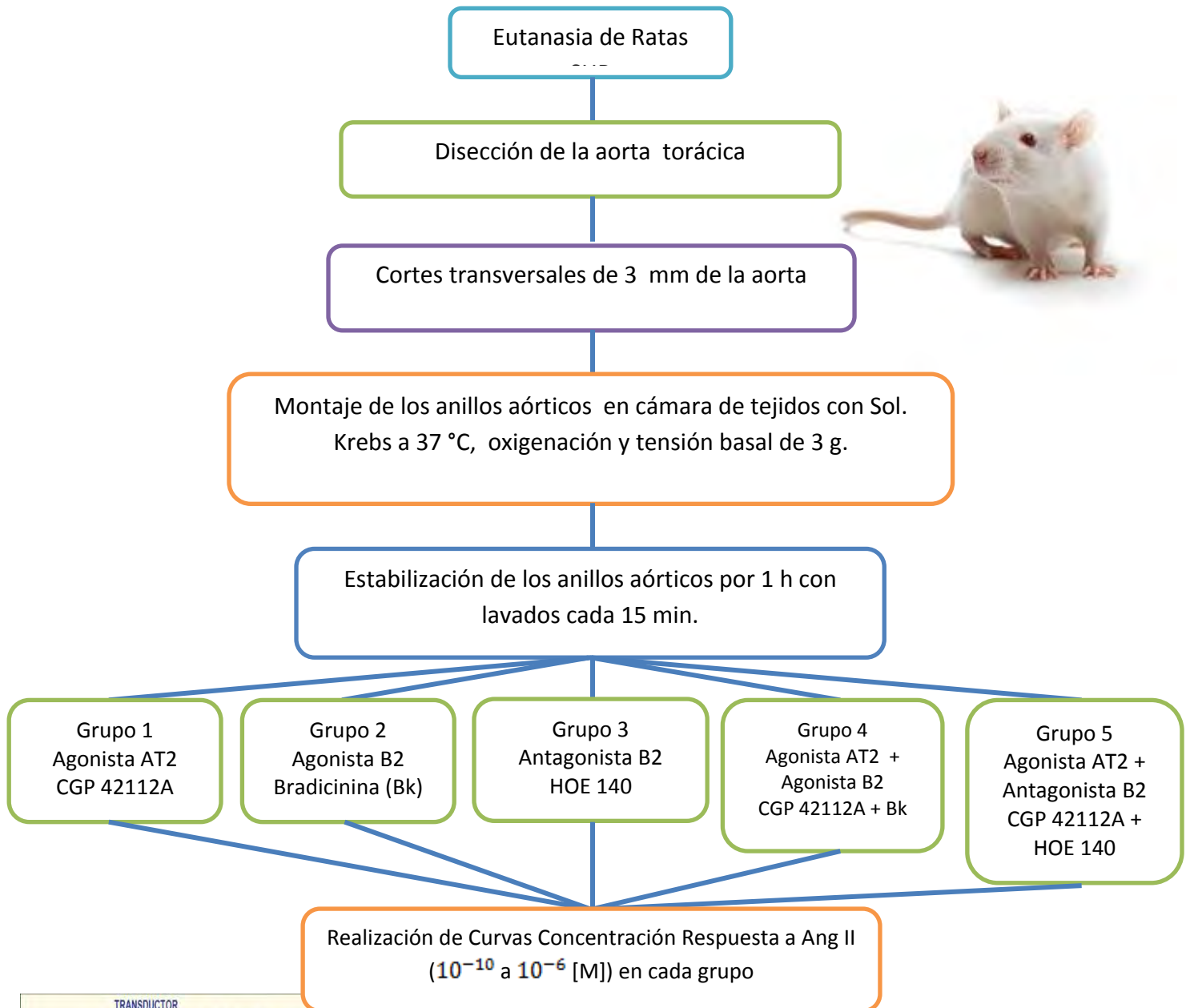
#### Soluciones y reactivos

Solución Krebs	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ NaCl</li> <li>○ Dextrosa</li> <li>○ <math>\text{NaHCO}_3</math></li> <li>○ KCl</li> <li>○ <math>\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>○ <math>\text{KH}_2\text{PO}_4</math></li> <li>○ <math>\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>○ EDTA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ CGP 42112A- Sigma-Aldrich</li> <li>○ Bradicinina- Sigma-Aldrich</li> <li>○ HOE 140- Sigma-Aldrich</li> <li>○ Angiotensina II- Sigma-Aldrich</li> <li>○ Agua Milli-Q®</li> <li>○ Eter dietilico- Sigma-Aldrich</li> </ul>

#### Material de laboratorio, consumibles y equipos

Material de laboratorio y consumibles	Equipos
Matraz volumétrico de 1000 ml	Balanza granataria scout OHAUS ®
Vasos de precipitados de 50 ml, 100 ml y 200 ml	Balanza analítica (Sartorius™)
Micropipetas Transferpette ® de 10 µl, 100 µl y 1000 µl	Agitador magnético HANNA
Puntas de 10 µl, 200 µl y 1000 µl	Equipo de medición de presión para ratas Tail Cuff . (INC)
Termómetro	Sistema para la obtención de datos biológicos Biopac Software ACQ in vitro
Espátula	cámaras de tejido aislado.
Material de cirugía	
Cámara de anestesia	
Viales ámbar con tapa de rosca	
Sanitas o servitoallas	
Algodón	

## 5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL



## 5.3 MÉTODOS

### 5.3.1 Preparación de compuestos CGP 42112 A y HOE 140 y péptidos Ang II y Bk.

#### Angiotensina II

Se pesó 1 mg de Ang II y se disolvió en 1 ml de agua desionizada obteniéndose a una concentración de  $10^{-3}$  [M] para obtener las concentraciones que se utilizaron en la Curva Concentración Respuesta se realizaron diluciones tomando 100  $\mu$ L de Ang II y disolviendo en 900  $\mu$ L de agua desionizada así sucesivamente hasta llegar a la concentración de  $10^{-9}$  [M].

#### CGP – 42112A

Se pesó 1 mg del compuesto CGP 42112A y se disolvió en 1 ml de agua desionizada obteniéndose a una concentración de  $10^{-3}$  [M], en las incubaciones se utilizó a una concentración de  $10^{-5}$  [M] para obtener en cámara de tejidos aislados una concentración de  $10^{-7}$ [M].

#### Bradicinina

Se pesó 1 mg del compuesto Bradicinina y se disolvió en 1 ml de agua desionizada obteniéndose a una concentración de  $10^{-3}$  [M], en las incubaciones se utilizó a una concentración de  $10^{-5}$ [M] para obtener en cámara de tejidos aislados una concentración de  $10^{-7}$ [M].

#### HOE – 140

Se pesó 1 mg del compuesto HOE 140 y se disolvió en 1 ml de agua desionizada obteniéndose a una concentración de  $10^{-3}$  [M], en las incubaciones se utilizó a una concentración de  $10^{-5}$ [M] para obtener en cámara de tejidos aislados una concentración de  $10^{-7}$ [M].

### 5.3.2 Preparación de Solución Krebs:

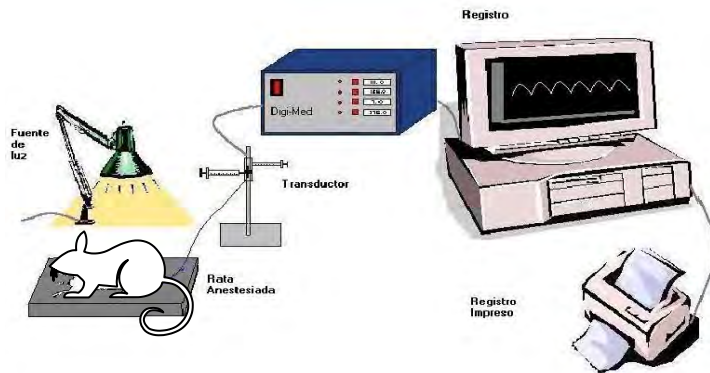
Se pesaron las sales y se disolvieron en 1L agua destilada.

1	NaCl	6.9 g
2	Dextrosa	2.1 g
3	NaHCO <sub>3</sub>	2.1 g
4	KCl	0.35 g
5	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.29 g
6	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.16 g
7	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.37 g
8	EDTA	0.01 g

### 5.3.3 Toma de presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC).

La toma de presión y frecuencia cardiaca se realizó en el equipo Tail Cuff in vivo. Al momento de realizar la medición de estos parámetros se deben controlar condiciones ambientales, como silencio, poca intensidad de luz ya que en caso de no controlar estas variables se puede ver afectada la medición de la presión por el estrés de las ratas.

El animal se introduce en el cepo del equipo el cual mantiene una temperatura de 37°C, la cola de la rata queda expuesta y es ahí donde se coloca el sensor para medir la presión. El software o programa para localizar las cifras de PAS, PAD y FC se obtuvieron mediante el software Sievart1 Fig 12.



**Figura 12.** Equipo Tail Cuff, registro de la PAS, PAD y FC.

### 5.3.4 Obtención de anillos de aorta torácica de rata SHR y montaje en cámaras de tejido aislado.

Se colocó la rata SHR en una cámara de anestesia saturada con éter dietílico para llevarla a parálisis bulbar se colocó la rata en zona de cirugía se realizó un corte medio torácico con la finalidad de localizar la aorta torácica y se realiza la disección de la arteria y se coloca en una caja Petri con solución Krebs a 37 ° C. Se retiró el tejido conectivo de la aorta y una vez limpia se realizaron cortes transversales de 3 mm aproximadamente. Posteriormente se montaron los anillos de aorta en cada una de las cámaras de tejidos aislados con solución Krebs a 37 ° C y con oxigenación constante (5% de  $\text{CO}_2$  y 95% de  $\text{O}_2$ ) se dio una tensión basal de 3 g y se dejó estabilizar la preparación por 1h con lavados cada 15 min. Esto se realizó para todos los anillos de los diferentes grupos





### **5.3.5 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de CGP 42112A (agonista del receptor $AT_2$ ) en anillos de aorta de rata SHR**

Después del tiempo de estabilización se adiciono 0.1 ml del agonista CGP 42112A  $10^{-5}$ [M] y se dejó incubar por 15 min posteriormente se realizó la Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II iniciando con la concentración  $10^{-9}$  [M] hasta llegar a la respuesta contráctil máxima. Esto se realiza de la misma manera para las diferentes concentraciones de Ang II hasta llegar a la de  $10^{-4}$ [M],

### **5.3.6 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de Bk (agonista del receptor $B_2$ ) en anillos de aorta de rata SHR**

Después del tiempo de estabilización se adiciono 0.1 ml del agonista Bk  $10^{-5}$ [M] y se dejó incubar por 15 min posteriormente se realizó la Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II iniciando con la concentración  $10^{-9}$  [M] hasta llegar a la respuesta contráctil máxima. Esto se realiza de la misma manera para las diferentes concentraciones de Ang II hasta llegar a la de  $10^{-4}$ [M],

### **5.3.7 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de HOE 140 (antagonista del receptor $B_2$ ) en anillos de aorta de rata SHR**

Después del tiempo de estabilización se adiciono 0.1 ml del agonista HOE 140  $10^{-5}$ [M] y se dejó incubar por 15 min posteriormente se realizó la Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II iniciando con la concentración  $10^{-9}$  [M] hasta llegar a la respuesta contráctil máxima. Esto se realiza de la misma manera para las diferentes concentraciones de Ang II hasta llegar a la de  $10^{-4}$ [M],

### **5.3.8 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de CGP 42112A + Bk en anillos de aorta de rata SHR**

Después del tiempo de estabilización se adiciono 0.1 ml del CGP 42112A  $10^{-5}$ [M] y se deja incubar por 15 min, después se adiciona 0.1 ml de Bk  $10^{-5}$ [M] y se incuba por 15 min posteriormente se realizó la Curva Concentración Respuesta a Ang II iniciando con la concentración  $10^{-9}$  [M] hasta llegar a la respuesta contráctil máxima. Esto se realiza de la misma manera para las diferentes concentraciones de Ang II hasta llegar a la de  $10^{-4}$ [M].

