



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“EFECTO DEL COMPUESTO LQM 319 Y CAPTOPRIL EN LA
CONTRACCIÓN MUSCULAR PRODUCIDA POR ANGIOTENSINA I Y
ANGIOTENSINA II EN PRESENCIA DE ANGIOTENSINA 1-7 EN AORTA DE RATA
HIPERTENSA ESPONTÁNEA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

NANCY VERÓNICA OROZCO CORTÉS

ASERORES:

DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR

DR. IGNACIO VALENCIA HERNÁNDEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2010

~ 1 ~



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



AGRADECIMIENTOS

Hoy que he logrado uno más de mis propósitos se que es a ti a quien debo de agradecer el permitirme estar aquí festejando, por me has brindado la oportunidad de terminar mi carrera y no solo eso ya que a lo largo de ésta me has cuidado, me has dado la fortaleza para seguir adelante y vencer los obstáculos que la vida me pone, porque me brindaste a una familia, amigos, compañeros profesores que me impulsaron a ser mejor, de verdad Dios no se como agradecer todo lo que has hecho por mi eres maravilloso porque aunque me he equivocado y te he fallado siempre estas a mi lado dándome la mano para salir adelante. Gracias por permitirme vivir este momento de felicidad a lado de mis seres queridos.

*A la mujer que siempre ha sido mi más grande ejemplo de vida..... **A mi mamá.** Por ser una mujer luchona y maravillosa porque a pesar de todas las adversidades nunca se deja caer y siempre sigue adelante. Gracias porque sin tus consejos, sin tu amor hoy no estaría aquí porque tú eres mi fortaleza para salir adelante. Gracias por enseñarme a ser una mujer responsable, trabajadora, gracias por cuidarme y estar siempre al pendiente de mí. Gracias por tus desvelos para que nunca me faltara nada, por tu gran amor y también por tus regaños porque se que lo hacías por mi bien para ser una mejor persona en la vida. GRACIAS. ¡LO LOGRAMOS!*

A un ángel que ahora esta en el cielo pero que se desde ahí me esta cuidando porque fue mas que una tía o una madrina fue como mi segunda madre y me duele muchisisimo que este día no estés conmigo porque siempre me imagine este momento pero se que estas orgullosa de mi. En mi corazón ocupas un lugar muy muy especial y no sabes la vida ya no es igual sin ti porque me haces falta te extraño mucho pero te juro que voy a luchar por crecer y ser cada día mejor y brindarle a Liz todo lo que este en mis manos. Te adelantaste pero algún día estaremos juntas y jamás nos separaremos. Este logro también te lo debo a ti por tus consejos, por tu compañía



porque siempre estuviste conmigo para darme ánimos, siempre mostrando un cariño incondicional y sincero. **TE QUIERO MUCHO Y TE EXTRAÑO COMO NO TE IMAGINAS MADRINA.**

A mi hermano **Luis** como no agradecerte aunque siempre era una discusión la carrera que estudié porque nunca estuviste de acuerdo pero sabes? Te quiero mucho y que siempre vas a contar conmigo, gracias por tus regaños porque eso me impulsa a ser mejor. Gracias por estar conmigo en los momentos difíciles y brindarme tu apoyo sabes que el cariño que siento por ti eres inmenso. Ah por cierto gracias por ayudarme con las matemáticas jajaja. **TE QUIERO MUCHO HERMANITO NO SE QUE HARÍA SIN TI.**

A **mi abuelita** que es un amor y que siempre se ha preocupado por mi, que si me desvelaba mucho que si no desayunaba gracias abuelita por apoyarme y estar conmigo gracias porque me has cuidado estos 23 años con amor y dedicación.

A **Liz** porque es la niña que más quiero porque eres como una hija para mi y sabes que siempre voy a estar contigo y que tu mamá nos esta cuidando desde el cielo y siempre nos va a ayudar, sabes que siempre contaras conmigo y siempre que necesites algo no dudes en acercarte a mi, siempre tendré tiempo para ti aunque me veas de un lado para otro. **TE QUIERO MUCHO!!!!**

A ti **Gilberto** por apoyarme y quererme mucho por estar conmigo y confiar en mí por brindarme tu cariño. Por tus consejos siempre con la finalidad de ser una mejor persona. Sabe que lo quiero mucho aunque a veces lo dude.

A mis **tías y tíos** Estela, Olí, Carmelo, Lel, Octavio y en especial a mi tía Chelo porque siempre estuvieron apoyándome y se preocupaban de cierta manera por mí, a mi tía Chelo porque siempre que voy a su casa me recibe con una sonrisa, con mucho cariño. Gracias por ser de mi familia.



A mis primas aunque son bien raras pero las quiero mucho siempre han estado conmigo dándome ánimo para no caer y poder vencer los obstáculos a ti Lupe, Fabiola, Blanca, Janeth, Mónica, Érika, María de los Ángeles, Olivia, Lorena, Marlen. Gracias primas por todos los juegos, las risas, las alegrías y las tristezas. Gracias por formar parte de mi vida las quiero mucho!!!!!!!.

Gracias a un amigo que ha estado conmigo durante estos años gracias Roy por ser un amigo fiel y sincero.

No creas que me olvide de ti amor gracias por todos estos meses llenos de felicidad, gracias por estar conmigo, por darme animo y no dejarme vencer, gracias porque siempre que estaba apunto de caer estabas tu para sostenerme, gracias por tu amor, tu cariño, tu comprensión, gracias por abrirme las puertas de tu corazón. Gracias Abraham por apoyarme en mis sueños, en mis metas y cumplirlas conmigo no tengo como pagar todo lo que haces por mí. Gracias por formar parte de mi vida por todo tu amor y entrega. Por ser todo lo que siempre soñé. Gracias por ser mi compañero y por este amor tan grande, puro e incondicional que tenemos. ¡TE AMO ABRAHAM!

A mis amigos porque siempre me apoyaron y la verdad es que la pasábamos muy bien a un amigo muy especial que siempre ha demostrado tener el carácter muy fuerte pero no es verdad. Si a ti Uriel porque siempre vas a ser mi mejor amigo te quiero mucho y sabes que siempre vas a contar conmigo, gracias por tus consejos y tus regaños porque eso me hace crecer y ser mejor, la pasamos muy bien nos divertimos mucho y se que tienes un gran corazón y también deseo que logres todas tus metas porque eso también me hará feliz a mi. TE QUIERO MUCHO!!!!!!!!!!!!

A mi amiga Viry porque sabes que te quiero mucho y que a pesar de que tenemos un carácter diferente ese nunca fue impedimento para llevarnos bien, sabes que siempre contarás conmigo y



que siempre estaré ahí, te quiero mucho nunca lo olvides y que la distancia no sea un obstáculo para terminar o no seguir cultivando nuestra amistad. GRACIAS POR TODO AMIGA

A ti Rocío porque aunque te conocí después eres una buena niña, sabes que te quiero mucho y siempre contarás conmigo gracias por apoyarme en los momentos difíciles y siempre brindarme la mano para no caer. TE QUIERO MUCHO CHIO.

Gracias a mis amigos Mizraim, Toñito, Agni, Julio, Berenice, Eduardo por aguantarme y por brindarme su cariño, por sus consejos y porque siempre que salimos la pasamos bien. Gracias por todo amigos los quiero mucho. Gracias por ustedes saben muy bien cuan difícil es llegar hasta aquí, gracias por su cariño y apoyo.

A la Universidad y FES-Cuautitlán por ser mi segunda casa. Por permitirme formar parte de la Institución, porque durante mi estancia la Facultad me brindo todos los recursos necesarios tanto para mi formación profesional como personal. Por que en ella conocí a personas maravillosas y talentosas que influyeron mucho en mi crecimiento. Gracias a todos los profesores que compartieron sus conocimientos y experiencias por exigirme ser mejor cada día ya que gracias a eso hoy me doy cuenta que los límites no existen siempre y cuando me lo proponga.

A mis profesores agradezco infinitamente su enseñanza, la ayuda incondicional que me han proporcionado y sobretodo por ser la fuente indispensable de sabiduría que enriquece mis conocimientos. Gracias por saciar mi sed de aprender y por convertirme en una profesionista honesta, humilde y luchadora.

A la Dra. Luisa Martínez Aguilar por creer en mí y brindarme su apoyo, gracias a sus consejos y su apoyo hoy culmino uno de mis más grandes sueños. Gracias por sus consejos para ser mejor cada día y buscar siempre lo mejor, gracias por enseñarme a ser una mujer trabajadora, constante, responsable, gracias por sus consejos, su cariño, su comprensión y su confianza.



Gracias por formar parte de su equipo y darme la confianza para saber que puedo llegar muy lejos si me lo propongo, por darme la oportunidad de conocerla, sabe que la admiro y respeto mucho es una gran mujer. ¡Muchisisimas Gracias!

Al Dr. Ignacio Valencia Hernández por formar parte de este trabajo y por su apoyo profesional. ¡Gracias!

A Jazmín gracias por tu apoyo que me has brindado, por compartir nuestros éxitos y fracasos, gracias porque más que una maestra eres una amiga. ¡Gracias por todo!

Al Honorable Jurado agradezco su ayuda profesional, académica y su participación en este trabajo. Por ser parte esencial de mi carrera profesional y sobretodo por contribuir a una etapa de mi vida que había estado esperando con entusiasmo y esperanza. ¡Mil gracias!

Se agradece la asesoría técnica de la Q.F.B. Jazmín Flores Monroy en el presente proyecto realizado en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio ubicado en la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) por el apoyo al proyecto PAPIIT – IN224310-3 y a la Cátedra de Investigación GVC- 20- FES Cuautitlán.

El presente trabajo se presentó en el XLIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas Celebrado del 3 al 6 de Octubre de 2010 en la Ciudad de Puerto Vallarta Jalisco, México.

No me queda más que decir gracias a todos.

¡LO LOGRAMOS!

NANCY VERÓNICA OROZCO CORTÉS



ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....10

ÍNDICE DE TABLAS.....11

ÍNDICE DE GRÁFICAS.....12

ABREVIATURAS.....13

1.0 INTRODUCCIÓN.....15

2.0 OBJETIVO.....18

 2.1 Objetivo General.....18

 2.2 Objetivo Particular.....18

3.0 HIPÓTESIS.....19

4.0 ANTECEDENTES.....20

 4.1 Desarrollo de Nuevos Fármacos.....20

 4.2 Sistema Cardiovascular.....22

 4.2.1 Funciones del Sistema Cardiovascular.....24

 4.2.2 Anatomía y Fisiología del Corazón.....24

 4.3 Circulación.....29

 4.4 Hipertensión Arterial.....31

 4.5 Factores de riesgo para Hipertensión Arterial.....33

 4.6 Diagnóstico y Tratamiento.....37

 4.7 Manejo Integral de la Hipertensión Arterial.....39

 4.7.1 Diuréticos.....40

 4.7.2 β -bloqueadores adrenérgicos.....41



4.7.3	Bloqueadores del canal de calcio.....	42
4.7.4	Inhibidores de la ECA.....	43
4.7.5	Bloqueadores del receptor angiotensina II (BRA).....	44
4.7.6	Simpaticolífticos.....	44
4.8	Sistema Renina Angiotensina.....	45
4.8.1	Angiotensinógeno.....	47
4.8.2	Prorrenina.....	48
4.8.2	Renina.....	50
4.8.3	Angiotensina I.....	52
4.8.4	Angiotensina II.....	53
4.8.5	Enzima convertidora de Angiotensina I.....	60
4.8.6	Enzima convertidora de Angiotensina II.....	64
4.8.7	Angiotensina 1-7.....	66
4.9	Sistema de Bradicinina.....	70
4.10	Óxido Nítrico.....	72
4.11	Compuesto LQM319 [4-tert-butil-2, 6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil) fenol].....	73
4.12	Captopril.....	74
4.13	N ^G -Methyl-L-arginine.....	76
5.0	METODOLOGÍA.....	77
5.1	Material.....	77
5.2	Preparación de Soluciones.....	79
5.3	Metodología de Investigación.....	80
6.0	RESULTADOS.....	84
7.0	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	98
8.0	CONCLUSIONES.....	103
9.0	REFERENCIAS.....	105
10.0	ANEXO I DATOS ESTADISTICOS.....	111
11.0	ANEXO I ANÁLISIS ANOVA.....	117



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía del Corazón.....25

Figura 2. Músculos del corazón.....26

Figura 3. Válvulas del corazón.....28

Figura 4. Circulación.....31

Figura 5. Tensión Arterial.....33

Figura 6. Los diferentes tipos de fármacos antihipertensivos.....39

Figura 7. Mecanismo de acción de los diuréticos.....40

Figura 8. Mecanismo de acción de los Bloqueadores β -adrenérgicos.....41

Figura 9. Mecanismo de acción de los Bloqueadores de Canales de Calcio.....42

Figura 10. Mecanismo de los Inhibidores de la ECA.....43

Figura 11. Sistema Renina Angiotensina.....46

Figura 12. Mecanismos del incremento de la presión arterial mediado por angiotensina II.....55

Figura 13. Cascada de señalización disparada por angiotensina II en el músculo liso vascular.....56

Figura 14. Acción de los IECA y de los ARA.....63

Figura 15. Representación esquemática para la formación de angiotensina 1-7.....67

Figura 16. Mecanismo de retroalimentación del SRA.....68

Figura 17. Mecanismo propuesto de la acción antitrombótica por la acción de los bloqueadores del SRA.....70

Figura 18. Cascada del SRA y Sistema Calicreína Cinina.....71

Figura 19. Estructura química del compuesto LQM319.....73

Figura 20. Estructura química del Captopril.....74



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata normotensa.....**111**

Tabla 2. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata normotensa.**112**

Tabla 3. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea.....**112**

Tabla 4. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea.....**113**

Tabla 5. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 + Angiotensina 1-7.....**113**

Tabla 6. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 + Angiotensina 1-7**114**

Tabla 7. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea tratada con Captopril + Angiotensina 1-7.....**114**

Tabla 8. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 + Angiotensina 1-7.....**115**

Tabla 9. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319, Captopril.....**115**

Tabla 10. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319, Captopril**116**



INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata normotensa.....**87**

Gráfica 2. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata normotensa.....**88**

Gráfica 3. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea.....**89**

Gráfica 4. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea.....**90**

Gráfica 5. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 y Angiotensina 1-7.....**91**

Gráfica 6. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 y Angiotensina 1-7.....**92**

Gráfica 7. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Captopril y Angiotensina 1-7.....**93**

Gráfica 8. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Captopril y Angiotensina 1-7.....**94**

Gráfica 9. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea (Angiotensina 1-7, LQM 319 y Captopril).....**95**

Gráfica 10. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea (Angiotensina 1-7, LQM 319 y Captopril).....**96**

Gráfica 11. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta torácica.....**97**



ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
Ang I	Angiotensina I
Ang II	Angiotensina II
ARA	Antagonistas del Receptor Angiotensina
BCC	Bloqueadores del Canal de Calcio
BRA	Bloqueadores del Receptor de Angiotensina
CC	Cardiopatía Coronaria
CLM	Músculo Liso Celular
DAG	Diacilglicerol
DHP	Dihidropiridina
DOB	Daño en órgano blanco
EGO	Examen General de Orina
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
FC	Frecuencia Cardiaca
GC	Gasto Cardiaco
GDP	Guanidil Difosfato
GTP	Guanidil Trifosfato
HLD	Colesterol de alta densidad
HTA	Hipertensión Arterial



IECA	Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina
LDL	Colesterol de baja densidad
LNMA	N ^G - monometil L-arginina
LQM 319	[4-tert-butil-2, 6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil) fenol]
NA	Noradrenalina
NEP	Endopeptidasa Neutra
NOS	Óxido Nítrico Sintasa
PA	Presión arterial
PEP	Propilendopeptidasa
PG_s	Prostaglandinas
PKC	Proteincinasa C
ProR	Prorrenina
RS	Retículo Sarcoplasmico
RVS	Resistencia Vasular Sistémica
SCV	Sistema Circulatorio Vasular
SHR	Rata Hipertensa Espontanea
SNC	Sistema Nervioso Central
SRA	Sistema Renina Angiotensina
SHR	Rata Hipertensa Espontánea
TX	Tromboxano
VL	Volumen Latido
YG	Yuxtaglomerulares



1.0 INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la Hipertensión arterial como un riesgo para la esperanza de vida del paciente no es reciente, de esta manera la hipertensión arterial puede considerarse como una enfermedad o un factor de riesgo, esto se debe a que es una entidad que por sí misma puede ocasionar la muerte del paciente, tiene distintas etiologías pero la misma fisiopatología, además es un importante factor de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis, cardiopatía isquémica y evento vascular cerebral, todos estos trastornos son causas importantes de mortalidad y morbilidad en México. De acuerdo a una encuesta Nacional de Enfermedades crónicas de 1996, la hipertensión arterial era en ese tiempo la enfermedad crónica más frecuente de nuestro país, afectó a 26.6 % de la población mayor de 20 años de edad, aunque en población mayor de 65 años la prevalencia del padecimiento alcanzó 58.5 %; sin embargo, su importancia epidemiológica y clínica se encuentran en sus repercusiones sobre la esperanza y calidad de vida del hipertenso.¹

Por otra parte, la Encuesta Nacional de Salud 2000 encontró que 30.05 % de la población en México entre las edades de 20 y 29 años es hipertensa, con una prevalencia que se incrementa con la edad hasta 59.5 % en la población entre 65 y 69 años, esto deja ver que antes de morir, la mayoría de los mexicanos serían hipertensos.²

A principios del decenio de 1970, la interrupción farmacológica del sistema de renina-angiotensina sólo se consideró razonable para pacientes con hipertensión y cifras altas de renina pero durante los años siguientes, ocurrió una expansión de las indicaciones clínicas en la interrupción farmacológica de dicho sistema con el advenimiento de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. El sistema renina-angiotensina es mucho más complejo de lo que se había pensado y capaz de generar una gran cantidad de péptidos biológicamente activos produciendo diversas acciones, como la homeóstasis cardiovascular.³



Su importancia ha quedado suficientemente probada en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial, insuficiencia cardiaca, infarto al miocardio y la función renal por citar sólo algunos ejemplos. Consecuentemente se han tratado de buscar agentes que controlen la actividad desordenada de la cascada bioquímica cuando determinamos procesos fisiopatológicos la hiperactivan. La superproducción de Angiotensina II producto de la cascada de interacciones de enzimas sustratos del sistema renina-angiotensina juega el papel muy importante en el desarrollo de estas enfermedades por ser un potente vasoconstrictor. Angiotensina 1-7 descubierta en 1988 es un componente bioactivo del sistema renina-angiotensina produce vasodilatación previniendo la acumulación de angiotensina II, aumenta la secreción de vasopresina en endotelio induce la síntesis de prostaglandinas, óxido nítrico y bradicinina (potentes vasodilatadores).

