



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“EFECTO DE LOS ALCALOIDES DE *Heimia salicifolia*
(HBK.) Link SOBRE LA PRESION ARTERIAL Y LA REACTIVIDAD
VASCULAR RENAL”

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

ELIZABETH ALEJANDRINA GUZMÁN HERNÁNDEZ

ASESORA: Dra. BEATRIZ VÁZQUEZ CRUZ



Tlalnepantla, Edo. de México 2005



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.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
RESUMEN.....	VI
1. ASPECTOS GENERALES DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	1
1.1. MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	2
CONTROL LOCAL.....	2
- AUTORREGULACIÓN MIÓGENA.....	2
- AUTORREGULACIÓN METABÓLICA.....	2
- REGULACIÓN HUMORAL.....	3
SUSTANCIAS QUE PRODUCEN VASOCONSTRICCIÓN.....	3
A) NORADRENALINA Y ADRENALINA.....	3
B) ANGIOTENSINA II.....	4
C) VASOPRESINA.....	6
D) ENDOTELINA.....	7
SUSTANCIAS QUE PRODUCEN VASORRELAJACIÓN.....	8
A) ÓXIDO NÍTRICO.....	8
B) BRADICININA.....	9
C) SEROTONINA.....	10
D) HISTAMINA.....	10
E) PROSTACICLINA.....	11
F) ACETILCOLINA.....	12
G) FACTOR HIPERPOLARIZANTE.....	13
1.2. ENDOTELIO VASCULAR Y LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	13
1.3. REGULACIÓN NERVIOSA DEL FLUJO SANGUÍNEO Y DE LA PRESIÓN	
ARTERIAL.....	15
1.3.1. REFLEJO BARORRECEPTOR.....	16
1.3.2. REFLEJO QUIMIORRECEPTOR.....	18
2.0 HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	19
2.1. CLASIFICACIÓN.....	19
2.2. HIPERTENSIÓN ESENCIAL.....	20
2.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	21
2.4. ESTADÍSTICAS DE HIPERTENSIÓN EN MÉXICO.....	23
2.5. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL E HIPERTENSIÓN.....	24
2.6. PAPEL DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA	
ALDOSTERONA EN LA HIPERTENSIÓN.....	25
2.7. FARMACOTERAPIA DE LA HIPERTENSIÓN.....	27

3.0. MEDICINA TRADICIONAL.....	30
- 3.1. CASIFICACIÓN TAXÒMICA DE <i>Heimia salicifolia</i>	32
- 3.2. ETNOBOTÀNICA.....	34
- FARMACOLÒGICOS.....	37
4.0. JUSTIFICACIÓN.....	38
5.0. OBJETIVO GENERAL.....	39
6.0. MATERIAL Y MÉTODOS.....	40
6.1. FÁRMACOS.....	40
6.2. MATERIAL BIOLÒGICO.....	41
6.3. OBTENCIÓN DE LA PLANTA.....	41
6.4. AISLAMIENTO DE LOS ALCALOIDES.....	41
6.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	42
6.5.1. CURVAS DOSIS-RESPUESTA A ANGIOTENSINA II.....	43
6.5.2. CURVA DOSIS-RESPUESTA A CADA UNO DE IOS ALCALOIDES.....	43
6.5.3. CURVAS DOSIS-RESPUESTA A ANGIOTENSINA II EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE LOS ALCALOIDES.....	43
6.5.4. ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD VASCULAR RENAL.....	43
6.5.4.1. CURVA DOSIS-RESPUESTA A ACETILCOLINA EN EL RIÑÓN PRECONTRAIDO CON FEN.....	44
6.5.4.2. CURVA DOSIS-RESPUESTA AL ALCALOIDE 3 EN EL RIÑÓN PRECONTRAIDO CON FEN.....	45
6.5.4.3. CURVA DOSIS-RESPUESTA A ACETILCOLINA EN EL RIÑÓN PRECONTRAIDO CON L-NAME.....	45
6.5.4.4. CURVA DOSIS-RESPUESTA AL ALCALOIDE 3 EN EL RIÑÓN PRECONTRAIDO CON L-NAME.....	45
6.5.4.5. CURVA DOSIS-RESPUESTA A ACETILCOLINA EN EL RIÑÓN PRECONTRAIDO CON L-NAME MÁS ATROPINA.....	45
6.5.4.6. CURVA DOSIS-RESPUESTA EL ALCALOIDE 3 EN EL RINÓN PRECONTRAIDO CON L-NAME MÁS ATROPINA.....	46
6.5.4.7. TOXICIDAD AGUDA.....	46
6.5.4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	46
7.0. RESULTADOS.....	47
7.1. IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA.....	47
7.2. ALCALOIDES AISLADOS.....	47
7.3. EFECTO DE LA ANGIOTENSINA II SOBRE LA PRESIÓN	

ARTERIAL.....	48
7.4. EFECTO DE LA MEZCLA DE LOS ALCALOIDES AISLADOS SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	49
7.5. EFECTO DE LA MEZCLA DE ALCALOIDES EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE ANG II.....	50
7.6. EFECTO DE LOS ALCALOIDES SEPARADOS SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	51
7.7. EFECTO DE LA ACETILCOLINA SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR RENAL.....	59
7.8. EFECTO DEL ALCALOIDE 3 SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR RENAL.....	60
7.9. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR A ACETILCOLINA.....	61
7.10. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR AL ALCALOIDE 3.....	62
7.11. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS Y EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR A ACETILCOLINA.....	63
7.12. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS Y EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS SOBRE LA RESPUESTA AL ALCALOIDE 3.....	64
7.13. TOXICIDAD AGUDA.....	65
8.0. DISCUSIÓN.....	66
9.0. CONCLUSIÓN.....	70
10.0. LITERATURA CITADA.....	71

FIGURAS

Fig.1.	Sistema renina angiotensina y sus principales componentes que intervienen en la regulación de la presión arterial.....	5
Fig.2.	Regulación, formación y secreción de proteínas relacionadas con la endotelina -1 en las células endoteliales	7
Fig.3.	Vía propuesta para la activación de la Nos endotelial por histamina.....	11
Fig.4.	Generación de vasoconstrictores y vasodilatadores a través del endotelio.....	14
Fig.5.	Distribución de los barorreceptores.....	17
Fig.6.	<i>Heimia salicifolia</i>	32
Fig.7.	Mapa de la distribución de <i>H. salicifolia</i> en la república mexicana.....	33
Fig.8.	Estructura de los alcaloides de <i>H. salicifolia</i> en posición cis-quinolizidina.....	35
Fig.9.	Estructura de los alcaloides de <i>H. salicifolia</i> en posición trans-quinolizidina.....	36
Fig.10.	Modelo experimental de rata normotensa anestesiada.....	42
Fig.11.	Sistema Langendorff. Para el estudio de la reactividad vascular en el riñón de rata aislado perfundido con solución Krebs.....	44
Fig.12.	Separación cromatográfica del extracto clorofórmico de <i>H. salicifolia</i> con la mezcla cloroformo-metanol (3:2).....	47
Fig.13.	Curva dosis-respuesta Ang II en ratas normotensas.....	48
Fig.14.	Efecto de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados de <i>Heimia salicifolia</i>	49
Fig.15.	Curva dosis-respuesta a Ang II en ausencia y presencia de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados.....	50
Fig.16.	Efecto del alcaloide 1(R.f.=0.92) sobre la presión arterial de ratas normotesas.....	51
Fig.17.	Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 1.....	52
Fig.18.	Efecto del alcaloide 2 (R.f.=0.87) sobre la presión arterial de ratas normotensas.	53
Fig.19.	Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 2.....	54
Fig.20.	Efecto del alcaloide 3 (R.f.=0.55) sobre la presión arterial de ratas normotensas.....	55
Fig.21.	Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 3.....	56
Fig.22.	Efecto del alcaloide 4 (R.f.=0.35) sobre la presión arterial en ratas normotensas.....	57
Fig.23.	Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 4.....	58
Fig.24.	Efecto de la acetilcolina sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de FEN (10^{-5} M). n=5.....	59
Fig.25.	Efecto del alcaloide 3 sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de FEN (10^{-5} M) . n=5.....	60

Fig.26.	Efecto de la acetilcolina sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de L-NAME (2×10^{-4} M). n=5.....	61
Fig.27.	Efecto del alcaloide 3 sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de L-NAME (2×10^{-4} M). n=5.....	62
Fig.28.	Efecto de la inhibición de la NOS y el bloqueo de receptores muscarínicos sobre la respuesta vascular a acetilcolina.....	63
Fig.29.	Efecto de la inhibición de la NOS y el bloqueo de receptores muscarínicos sobre la respuesta vascular a al alcaloide 3.....	64

TABLAS

Tabla.1.	Principales alcaloides de tipo cis-quinolizidina.....	35
Tabla.2.	Principales alcaloides de tipo trans-quinolizidina.....	36
Tabla. 3.	Usos medicinales de <i>H. salicifolia</i>	34
Tabla.4.	Rf de los alcaloides de <i>H. salicifolia</i> (cloroformo-metanol 3:2).....	47
Tabla.5.	Toxicidad aguda de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados de <i>H. salicifolia</i> en ratón.	65

RESUMEN

En estudios preliminares de los extractos acuoso y metanólico de las hojas de *Heimia salicifolia* (*Lythraceae*) observó hipotensión en la rata anestesiada. Por lo que el objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de los alcaloides aislados de las hojas de *Heimia salicifolia* sobre la presión arterial y la reactividad vascular renal. Mediante cromatografía en columna y capa fina (sílica gel G, mezcla cloroformo-metanol 3:2) se aislaron 4 alcaloides (AL) cuyo Rf fue: AL-1 0.92, AL- 2 0.87, AL-3 0.55, y AL-4 0.35. Se registró la presión arterial (PA) de la arteria carótida de ratas Wistar, macho (300-350 g) anestesiadas con pentobarbital sódico (45 mg/kg), la administración de los alcaloides y de angiotensina II (Ang II) se hizo a través de la vena femoral. Se realizaron curvas dosis respuesta a los AL observándose disminución de la PA de 20 ± 7 mm Hg con la mezcla de alcaloides, y con AL-1 de 4.3 ± 1.3 mm Hg, AL-2 de 26 ± 2 mm Hg y AL-3 de 27 ± 4 mm Hg dependiente de la dosis. La curva dosis respuesta a Ang II (25 -125 ng/kg) en presencia de la mezcla de alcaloides y de cada uno de ellos (dosis 2 mg/kg), fue desplazada hacia la derecha. AL-2 y AL-3 disminuyeron la respuesta presora máxima a Ang II en 32 y 59.6%, respectivamente. En los estudios de reactividad vascular en el riñón aislado perfundido con solución Krebs con fenilefrina 10^{-5} M aumentó la presión de perfusión de 52 ± 2.2 mm Hg a 88 ± 1.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta a acetilcolina de 0.04 a 0.3 μ g y se observó una disminución de la presión de perfusión de 27 ± 2 mm Hg con 0.3 μ g de Ach. Posteriormente se realizó una curva dosis respuesta a AL-3 (30, 50, 70, 90, 120 y 150 μ g) observándose un decremento máximo de la presión de perfusión de 23 ± 2 mm Hg. En otra serie experimental se perfundió L-NAME (2×10^{-4} M) en donde la presión basal de perfusión fue de 52 ± 2.2 mm Hg; y aumentó a 87 ± 3.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta a acetilcolina de 0.04 a 0.3 μ g de Ach y se observó una disminución de la presión de 16 ± 0.8 mm Hg con 0.3 μ g de Ach. Posteriormente al realizar una curva dosis respuesta a AL-3 (30, 50, 70, 90, 120 y 150 μ g) se observó un decremento máximo de la presión de perfusión de 14 ± 3 mm Hg. En otra serie experimental se perfundió L-NAME (2×10^{-4} M) más Atropina (10^{-7} M); la presión basal de perfusión fue de 50 ± 2.2 mm Hg; aumentó a 84 ± 3.2 mm Hg. En

estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta a acetilcolina de 0.04 a 0.3 μ g y se observó una disminución de 2.8 ± 1.2 mm Hg con 0.3 μ g de Ach. Posteriormente al realizar una curva dosis respuesta a AL-3 (30, 50, 70, 90, 120 y 150 μ g) se observó un decremento máximo de la presión de perfusión de 3 ± 0.8 mm Hg.

De los 4 alcaloides aislados, el AL 3 mostró el efecto hipotensor, antagonismo contra Ang II, así como el efecto vasodilatador que depende de la liberación de NO y de su unión a receptores colinérgicos muscarínicos.

Con el análisis de estos resultados, se concluye que *Heimia salicifolia* contiene por lo menos, un alcaloide quinolizidínico que potencialmente puede ser utilizado en el tratamiento de la hipertensión.

INTRODUCCIÓN

1. ASPECTOS GENERALES DE LA PRESIÓN ARTERIAL

PRESIÓN ARTERIAL.

La presión sanguínea o arterial (PA) es la fuerza ejercida por la sangre contra cualquier área de la pared vascular, y corresponde al producto del gasto cardiaco (GC) por la resistencia vascular periférica total (RTP) (Tresguerres, 1999). Su expresión matemática es: $PA = GC \times RTP$ esta relación indica que cualquier factor que modifique el GC o la RTP modificará la PA. El gasto cardiaco está determinado por varios factores, entre ellos están: las propiedades contráctiles del corazón, la frecuencia y el ritmo cardiaco, la precarga, la actividad del sistema nervioso autónomo y la integridad funcional de las válvulas cardiacas, la precarga esta determinada por el volumen intravascular, el tono y la capacidad venosa. La RTP es la fuerza que se opone al flujo sanguíneo y depende del volumen sanguíneo y del diámetro de la arteria, tiene una relación inversa con la cuarta potencia del radio de la luz del vaso (Crawford, 2002).

El registro de la presión arterial se conforma de las presiones sistólica y diastólica. La presión sistólica o máxima (PAS), corresponde a la fuerza ejercida por la sangre contra la pared vascular cuando es impulsada por el corazón durante la sístole, y la presión diastólica o mínima (PAD) que corresponde a la fuerza ejercida por la sangre contra la pared de los vasos durante la diástole ventricular o estado de relajación del corazón (Guillén, 2002).

La presión sistólica promedio de un adulto joven y sano es de 120 mm Hg y la presión diastólica es de 80 mm Hg (120/80). La PA no se mantiene continua a lo largo del día, ya que se van produciendo aumentos y descensos, dependiendo de la actividad que se realice y / o del estado afectivo en que nos encontremos (Costanzo, 2000), sin embargo existen mecanismos de control que mantienen los valores de la PA en intervalos que se consideran normales.

1.1. MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La PA normal se conserva así por varios mecanismos que interaccionan y actúan sobre el GC y la RTP; estos mecanismos se pueden clasificar por su rapidez de acción en mecanismos a corto plazo y a largo plazo. Los mecanismos que controlan la PA a corto plazo son locales y centrales a través del sistema nervioso central (SNC). En los mecanismos de control a largo plazo intervienen el riñón y el sistema renina angiotensina (SRA).

A) CONTROL LOCAL: participa en todos aquellos órganos y tejidos cuya perfusión sanguínea tiene como fin primordial el aporte de oxígeno y nutrientes. Los mecanismos locales, involucran la autorregulación miógena, metabólica, humoral y mecanismos especiales en los cuales interviene directamente el endotelio vascular mediante la producción de óxido nítrico y endotelinas (Furchgott y Zawadzki, 1980. Tolins y col., 1991).

Autorregulación miógena. La mayor parte de los lechos vasculares, mantienen constante su flujo sanguíneo modificando su resistencia; cuando aumenta la PA, se produce un aumento de su flujo sanguíneo, lo cual hace que el vaso se distienda, para prevenir la sobredistensión del vaso sus fibras musculares se contraen.

Autorregulación metabólica. El flujo sanguíneo se modifica por la falta o el exceso de O₂. Cuando el flujo disminuye, también disminuye el abasto de O₂ acumulándose metabolitos que producen vasodilatación y disminución de la PA, los metabolitos acumulados pueden ser bióxido de carbono (CO₂), H⁺, adenosina y ácido láctico. Cuando aumenta la PA, el exceso de flujo aporta demasiado O₂ y nutrientes, los cuales hacen que los vasos sanguíneos se constriñan y que el flujo retorne casi a lo normal a pesar de la PA aumentada.

Regulación humoral. Intervienen varias hormonas y péptidos, sus efectos son A) Vasoconstrictores o B) Vasodilatadores. Dentro de los compuestos vasoconstrictores más importantes están: noradrenalina, adrenalina, Ang II, endotelinas, vasopresina (AVP) y Tromboxano (A_2). A pesar de que estos compuestos son químicamente diferentes, actúan a través de sus receptores específicos, tienen un mecanismo común a través de la activación de la fosfolipasa C (PLC) y de la síntesis del trifosfato de inositol (IP_3) para producir la vasoconstricción.

SUSTANCIAS QUE PRODUCEN VASOCONSTRICCIÓN

A) NORADRENALINA Y ADRENALINA. También llamadas catecolaminas, son los principales mediadores de la actividad del sistema nervioso simpático y desempeñan un papel crucial en el control inmediato de la presión arterial (Hoffman, 2001).

Bajo condiciones de estimulación simpática (durante la reacción de pelea o huida, por ejemplo), se produce aumento de la frecuencia cardíaca así como de la contractilidad miocárdica produciendo vasoconstricción con el consecuente aumento de la PA. Los nervios simpáticos de la médula suprarrenal liberan al torrente sanguíneo noradrenalina y adrenalina. Estos efectos se explican por la unión de las catecolaminas con sus receptores localizados en la membrana de las células efectoras.

Los receptores, conocidos como adrenérgicos, son proteínas con características estructurales particulares y se dividen en dos tipos principales: α y β . Los receptores α -adrenérgicos se dividen a su vez en los subtipos α_1 y α_2 , mientras que los receptores β se dividen en los subtipos β_1 , β_2 y β_3 (Bylund y col., 1994).

Los efectos de estas catecolaminas son mediados a través de receptores α_1 en los vasos y receptores β_1 en el corazón, ambos grupos de receptores están acoplados a proteínas G. Los receptores α_1 se acoplan a proteínas Gq los cuales estimulan a la PLC con la formación de IP_3 y el consecuente aumento de calcio intracelular; los receptores β_1 están acoplados a proteínas Gs las cuales estimulan la síntesis de AMPc y estimulan la activación de los canales de calcio sensibles al voltaje en la membrana plasmática del músculo estriado y cardíaco (Tausing y Gilman, 1995. Brown y Birnbaumer, 1988).

B) ANGIOTENSINA II. La Ang II es una de las sustancias vasoconstrictoras más potentes; actúa simultáneamente sobre todas las arteriolas del organismo, aumentando la RPT. Debido a estos efectos directos sobre el sistema cardiovascular (SCV) y a sus efectos sobre la médula suprarrenal y sobre el riñón desempeña un papel muy importante en la regulación de la PA. Sus efectos son mediados por receptores AT_1 acoplados a proteínas Gq que estimulan a la PLC con incremento de la síntesis de IP_3 y aumento de calcio (Timmermans y col., 1993). La Ang II forma parte del sistema renina -angiotensina aldosterona (SRA-A) que constituye uno de los principales sistemas que intervienen en la regulación de la presión arterial sistémica, en el equilibrio del sodio plasmático y el flujo sanguíneo renal.

La renina es una enzima proteolítica que se produce y almacena en los gránulos de las células yuxtaglomerulares, que se encuentran rodeando a las arteriolas de los glomérulos corticales.

La renina es sintetizada como un precursor (prepro renina) y se convierte en su forma activa en el hígado. En el plasma, la renina actúa sobre su sustrato: el Angiotensinógeno (Alfa2 globulina), producido en el hígado. La renina rompe la unión Fen-His y provoca la liberación de un decapeptido denominado Angiotensina I (Ang I), que es básicamente inactiva y su actividad biológica es el resultado de su conversión en un octapeptido llamado Angiotensina II (Ang II), que es el precursor más potente elaborado por el organismo por medio de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (Fig.1) (Ibarra y Pedraza, 1993)

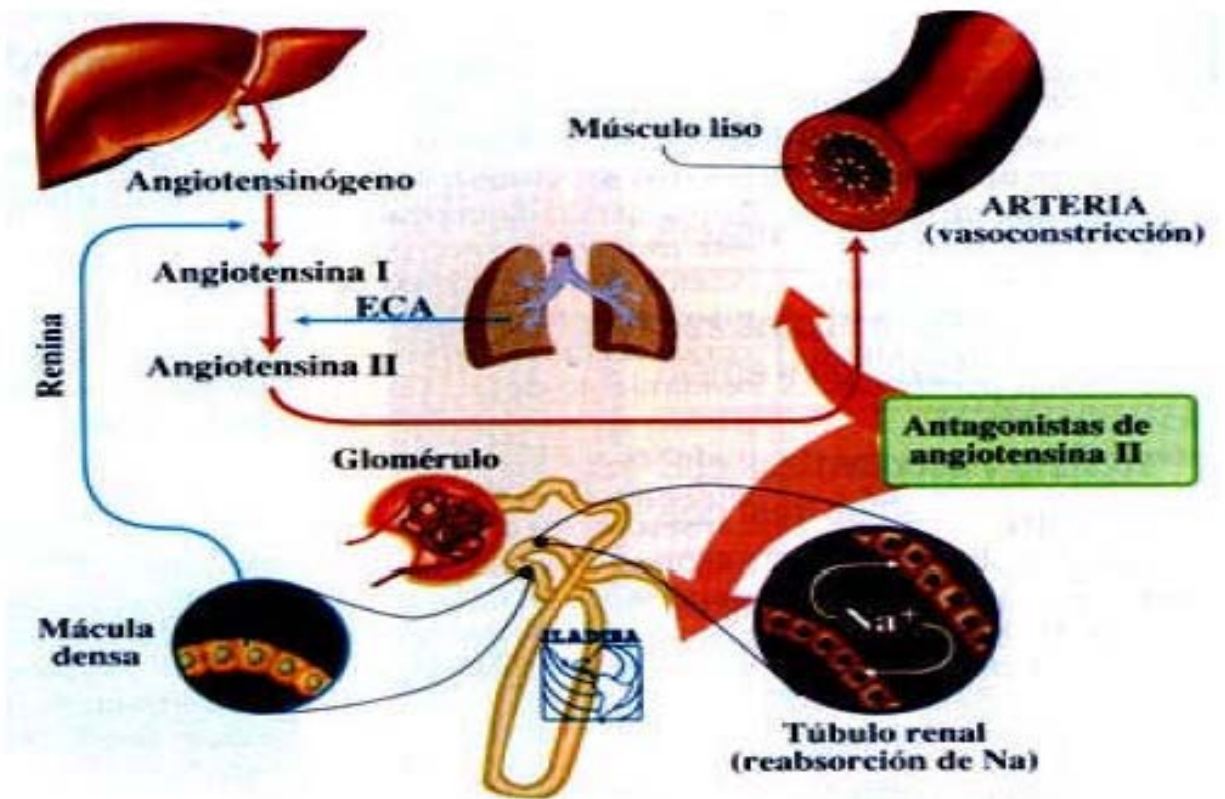


Figura 1. Sistema renina angiotensina y sus principales componentes que intervienen en la regulación de la presión arterial. ECA: Enzima convertidora de angiotensina.

Los efectos de la Ang II incluyen vasoconstricción, incremento de la transmisión adrenérgica simpática, acciones mitogénicas y tróficas en la vasculatura, así como estimulación de la liberación de vasopresina, catecolaminas y aldosterona de la hipófisis, la médula y la corteza suprarrenal, respectivamente (Saavedra, 1999). Debido a esta última acción, la Ang II tiene también efectos antidiuréticos. Por la combinación de estas acciones, la Ang II participa de manera importante en la regulación de la presión arterial, del volumen de líquido extracelular, de la función cerebral, y en el control del crecimiento celular (Barnes et al., 1992).

La disponibilidad de ligandos peptídicos y no peptídicos permitió la caracterización de por lo menos dos tipos de receptores para la Ang II, denominados AT₁ y AT₂. Las principales acciones de la Ang II se explican fundamentalmente por su interacción con los receptores AT₁ (Saavedra, 1999), ya que este receptor regula casi todos los efectos fisiológicos conocidos de la Ang II en el sistema nervioso central y periférico. La estimulación del receptor AT₁ en los riñones produce retención de sodio,

vasoconstricción y decremento de la tasa de filtración glomerular (Häuser et al., 1998; Armando et al., 2002), producción y liberación de aldosterona, hipertrofia miocárdica, proliferación del músculo liso de la pared arterial, reabsorción de sodio por los túbulos renales, aumento de la actividad noradrenérgica periférica, liberación de vasopresina, estimulación de la actividad nerviosa simpática. Por otro lado, el receptor AT_2 desempeña un papel en las etapas tempranas del desarrollo dado que su expresión es elevada únicamente en la vida fetal o neonatal temprana (Griendling et al., 1996), así mismo estimula la apoptosis, deprime la actividad proliferativa, estimula la neogénesis endotelial vascular y provoca vasodilatación (Roselli, 1999).

C) VASOPRESINA. También llamada hormona antidiurética (ADH), se forma en el hipotálamo, es transportada por el centro de los axones nerviosos hasta la glándula hipófisis, de donde se secreta hacia la sangre. Su liberación por la neurohipófisis está regulada fundamentalmente por los cambios de osmolaridad y volumen sanguíneo.

Los receptores de vasopresina se dividen en V1 y V2. Los receptores V1 tienen subtipos los cuales se encuentran denominados según su localización, V1a (vasculares/hepáticos) y V1b (hipófisis anterior). Estos al igual que los receptores AT_1 de angiotensina II, y los alfa adrenérgicos se acoplan con la vía de la proteína Gs, la cual es un subtipo de proteínas G que activan a la fosfolipasa C específica para fosfatidilinositol bifosfato (Thibonnier y Conarty, 1998).