### **5.3.9 Realización de la Curva Concentración Respuesta a Ang II en ausencia y presencia de CGP 42112A + HOE 140 en anillos de aorta de rata SHR**

Después del tiempo de estabilización se adiciono 0.1 ml del CGP 42112A  $10^{-5}$ [M] y se deja incubar por 15 min, después se adiciona 0.1 ml de HOE 140  $10^{-5}$ [M] y se incuba por 15 min posteriormente se realizó la Curva Concentración Respuesta a Ang II iniciando con la concentración  $10^{-9}$  [M] hasta llegar a la respuesta contráctil máxima. Esto se realiza de la misma manera para las diferentes concentraciones de Ang II hasta llegar a la de  $10^{-4}$ [M].

## 6.0 RESULTADOS

En este trabajo se realizó la determinación del efecto que puede provocar la formación de heterodímeros formados por agonistas + agonistas y agonistas + antagonistas. Para ello primeramente a todos los grupos de las ratas SHR se les mido la PAS, PAD y FC, (Tabla. 3) posteriormente se realizó la Curva Concentración Respuesta en anillos de aorta de rata SHR a Ang II, en la Gráfica 1 se observa la respuesta contráctil que genera Ang II a diferentes concentraciones obteniendo una curva sigmoidea que muestra la respuesta gradual al péptido, obteniendo una vasoconstricción expresada en tensión máxima de 0.5 g.

En la tabla 4 se muestran los resultados de la PAS, PAD y FC del grupo n=6 CGP 42112A (agonista del receptor  $AT_2$ ). En la gráfica 2 se observa la disminución de la respuesta contráctil a Ang II por la presencia del CGP 42112A obteniendo una tensión máxima de 0.2 g en comparación con ausencia del CGP 42112A se observa un incremento de la respuesta contráctil a Ang II obteniendo una tensión máxima de 0.5g.

En la tabla 5. Se muestran los resultados de la PAS, PAD y FC del grupo Bk (agonista del receptor  $B_2$ ). En la gráfica 3 se observa la disminución de la respuesta contráctil a Ang II por la presencia de Bk obteniendo una tensión máxima de 0.2 g, en ausencia de Bk se observa un incremento de la respuesta contráctil a Ang II obteniendo una tensión máxima de 0.5 g.

En la tabla 6 se muestran los resultados de la medición de la PAS, PAD y FC del grupo HOE 140 (antagonista del receptor  $B_2$ ). En la gráfica 4 se muestra una disminución que no es significativa de la respuesta contráctil a Ang II con la presencia de HOE 140 en comparación con la ausencia de este compuesto. En presencia del HOE 140 se obtuvo una tensión máxima de 0.4 g y en ausencia de obtuvo una tensión máxima de 0.5 g.

En la tabla 7 se muestran los resultados de la PAS, PAD y FC del grupo CGP 42112 A + Bk. En la gráfica 5 se aprecia una disminución de la respuesta contráctil a Ang II por la presencia de CGP 42112 A + Bk obteniendo una tensión máxima de 0.2 g, en ausencia de CGP 42112 A + Bk se observa incremento en la respuesta contráctil a Ang II obteniendo una tensión máxima de 0.5 g.

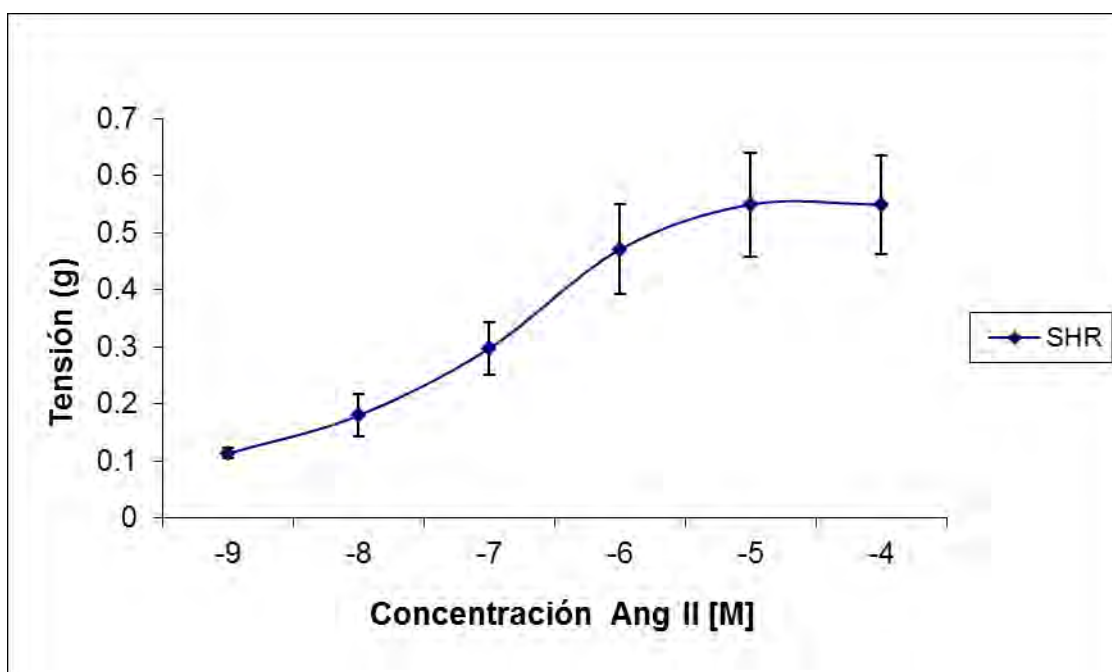
En la tabla 8 se muestran los resultados de la PAS, PAD y FC del grupo CGP 42112 A + HOE 140, en la gráfica 6 se observa una disminución de la respuesta contráctil a Ang II que no es significativa en presencia de CGP 42112 A + HOE 140 en comparación con la ausencia de estos compuestos obteniendo una tensión máxima de 0.4 g en presencia de CGP 42112 A + HOE 140, en ausencia de estos se obtuvo una tensión máxima de 0.5 g.

En la gráfica 7 se muestran las curvas sigmoideas de cada uno de los grupos (SHR, CGP 42112 A, Bk, HOE 140, CGP 42112 A + Bk y CGP 42112 A + HOE 140) observando la respuesta contráctil a Ang II a diferentes concentraciones.

## 6.1 DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A ANG II EN ANILLO DE AORTA DE RATA SHR.

Tabla 3.- Valores promedio  $\pm$  EE de la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) del grupo control SHR.

Grupo	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	FC (lat/min)
SHR Control	140.29 $\pm$ 1.39	119.73 $\pm$ 1.71	329.33 $\pm$ 7.93



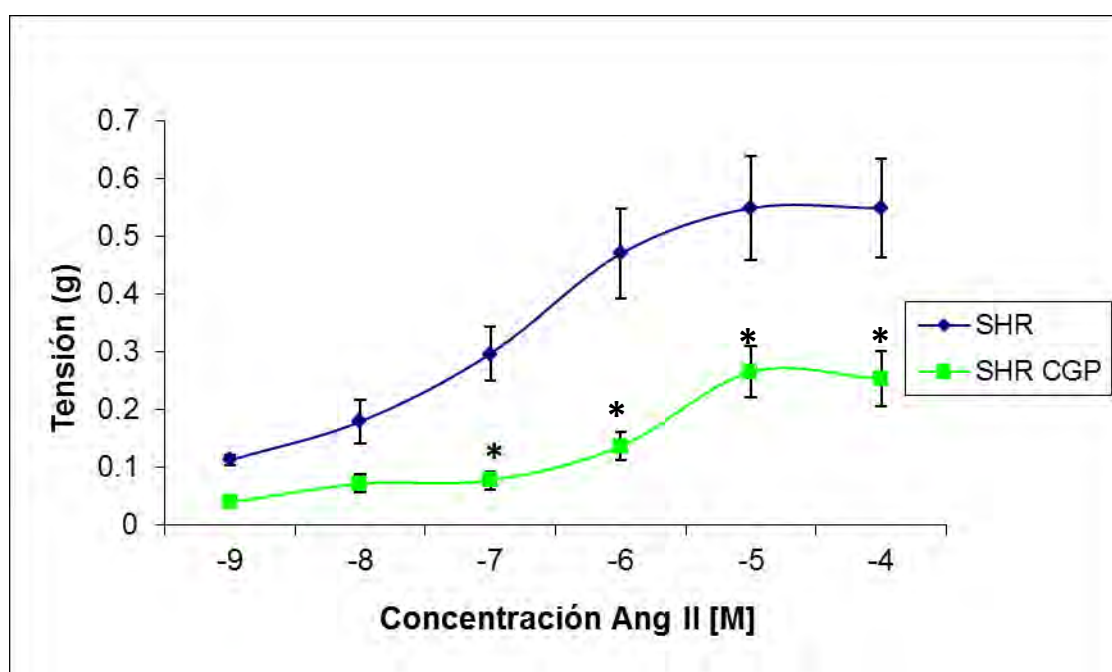
Gráfica 1.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo control.

En la Gráfica 1 se muestra la respuesta contráctil que presentó la Ang II a diferentes concentraciones en anillos de aorta torácica con endotelio de rata SHR. La tensión se incrementó conforme se aumentó la concentración de Ang II.