La angiotensina 1-7 actúa como vasodilatador, cardioprotector y antiproliferativo principalmente. Por lo tanto la importancia del estudio de este heptapéptido ya que funciona como un importante cardioprotector. Actualmente las enfermedades cardiovasculares aportan el mayor número de muertes anuales en todo el mundo por lo que se considera un verdadero problema sobre la humanidad. Sabemos que el tratamiento de estas patologías es de alto costo debido a que la mayoría de los medicamentos son transnacionales.⁴

Debido a esto se realizan investigaciones sobre la síntesis de fármacos nuevos que sean útiles en el tratamiento de cardiopatías en especial para la población mexicana para que puedan acceder a ellos de manera más fácil, es decir que tengan menor costo y sobre todo que hayan sido desarrollados especialmente para esta población. Es importante la búsqueda de nuevos principios activos que mejoren la calidad de vida de las personas así como la utilización de pruebas farmacológicas que avalen que éstos poseen actividad terapéutica y que además los efectos adversos son menores que los beneficios.



En el presente trabajo se determinó el efecto del compuesto Tiomorfolinico LQM 319 comparándolo con el efecto de Captopril sobre la contracción muscular producida por Angiotensina I y II en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7, esto se realizó en aorta de rata hipertensa espontánea (SHR). El trabajo se desarrollo en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio de la Unidad de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1 a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar.



2.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar el efecto de Angiotensina 1-7 en la respuesta vasodilatadora producida por Captopril y LQM 319 [4-tert-butil-2, 6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil) fenol] mediante las Curvas Concentración-Respuesta Acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en presencia del inhibidor de la sintasa del óxido nítrico en aorta de rata hipertensa espontánea para demostrar si el efecto vasodilatador es independiente de la vía de óxido nítrico.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES:

- ❖ Conocer el uso del equipo BIOPAQ SYSTEMS y del software ACQ 381 KNOWLEDGE mediante el montaje de aorta de rata a un vasoconstrictor para analizar e interpretar los resultados arrojados por este equipo.
- ❖ Realizar las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta de rata hipertensa espontánea en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7.
- ❖ Realizar las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 en aorta de rata hipertensa espontánea previamente administrada con LQM 319 y Captopril (1mg/Kg/5días).
- ❖ Comparar el efecto de Captopril con el compuesto LQM 319 mediante el efecto vasodilatador provocado en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 así como del inhibidor de la sintasa de óxido nítrico en las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en rata hipertensa espontánea.



3.0 HIPÓTESIS:

Se sabe que la Angiotensina 1-7 es un componente bioactivo del Sistema Renina Angiotensina que produce vasodilatación previniendo la acumulación de angiotensina II por lo tanto se espera que al administrarlo junto con el compuesto tiomorfolínico LQM 319 y Captopril se potencie el efecto vasodilatador ante la vasoconstricción provocada por Angiotensina I y II en aorta de rata hipertensa espontánea.



4.0 ANTECEDENTES

4.1 Desarrollo de Nuevos Fármacos.

Desde la tercera centuria aC hasta principios del siglo XX, la mayoría de los fármacos útiles, morfina, quinina, digitálicos, ergotamina y atropina por mencionar algunos, eran de origen vegetal y sus usos terapéuticos se basaban en descubrimientos casuales. A medida que aumentó la capacidad de los especialistas químicos para sintetizar, aislar y caracterizar nuevos compuestos así como el conocimiento de los biólogos acerca de la acción de los fármacos y acerca de los mecanismos biológicos de la salud y de la enfermedad, la búsqueda de nuevos fármacos se realizó gradualmente con bases más racionales. Actualmente, los fármacos útiles derivan de productos naturales, de la síntesis química o de una combinación de ambos por métodos que varían entre el hallazgo casual y la síntesis racional dentro de un espectro completo.⁵

Los especialistas en química orgánica de la industria farmacéutica sintetizan cientos de compuestos nuevos cada semana, en la mayoría de los casos, el químico tiene razones específicas para sintetizar un nuevo compuesto particular, basándose habitualmente, en consideraciones teóricas, en química médica, en mecanismos biológicos o en una combinación de los tres. Uno de los principales factores que permite el enfoque más racional de los nuevos fármacos ha sido el mejor conocimiento de los mecanismos bioquímicos. En las tres décadas pasadas las ciencias biológicas han sufrido un importante cambio de rumbo hacia el conocimiento molecular de los sistemas biológicos.

En otras palabras la biología tiene una orientación más química y lentamente se está orientando hacia la física. Por ejemplo, la biología molecular, la farmacología molecular y la patología molecular son campos de investigación que no existían hace unas décadas. Es importante comprender las implicaciones de esta tendencia de la investigación en la industria farmacéutica moderna.⁶



La búsqueda de fármacos nuevos implica todavía un gran componente de improviso y de azar pero gradualmente se ha desarrollado un enfoque más racional. Por ejemplo, un descubrimiento en la investigación biológica básica puede dar origen a la hipótesis de que cierto mediador químico, una enzima en particular o quizá un receptor específico tienen un papel en determinada condición patológica. Los fármacos candidatos se diseñan con la ayuda de las computadoras y sintetizan con base a mediadores, hormonas, metabolitos o sustratos conocidos.

Para cumplir los requerimientos de la FDA; se ha enfocado la investigación farmacéutica cada vez más en lo que sucede con los fármacos después de su administración. En algunos casos los productos metabólicos de los fármacos, producidos “in vivo” son biológicamente activos, proporcionando nuevos indicios al químico para realizar modificaciones estructurales adicionales.⁸

Antes de que un nuevo fármaco pueda ser enviado a una evaluación toxicológica o clínica, se requiere un considerable desarrollo químico analítico para cimentar el trabajo subsecuente del control de calidad y de estabilidad.

Un aspecto importante de la química medicinal ha sido establecer una relación entre estructura química y actividad biológica. En los últimos años se ha considerado más la correlación entre estructura química y la reactividad química o las propiedades físicas y estas correlacionadas pueden relacionarse a su vez con sus acciones terapéuticas.

Aunque se registraron grandes avances en el conocimiento de la correlación entre estructura química y actividad biológica en algunas áreas en especial la de los fármacos nuevos y mejores.¹⁰ Se usan varios enfoques para desarrollar fármacos sintéticos en distintos sistemas biológicos que conducen a actividades biológicas específicas. Una vez conocido el efecto del fármaco, el químico medicinal y el farmacéutico trabajan conjuntamente para mejorar la actividad de una molécula activa o “molécula guía”. Este proceso normalmente atraviesa un ciclo de síntesis prueba biológica hasta obtener un fármaco con la actividad deseada.¹¹



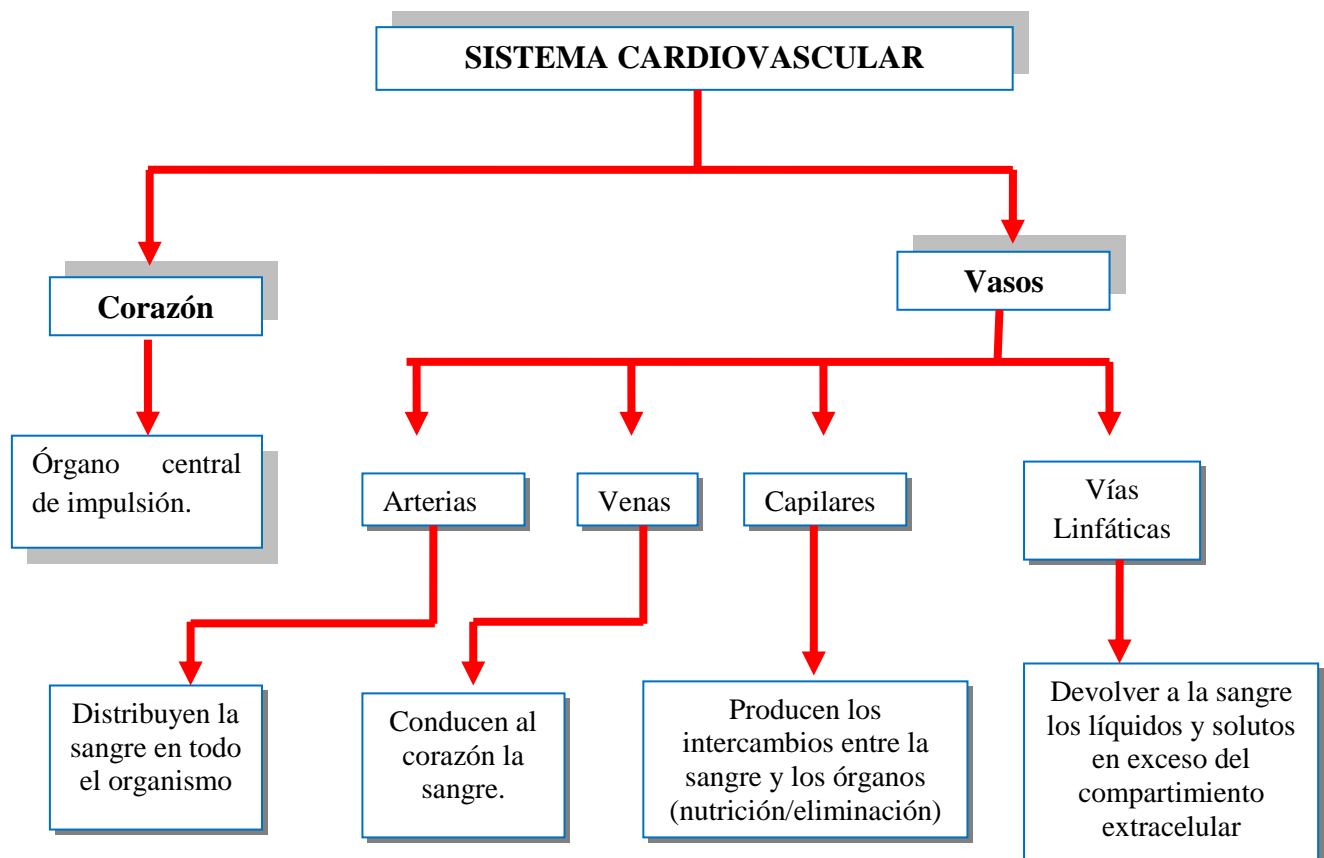
En el área de diseño de fármacos por computadoras uno de los primeros usos fué el enfoque de la relación cuantitativa estructura-actividad. En los estudios de conformación se usan la mecánica molecular y la mecánica cuántica usando algunos programas, para conocer la conformación preferida de una molécula. El modelo molecular y las gráficas moleculares han mostrado un crecimiento espectacular y se están convirtiendo en parte integral del descubrimiento de fármacos.¹²

Las bases racionales de la investigación farmacéutica y el desarrollo de los fármacos dependen por lo menos de 3 factores: la evolución de las necesidades médicas, las actitudes sociales y la factibilidad científica y técnica. Entre los factores internos de la ciencia se encuentran los que promueven la biología molecular. El área parece ser una de las fuerzas directrices más importantes, particularmente en un futuro previsible.¹³

4.2 Sistema Cardiovascular (SCV).

La angiología tiene por objetivo el estudio del sistema que asegura la circulación de la sangre y de la linfa en todo el organismo. El sistema cardiovascular sirve para proporcionar un rápido transporte a los nutrientes por todo el cuerpo y una rápida eliminación de los productos de desecho. ¹⁴

El **sistema cardiovascular** comprende esencialmente



El sistema cardiovascular permite a los nutrientes:

- Difundirse en el sistema por sus fuentes.
- Recorrer grandes distancias rápidamente.



- Difundirse en los tejidos en los que son necesarios.

Este tipo de proceso se denomina transporte por convección y necesita energía. Esta energía es proporcionada por el corazón siendo los vasos el modo de convección. Las funciones del sistema cardiovascular se basan en un medio para el transporte. Este medio es la sangre, que esta formada por células (principalmente glóbulos rojos) y plasma (agua, proteínas, etc.).

4.2.1 Funciones del Sistema Cardiovascular

Las principales funciones del sistema cardiovascular son:

- Rápido transporte de los nutrientes (oxígeno, aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, agua, etc.) y de los productos de desecho (dióxido de carbono, urea, creatinina, etc).
- Control hormonal, transportando las hormonas a sus órganos diana y secretando sus propias hormonas (péptido natriurético auricular).
- Regulación de la temperatura, controlando la distribución del calor entre el centro del organismo y la piel.
- Reproducción, dando lugar a la erección del pene.
- Defensa del huésped, transportando células inmunitarias, antígenos y otros mediadores (anticuerpos).

Para analizar el funcionamiento del corazón, debemos conocer todo lo que ocurre durante el ciclo cardiaco y diferenciar entre los fenómenos eléctricos y mecánicos, ya que los primeros condicionan la aparición de los segundos.⁵

4.2.2 Anatomía y Fisiología del Corazón.

El corazón es un músculo hueco que circunscribe cavidades en las cuales circula la sangre. Está compuesto por dos mitades diferenciadas, por lo cual se describen un corazón derecho y un corazón izquierdo. En cada una de estas mitades hay dos cavidades: una aurícula (atrio) y un ventrículo que reciben la sangre que proviene del cuerpo y la bombean de nuevo hacia él.

El corazón está situado en el tórax en la parte inferior del mediastino, encima del diafragma, con un peso entre 7 y 15 onzas (200 a 425 gramos). Al final de una vida larga, el corazón de una persona puede haber latido más de 3500 millones de veces. Cada día, el corazón medio late 100,000 veces, bombeando aproximadamente 7,571 litros de sangre.⁷

El mediastino es una región que se encuentra situada profundamente en el tórax, entre las regiones pleuropulmonares derecha e izquierda.¹⁵

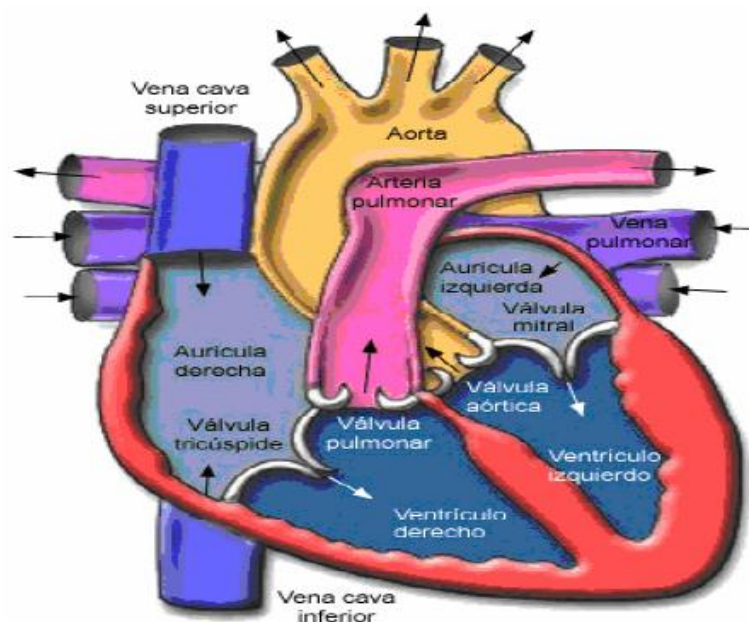


Figura 1. Anatomía del Corazón. Se muestra la anatomía de arterias, válvulas, ventrículos y aurículas del corazón.⁷

Esta formado por un músculo con propiedades particulares, el miocardio, tapizado interiormente por el endocardio y exteriormente por el epicardio. El corazón esta rodeado por el pericardio, conjunto fibroso que lo separa de los órganos vecinos.

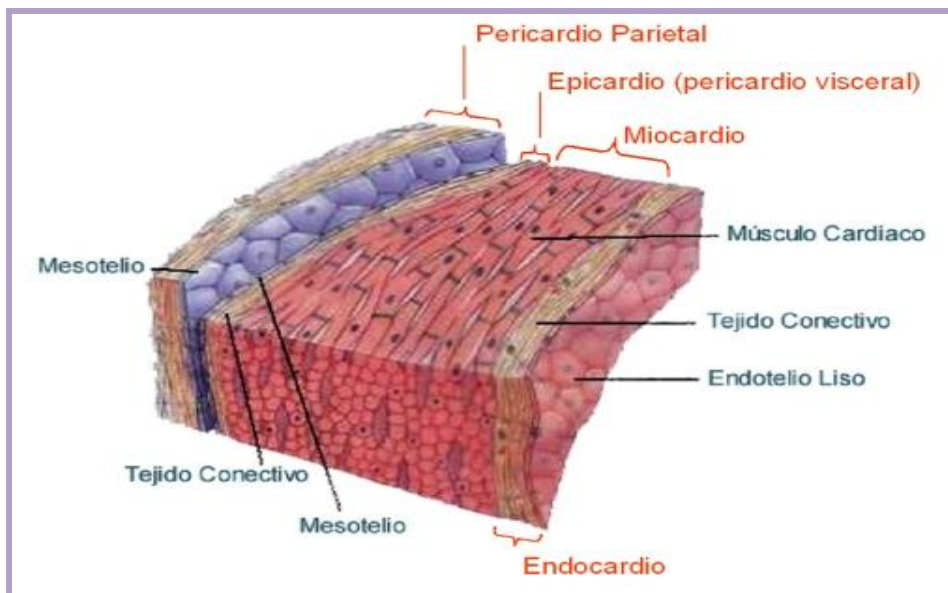


Figura 2. Músculos del corazón. Se muestra el miocardio, endocardio y pericardio.⁷

Cuando se relaja (diástole), atrae hacia sí la sangre que circula en las venas. Cuando se contrae (sístole) expulsa la sangre hacia las arterias: aorta o tronco pulmonar.¹⁶

- **Las aurículas** reciben la sangre que vuelve al corazón. Son cámaras de pared delgada, ya que además de bomba, funcionan como reservorio y su vaciamiento a los ventrículos encuentra mínima o nula resistencia. De su posición en el espacio depende el *situs* del corazón, cuyo conocimiento es importante en el estudio del enfermo con cardiopatía congénita.



- **Los ventrículos** Son las cámaras del corazón cuya función es bombear la sangre para la circulación sistémica, a través de la válvula aórtica, en el caso del ventrículo izquierdo, y para la circulación pulmonar, a través de la válvula pulmonar, en el caso del ventrículo derecho.

Mientras que el corazón derecho y el corazón izquierdo esta separado por un tabique, cada una de las aurículas comunica con el ventrículo correspondiente por un orificio provisto de válvulas que aseguran, en cada mitad del corazón, una circulación sanguínea en un sentido único. A las aurículas llegan las venas, de los ventrículos parten las arterias.

Los vasos de la sangre, que componen una red de arterias y venas que transportan la sangre por todo el cuerpo. Las arterias transportan la sangre desde el corazón hacia los tejidos del cuerpo. Las venas transportan la sangre de vuelta al corazón. Cuatro válvulas que previenen que la sangre vuelva hacia atrás, cada válvula tiene aletas, llamadas valvas, que permiten el flujo hacia adelante e impiden el flujo hacia atrás y un sistema eléctrico del corazón que controla la velocidad de los latidos.