En las membranas plasmáticas de las células del músculo liso, en las paredes de los vasos sanguíneos y de otros tejidos se localizan los receptores V1. Los receptores V1b, son también denominados V3, en donde el calcio, se comporta como segundo mensajero. La estimulación de los receptores V1 provoca vasoconstricción, activación plaquetaria, glicogenólisis y aumento de la hormona adrenocorticotrópica. En contraste, los receptores V2 son encontrados en segmentos distales de la nefrona (asa ascendente de Henle), que provoca estimulación de la adenilciclase por la vía de la proteína Gs e incrementa la producción del segundo mensajero AMPc y la activación de la proteína-quinasa A, ésta fosforila proteínas de membrana, aumentando la permeabilidad de la membrana luminal al agua (Tsuneyoshi et al., 2001).

D) ENDOTELINA. Es un péptido de 21 aminoácidos producido por las células endoteliales en respuesta a la estimulación por diversas sustancias incluyendo la trombina, factor B transformador del crecimiento, interleucina 1, epinefrina, Ang II, arginina, vasopresina (Bermudez et al., 2000) (Fig.2). Tres isoformas (ET 1, ET-2 Y ET-3) constituyen la superfamilia de las endotelinas (ET). La célula endotelial puede producir solo ET-1 (Meaney, 1999). Su mecanismo de acción se explica por su unión a receptores específicos de membrana, se han descrito dos clases de receptores, el tipo A, que produce vasoconstricción, broncoconstricción transitoria y agregación plaquetaria. Mientras que el de tipo B se localiza principalmente en las células endoteliales en donde libera NO y PGI₂. El complejo endotelina-receptor activa la fosfolipasa C con liberación de fosfatos de inositol y diacilglicerol; promoviendo la salida de calcio hacia el citosol (Simonson et al., 1992) y con ello produce la vasoconstricción sistémica, disminución del flujo renal y filtrado glomerular, aumento de la presión intraglomerular y proliferación mesangial (Abid y Akcas, 2000).

Figura 2. Regulación, formación y secreción de proteínas relacionadas con la Endotelina-1 en las células endoteliales

SUSTANCIAS QUE PRODUCEN VASORRELAJACIÓN

A) ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico (NO) se sintetiza en las células endoteliales por acción de la enzima sintasa de óxido nítrico, dependiente de calcio y calmodulina. Esta enzima utiliza L-arginina, Nicotinamida adenina dinucleotidofosfato (NADPH) y oxígeno (O₂) como sustratos. Flavin adenina dinucleótido (FAD), Flavin mononucleótido (FMN), grupo hemo y Tetrahidrobiopterina (TBH) como cofactores y los productos que se obtienen son además de NO, L- citrulina y agua (Vázquez, 2001). Actualmente se conocen tres isoformas: la endotelial, (NOSe), la inducible, (NOSi), y la neuronal (NOSn). Estas isoformas son hemoproteínas que requieren la presencia de diferentes cofactores (FAD, FMN, NADPH, TBH). Las isoformas NOSn y NOSe son constitutivas en aquellos tejidos donde se expresan y el NO es liberado en concentraciones pequeñas y participa en procesos fisiológicos o reguladores. En el caso de la NOSn se expresa en diversos tejidos incluyendo el SNC, ganglios simpáticos, células nerviosas no adrenérgicas, no colinérgicas, mácula densa del riñón e islotes pancreáticos. La NOSi es inducible y se expresa en respuesta a determinados estímulos proinflamatorios y el NO se libera en grandes cantidades participando en procesos inmunes, daño o toxicidad celular (Fujiwara, 2000). El mecanismo fisiológico que estimula la síntesis basal del NO es el flujo sanguíneo pulsátil a lo largo de las células endoteliales y el aumento de la presión arterial. El NO formado difunde al músculo liso vascular (Fig.2) donde activa a la enzima guanidilciclase (GC) y esta produce el aumento intracelular de monofosfato de guanidina cíclico (GMPc), que produce relajación del tejido muscular.

El NO al unirse al grupo hemo de la guanilato ciclase estimula su actividad incrementando la concentración intracelular de GMPc en el músculo liso vascular; el aumento de GMPc disminuye la concentración intracelular de calcio libre y como la contracción requiere Ca⁺², la fuerza de contracción disminuye (Zalba et al., 2000).

Los estímulos que liberan NO son muy variados e incluyen factores físicos, como las fuerzas de cizallamiento, o la presión transmural, de tipo humoral como la acetilcolina, la bradiquinina, las catecolaminas, la angiotensina II, la endotelina, la vasopresina, la

trombina, el adenosín trifosfato, la sustancia P, el ácido araquidónico, la histamina. Por tanto, el NO actúa como mediador local de los llamados vasodilatadores dependiente de endotelio, como la acetilcolina y la bradicinina.

El NO es un factor de acción paracrina que realiza múltiples funciones dependiendo del órgano y la célula diana sobre la que actúa. El principal mediador celular de las acciones del NO es el GMP cíclico. Gracias a su capacidad de alterar la actividad de enzimas que contienen hierro, el NO es capaz de modificar la actividad de la cicloxigenasa y el citocromo P450 y por tanto la producción de factores vasoactivos derivados del ácido araquidónico, que pueden mediar sus acciones. Además, el NO es un potente agente bactericida y tumoricida, participando en las reacciones de inmunidad no específica. Este efecto está relacionado con su capacidad de interactuar con proteínas con grupo hemo alterando enzimas clave de la cadena respiratoria y de la síntesis de ADN. Estas acciones están mediadas por mecanismos independientes de GMP cíclico (Alcázar, 2003)

B) BRADICININA

La BK es un péptido que produce potente vasodilatación arteriolar y aumento de la permeabilidad capilar. La BK es un nonapéptido liberado de una molécula precursora, el cininógeno de alto peso molecular el cual es una globulina α_2 . Por acción de la calicreína activada se libera la calidina se forma la BK que es inactivada por una carboxipeptidasa o por la ECA. Las cininas plasmáticas (BK y calidina) producen vasodilatación, su potencia es 10 veces mayor que la histamina, administradas por vía intravenosa o infusión continua producen siempre vasodepresión, ocasionan hiperemia en la zona con mayor riego y cefalalgia pulsátil. También dilatan lechos vasculares viscerales, corazón y riñones. Algunos de los efectos directos de las cininas son potenciados por la liberación de histamina de las células cebadas. La vasodilatación sistémica inducida por cininas disminuye las presiones sistólica y diastólica, efectos mediados a través de óxido nítrico producido en las células endoteliales (Palmer y col., 1992). En vasos con el endotelio dañado, la BK produce vasoconstrcción. Las cininas probablemente intervienen poco en la regulación de la PA normal, pero tienen función

reguladora en algunos estados hipertensivos, como en la hipertensión producida por mineralocorticoides, y en la hipertensión renovascular (Madeddu, 1993). Las cininas regulan el volumen y la composición de orina, intensifican la corriente sanguínea por el riñón y el transporte electrogénico de Cl^- en el túbulo colector, (Madeddu, 1993). Se conocen por lo menos dos receptores a BK, B_1 y B_2 . (Regoli y Barabé, 1980) siendo el receptor B_2 el más estudiado, éste se une a la BK y a la calidina, se encuentra en casi todos los tejidos normales, los receptores B_2 median casi todos los efectos de la BK, en ausencia de inflamación. Se ha demostrado que la BK activa a proteincinasas dependientes e independientes de calcio. La estimulación de la PLA_2 libera AA, lo cual lleva a la formación de PGs.

C) SEROTONINA

Se encuentra en concentraciones elevadas en tejido cromafín de intestino y en plaquetas. Los efectos de la serotonina pueden ser de vasoconstricción o de vasodilatación dependiendo de la situación y del tejido en cuestión, no se conoce su participación exacta en la regulación de la PA.

D) HISTAMINA

La histamina es una amina biogénica que está compuesta por un anillo imidazol y un grupo amino unidos por dos grupos metileno. Se produce principalmente en: basófilo (sangre), célula cebada (tisular), mucosa gástrica, epidermis y encéfalo (Kaibuchi, 1999). La histamina ejerce sus acciones biológicas uniéndose a receptores celulares específicos, localizados en la superficie de la membrana celular. Actualmente se han identificado tres clases de receptores diferentes llamados H_1 , H_2 y H_3 . Los receptores H_1 están presentes en las células endoteliales y en el músculo liso, (Fig.3) se encuentran acoplados a fosfolipasa C y su activación aumenta el Inositol trifosfato, el diacilglicerol y el calcio intracelular, activación de la AMPK, y AMPK fosforila la NOS endotelial y esto junto con los niveles aumentados de calcio, activa la NOS para producir NO (Thors et al., 2004). mientras que la activación de los receptores H_2 , presentes en la mucosa gástrica, las células miocárdicas y algunas células inmunes;

aumenta el AMP cíclico y se encuentran acoplados a la adenil ciclasa. La activación de los receptores H_3 disminuye la entrada de calcio a la célula en las terminaciones nerviosas. La histamina dilata los vasos sanguíneos más delgados, debido a que es una consecuencia de la salida de proteínas plasmáticas y líquido hacia los espacios extracelulares, incremento del flujo de linfa y su contenido proteínico con lo cual hay hiperemia, disminución de la resistencia vascular periférica total e hipotensión arterial, además del aumento de la permeabilidad capilar.

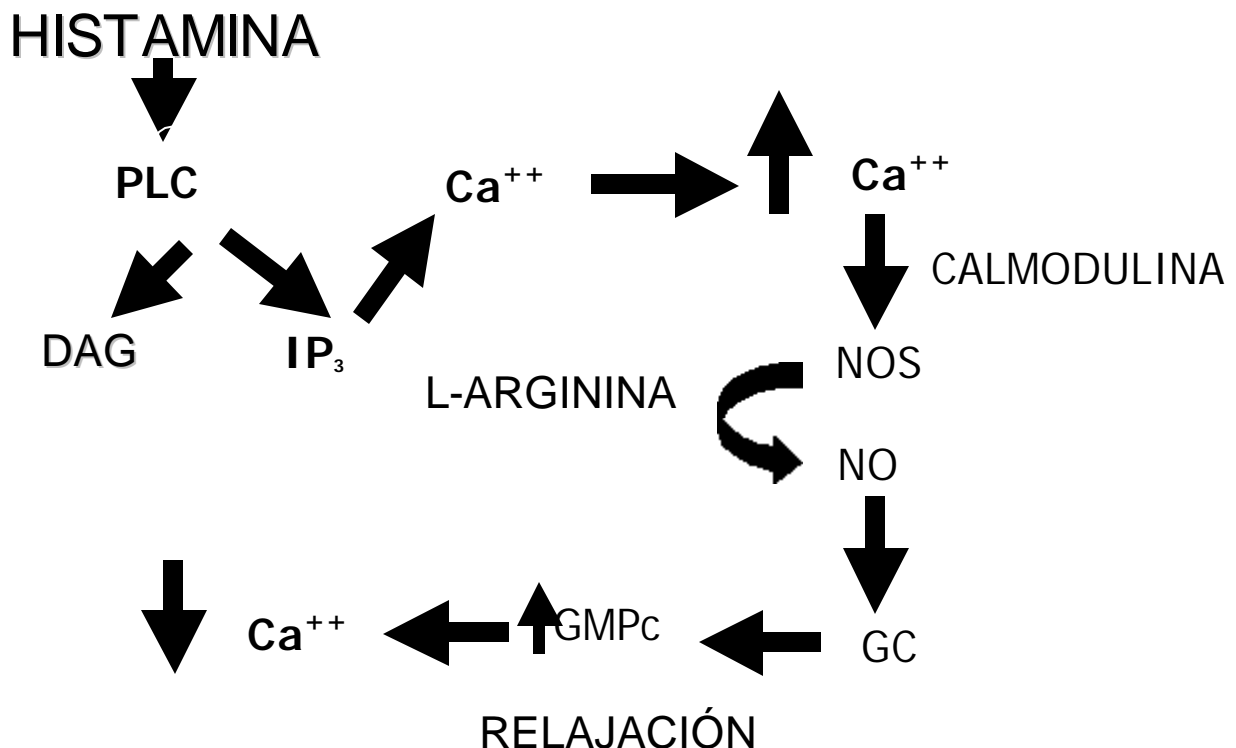


Figura 3. Vía propuesta para la activación de la NOS endotelial por histamina.

E) PROSTACICLINA (PGI₂)

Las PGs pueden ser vasodilatadores como la prostaciclina y la prostaglandina E₂ (PGI₂ y PGE₂) o vasoconstrictoras (TXA₂, PGF 2 α y PGH₂). La prostaciclina es una de las PGS que tiene mayor efecto en los vasos sanguíneos, la PGI₂ se produce (Fig.2) a partir del ácido araquidónico liberado de los fosfolípidos de la membrana que está mediada por la acción conjunta de la fosfolipasa A₂, la fosfolipasa C y la fosfoglicérido

lipasa, en conjunto liberan al ácido araquidónico y mediante la ciclooxigenasa producen endoperóxidos de prostaglandinas y por medio de la prostaciclina sintasa se forma la prostaciclina (Henderson, 1999). Su efecto vasodilatador en las células musculares lisas se lleva a cabo mediante la activación de la adenilato ciclasa y el consiguiente aumento de los niveles de AMP cíclico en las células diana de la PGI_2 inducen la relajación (Laufs et al., 2000), otra de las funciones que realiza la PGI_2 es la de prevenir la agregación plaquetaria, aumento de la actividad de enzimas que metabolizan los ésteres de colesterol en la célula muscular lisa, además de inhibir la acumulación de ésteres de colesterol por los macrófagos y prevenir la liberación de factores de crecimiento que causan engrosamiento de la pared vascular (Samaan, 1999).

F) ACETILCOLINA

La acetilcolina (Ach) es un neurotransmisor específico en la sinapsis del sistema nervioso somático y las sinapsis ganglionares del sistema nervioso autónomo, así como los órganos diana de la división parasimpático.

Su síntesis se realiza en el botón terminal mediante la utilización de dos sustancias precursoras, el acetato y la colina; mediante la intervención del sistema enzimático acetil-colina-transferasa, que a su vez necesita la presencia de la coenzima- A para transferir el acetato. Ante la presencia de la acetilcoenzima A y del aminoalcohol colina, deja libre la coenzima para obtener como producto final la Ach.

Dentro de las funciones principales que lleva a cabo la Ach son: en el hipotálamo provoca hipotermia. Liberación de neurohormonas como la antidiurética y la oxitocina, a nivel de músculo liso vascular produce la vasodilatación mediante la unión a su receptor que es de tipo muscarinico, promueven la formación de segundos mensajeros (IP_3), con lo que se libera calcio almacenado del retículo endoplásmico, este a su vez unido a la calmodulina activa a la óxido nítrico sintasa más L-arginina y se forma óxido nítrico el cual se difunde y en el músculo liso activa a la guanilato ciclasa y con ello aumenta la concentración de GMPc lo que conlleva a disminución de calcio y se da una relajación del músculo (Stankevicius, 2003).

G) FACTOR HIPERPOLARIZANTE

La vasodilatación dependiente de endotelio no está únicamente mediada por PGI₂ o por NO, si no que esta vasodilatación está asociada a una hiperpolarización de las células del músculo liso que ocasiona la relajación de éste. El factor hiperpolarizante (EDHF) produce la relajación del músculo liso vascular al hiperpolarizar la membrana celular, por aumentó de la conductancia al K⁺ a través de los canales K⁺ ATP; su relajación varía en función de la arteria que se trate y del calibre de la misma (Laufs, 2000).

Este factor actúa fundamentalmente sobre la microvasculatura y juega un papel fisiológico importante en vasos de resistencia de pequeño calibre, por lo que jugaría un papel importante en la regulación local de las resistencias periféricas vasculares. Siendo la de mayor importancia la circulación coronaria, ya que se ha observado que el 60% de la respuesta vasodilatadora a agentes dependientes de endotelio está mediada por el EDHF (Khosravi, 1999).

1.2. ENDOTELIO VASCULAR Y LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

El endotelio vascular (EV) es la estructura que interviene activamente en la producción de factores vasoconstrictores y vasodilatadores (Cachofeiro, 2001). Está formado por células altamente especializadas que se encuentran orientadas longitudinalmente en la dirección del flujo sanguíneo y polarizado al presentar una superficie luminal o apical en contacto con la luz vascular y la otra unida estrechamente a la membrana basal (Fig.4). Esta capa de células recubre internamente los vasos sanguíneos, en esta posición le permite mediar las interacciones entre la circulación sanguínea y los tejidos, históricamente el endotelio fue considerado una capa de células estructural y metabólicamente simple teniendo como función la de regular la permeabilidad y la hemostasia. Más recientemente se ha demostrado que el EV es un órgano dinámico y complejo con diversas funciones, incluyendo la síntesis y liberación de agentes vasoactivos que juegan un papel importante en la modulación del tono vascular; entendiéndose por tono vascular, la contracción sostenida del músculo liso que le permite al vaso mantener un diámetro continuo. El endotelio participa en la conversión

de la Ang I a Ang II, en la activación de algunas sustancias del plasma como bradicinina, noradrenalina, serotonina, y ADP, y en la síntesis y liberación de vasodilatadores como PGI_2 (Moncada y col., 1976) y el factor relajante de endotelio que posteriormente fue identificado como óxido nítrico (Furchgott y Zawadzki, 1980). El endotelio también participa en la síntesis de agentes vasoconstrictores como la endotelina y metabolitos del AA vía Cox. El endotelio está expuesto a cambios del flujo sanguíneo y a cambios de presión por lo cual, al sufrir de estrés relativo al flujo y deformaciones en las paredes de los vasos, participa en la respuesta, generando rápidamente óxido nítrico y /o PGI_2 , y modulando la respuesta estructural a largo plazo del músculo liso de la pared vascular, produciendo factores de crecimiento que estimulan la proliferación del músculo liso vascular, la PGI_2 y el óxido nítrico tienen efectos antiproliferativos, por lo cual se establece un mecanismo de control entre los factores de crecimiento y la PGI_2 y el óxido nítrico. La endotelina-1 es un péptido de 21 a que se produce en el endotelio y tiene un potente efecto vasoconstrictor, se ha postulado que existe un equilibrio entre la producción de PGI_2 , óxido nítrico y endotelina ayudando a mantener el tono vascular y por lo mismo al control de la PA (Tolins y col., 1999).

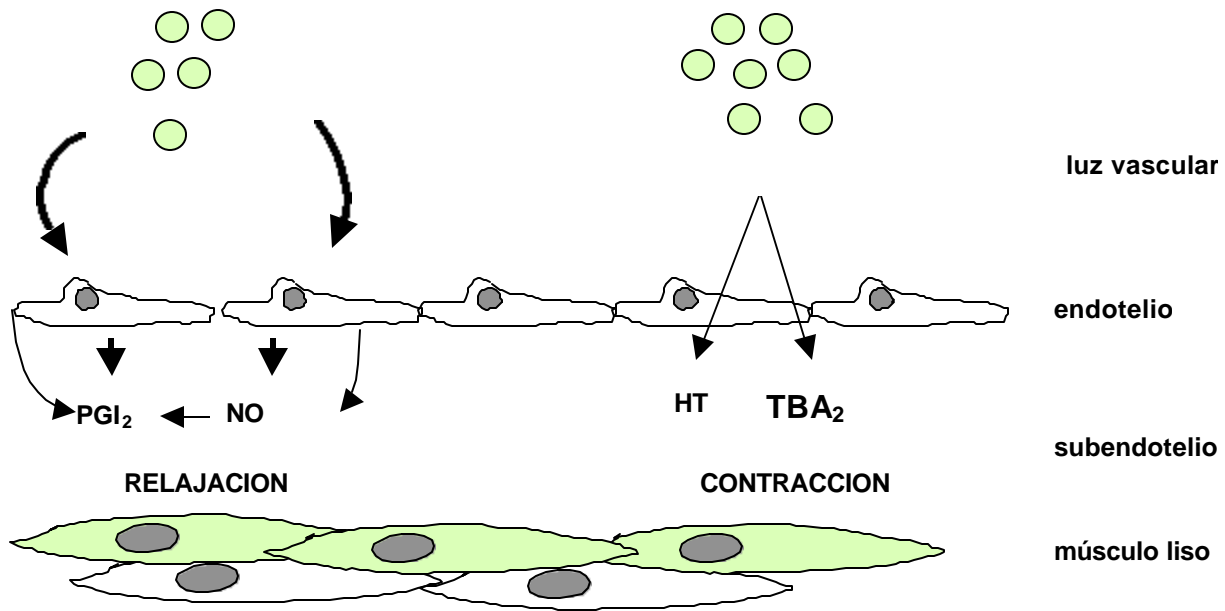


Figura 4. Generación de vasoconstrictores (serotonina (5HT) y tromboxano A₂ (TBA₂) y vasodiladores prostaciclina (PGI₂ y óxido nítrico (NO). A través de las células endoteliales

1.3. REGULACIÓN NERVIOSA DEL FLUJO SANGUÍNEO Y DE LA PRESIÓN ARTERIAL

El sistema nervioso (SN) controla el SCV a través del sistema nervioso autónomo (SNA). Todos los vasos, excepto capilares, tienen inervación nerviosa simpática, su estimulación aumenta su resistencia y disminuye su volumen especialmente el de las venas, lo cual modifica el volumen circulante, desplazando más sangre al corazón. Los nervios simpáticos llevan fibras vasoconstrictoras, se distribuyen en todos los segmentos de la circulación, siendo especialmente abundantes en riñón, intestino, bazo y piel y menos abundantes en músculo esquelético y cerebro.

El sistema parasimpático también participa en la regulación cardiovascular, su efecto más importante es sobre la frecuencia cardíaca a través de la inervación parasimpática proveniente de los nervios vagos desde el bulbo raquídeo, la estimulación de estas fibras disminuye la frecuencia y la contractilidad cardíaca.

El control del SNC se localiza principalmente en la sustancia reticular del bulbo raquídeo, en este lugar se encuentra el centro vasomotor (CVM), el cual transmite impulsos parasimpáticos al corazón por los nervios vagos e impulsos simpáticos a través de la médula espinal y los nervios simpáticos periféricos a los vasos sanguíneos. En el CVM se han identificado tres áreas: a) área vasoconstrictora en la cual las neuronas secretan noradrenalina; sus fibras se distribuyen por la médula donde estimulan a las neuronas vasoconstrictoras del sistema nervioso simpático (SNS), b) área vasodilatadora, las fibras de estas neuronas se proyectan hacia arriba del área vasoconstrictora, e inhiben su actividad vasoconstrictora causando vasodilatación y c) área sensorial se localiza en el fascículo solitario; las neuronas de esta área reciben señales nerviosas sensitivas principalmente de los nervios vago y glosofaríngeo, las señales eferentes controlan las actividades de ambas áreas, permitiendo el control reflejo de muchas funciones circulatorias como el reflejo barorreceptor de la PA. Una de las funciones más importantes del control del SCV por el SN es el control a corto plazo de la PA. La mayor parte de las funciones vasoconstrictoras y cardioaceleradoras del SN se estimulan al mismo tiempo como una unidad y se inhiben las señales vagales al corazón; en consecuencia se producen tres alteraciones que de forma simultánea, contribuyen a elevar la PA: a) constricción de casi todas las arteriolas del organismo, lo cual aumenta la RTP, y disminuye el flujo de sangre en las arteriolas, b) constricción de venas y otros grandes vasos; lo cual desplaza la sangre hacia el corazón, aumentando así el volumen sanguíneo en las cavidades del corazón, la frecuencia y la fuerza de contracción, con aumento consecuente del volumen sistólico y c) estimulación directa del corazón. Una característica especialmente importante del control nervioso de la PA es la rapidez de respuesta que comienza en segundos y aumenta la presión hasta dos veces el valor basal en 5 a 10 segundos; la inhibición brusca de la estimulación nerviosa puede disminuir la PA a cifras tan bajas como la mitad de la normal en 10 a 40 segundos.

Existen numerosos mecanismos de control nervioso que operan todo el tiempo en el organismo para mantener la PA en su nivel normal o en sus proximidades. Casi todos ellos son mecanismos reflejos de retroalimentación negativa, siendo el reflejo barorreceptor el más importante en el control a corto plazo de la PA.

1.3.1. REFLEJO BARORRECEPTOR, se inicia por estimulación de receptores de distensión llamados barorreceptores o presorreceptores los cuales son terminaciones nerviosas situadas en las paredes de la arterias, que se estimulan cuando se distienden, son muy abundantes en la pared de las carótidas internas, ligeramente por encima de la bifurcación, en los senos carotídeos y en la pared del cayado de la aorta (Fig.5). Las señales se transmiten desde cada seno carotídeo a través del nervio de Hering, al nervio glosofaríngeo y al núcleo solitario del bulbo raquídeo. Las señales procedentes del cayado de la aorta se transmiten por medio de los vagos a la misma zona del bulbo. Una vez que las señales de los barorreceptores llegan al bulbo, estas inhiben el centro vasoconstrictor del bulbo y excitan el centro vagal, lo cual produce vasodilatación de venas y arteriolas periféricas así como disminución de la frecuencia cardíaca, por tanto, la estimulación de los barorreceptores causa descenso reflejo de la PA. Por otro lado, una presión baja ejerce efecto opuestos, es decir estimula el centro vasoconstrictor, lo cual aumenta la RPT y la frecuencia cardíaca con el consecuente aumento de la PA hacia lo normal. Por ejemplo, cuando una persona se pone de pie, la PA de la cabeza y parte superior del cuerpo tiende a disminuir, una notable caída de la presión ocasionaría pérdida del conocimiento. La disminución de presión es sensada por los barorreceptores, los cuales inducen una descarga simpática, lo cual minimiza el descenso de la PA en la cabeza y parte superior del cuerpo. Dado que los barorreceptores se oponen a los ascensos y descensos de la PA, se les ha llamado sistema amortiguador de la presión y a los nervios procedentes de los barorreceptores nervios amortiguadores (Zoller y col., 1972).