## 6.2 DETERMINACION DEL EFECTO DEL AGONISTA CGP 42112A EN LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A ANG II EN ANILLOS DE AORTA DE RATA SHR.

Tabla 4.- Valores promedio  $\pm$  EE de la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) del grupo CGP 42112A.

Grupo	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	FC (lat/min)
SHR + CGP	140.65 $\pm$ 2.27	119.86 $\pm$ 1.77	326.16 $\pm$ 8.72



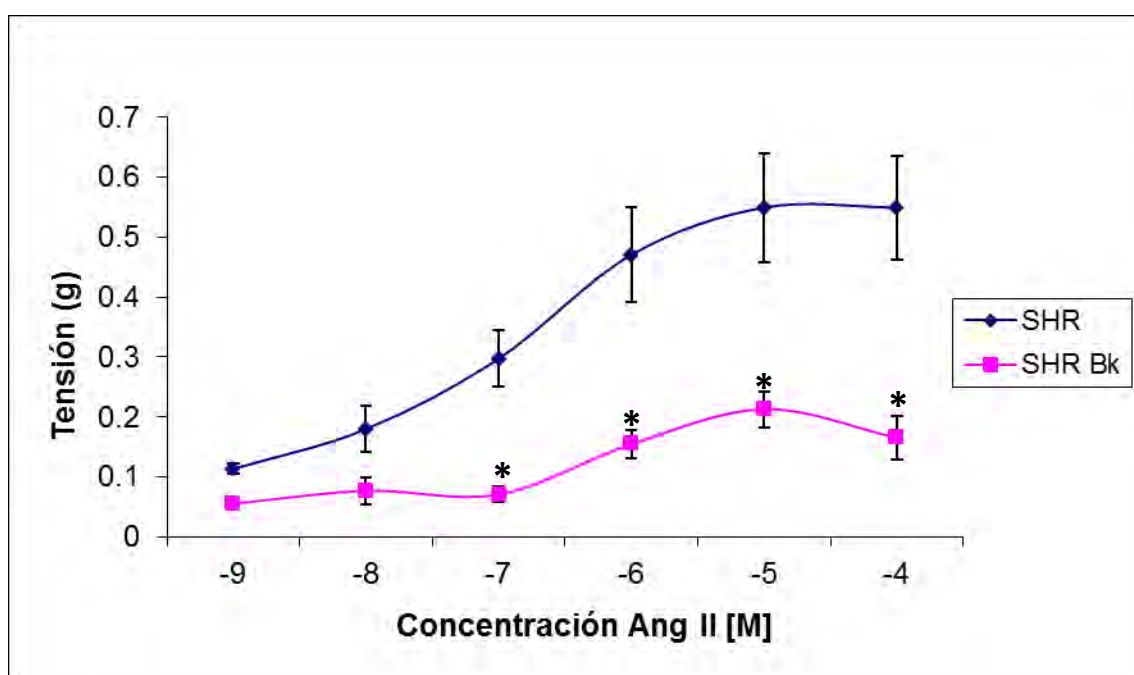
Gráfica 2.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo CGP. . Se muestra los valores promedio  $\pm$  EE. \*P<0.05 vs SHR. (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey).

En el grupo experimental CGP 42112A (agonista del receptor  $AT_2$ ) se realizó la Curva Concentración Respuesta a Ang II en anillos de aorta torácica con endotelio de rata SHR, donde se observa un incremento en la respuesta contráctil a Ang II conforme se aumenta la concentración de este péptido vasoconstrictor la cual es menor en comparación con el grupo SHR control, como se observa en la gráfica 2 existe una diferencia significativa entre estos dos grupos experimentales, a partir de la concentración de  $10^{-7}$  [M] a la de  $10^{-4}$  [M].

### 6.3 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL AGONISTA BK EN LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A ANG II EN ANILLOS DE AORTA DE RATA SHR.

Tabla 5.- Valores promedio  $\pm$  EE de la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) del grupo BK.

Grupo	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	FC (lat/min)
SHR + BK	139.96 $\pm$ 1.05	119.57 $\pm$ 1.53	326.11 $\pm$ 6.88



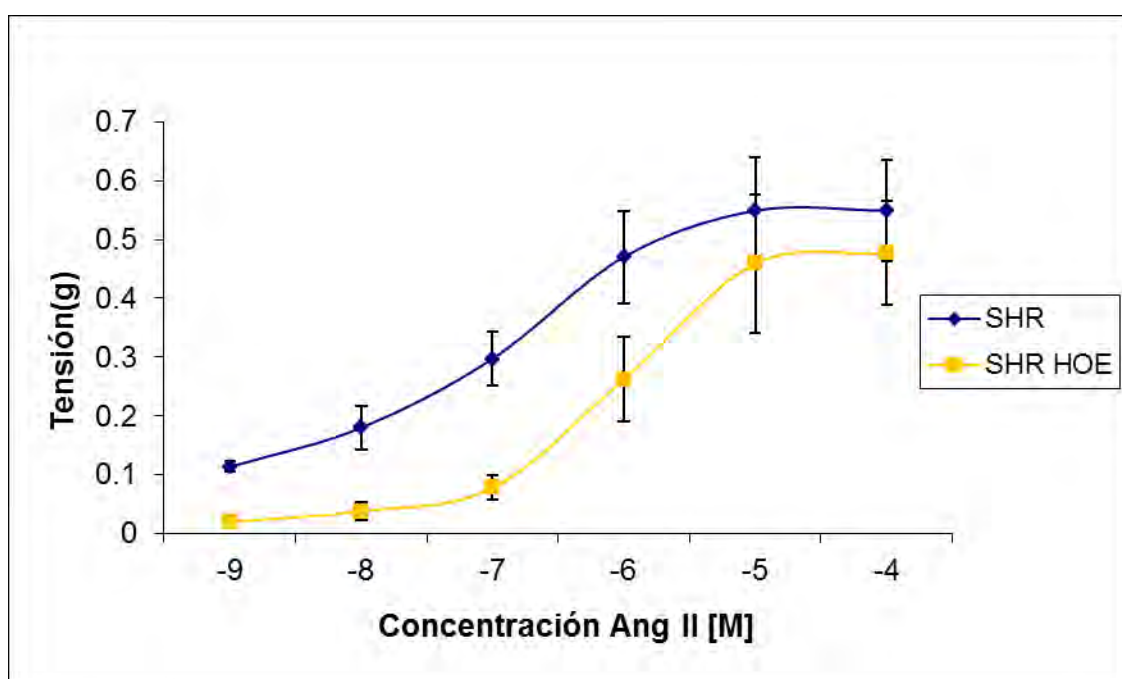
Gráfica 3.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo Bk. Se muestra los valores promedio  $\pm$  EE. \*P<0.05 vs SHR. (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey).

El grupo experimental BK (agonista del receptor  $B_2$ ) se realizó la CCR a Ang II, de igual forma la respuesta contráctil incrementa conforme al aumento de la concentración de Ang II, como se observa en la gráfica 3 existe una disminución significativa sobre la respuesta contráctil a partir de la concentración de  $1 \times 10^{-7}$  [M] a la de  $1 \times 10^{-4}$  [M] con respecto al grupo SHR control.

#### 6.4 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL ANTAGONISTA HOE 140 EN LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A ANG II EN ANILLOS DE AORTA DE RATA SHR.

Tabla 6.- Valores promedio  $\pm$  EE de la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) del grupo HOE 140.

Grupo	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	FC (lat/min)
SHR + HOE	140.68 $\pm$ 1.89	119.5 $\pm$ 2.37	327.46 $\pm$ 7.32



Gráfica 4.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo HOE. Se muestra los valores promedio  $\pm$  EE. \*P<0.05 vs SHR. (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey).

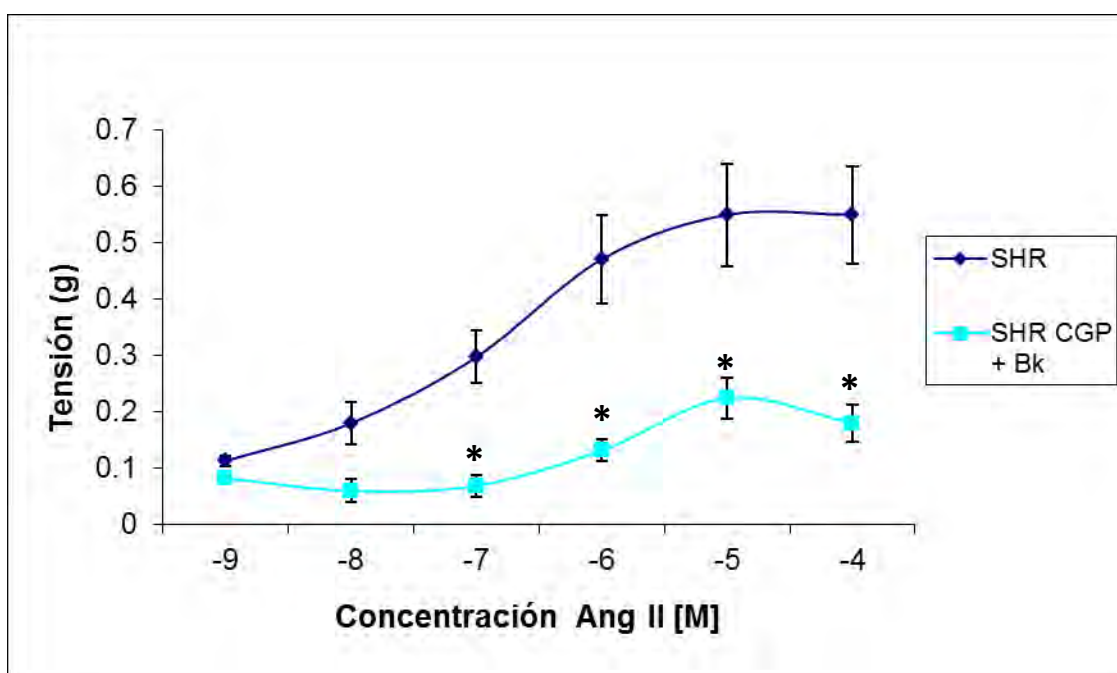
En el grupo experimental HOE 140 (antagonista del receptor  $B_2$ ) se realizó la Curva Concentración Respuesta a Ang II, en la gráfica 4 se observa que al aumentar la concentración de este péptido vasoconstrictor se incrementa la respuesta contráctil en los anillos de aorta torácica con endotelio de rata SHR, en comparación con el grupo SHR control hay una tendencia a disminuir la respuesta contráctil. Sin embargo no existe una diferencia significativa en ninguna de las concentraciones que se añadieron de Ang II.



## 6.5 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA INTERACCIÓN DEL AGONISTA CGP 42112A Y AGONISTA BK EN LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A ANG II EN ANILLOS DE AORTA DE RATA SHR.