- **Válvulas:** Su función es mantener el flujo sanguíneo impuesto por la contracción miocárdica, en un solo sentido (de aurícula a ventrículo y de ventrículo hacia la arteria).¹⁷
 - La válvula tricúspide: localizada entre la aurícula derecha y el ventrículo derecho.
 - La válvula pulmonar: localizada entre el ventrículo derecho y la arteria pulmonar.
 - La válvula mitral: localizada entre la aurícula izquierda y el ventrículo izquierdo.
 - La válvula aórtica: localizada entre el ventrículo izquierdo y la aorta.

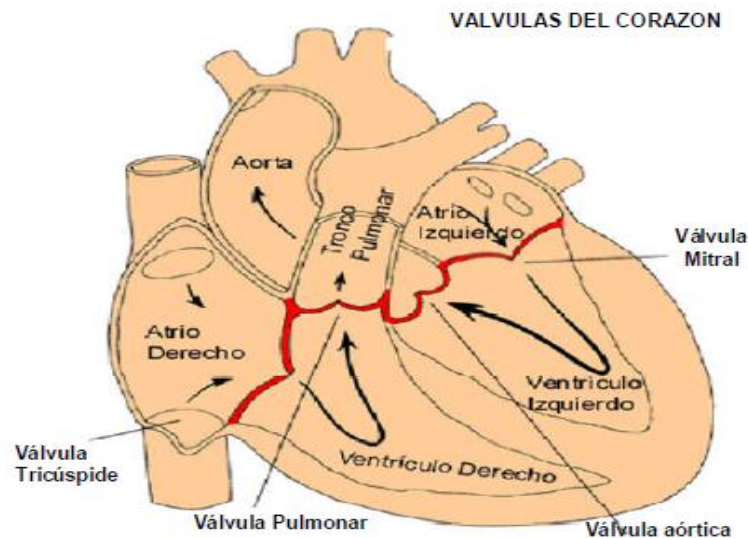


Figura 3. Válvulas del corazón. Se señala la localización de las válvulas del corazón.¹⁷

- **Aorta:** es un conducto a través del cual la sangre impulsada desde el ventrículo izquierdo pasa y se distribuye en el lecho arterial sistémico. La aorta, además de ser un conducto con propiedades elásticas ejerce una función activa, distendiéndose durante la sístole para almacenar parte del volumen de eyección y aprovechar su capacidad de retracción elástica durante la diástole impulsando el remanente lo que garantiza el mantenimiento del flujo a la periferia durante la diástole.
- **Venas cavas:** son las dos venas mayores del cuerpo. Existe una vena cava superior o descendente, que recibe la sangre de la mitad superior del cuerpo, y otra inferior o ascendente, que recoge la sangre de los órganos situados debajo del diafragma. Ambas desembocan en la aurícula derecha del corazón.



En la fisiología del corazón, cabe destacar que sus células se despolarizan por sí mismas dando lugar a un potencial de acción, que resulta en una contracción del músculo cardíaco. Por otra parte, las células del músculo cardíaco se comunican de manera que el potencial de acción se propaga por todas ellas, de tal manera que ocurre la contracción del corazón.

4.3 Circulación

William Harvey fue quien descubrió que la sangre circula en el organismo a partir del ventrículo izquierdo. Su contracción impulsa la sangre arterial a la aorta y a partir de ésta se reparte en todo el resto del cuerpo, excepto en los pulmones. En los diferentes órganos y en los capilares se establecen intercambios fisicoquímicos que aseguran la vida de los diferentes tejidos. El resultado de estos intercambios es transportado por la sangre de los capilares. Ésta es recogida por las venas que la conducen a la aurícula derecha, por intermedio de las venas cavas superior e inferior.¹⁸

De la aurícula derecha la sangre pasa al ventrículo derecho, que impulsa, por su contracción, la sangre venosa al tronco pulmonar y de allí a los dos pulmones. En los pulmones, la sangre venosa sufre una transformación en el curso de la cual se elimina al exterior el anhídrido carbónico y se enriquece en oxígeno. La sangre es oxigenada, sangre arterial, vuelve al corazón por las venas pulmonares que terminan en la aurícula izquierda. De la aurícula izquierda la sangre arterial pasa al ventrículo izquierdo: queda así cerrado el circuito sanguíneo. Se opone así el corazón derecho, que contiene sangre venosa, la cual envía a los pulmones, al corazón izquierdo que recibe sangre arterial, la que reparte en el resto del cuerpo.⁶



La sangre circula en los vasos con sentido único: se aleja del corazón en las arterias y se dirige hacia el en las venas. En el corazón mismo, el motor de la circulación sanguínea, el curso de la sangre esta guiado por las válvulas auriculoventriculares: éstas se oponen al reflujo de la sangre desde los ventrículos hacia las aurículas.

Las válvulas pulmonar y aortica evitan el reflujo de la sangre desde las arterias (pulmonar y aorta) hacia los ventrículos. ¹⁹

Se distinguen, por lo tanto:

- **La gran circulación general o sistémica**: comprende el ventrículo izquierdo, la aorta y todas las arterias que de ella se originan, los capilares y las venas que conducen la sangre a la aurícula derecha. En esta circulación desembocan los vasos linfáticos: el conducto torácico a la izquierda y el conducto linfático derecho a la derecha.^{6, 21.}
- **La pequeña circulación ó circulación pulmonar**: incluye el ventrículo derecho, la arteria pulmonar y sus ramas, los capilares pulmonares, las venas pulmonares y la aurícula izquierda. En esta circulación las arterias contienen sangre carboxigenada y las venas, sangre oxigenada.²⁰

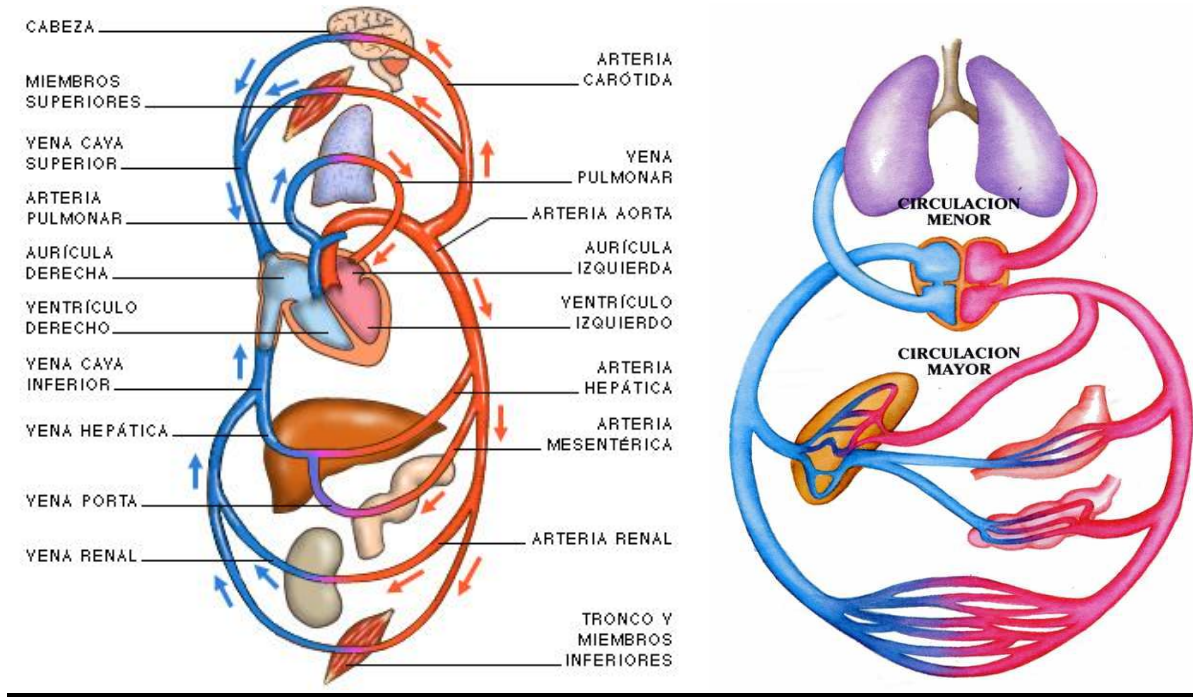


Figura 4. Circulación Sanguínea²⁰



4.4 Hipertensión Arterial

La presión arterial alta es la presión arterial elevada sin causa conocida. Las medidas de presión arterial son leídas en dos números.¹⁸ El número más alto es la presión sistólica, el número más bajo se conoce como presión diastólica. La presión sistólica normal es de 120 mmHg o menor y la diastólica es de 80 mmHg o menor.²³

Tabla 1. Hipertensión arterial. Nueva clasificación del JNC VII (The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure)²⁴

PRESION (mmHg)	PRESION SISTOLICA (mmHg)	PRESION DIASTOLICA (mmHg)
NORMAL	120	< 80
PRE HIPERTENSION	120 - 139	80 – 89
HIPERTENSION ESTADIO 1	140 - 159	90 – 99
HIPERTENSION ESTADIO 2	> 160	> 100

Los pacientes con hipertensión arterial necesitan seguimiento médico y cambios en su modo de vida. La presión arterial alta pone tensión en el corazón, pulmones, cerebro, riñones y vasos sanguíneos. Con el tiempo, la presión arterial alta puede dañar estos órganos y tejidos. Por definición, la causa esencial de la hipertensión es desconocida.¹⁵ La presión arterial alta generalmente no causa síntomas. Sus órganos y tejidos pueden ser dañados por ella sin que sienta algún síntoma. Ocasionalmente, si la presión arterial alcanza niveles extremos, puede experimentar los síntomas de:

- Dolor de cabeza.
- Visión doble o borrosa
- Dolor abdominal
- Dolor en el pecho
- Falta de aliento.
- Mareos

La presión arterial alta con frecuencia es diagnosticada durante la visita al doctor, el flujo sanguíneo es medido utilizando un aparato alrededor del brazo llamado esfigmomanómetro. Si la lectura es una presión arterial alta, se le pedirá que regrese para tomarle la presión en repetidas ocasiones. Si tiene dos o más visitas con lecturas por arriba de 140/90, se le diagnosticará presión arterial alta.²²

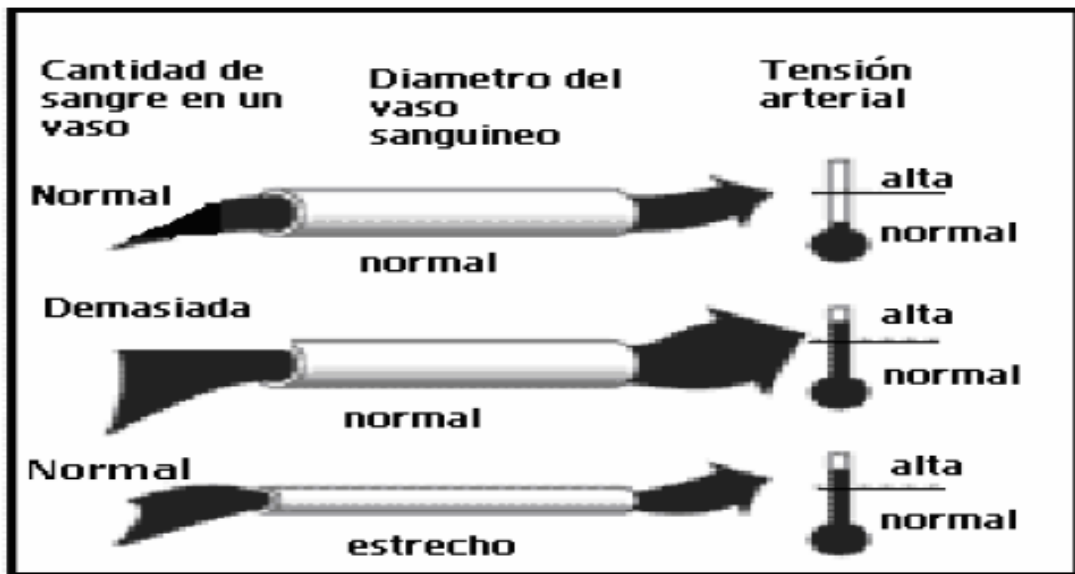


Figura 5. Tensión Arterial. Se muestra la relación de la tensión arterial en base a la cantidad de sangre y el diámetro del vaso sanguíneo.²²



4.5 Factores de riesgo para Hipertensión Arterial.

Los factores de riesgo cardiovascular son procesos o actividades que aumentan la morbilidad y la mortalidad por enfermedad cardiovascular. Los factores de riesgo actúan habitualmente como causas o promotores de la enfermedad. En algunos casos son también indicadores de que ya existe una enfermedad cardiovascular subclínica es decir asintomática.¹⁸

Los factores de riesgo pueden ser fijos o modificables, los fijos son la edad, el sexo masculino y los antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular.

Los factores de riesgo modificables son el hábito de fumar, las dislipemias, la hipertensión, la diabetes mellitus, la obesidad y la inactividad física estas pueden suprimirse o reducirse mediante el cambio del estilo de vida.⁷

La hipertensión crónica provoca cambios en las arterias similares a los que produce el envejecimiento. Entre ellos se encuentra la lesión endotelial y la arteriosclerosis, con el engrosamiento y aumento del contenido del tejido conjuntivo en la pared arterial, lo que disminuye la distensibilidad de las arterias. Estos efectos sobre la estructura vascular, al combinarse con la elevación de la presión arterial, provocan arteriosclerosis, cardiopatía coronaria, hipertrofia ventricular izquierda y lesión renal. La hipertensión es, un importante factor de riesgo de infarto al miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, accidentes isquémicos cerebrales e insuficiencia renal.²⁵

Las enfermedades cardiovasculares se producen cuando confluyen un numero suficiente de factores desencadenantes o factores de riesgo, existen datos epidemiológicos de estudios en todo el mundo que han identificado constantemente valores de lípidos en la sangre y ciertos factores ambientales en particular dietéticos, que caracterizan a las poblaciones con frecuencia alta en enfermedades cardiovasculares.^{5,6}



Los factores de riesgo que afectan los desarrollos de la enfermedad cardiovascular se pueden clasificar en diferentes categorías en función de si son modificables o no y de la forma en que contribuyen a la desaparición de la enfermedad cardiovascular.¹⁶

1. Factores personales no modificables

- ❖ **Sexo.** El sexo masculino tiene más probabilidades de desarrollar enfermedades cardiovasculares ya que el sexo femenino presenta el efecto de los estrógenos como antioxidantes, descenso del colesterol de baja densidad (LDL), aumento del colesterol de alta densidad (HDL), estimulación de la actividad de la oxido nítrico sintetasa, vasodilatación y aumento de la producción de plasminógeno.^{5,18}
- ❖ **Edad.** La edad es un factor de riesgo ya que las mujeres de mediana edad tienen muchas menos probabilidades de desarrollar enfermedades cardiovasculares en comparación a los hombres que desarrollan la enfermedad entre los 20 y los 74 años, esta diferencia se acorta después de la menopausia por efecto de los estrógenos.¹⁸
- ❖ **Herencia o antecedentes familiares.** Numerosas encuestas epidemiológicas han establecido que existe una predisposición familiar a padecer enfermedades cardiovasculares, la causa de esto es que estos factores tienen una base genética multifactorial (se deben a múltiples genes anormales que interactúan con las influencias del medio).^{16,18}

2. Factores de riesgo que probablemente se puedan corregir.

- ❖ **Directos:** Son aquellos que intervienen de una forma directa en los procesos de desarrollo en la enfermedad cardiovascular.¹⁸



- ✓ **Niveles de colesterol total y LDL elevados.** Las lipoproteínas son partículas transportadas por la sangre que contienen colesterol y otros lípidos, su función es transportar lípidos entre el intestino, el hígado y otros órganos, las lipoproteínas de baja densidad se asocian a niveles plasmáticos de colesterol total elevado puesto que contienen el 70 % del colesterol plasmático, estas también desempeñan un papel fundamental en la aparición de arteriosclerosis.^{18, 25}
- ✓ **Niveles de HDL bajos.** El colesterol de alta densidad esta relacionado con la eliminación del colesterol de los tejidos corporales, los niveles bajos de este se relacionan a menudo con cifras altas de triglicéridos plasmáticos también relacionados con enfermedad cardiovascular.^{18, 24}
- ✓ **Tabaquismo.** Este provoca enfermedad cardiovascular por descenso del colesterol de alta densidad, aumento de la coagulabilidad sanguínea y lesión del endotelio lo que produce y promueve la arteriosclerosis. Además la nicotina causa estimulación cardíaca y reducción de la capacidad del transporte de oxígeno por la sangre que esta mediada por el monóxido de carbono.^{15,18}
- ✓ **Hipertensión.** Definida como una presión arterial superior a 140/90 mmHg. La hipertensión provoca aterogenesis, probablemente al lesionar el endotelio y causar otros efectos nocivos sobre las paredes grandes de las arterias. La hipertensión lesiona los vasos cerebrales y renales, lo que aumenta el riesgo de insuficiencia renal. El aumento en el trabajo cardíaco por la hipertensión arterial provoca un engrosamiento de la pared del ventrículo izquierdo y esta causa lesiones cardiovasculares más graves, la hipertrofia ventricular predispone al miocardio a sufrir arritmias e isquemia y contribuye de forma importante a la insuficiencia cardíaca, el infarto al miocardio y a la muerte súbita.^{5,15,18.}



- ✓ **Diabetes.** Esta causa lesiones progresivas de la microvascularización y de las arterias de mayor calibre, un 75 % de los diabéticos fallecen por enfermedad cardiovascular ya que presentan lesiones endoteliales y niveles elevados de colesterol de baja, ambos efectos pueden ser el resultado de la hiperglucemia, así mismo, la coagulabilidad sanguínea está aumentada a causa del inhibidor del activador de plasminógeno PAI-1 y de la mayor agregabilidad plaquetaria.^{18, 25}
- ✓ **Tipo de alimentación.** Dietas ricas en carbohidratos y grasas contribuyen al desarrollo de enfermedad cardiovascular.¹⁸

- ❖ **indirectos:** Son aquellos que se han relacionado a través de estudios epidemiológicos o clínicos con la incidencia de enfermedades cardiovasculares pero que no intervienen directamente en la génesis de la enfermedad cardiovascular, sino a través de otros factores de riesgo directos.
- ✓ **Obesidad.** Una buena forma física disminuye a la mitad la mortalidad por enfermedad cardiovascular.
- ✓ **Sedentarismo.** Promueve la enfermedad por múltiples mecanismos asociada a niveles de colesterol de alta bajos a aumento en la presión arterial.
- ✓ **Estrés.** Por el aumento en el ritmo cardíaco que da como resultado arritmias cardíacas, hipertensión arterial e infarto al miocardio.^{18, 15, 24}

3. Circunstancias especiales

- ❖ Haber padecido anteriormente un accidente cardiovascular.
- ❖ Hipertrofia ventricular izquierda.
- ❖ Apnea del sueño.^{5,18}



4.6 Diagnóstico y Tratamiento.

Los procedimientos diagnósticos tienen como objetivo:

- ❖ Determinar la presión arterial.
- ❖ Identificar posibles causas secundarias de hipertensión.
- ❖ Evaluar el riesgo cardiovascular general mediante la búsqueda de otros factores de riesgo, lesiones de órganos diana y enfermedades simultáneas o trastornos clínicos acompañantes.²⁶

En base a los objetivos, los procedimientos diagnósticos incluyen:

- **Determinaciones repetidas de la presión arterial:** Medir la presión arterial en dos ocasiones con intervalos de 2 min. y si la diferencia es mayor a 5 mmHg, hacer otra medición.
- **Clasificación de la Hipertensión Arterial:** Para clasificar a un individuo como hipertenso se debe contar como mínimo con tres registros de presión arterial en diferentes días, a menos que el paciente tenga signos que sugieran daño de órgano blanco (DOB) o acuda por una urgencia hipertensiva.
- **Anamnesis:** Investigar ingesta de medicamentos hipertensivos como los antigripales, datos de hipertiroidismos, hiperaldoosterismo entre otras que sugieran hipertensión arterial secundaria. Interrogar acerca de los síntomas que sugieran complicaciones de la hipertensión arterial.
- **Examen Físico:** Buscar soplos vascular en cuello, corazón, abdomen, vasos iliacos y femorales, estertores alveolares, desplazamiento del choque de la punta, arritmias, tercer o cuarto ruidos cardiacos, pulsos periféricos, edema, signos neurológicos anormales.
- **Análisis de Laboratorio y estudios complementarios para identificar DOB y el estado general del paciente.**

- **Estratificación del riesgo cardiovascular:** Mediante la identificación de los factores de riesgo y los datos de DOB. El objetivo es prevenir y/o identificar un evento de cardiopatía coronaria (CC), que constituye el motivo más frecuente de muerte.²⁷

4.7 Manejo Integral de la Hipertensión Arterial

La eficacia de la terapia antihipertensiva no sólo se evalúa en función del control de la presión arterial, sino de los factores de riesgo acompañantes en especial los relacionados con coronariopatía, que es la principal causa de muerte en hipertensos.⁸

Todos los medicamentos antihipertensivos actúan reduciendo el gasto cardiaco (diuréticos y β -bloqueadores) o bien la resistencia vascular periférica (todos los demás agentes).