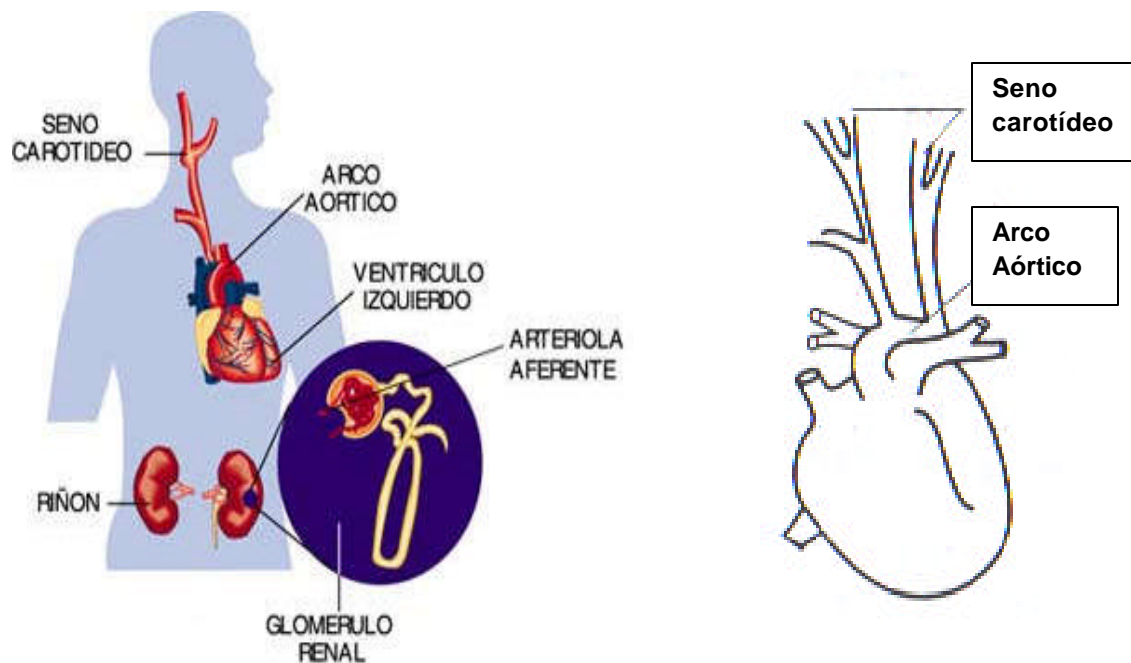


Figura 5. Distribución de los barorreceptores, se encuentran situados en el ventrículo izquierdo, en el seno carotídeo, en el arco aórtico y en las arteriolas aferentes renales. Se activan cuando se produce una disminución del llenado arterial como consecuencia del bajo gasto cardíaco y la vasodilatación arterial.

1.3.2. REFLEJO QUINIORRECEPTOR

En estrecha relación con el reflejo barorreceptor, está el reflejo quimiorreceptor que opera de manera muy parecida al barorreceptor. Los quimiorreceptores son células que responden a la falta de O_2 y al exceso de CO_2 e H^+ . Se encuentran en los cuerpos carotídeos en la bifurcación de la carótida común y en los cuerpos aórticos contiguos a la aorta, excitan fibras nerviosas, que pasan a través del nervio de Hering y de los nervios vagos al CVM. Cada cuerpo carotídeo o aórtico está irrigado abundantemente a

través de una arteria nutricia, cuando la PA disminuye, también disminuye el flujo sanguíneo y consecuentemente la presión parcial de O_2 (pO_2) y aumenta la presión parcial de CO_2 , (pCO_2) y se estimulan los quimiorreceptores, las señales que transmiten excitan al CVM elevando la PA hasta normalizarla. Este reflejo no es un control potente de la PA debido a que los barorreceptores son más sensibles a los cambios de presión, los quimiorreceptores requieren una disminución mayor de la PA para estimularse (Gonzalez, 1994).

Otros reflejos que controlan la PA son a través de los receptores de baja presión, los cuales se encuentran en las paredes de las aurículas y arterias pulmonares estos receptores son estimulados por variaciones del flujo sanguíneo y aunque no detectan los cambios de PA sistémica, pueden detectar los incrementos simultáneos de la presión en las zonas de baja presión de la circulación producida por incrementos del volumen y desencadenan reflejos paralelos a los barorreceptores logrando así que el reflejo sea más potente. La distensión de las aurículas también produce dilatación refleja de las arteriolas aferentes renales lo cual incrementa la presión intraglomerular, la FG y la liberación del péptido natriurético auricular produciendo la rápida excreción de agua y Na^+ contribuyendo a normalizar el volumen sanguíneo (Brenner y col., 1990). También se ha señalado que se transmiten simultáneamente señales al hipotálamo que disminuyen la secreción de AVP lo cual como ya se mencionó, estimula la eliminación renal de agua y Na^+ y por consecuencia tiende a disminuir la PA.

Estos mecanismos controlan la PA rápidamente. Cuando la PA varía lentamente a lo largo de muchas horas o días, los mecanismos nerviosos van perdiendo gradualmente su capacidad de oponerse a los cambios de presión. Los mecanismos que controlan la PA a largo plazo lo hacen a través del riñón y el SRA y su interacción con la secreción de aldosterona. El riñón mantiene constante el equilibrio hidro-electrolítico. Cuando aumenta el volumen extracelular la PA aumenta, este aumento de PA tiene un efecto directo sobre el riñón en el cual se estimulan mecanismos a través de PGs vasodilatadoras que inhiben la reabsorción de agua y sales, excretando así el exceso de volumen extracelular (Guyton, 1997; Dunn, 1997).

2.0. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión arterial (HTA) ha sido definida como un aumento innecesario y sostenido de las presiones diastólica y sistólica (Sokolow y col., 1992). Es una enfermedad crónica degenerativa de origen multifactorial y representa un riesgo de enfermedad cardiovascular. De la expresión $PA = GC \times RTP$; se puede inferir que la HTA puede ser consecuencia de la elevación de alguno de los 2 factores o de ambos, el aumento fisiológico del GC puede ser adaptado por disminución de la RTP y por los mecanismos que controlan la PA normal, lo cual no ocurre en la HA; al parecer los mecanismos barorreceptores, humorales y renales están colocados en un valor superior de control de PA (Guyton, 1997).

2.1. CLASIFICACIÓN

Desde el punto de vista clínico la Organización Mundial de la Salud define que un paciente es hipertenso, cuando muestra cifras de presión diastólica (PAD) mayor o igual a 90 mm Hg y/o la presión sistólica (PAS) mayor o igual a 140 mm Hg. Dentro de esta misma clasificación de acuerdo con los valores de PAS y PAD se puede agrupar en hipertensión: **Leve** cuando los valores oscilan entre 140-159 mmHg y 90-99 mmHg, **moderada** 160-179 mmHg y 100-109 mmHg y **severa** cuando los valores son mayores a 180 mmHg y 110 mmHg, respectivamente.

La HTA según su etiología se clasifica en:

- A) Primaria o esencial
- B) Secundaria

La hipertensión secundaria se presenta entre el 2 y el 5% del total de los casos (Gareth, 2001); y se produce después de un daño a un órgano y/o sistemas, por ejemplo:

1. Enfermedad Renal
 - a) Nefritis aguda

- b) Estenosis de arterias renales: isquemia renal, hipertensión renovascular.
2. Alteraciones endocrinas
 - a) Aldosterismo primario
 - b) Feocromocitoma
 - c) Hipertiroidismo
 3. Coartación de la aorta
 4. Hipertensión por medicamentos.

2.2. HIPERTENSIÓN ESENCIAL

Por definición, la hipertensión arterial esencial (HAE) es de causa desconocida, sin embargo, existen estudios que han demostrado que la hipertensión se produce por combinación de varios factores; más del 90% de los casos de hipertensión son de tipo esencial, los estudios epidemiológicos han demostrado que son varios los factores que influyen en el desarrollo de la HAE como son: edad, sexo, actividad física, dieta, sobrepeso, factores genéticos, sociales y psicológicos.

Los criterios para diagnosticar la hipertensión son hasta cierto punto arbitrarios ya que la PA aumenta con la edad y varía entre una medición y la siguiente, por factores ambientales y emocionales del paciente.

Aproximadamente el 20% de los pacientes hipertensos tienen el GC elevado, en tanto todos tienen la resistencia vascular elevada. El gasto cardiaco puede estar elevado en pacientes con exceso de peso o en ancianos, sin embargo el factor más importante en la hipertensión es el aumento del tono arteriolar, por lo cual la resistencia esta aumentada, obligando al corazón a realizar mayor esfuerzo para impulsar la sangre a través de las grandes y medianas arterias, las cuales deben soportar el impacto del ventrículo con su impulso sistólico y se ven sometidas a una gran presión. Estos vasos pierden su elasticidad progresivamente y los territorios que irrigan ven reducida su perfusión gradualmente. Las mismas arteriolas sufren efecto de la presión excesiva y

sostenida, desarrollándose hiperplasia arteriolar con reducción del calibre de su luz, esto a su vez perpetúa la HA estableciéndose así un círculo vicioso (Espino, 1997).

La hipertensión sostenida lesiona en primer lugar los vasos sanguíneos, especialmente renales, cardiacos y cerebrales, también produce insuficiencia cardiaca, cardiopatía coronaria con angina de pecho, infarto del miocardio, accidentes vasculares hemorrágicos y trombóticos e insuficiencia renal (Sokolow y col., 1992).

2.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL

Entre los factores fisiopatológicos que contribuyen al desarrollo de la HAE están:

Sistema nervioso simpático (SNS). El aumento en la actividad del SNS tiene un papel muy importante en el desarrollo de la HAE, existe cierta correlación entre la presión diastólica y la concentración plasmática de noradrenalina la cual es constante en personas normotensas, en tanto que en pacientes hipertensos los niveles están aumentados; los cambios en la concentración de catecolaminas son mas notorios en los pacientes que están en los límites normales de PA (Esler y col., 1990). Se ha observado que en los pacientes con HAE la actividad del sistema nervioso parasimpático (SNP) esta disminuida, prevaleciendo en tono del SNS; efecto que puede atribuirse al aumento del umbral del reflejo barorreceptor; se ha discutido, que el aumento del tono simpático puede deberse a la falta de sistemas que modulen su actividad, como falta de modulación en su liberación, daño en los sistemas que participan en su recaptura por la neurona adrenérgica o aumento de sus efectos a través del SRA (Jackson y Garrison, 1985. Zimmerman y col., 1987. Debra y col., 1983. Chatziantoniou y col., 1993). Otro mecanismo puede ser por alteración de mecanismos que modulan la actividad de sustancias vasodilatadoras como las PGs vasodilatadoras (Magiff y col., 1973. Messina y col., 1975. Mistry y Nasijetti, 1988).

Sistema nervioso central. El SNC incrementa el GC por medio de sus descargas simpáticas eferentes lo cual produce vasoconstricción arteriolar para evitar la sobrecarga de flujo en los capilares, lo cual eleva la PA, los cambios de presión influyen en el riñón por sus efectos sobre el volumen y en el SRA y aldosterona. Se ha observado que los cambios emocionales producen aumentos transitorios de la PA y

pueden agravar la hipertensión existente, sin embargo no existen datos definitivos de que los cambios emocionales repetidos sean una causa aislada de HA (Henry y Grim, 1990).

Función de los barorreceptores. Como ya sea mencionado, los barorreceptores son sensibles a la presión media y a la magnitud del cambio de presión e inician una reacción barorreceptora refleja de tipo adrenérgico que afecta la PA y la frecuencia cardíaca. Se ha observado que la denervación de los barorreceptores a menudo no produce hipertensión neurógena y cuando sucede así el incremento de presión es ligero; varios autores coinciden con Guyton, (1997) en que los barorreceptores no controlan la PA a largo plazo.

Factores genéticos. Ha sido demostrado que la HA se hereda por un gen dominante, se han encontrado evidencias de transmisión de la HA en más de tres generaciones. Genéticamente se ha encontrado a la HA como un fenotipo resultante de la interacción multifactorial de genes con intervención muy importante de factores ambientales; por lo tanto la presencia del gen de la HA no es suficiente para la expresión del fenotipo, deben estar presentes los factores que le permitan a ese fenotipo desarrollarse (Lindpaintner,1993).también se menciona la participación de un fenotipo intermediario, el cual en combinaciones apropiadas puede producir HA, de esta forma se puede explicar porque algunos sujetos con antecedentes familiares de HA no la desarrollan. Dentro de los fenotipos que pueden heredarse está la ineficiencia renal para excretar grandes cargas de sodio; falta de la modulación de las glándulas suprarrenales y la respuesta renal a la infusión de la Ang II, en una dieta alta o baja en sodio (Samani, 1994). Otro aspecto que ha sido reportado es en jóvenes normotensos con historia familiar de hipertensión, los cuales mostraron vasoconstricción renal aumentada, en relación a jóvenes con historia familiar sin hipertensión, lo cual sugiere que los cambios de la hemodinámica renal tiene lugar en edades tempranas (Widgren y col., 1991).

Para estudiar los mecanismos genéticos y fisiopatológicos de la hipertensión se han desarrollado modelos experimentales de hipertensión genética en ratas; los resultados sugieren un modelo poligénico de herencia y señalan que el aumento de la reactividad vascular y el aumento de la actividad vasomotora del SNS contribuyen a la HA, pero no

se ha identificado un factor molecular específico, el aumento de la PA se presenta con la edad y depende de la integridad del SNC.

2.4. ESTADÍSTICAS DE HIPERTENSIÓN EN MÉXICO

Alrededor de 17 millones de personas mueren cada año por enfermedad cardiovascular en el mundo se estima que existen 600 millones de personas que padecen HTA, de los cuales, 420 millones (70%) corresponden a países en vías de desarrollo (SS 2000).

En México se considera a la hipertensión arterial como uno de los principales problemas de salud pública ya que favorece la aparición de otras enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y renales (Guerrero, 1998). De acuerdo con la OMS, la HTA pasó del cuarto lugar como causa de defunción en 1980, al primer lugar desde 1990 a la fecha (Cruz, 2001). Esto se refleja en 15.2 millones de personas que tienen HTA, por lo que de 10 cada 2 mexicanos mayores de 50 años es hipertenso, de los cuales el 61% de las personas ignoran tener la enfermedad. De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) y el CENSO del INEGI en el 2000, la distribución de la HTAS y su prevalencia en nuestro país identificó que los estados del norte como: Baja California Sur, Sinaloa, Baja California Norte en 1991 y en el 2000 los estados de Jalisco, Distrito Federal, Michoacán, Estado de México y Chihuahua presentaron el mayor índice de hipertensos esto se debe a que se ha modificado el estilo de vida en los últimos años, aunado a la industrialización y a los factores de riesgo (alcoholismo, tabaquismo, obesidad, entre otros) han hecho que las personas tengan una mayor incidencia de padecer HTA (Velázquez, 2000).

Posteriormente, en el 2004, de acuerdo con el programa para la prevención y control de la hipertensión se organizaron 65 talleres con la iniciativa de detección integrada de diabetes, hipertensión arterial y obesidad en donde se detectaron 13,954,577 hipertensos y de esta cifra se incorporaron 105,727 personas hipertensas a algún esquema de tratamiento, encontrando que Tabasco ocupó la primera posición, Yucatán ascendió del sexto al segundo lugar y Puebla pasó del noveno al tercer sitio (SSA, 2004)

2.5. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL E HIPERTENSIÓN

La disfunción endotelial representa la pérdida de la capacidad del endotelio para inhibir los procesos de agregación plaquetaria, adherencia de neutrófilos, proliferación celular y modular el tono vascular ya que existe una disminución de los factores vasodilatadores (principalmente de NO) y/o un aumento de los factores vasoconstrictores (Fasce, 2002). Tomando en cuenta el efecto vasodilatador del óxido nítrico y su papel principal como mediador de la vasorelajación dependiente de endotelio, siendo este uno de los principales mecanismos responsables de la disfunción endotelial, debido a que existe una menor producción de óxido nítrico que puede ser consecuencia, a su vez, de una alteración en la enzima que cataliza su síntesis o una menor disponibilidad de su sustrato o incluso de algunos cofactores necesarios para su síntesis (Cachofeiro, 2001). Sin embargo en presencia de valores normales permite la sobreexpresión no sólo de factores vasoconstrictores derivados del endotelio como el tromboxano A_2 y la endotelina, si no también aquellos factores circulantes como la angiotensina II y las catecolaminas. También existe un aumento de producción de radicales libres de oxígeno como los peroxinitritos y radicales hidroxilo que pueden dañar membranas, estructuras celulares y pueden producir la muerte celular, así como la acumulación de inhibidores endógenos como la dimetil arginina asimétrica (DMAA) compite con la arginina reduciendo la síntesis de NO (Vázquez, 2001).

La disfunción endotelial en la hipertensión se acompaña de un aumento del estrés hemodinámico que puede llegar a producir cambios en la estructura y en la función del endotelio. Se han descrito dos tipos de fuerzas que actúan sobre las células endoteliales vasculares y que aumentan su magnitud en la hipertensión (Mombouli, 1999). La fuerza circunferencial, que depende de la presión de la sangre en el interior del vaso, del radio de este y grosor de la pared, puede llegar a producir una deformación por estiramiento de las células endoteliales, la fuerza tangencial, que depende de factores como la viscosidad de la sangre y velocidad de flujo sanguíneo. Desde el punto de vista clínico estos factores pueden agruparse en dos modalidades: 1) desequilibrio de la regulación del tono vasomotor que consiste en el mantenimiento de la resistencia periférica elevada. 2) estructural, consecuencia del crecimiento de la pared vascular que se genera a partir del desequilibrio entre factores promotores del crecimiento e inhibidores de este. Ambas alteraciones se perpetúan y mantienen la

hipertensión (Safar, 2000). Las consecuencias clínicas del remodelado vascular asociado a la hipertensión son diferentes dependiendo del tipo de vaso que se considere. En arterias pequeñas y arteriolas una disminución del diámetro de la luz y una reducción en su número produce un aumento de las resistencias periféricas, en arterias grandes, la pérdida de elasticidad implica una disminución de su capacidad amortiguadora y propicia el incremento de la presión de pulso. La relación entre daño renal e hipertensión implica vasodilatación de la arteriola aferente para compensar la reducción del número de nefronas funcionantes, lo que producirá un incremento tanto en la filtración como la presión glomérulo-capilar, favoreciendo el desarrollo de la glomeruloesclerosis (Hernández, 2000).

2.6. PAPEL DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA EN LA HIPERTENSIÓN

La angiotensina II tiene diferentes mecanismos de daño endotelial ya que estimula la producción de superóxido por medio de la activación del sistema oxidativo de membrana NADH/NADPH en las células musculares lisas, lo que produce la destrucción de la enzima sintetasa del óxido nítrico, que causa oxidación de la tetrahidrobiopterina, que actúa como cofactor (Thomas, 2003) también puede oxidar al ácido araquidónico y por este mecanismo, liberar un potente vasoconstrictor renal y agente antinatriurético, llamado químicamente 8-iso prostaglandina f2a (isoprostano), por lo tanto las consecuencias del estrés oxidativo incluyen: pérdida de la vasodilatación dependiente del endotelio, expresión génica, respuestas inflamatorias y perpetuación de la hipertensión.

Expresión génica: Las mutaciones de los genes susceptibles podrían estar relacionadas con la génesis de la hipertensión, las que potencialmente incluyen genes que codifican la síntesis de aldosterona, la sintetasa del óxido nítrico y el angiotensinógeno. El polimorfismo del gen de la ECA consiste en la ausencia (supresión D) o la presencia (inserción-1) de un fragmento en los genotipos DD y DI han demostrado su asociación con la prevalencia de la hipertensión. También el alelo D se ha vinculado con el

incremento de las concentraciones circulantes de la actividad de la ECA con efectos secundarios sobre la generación de angiotensina II. (Hauser, 1998).

Sin embargo la angiotensina II también participa en la expresión de NOS, a través de la proteína cinasa C, de esta manera, un aumento de la angiotensina II podría contribuir al incremento del catabolismo y reducción de la producción de óxido nítrico, produciendo vasoconstricción vía estimulación de los receptores AT₁. (Munzemaier, 1999).

Otro mecanismo de daño por estrés oxidativo es por una rápida translocación de la GTPasa pequeña y la GTPasa de la familia Rho *rac 1* a la membrana celular, prerequisite indispensable para la activación de NADPH oxidasa. A largo plazo, la angiotensina II también puede producir cambios en las células endoteliales por aumento en la expresión en los genes *rac1*, *p22phox* y *NOX-1*.

Una tercera forma de daño endotelial por la angiotensina II es que facilita el reclutamiento de monocitos y macrófagos dentro de la pared vascular, por la estimulación de las células musculares lisas y la producción de molécula 1 de adhesión vascular.

La angiotensina II está bien caracterizada como mitógeno de las células musculares lisas, con la consecuente producción por éstas de factor transformante beta que proporciona la acumulación de matriz extracelular y factores contráctiles derivados del endotelio que contribuyen a estimular la migración del músculo liso y también, a una exagerada oxidación de lipoproteínas de baja densidad que a su vez conducen a un incremento de la inflamación de la pared muscular que favorece la progresión de la aterosclerosis (Amaral, 2001).

2.7. FARMACOTERAPIA DE LA HIPERTENSIÓN

Actualmente, existe un gran número de fármacos para el tratamiento de la hipertensión utilizados en la práctica médica, siendo los de mayor importancia los que se presentan a continuación.

DIURÉTICOS

Estos fármacos disminuyen la presión arterial porque incrementan la excreción de sodio y agua por el riñón, entre los diuréticos más importantes está el grupo de las tiazidas como la clortalidona, cuyo mecanismo de acción es a través de la inhibición del cotransportador $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$ presente en las células epiteliales del túbulo contorneado distal (Gamba y col., 1993). A nivel del túbulo colector inducen la secreción renal de sodio y agua así mismo aumenta la secreción y excreción de K^+ e H^+ . Por lo que disminuye el volumen sanguíneo, el gasto cardiaco y la resistencia periférica (Brater, 1998). Los principales efectos secundarios son: Vértigo, náusea leve, vómito, dolor gástrico y deshidratación.

BLOQUEADORES BETA ADRENÉRGICOS

Actúan principalmente interfiriendo la actividad simpática, ya que antagonizan competitivamente los efectos de la norepinefrina y epinefrina en los receptores β adrenérgicos afecta la regulación de la presión sanguínea por medio de diversos mecanismos, a nivel del corazón producen disminución de la contractibilidad y frecuencia cardiaca; esto se traduce en una disminución del gasto cardiaco, decremento de la secreción de renina, con una disminución resultante de angiotensina (Nishimura,1994) Por otro lado, a nivel periférico se liberan los receptores α - adrenérgicos que ejercen su acción vasoconstrictora por lo que el resultado final es un incremento en la resistencia periférica (Oates, 1996). Los principales efectos secundarios son: Broncoespasmo, fatiga, mareos y bradicardia, ejemplo de estos fármacos son: el Propranolol y los bloqueadores selectivos (B_1) como el Atenolol.

BLOQUEADORES ALFA ADRENÉRGICOS

Actúan a través de la relajación del músculo liso vascular mediante el bloqueo selectivo de los receptores α -1 adrenérgicos que conllevan a la reducción de la resistencia periférica total mediado por la actividad simpática (Alderman, 1996), disminuyendo de esta manera la presión arterial. Los principales efectos secundarios son: vómito,

diarrea, desvanecimiento, visión borrosa y taquicardia refleja, ejemplo de estos fármacos son: Prazosin.

ANTAGONISTA DE CALCIO

Actúan mediante la inhibición del movimiento de Ca^{++} a través de la membrana plasmática disminuyendo la cantidad del ión total que debe llegar a los sitios intracelulares. Debido a esto, todos los bloqueadores de los canales de Ca^{++} disminuyen la presión sanguínea por medio de la relajación de la musculatura lisa arterial y disminución de la resistencia vascular periférica (Catterall y col, 1989 y Robertson, 1996). Pero también se incrementa la circulación venosa, por lo que se incrementa el gasto cardiaco (Lehman, 1994). Los principales efectos secundarios son: fatiga, mareos, estreñimiento y cefalea. Ejemplo de estos fármacos son: Verapamil y Nifedipina.

VASODILATADORES

Producen relajación directa de la capa muscular de las arteriolas, disminuyendo con ello la resistencia periférica total con lo que se consigue la caída de la presión diastólica este efecto produce secundariamente estimulación simpática y aumento en la contractilidad del corazón por lo que aumenta el gasto cardiaco y la estimulación de renina plasmática (Azuma y col, 1994). Los principales efectos secundarios son: tos, somnolencia, visión borrosa y broncoespasmo. Ejemplos de estos fármacos son: Hidralazina y Minoxidil.

INHIBIDORES DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

Son inhibidores específicos competitivos de la enzima convertidora de Ang I a Ang II. El bloqueo en la formación de la ANG II trae como consecuencia la inhibición de su efecto vasoconstrictor y disminución de la función de la aldosterona a la pérdida del Na^+ , por lo que disminuye la función normal de esta última para oponerse a la eliminación de sodio por lo que disminuye la resistencia periférica, sin modificar el gasto cardiaco (Robertson, 1996). Los principales efectos secundarios son: tos, somnolencia, visión borrosa y broncoespasmo. Ejemplos de estos fármacos son: Ramipril y Captopril.

ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES AT₁

Bloquean todas las acciones de importancia fisiológica de la Ang II al unirse al receptor AT₁, su función es la de relajar al músculo liso para favorecer la vasodilatación, incrementar la excreción renal de sodio y agua y con ello disminuir el volumen plasmático (Simpson y col., 1994). Los principales efectos secundarios son: mareo, cefalea, fatiga y tos. Ejemplos de estos fármacos son: Losartan y Candesartan.

Aproximadamente el 50% de los pacientes hipertensos abandonan el tratamiento farmacológico principalmente por el costo alto de los fármacos, por la presencia de efectos colaterales que alteran la calidad de vida y por la indicación de múltiples tomas diarias (Bertolasi et al., 2000). Estas son algunas de las causas más frecuentes por las que los pacientes recurren a tratamientos alternativos como es el caso de las plantas medicinales las cuales tienen un uso importante en nuestro país.

3.0. MEDICINA TRADICIONAL

Las plantas medicinales constituyen un importante recurso natural, particularmente en los países del tercer mundo, donde la mayoría de los habitantes recurren a la medicina tradicional popular para curar sus enfermedades (Sánchez, 1993). Sin embargo se estima que se han estudiado entre un 5% y 15% de la diversidad vegetal existente en el mundo con relación a su composición química y su actividad biológica (Peña, 1996).