Tabla 7.- Valores promedio  $\pm$  EE de la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) del grupo CGP 42112A + BK.

Grupo	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	FC (lat/min)
SHR CGP + Bk	140.77 $\pm$ 2.45	120 $\pm$ 1.64	326.92 $\pm$ 7.26



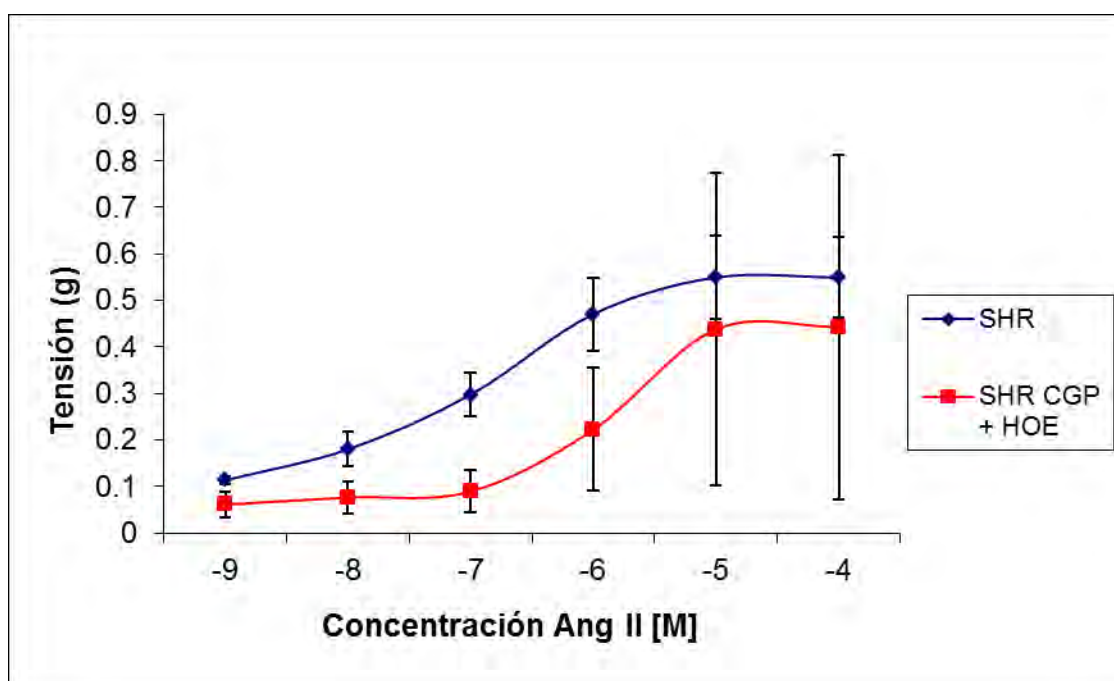
Gráfica 5.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo CGP + Bk. Se muestra los valores promedio  $\pm$  EE. \*P<0.05 vs SHR. (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey).

Para el grupo experimental con la combinación de dos agonistas CGP 42112A + Bk se realizó la Curva Concentración Respuesta a Ang II, los anillos de aorta torácica con endotelio de rata SHR presentaron un incremento en la respuesta conforme se aumentaba la concentración del péptido, sin embargo esta respuesta contráctil fue significativamente menor a partir de las concentraciones de  $10^{-7}$  [M] a la de  $10^{-4}$  [M] en comparación con el grupo control SHR como se observa en la gráfica 5.

## 6.6 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA INTERACCIÓN DEL AGONISTA CGP 42112A Y ANTAGONISTA HOE 140 EN LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A ANG II EN ANILLOS DE AORTA DE RATA SHR

Tabla 8.- Valores promedio  $\pm$  EE de la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) del grupo CGP 42112A + HOE 140.

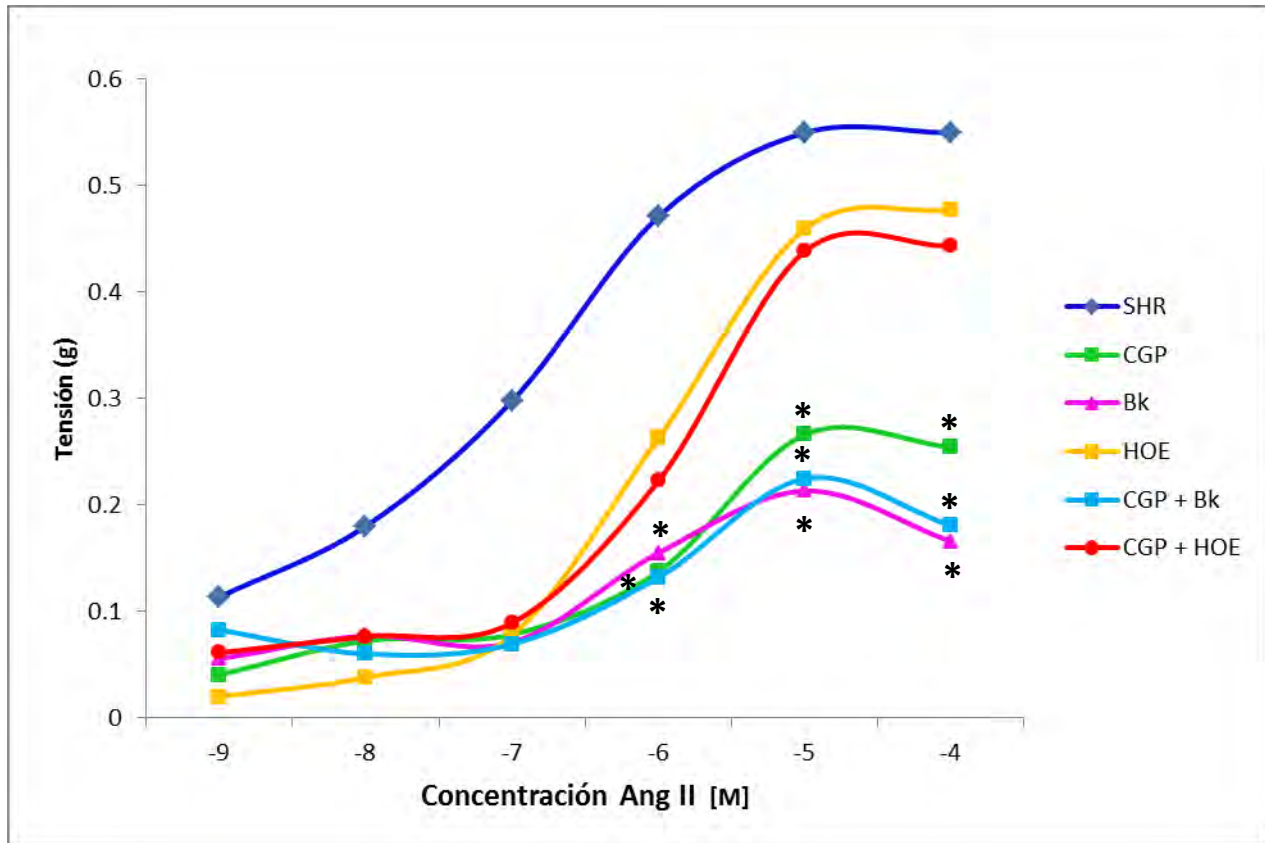
Grupo	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	FC (lat/min)
SHR CGP + HOE	140.76 $\pm$ 2.08	119.61 $\pm$ 2.73	327.64 $\pm$ 6.85



Gráfica 6.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR Grupo CGP + HOE.

Se muestra los valores promedio  $\pm$  EE. \* $P < 0.05$  vs SHR. (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey).

En el grupo experimental CGP 42112A + HOE 140, combinación agonista antagonista respectivamente se realizó la Curva Concentración Respuesta a Ang II en anillos de aorta torácica con endotelio de rata SHR, de igual forma al aumentar la concentración de Ang II se incrementa la respuesta contráctil en los anillos aórticos. Como se observa en la gráfica 6 la respuesta contráctil que presentó este grupo es similar al grupo control SHR. No existe una diferencia significativa entre estos dos grupos experimentales.



Gráfica 7.- Curva Concentración Respuesta acumulativa a Ang II en aorta de rata SHR y todos los grupos. Se muestra los valores promedio  $\pm$  EE. \* $P < 0.05$  vs SHR. (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey).

En la gráfica 7 se muestra las Curvas Concentración Respuesta a Ang II para los diferentes grupos SHR, CGP 42112A, BK, HOE 140, CGP 42112A + BK y CGP 42112A + HOE 140 donde la mayor respuesta contráctil se presenta en el grupo control SHR, Mientras que el grupo HOE 140 y el grupo CGP 42112A + HOE 140 no presentaron diferencias significativas en comparación con el grupo SHR control.

A diferencia de los grupos anteriores, Los grupos BK, CGP 41221A y CGP 42112A + BK presentaron una disminución significativa de la respuesta contráctil en comparación con el grupo control SHR.

## 7.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La hipertensión arterial es una enfermedad crónica con elevada prevalencia a nivel mundial y en México es uno de los principales problemas de salud, y va en aumento, además de que es considerada el principal factor de riesgo de muerte debido a las complicaciones que están relacionadas con la elevación de la tensión arterial [1].