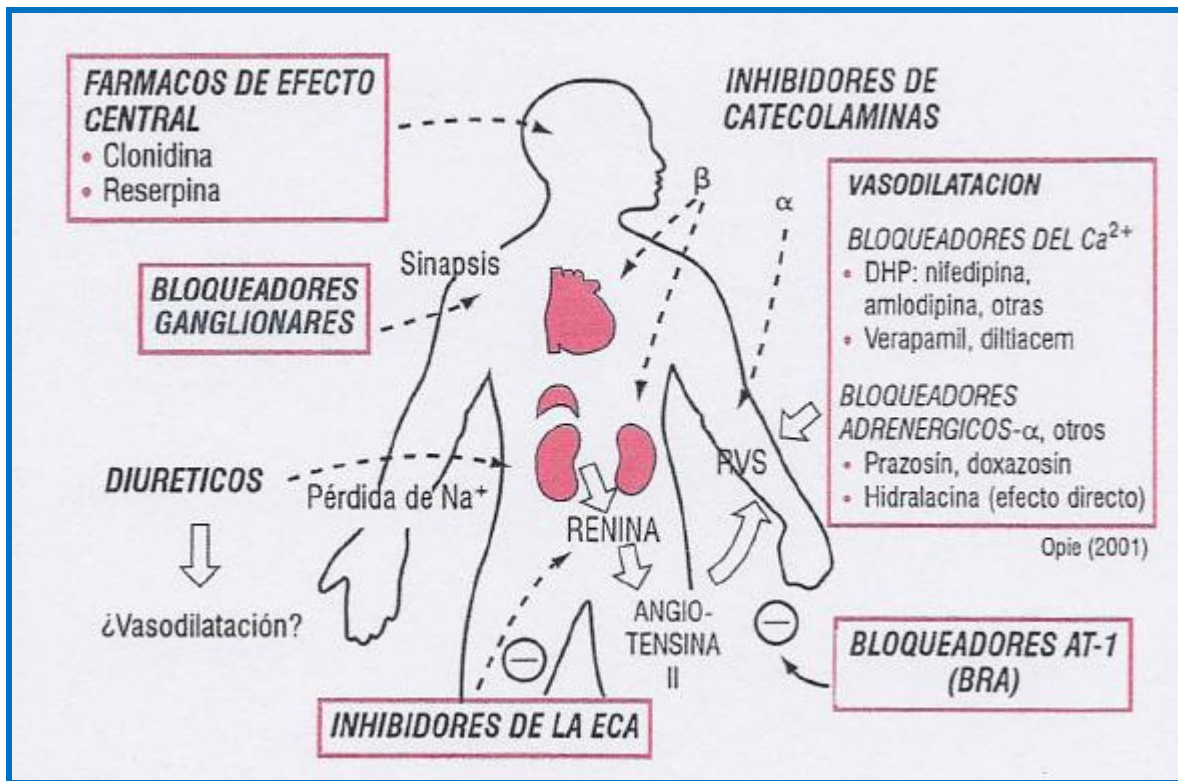


Figura 6. Los diferentes tipos de fármacos antihipertensivos actúan en sitios distintos. Debido a que la hipertensión suele ser de origen multifactorial, es difícil establecer un medicamento ideal único para todos los pacientes, por lo que se prescriben casi siempre combinaciones. DHP, dihidropiridinas; RVS, resistencia vascular sistémica; AT₁ subtipo 1 de receptor de angiotensina II; BRA, bloqueadores del receptor de angiotensina.⁸

4.7.1 Diuréticos

Diuréticos^{6, 8}



Son fármacos que aumentan la tasa de flujo urinario, incrementan la tasa de excreción de Na^+ (nutriureis) y su anión acompañante Cl^-

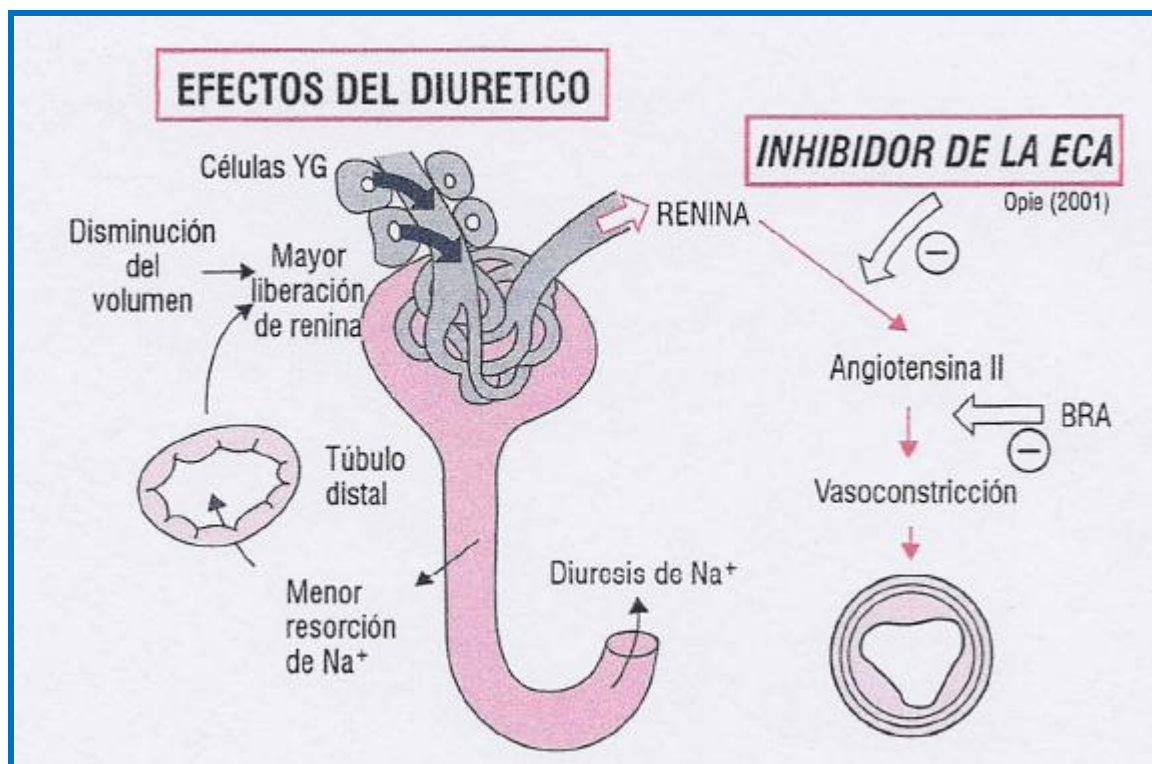


Figura 7. Mecanismo de acción de los diuréticos. Obsérvese la secuencia auto limitada, por la cual la pérdida de sodio y la disminución de la volemia estimulan la liberación de renina y favorecen la vasoconstricción. Este último efecto atenúa con el tratamiento simultáneo mediante el inhibidor de la ECA o bloqueadores del receptor de angiotensina (BRA).²⁸

4.7.2 β -Bloqueadores

B-bloqueadores

Son fármacos que reducen la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco produciendo una disminución en la presión arterial

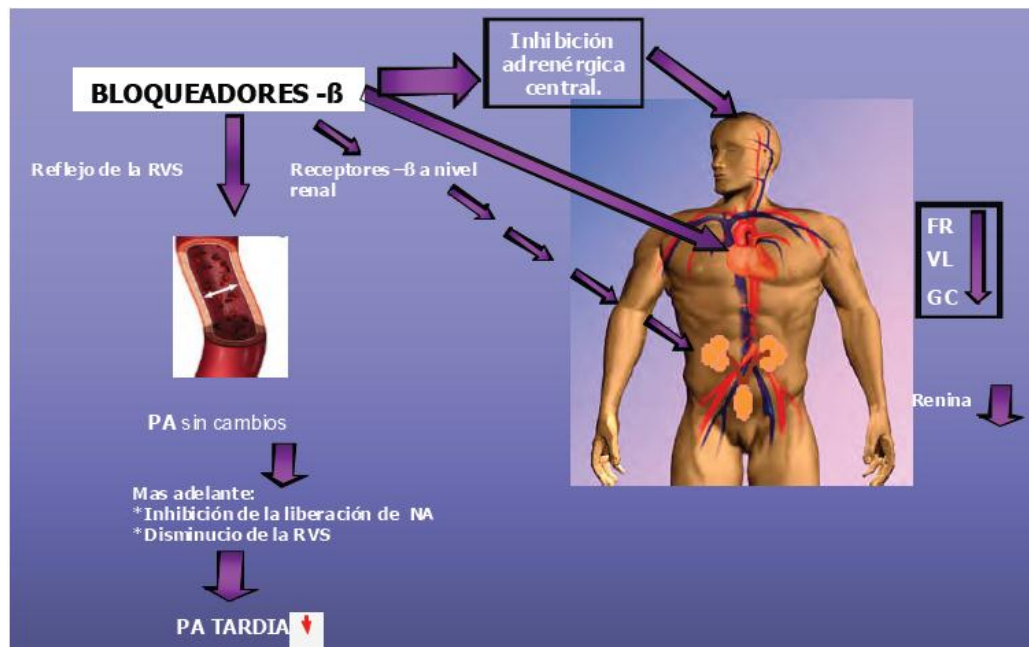


Figura 8. B-Bloqueadores. La disminución inicial de la frecuencia cardíaca (FC), volumen latido (VL) y gasto cardíaco (GC) no produce una reducción equivalente de la presión arterial por el aumento mediado por barorreflejo de la vasoconstricción adrenérgica alfa a nivel periférico, que incrementa la resistencia vascular sistémica (RVS). El efecto de los bloqueadores beta sobre los receptores anteriores a la unión en las terminales neuronales inhibe la liberación de noradrenalina (NA), lo cual explica porque la RVS vuelve más adelante a un nivel normal. Es entonces cuando se reduce la presión arterial (PA).²⁸

4.7.3 Bloqueadores del canal de calcio

Bloqueadores del canal de calcio



Interrumpen el movimiento de calcio hacia las células del corazón y vasos sanguíneos, producen relajación del músculo liso y en el tejido cardiaco tiene un efecto inotrópico negativo.

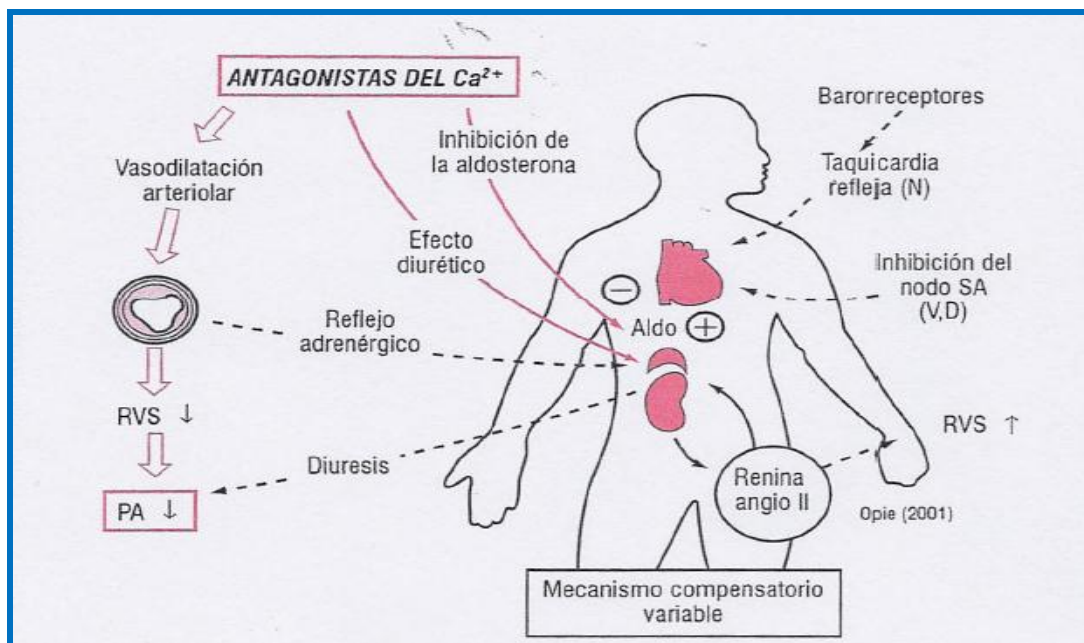


Figura 9. Bloqueadores del canal de calcio. Los antagonistas de calcio (BCC) actúan al inducir vasodilatación arterial periférica y ejercer un menor efecto diurético. También activan mecanismos de contrarregulación, dependiendo de la estimulación de la renina y la formación de angiotensina, así como de la liberación refleja de noradrenalina. La inhibición de aldosterona evita la retención de líquidos.²⁸

4.7.4 Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA)

IECA



Inhiben de forma competitiva, específica y reversible la enzima de conversión que transforma la angiotensina I en angiotensina II.

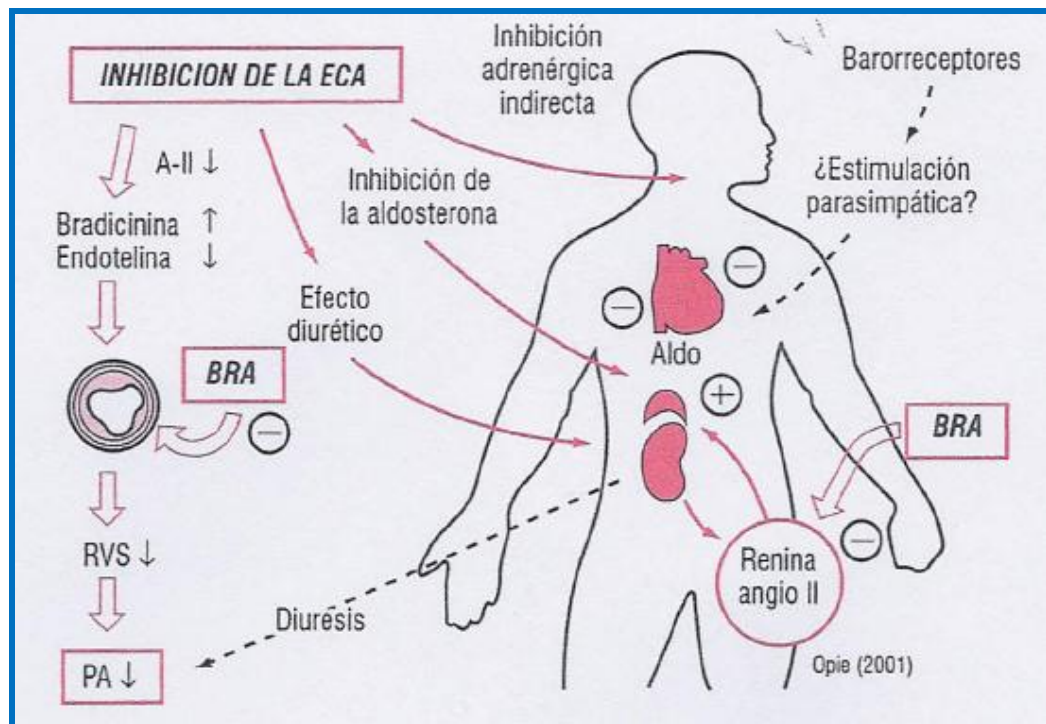


Figura 10. Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA). Posibles mecanismos de acción por los cuales los inhibidores de la ECA y los bloqueadores de receptor angiotensina (BRA) podrían ejercer su efecto antihipertensivo. El principal efecto tiene lugar sobre las arteriolas periféricas, lo que produce vasodilatación y disminución de la resistencia vascular sistémica (RVS). La inhibición indirecta de la actividad adrenérgica favorece la vasodilatación arteriolar. La reducción del nivel de angiotensina II también produce un aumento de la formación de bradicinina y disminución de la formación del endotelina, así como inhibición de los efectos centrales de la angiotensina II y supresión indirecta de la actividad adrenérgica. Esto difiere de la vasodilatación inducida por los bloqueadores de calcio.²⁸

4.7.5 Bloqueadores del Receptor Angiotensina II (BRA)

BRA



Bloquear en forma selectiva los efectos de angiotensina II.
Reducen la presión arterial con pocos efectos adversos.