En México, la medicina tradicional o etnomedicina tiene sus raíces en los conocimientos profundos sobre la salud y la enfermedad que los distintos grupos indígenas y mestizos

de nuestro país han acumulado a través del tiempo. Se fundamenta en una “cosmovisión” de origen indígena, que a lo largo de su historia ha funcionado como “cultura madre”, incorporando y ordenando elementos de otras culturas a su propio sistema. Utiliza un conjunto de procedimientos terapéuticos que incluyen la herbolaria, el uso de productos animales y minerales; diferentes tipos de masajes, punciones y aplicación de calor y humedad; además de la utilización de limpiezas entre otros (Almaguer y Vargas, 2002).

Aun en la actualidad el uso de las plantas medicinales por numerosas comunidades sigue siendo un recurso importante para tratar padecimientos como resfriados, diabetes, hipertensión arterial, trastornos gastrointestinales, entre otros (Didier, 1995).

Sin embargo a pesar de la importancia que tienen las plantas medicinales en nuestro país se estima que existen cerca 30,000 especies de las cuales en 1997 el Instituto Nacional Indigenista documentó 3.000 especies con usos medicinales, esto representa el 10% del total de la riqueza florística del país (Betancourt y Gutiérrez, 1999).

Dentro de los problemas principales de la medicina tradicional es el de no contar con una estandarización adecuada de la especie a estudiar ya que una única especie puede tener varios nombres locales o étnicos, o bien no existe una consideración de las variaciones químicas como el clima y la hora de colecta que pueden llegar a afectar la cantidad de metabolitos o principios activos en la planta, para poderlo procesar y pasar a ser un fitofármaco (Morales, 2002).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud un fitofármaco es un extracto constituido por una gran variedad de compuestos químicos de mayor o menor complejidad y son estos componentes los que interactúan con una gran diversidad de moléculas biológicas que pueden ser receptores de la membrana celular, enzimas, etc.

De ahí que sea muy importante el seguir investigando plantas medicinales que cuenten con una adecuada estandarización que permitan su validación fitoquímica, farmacológica y clínica para ser utilizadas por las personas. Ya que en la actualidad existe una tendencia a sustituir el uso de los compuestos sintéticos (medicamentos y

alimentos) con productos naturales (Delfín y Chino, 1998). Muchos de los metabolitos secundarios como los terpenoides, flavonoides y alcaloides entre otros son principios activos útiles para el tratamiento de diversas enfermedades que afectan al hombre (Ramírez, 1997). Estos metabolitos han llegado a ser aislados y muchos de ellos utilizados por sus propiedades terapéuticas como los alcaloides que son compuestos nitrogenados cristalinos de reacción básica; contienen uno o más átomos de nitrógeno que forman parte de un anillo y poseen actividad farmacológica (Valencia, 1995). Los alcaloides poseen estructuras moleculares complejas, con uno o varios anillos heterocíclicos como un pirrol, piridina, pirrolidina, isoquinolina o quinolina, pero ocasionalmente se encuentran del lado de una cadena alifática, pueden presentarse como aminas derivadas de amonio, terciarias, ocasionalmente como aminas secundarias y con menor frecuencia como compuestos cuaternarios (Maldoni, 1995). Dentro de los usos farmacológicos que se les han dado se encuentran los siguientes: analgésico (cocaina), relajante muscular (papaverina), estimulante nervioso (cafeína), tranquilizante (reserpina, deserpina), anestésico narcótico (codeína, morfina) entre otros (Lechuga, 2000)

3.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Heimia salicifolia* (H.B.K.) Link

Reino: Plantae

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Dicotyledoneae

Orden: Myrtiliflorae

Familia: Lythraceae

Género: *Heimia*

Especie: *salicifolia* (HBK.) Link

Nombre común: sinicuiche, hierba de San Francisco, hauchinal, grandadillo, escobilla, quiebra yugo, quiebra arado, jara negra, jarilla, xonecuite, xoneguichi y xonecuili.

SINONIMIA: *Nesaea salicifolia*

LUGAR DE ORIGEN: Nativo de América, se extiende desde Texas hasta Argentina

DESCRIPCIÓN: Arbusto de 1 a 4 m de altura. Hojas opuestas o subopuestas, sésiles, enteras, lanceoladas, acuminadas, de 2 a 9 cm de largo, con borde liso más pálidas por el envés (Fig.6). Flores amarillas, solitarias, axiales, con un pedúnculo corto y un par de brácteas en la base del receptáculo, que es acampanado; sépalos triangulares como apéndices más cortos y estrechos intercalados; 5 a 7 pétalos caedizos; 10 a 18 estambres. El fruto es una cápsula globosa que se abre en 4 valvas, globosa, envuelta en un receptáculo ensanchado (Argueta y col., 1994).



Figura 6. *Heimia salicifolia*

ECOLOGÍA: Se trata de una planta silvestre, asociada a matorral xerófilo, pastizal y bosque mesófilo de montaña, es originaria de los trópicos del norte y de Sudamérica y está presente en climas cálido, semicálido y templado (Aguilar y col., 1994).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Estados Unidos (Nuevo México, Texas); México (Baja California, Sonora, Guanajuato, Aguascalientes, Zacatecas, Oaxaca, Chiapas, Tamaulipas, Nuevo leon, San luis Potosí, Hidalgo, Puebla, Veracruz); América del sur (Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay). (Graham, 1991) (Fig.7).



Figura 7. Mapa de la República Mexicana que muestra la distribución de *Heimia salicifolia* H.B.K Link

3.2. ETNOBOTÁNICA

En México *Heimia salicifolia* se ha utilizado en el tratamiento de diversos padecimientos que se enlistan en la tabla 3.

Autor	Estado o Municipio	Parte de la planta	Preparación	Utilización
Sociedad Mexicana de Historia Natural S.G. XIX				Antisifilítica, Diaforética, Diurética.
Standley, 1924	Tamaulipas	Hojas	Cocimiento	Lavado contra efectos

				de la picazón que produce (Tóxico dendron radicans).
Cabrera, 1958				Alucinógena, Aperitiva, Astringente.
Wiebelhaus et al., 1974		Hojas	Alcaloides Aislados	Antiinflamatorio
Lema. 1986		Hojas		Antiinflamatorio
Maximino, 1992		Hojas Hojas Hojas Hojas Hojas	Infusión Infusión Jugo y el cocimiento Maceración	Facilita la digestión Disentería Alucinógeno Inflamación de la matriz Baño postparto
Anesini <i>et al.</i> , 1993		Hojas	Extracto acuoso	Antibacteriano
Schultes <i>et al.</i> , 1993		Hojas		Alucinógeno
Argueta, 1994	Xalostoc	Hojas Hojas y Tallo Hojas	Planta Hervida Infusión Infusión	Baño postparto Anticonceptivo Esterilidad
Aguilar <i>et al.</i> , 1994	Yecapixtla Morelos Nayarit Morelia Michoacán Morelos Estado de México Tamaulipas	Hojas Hojas Hojas Hojas	Planta hervida Hojas sudadas Té Infusión	Baño postparto Inflamación de estómago Frío de vientre Empacho Dolor de tobillo Estómago Medicinal
Malone/ Rother, 1994				Cicatrizante, Sudorífico, Tranquilizante, Antiinflamatorio, Antibacterial, Antiespasmódico
Pérez y Anesini 1994		Hojas		Antibacteriano
Carrizo. 2002	Argentina	Hojas	Planta hervida	Antiinflamatorio, Diurético Sedante

Tabla 3. Usos medicinales de *Heimia salicifolia*.

QUÍMICA

Heimia salicifolia se caracteriza por la presencia de alcaloides de quinolizidina destacando vertina, lifolina, nesodina y litrina como los de mayor interés para el área de investigación farmacológica, siendo estudiados e identificados por primera vez por Blomster y col., 1964.

En las partes aéreas se han identificado los siguientes alcaloides: criogenina, dehidrodecodina, de los retoños se ha aislado el dimetoxi-10-epi-abresolina, la 2 hidroxí-4(3-hidroxí-4-metoxí-fenil)-quinolizidina (Blomster y col., 1964).

Tanto para uso interno como externo, generalmente se utiliza el jugo o un cocimiento de las hojas. El análisis químico de las hojas revela la presencia de una resina, taninos y alcaloides de quinolizidina los que han sido clasificados de acuerdo a la geometría y posición del anillo de quinolizidina (Tablas 1 y 2) (Duke, 1992).

TABLA 1. PRINCIPALES ALCALOIDES DE TIPO CIS-QUINOLIZIDINA

Alcaloide	No. de Carbonos	Sustitución
Vertina	23	Dimetoxilo
Sinicuichina	22	Dimetoxilo
Heimidina	23	Dimetoxilo
Epidemetoxiabresolina	22	Alcaloide éster

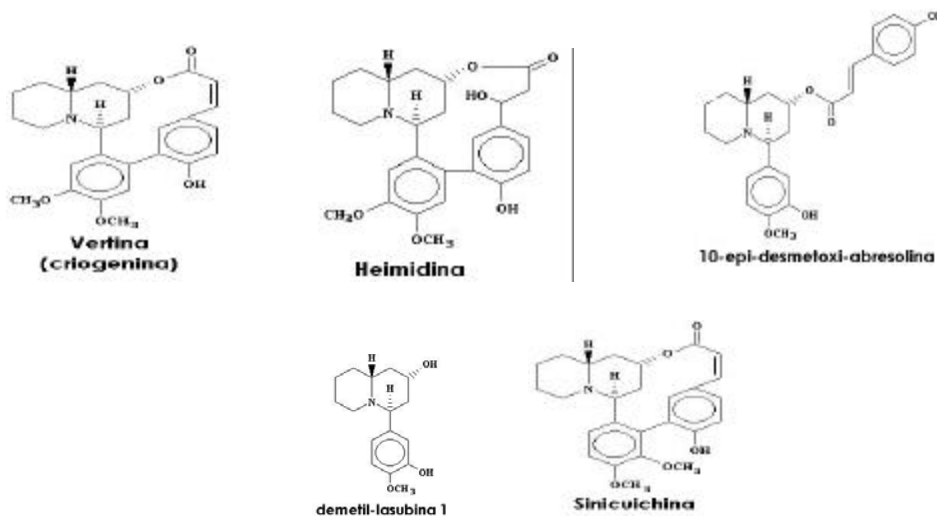


Figura 8. Estructura de los alcaloides de *Hemia salicifolia* en posición cis-quinolizidina

TABLA 2. PRINCIPALES ALCALOIDES DE TIPO TRANS-QUINOLIZIDINA

Alcaloide	No. de Carbonos	Sustitución
Litrina	23	Dimetoxilo
Nesodina	22	Dimetoxilo
Abresolina	23	Alcaloide ester
Lifolina	23	Hidroxilo
Dehidrodecodina	22	Metoxilo
Demethi-lasubina II	23	Phenyquinolizidinol

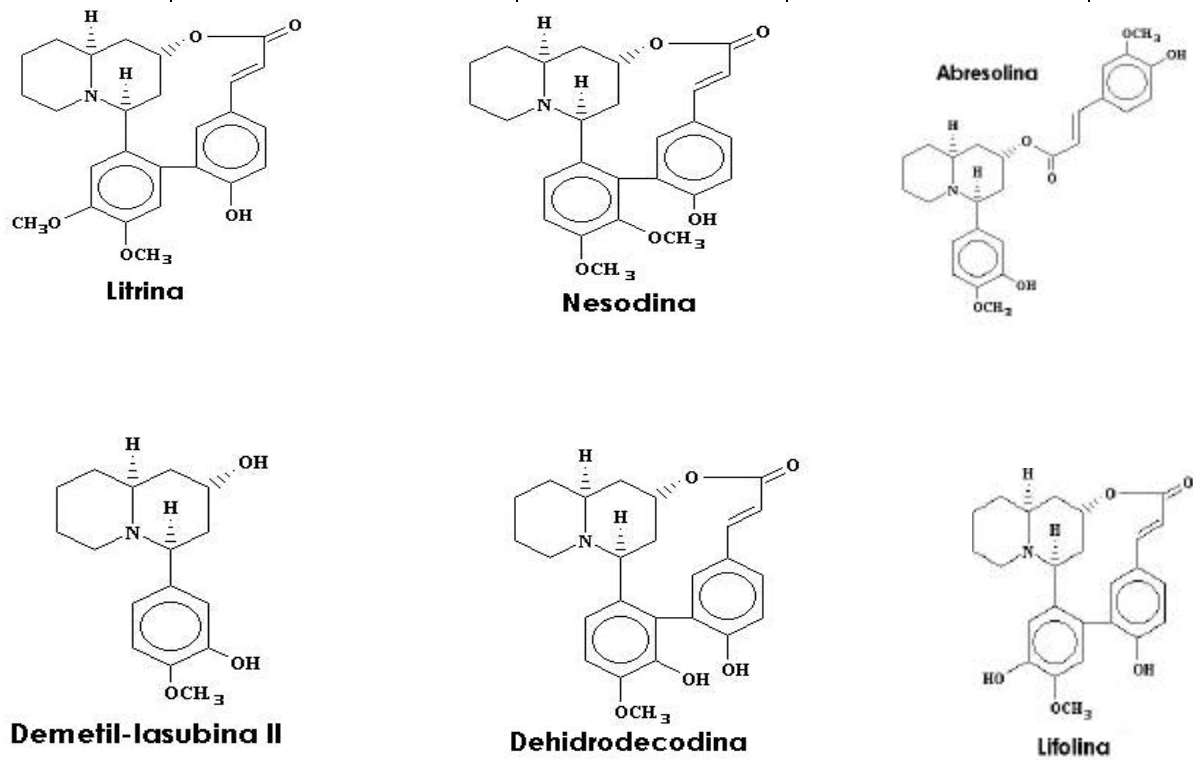


Figura 9. Estructura de los alcaloides de *Heimia salicifolia* en posición Trans-quinolizidina

3. 3. FARMACOLÓGICOS

Kaplan (1966) encontró que la administración continua de los alcaloides aislados vertina y litrina en dosis de 100 mg/kg/día ayudan a disminuir la presión arterial en ratas normotensas. El grupo de Malone y Rother. (1994) realizaron una revisión bibliográfica fitoquímica y fitofarmacológica encontrando que vertina cuando es administrada en dosis de 100 mg/kg/día durante 21 días a ratas normotensas les produce hipotensión, (Robichaud, 1964 y Malone, 1972) mientras que litrina al ser administrado en la misma dosis tiene actividad diurética en ratas normotensas (Kaplan, 1966 y Malone, 1972).

4.0 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se dispone de una gran variedad de fármacos para el tratamiento de la hipertensión, sin embargo su costo es elevado y en muchas ocasiones no se encuentran al alcance de todos los pacientes hipertensos o bien, debido a que gran parte de estos fármacos producen efectos secundarios, ha ocasionado que los pacientes abandonen estos medicamentos y busquen otras alternativas de tratamiento como es el caso de las plantas medicinales. Una de estas plantas es el arbusto *Heimia salicifolia* del cual hay recientes investigaciones que han demostrado que su extracto acuoso disminuye la presión arterial al administrarlo a ratas normotensas. Y ya que existen algunos trabajos que indican que los alcaloides de este arbusto poseen acciones cardiovasculares, nos interesó estudiar el efecto de los alcaloides de las hojas de *H. salicifolia* sobre la presión sanguínea y la hipertensión arterial. Estos estudios nos permitirán aportar datos para validar científicamente el efecto antihipertensivo de esta planta.

5.0. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto antihipertensor de los alcaloides aislados y parcialmente purificados de *Heimia salicifolia*.

OBJETIVOS PARTICULARES

Aislar los alcaloides de *Heimia salicifolia*

Realizar curvas dosis-respuesta a los alcaloides parcialmente purificados y aislados de *Heimia salicifolia* en la rata normotensa.

Realizar curvas dosis-respuesta a angiotensina II en la rata normotensa en ausencia y presencia de los alcaloides parcialmente purificados y aislados.

Estudiar el efecto de los alcaloides aislados sobre la reactividad vascular renal.

6.0. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. FÁRMACOS

Los fármacos utilizados fueron Angiotensina II (Ang II), Fenilefrina (FEN), Nw-nitro-L-arginina metil ester hidrocloreuro (L- NAME), (SIGMA), Acetilcolina (Ach) (MERCK) y Atropina. Las soluciones de todos los fármacos fueron preparadas el día del experimento. Cada fármaco fue disuelto en solución krebs a excepción de la ANG II que fue disuelta en solución salina estéril. La FEN fue preparada a partir de una concentración de 1mg/ml de esta solución se tomó para cada experimento una alícuota y posteriormente se realizaron diluciones. Las soluciones fueron mantenidas en refrigeración durante el transcurso del experimento hasta el momento de su utilización.

Para la Achse preparó una solución de 1 mg/ml de la cual se tomó una alícuota para realizar diluciones hasta tener una solución stock de 10^{-4} M.

Angiotensina II (1 mg/ml). Para la preparación de angiotensina se realizaron diluciones 1:10 (solución isotónica 0.9%) para llegar a una solución de 1 ì g/ml, a partir de esta solución se calcularon los volúmenes adecuados que correspondan a la dosis ajustada al peso de cada rata, para la realización de las curvas dosis respuestas de 25-250 ng/kg.

L-NAME (SIGMA, Nw-nitro-L-arginina metil ester hidrocloreuro). El L-NAME fue preparado a una concentración de 2×10^{-4} M.

La atropina fue preparada en el momento de realizar el experimento a una concentración de 10^{-7} M.

Mezcla de alcaloides parcialmente purificados. Se preparó una solución de 20 mg/ml utilizando como diluyentes solución salina estéril, dimetil sulfóxido (Merck) y etanol (J.T. Baker).

6.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron ratas Wistar macho de 300-350 gramos de peso corporal proporcionadas por el Bioterio de la FES Iztacala, UNAM mantenidas en condiciones ambientales con agua y alimento *ad libitum*.

6.3. OBTENCIÓN DE LA PLANTA

La planta se obtuvo en el Mercado de Sonora (México, D.F.) y se seleccionó material para la obtención de ejemplares botánicos que se determinaron en el Herbario "IZTA" del de la FES Iztacala, UNAM.

6.4. AISLAMIENTO DE LOS ALCALOIDES

Para el aislamiento de los alcaloides se utilizó la metodología descrita por Blosser y col., (1964). Se utilizó un 1Kg de hojas secas pulverizadas, las cuales se desengrasaron con 4L de éter de petróleo (J.T.Baker). Después se extrajo exhaustivamente con 5L de metanol (J.T.Baker) por 24 h. Posteriormente se realizó la prueba de Dragendorff para verificar la presencia de alcaloides. El extracto metanólico se concentró al vacío en un rotavapor (Buchi modelo Mp60) hasta obtener un volumen de 50 ml. Se dejó secar a 50°C por 24 h. Después se resuspendió en 100 ml de agua destilada. El extracto acuoso obtenido se acidificó a pH 2 con ácido clorhídrico (Tec. Quim) al 10%, que se midió con un potenciómetro (Conductro). Se filtró con celita (Sigma). El filtrado se lavó con 500 ml de éter dietílico (J.T.Baker), se ajustó nuevamente el pH a 9 con hidróxido de amonio al 28% (J.T.Baker). La solución se extrajo con 200 ml de cloroformo (J.T.Baker). El extracto clorofórmico se concentró en un rotavapor (Buchi modelo Mp60), se dejó secar a 50°C por 24 h. se adsorbió en 50 g de óxido de aluminio (J.T.Baker) y se colocó en una columna de 60 X 2 cm la cual contenía sílica gel G 60 (Sigma). El eluyente utilizado fue metanol-cloroformo (J.T.Baker) (1:1) y finalmente metanol.

De las fracciones obtenidas se realizó una cromatografía en capa fina de sílica gel G 60 (Sigma) de 20 X 20 cm, espesor 0.3 mm, previamente activadas a 100°C durante 30 min, fueron colocadas en una cámara para cromatografía que contenía metanol-cloroformo 3:2. Posteriormente se procedió a separar cada alcaloide.

6.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

REGISTRO DE PRESIÓN ARTERIAL

Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico a una dosis de (35 mg/kg, vía i.p.), y se colocaron en una tabla de disección; con ayuda del material de disección se les realizó una incisión en la zona inguinal a través del cual se localizó el paquete vascular y se disecó la vena femoral y se colocó un catéter que contenía solución salina al 0.9% y 100 U de heparina/ml, en contra del torrente sanguíneo. En seguida se hizo una insición en el cuello y se localizó el paquete vascular y se disecó la arteria carótida externa derecha y se colocó un catéter, también con solución salina y heparina, en contraflujo del torrente sanguíneo y el otro extremo de la cánula se conectó a un transductor de presión previamente calibrado (Narco Bio-System Mod. P-1000B) que a su vez estaba conectado a un fisiógrafo para registrar la presión sistólica (Mod. DMP-4B). Inicialmente se registró la presión por 20 min o hasta que el registro fuera estable.

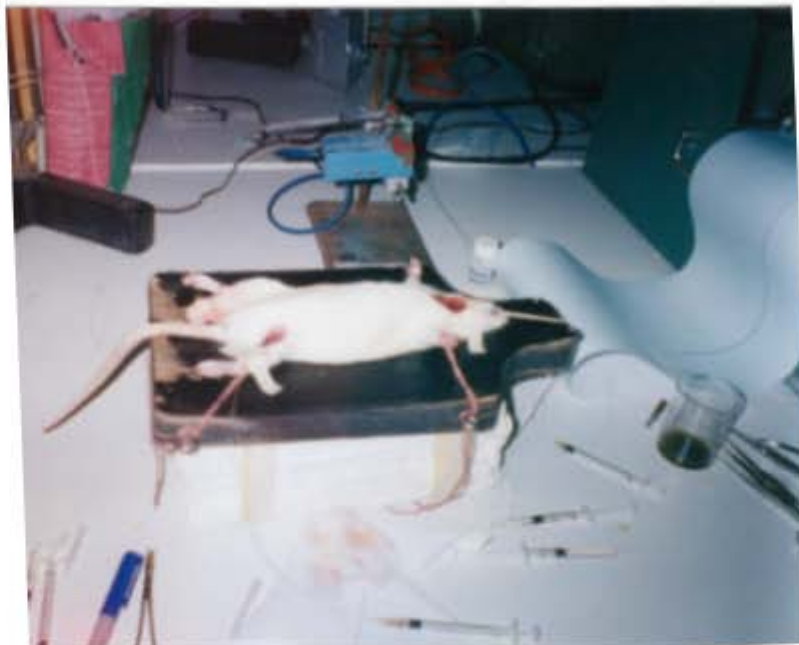


Figura 10. Modelo experimental de rata normotensa anestesiada con pentobarbital utilizada para el registro de presión arterial en la arteria carótida y aplicación de los fármacos a través de la vena femoral.

6.5.1. CURVAS DOSIS-RESPUESTA A ANGIOTENSINA II

Una vez que el registro de presión fue estable, se realizó una serie de curvas dosis-respuesta a angiotensina II utilizando dosis crecientes de 25-250 (ng/kg).

6.5.2. CURVA DOSIS-RESPUESTA A CADA UNO DE LOS ALCALOIDES

Una vez que el registro de presión fue estable se realizó una serie de curvas dosis-respuesta a cada alcaloide con dosis crecientes (1- 2 mg/kg).

6.5.3. CURVAS DOSIS-RESPUESTA A ANGIOTENSINA II EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE LOS ALCALOIDES

Una vez obtenida la curva dosis respuesta a angiotensina II se esperó a que la presión regresara a su nivel inicial, y enseguida se administró una sola dosis de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados.

Después de 10 min se realizó nuevamente la curva dosis-respuesta a Ang II utilizando las mismas dosis que en la curva control para observar como se comportaba ante la presencia de dichos alcaloides y comparar ambas curvas.

6.5.4. ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD VASCULAR RENAL

Las ratas previamente anestesiadas con pentobarbital sódico (35 mg/kg, vía i.p.), se les colocó en una tabla de disección; con ayuda del material de disección se realizó una incisión media en la cavidad abdominal y se expuso el riñón derecho, se disecaron las arterias renal derecha, mesentérica y aorta, las cuales se refirieron con hilo de seda, se ocluyó la aorta por debajo del riñón derecho; enseguida se hizo una incisión en la arteria mesentérica y a través de ésta con una aguja del No. 19 unida a una jeringa que contenía solución Krebs (composición (mM): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, NaH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 2.5 y glucosa 11.5) se canuló la arteria renal derecha; y el riñón se extrajo del cuerpo del animal y se suspendió en una cámara para órgano aislado con doble pared tipo Langendorff; mediante una bomba Brickman 1C-2 se hizo circular agua a

37 °C. El riñón se perfundió con solución Krebs, previamente burbujeada con carbógeno (O₂/CO₂ 95:5%) a un pH de 7.4 y 37°C. a un flujo constante, utilizando una bomba peristáltica (manostat) el flujo de perfusión fue constante de 8-10 ml / min, produciendo una presión de perfusión de 50 mmHg (basal), la cual se midió con un transductor de presión unido a un amplificador (Kent) y a un fisiógrafo (Narco Bio-System Mod. P-1000B). El riñón se dejó estabilizar por 15 min. Los cambios en la presión de perfusión fueron considerados como cambios en la reactividad vascular, un aumento o decremento en la presión de perfusión se interpretó como vasoconstricción y/o vasodilatación respectivamente. Una vez que el registro de presión se mantuvo estable se realizaron las siguientes series experimentales.



Figura 11. Sistema Langendorff para el estudio de la reactividad vascular en el riñón de rata aislado perfundido con solución Krebs.

6.5.4.1. CURVA DOSIS-RESPUESTA A ACETILCOLINA EN EL RIÑÓN PRECONTRAÍDO CON FEN.

Una vez que el registro de la presión de perfusión basal se mantuvo estable y en un valor de 52 mm Hg, en seguida se perfundió con FEN 10⁻⁵ M en solución Krebs. Después de que aumentó la presión a 88 mm Hg y se mantuvo estable,

lo que indica que el lecho vascular renal se encontraba precontraído, se administró acetilcolina en dosis únicas (en bolo) de 0.04 a 0.3 μg .