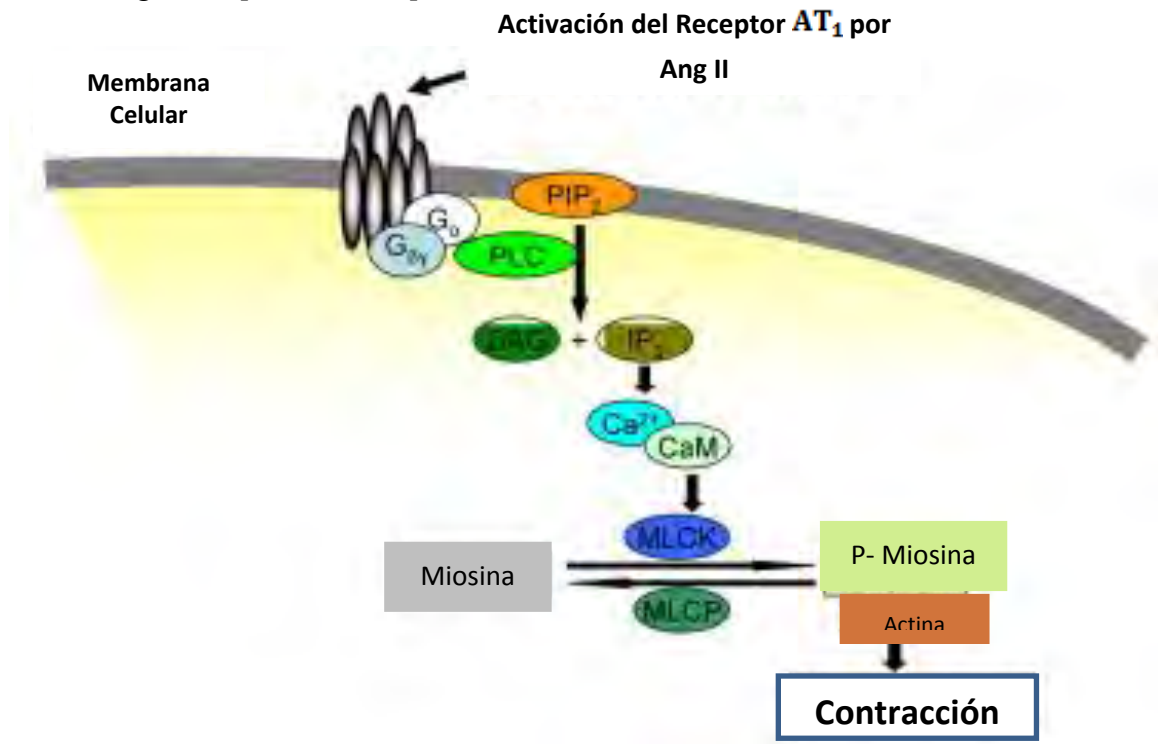
El modelo de rata espontáneamente hipertensa (SHR) es uno de los más estudiados debido a su elevada relación con la hipertensión esencial humana. Ésta es una cepa endogámica desarrollada por la reproducción selectiva de ratas Wistar Kyoto, la cepa SHR seleccionada genéticamente de forma espontánea desarrolla la HTA de moderada a grave entre las semanas 7 a 15 de edad [73].

Esta cepa además ofrece predisposición genética específica y uniforme, permitiendo así el estudio de las causas, los mecanismos y la patología de la hipertensión arterial así como sus consecuencias en el comportamiento y en la comparación de la eficacia de los diferentes tratamientos clínicos existentes y nuevos blancos terapéuticos [74].

La respuesta a angiotensina II en el grupo control SHR es mayor en comparación con las incubaciones individuales y combinadas de los diferentes compuestos, esto es debido a que el SRAA posee un papel importante en la regulación de la presión arterial por lo que este sistema está estrechamente implicado, en la patología existe una hiperactividad del SRAA en el cual se desarrollan cambios patológicos en las paredes de las arterias, importantes cambios implicados en la génesis de la hipertensión [20, 75].

La Ang II que se añadió se une a los receptores  $AT_1$  y  $AT_2$ , sin embargo existe una mayor densidad de los receptores  $AT_1$  los cuales se encuentran distribuidos en una amplia variedad de tejidos principalmente en células endoteliales de los vasos sanguíneos en comparación el receptor  $AT_2$  se encuentra expresado primordialmente en tejidos fetales y permanece expresado en adulto con una baja densidad en aorta, esto ocasiona que la Ang II tenga una mayor afinidad por la cantidad de receptores a  $AT_1$  [4, 76].

$AT_1$  se acopla a la proteína Gq, al estimularse el receptor  $AT_1$  por Ang II la Gq activa a la fosfolipasa C (PLC) Esto libera inositol-1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) y diacilglicerol (DAG) de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato ( $PIP_2$ ).  $IP_3$  Se une a su receptor en el retículo sarcoplásmico, permitiendo la salida de  $Ca^{2+}$ . Ang II también promueve una afluencia de  $Ca^{2+}$  externo a través de los canales de calcio generando así una elevación de  $Ca^{2+}$  intracelular, este se une a la calmodulina y activa la miosina de cadena ligera quinasa (MLCK), que fosforila la cadena ligera de la miosina y mejora la interacción entre la actina y la miosina, lo que resulta en una mayor vasoconstricción. La cual es expresada en gramos (g) en las Curva Concentración Respuesta, alcanzando una respuesta máxima para el control SHR de 0.5 tensión en gramos [4, 14, 28, 77].

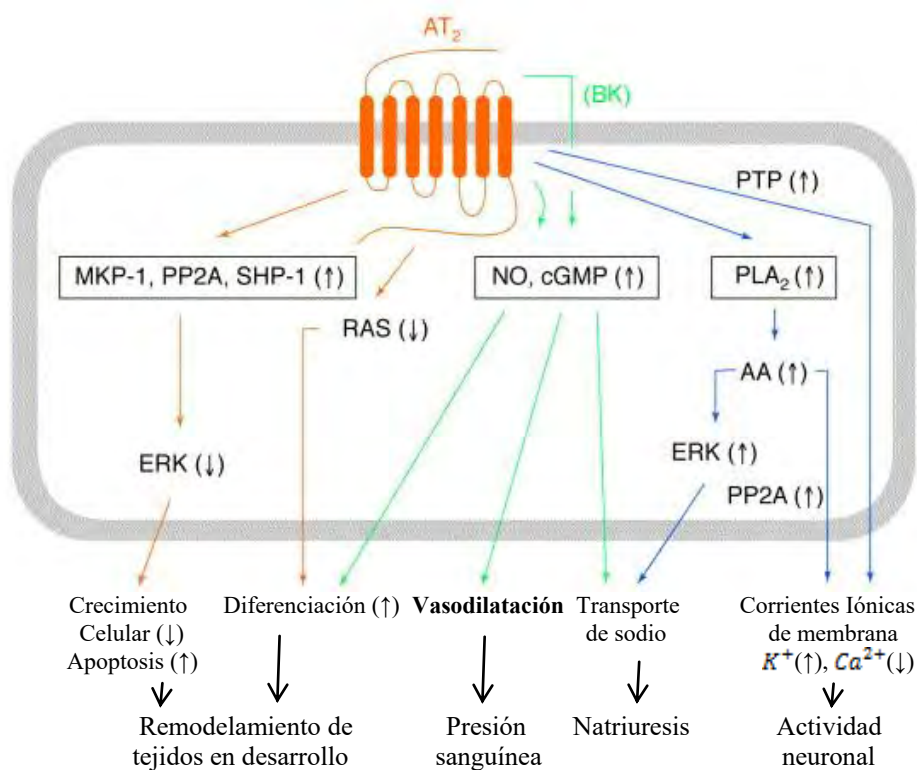


**Figura 13.-** Activación del receptor  $AT_1$ . Vía de señalización de la activación del receptor  $AT_1$  por Ang II, generando una respuesta contráctil [77].

Los receptores  $AT_1$  y  $AT_2$  poseen considerablemente diferentes secuencias de aminoácidos (aproximadamente 34% de homología) por lo tanto poseen diferentes perfiles farmacológicos y propiedades de señalización [78].

Para el grupo SHR CGP 42112A existe una disminución de la respuesta contráctil a Ang II en comparación con el grupo SHR control esto es debido a la gran afinidad que existe de este compuesto por el receptor  $AT_2$ , al unirse el agonista a su receptor desencadena una de sus vías de señalización [79].

$AT_2$  es un receptor igualmente acoplado a proteína G, al estimularse el receptor por el agonista CGP 42112A la proteína  $G_i$  estimula a la eNOS para la producción de óxido nítrico de esta forma ocurre la relajación vascular al estimular el GMPc [4, 14, 80].



**Figura 14.-** Activación del receptor  $AT_2$ : Vía de señalización de la activación del receptor  $AT_2$  por el agonista CGP 42112A generando una respuesta vasodilatadora [81].

El receptor  $AT_2$  compensa los efectos del receptor  $AT_1$ , Ang II fomenta la fosforilación de varias proteínas mediante el receptor  $AT_1$ , la desfosforilación de estas proteínas ocurre por el acoplamiento de proteínas G inhibitorias al receptor  $AT_2$ , siendo este un mecanismo por el cual el receptor  $AT_2$  antagoniza las acciones del receptor  $AT_1$  [4,14].

La disminución de la actividad contráctil a Ang II es mayor en el grupo SHR por activación del receptor  $B_2$  con bradicinina en comparación con los demás grupos.

El receptor  $B_2$  se encuentra acoplado a una proteína  $G_i$ , al ser estimulado el receptor por la bradicinina la proteína  $G_i$  activa a PLC generando  $IP_3$ , este se une a los receptores del retículo sarcoplásmico para que se libere  $Ca^{2+}$  el aumento de este es necesario para que la eNOS se active y se una a la calmodulina produciendo NO y L-citrulina teniendo como respuesta la vasodilatación en células endoteliales, NO difunde a células del músculo liso vascular activando a la guanilato ciclasa, el cGMP modula canales de  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplásmico permitiendo su entrada y disminuyendo la cantidad intracelular relajando a la célula muscular [82, 83].