4.7.6 Simpaticolíticos

Simpaticolíticos



Actúan por estimulación directa de los α -adrenérgicos reduciendo el flujo simpático, produciendo una caída de la resistencia periférica.

Tratamiento No Farmacológico. ⁽⁸⁾

La terapéutica no farmacológica debe de ser estándar en todos los hipertensos y sugiere el implemento de nuevas medidas como son:

- Baja de peso.
- Actividad Física.
- Consumo moderado de sal.
- Consumo moderado de alcohol.
- Dejar de fumar.
- Consumo de potasio.



4.8 Sistema Renina Angiotensina.

La historia del sistema renina angiotensina se inició con las observaciones de T. Gerstedt y Bergman quienes encontraron que los extractos crudos de riñón de conejo elevaban la presión arterial sistemática cuando se inyectaban en conejos anestesiados. Le dieron el nombre de renina a esta sustancia. Aun cuando este trabajo fue confirmado unos cuantos años más tarde, no se le concedió toda su importancia hasta que Goldblatt y colaboradores revivieron el interés de la renina en el control fisiológico de la presión arterial al demostrar que la constricción de la arteria renal en perros producía hipertensión arterial persistente. Unos cuantos años después se observó que la preparación con renina cruda no producía constricción en los vasos sanguíneos de la cola amputada del perro o de los vasos de la oreja del conejo profundidos en solución salina. Sin embargo, si se agregaba plasma líquido de perfusión, se producía rápidamente actividad vasoconstrictora de la renina. ²⁹

Estas observaciones sugerían que la renina era una enzima y no una sustancia directamente presora, como la epinefrina o la vasopresina. Otros estudios confirmaron que la renina era una enzima que actuaba sobre un substrato plasmático. La búsqueda de la sustancia presora activa fue encabezada por Page y Helmer y por Braun-Mendez y colaboradores quienes en comunicación conjunta acuñaron el término "Angiotensina". Además se observó que no sólo era una potente sustancia presora si no que participaba en la regulación de la secreción de aldosterona que actuaba en combinación con el sistema nervioso simpático central y periférico. La angiotensina es un polipéptido formado como resultado de una reacción entre la enzima proteolítica renina y un substrato plasmático. ^{30,31}

Los componentes de este sistema son el substrato de renina (o angiotensinógeno), la renina, la angiotensina I, enzima convertidora, la angiotensina II y varios péptidos menores. Además constituye un mediador fundamental en numerosos procesos

biológicos que interesan al aparato cardiovascular, su importancia quedó probada en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial, en la insuficiencia cardiaca, del postinfarto del miocardio, del remodelado ventricular tanto de origen hipertensivo como de origen isquémico y de la función renal por citar sólo algunos ejemplos. Consecuentemente se ha tratado de buscar agentes que controlen la actividad desordenada de la cascada bioquímica cuando determinados procesos fisiológicos la hiperactiva.^{32,33.}

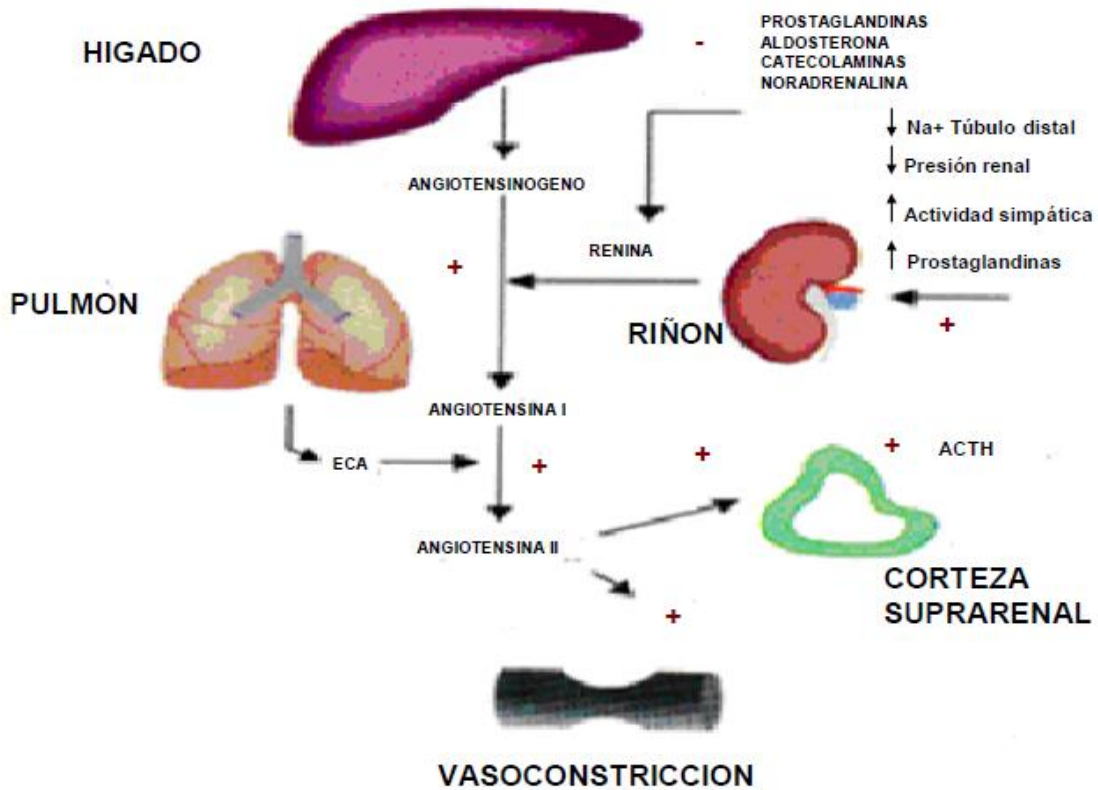


Figura 11. Sistema Renina Angiotensina. Estímulos como la hipotensión, hipovolemia ó hiponatremia, provocan la secreción de la enzima renina por el riñón, la renina corta al angiotensinógeno el cual es sintetizado por el hígado para producir angiotensina I, la enzima convertidora de angiotensina (ECA) que es producida y secretada por el tejido pulmonar, corta a la angiotensina I para dar lugar a angiotensina II, este péptido es un potente vasoconstrictor y un potente estimulante para la secreción de aldosterona, la aldosterona y la angiotensina II, promueven la reabsorción de sodio en el riñón.³³



4.8.1 Angiotensinógeno.

El sustrato de la renina o angiotensinógeno es un elemento clave que determina la velocidad de formación de angiotensina **in vitro e in vivo**. El angiotensinógeno es una proteína de 452 aminoácidos. Muchos investigadores prefieren llamar al sustrato de renina angiotensinógeno, ya que el término sustrato de renina implica que sólo se forma angiotensina a partir del sustrato.⁶

Pero en realidad, la pepsina también puede generar angiotensina y en consecuencia, se prefiere el término angiotensinógeno.⁵ Diversas observaciones han sugerido que el hígado es la fuente de formación de angiotensinógeno por un complejo mecanismo fisiológico o mediadores fisiopatológicos donde intervienen glucocorticoides, estrógenos, Angiotensina II, hormonas tiroideas y por el polimorfismo del gen de angiotensinógeno, esta regulación no es muy clara en otros tejidos donde también se sintetiza angiotensinógeno.¹⁶ La hepatectomía total o la producción de necrosis hepática con tetracloruro de carbono han mostrado una rápida disminución del sustrato plasmático de renina.¹⁵

Se ha postulado, que cambios en la concentración de angiotensinógeno afectan el ritmo de la formación de Angiotensina I y Angiotensina II y por lo tanto provocan modificaciones de la presión arterial. Se sabe que tanto renina como angiotensinógeno, son proteínas sintetizadas con distinto grado de glicosilación y que la cinética de formación de Ang-I se modifica según las variantes enfrentadas.³⁴

Los estudios in vivo son complicados y de resultados poco claros. Klett y Granger sugieren que angiotensinógeno podría ser un factor importante para el control a largo plazo de la actividad basal del sistema renina angiotensina.^{34, 35}



La mayoría de los componentes, precursores y receptores del sistema renina angiotensina fueron identificados en el cerebro donde parecen jugar sus propios roles. Recientemente Maremoto y colaboradores señalan que la sobreexpresión crónica de renina y angiotensinogeno humano en cerebro de ratón resulta en hipertensión arterial y alteraciones del balance hidroeléctrico. Los estudios realizados permiten suponer un rol importante del angiotensinogeno en el proceso y mantenimiento de la hipertensión arterial, pero aun no esta claro de que manera y condiciones este papel es desarrollado. Tampoco es clara la relación entre modificaciones del gen de angiotensinogeno, los factores de riesgo para la hipertensión arterial y la presión arterial.³⁴

4.8.2 Prorenina.

La renina se sintetiza como un precursor inactivo conocido como proteína (ProR). En la vía de síntesis hay dos caminos: uno regulado, en el cual la ProR en el centro de densos gránulos secretorios, procesada por lisis proteica a renina activa por remoción de 43 aminoácidos del propéptido y secretada en respuesta a estímulos apropiados. El segundo camino es constitutivo, donde la ProR sintetizada es inmediatamente secretada.¹⁵

La presencia de ProR en plasma, fluidos biológicos y tejidos ha sido largamente demostrada y aunque la expresión del gen de renina ocurre en muchos órganos el procesamiento de ProR a renina solo ha sido demostrado en riñón, posiblemente mediado por una proteasa, que hasta ahora se desconoce.³⁴

Laragh describe a la prorenina plasmática no sólo como un precursor de la renina sino que es una hormona con un efecto vasodilatador activo, tiene una concentración 10 veces mayor que la renina, es producida por órganos reproductivos como las adrenales, la pituitaria, la retina así como en los riñones, donde se produce en mayor cantidad y sólo los riñones pueden convertir la prorenina en renina.³⁶



Altos niveles de prorenina se encuentran en la hipertensión arterial sal resistente, tumores secretores de renina, gestación y en diabéticos con enfermedad vascular. Los agonistas de prorenina pueden ser útiles para oponer el efecto vasoconstrictor de la Angiotensina II, mientras que los antagonistas pueden ayudar a prevenir la enfermedad vascular diabética ya que su acción vasodilatadora puede ser patogénica en la hiperperfusión cardiovascular y el daño renal característica de la microangiopatía diabética.²⁹

Se ha observado que las reninas inactivas pueden ser activadas in vitro por varias enzimas pero no se ha podido comprobar que estas tengan el mismo rol in vivo. Las reninas inactivas, tanto almacenadas como secretadas, se encuentran en una porción de 2 a 5 veces superior que la activa.³⁶

Una proteína con un simple dominio transmembranal, que actúa como receptor renina/ProR ha sido recientemente reportado. Este hecho enfatiza el rol de la superficie celular en la generación de Ang II y agrega un argumento más a la hipótesis de efectos independientemente de Ang II, ProR y de renina.³⁴

Ratas doble transgénicas que sobreexpresan ProR humana en hígado y angiotensinogeno en corazón, presentan un selectivo aumento de de Ang I en el corazón pero no en el plasma. Esto es consistente con modelos en el cual ProR es captada por tejidos, donde contribuye a la formación de Angiotensina y podría explicar algunas patologías asociadas con altos niveles de ProR circulante. Estudios in vitro de Saris y colaboradores muestra que la unión de ProR a receptores de man-6P en cardiomiocitos no aumenta la síntesis de proteínas o DNA. Sin embargo a través de la generación de Ang II, ProR es capaz de producir en miocitos hipertrofia y proliferación. La ProR se encuentra aumentada en riñón ocluido de ratas experimentales hipertensas, lo que sería consistente con un mecanismo fisiológico de aumento de síntesis de la renina, por el contrario no se modifica en riñón intacto.³⁴



4.8.3 Renina.

La renina se encuentra fundamentalmente en riñón, aunque también se le ha hallado en los vasos sanguíneos, el cerebro, el útero, la placenta, las glándulas adrenales y en la glándula submaxilar de ratón.⁶ Dentro del riñón, la renina sólo se encuentra en la parte exterior de la corteza renal. No existe renina en la médula renal. Goormaghtigh ha postulado que la renina se sintetiza y almacena en las células yuxtaglomerulares (células YG).³⁴ Estas son grupos grandes de células con aspecto epitelial que contienen gránulos citoplasmáticos. Se localizan en la capa media de la arteriola eferente.

Dependiendo de la fuente donde se obtiene la renina, el peso molecular se ha calculado entre 40,000 y 43,000. Si bien el riñón continúa siendo el principal órgano productor de la renina, el empleo de técnicas de biología molecular e inmunológica ha roto el mito de su exclusiva síntesis, demostrando que la mayoría de los componentes del SRA se expresan en grado variable en diferentes tejidos. La renina es sintetizada como un precursor (prorenina), es convertida en forma activa en el hígado, en el plasma la renina actúa como un sustrato rompe la unión leucil-leucil y provoca la liberación de un decapeptido denominado angiotensina I.¹⁵

La renina constituye un aspartil proteasa que ataca un número restringido de sustratos. Su principal sustrato natural es la α_2 -globulina, el angiotensinógeno. La forma activa de la renina es una glicoproteína que contiene 350 aminoácidos. Se sintetiza como una preproenzima de 406 residuos aminoácidos que poseen a prorenina, una forma madura pero inactiva de la proteína.

La prorenina es activada finalmente por una enzima todavía no caracterizada que elimina 43 aminoácidos del amino terminal de la prorenina.



La renina requerida para la generación de Angiotensina II era sintetizada en el corazón. Sin embargo está actualmente bien esclarecido que la renina cardiaca es casi enteramente derivada de la circulación tanto en condiciones normales como patológicas. Tanto la renina como la ProR difunden en el espacio intersticial cardiaco o se unen a receptores.

Estímulos principales que aumentan la síntesis de renina:

- Constricción de la aorta renal.
- Constricción de la vena cava inferior.
- Hemorragia
- Deshidratación
- Diuréticos
- Dieta baja en sodio
- Dieta baja en potasio
- Insuficiencia adrenal
- Ejercicio
- Postura erecta
- Embarazo
- Cirrosis con ascitis. Nefrosis
- Insuficiencia cardiaca (algunos enfermos)
- Hipertensión maligna
- Constricción uretra.



4.8.4 Angiotensina I

Hace casi un siglo, en 1898, se descubrió que el extracto del riñón produce un fuerte efecto vasopresor; a este principio se le dio el nombre de renina. Posteriormente se descubrió que la renina no era vasopresora por sí misma, sino que era una enzima que convertía a un producto inactivo del plasma, el angiotensinógeno, en uno activo, la angiotensina. La angiotensina es una hormona que descubrieron el doctor *Braun-Menéndez* y su grupo, en Argentina hacia 1939. Casi al mismo tiempo, el grupo de *Page*, hizo el mismo descubrimiento. Cada uno de estos grupos dio un nombre al compuesto generado en el plasma, el primero lo llamó "hipertensina" y el segundo "angiotonina". Fue necesario que pasaran casi 20 años, para que se pusieran de acuerdo los investigadores del campo en el nombre adecuado para la hormona, y en 1957 se le dio el nombre híbrido de angiotensina.

Actualmente sabemos que hay tres angiotensinas: la I, la II y la III, las cuales son productos cada vez más pequeños; es decir, del angiotensinógeno se forma la angiotensina I, de ella la angiotensina II y de ésta a su vez la angiotensina III; la más activa es la angiotensina II.

La angiotensina I es un decapeptido que resulta de la acción de la enzima proteolítica renina sobre la prohormona angiotensinógeno, que se origina en el hígado. La enzima convertidora de angiotensina, que se encuentra sobretodo en tejido pulmonar, elimina el dipéptido terminal C (His-Leu) de la angiotensina I y da lugar al octapeptido angiotensina II, que es la especie activa más importante. Por último, a través de la acción de las aminopeptidasas se forma la angiotensina III de siete aminoácidos.

La angiotensina I a los fines prácticos no tiene prácticamente actividad fisiológica, por la rápida conversión a angiotensina II. Cuando la Enzima convertidora está inhibida puede ejercer acciones similares a la angiotensina II, pero muy inferiores en cuanto a su potencia.



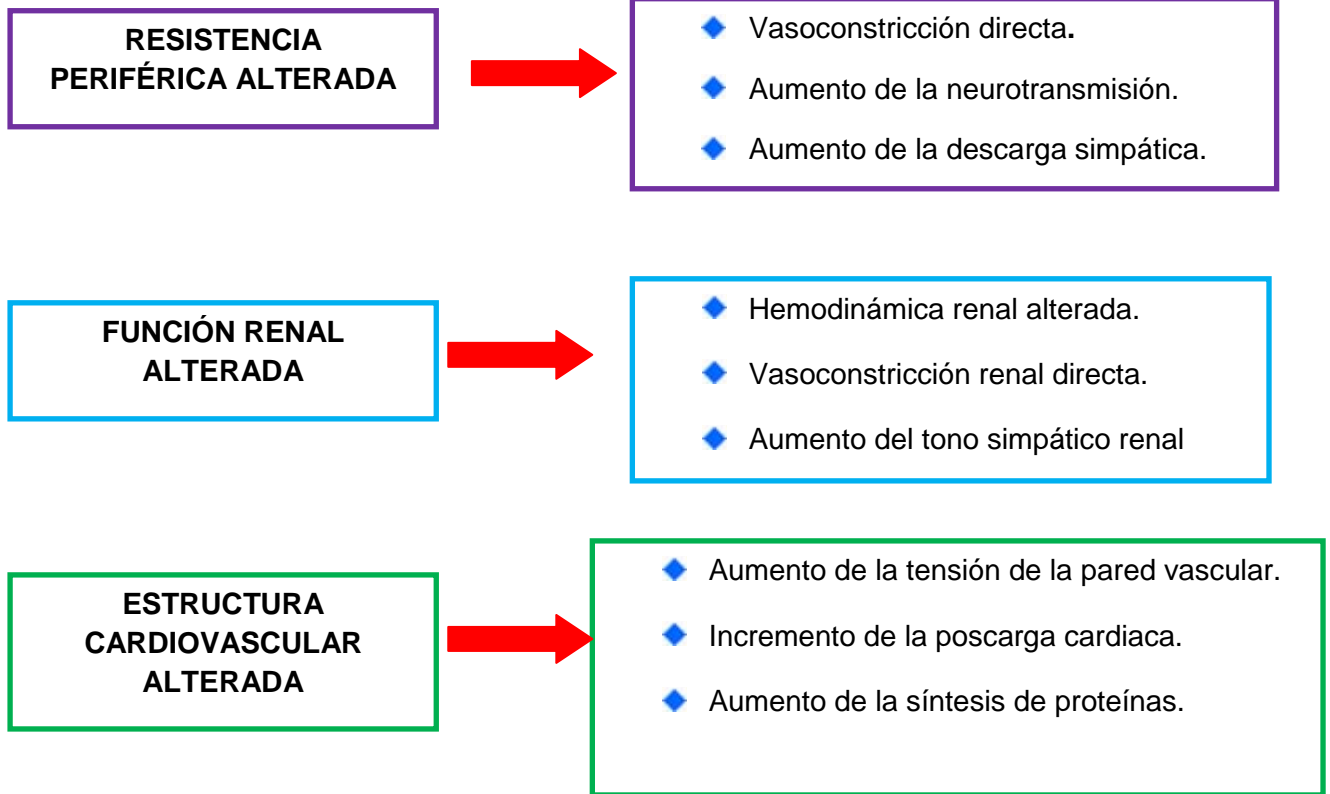
4.8.5 Angiotensina II

La angiotensina II ha ganado la reputación de ser el mas potente vasoconstrictor que se conoce. En términos de su actividad presora algunos investigadores han estimado que es 10 veces más potente que la norepinefrina bajo la base del mismo peso y 50 veces más potente, sobre la base molar.³⁴

Numerosos estudios realizados en los últimos años han contribuido a cambiar drásticamente, la visión que se tenía de la angiotensina II. El componente más activo del sistema renina angiotensina, la angiotensina II era considerada hasta hace unos años como un importante regulador de los sistemas cardiovascular y renal debido a sus efectos vasoconstrictor, cronótropo positivo, modulador del crecimiento celular, así como por su capacidad de regular la excreción de sodio y agua y la hemodinámica renal.