6.5.4.2. CURVA DOSIS-RESPUESTA AL ALCALOIDE 3 EN EL RIÑÓN PRECONTRAÍDO CON FEN.

Una vez que el registro de la presión de perfusión basal se mantuvo estable y en un valor de 52 mm Hg, enseguida se perfundió con FEN 10^{-5} M en solución Krebs; después de que aumentó la presión 88 mmHg y se mantuvo estable, se administró el alcaloide 3 en dosis en bolo de 30, 50, 70, 90 y 120 μg .

6.5.4.3. CURVA DOSIS-RESPUESTA A ACETILCOLINA EN EL RIÑÓN PRECONTRAÍDO CON L-NAME

Una vez que el registro de la presión de perfusión basal se mantuvo estable y en un valor de 57 mm Hg, en seguida se perfundió con L-NAME 10^{-4} M en solución Krebs; después de que aumentó la presión 87 mmHg y se mantuvo estable, se administró acetilcolina en dosis únicas (en bolo) de 0.04 a 0.3 μg

6.5.4.4. CURVA DOSIS-RESPUESTA AL ALCALOIDE 3 EN EL RIÑÓN PRECONTRAÍDO CON L-NAME

Una vez que el registro de la presión de perfusión basal se mantuvo estable y en un valor de 57 mm Hg, en seguida se perfundió con L-NAME 10^{-4} M en solución Krebs; después de que aumentó la presión 87 mmHg y se mantuvo estable, se administró el alcaloide 3 en dosis en bolo de 30, 50, 70, 90 y 120 μg .

6.5.4.5. CURVA DOSIS-RESPUESTA A ACETILCOLINA EN EL RIÑÓN PRECONTRAÍDO CON L-NAME MÁS ATROPINA

Una vez que el registro de la presión de perfusión basal se mantuvo estable y en un valor de 50 mm Hg, en seguida se perfundió con L-NAME 10^{-4} M más atropina 10^{-7} M en solución Krebs; después de que aumentó la presión 84 mmHg y se mantuvo estable, se administró acetilcolina en dosis únicas (en bolo) de 0.04 a 0.3 μg

6.5.4.6. CURVA DOSIS-RESPUESTA AL ALCALOIDE 3 EN EL RIÑÓN PRECONTRAIDO CON L-NAME MÁS ATROPINA

Una vez que el registro de la presión de perfusión basal se mantuvo estable y en un valor de 50 mm Hg, en seguida se perfundi6 con L-NAME 10^{-4} M m6s atropina 10^{-7} M en soluci6n Krebs; despu6s de que aument6 la presi6n 84 mmHg y se mantuvo estable, se administr6 el alcaloide 3 en dosis en bolo de 30, 50, 70, 90 y 120 μ g.

6.5.4.7. TOXICIDAD AGUDA

Se utilizaron ratones CD-1 machos de 20-25 gramos de peso corporal, que fueron proporcionados por el Bioterio de la FES Iztacala, UNAM mantenidos en condiciones ambientales con agua y alimento *ad libitum*. Se formaron 4 grupos de 5 ratones y a cada grupo se les administr6 por v6a intraperitoneal (i.p.) la mezcla de alcaloides parcialmente purificados en dosis de 50, 100, 250 y 500 mg/kg y se realizaron observaciones por 1 h y posteriormente a las 24 h.

6.5.4.8. AN6LISIS ESTAD6STICO

Con los datos obtenidos de todas las series experimentales se calcularon la media y el error est6ndar de la media (EEM); posteriormente para determinar la significancia entre los tratamientos se utiliz6 la prueba de t-student para datos no pareados, la prueba se consider6 significativa cuando $p < 0.05$.

7.0. RESULTADOS

7.1. IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA

La planta fue identificada en el Herbario "IZTA" de la FES Iztacala, UNAM como *Heimia salicifolia* (HBK.) Link el ejemplar de respaldo se integro a la colección científica con el número de registro 41653.

7.2. ALCALOIDES AISLADOS

Con las técnicas químicas de extracción y separación utilizados y partiendo de 900 g de hojas secas de *Heimia salicifolia* se obtuvo un rendimiento de 0.310 g de alcaloides lo que corresponde al 0.034%.

Por medio de la cromatografía en capa fina con la mezcla de disolventes cloroformo-metanol 3:2 del extracto total se logró separar 4 alcaloides. En la Tabla 1 se muestra la relación de frente (Rf) de los alcaloides separados.

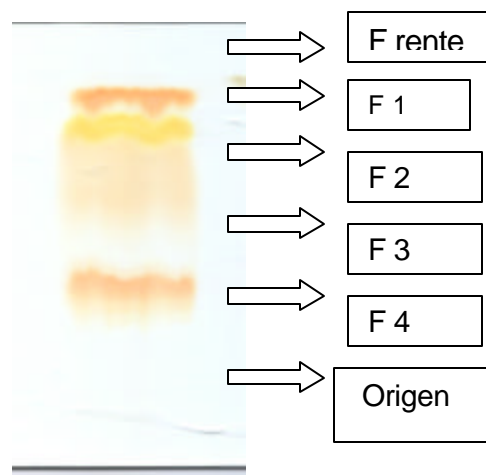


Fig.12. Separación cromatográfica del clorofórmico de *Heimia salicifolia* con la cloroformo-metanol (3:2). (*F Fracción).

Alcaloide	Rf	Rf Dobberstein
F1	0.92	0.86
F2	0.87	0.68
F3	0.55	0.54
F4	0.35	0.15

extracto
mezcla

7.3. EFECTO DE LA ANGIOTENSINA II SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL

Al realizar la curva dosis-respuesta a Ang II en ratas anestesiadas normotensas con una PAS basal de 128 ± 8 mm Hg se observó un incremento de la PAS proporcional a la dosis de Ang II, observándose que con la dosis de 100 ng/kg el efecto máximo alcanzado fue $165 \text{ mm Hg} \pm 1.64 \text{ mm Hg}$ lo que indica un incremento de 37 ± 1.64 mm Hg (Fig.13.).

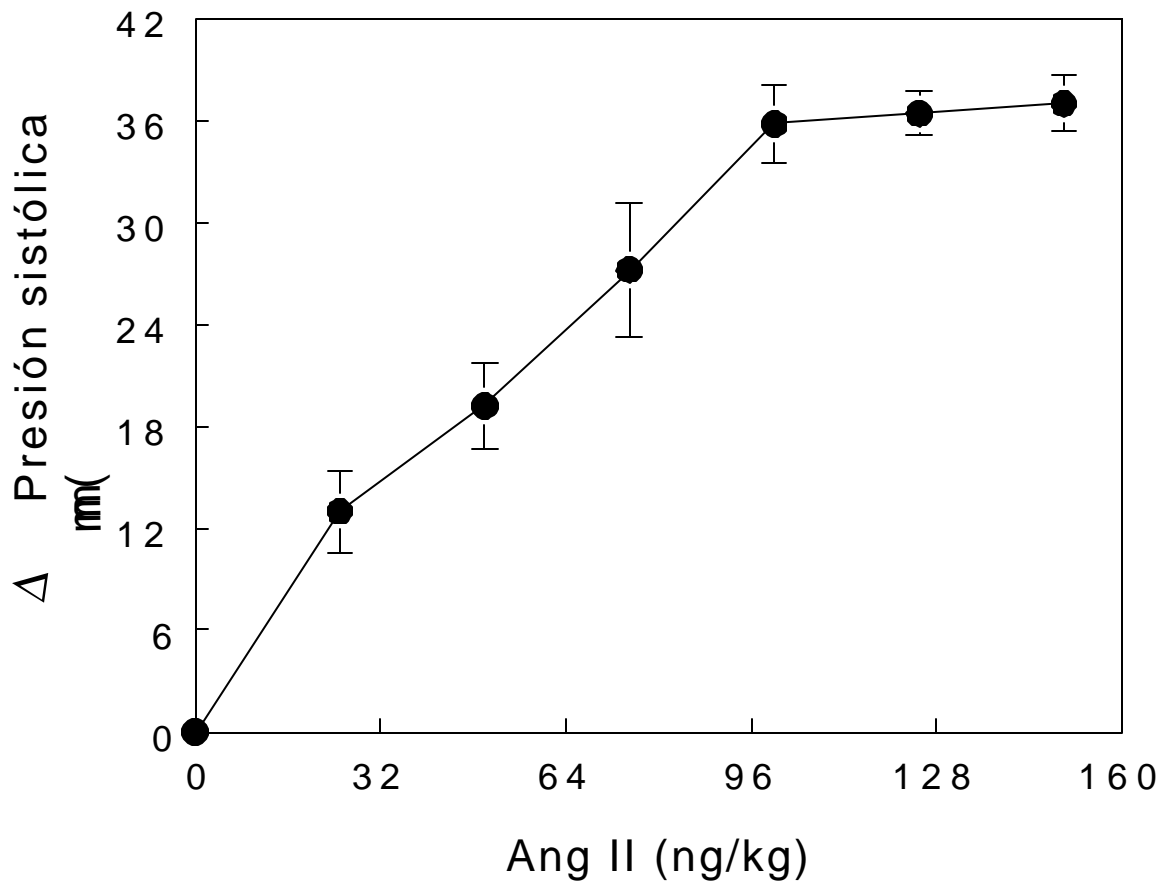


Figura. 13. Curva dosis-respuesta a Ang II en ratas normotensas; cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

7.4. EFECTO DE LA MEZCLA DE LOS ALCALOIDES AISLADOS SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.

La administración de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados de las hojas de *Heimia salicifolia* a animales normotensos produjo un decremento máximo de la PAS de 20 ± 7 mm Hg a partir de la dosis de 1 mg/kg (Fig.14).

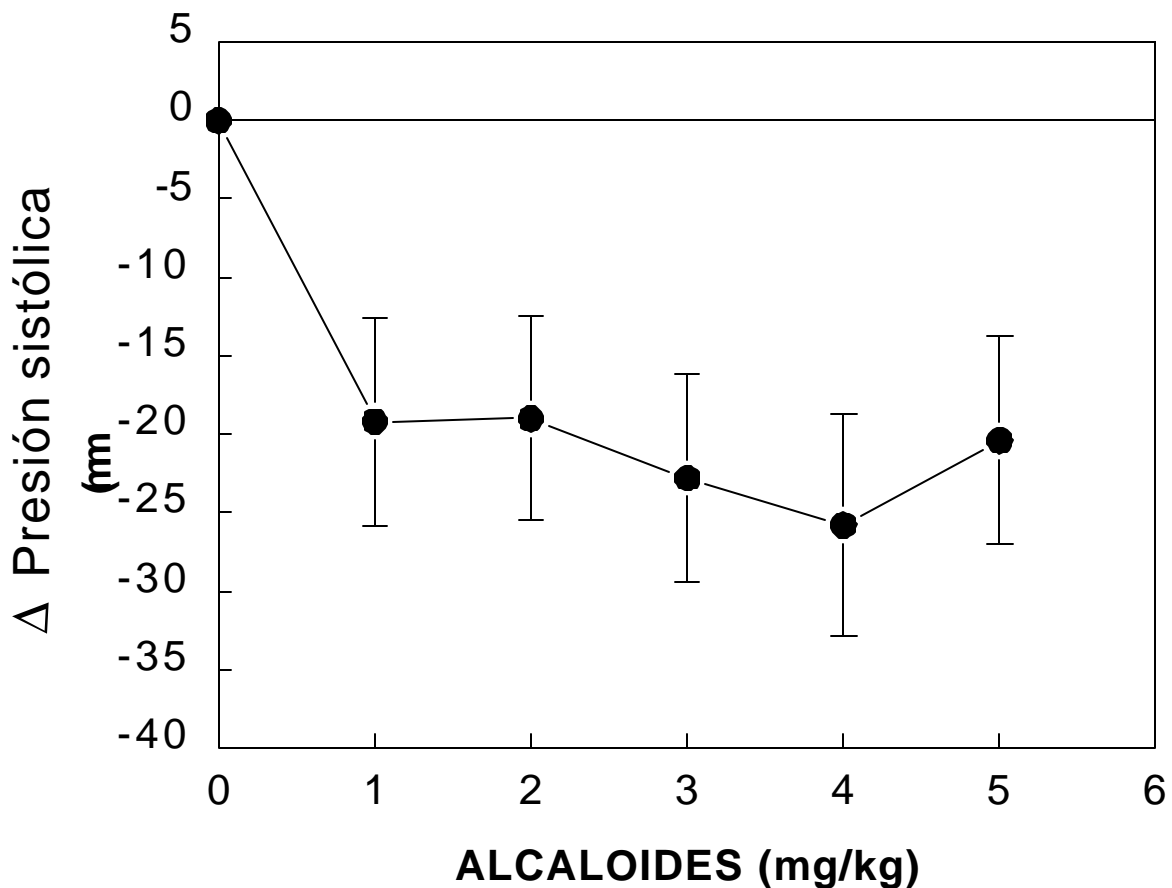


Figura. 14. Efecto de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados de *Heimia salicifolia* cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

7.5. EFECTO DE LA MEZCLA DE ALCALOIDES EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE ANG II

Al realizar la curva dosis-respuesta a Ang II en presencia de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados (2 mg/kg) de *Heimia salicifolia* se observó desplazamiento hacia la derecha de la curva de Ang II observándose una inhibición del 40% de la repuesta máxima con la dosis de 100 ng/kg (Fig.15).

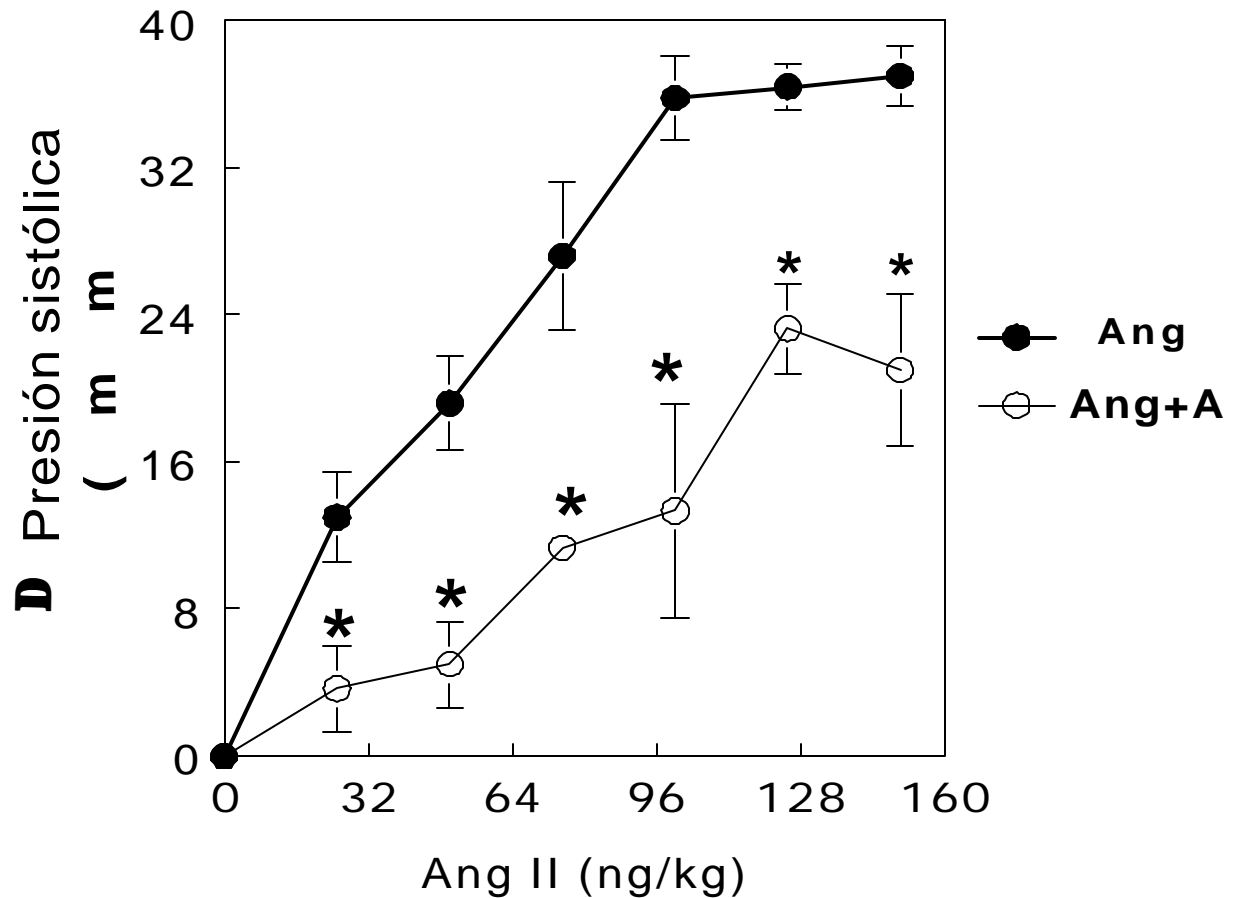


Figura. 15. Curvas dosis-respuestas a Ang II en ausencia y presencia de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados; cada punto de la curva corresponde a la media de \pm EEM; n=5. * P<0.05

7.6. EFECTO DE LOS ALCALOIDES SEPARADOS SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL

Al realizar la curva dosis-respuesta al alcaloide 1 en dosis crecientes de 1-2 mg/kg se observó un ligero decremento de la PAS el cual no fue significativo (Fig. 16).

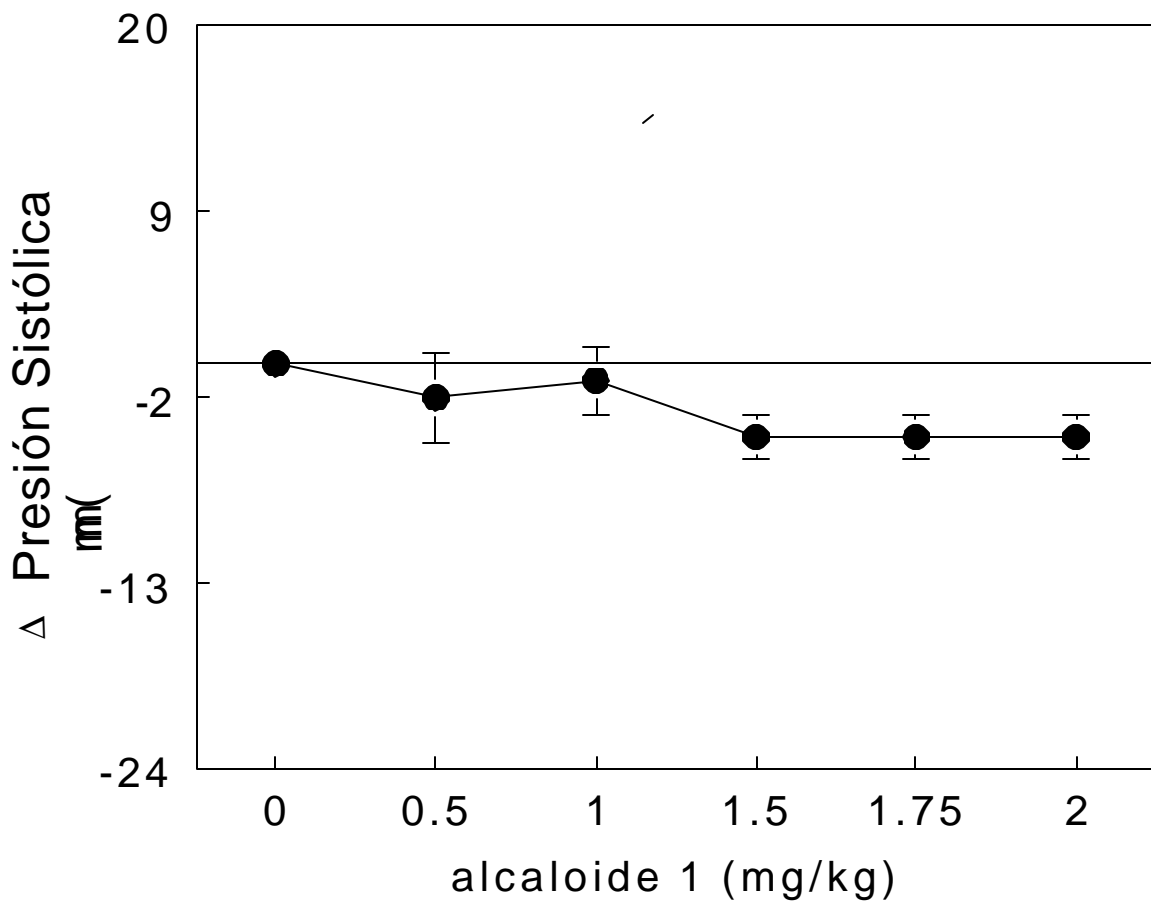


Figura. 16. Efecto del alcaloide 1 (R.f.=0.92) aislado de *Heimia salicifolia* sobre la presión arterial de ratas normotensas; cada punto de la curva corresponde a la media de \pm EEM; n=5.

Hg)

Al realizar la curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 1 con la dosis de 2 mg/kg, no se afectó la respuesta hipertensora de Ang II como se observa en la (Fig.17).

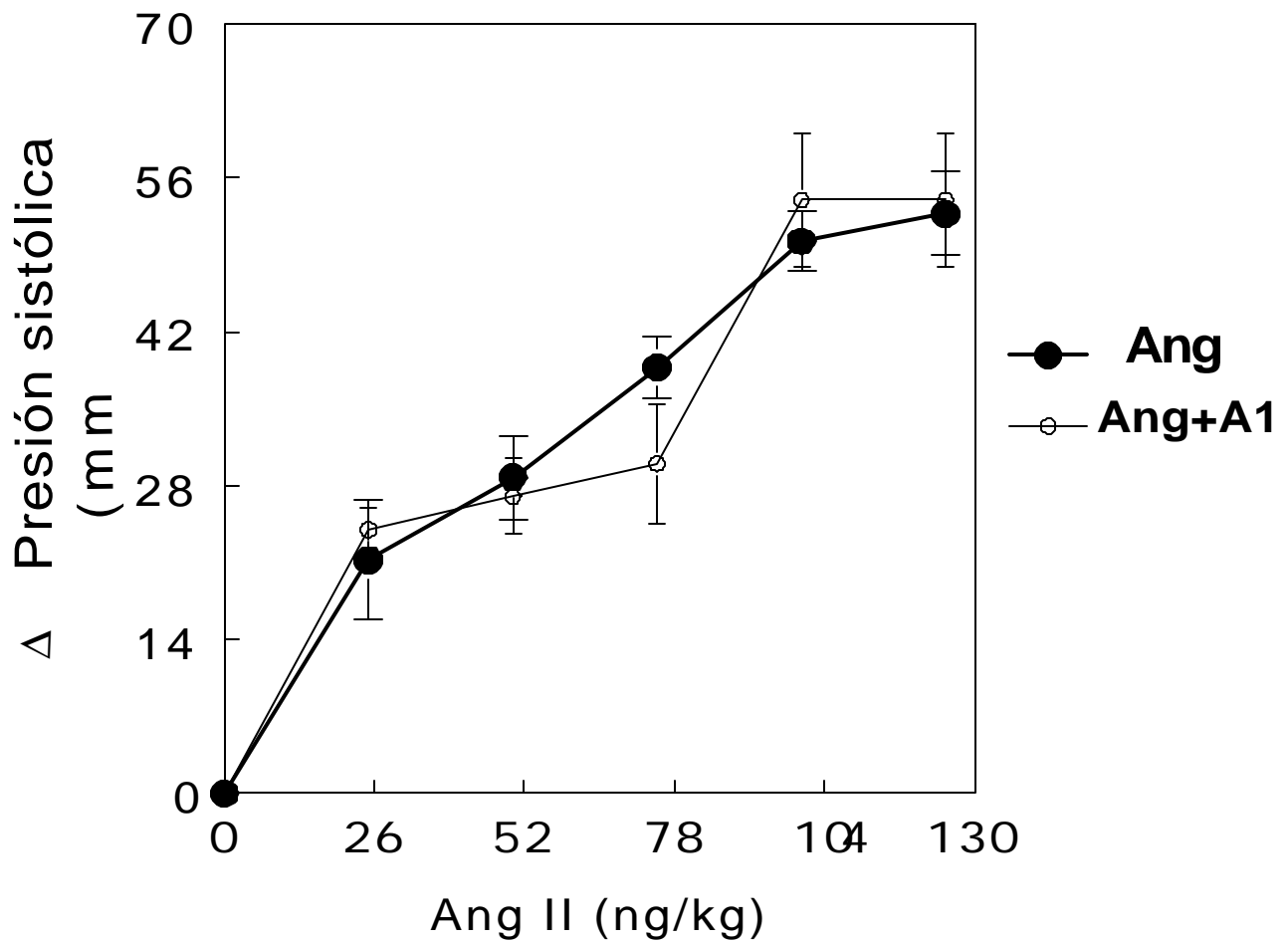


Figura. 17. Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 1. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

Al realizar la curva dosis-respuesta al alcaloide 2 en dosis crecientes de 1-2 mg/kg se produjo un decremento máximo de la PAS de 26 ± 3 mm Hg (Fig.18).