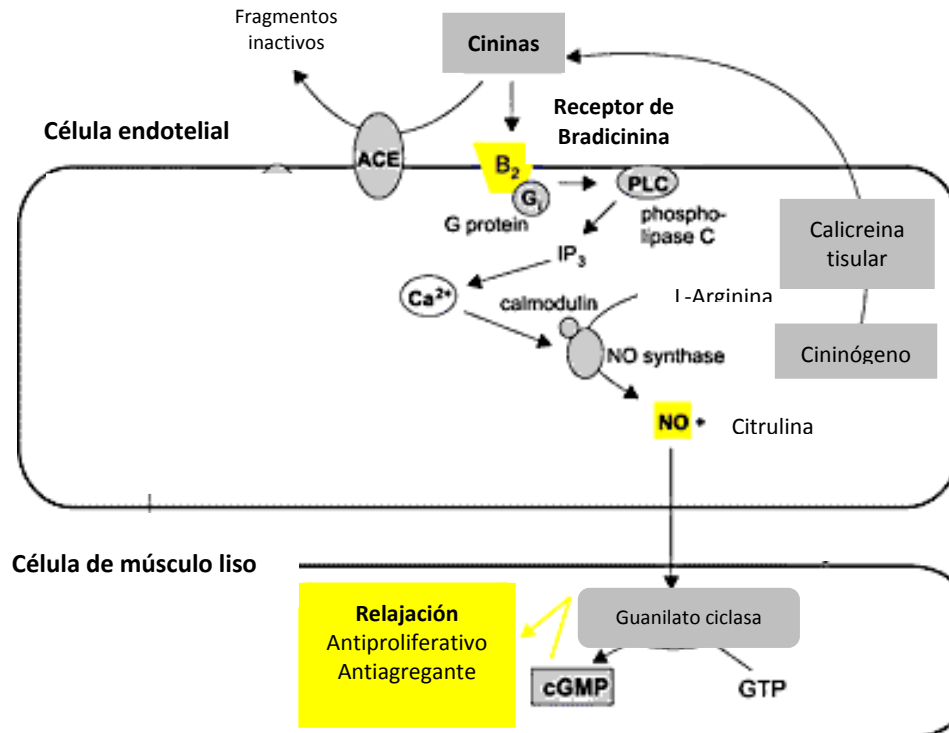
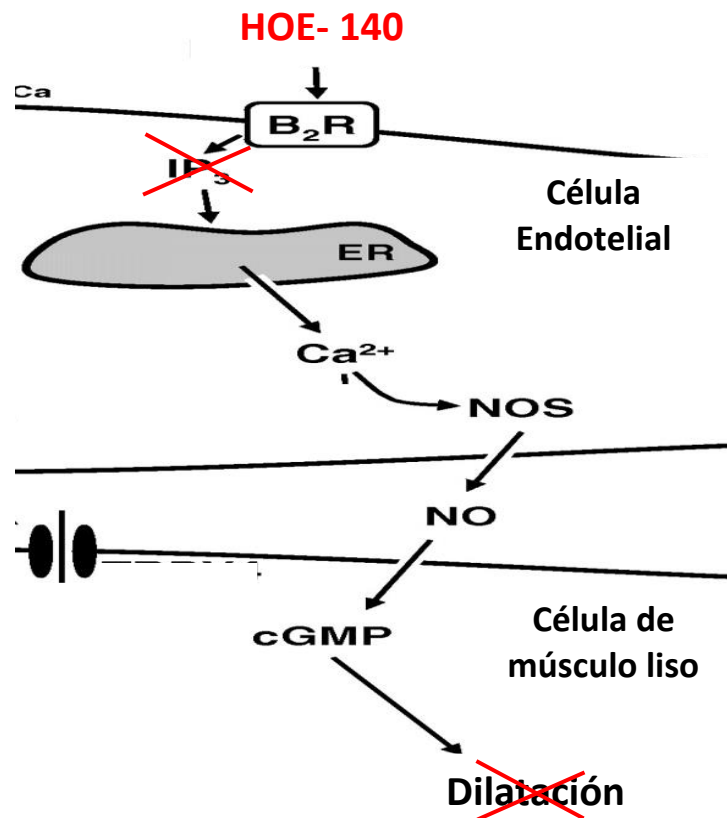


Figura 15.- Activación del receptor  $B_2$  [83].

Al antagonizar el receptor  $B_2$  en los anillos aórticos de rata SHR con el compuesto HOE 140 se bloquea la vía de señalización por la cual bradicinina genera un efecto vasodilatador, al unirse específicamente y selectivamente HOE 140 al receptor  $B_2$  la proteína Gi no es estimulada por lo que no produce PLC por tanto la eNOS no se activa para generar NO, al agregar Ang II esta se une a su receptor más afín el  $AT_1$  estimulando su vía de señalización generando una respuesta vasoconstrictora, esto se observa en su Curva Concentración Respuesta donde no existe una diferencia significativa a la respuesta a Ang II en presencia y ausencia del HOE 140 [28, 77].



**Figura 16.** Antagonismo del receptor  $B_2$ , bloqueo de la vía de señalización por la cual bradicinina genera efecto vasodilatador. [84]



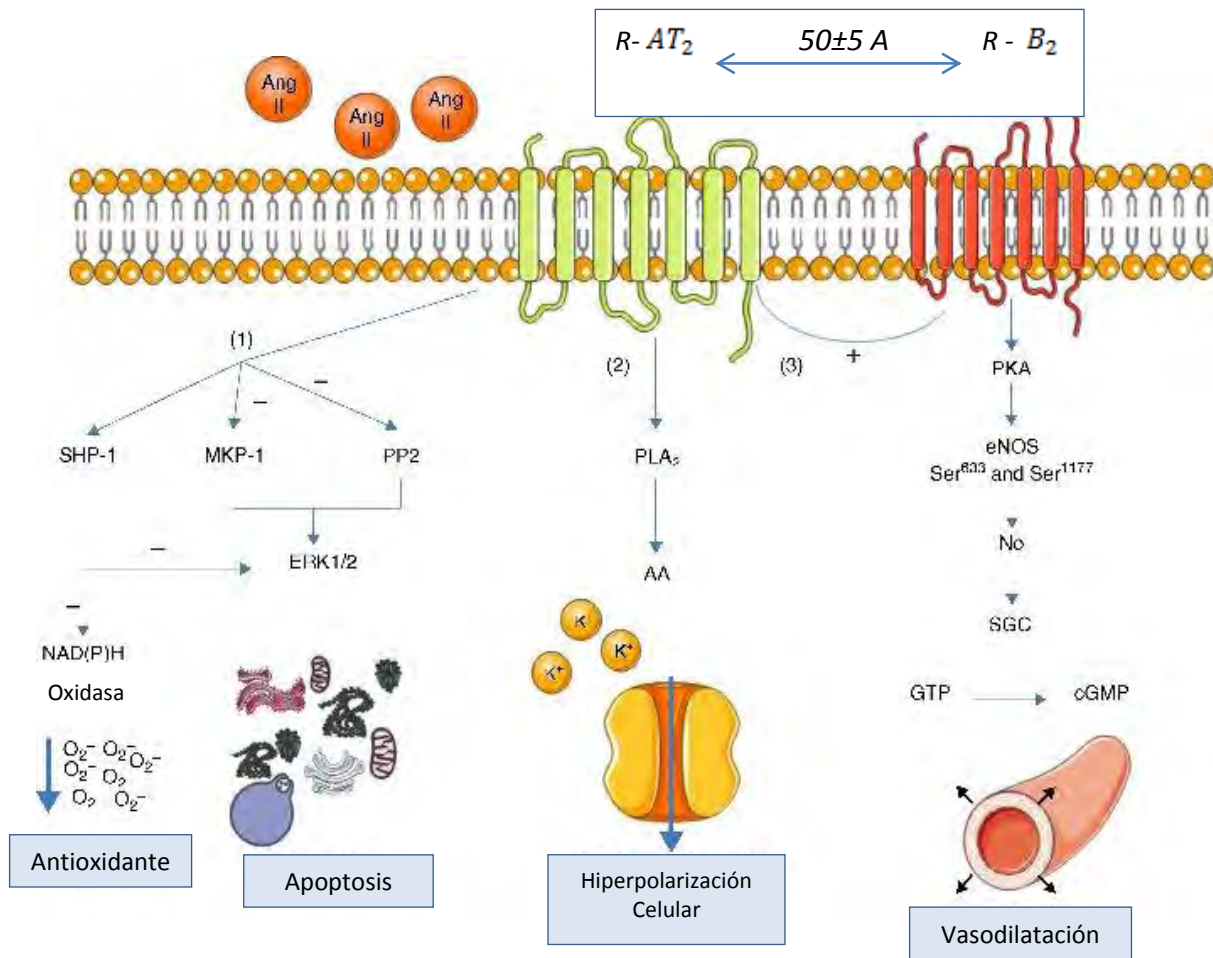
La heterodimerización de receptores tiene efectos sobre la unión del ligando, la activación del receptor, la desensibilización así como una señalización del receptor diferente a la que por sí sola genera.

La técnica de FRET demuestra la asociación física de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$  sin estimulación alguna, sugiriendo la presencia de heterodímeros constitutivos los cuales fueron detectados en membrana plasmática y en la región perinuclear [5].

Se realizó la activación simultánea de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$  en los anillos aórticos de rata SHR en presencia de agonista y antagonista respectivamente, en la gráfica 6 se observa el resultado de esta combinación que genero una disminución en la respuesta contráctil a Ang II, tal respuesta no es significativa en comparación con la ausencia simultanea de agonista antagonista, esto se debe al bloqueo con el antagonista HOE 140 del receptor  $B_2$  por lo que se ve afectada la vía principal por la cual se produce NO quedando solo la activación del receptor  $AT_2$  con el agonista CGP 42112A para la producción NO por activación de la eNOS a través de la proteína Gi, además se debe tener en cuenta los receptores  $AT_1$  que son activados por la Ang II por lo que hay una competencia de los efectos producidos por  $AT_1$  vs  $AT_2$ .

Así mismo se realizó la activación simultánea de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$  en presencia de agonista agonista, el resultado de este tipo de activación es la disminución de la respuesta contráctil a Ang II en comparación con la ausencia de la activación simultánea del heterodímero de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$  lo cual se observa en la gráfica 5, existe una disminución significativa de la respuesta a Ang II y se debe a la interacción entre estos dos receptores por tanto sus vías de señalización, las cuales convergen para generar un efecto vasodilatador, a este tipo de interacción en las cuales convergen las vías de señalización de dos receptores diferentes se conoce como Cross-Talk, al activar  $AT_2$  se estimula al receptor  $B_2$ , esto induce la fosforilación de la eNOS a través de una vía de señalización mediada por la PKA aumentando la producción de NO por tanto la activación de la guanilato ciclasa sintetizando GMPc promoviendo la vasorelajación.

Independientemente de la activación del receptor  $AT_2$  cuando se activa al receptor  $B_2$  se produce el mismo efecto que al tener  $AT_2$  activo, por tanto se dice que el efecto lo produce en realidad la activación del receptor  $B_2$  por la Bk, no tanto el  $AT_2$  [5,85].



**Figura 17.** Heterodímero de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$ : activación de  $AT_2$  por el CGP42112A y  $B_2$  por Bk, vía de señalización generando una mayor producción de NO [85].

## 8.0 CONCLUSIONES

Se midieron la PAS, PAD y FC de ratas SHR obteniendo anillos de aorta torácica para realizar estudios funcionales.

Se demostró la modificación de la respuesta contráctil a Ang II en ratas SHR en ausencia y presencia de CGP 42112A, HOE 140, Bk, CGP 42112A + HOE 140 y CGP 42112A + BK mediante la realización de Curvas Concentración Respuesta.

Se demostró funcionalmente que la activación simultánea del Heterodímero de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$  con CGP 42112A y HOE 140 no disminuye significativamente la respuesta contráctil a Ang II debido al bloqueo del receptor  $B_2$ .

La activación simultánea de los receptores  $AT_2$  y  $B_2$  por CGP42112A y Bk respectivamente disminuye la respuesta contráctil a Ang II.

La interacción de agonistas de  $AT_2$  (GCP 42112A) y Bk indica que el efecto vasodilatador está dado por la Bk.

## 9.0 PERSPECTIVAS

El mecanismo fisiopatológico de diversas enfermedades aún no está bien dilucidado debido a que hoy en día se sabe que existe la formación de heterodímeros de receptores, lo que conlleva a la convergencia de las vías de señalización, esto representa una estrategia como blanco terapéutico para el tratamiento de la hipertensión arterial u otras enfermedades cardiovasculares o renales.

El descubrimiento de la formación de homodímeros y/o heterodímeros deberá promover una nueva forma de aplicar y entender la farmacología.