Sin embargo recientemente se ha conocido que además de estas importantes acciones, la angiotensina II es capaz de inducir la producción de citoquinas inflamatorias de especies reactivas de oxígeno y de tener acciones protrombóticas al modificar el balance fibrinolítico.⁴ Todos estos efectos los realiza a través de la activación de diversos mecanismos de señalización intracelular que no sólo implican movilización de calcio si no también por la producción de radicales libres y activación de diversas proteínas cinasas y factores de transcripción.

EFFECTOS DE LA ANGIOTENSINA II



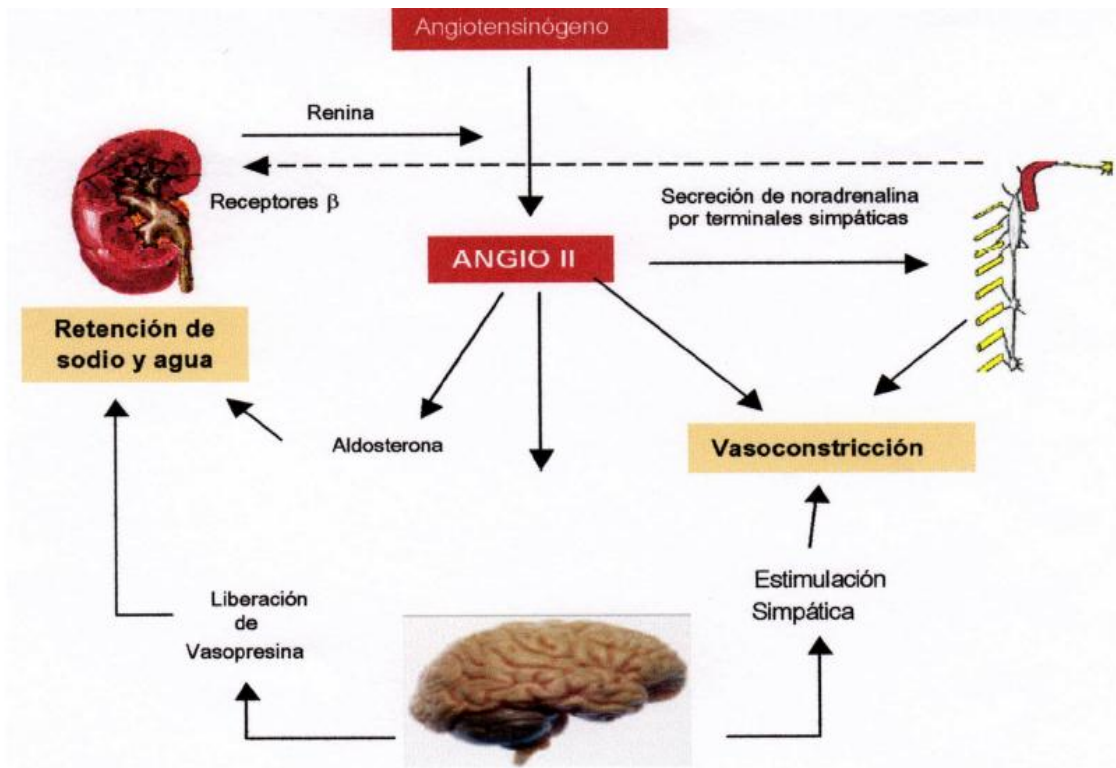


Figura 12. Mecanismos del incremento de la presión arterial mediado por angiotensina II. Incrementa la presión por diversos mecanismos una vez sintetizada la angiotensina II, este péptido incrementa la presión arterial y el volumen sanguíneo mediante tres mecanismos: a nivel arteriolar, produce vasoconstricción y al activar directamente en a neuronas simpáticas promueve la liberación de noradrenalina la cuál tiene efectos vasoconstrictores además de estimular la secreción de aldosterona. De manera paralela a nivel cerebral la angiotensina II incrementa el tono simpático y con ello los reflejos cardiovasculares, estimula la secreción de vasopresina y estimula la sensación de consumo de agua y de sal.

La introducción de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), y una nueva clase de bloqueantes del receptor de angiotensina II, ha reunido considerable evidencia a favor de la participación del (SRA) en las enfermedades cardiovasculares. Los (IECA) bloquean la enzima clave en la síntesis de angiotensina II (ECA), del mismo modo frenan la degradación de bradiquinina a péptidos inactivos, influyen en modo notable a el equilibrio hemostático al inhibir la agregación plaquetaria y estimular la producción del activador de plasminógeno

(tPA), tienen efecto antiproliferativo y vasodilatador debido este a la liberación de óxido nítrico.³⁷

Por su parte los antagonistas del receptor AT1 de la angiotensina (ARA) bloquean directamente los efectos de la interacción de la angiotensina II con estos receptores.^{15, 31}

A diferencia de los IECA, los ARA no bloquean la degradación de bradiquinina ni aumentan la síntesis de prostaglandinas. Las acciones de angiotensina II se explican a través de dos eventos primordiales: Primero, el SRA comprende dos sistemas que interactúan, el sistema tisular local y el circulatorio, de esta forma el sitio de producción de angiotensina II podría dictar la función de los péptidos en cuestión. Segundo, los diversos eventos biológicos atribuidos a angiotensina II pueden explicarse por las proteínas G relacionados con los receptores de angiotensina II.^{30, 31, 38.}

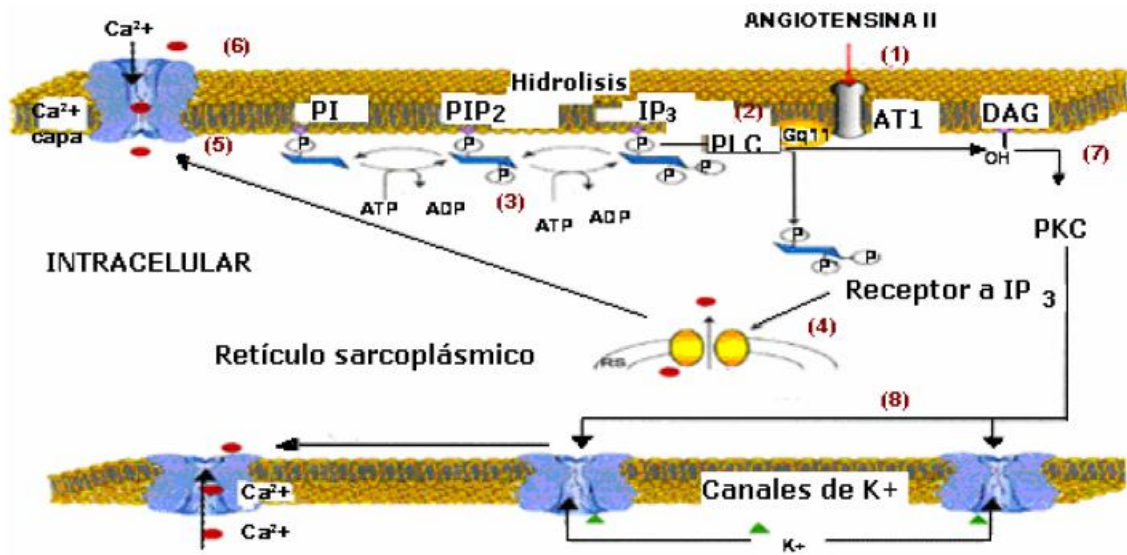


Figura 13. Cascada de señalización disparada por angiotensina II en el músculo liso vascular. El receptor AT1 (1) se acopla a la proteína Gq11 para estimular la fosfolipasa C (2). La enzima hidroliza al fosfatidilinositol- (4,5)-bifosfato (PIP2) para sintetizar al inositol 1,4,5- trifosfato (IP3) y al diacilglicerol (DAG) (3). El IP3 actúa sobre sus receptores del retículo sarcoplásmico (RS) liberando Ca²⁺, esto sirve como señal (5) para la entrada de Ca²⁺ desde el medio externo (6), vía canales de Ca²⁺ "capacitivos" (Ca²⁺ capa). Además el DAG activa (7) a la proteína cinasa C (PKC), la cuál inhibe a canales de K⁺ (8), despolariza la membrana y con ello se activan los canales de Ca²⁺ tipo L (9). El efecto final es mayor señal de Ca²⁺ y vasoconstricción.³⁹



El sistema circulante de angiotensina produce angiotensina II por el procesamiento enzimático a pasos de angiotensinógenos y a la pro hormona angiotensina I por renina y ECA respectivamente. La reacción ocurre en la sangre circulante, a medida que la renina liberada por los riñones separa la angiotensina I del angiotensinógeno producido por el hígado, por esta vía se obtiene solo entre 1 y 10 % de la angiotensina II.⁴⁰

La ECA, anclada en la superficie plasmática del endotelio pulmonar y vascular, hidroliza la angiotensina I a angiotensina II. La angiotensina II originada en la sangre, alcanza los receptores meta para transmitir una señal biológica por difusión en el fluido intersticial. Se ha demostrado que el parénquima de muchos tejidos (vasos, corazón, cerebro y riñón) manifiesta todos los componentes para la generación local de los péptidos angiotensina II. La mayor parte (entre 90 y 99 %) de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en el organismo se ubica en los tejidos.^{30, 31}

En este caso angiotensina II es producida dentro de los compartimentos intersticiales. El corazón expresa la codificación del ARNm para la renina, el angiotensinogeno, ECA y el subtipo AT1 del receptor angiotensina II. Evidencias similares se describen en los astrositos y cardiomiocitos.

La angiotensina II tiene diversas acciones fisiológicas; por ejemplo incrementa el volumen extracelular, la resistencia vascular periférica y la presión sanguínea y esta también implicada en la regulación del crecimiento y diferenciación celular. El clonado molecular y los estudios farmacológicos han definido dos principales clases de receptores de angiotensina designados como AT1 y AT2. Muchos de los efectos de angiotensina II son producto de la unión al receptor AT1 de las membranas celulares.



Los receptores subtipo AT1 de la angiotensina II se encuentran localizados predominantemente en el tejido vascular miocárdico y también en el cerebro, riñón y células glomerulosas de las suprarrenales las cuales secretan aldosterona.

Estos receptores presentan 7 dominios transmembrana, del tipo acoplado a la proteína G (GPR) que interviene en múltiples caminos de señalamiento intracelulares que comprenden el calcio, fosfolípidos, cinasas y radicales libres derivados del oxígeno.³⁶

Las principales funciones mediadas por el receptor AT1 incluyen:

- ❖ Efecto vasoconstrictor
- ❖ Estimulación de la síntesis y liberación de aldosterona.
- ❖ Reabsorción tubular y renal de sodio.
- ❖ Crecimiento cardiaco.
- ❖ Proliferación del músculo liso vascular.
- ❖ Aumento de la actividad noradrenérgica periférica.
- ❖ Aumento de la actividad central del sistema nervioso simpático.
- ❖ Estimulación de la liberación de la vasopresina.
- ❖ Inhibición de la renina renal

Por su parte los receptores subtipo AT2 se encuentran en la medula suprarrenal y posiblemente en el sistema nervioso central, están ampliamente distribuidos en el tejido fetal evidencias recientes sugieren que los receptores AT2 se encuentran implicados en:

- ❖ Desarrollo y diferenciación embrionaria.
- ❖ Estimulación de la apoptosis celular.
- ❖ Regeneración en varios tejidos.
- ❖ Media el crecimiento de las células endoteliales.
- ❖ Acciones antiproliferativas.
- ❖ Acciones de vasodilatación.
- ❖ Aumentan citoquinas vasculares y renales.



❖ **Inhibe acciones cronotropas**

De lo anterior se desprende que los receptores AT1 y AT2 parecen mediar efectos opuestos sobre el crecimiento y la diferenciación celular, tono vascular y la liberación de la vasopresina. En cada condición los receptores AT2 parecen modular hacia abajo la acción mediada por los receptores AT1, resultando en una disminución de la proliferación celular, disminución de los niveles séricos de vasopresina o disminución de la respuesta vasoconstrictora. Además en línea de las células neuronales los receptores AT2 ejercen efectos antiproliferativos y promueven el sobrecrecimiento celular, un efecto acompañado por cambios significativos en los patrones de expresión genética de crecimiento y diferenciación relativa de los genes.^{4, 36.}



4.8.6 Enzima convertidora de Angiotensina I

La enzima convertidora de angiotensina I (ECA) fue descubierta por Skeggs y colaboradores. La ECA humana se presenta en dos formas, una de PM entre 150 y 180 Kda (ECA somática) con dos dominios homólogos que se denominan, de acuerdo a su posición en cadena N-terminal o Dominio-N y C-terminal o Dominio-C conteniendo ambos zinc en el sitio de unión y un centro activo.^{18, 34.}

La otra es de bajo PM entre 90 y 100 kDa y encontrada en testículo (ECA germinativa o testicular) que contiene solamente el Dominio-C. La ECA tiene también la propiedad de procesar Ang-(1-7) a Ang-(1-5) y lo efectúa 100 veces más rápido por el Dominio-N que por el Dominio-C, lo que evidencia que los dominios de la ECA podrían tener diferentes funciones.^{18, 40.}

ECA es una dipeptidil carboxipeptidasa es decir separa 2 aminoácidos y es homologa de la ECA II 42 % en su dominio amino Terminal.³⁰

Así la Ang-(1-7) parece ser el substrato específico del Dominio-N de la ECA y además inhibidor del Dominio-C. Este hecho resulta importante para el desarrollo de futuras generaciones de inhibidores de la ECA en el que reaccione más específicamente sobre uno de los sitios activos. Varios informes han demostrado que las preparaciones de la enzima convertidora purificada también pueden separar la bradicinina a péptidos inactivos.⁴¹

La ECA actúa también sobre otros sustratos, ampliando sus funciones en diferentes aspectos fisiológicos como metabolismo neuronal, hematopoyesis, digestión, reproducción y participando en el metabolismo de la sustancia P en algunas áreas cerebrales y en la pared de los vasos sanguíneos. Esta ampliamente distribuida en el organismo, en células epiteliales, neuroepiteliales y mononucleares y al mismo tiempo en fluidos biológicos como orina, líquido cerebrospinal y líquido amniótico.⁴²



Después del empleo exitoso del Captopril, primer inhibidor conocido de la ECA, diversos compuestos fueron sintetizados y empleados en el tratamiento de la hipertensión arterial, enfermedad cardiaca congestiva y prevención del daño miocárdico post-infarto. En el plasma humano los niveles de la ECA son elevados durante la infancia y decrecen en el adulto. La razón de este hecho es desconocida. La clonación del gen de la ECA permitió entre otras cosas la identificación de diversos polimorfismos. Uno de ellos denominado Inserción/Delección (I/D) consiste en la presencia (inserción) o ausencia (delección), de un fragmento de DNA de 250-pares de bases en un intrón corto, que podría provocar variaciones individuales de los niveles de la ECA en plasma.

Los diferentes estudios realizados parecían indicar que el alelo D estaba asociado: con un aumento de la actividad de la ECA y la producción de Ang-II con riesgo de isquemia coronaria e infarto al miocardio, diabetes tipo-2, enfermedades cardiovasculares y aumento de la degradación de bradiquinina; con evolución negativa en enfermedades renales y otras patologías.

Así mismo, el estudio del polimorfismo I/D de la ECA fue propuesto como un marcador genético para identificar:

- ❖ Individuos con alto riesgo de enfermedad isquémica coronaria.
- ❖ Riesgo de estenosis coronaria.
- ❖ Pronóstico de diabetes tipo-2.
- ❖ Anticipar la eficacia del tratamiento antihipertensivo.