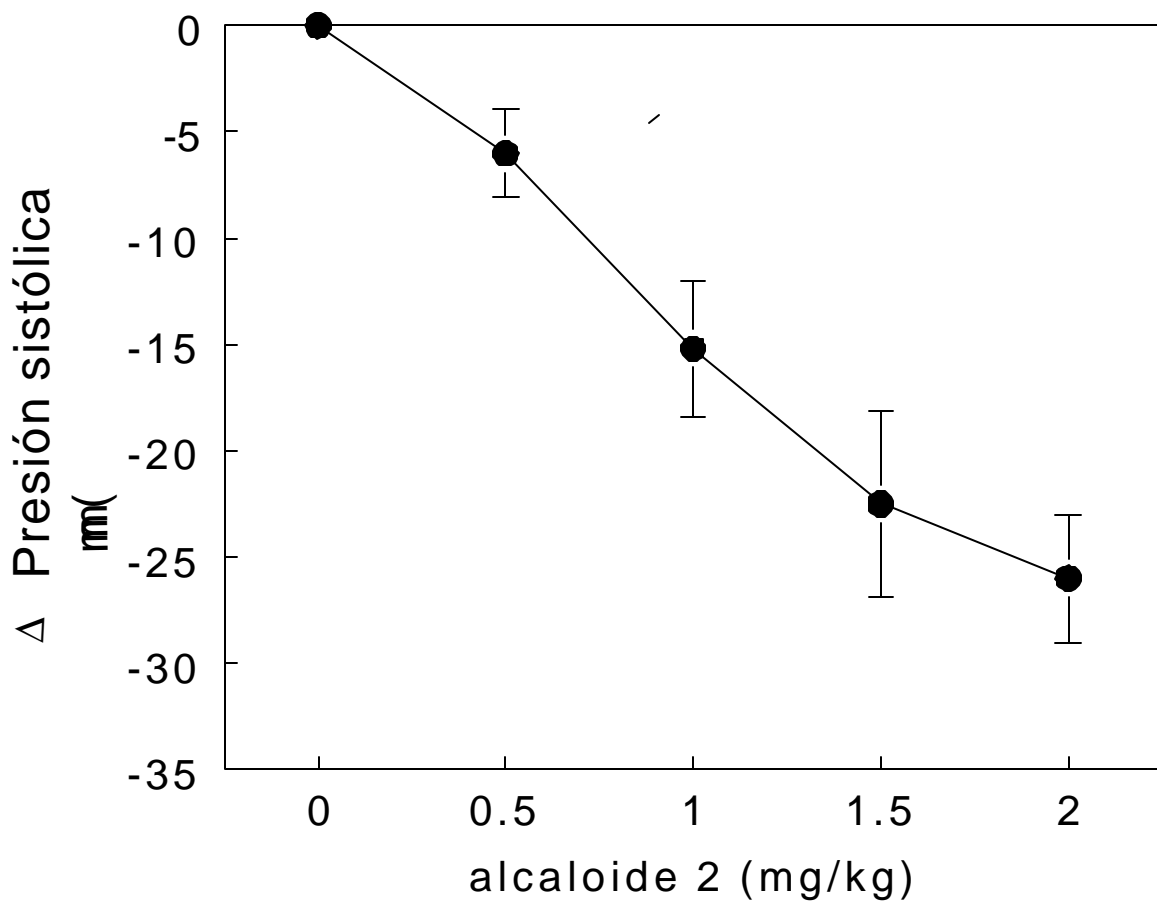


Figura. 18. Efecto del alcaloide 2 cuyo (R.f.=0.87) sobre la presión arterial de ratas normotensas. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

Al realizar la curva dosis-respuesta a ang II en presencia del alcaloide 2 a la dosis de 2 mg/kg, se observó que la curva se desplazó hacia la derecha observándose una inhibición de la respuesta máxima del 17% (Fig. 19).

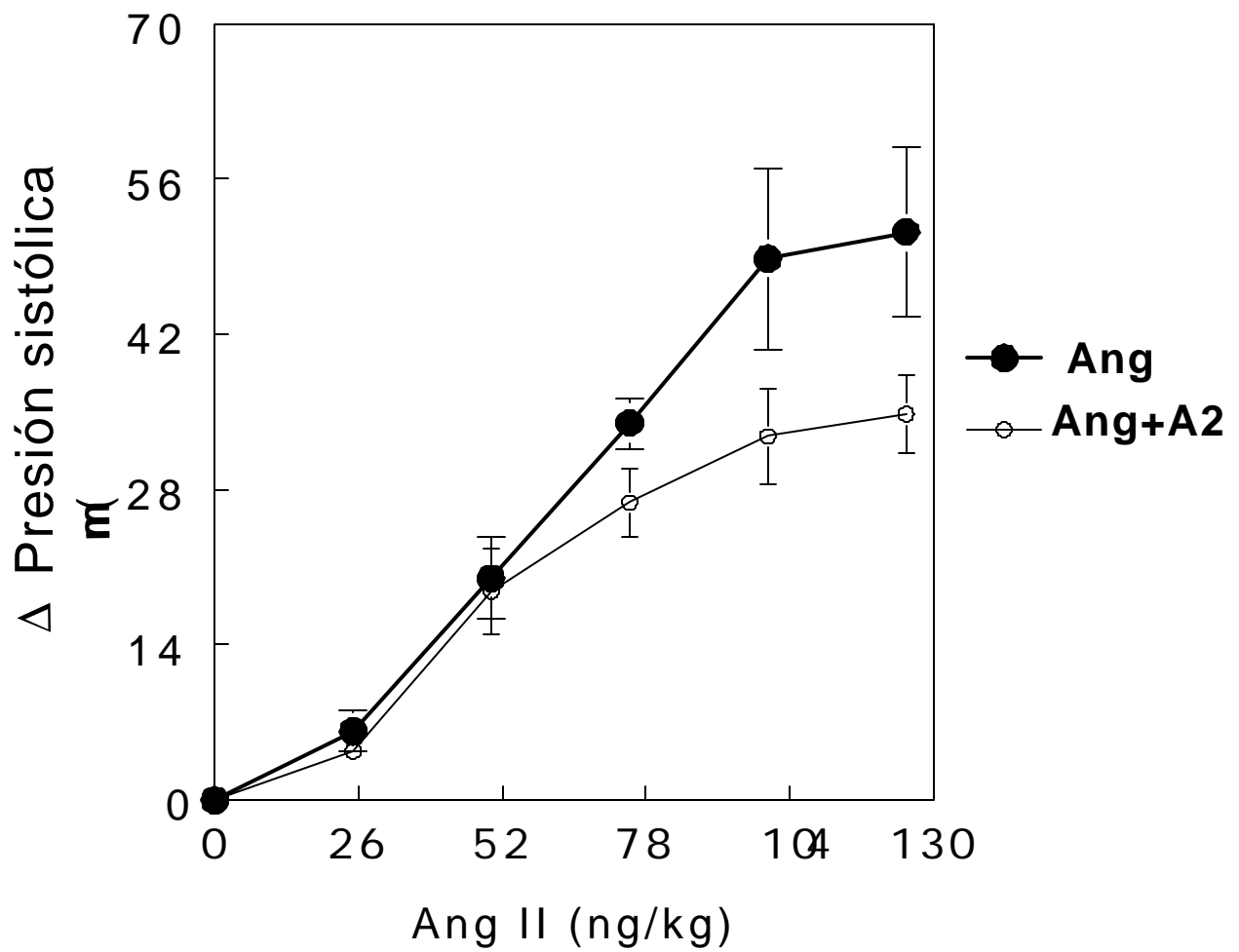


Figura. 19. Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 2 a la dosis de 2 mg/kg sobre la presión arterial de ratas normotensas. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

Al realizar la curva dosis-respuesta al alcaloide 3 en dosis crecientes de 1-2 mg/kg produjo un decremento máximo de la PAS de 27 ± 4 mm Hg, posteriormente se dejó que se recuperara hasta que regresó a su presión basal de 114 ± 3 mm Hg (Fig. 20).

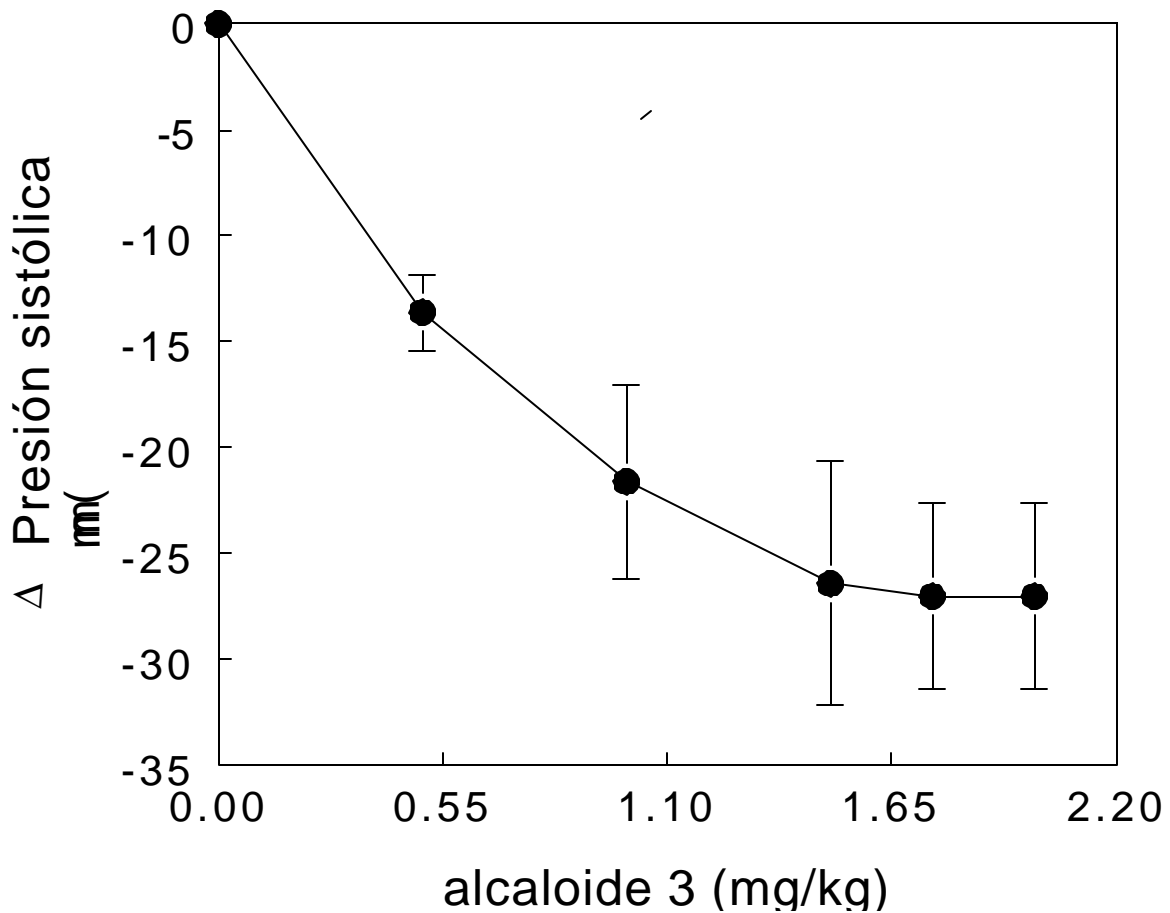


Figura. 20. Efecto del alcaloide 3 (R.f.=0.55) aislado de *Heimia salicifolia* sobre la presión arterial. en ratas normotensas. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

Al realizar la curva dosis-respuesta a ang II en presencia del alcaloide 3 a una dosis de 2 mg/kg, se observó que la curva a angiotensina II se desplazó hacia la derecha observándose una inhibición de la respuesta máxima del 30% (Fig. 21).

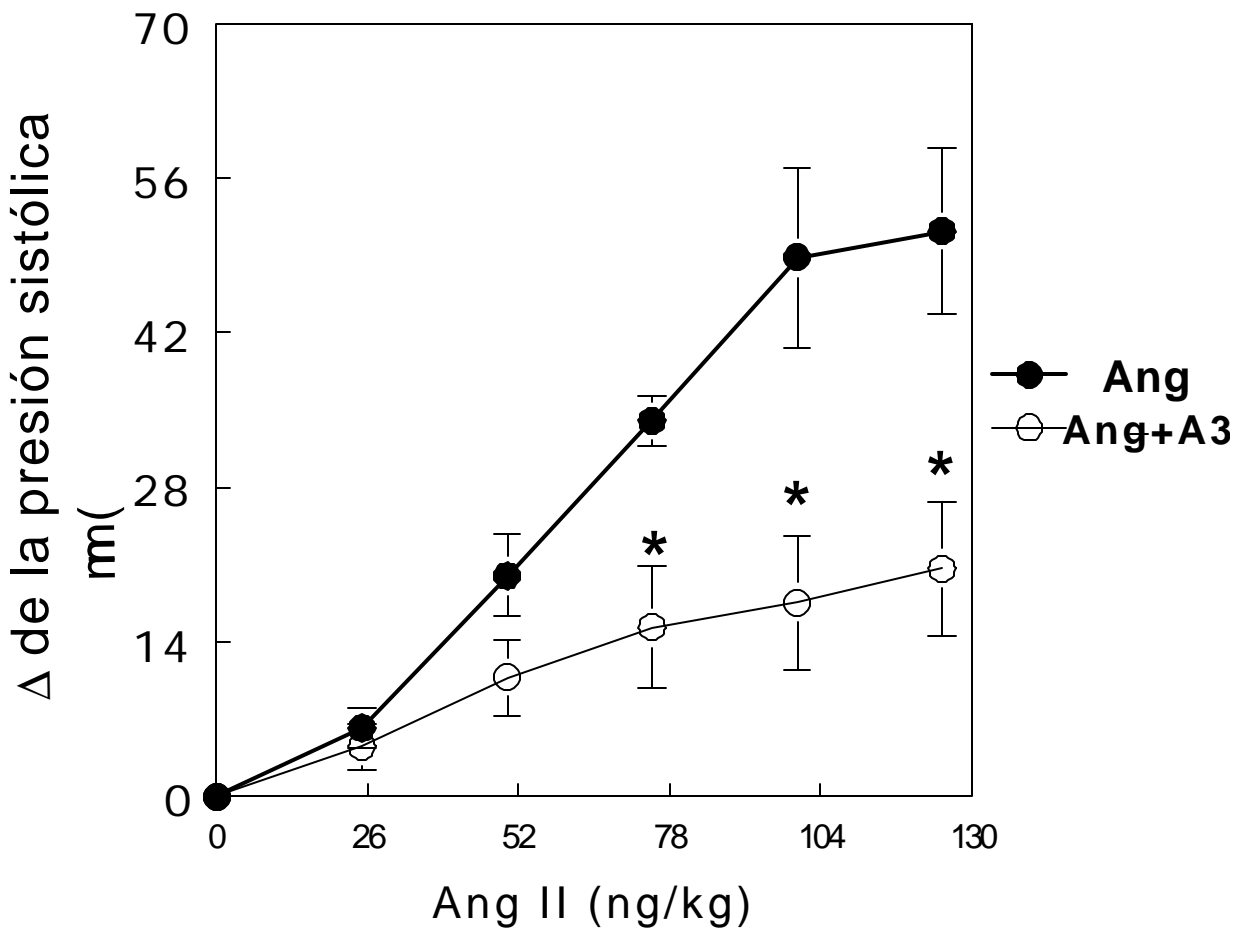


Figura. 21. Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 3 sobre la presión arterial de ratas normotensas. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5. * P< 0.05

Al realizar la curva dosis-respuesta al alcaloide 4 en dosis crecientes de 1-2 mg/kg produjo un incremento de la PAS de 15 ± 3 mm Hg, posteriormente se dejó que se recuperara hasta que llegara a su presión basal de 103 ± 2 mm Hg (Fig. 22).

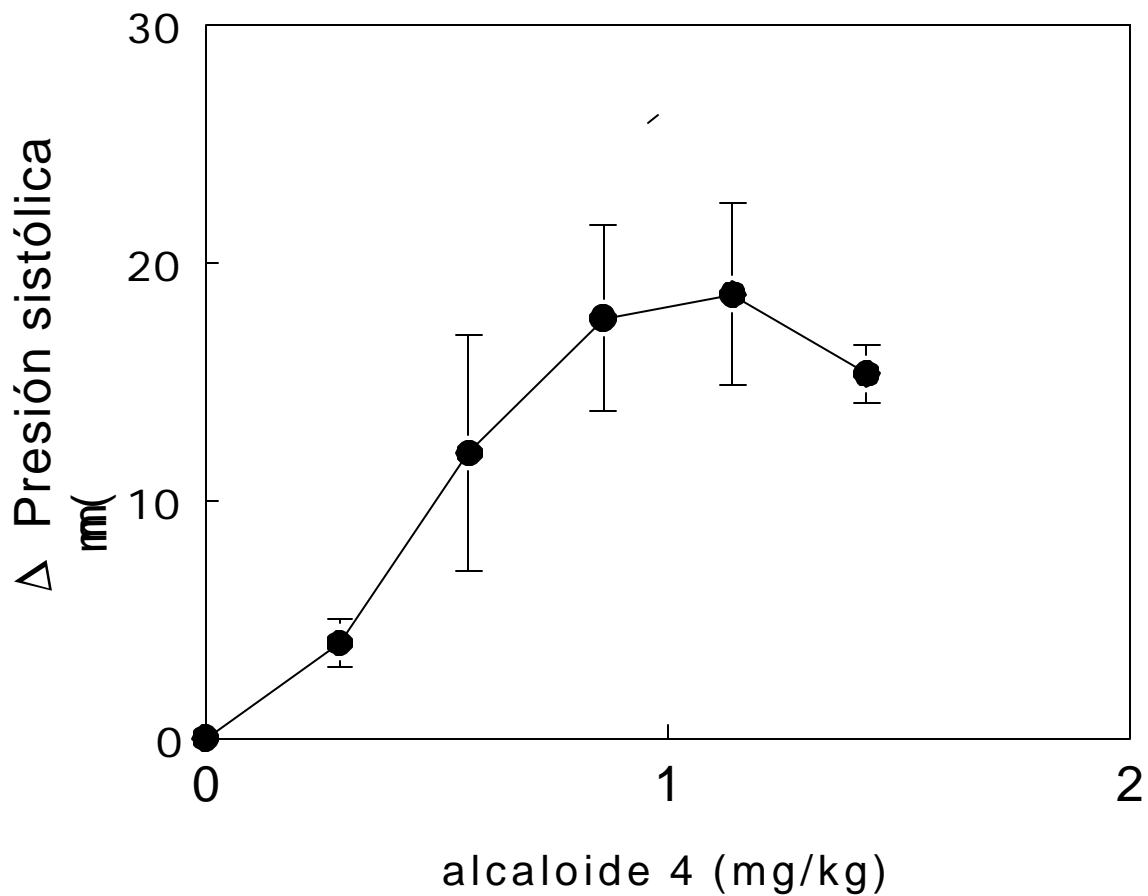


Figura. 22. Efecto del alcaloide 4 aislado de *Heimia salicifolia* con un valor de (R.f.=0.35) sobre la presión arterial en ratas normotensas. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

Al realizar la curva dosis-respuesta a ang II en presencia del alcaloide 4 con la dosis de 2 mg/kg, se observó que la curva a angiotensina II no mostró diferencias significativas con respecto a la curva de angiotensina II control (Fig. 23).

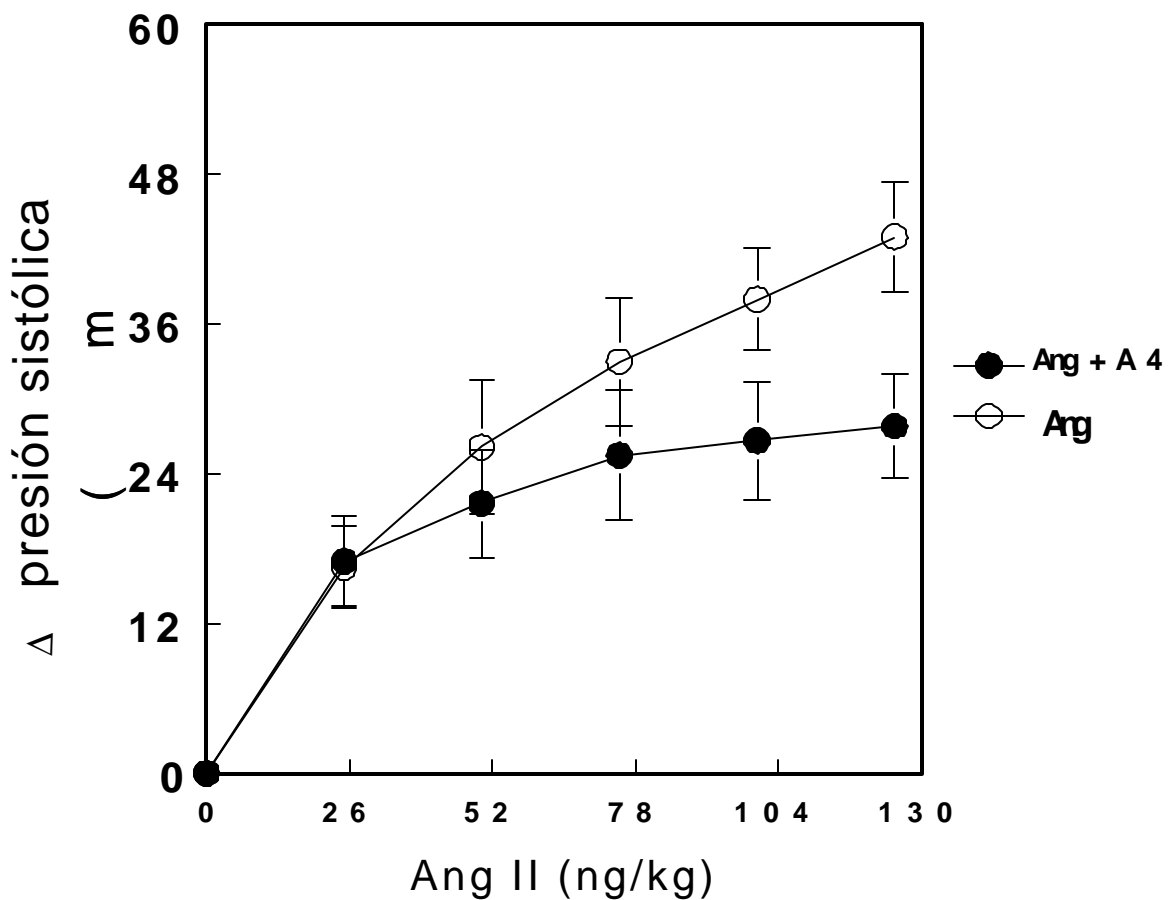


Figura. 23. Curva dosis-respuesta a Ang II en presencia del alcaloide 4. Sobre la presión arterial en ratas normotensas. Cada punto de la curva corresponde a la media \pm EEM; n=5.

m

7.7. EFECTO DE LA ACETILCOLINA SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR RENAL

La presión basal de perfusión fue de 52 ± 2.2 mm Hg; al perfundir solución Krebs con fenilefrina (10^{-5} M) la presión aumentó a 88 ± 1.2 mm Hg. En estas condiciones se realizaron curvas dosis respuesta a acetilcolina de 0.04 A 0.3 μ g y se observó disminución de la presión de perfusión dependiente de la dosis de acetilcolina., la disminución máxima de la presión de perfusión fue de 27 ± 2 mm Hg con 0.3 μ g de acetilcolina (Fig. 24).

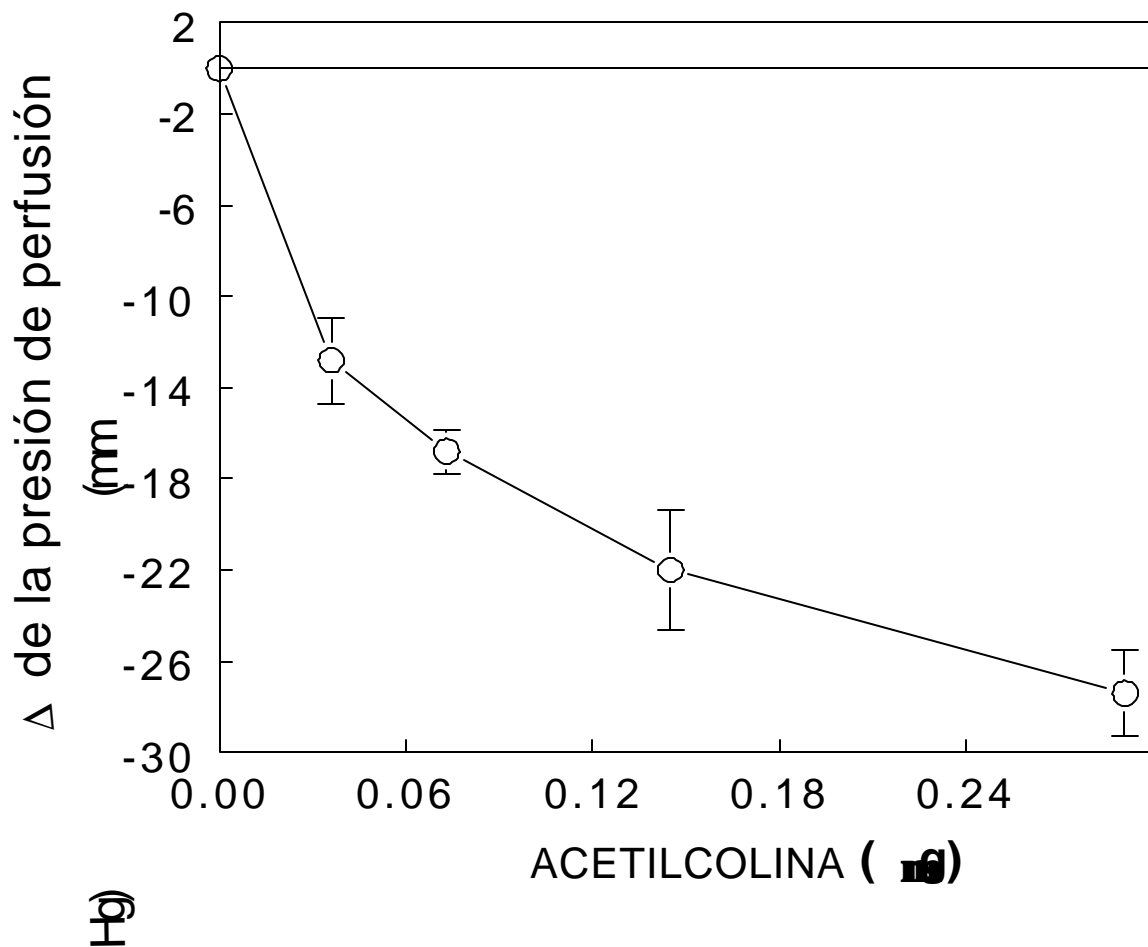


Figura. 24. Efecto de la acetilcolina sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en precontraído con FEN (10^{-5} M). n=5

7.8. EFECTO DEL ALCALOIDE 3 SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR RENAL

La presión basal de perfusión fue de 52 ± 2.2 mm Hg; al perfundir solución Krebs con fenilefrina (10^{-5} M) la presión aumentó a 88 ± 1.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta al alcaloide 3 (30, 50, 70, 90, 120 y 150 μ g) y se observó un decremento máximo de la presión de perfusión de 23 ± 2 mm Hg, respectivamente (Fig. 25).