## 10. REFERENCIAS

- 1.- Hipertensión Arterial en Adultos Mexicanos: importancia de mejorar el diagnóstico oportuno y control. (2012). En Encuesta Nacional de Salud Y Nutrición: evidencia para la política pública en salud. Recuperado de: <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/HypertensionArterialAdultos.pdf> , Consulta realizada 9 de Mayo de 2016.
- 2.- Hipertensión arterial. (s.f.). En Dirección de Promoción de la Salud y Control de Enfermedades No Transmisibles. Recuperado de: <http://www.msal.gob.ar/ent/index.php/informacion-para-ciudadanos/hipertension-arterial>, Consulta realizada 9 de Mayo de 2016.
- 3.- Wagner- Grau Patrick. (2010). Fisiopatología de la hipertensión arterial. Sociedad peruana de hipertensión arterial, 71(4).
- 4.- Pérez Díaz I., Hiriart M. (2006).Receptores para la Angiotensina II diferentes a los clásicos receptores membranales AT1 y AT2: características y su papel en el funcionamiento celular. 25(2): 55-60.
5. Abadir Peter M., Periasamy Ammasi. (2006). Angiotensin II Type 2 receptor-bradykinin B2 receptor functional Heterodimerization. Hypertension 48: 316-322.
- 6.- Texas Heart Institute. (2015). Anatomía del corazón y del aparato cardiovascular. Recuperado de: [http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy\\_Esp/anat1\\_sp.cfm](http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/anat1_sp.cfm), Consulta realizada 14 de Mayo de 2016.
- 7.- Tortora, G. (13ª Ed.).(2013). Principios de anatomía y fisiología. Madrid: Medica Panamericana.

- 8.- Ganong, W. (19a Ed.). (2004). Fisiología Medica. México: Manual Moderno.
- 9.- Welsch, U. (2ª Ed.).(2008). Histología. Madrid: Medica Panamericana.
- 10.- Escuela de Medicina, Departamento de anatomía, Pontificia Universidad católica de Chile (2012). Sistema circulatorio: aorta torácica, aorta abdominal y sistema de venas cavas. Recuperado de: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/Departamentos/Anatomia/SWCursos/fonoaudiologia/pdf/p2cir.pdf>, Consulta realizada 15 de Mayo de 2016.
- 11.- Silverthorn, D. (4a Ed.). (2009). Fisiología Humana un enfoque integrado. Buenos Aires: Medica Panamericana.
- 12.- Bader, M. (2010). Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone Systems: Targets for Pharmacological Therapy. The annual review of Pharmacology and Toxicology, 50,439-65.
- 13.- Campbell- Walsh.(9a Ed.) (2008). Urología. Buenos Aires: Medica Panamericana.
- 14.- Santeliz Contra, H; Romano Estrada L. (2008). El sistema renina-angiotensina-aldosterona y su papel funcional más allá del control de la presión arterial. Revista Mexicana de Cardiología, 19(1),21-29.
- 15.- Angiotensinogen Homo sapiens (human).(s.f.).En UniProtKB.org. Recuperado de: <http://www.uniprot.org/uniprot/P01019#function>, Consulta realizada 17 de Mayo de 2016.
- 16.- Angiotensinogen. (s.f.). En HUGO Gene Nomenclature Committe. Recuperado de: [http://www.genenames.org/cgi-bin/gene\\_symbol\\_report?hgnc\\_id=333](http://www.genenames.org/cgi-bin/gene_symbol_report?hgnc_id=333), Consulta realizada 17 de Mayo de 2016.

- 17.- Renin Homo sapiens (human). (s.f.). En UniProtKB.org. Recuperado de: <http://www.uniprot.org/uniprot/P00797#sequences>, Consulta realizada 17 de Mayo de 2016.
- 18.- Basso N, Terragno NA, (2001). History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension* 38 (6): 1246–9.
- 19.- Lezama, D. (2014). Determinación del efecto del[4-tert-butil-2,6-bis(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol] en la expresión de la enzima convertidora de angiotensina y enzima convertidora de angiotensina II en SHR. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
- 20.- Contreras, F; Terán, L. (2000). Aspectos funcionales del sistema renina angiotensina aldosterona y bloqueantes de los receptores AT1 de angiotensina II en Hipertensión Arterial. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, (19)2.
- 21.- Higuchi S, Ohtsu H. (2007). Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin. Sci.* 112 (8): 417–28.
- 22.- Angiotensin receptor I (s.f.). En OMIM.org. Recuperado de: <http://www.omim.org/entry/106165>, Consulta realizada 23 de Mayo de 2016.
- 23.- Angiotensin receptor II (s.f.). En OMIM.org. Recuperado de: <http://www.omim.org/entry/300034>, Consulta realizada 23 de Mayo de 2016.
- 24.- Gasparo M, Catt KJ, Inagami T,. (2000). International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptor. *Pharmacol Rev.* 52 (3).
- 25.- Sanmartin, F., Rodriguez A. (2010). Cininas. Recuperado de: <https://nonsomedicos.files.wordpress.com/2010/09/cininas.pdf>, Consulta realizada 27 de Mayo de 2016.

- 26.- Medina. (2013). Sistema Cinina Calicreina. Recuperado de: <https://bioquimicamedina.files.wordpress.com/2013/10/sistema-calicreina-cininas.pptx>, Consulta realizada 27 de Mayo de 2016.
27. - Campos de la Cabrera, J. (2011). La Estimulación del sistema Calicreina-Cinina con cloruro de potasio, reduce marcadores de fibrosis Renal en el modelo de proteinuria por sobrecarga de albumina. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile.
- 28.- Goodman. (12ª Ed.). (2012). Las bases de la farmacología terapéutica. España : Mc Graw Hill.
- 29.- Barber fox, M., Galvizu Diaz, K. (2010). Mecanismos fisiopatológicos del desbalance glomérulo-tubular en la Hipertensión Arterial. Rev. Cubana Invest Biomed. 29(4).
- 30.- Hernando Avendaño, L. (3ª Ed.). (2009) .Nefrología Clínica. España. Medica Panamericana 209.
- 31.- Perez, J., Castells, J. (2003). Identificación, síntesis y cribado biológico de nuevas cabezas de serie a través de una aproximación de diseño racional de fármacos para el antagonismo de bradicinina como estrategia terapéutica antiasmática. X Simposium Fundacio La Marato de TV3. Enfermedades Respiratorias Crónicas.
- 32.- Dendorfer A, Wolfrum S. (2001). Pathways of bradykinin degradation in blood and plasma of normotensive and hypertensive rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol.
- 33.- Bradykinin Receptor B1 (s.f.). En OMIM.org recuperado de <http://www.omim.org/entry/600337>, Consulta realizada 1de Junio de 2016.
- 34.- Bradykinin Receptor B2 (s.f.). En OMIM.org Recuperado de: <http://www.omim.org/entry/113503>, Consulta realizada 1de Junio de 2016.

- 35.- Lorenzo. P. y Moreno A. (18ª Ed.). (2008). Farmacología Básica y Clínica. Buenos Aires: Medica Panamericana
36. - Harsh. M. (6ª Ed.). (2012). Patología. Buenos Aires: Medica Panamericana 685, 686
37. - Hergueta G. (2ª Ed.). (2002).Guía de Hipertensión Arterial. Madrid: Capitel Ediciones. 234, 235
- 38.- Botey, A. y Boch,P. (2002). (2ª Ed.). Hipertensión Maligna Hipertensión, 12(5), 198-201.
- 39.- Porth Mattson C. (9ª Ed.). (2014). Fisiopatología Alteraciones de la Salud, conceptos básicos. Barcelona: Wolkers Kluwer 773- 779.
- 40.- Bellido Maicas C., Lázaro Fernández E. (2003). Etiología y Fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. Sociedad Castellana de Cardiología, 3(5), 141 – 160.
- 41.- Presión arterial alta (Hipertensión Arterial) (2014). Texas Heart Institute. Recuperado de: [http://www.texasheart.org/HIC/Topics\\_Esp/Cond/hbp\\_span.cfm](http://www.texasheart.org/HIC/Topics_Esp/Cond/hbp_span.cfm), Consulta realizada 4 de Junio de 2016.
- 42.- Signos y Síntomas de la Presión Arterial Alta (2011).National Heart, Lung, and Blood Institute. Recuperado de: <http://www.nhlbi.nih.gov/health-spanish/health-topics/temas/hbp/signs>, Consulta realizada 4 de Junio de 2016.
- 43.- Diagnóstico y Tratamiento de la Hipertensión Arterial. (2014). En Guía de Práctica Clínica. Recuperado de: [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/076-GCP\\_\\_HipertArterial1NA/HIPERTENSION\\_RR\\_CENETEC.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/076-GCP__HipertArterial1NA/HIPERTENSION_RR_CENETEC.pdf) , Consulta realizada 6 de Junio de 2016.



44.- Diagnóstico y tratamiento de la Hipertensión Arterial en el Primer Nivel de Atención Médica. (2011). En Guía de Referencia Rápida. Recuperado de: [http://www.saludbc.gob.mx/wp-content/uploads/2011/02/imss\\_076\\_08\\_grr.pdf](http://www.saludbc.gob.mx/wp-content/uploads/2011/02/imss_076_08_grr.pdf), Consulta realizada 6 de Junio de 2016.

45.- Hipertensión. (s.f.). En Pan American Health Organization. Recuperado de: <http://www.paho.org/hipertension/>, Consulta realizada 6 de Junio de 2016.

46.- De la Figueroa M., Vinyoles Bargalio E. (2006). Inhibidores de la Renina, Hipertensión 23(7), 216-22.

47.- Bustamante Novella G., (2008). Inhibidores de la Renina, Revista Peruana de Cardiología. 129- 14.

48.- Cammarata R., Ramones I., (2007). Rol Actual de los beta-bloqueadores en el tratamiento de la Hipertensión Arterial, Revista Latinoamericana de Hipertensión, 2(5), 140-146.

49.- Lopez Lopez R., (2001). Bloqueadores beta en el tratamiento de la hipertensión, Recuperado de: [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pidet\\_articulo=13023372&pidet\\_usuario=0&pidet\\_revista=4&fichero=4v20n11a13023372pdf001.pdf&ty=12&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pidet_articulo=13023372&pidet_usuario=0&pidet_revista=4&fichero=4v20n11a13023372pdf001.pdf&ty=12&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es), Consulta realizada 9 de Junio de 2016.

50.- Morales, Olivas F. (2008). Papel actual de los diuréticos en el tratamiento de la hipertensión arterial. Hipertensión y Riesgo Vascular, 25(5).