El mecanismo de efecto de los Inhibidores de la ECA consiste en inhibir la enzima de conversión de la angiotensina. Esta enzima tiene dos funciones principales. Por un lado, se encarga de sintetizar la angiotensina I a angiotensina II, separando dos aminoácidos C terminales. Por el otro, cataliza la eliminación del mediador bradiquinina en productos inactivos.⁴⁰



La inhibición de la enzima de conversión de la angiotensina hace que la concentración de angiotensina II en los receptores de angiotensina (AT1 y AT2) disminuya. Así, empieza reduciendo el tono vascular y la presión sanguínea disminuye. A continuación, la reducción del nivel de angiotensina II lleva una reducción de la secreción de aldosterona de la glándula suprarrenal y con ello determina el contenido de agua.³⁰

A nivel celular, puede observarse un retroceso de los efectos de los mitógenos inducidos por la angiotensina II en los fibroblastos y los miocitos del corazón, que conllevan alteraciones adversas especialmente tras un infarto de miocardio.⁴¹

En caso de enfermedades renales como la nefropatía diabética los inhibidores ECA ocasionan una reducción de la eliminación de las proteínas (proteinuria) y previenen el avance de la enfermedad (nefroprotección).⁴

La inhibición de la ECA disminuye la presión arterial a través de dos mecanismos:

- ❖ Prevención de la formación de angiotensina II
- ❖ Potencialización de la propiedad hipotensora de la bradicidina

También es importante mencionar a los antagonistas de AT1 receptor de angiotensina II (ARA) que inhiben el efecto vasodilatador y presor el efecto arritmogénico la trombosis e inflamación entre otros efectos. A continuación se detalla los posibles lugares de acción de los IECA y de los ARA.⁴²

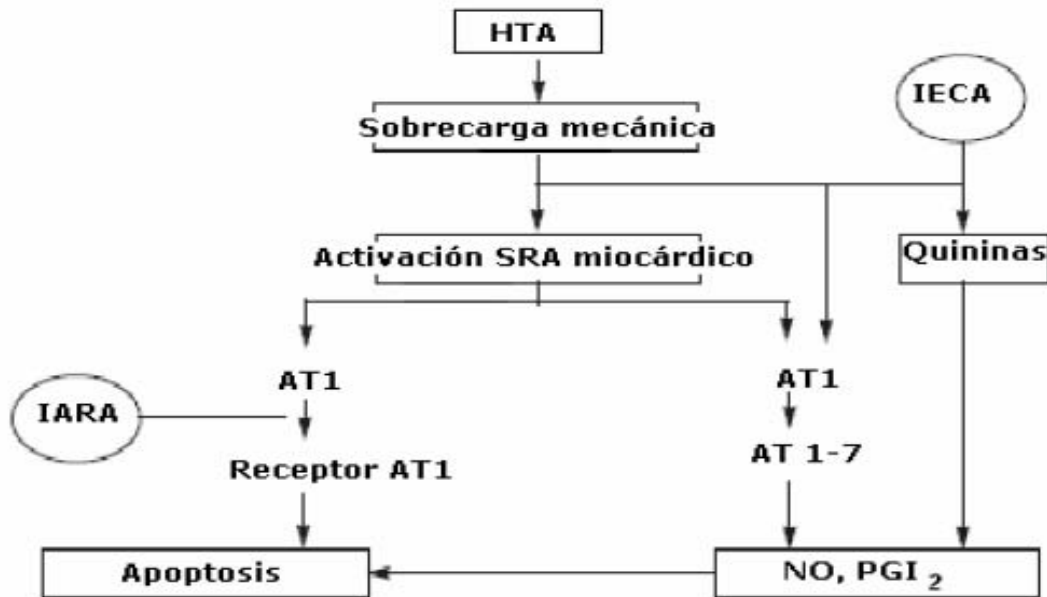


Figura 14. Acción de los IECA y de los ARA. Los ECA conducen a la liberación de prostaciclina y NO ya que no se lleva a cabo la hidrólisis de la bradicinina. Los ARA impiden la unión de Ang II con su receptor conduciendo a varios efectos benéficos destacando la vasorelajación.³⁴



4.8.7 Enzima convertidora de Angiotensina II

Michal A. Crackower y colaboradores en experimentos recientes han demostrado que una enzima convertidora de la angiotensina II, la ECA2 (Enzima convertidora de angiotensina II). Es una peptidil carboxipeptidasa identificada en el año 2000 tiene efectos directos sobre la función cardíaca.³⁴

La enzima ECA II desempeña un papel protector del sistema cardiovascular. Esta ECA II es expresada predominantemente en células del endotelio vascular del corazón, riñón y testículos, pero también se encuentra en baja concentración en otros tejidos. Donoghue y colaboradores descubrieron a partir de una librería de cDNA un homólogo de ECA que presenta 42% de homología y lo denominan ECA II tiene la peculiaridad de hidrolizar el aminoácido terminal de leucina de la Ang-I generando angiotensina (1-9) la enzima fue recientemente purificada. ECA II hidroliza también Ang-II (produciendo también Angiotensina 1-7), arginilbradiquinina y neurotensina, pero no hidroliza bradiquinina. Es interesante apuntar que ECA II no es inhibida por los inhibidores habituales de la ECA, permitiendo la formación de Ang-II vía Ang (1-9).^{4, 36}

Hasta 2001, se sabía que la angiotensina I, por medio de la enzima convertidora ECA, formaba la angiotensina II, que actúa a nivel de dos receptores, las endopeptidasas tisulares formaban angiotensina 1-7, que actúa sobre su receptor.³²

El descubrimiento de ECA II ha cambiado y enriquecido el conocimiento del SRA, porque esta enzima tendría funciones mucho más importantes que las que se creyó originalmente. Entre el 2002 y 2005, el estudio de esta enzima permitió descubrir que se localiza en el cromosoma X lo que plantea que la ECA II tiene algo que ver con la protección de la mujer frente a las enfermedades cardiovasculares.



Desde el punto de vista bioquímico, la ECA II difiere significativamente de la ECA, ésta última metaboliza péptidos cortando su cadena a nivel de dos péptidos, por lo tanto es una dipeptidasa, mientras que la ECA II hidroliza la acción de cada uno de los aminoácidos. Además la ECA se localiza en el cromosoma 17 a diferencia de la ECA II que esta en el cromosoma X, la otra diferencia de importancia clínica es que ninguno de los inhibidores de la ECA inhibe la actividad de la ECA II.

Ahora se sabe que está presente en múltiples tejidos: corazón, aorta, placenta, riñón incluso en la retina.³⁸ En el 2002 se demostró en primer lugar que la ECA II se asociaba con el desarrollo de hipertensión arterial en tres modelos diferentes de hipertensión, en segundo lugar que en los ratones en los que se había eliminado el gen de la ECA 2 se desarrollaba una malformación cardiaca , caracterizada por dilatación del ventrículo y caída de la función ventricular, lo que plantea que esta enzima podría estar comprometida en la regulación de la función cardiaca, las concentraciones o el grado de expresión del gen de la ECA II en diferentes tejidos. Así se estableció que la mayor concentración del gen esta en riñón, tanto en la región cortical como en la región medular, luego en el corazón. ⁴

En el corazón la angiotensina II es metabolizada en angiotensina 1-7 por la ECA II. Algunos estudios ya habían demostrado que tanto la angiotensina 1-7 como la ECA II se localizan a nivel de los miocitos y que cuando hay un infarto, las concentraciones de angiotensina 1-7 aumentan significativamente en el ventrículo y en la zona de la penumbra, es decir, la zona que rodea al infarto. También demostramos que estos corazones producen angiotensina 1-7, lo que se puede inhibir por medio de un inhibidor específico de la ECA II.³⁰



4.8.8 Angiotensina 1-7

En 1988 hubo un cambio fundamental en la perspectiva del SRA, debido a estudios realizados por el Dr. Carlos Ferrario, que demostraron la existencia de otro componente del SRA, el heptapéptido angiotensina 1-7, que se produce por acción de una serie de enzimas titulares denominadas endopeptidasas y cuya función es oponerse a las acciones presoras y proliferativas de la angiotensina II. Se descubrió que Angiotensina 1-7 se encuentra en corazón, riñones, cerebro, tejido uroplacentario, ovarios y testículos. Estudios confirmaron el descubrimiento de una enzima homóloga de la enzima ECA, la ECA II, que metaboliza la angiotensina II en angiotensina 1-7. ⁴

La angiotensina 1-7 es un heptapéptido y su secuencia de aminoácidos es: ⁴³



Síntesis: ⁴

La angiotensina I puede convertirse en el heptapéptido angiotensina 1-7 mediante 3 diferentes vías.

- ❖ Directamente desde angiotensina I por la endopeptidasa neutra (NEP) 24.11, 24.15 y 24.20 y propilendopeptidasas (PEP).
- ❖ Por hidrólisis de angiotensina II con propilcarboxipeptidasas (PCP) , propilendopeptidasas (PEP) y ECA2
- ❖ Y finalmente por hidrólisis de Angiotensina 1-9 con ACE y NEP.

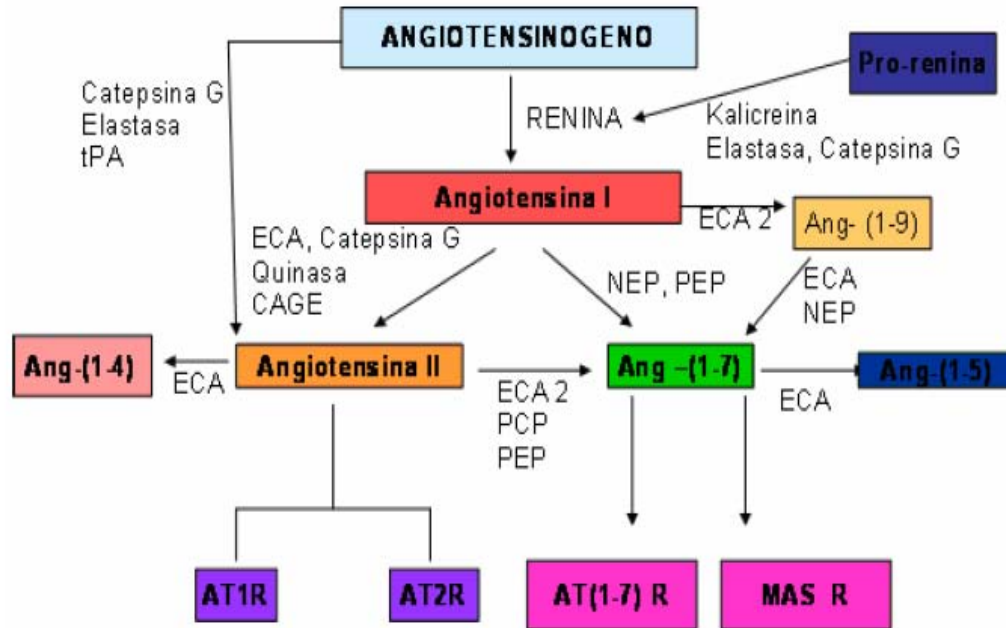


Figura 15. Representación esquemática para la formación de angiotensina 1-7. Se muestran las tres vías para la síntesis de angiotensina 1-7, esquema actualizado del sistema renina angiotensina.⁴⁴

Vía de señalización.

La angiotensina 1-7 estimula la actividad de fosfolipasa A2 para liberar ácido araquidónico, para la producción de prostanoides, en contraste a angiotensina II, Angiotensina 1-7 no activa fosfolipasa C por medio de la cuál se da la vasoconstricción en músculo liso vascular, células endoteliales, astrocitos o células mesangiales y no aumenta fosfolipasa D en las células vasculares del músculo liso.^{4, 43.}

Las dos principales rutas oxidativas enzimáticas del AA son:

- ❖ **Vía de la lipoxigenasa (LO):** cuyos productos principales son los leucotrienos ácido eicosatetraenoico y las lipoxinas.
- ❖ **Vía de la ciclooxigenasa (CO):** como productos principales son las prostaglandinas y el tromboxano.

Efectos fisiológicos.

La angiotensina 1-7 actúa como antagonista de las acciones de la angiotensina II. En los vasos aislados la **angiotensina II** tiene acción vasoconstrictora, en cambio, a las mismas dosis la angiotensina 1-7 tiene acción vasodilatadora. Esto llevo a investigar la función de la angiotensina 1-7 como antagonista de las acciones presoras y proliferativas de la angiotensina II. ⁴⁵

El mecanismo de retroalimentación que se muestra en la figura puede ser particularmente importante durante el bloqueo de los receptores AT1 porque el aumento en la concentración de angiotensina II estimulará la mayor producción de angiotensina 1-7. ⁴

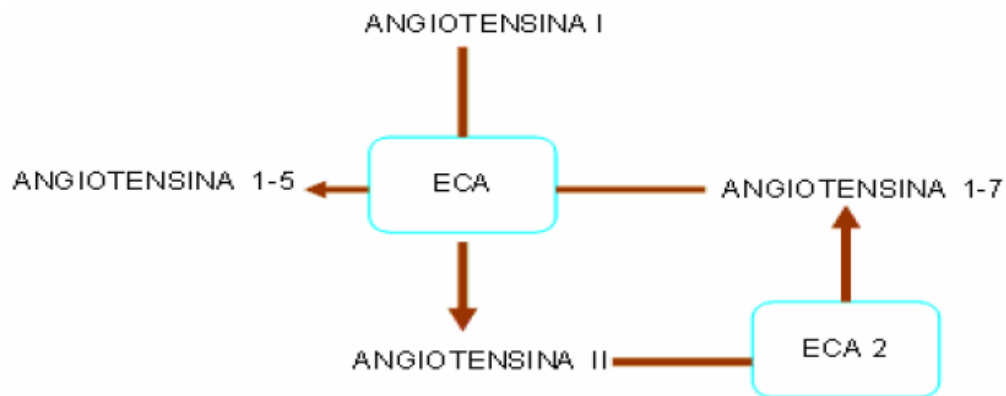


Figura 16. Mecanismo de retroalimentación del SRA. Representación esquemática de un mecanismo de retroalimentación en donde a partir de angiotensina I se forma angiotensina II por medio de la ECA y la ECA II facilita la formación de angiotensina 1-7, luego nuevamente por medio de la ECA pasa angiotensina 1-7 a angiotensina 1-5. ⁴

Por tanto Ang- (1-7) tiene un antagonismo específico, dependiente del endotelio y no competitivo de Ang II, que implica a los receptores de AT₂ y de Ang (1-7). Ferrario y colaboradores postularon que la angiotensina 1-7 tiene funciones celulares diferentes de las establecidas para la angiotensina II. La angiotensina 1-7 no genera



ni estimula la secreción de aldosterona, pero favorece la secreción de la vasopresina, de las prostaglandinas y del óxido nítrico.⁴

Por otro lado este heptapéptido presenta un efecto vasodilatador que se observa en varios lechos vasculares, incluso el coronario de perros y de cerdos, la aorta de la rata y también bloquea la vasoconstricción inducida por la angiotensina II en arterias humanas. Inhibidores selectivos de los receptores AT_1 y AT_2 no alteran la vasodilatación inducida por la angiotensina 1-7. El efecto vasodilatador estaría mediado por la liberación del óxido nítrico y por las prostaglandinas. Así como también los inhibidores de la ECA juegan un papel importante en la formación de los componentes de la red de SRA.

Participación de angiotensina 1-7 como agente cardioprotector.

Los hallazgos en varios estudios en animales han sugerido que la angiotensina-1-7, es un vasodilatador que puede conferir efectos cardioprotectores al oponerse a las acciones de la angiotensina II sobre el crecimiento y la reactividad vascular. Al contrario de la angiotensina II la angiotensina [1-7], no causa vasoconstricción, liberación de aldosterona, sed ni facilitación de neurotransmisión noradrérgica.²⁵

Este efecto vasodilatador es mediado por la liberación de NO y bradicinina endotelial. Además angiotensina 1-7 actúa como agente antiarrítmico y protege el miocardio contra las consecuencias de la lesión cardíaca, en corazón activa la bomba de sodio hiperpolarizando la célula del corazón y restablece la conducción del impulso, estos efectos proporcionan una explicación para la incidencia reducida de arritmias en presencia de angiotensina 1-7, puede inhibir la tensión oxidativa, estimular la producción del Inhibidor 1 del activador de la agregación plaquetaria lo cual evita la formación de coágulos que impidan el paso de el flujo sanguíneo así como también actúan como agente antiinflamatorio.⁴

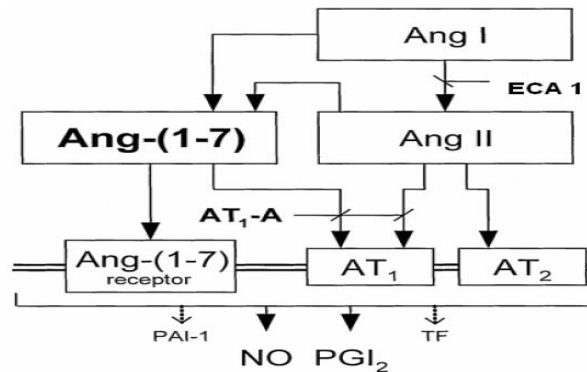


Figura 17. Mecanismo propuesto de la acción antitrombótica por la acción de los bloqueadores del SRA. IECA Inhibidor de la ECA, AT₁-A Antagonistas del receptor AT₁. Los bloqueadores AT₁ incrementan la concentración de angiotensina 1-7. Produciendo la liberación de TF y de PAI-1 factores que decrementan la formación de trombos, debido al estímulo de AT₁ (receptor de angiotensina II).

4.9 Sistema de Bradiquinina.

El sistema caliceína cinina, esta estrechamente ligado al SRA desde el punto de vista funcional, por lo que conviene destacar algunos aspectos sobre el mismo, el hígado secreta una sustancia proteica (cininógeno) que junto a la caliceína plasmática y tisular forma el octapéptido bradiginina y también un nonapéptido con iguales acciones, la calidina (lisil-bradiginina). La vida media de estas dos hormonas locales es alrededor de de 15 segundos, pues son desintegradas a fragmentos inactivos por la cinasa II ó ECA.³²

Las lesiones tisulares, las reacciones alérgicas, las infecciones virales y otros procesos inflamatorios, activan una serie de reacciones proteolíticas que producen bradiginina, esta hormona provoca dolor, vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, liberación de óxido nítrico del epitelio vascular, y aumenta la síntesis de prostaglandinas.³⁶ Se han identificado dos receptores que median el efecto de las cininas, el receptor B₁, cuya expresión es muy baja en condiciones fisiológicas y es originada por daño celular y el receptor B₂ que es expresado constitutivamente. Ambos receptores cuentan con 7 dominios transmembrana.

La bradiquinina tiene múltiples acciones beneficiosas, produce prostaciclina que además de vasodilatadores y antiagregantes plaquetarios estimulan la producción de colagenasa que destruyen el tejido conectivo, potencian la producción de adenosina y óxido nítrico (NO) es además antiproliferativo y antiagregante plaquetario. Pero por otra parte, la bradiquinina quizás puede utilizarse como sustrato de la ECA para producir fibrosis lo que acentúa los aspectos negativos de una ECA elevada tanto a nivel plasmático como tisular.

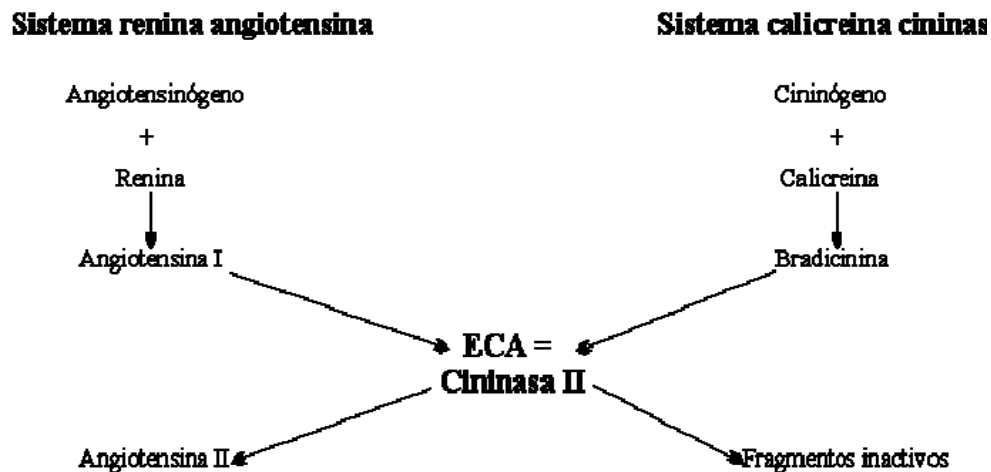


Figura 18. Cascada del SRA y Sistema Calicreína Cinina. En la figura se muestra como la ECA interviene en estos dos procesos por una parte originando la formación de angiotensina II y por la otra favoreciendo la formación de péptidos inactivos a partir de bradiquinina.