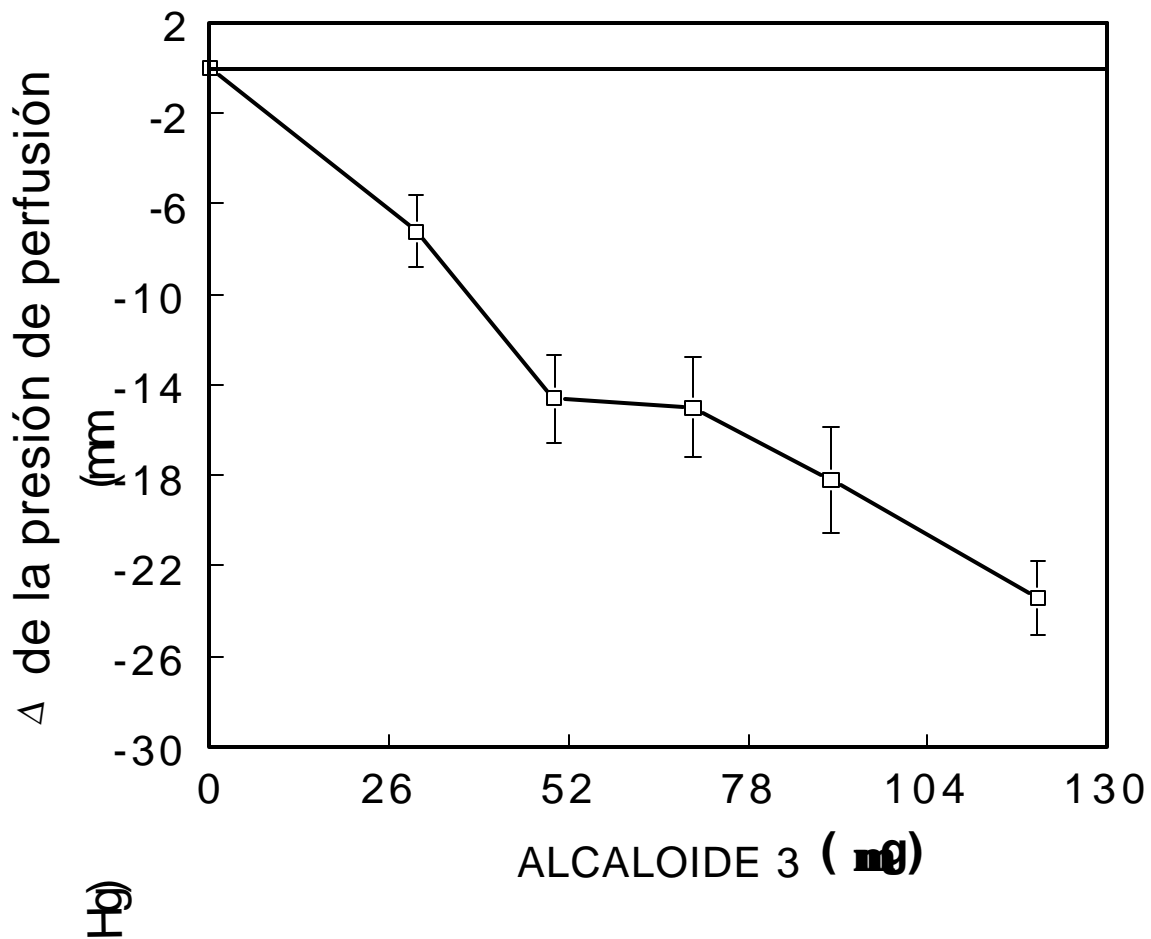


Figura. 25. Efecto del alcaloide 3 sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de FEN (10^{-5} M). n = 5

7.9. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR A ACETILCOLINA

La presión basal de perfusión fue de 52 ± 2.2 mm Hg; al perfundir solución Krebs con L-NAME (2×10^{-4} M). La presión aumentó a 87 ± 3.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta a acetilcolina de 0.04 a 0.3 μ g y se observó una disminución de la presión de perfusión dependiente de la dosis de acetilcolina., la disminución máxima de la presión de perfusión fue de 16 ± 0.8 mm Hg con 0.3 μ g de acetilcolina (Fig. 26).

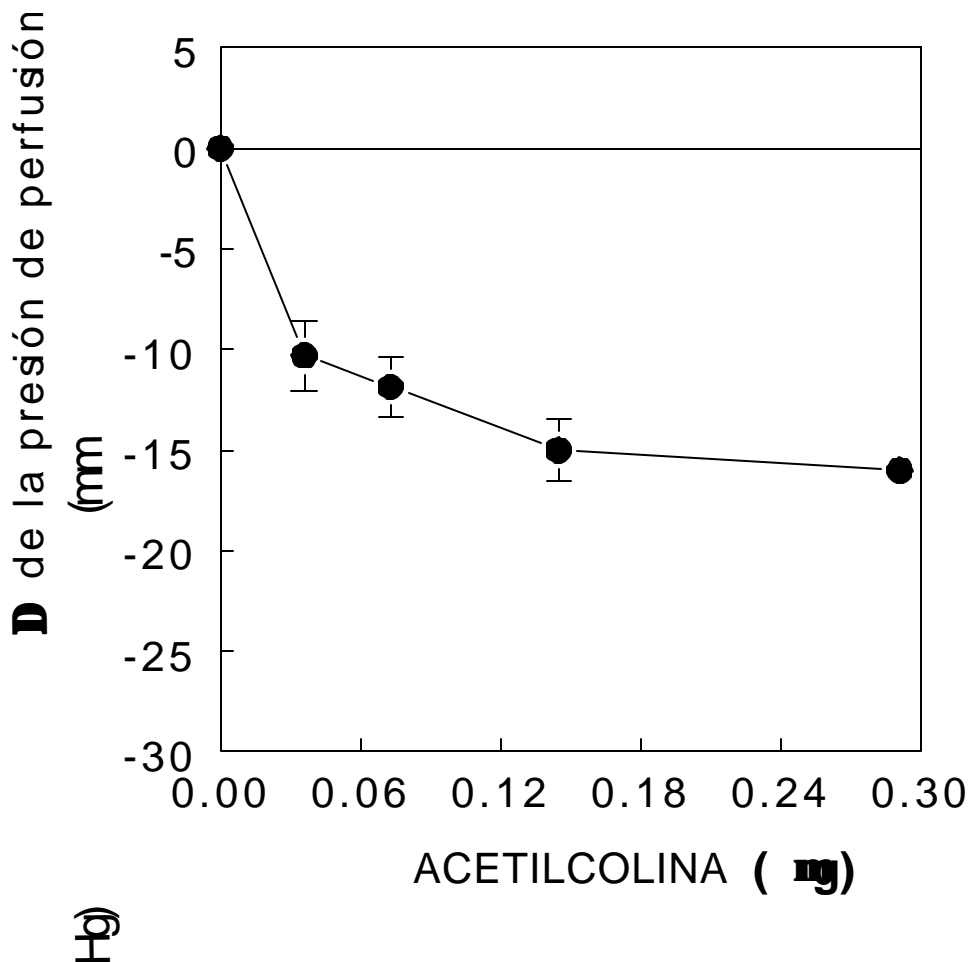


Figura. 26. Efecto de la acetilcolina sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de L-NAME (2×10^{-4} M). n=5.

7.10. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR AL ALCALOIDE 3

La presión basal de perfusión fue de 52 ± 2.2 mm Hg; al perfundir solución Krebs con L-NAME (2×10^{-4} M) la presión aumentó a 87 ± 3.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta al alcaloide 3 (30, 50, 70, 90, 120 y 150 μ g) y se observó un decremento máximo de la presión de perfusión de 14 ± 3 mm Hg, respectivamente (Fig .27).

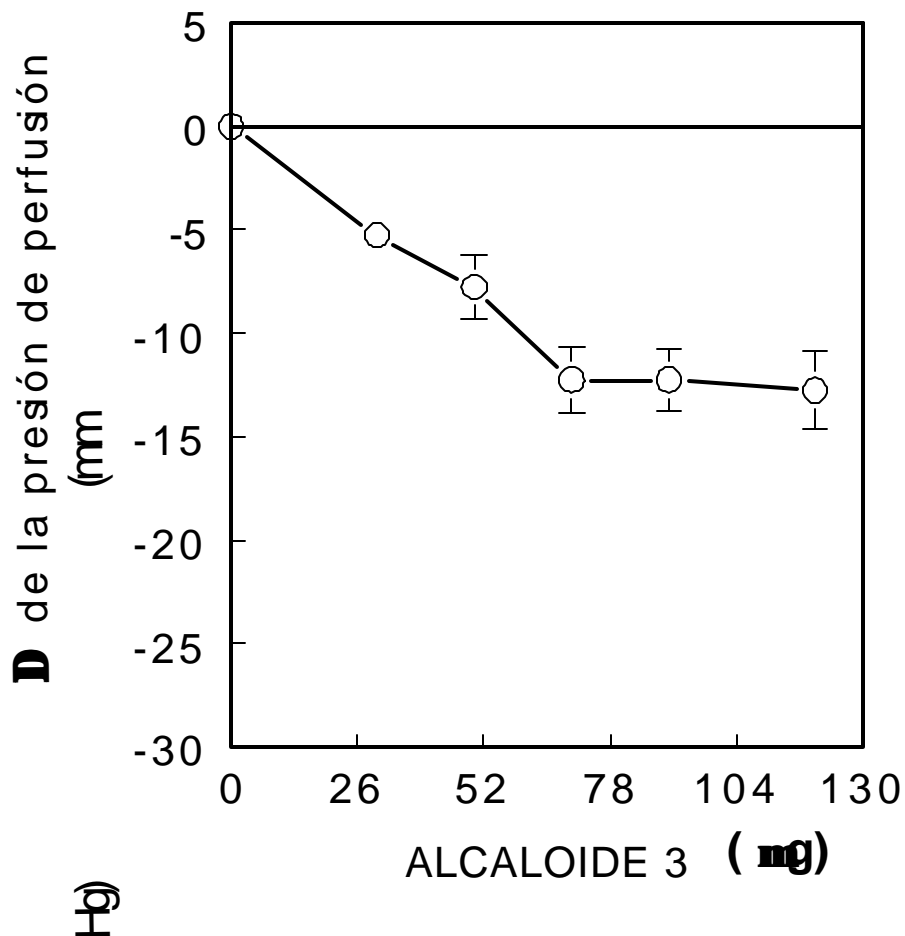


Figura. 27. Efecto de la acetilcolina sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de L-NAME (2×10^{-4} M). n=5.

7.11. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS Y EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR A ACETILCOLINA

La presión basal de perfusión fue de 50 ± 2.2 mm Hg; al perfundir solución Krebs con L-NAME (2×10^{-4} M) más atropina (10^{-7} M) la presión aumentó a 84 ± 3.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta a acetilcolina de 0.04 a 0.3 μ g y se observó una disminución de la presión de perfusión dependiente de la dosis de acetilcolina, la disminución máxima de la presión de perfusión fue de 2.8 ± 1.2 mm Hg con 0.3 μ g de Ach (Fig . 28).

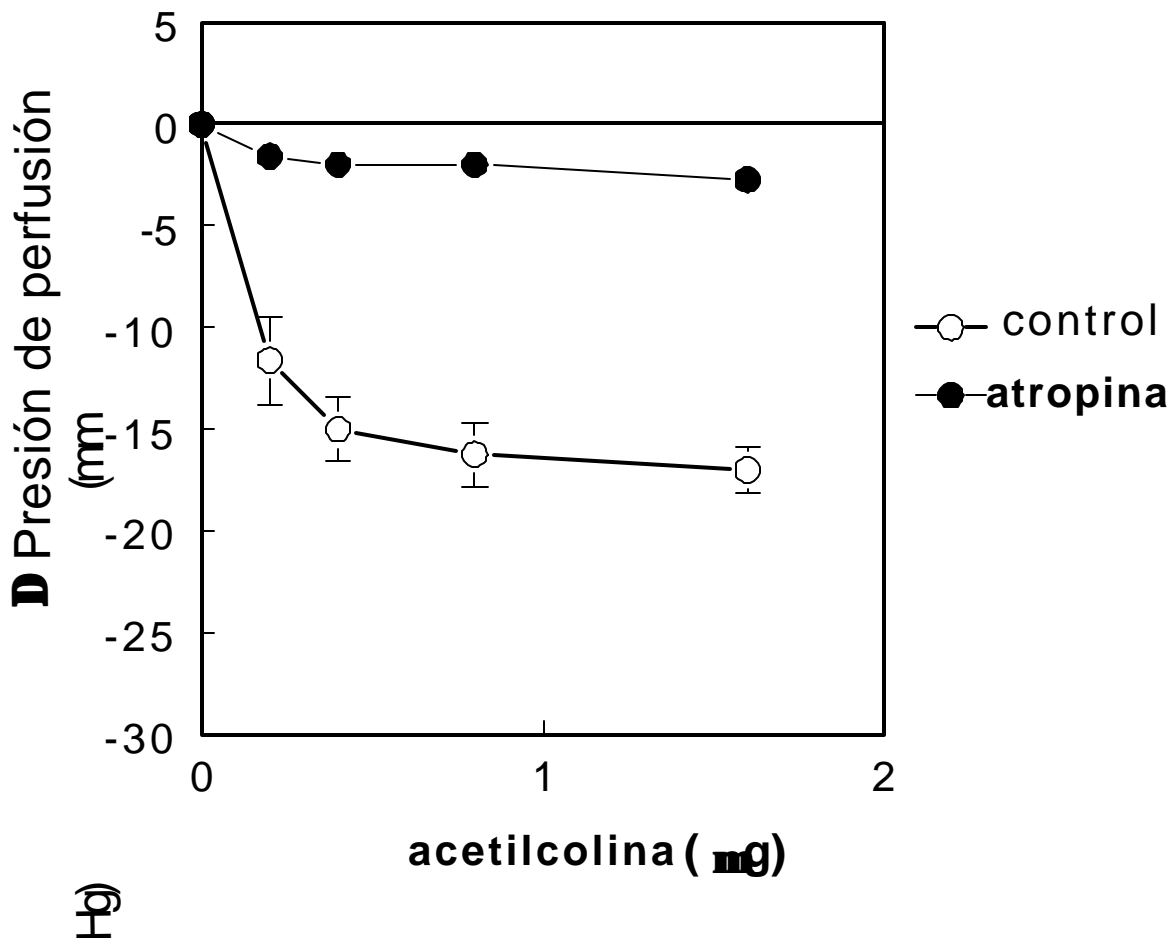


Figura. 28. Efecto de la acetilcolina sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de L-NAME (2×10^{-4} M) y atropina (10^{-7} M). n=5.

7.12. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA NOS Y EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR AL ALCALOIDE 3

La presión basal de perfusión fue de 50 ± 2.2 mm Hg; al perfundir solución Krebs con L-NAME (2×10^{-4} M) más atropina (10^{-7} M). La presión aumentó a 84 ± 3.2 mm Hg. En estas condiciones se realizó una curva dosis respuesta al alcaloide 3 (30, 50, 70, 90, 120 y 150 μ g) y se observó un decremento máximo de la presión de perfusión de 3 ± 0.8 mm Hg, respectivamente (Fig. 29).

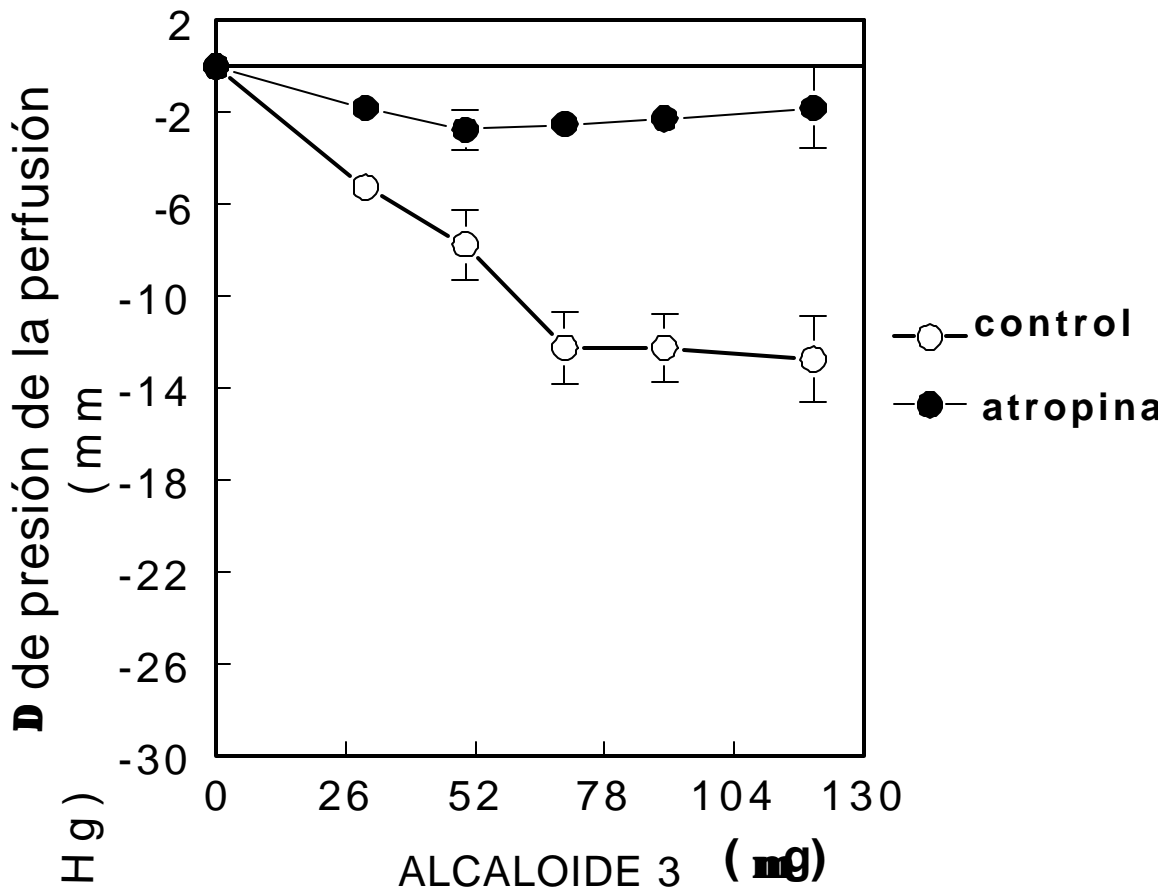


Figura. 29. Efecto del alcaloide 3 sobre la presión de perfusión del riñón aislado perfundido de ratas normotensas en presencia de L-NAME (2×10^{-4} M) y a tropina (10^{-7} M). n=5.

7.13. TOXICIDAD AGUDA

Con la finalidad de conocer la dosis correcta de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados de *Heimia salicifolia*, para ser administrada en la rata anestesiada normotensa, se realizó una prueba de toxicidad aguda cuya vía de administración fue intraperitoneal observándose que con la dosis de 500 mg/kg causó 100% de mortalidad (Tabla 5) la dosis de 250 mg/kg causó muerte 60% de los animales probados, respectivamente. Los cambios observables en la conducta después de la administración de las dosis fueron decremento en la actividad respiratoria, temblores corporales y disminución motora. La muerte fue debida a asfixia por paro respiratorio durante o entre las convulsiones.

Tabla 5. Toxicidad aguda de la mezcla de alcaloides parcialmente purificados de *Heimia salicifolia* en ratón.

DOSIS (mg/kg)	MUERTES
50	0
100	0
250	3
500	5

8.0. DISCUSIÓN

En estudios previos realizados en el laboratorio con los extractos acuoso y metanólico de las hojas de *Heimia salicifolia* se observó que disminuían la presión arterial de ratas normotensas. Al realizar estudios químicos para aislar los compuestos activos siguiendo parte de la metodología propuesta por Blomster (1964) y Dobberstein (1974), se obtuvieron 4 fracciones cuyos valores de Rf (Tabla 1) son similares a los Rf obtenidos por estos autores, por lo que probablemente se trate de los mismos alcaloides de quinolizidina: Nesodina (A1), Litrina (A2), Vertina (A3) y Lifolina (A4). Sin embargo, es necesario realizar otros estudios químicos para llegar a dilucidar la estructura química de estos alcaloides.

El rendimiento obtenido es bajo, lo cual es de esperarse ya que son productos del metabolismo secundario de la planta. Varias plantas, entre ellas *Heimia salicifolia*, producen estos alcaloides en cantidades bajas. Por otro lado de acuerdo con las observaciones realizadas por Dobberstein (1974), los alcaloides de *Heimia salicifolia* se encuentran en menor cantidad cuando la planta es joven y aumentan conforme la planta llega a su fase adulta, cuando la exposición al CO₂ aumenta, la síntesis de estos alcaloides es mayor. En general los metabolitos secundarios producidos por estas plantas los utilizan como un mecanismo de protección contra insectos y mamíferos, así como también para interactuar con bacterias, hongos, virus y con otras plantas (Wink, 1993).

Los resultados obtenidos con la administración de Ang II (i.v.) mostraron aumento de la presión sistólica dependiente de la dosis; el efecto máximo fue alcanzado con la dosis de 100 ng/kg (Fig 13) de forma similar a lo obtenido por Navarrete (2004). Esto se debe a que la Ang II aumenta la resistencia periférica total (Goodman, 1996), debido a la vasoconstricción, que se lleva a cabo mediante el siguiente mecanismo de señalización: La estimulación de los receptores AT1 localizados sobre las células del músculo liso vascular promueven el intercambio de GDP-GTP activando la producción de la proteína Gq, posteriormente la Gp, unida a GTP, se desplaza hasta la fosfolipasa C estimulando la hidrólisis del fosfatidilinositol- 4,5- bifosfato en inositol trifosfato y diacilglicerol, estas dos moléculas actúan a su vez como segundos mensajeros. El IP₃ promueve la liberación de DAG y Ca⁺⁺ almacenado en el retículo endoplásmico. Activan una proteína cinasa C en la superficie de la membrana

plasmática, que a su vez estimula la actividad de la cinasa de la cadena ligera de miosina, promoviendo el entrecruzamiento de actina y miosina, produciéndose vasoconstricción y con ello un incremento en la presión arterial como si los animales fueran hipertensos (Dinh, 2001), por lo cual este modelo de hipertensión aguda fue utilizado para estudiar el efecto de la administración de los alcaloides de *Heimia salicifolia*.

Por otro lado, al estudiar el efecto de la mezcla de los alcaloides parcialmente purificados se observó que la presión de la rata normotensa disminuyó de manera dependiente de la dosis (Fig. 14), lo que sugiere la posibilidad de interacción entre el o los compuestos activos y moléculas receptoras, pues la respuesta de un ligando es proporcional al número de receptores ocupados por el ligando (Hasrat et al., 2004). Entre los alcaloides presentes en *Heimia salicifolia* reportados por Malone Rother y (1994) se encuentra vertina ($R_f = 0.55$) del cual ha sido reportado que disminuye la presión sanguínea (Robichaud 1964 y Malone, 1972). Lo que sugiere que, probablemente, en nuestra mezcla de alcaloides se encuentre vertina o un compuesto muy similar. Cuando se administró Ang II en organismos pretratados con la mezcla de los alcaloides (Fig.15) el efecto hipertensor de la Ang II fue reducido; lo que nos sugiere que alguno de los alcaloides presentes en la mezcla se encuentre ocupando el mismo receptor a Ang II y de esta manera se esté produciendo un antagonismo farmacológico el cual se produce por bloqueo de la unión del agonista a su receptor (Katzung, 1991) o que el efecto antihipertensor se esté produciendo a través de la activación de otro tipo de receptores diferentes a los de Ang II (p. ej. H₁ y colinérgicos de tipo muscarínico) cuyo efecto vasodilatador es por liberación de óxido nítrico (Stankevicius, 2003 y Thors, 2004).

En la separación de los alcaloides por cromatografía en capa fina se encontraron dos alcaloides (F2 y F3) cuyo efecto fue hipotensor; sin embargo el alcaloide 3 mostró mayor efecto y de mayor duración, (Fig. 20 y 21), probablemente este efecto tan marcado sobre la PA sea a que se encuentre ocupando el mismo receptor de Ang II (AT₁) antagonizándolo de manera competitiva o que actúe por otro mecanismo, como un antagonismo fisiológico por la ocupación y estimulación de receptores que inducen hipotensión como los muscarínicos de acetilcolina, H₁ de histamina, B₁ de bradicinina, o para prostaciclina (Amos y col., (2003) y Ganado y col., (2004)).

El alcaloide 2 también disminuyó la presión arterial (Fig.18) de manera transitoria y en menor grado que el alcaloide 3, al administrar Ang II (Fig. 19) a organismos pretratados con este alcaloide se redujo la respuesta máxima a Ang II; sin embargo esta reducción fue menor que la observada con el alcaloide 3, por lo que probablemente también antagonice a los receptores AT1, pero su afinidad por dicho receptor sea diferente al alcaloide 3.

El alcaloide 1 no mostró ningún efecto sobre la presión arterial, ni acción antagónica sobre la Ang II, como se puede observar en las (Fig. 16 y 17). Aunque este grupo de alcaloides de quinolizidina comparte similitudes químicas es probable que al alcaloide 1 le falte algún grupo químico requerido para mostrar efectos sobre el sistema cardiovascular.

El alcaloide 4 mostró un efecto hipertensor (Fig. 22); posteriormente cuando se administró Ang II en presencia del alcaloide 4 (Fig. 23) se observó disminución de la presión arterial con la dosis más alta pero estadísticamente no fue significativo. Este efecto opuesto al de los otros alcaloides probablemente se debe a que el alcaloide 4 se una a receptores con efecto hipertensor como los adrenérgicos de tipo α o que inhiba vías de generación de agentes hipotensores como la síntesis del NO y en ambos casos con poca afinidad. Probablemente como ya ha sido mencionado para otras plantas, en ellas existen compuestos con efectos opuestos, por alguna modificación química y también se una al receptor de Ang II con menor afinidad.