51.- Texas Heart Institute. (2014). Bloqueantes Cálcidos. Recuperado de: [http://www.texasheart.org/HIC/Topics\\_Esp/Meds/calcm\\_sp.cfm](http://www.texasheart.org/HIC/Topics_Esp/Meds/calcm_sp.cfm), Consulta realizada 9 de Junio de 2016.

52.- Prescripción Enfermera (s.f.).Fármacos indicados en la hipertensión arterial: vasodilatadores. Recuperado de: <http://www.prescripcionenfermera.com/apuntes/apuntes-de-farmacologia/tema-26-farmacos-indicados-en-la-hipertension-arterial-vasodilatadores>, consulta realizada 10 de Junio de 2016.

53.- Harvey R. (5ª Ed.). (2012). Farmacología. Barcelona Wolkers Kluwer Health.

54.- Reverte C., Moreno P. (1998). Hipertensión Arterial: actualización de su tratamiento. *Inf Ter Sist Nac Salud* 22(4) 81- 94.

55.- Tamargo, J., Caballero , R. (2006). Características farmacológicas de los ARA-II. *Rev Esp Cardiol Supl*.6(C ). 10-24.

56.- Fernández, O. (1995). Utilidad terapéutica de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. *Farm Hosp*. 19(1) 3–9.

57.- Giuseppe, M., Guy de Backer. (2007). Guías de práctica clínica para el tratamiento de la hipertensión arterial. *Rev Esp Cardiol*. 60(9). 1-89.

58.- Chaves Brenes L. (2013). Evidencia que soporta el uso de la terapia combinada en el tratamiento de la Hipertensión Arterial. *Costarricense de Cardiología* 15(1).

59.- Mancia G. Et, al. (2013).2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *Journal of Hypertension*.

60.- 2014 Cell Signaling Scitable by nature Education Recuperado de: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/cell-signaling-14047077>. Consulta realizada 12 de Junio del 2016

- 61.- Lullmann Heinz., Mohr Klaus. (2010). Farmacología texto y atlas Madrid España Medica Panamericana.
- 62.- Waldman Scott A., Terzic Andre. (2010). Farmacología y terapéutica principios para la práctica. México. Manual Moderno.
- 63.- Prinster, C. Steve, Hague Chris. (2005). Heterodimerization of G Protein – Coupled Receptors: Specificity and Functional Significance. Department of Pharmacology , Emory University School of Medicine. 57(3).
- 64.- Fuxe. K. Marcellino D. (2010). The changing world of G protein – coupled receptors: from monomers to dimers and receptor mosaics with allosteric receptor – receptor interactions. 30(5).
- 65.- Fuxe K., Borroto-Escuela DO. (2012). GPCR heteromers and their allosteric receptor – receptor interactions. Curr Med Chem. 19 (3).
- 66.- Fuxe K. Marcellino D. (2008). Heterodimers and Receptor Mosaics of Different Types of G- Protein – Coupled Receptors. Physiology 23.
- 67.- Rozenfeld R., Lakshmi A. (2010). Receptor heteromerization and drug Discovery. Trends Pharmacol Sci. 31(3).
- 68.- SE. Whitebread., V. Taylor., (1991). Radioiodinated CGP 42112A: a novel high affinity and highly selective ligand for the characterization of angiotensin AT2 receptors. 181(3).
- 69.- CGP 42112A. (2015). En perkinelmer.com Recuperado de: <http://www.perkinelmer.com/catalog/family/id/cgp%2042112a%20125i>, Consulta realizada 13 de Junio de 2016.

70.- CGP 4211. (s.f.). En [sigmaaldrich.co](http://www.sigmaaldrich.com) Recuperado de: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c160?lang=es&region=MX>, Consulta realizada 13 de Junio de 2016.

71.- F.J.Hock, K. Wirth., (1991). Hoe 140 a new potent and long acting bradykinin-antagonist: in vitro studies. *British Journal of Pharmacology* 102(3).

72.- HOE 140., (s.f.). En [sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com). Recuperado de: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/h157?lang=es&region=MX>, Consulta realizada 13 de Junio de 2016.

73.- Daniel L., Monte E., (1990). Hypertension in the Spontaneously Hypertensive Rat is linked to the Y Chromosome. *Hypertension* 16: 277-281.

74.- Meneses A., Hong E., (1998). Spontaneously Hypertensive Rats a model to identify drugs for treatment of learning disorders. *Hypertension* 31: 968-972.

75.- Marin Rafael., Alvarez R. (2008). Bloqueo del sistema renina angiotensina aldosterona en hipertensión arterial, diabetes y nefropatía. *Rev Esp Cardiol* 8(E).

76.- Ardaillou R. (1999). Angiotensin II Receptors. *JASN*. 11: s 30-9.

77.- Kirabo Annet., Sayeski P., (2010). Jack 2 Tyrosine Kinase: A potencial therapeutic target for AT1 receptor mediated cardiovascular disease. *Pharmaceuticals* 3(11): 3478 – 3493.

78.- Hines John., Herding J. (2001). Identification of angiotensin II type 2 (at2) receptor domains mediating high-affinity CGP 42112A binding and receptor activation. *298(2)*: 665 673.

- 79.- Bosnyak S., Jones ES. (2011). Relative affinity of angiotensin peptides and novel ligands at AT1 and AT2 receptors. Clin Sci. 121(7): 207 – 303.
- 80.- Namsolleck Pawel., Recarti C. (2014). AT2 receptor and tissue injury: Therapeutic implications. 16:416.
- 81.- Nouet S., Nahmias C. (2000). Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. 11(1): 1- 6.
- 82.- Vittone L., Mundilla C. (2008). Endotelio vascular e hipertensión. 1-21.
- 83.- Pescarmona G. (2010). Bradykinin Renin- angiotensin aldosterone system. En Pathway detail-flipper e nuvola Recuperado de: <http://flipper.diff.org/app/pathways/Bradykinin>, Consulta realizada 18 de Junio de 2016.
- 84.- Larsen T Brandon., X. Zhang David. (2007). Epoxyeicosatrienic Acids, TRP channels, and Intracellular Ca<sup>2+</sup> in the Vasculature. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.
- 85.- Faria Gabriel., Leite A. (2014). Cardiovascular effects of the Angiotensin type 2 receptor. 33(7).

## ANEXO

Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos de las curvas concentración respuesta a Angiotensina II

Fuente de Variación	% Total de Variación	Valor de P	Resumen del valor de P	Significancia
Interacción	5.527	0.1046	ns	No
Factor de Fila	22.46	< 0.0001	****	Si
Factor de Columna	10.76	< 0.0001	****	Si

Tabla de ANOVA	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interacción	1.247	25	0.04987	F (25, 384) = 1.386	P = 0.1046
Factor de Fila	5.068	5	1.014	F (5, 384) = 28.17	P < 0.0001
Factor de Columna	2.427	5	0.4855	F (5, 384) = 13.49	P < 0.0001
Residual	13.82	384	0.03598		

Tabla.- ANOVA de dos vías para las curvas concentración respuesta a Ang II

Comparaciones Múltiples Prueba de Turkey	Mean Diff.	95% CI of diff.	Significancia	Summary
-9				
SHR vs. BK	0.05805	-0.1468 to 0.2629	No	ns
SHR vs. CGP	0.07319	-0.1132 to 0.2595	No	ns
SHR vs. HOE	0.09350	-0.1645 to 0.3515	No	ns
SHR vs. CGP + BK	0.03086	-0.1740 to 0.2357	No	ns
SHR vs. CGP + HOE	0.05237	-0.2056 to 0.3104	No	ns

Tabla.- comparación múltiple de los diferentes grupos experimentales con el grupo control SHR a una concentración de Ang II  $1 \times 10^{-9}$  [M] (Prueba de Turkey).

-8				
SHR vs. BK	0.1030	-0.1018 to 0.3078	No	ns
SHR vs. CGP	0.1076	-0.07879 to 0.2939	No	ns
SHR vs. HOE	0.1420	-0.1160 to 0.4000	No	ns
SHR vs. CGP + BK	0.1199	-0.08491 to 0.3248	No	ns
SHR vs. CGP + HOE	0.1036	-0.1544 to 0.3616	No	ns

Tabla.- comparación múltiple de los diferentes grupos experimentales con el grupo control SHR a una concentración de Ang II  $1 \times 10^{-8}$  [M] (Prueba de Turkey).

-7					
SHR vs. BK		0.2266	0.02180 to 0.4315	Yes	*
SHR vs. CGP		0.2192	0.03280 to 0.4055	Yes	*
SHR vs. HOE		0.2198	-0.03820 to 0.4778	No	ns
SHR vs. CGP + BK		0.2282	0.02337 to 0.4331	Yes	*
SHR vs. CGP + HOE		0.2083	-0.04972 to 0.4663	No	ns

Tabla.- comparación múltiple de los diferentes grupos experimentales con el grupo control SHR a una concentración de Ang II  $1 \times 10^{-7}$  [M] (Prueba de Turkey).

-6					
SHR vs. BK		0.3159	0.1111 to 0.5208	Yes	***
SHR vs. CGP		0.3334	0.1470 to 0.5197	Yes	****
SHR vs. HOE		0.2081	-0.04986 to 0.4661	No	ns
SHR vs. CGP + BK		0.3388	0.1340 to 0.5437	Yes	****
SHR vs. CGP + HOE		0.2483	-0.009722 to 0.5063	No	ns

Tabla.- comparación múltiple de los diferentes grupos experimentales con el grupo control SHR a una concentración de Ang II  $1 \times 10^{-6}$  [M] (Prueba de Turkey).

-5					
SHR vs. BK		0.3839	0.1316 to 0.5413	Yes	****
SHR vs. CGP		0.2835	0.09714 to 0.4698	Yes	***
SHR vs. HOE		0.09027	-0.1677 to 0.3483	No	ns
SHR vs. CGP + BK		0.3248	0.1199 to 0.5296	Yes	****
SHR vs. CGP + HOE		0.1113	-0.1466 to 0.3642	No	ns

Tabla.- comparación múltiple de los diferentes grupos experimentales con el grupo control SHR a una concentración de Ang II  $1 \times 10^{-5}$  [M] (Prueba de Turkey).

-4					
SHR vs. BK		0.3839	0.1790 to 0.5887	Yes	****
SHR vs. CGP		0.2953	0.1090 to 0.4817	Yes	***
SHR vs. HOE		0.07207	-0.1859 to 0.3301	No	ns
SHR vs. CGP + BK		0.3690	0.1641 to 0.5738	Yes	****
SHR vs. CGP + HOE		0.1062	-0.1518 to 0.3642	No	ns

Tabla.- comparación múltiple de los diferentes grupos experimentales con el grupo control SHR a una concentración de Ang II  $1 \times 10^{-4}$  [M] (Prueba de Turkey).