El principal mecanismo vasorrelajante en los lechos vasculares es a través de óxido nítrico (NO), se sintetiza por medio de la sintasa de óxido nítrico (NOS) endotelial, teniendo como sustrato la L-arginina. El NO así, producido difunde del endotelio vascular hacia el músculo liso vascular, donde actúa estimulando a la guanilato ciclasa, lo que aumenta el nivel del GMPc, y con ello disminuye el calcio citosólico y se lleva a cabo la relajación (Palmer, 1992; Moncada, 1988). La disminución de la producción del NO es parte importante de los mecanismos de la disfunción endotelial en procesos patológicos como la hipertensión (Cachofeiro, 2001).

Con la finalidad de conocer si el efecto hipotensor del alcaloide 3 depende de la liberación de NO, se realizaron ensayos utilizando el modelo de reactividad vascular renal, instalado en un sistema tipo Langendorff.

Observando que la acetilcolina causó vasorrelajación del riñón precontraído con FEN, cuando la acetilcolina se une al receptor muscarínico M_3 activa la fosfolipasa C que genera IP_3 el cual estimula la salida de calcio del retículo endoplásmico liso elevándose el nivel de calcio citosólico. El calcio se asocia a la calmodulina y activan a la NOS lo cual produce NO (Stankevicius, 2003). Al estimular el riñón previamente contraído con FEN con el alcaloide 3 también se observó vasorrelajación de manera semejante con acetilcolina, lo que sugiere que el mecanismo por el cual el alcaloide 3 disminuyó la presión sanguínea es a través de un efecto relajante sobre la musculatura vascular lisa, semejante al efecto producido por acetilcolina.

Cuando el lecho vascular renal se precontrajo con el L-NAME, que es un inhibidor competitivo de la NOS, se observó que tanto la acetilcolina como el alcaloide 3 produjeron efecto vasorrelajante de menor magnitud que con la precontracción con FEN. Esto sugiere que el efecto relajante del alcaloide 3 se debe a que estimula la liberación del NO de las células endoteliales de manera similar a lo que sucede con la acetilcolina. Este efecto ha sido reportado en otras plantas como en la raíz de *Urtica dioica* (Urticaceae) por Testai y col. (2002) y *Gossypium barbadense* (Malvaceae) por Hasrast (2004) en donde su efecto vasorrelajante se encuentra mediado por la liberación endotelial de NO.

En la última serie experimental el riñón, además de ser perfundido con L-NAME también se perfundió con atropina, antagonista no selectivo de receptores muscarínicos colinérgicos, observándose que la respuesta vasodilatadora de acetilcolina y del alcaloide 3 fue menor que en la serie experimental perfundiendo únicamente L-NAME, sugiriendo que la acción hipotensora del alcaloide 3 se debe a la estimulación del receptor muscarínico que al estar bloqueado por la atropina impide su unión al alcaloide 3, por lo cual la respuesta vasodilatadora es menor. Este efecto agonista del alcaloide 3 sobre los receptores muscarínicos ha sido reportado en la familia de las Leguminosae (Schmeller y col., 1994).

Estudios realizados por (Schmeller y col., 1994) encontraron que las plantas *Lupinus albus*, *L. mutabilis* y *Anagyris foetida* contienen alcaloides de quinolizidina y tienen afinidad por los receptores nicotínicos del SNC entre ellos la L-piridona, N-metilcitisina y citisina, mientras que los alcaloides de quinolizidina mostraron mayor afinidad por los receptores muscarínicos, por lo cual es probable que el alcaloide 3

aislado de *Heimia salicifolia* tenga afinidad por los receptores muscarínicos y su efecto hipotensor y vasorrelajante se deba a la liberación de NO.

Los estudios de toxicidad aguda de la mezcla de alcaloides se realizaron con la finalidad de tener un intervalo de dosis que no produjera efectos tóxicos o incluso letales, y encontramos que entre 50-100 mg/kg no produjeron efectos letales. A partir de la dosis de 250 mg/kg se observó muerte en el 60% de los organismos. Estos resultados nos sugieren que *Heimia salicifolia* tiene poca toxicidad ya que los efectos tóxicos se produjeron en dosis muy altas en relación a las utilizadas en este estudio (1-5 mg/kg).

Rother y Malone (1994) reportaron que vertina produce depresión del sistema nervioso central, disminución de la tasa respiratoria y de la frecuencia cardíaca, así como hipotermia y pasividad. Estos efectos también fueron observados en nuestro estudio con la dosis de 250 y 500 mg/kg. (Schmeller y col., 1994) reportaron que el mecanismo por el cual puede explicarse la toxicidad de los alcaloides de quinolizidina es a través de la unión de receptores muscarínicos para acetilcolina y canales iónicos (Na⁺, K⁺), (nicotínicos).

9.0. CONCLUSIÓN

De los 4 alcaloides aislados, el alcaloide 3 mostró efecto hipotensor, antagonismo contra Ang II y efecto vasodilatador que depende de la liberación de NO y de su unión a receptores colinérgicos muscarínicos.

Con el análisis de estos resultados, se concluye que *Heimia salicifolia* contiene por lo menos, un alcaloide quinolizidínico que potencialmente puede ser utilizado en el tratamiento de la hipertensión.

LITERATURA CITADA

Abid, O., Akcas, S. 2000. Strong vasopressor support may be futile in the intensive care unit patient with multiple organ failure. *Crit. Care Med.* 28 (3): 947-952.

Aguilar, A., Camacho, R., Chino, S., Jáquez, P., López, M.E. 1994. Plantas medicinales del herbario del IMSS. Cuadros básicos para aparatos y sistemas del cuerpo humano. Instituto Mexicano del Seguro Social. México. pp. 567.

Alcázar, R. 2003. Angiotensina II: Péptido clave en el daño vascular y renal. *Nefrología* 4 (5): 27-34.

Alderman, M. 1996. Wich antihypertensive drugs first. *JAMA* 5 (8): 267-2786 .

Almaguer, G.J.A., Vargas, VV. 2002. Fortalecimiento y desarrollo de la medicina tradicional mexicana y su relación intercultural con la medicina institucional. Dirección de Medicina Tradicional Mexicana. México.

Amaral, S. 2001. Angiogenesis induced by electrical stimulation is mediated by angiotensin II and VEGF microcirculation. *Biol. Pharm.* 8 (5): 57-67.

Amos, S., Akah, P., Enwerem, N. 2003. Hypotensive activity of the ethanol extract of *Pavetta crassipes* leaves. *Biol. Pharm.* 26 (12): 1674-1680 .

Anesini, C., Pérez, C. 1993. Sereening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 39 (3): 119-128.

Argueta, A., Aguilar, A., Cano, L. 1994. Flora medicinal indígena de México. Tomos I, II, III. Instituto Nacional Indigenista. México D.F. pp. 980.

Armando, I., Jezova, M., Jurio, A.V., Terrón, J.A., Falcon-Neri, A., Semino-Mora, C., Saavedra, J.M. 2002. Estrogen upregulates renal angiotensin II AT (2) receptors. *Am. J. Physiol.* 283 (3): 934-943.

Azuma, J., Sawamura, A., Harada, H. 1994. Mechanism of direct cardiostimulating actions of hydralazine. *Eur. J. Pharmacol.* 135 (4): 137-144.

Barnes, J.M., Barnes, N.M., Costall, B., Coughlan, J., Kelly, M.E., Naylor, R.J., Tomkins, D.M., Williams, T.J. 1992. Angiotensin-converting enzyme inhibition, angiotensin, and cognition. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 19 (3): S63-S71.

Bermúdez, A.F., Bermúdez, P.J., Cano, P.C. 2000. Cardiopatía isquémica. Ed. Mc Graw- Hill. Interamericana. Venezuela. pp. 1698.

Bertolasi, C., Barrero, C., Gimeo, G., Mauro, V. 2000. Cardiología. Tomo 3. Editorial Médica Panamericana. España. pp. 2665.

- Betancourt, A.S.Y., Gutiérrez, D., M.A. 1999. Proyecto Mercados Verdes Herbolarios. Informe técnico final. Fondo de América del Norte para la Cooperación Ambiental (FANCA), Ecología y Desarrollo de Tlaxcala y Puebla A.C. México, D.F. pp. 250.
- Blomster, R.N., Schwarting, A.E., Bobbitt, J.M. 1964. Alkaloids of *Heimia salicifolia* I: A preliminary report. *Lloydia* 27 (2): 15-24.
- Brater, D.C. 1998. Clinical pharmacology of loop diuretics drugs. *Biol. Pharm.* 4 (3): 41-45.
- Brenner, B.M., Ballermann, B.J., Zeidel. 1990. The diverse biological actions of atrial peptides. *Physiology* 70 (3): 665-670.
- Brown, A.M., Birnbaumer, L. 1988. Direct G protein gating of ion channels. *Am. J. Physiol.* 254 (2): 401-410.
- Bylund, D.B., Elikenberg, D.C., Hieble, J.P., Langer, S.Z., Lefkowitz, J.R., Minneman, K.P., Molinoff, P.B. 1994. Internacional union of pharmacology nomenclatura of adrenoceptors. *Pharmacology* 6(2): 121-136.
- Cabrera, L. 1958. Plantas medicinales de México. Instituto Médico Nacional. pp. 350.
- Cachofeiro, V. 2001. Endotelial dysfunction in hipertensión. *Nefrología* 23 (2): 4-12.
- Carrizo, E. 2002. Plantas medicinales en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del estero de Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 72: 89-9
- Catterall, W.A., Seagar, M.J., Takahashi, M., Nunoki, K. 1989. Molecular properties of dihydropyridine - sensitive calcium channels. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 12 (3): 1-14.
- Constanzo, L.S. 2000. Fisiología. Ed. Mc.Graw-Hill, Interamericana. España. pp. 1589.
- Chatziantoniou, Cristos, Xiasping, Arendshorts. 1993. Interactions of cAMP-mediated vasodilators with angiotensin II in rat kidney during hypertension. *Am. J. Physiol.* 265 (83): 845-852.
- Crawford, M. 2002. Cardiología. Ed. Harcourt. Madrid, España. pp. 879.
- Debra, I., Diz, P., Baer, G. 1983. Angiotensin II induced hipertensión in the rat. *J. Clin. Invest.* 2 (5): 466-477.
- Delfin, A.I., Chino, V.S. 1998. Biomoléculas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México. pp. 3581.

- Didier. 1995. La colección de plantas medicinales más importantes de América Latina. *Science* 39 (3): 46-47.
- Dinh, F. 2001. Angiotensin receptors: distribution, signaling and function. *Clinical Science* 5 (8): 481-492 .
- Dobberstein, R.H. 1974. The sequential appearance and metabolism of alkaloids in *Heimia salicifolia*. *Lloydia* 3 (5): 98-105.
- Duke, J.A. 1992. Handbook of biologically active phytochemicals and their activities. Boca Raton, FL. CRC Press. pp. 791.
- Dunn, M.J., Hoo, V.L. 1997. Prostaglandins and the kidney. *Am. J. Physiol.* 233 (5): 169-184.
- Esler, M.M., Jennings, G., Lambert, G., Mederith, I., Horne, M. 1990. Overflow of catecholamine neurotransmitters to the circulation: source, fate and functions. *Physiology* 70 (2): 963-985.
- Espino, V.J. 1997. Hipertensión arterial. 13ed. Ed. El Manual Moderno. México. pp. 890.
- Fasce, E. 2002. Endotelial dysfunction and hypertension. *Am. J. Physiol.* 5 (2): 24-34.
- Fujiwara, N. 2000. Study of the relationship between plasma nitrite and nitrate level and sensitivity in human hypertension. Modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *Circulation* 101 (4): 856-861.
- Furchgott, R.F., Zawadzki, J.V. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 (2): 373-376.
- Gamba, G., Saltzberg, S., Lombardi, M. 1993. Primary structure and functional expression of cDNA encoding the thiazide-sensitive electroneutral sodium-chloride cotransporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90 (5): 2749-2753.
- Gamba, G., Miyanoshita, A., Lombardi, M. 1994. Molecular cloning primary structure and characterization of two members of the mammalian electroneutral sodium-chloride cotransporter family expressed in kidney. *J. Biol. Chem.* 269 (2):17713-17722.
- Ganado, P., Sanz, M., Padilla, E. 2004. An In Vitro Study of Different Extracts and Fractions of *Allium sativum*: Vascular Reactivity. *J. Pharmacol.* 94 (4): 434-442.
- Gareth, B. 2001. ABC of Hipertensión: The pathophysiology of hypertension. *J. British Medical.* London. 322 (2): 912-916.
- González, C., 1994. Carotid body chemoreceptors from natural stimuli to sensory discharges. *Physiology* 74 (3): 829-835.

Guerrero, J.F., Rodríguez, M. 1998. Prevalencia de hipertensión arterial y factores asociados en la población rural marginada. *Salud Pública Méx.* 40 (2): 339-346.

Guillén del Castillo, M., Linares, G. 2002. Bases biológicas y fisiológicas del movimiento humano. Ed. Médica Panamericana, Madrid, España. pp. 679.

Guyton, A.C. 1997. Tratado de Fisiología Médica. 9ed. Mc Graw- Hill Interamericana. Venezuela. pp. 1250.

Graham, S. 1991. Flora de Veracruz. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Ver. 66: 94.

Griendling, K.K., Lassegae, B., Alexander, R.W. 1996. Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Ann. Rev. Pharmacol.* 36 (5): 281-306.

Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W., Goodman Gilman, A.. 1996 Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ed. Mc Graw- Hill Interamericana. pp.1280.

Hasrat, J., Pieters, L., Vlietinck. 2004. Medicinal plants in suriname: hyotensive effect of *Gossypium barbadense*. *J. Pharmacol.* 4 (2): 381-387.

Häuser, W., Jöhren, O., Saavedra, J.M. 1998. Characterization and distribution of angiotensin II receptor subtypes in the mouse brain. *Eur. J. Pharmacol.* 348 (3): 101-114.

Henderson, A. 1999. Stimulus secretion coupling in vascular endothelial cells. *Annu. Rev. Physiol.* 52 (2): 661-674.

Henry, J.P., Grim, C.E. 1990. Psychosocial mechanisms of primary hypertension. *J. Hypertens.* 8 (5): 783-793.

Hernández, P. 2000. Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition on pre-proendothelin-1 gene expresión by simvastain in vascular endotelial cells. *Circ. Res* 7 (2): 616-622.

Hoffman, B.B. 2001. Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. En Goodman and Gilman. The pharmacological basis of therapeutics. Hardman, J.G. and Limbird L.E. 10th Ed. McGraw-Hill, Venezuela. pp.1896.

Ibarra, R.M, Pedraza, J. 1993. Renina: estructura y regulación de la expresión del gen, biosíntesis y vías celulares de secreción. *Rev. Invest. Clin.* 45 (2): 255-266.

Jackson, E.K. Garrison, C.J. 1985. Adenosin a physiological brake on rennin release. *Am. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 31(6): 1-35.

Kaibuchi, A. 1999. Regulation of the cytoskeleton and cell adhesión by rho family Gtpases in mammalian cells. *An. Rev. Biochem.* 68 (6): 459-486.

Kaplan, H.R., Malone, M.H. 1966. A pharmacology study of nesodine, crygonine and other alkaloids of *Heimia salicifolia*. Lloydia 29 (2): 348-359.

Katzung, G. 1991. Farmacología Básica y clínica. 4ª ed. Ed. El manual moderno, México, D.F. pp. 659.

Khosravi, R. 1999. Increasing complexity of ras signal transduction: Involvement of Rho familia proteins. Annu. Rev. Biochem. 72(4): 57-107.

Lahera, V. 2000. Fisiopatología vascular en la hipertensión arterial. Disfunción endotelial y daño vascular. Nefrología 20(3): 3-12.

Laufs, U., Endres, M., Stagliano, N. 2000. Neuroprotection mediated by changes in the endotelial actin cytoskeleton. J. Clin. Invest. 106 (5): 15-24.

Lechuga, C.J. 2000. Algunos aspectos de la micropropagación de las plantas medicinales. Dintel. pp. 590.

Lehman, G. 1994. Pharmacokinetics and additional anti-ischaemic effectiveness of amlodipine, a once-daily calcium antagonist during acute and long-term therapy of stable angina pectoris in patients pretreated with a beta-blocker. J. Eur. Herat. 14 (3): 1531-1535.

Lindpaintner, K. 1993. Blood pressure and heredity is it the gives, or not. Am. Hypertens. 22 (2): 147-149.

Madeddu, P. 1993. Receptor antagonists of bradikinin. A new tool to study the cardiovascular effects of endogenous kinins. Pharmacology 28 (8): 107-128.

Magiff, J.C., Crowshow, K., Terragno. 1973. Prostaglandins and the regulation of blood pressure. Kidney International 8 (5): 262-270.

Maldoni, B. 1995. Alkaloids: isolation and purification. J. Chemical Education 68 (8): 700-703.

Malone, M.H. 1972. Antiinflammatory evaluation of cryogenine. Internacional Congress of Pharmacology 4 (3): 161-172.

Malone, M.H., Rother, A. 1994. A new review: Phytochemistry and pharmacology of *Heimia salicifolia* J. Ethnopharmacol. 42 (8): 135-159.

Martínez, M. 1992. Las Plantas Medicinales de México. 6ª Ed. Ed. Botas. México. pp. 656.

Meaney, E. 1999. El papel del endotelio en las enfermedades cardiovasculares. Hipertensión arterial e insuficiencia cardiaca. Bases biológicas de la vasopresión. Ed. Grupo Mercadotecnia de Innovación y Desarrollo. México. D.F. pp. 879.

Messina, E.J., Weiner, R., Chalet. 1975. Arteriolar reactive hyperemia modification by inhibitors of prostaglandin synthesis. Am. J. Physiol. 232 (6): 571-575.

Mistry, M., Nasijetti, A. 1988. Role of pressor prostanoids in rats with angiotensin II induced hypertension. Hypertension 2: 758-762.

Mombouli, J.V. 1999. Endotelial dysfunction: from physiology to therapy. J. Mol. Cell. Cardiol. 31 (5): 61-74.

Moncada, S., Gryglewski, R., Burtings, S., Vane, J.R. 1976. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. Nature 263 (2): 663-665.

Moncada, S., Radomski, M.K., Palmer, R.J. 1988. Endothelium derived relaxing factor identification as nitric oxide and role in the pharmacology. Nature 37 (3): 2495-2501.

Morales, M. 2002. La revolución de los fitofármacos. Laboratorio de Farmacodinamia y Fitofarmacología. Cuba. pp. 2350.

Munzemaier, D. 1996. Opposing actions of angiotensin II on microvascular growth and arterial blood pressure. Hypertension 27 (4): 760-765.

Navarrete, R.G. 2005. Efecto del extracto acuoso de las hojas de *Casimiroa edulis* la Llave et Lex en un modelo de hipertensión aguda y crónica. Tesis de Licenciatura Carrera de Biología, FES-Iztacala, UNAM.

Nishimura, R.A. 1994. Failure of calcium channel blockers improve ventricular relaxation in humans. J. Am. Cell. Cardiol. 21 (5): 182-188.

Oates, J.A. 1996. Antihypertensive agent and drug therapy of hipertensión. En Hardman, J.G., Limbird, L.E. (Eds), Goodman & Gilman. The pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill. New York. pp. 2790.

Palmer, R.M.J, Ferrige, A.G., Moncada, S. 1992. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 327(3): 524-526.

Peña, L.M. 1990. Some examples of economically important plant secondary metabolites. En: Production of secondary metabolites from plant Tissue Culture and its Biotechnological perspectives Loyola- Vargas, V.M. y CICY, Yucatán, México. pp. 450.

Perez, C., Anesini, C. 1994. In vitro antibacterial activity of Argentine folk-medicinal plants against *Salmonella typhi*. J. Ethnopharmacol. 44 (3): 41-46.

Ramírez, J. 1997. Evaluación farmacológica de las fracciones héxanica e hidrolizadas de los alcaloides obtenidos de semillas de *Erythrina americana*. Tesis de Licenciatura carrera de Biología, ENEP-Iztacala, UNAM.

Regoli, D., Barabé, J. 1980. Pharmacology of bradikinin and related kinins. *Pharmacology* 32 (3): 1-46.

Robertson, A. 1996. Beta adrenergic receptor mediated regulation of extracellular adenosine in cerebral cortex in culture. *J. Neurosci.* 14 (3): 265-270.

Robichaud, R. 1964. Pharmacodynamicsof cryogenine, an alkaloid from *Heimia salicifolia* Link and Otto. *Arch. Internationals Pharmacodynamie et therapie* 157 (3): 220-232.

Roselli, C. 1999. La magnitud del problema de la enfermedad renal asociada hipertensión arterial. Indicadores de progresión de daño renal. Ed. Boletín de Red Latinoamericana de Hipertensión. España. pp. 50.

Saavedra, J.M. 1999. Emerging features of brain angiotensin receptors. *Regul. Pept. Nature* 85 (2): 31-45.

Safar, M.E. 2000. Recent advances on large arteries in hypertension. *Nature* 32 (3): 156-161.

Samaan, S.A. 1999. Estrogen and cardiovascular function after menopause. *J. Am. Cell. Cardiol.* 26 (3): 1403-1410.

Samani, N.J. 1994. Molecular genetics of susceptibility to the development of hipertensión. In *Hypertension in theory and practic.* British Medical Bulletin 50 (2): 260-271.

Sánchez, J.C. 1993. Utilización industrial de plantas medicinales. Seminario-Taller sobre utilización Industrialización de plantas medicinales. Organizado por la ONUDI. Guatemala. pp. 650.

Schmeller, T., Sauerwein, M., Sporer, F., Wink, M. 1994. Binding of quinolizidine alkaloids to nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors. *J. Nat. Prod.* 57 (5): 1316-1319.

Schultes, A. 1993. Plantas de los dioses. Orígenes del Uso de los Alucinógenos. 3^{ed}. Fondo de Cultura Económica Mexicana. pp. 550.

Secretaría de Salud. Causas de mortalidad en México 2000. Estadísticas de mortalidad, [http:// www.ssa.gob.mx](http://www.ssa.gob.mx).

Standley. 1924. Trees and shrubs of México. Contributions from the United States National Herbarium. Washington. pp. 1025.

Stankevieius, E. 2003. Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors. *Medicina* 39 (6): 333-341.

Simonson, M. 1992. The role of endothelin in hipertensión. Affirmative part of the controversy. *Am. J. Hypertens.* 21(7) 252-257.

Simpson, R.L., Marlin, C., Thon, J., Snavely, D. 1994. Efficacy and safety of losartan combined with hydrochlorothiazide in patients with mild to severe hypertension. *Am. J. Hypertens.* 7 (4): 37-42.

Sociedad Mexicana de Historia Natural. 1^a ed. México. pp. 1876.

Sokolow, M., McIlroy, B.M., Cheitlin, D.M. 1992. Hipertensión general. 4^a ed. El manual moderno. México. pp. 950.

Taussig, R., Gilman, A.G. 1995. Mammalian membrane bound adenyl cyclase. *J. Biol. Chem.* 270 (4): 1-4.

Testai, L., Chericoni, S., Calderone, V., Nencioni, G., Inerhi, P. 2002. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *J. Ethnopharmacol.* 81 (5): 105-109.

Thibonnier, M., Conarty, D.M. 1998. Molecular pharmacology of human vasopressin receptors. *Adv. Exp. Med. Biol.* 449 (4): 251-276.

Thomas, A. 2003. Vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: ptk787/zk 222584. *Adv. Exp. Med. Biol.* 30 (6): 32-38.

Thors, B., HlIdórsson, H., Thorgeirsson, G. 2004. Thrombin and histamine stimulate endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation at ser 1177 via an AMPK mediated pathway independent of PI3K-Akt. *Science* 303 (4): 175-180.

Timmermans, P.B., Wong, P.C., Chiu, A. 1993. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Rev. Pharmacol.* 45: (20) 205-251.

Tolins, P.J., Shultz, J., Raji, L. 1991. Role of endothelium-derived relaxing factor regulation of vascular tone and remodeling. *Am. J. Hypertens.* 17 (3): 909-916.

Tresguerres, F.J.A. 1999. Fisiología humana. McGraw Hill Interamericana. España. pp. 897.

Tsuneyoshi, I., Yamada, H., Kakihana, Nasataka, N. 2001. Hemodynamic and metabolic effects of low-dose vasopressin infusions in vasodilatory septic shock. *Crit. Care Med.* 29 (22): 487-493.

Valencia, O. 1995. Fundamentos de fitoquímica. Ed. Trillas. México. pp. 147-170.

Vázquez-Pérez, S., Navarro-Cid, J., de las Heras, N., Cediél, E., Sanz-Rosa, D., Ruilope, L.M., Cachofeiro, V., Lahera, V. 2001. Relevance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the effects of hypertension on rat coronary relaxations. *Am. J. Hypertens.* 19 (3): 539-45.

Velásquez, M.O. 2000. Hipertensión arterial en México. Resultados de la encuesta nacional de salud (ENSA). *Arch. Cardiol. Mex.* 72 (1):71-84.

Wiebelhaus, V.D. 1974. A Water diuretic. How and Why. In: L.G. Wesson and G.M. Fanelli. *Recent Advances in Renal Physiology and Pharmacology*, University Park Press, Baltimore, Md. pp. 570.

Widgren, B.R., Herlitz, H., Berglund, G., Wikstrand, J., Jonsson, O., Andersson. 1991. *Am. J. Hypertens.* 4 (3): 570-578.

Wink, M. 1993. *Hagers Handbuch der pharmazeutischen praxis*, Ed Hansel, W., Keller, H, Schneider, Springer-Verlag, Heidelberg. *Am. J. Hypertens.* 5 (9): 623-630.

Zalba, G., Beaumont, F.J., San José, G. 2000. Vascular NADH/NADPH oxidase is involved enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 35: (2): 1055-1061.

Zimmerman, J.B., Robertson, D., Jackson, E.K. 1987. Angiotensin II noradrenergic interactions in renovascular hypertensive rats. *J. Clin. Invest.* 80 (6): 443-457.

Zoller, R.P., Mark, A.L., Aboud, F.M., Schid, P.G., 1972. The role of low pressure barorreceptors in reflex vasoconstrictor responses in man. *J. Clin. Invest.* 51 (3): 2967-2972.