4.10 Óxido Nítrico.

Es el vasodilatador más importante liberado por las células endoteliales, se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina y una molécula de oxígeno, mediante la óxido nítrico sintetasa (NOS) la forma más importante de la NOS en el sistema cardiovascular es la NOS endotelial (NOSe), esta enzima es la responsable de la producción y liberación continua de NO por parte de las células endoteliales y también por las plaquetas y el corazón. La NOSe se activa cuando aumenta la concentración de Ca^{2+} de las células endoteliales.

Una vez liberado por el endotelio el NO se difunde a través de la pared vascular hacia el interior de las células musculares lisas donde activa la enzima citosólica guanililciclase esta aumenta los niveles de PKG lo que provoca la relajación.¹⁸

Se han identificado más de una isoforma de NOS, constituidos por subunidades homodiméricas con pesos moleculares entre 125 y 155 KDa:

1. Dos isoformas constitutivas calcio-dependientes (cNOS): la endotelial (eNOS) o tipo III y la neural (nNOS) o tipo I, presentes en diferentes tejidos (células endoteliales, neuronas, neuroglías y otros) que producen concentraciones fisiológicas de NO al actuar como señalizador molecular.
2. Una forma calcio-independiente (iNOS) o tipo II, inducible en un número de tipos celulares como macrófagos, hepatocitos, neutrófilos, músculo liso, endotelio en respuesta a diferentes estímulos inmunológicos.

Los vasodilatadores mas importantes son el factor de relajación derivado del endotelio, que se sabe actualmente es el NO o un compuesto muy relacionado que contiene nitrógeno, la prostaciclina (PGI₂) y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF).³⁴

4.11 Compuesto LQM 319 [4-tert-butil-2, 6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil) fenol]

En el año de 1979 en la República de China por un grupo de investigación mientras examinaba las propiedades contra la malaria de derivados de la Febrifugina. Los investigadores notaron que la changrolina era efectiva como agente antiarrítmico. Poco tiempo después, Strout y su grupo de colaboradores estudiaron la estructura de la changrolina buscando las diferencias estructurales con los agentes antiarrítmicos de dicha época. Su trabajo consistió en modificar sistemáticamente la molécula para demostrar qué parte de ésta última era necesaria para mostrar la actividad antiarrítmica. Estos acontecimientos aportan las bases para que el Laboratorio de Química Medicinal de la Unidad de Posgrados de La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, inicien el diseño y síntesis de compuestos mediante la reacción química entre un fenol sustituido, un aldehído más una molécula de morfolina o tiomorfolina, obteniendo así una serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos.

En el presente trabajo se llevó a cabo el estudio de la actividad biológica del compuesto Tiomorfolínico con clave LQM319 dentro del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar, de la misma entidad académica, al ser probados en modelos in vivo (rata Wistar Normotensa e Hipertensa Espontánea).

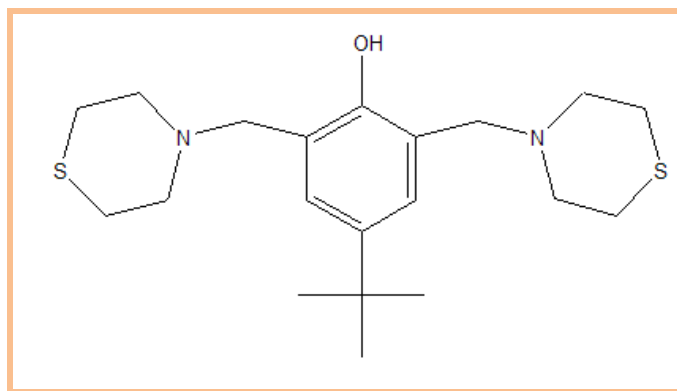


Figura 19. Estructura química del compuesto LQM319 ⁽⁸⁾

4.12 Captopril

En 1948, el investigador brasileño Mauricio Rocha descubrió que el veneno de la víbora *Bothrops jararaca* que habita en el sur y el centro del Brasil, poseía ciertas propiedades que podían actuar contra la hipertensión. Así, el veneno libera un péptido (una molécula formada por dos o más aminoácidos) que inhibe la acción de una enzima responsable de la presión arterial. En 1970, Squibb se interesa por las investigaciones de Rocha y sintetiza las moléculas responsables de la acción inhibitoria que se encontraban en el veneno. Seis años más tarde nace el Captopril, uno de los fármacos contra la hipertensión más revelantes en los últimos años. Fue la primera molécula que sintetizada por variación estructural a partir de la molécula original de Angiotensina I y del receptor de la ECA, lo que permitió iniciar los estudios de variación estructural en otras moléculas con sus receptores correspondientes, lo que se vio mejorado tras la incorporación de la cristalografía por difracción de rayos X.

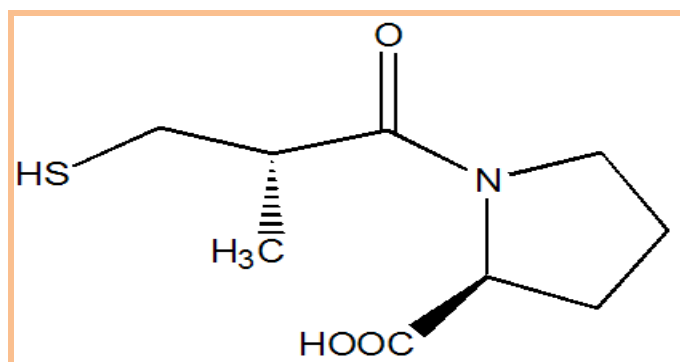


Figura 20. Estructura química del Captopril

El Captopril bloquea la conversión de Angiotensina I a Angiotensina II en el pulmón. Esta disminución plasmática de Angiotensina II causa vasodilatación, generalmente sin reflejo de taquicardia o gasto cardiaco.



Muchos órganos contienen enzima convertidora tales como corazón, vasos sanguíneos y riñones, por lo tanto la inhibición de la producción local de Angiotensina II es importante. Incrementan la concentración plasmática de cinicas y prostaglandinas así como la repercusión de sus efectos adversos.

a) Ventajas:

- ❖ Alta eficacia.
- ❖ Sin taquifilaxia o cambios hemodinámicos reflejos.
- ❖ Retarda la progresión de la enfermedad renal.
- ❖ Mejora la remodelación miocárdica posterior al infarto miocárdico.

b) Desventajas:

- ❖ Contraindicado en pacientes con estenosis renal bilateral.
- ❖ Incremento de potasio plasmático por reducción de la secreción de aldosterona.
- ❖ Reacciones alérgicas (dermatológicas, angioedema y trastornos hematológicos).
- ❖ Tos no productiva.
- ❖ Disminuye presión de perfusión coronaria; en ejercicio puede exacerbar isquemia.
- ❖ Contraindicado en embarazo (segundo y tercer trimestre).



4.12N^G-Methyl-L-arginine

En 1980, Furchgott y Zawadzki descubrieron que el efecto de la acetilcolina y otras sustancias sobre el estado contráctil del músculo, dependía de la integridad de las células endoteliales. Estudios posteriores señalaron la importancia del endotelio vascular para mantener el tono vascular mediante la producción y liberación de diferentes sustancias vasopresoras y vasodilatadoras que controlan la actividad de la capa muscular subyacente. La sustancia vasodilatadora más importante derivada del endotelio es el óxido nítrico (NO). El NO es generado por el aminoácido L-arginina mediante la participación de la enzima NO sintetasa endotelial (NOS III). Esta enzima se estimula por el flujo sanguíneo que fluye a través del endotelio llamado fuerza de cizallamiento o por mediadores químicos.

Para establecer la contribución de la vía del NO en la alteración de la vasodilatación endotelio-dependiente, se han estudiado los efectos de la N^G-monometil - L-arginina (L-NMMA), tanto en condiciones basales como por estímulo de la vasodilatación endotelio-dependiente. La L-NMMA es un análogo de la L-arginina que compite con ésta por el sitio de unión con la NOS. En sujetos normales, la infusión de L-NMMA induce vasoconstricción, señalando que existe una producción y liberación continua de NO, el cual regula el tono vasomotor en condiciones fisiológicas. Más aún, la L-NMMA bloquea la respuesta a la acetilcolina pero no a la administración exógena de nitrovasodilatadores en sujetos normales, indicando que el efecto vasodilatador de la acetilcolina es, al menos en parte, mediado por la liberación de NO.

En individuos hipertensos, la infusión de L-NMMA produce, en condiciones basales una respuesta vasopresora disminuida, y no modifica en forma sustancial la respuesta a la acetilcolina en comparación con sujetos normotensos. Esta observación está sugiriendo que en pacientes hipertensos, se halla alterada la producción y liberación de NO, tanto en condiciones basales como bajo el estímulo de agentes que producen vasodilatación endotelio-dependiente.



5.0 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

5.1 Material

Material de Laboratorio

- Estuche de disección
- Matraz volumétrico de 1 L
- Caja Petri
- Viales ámbar.
- Hilo seda 4/0
- Piseta
- Micropipeta Wilson Pipetman[®] de 100 μ L y 1000 μ L
- Jeringas de Insulina 1 mL.
- Canastilla para animales.

Equipo:

- SPAM Software SIEVART (INC-ICH).
- Balanza Analítica (Sartorius[®], BL60S 0.1 mg-60 g).
- Balanza granataria para animales (OHAUS[®] 0.1-2610 g).
- Termómetro Widder[®] (-20 a +10 °C).
- Baño PoliScience[®] 801 (0-150 °C).
- Computadora BIOPAQ SYSTEMS integrada con el software ACQ381 KNOWLEDGE.



Soluciones y Reactivos

- Solución de Krebs (1 L)
- Carbógeno (PRAXAIR: 95 % O₂ y 5 % CO₂)
- Pentobarbital sódico (63 mg/mL)
- Ácido clorhídrico (0.01 N)

Material Biológico

- Ratas hipertensas espontaneas (SHR) machos de 9 a 11 meses con un peso promedio de 250 a 400 g. Presión Diastólica 100 mm Hg y Presión Sistólica 150 mm Hg.

Compuesto obtenidos del Laboratorio de Química Medicinal. Unidad de Posgrado.

- Compuesto Tiomorfolínico LQM 319 1mg/Kg/día

Fármaco Utilizado

- Captopril (1mg/Kg/día) SIGMA ALDRICH®

Péptidos

- Angiotensina I (10 mg) SIGMA ALDRICH®
- Angiotensina II (5 mg) SIGMA ALDRICH®
- Angiotensina 1-7 (5 mg) SIGMA ALDRICH®
- N^G-Methyl-L-arginine (5 mg) SIGMA ALDRICH®



5. 2 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Preparación de la Solución de Krebs

La solución de Krebs es una solución de perfusión que se utiliza en el estudio de órganos o tejidos in vitro en el llamado baño de órganos, esta constituida por las siguientes sales:

Reactivo	1 Litro	2 Litros	3 Litros
NaCl	6.9 g	13.8 g	27.6 g
Dextrosa	2.1 g	4.2 g	8.4 g
NaHCO ₃	2.1 g	4.2 g	8.4 g
KCl	0.35 g	0.7 g	1.16 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.29 g	0.58 g	0.64 g
KH ₂ PO ₄	0.16 g	0.32 g	1.48 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.37 g	0.74 g	1.48 g
Ca-Na-EDTA	0.01 g	0.02 g	0.04 g

Se pesan los compuestos correspondientes ya sea en una balanza digital o en una analítica, dependiendo de la cantidad necesaria de los mismos se colocar una cama de agua destilada en el matraz aforado de 2.0L antes de adicionar las sales disueltas, uno a uno se disuelven en un vaso de precipitado de 50 ml con un agitador magnético y se van adicionando al matraz aforado de 2.0 L, se lleva hasta el aforo con agua destilada, el CaCl₂ se debe agregar hasta el final ya que de lo contrario éste puede precipitarse.

Preparación de LQM 319

Para preparar el compuesto LQM 319 pesar lo necesario para administrar 1mg/Kg de peso durante 1 semana agregando HCl 0.01M hasta solubilizar el compuesto y se lleva a volumen final 0.5 ml con solución salina.



Preparación de Captopril

Para preparar Captopril pesar lo necesario para administrar 1mg/Kg de peso vía IM durante 1 semana agregando HCl 0.01M hasta solubilizar el compuesto y se lleva a volumen final 0.8 ml con solución salina.

5.3 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

MODELO "IN VITRO" EN AORTA DE RATA

Obtención de la Aorta torácica de rata: Se realizó el marcado y pesado a los animales de experimentación después se anestesió a la rata por vía intraperitoneal con Pentobarbital Sódico (63 mg/mL) con una dosis de 45 mg/Kg. Una vez anestesiada, se procede a dejar expuestos los órganos internos correspondientes a la cavidad torácica de la rata mediante un corte transversal, se retira el corazón y los pulmones con el fin de visualizar la aorta con ayuda de pinzas y tijeras, extraer la aorta con el mayor cuidado posible y colocarla en una Caja Petri con solución de Krebs diferenciando la porción torácica de la abdominal y retirar el exceso de sangre de cada una de las porciones, colocar la Caja de Petri sobre una parrilla para mantener la preparación a una temperatura de 37°C más oxigenación con gas carbógeno (95% O₂ y 5% de CO₂), se retira el exceso de grasa y de tejido conjuntivo que cubren ambas porciones de la aorta hasta que éstas queden lo más limpias posibles sin manipularlas en exceso y por último cortar la aorta en anillos de aproximadamente 3 mm.

Montaje de la muestra en las Cámaras de Tejido Aislado. Se enciende el equipo y el baño de agua con recirculación a una temperatura de 37°C, se revisa y cierra todas las pinzas de paso para proceder a llenar el matraz enchaquetado con solución de Krebs y se oxigena. Se lava cada una de las cámaras de tejidos aislados con solución de Krebs una vez lavadas llenarlas con la misma solución hasta la marca de 10 mL y oxigenarlas para colocar los anillos de aorta se uso hilo seda de



4/0 el cual se amarra en ganchos de acero inoxidable se colocó la aorta en éstos ganchos y los hilos se amarraron hacia los tensores. Se les aplica una tensión de 3 g. Se procede de la misma manera para cada una de las cámaras colocando un segmento de aorta torácica.

Manejo del Software “Acknowledge”. Se realiza el encendido de la computadora y se procede a abrir el programa ACQ 381 Acknowledge, abrir en tipo GTL posteriormente la carpeta de aorta usando los comandos MP100, Show input values, Options, values (2 dígitos), el monitor muestra un recuadro de los valores de tensión de los hilos en las diferentes cámaras, las cuáles se identifican por números y colores de izquierda a derecha se ajustar dichos valores hasta 3 g manualmente y finalmente se oprime el botón start para dar inicio al experimento una vez ajustadas las cámaras hacer cada 15 minutos lavados por una hora, pasado éste tiempo realizar la Curva Concentración-Respuesta acumulativa con el compuesto prueba.

Realización de las Curvas Concentración- Respuesta Acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta de rata SHR en presencia de Angiotensina 1-7. Pesar 10^{-4} M del LNMMA (N^G - monometil L-arginina) y 10^{-5} M de Angiotensina 1-7 cualquier dilución que se realice se hace con Solución Krebs posteriormente se pesa la cantidad necesaria de Angiotensina I para obtener una concentración igual a 10^{-6} M partiendo del peso molecular de éste. Disolver los gramos pesados de la Angiotensina I en 1 mL de Solución Krebs a partir de la solución anterior, realizar las diluciones necesarias para obtener una serie de soluciones con concentraciones de 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M, manteniendo las disoluciones en baño de hielo.

Al mantener la estabilización incubar por 10 minutos el compuesto LNMMA (N^G - monometil L-arginina) 10^{-4} M para inhibir el endotelio luego incubar por 10 min. Angiotensina 1-7 (10^{-5} M) en las últimas cuatro cámaras. Al finalizar los 20 min. de la adición del compuesto LNMMA y Angiotensina 1-7, realizar la curva Concentración-



Respuesta a Angiotensina I añadiendo a cada cámara 0.1 ml de Solución de Angiotensina I de concentración 10^{-10} M y esperar el tiempo necesario hasta que la contracción alcance su valor máximo una vez alcanzado el valor máximo de contracción se adicionan 0.1 ml de solución de Angiotensina I 10^{-9} M y se procede de la misma manera con las demás concentraciones (de las más diluida a la más concentrada).

Para realizar la Curva Concentración-Respuesta a Angiotensina II se pesa la cantidad necesaria de Angiotensina II para obtener una concentración igual a 10^{-6} M se disuelven los gramos pesados de ésta en 1 mL de Solución Krebs a partir de la solución anterior, realizar las diluciones necesarias para obtener una serie de soluciones con concentraciones de 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M, manteniendo las disoluciones en baño de hielo. Se procede con la metodología de Angiotensina I.

Realizar las Curvas Concentración–Respuesta acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta de rata SHR previamente tratadas con LQM 319 y Captopril en presencia de Angiotensina 1-7. Para llevar a cabo este protocolo las ratas fueron tratadas previamente con Captopril y LQM 319 con una dosis de 1 mg/Kg/l.M durante 4 días, al quinto día se obtuvo la aorta torácica de la SHR y se procedió a realizar la Curva Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II.

Realización de las Curvas Concentración- Respuesta Acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta de rata SHR en ausencia de Angiotensina 1-7. Para llevar a cabo este protocolo se procedió a realizar la Curva Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II, sin incubar los anillos de aorta torácica de SHR con Angiotensina 1-7.



Realizar las Curvas Concentración–Respuesta acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta de rata SHR previamente tratadas con LQM 319 y Captopril en ausencia de Angiotensina 1-7. Para llevar a cabo este protocolo las ratas fueron tratadas previamente con Captopril y LQM 319 con una dosis de 1 mg/Kg/I.M durante 4 días, al quinto día se obtuvo la aorta torácica de la SHR y se procedió a realizar la Curva Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II, sin incubar los anillos de aorta torácica de SHR con Angiotensina 1-7.



6. RESULTADOS

Es importante considerar la posibilidad de probar compuestos que pudieran presentar un efecto antihipertensivo y que una vez estudiados pudieran salir al mercado en donde sus reacciones adversas y costo sean menores que otros medicamentos ya patentados para brindar una mejor calidad de vida al paciente.

Las curvas Concentración-Respuesta determinan el paso inicial para conocer el posible mecanismo de acción del compuesto, lo que considera la relación entre la magnitud de la dosis y la actividad del compuesto.

El sistema renina-angiotensina es mucho más complejo de lo que se había pensado y capaz de generar una gran cantidad de péptidos biológicamente activos produciendo diversas acciones, como la homeóstasis cardiovascular. La superproducción de Angiotensina II producto de la cascada de interacciones de enzimas sustratos del sistema renina-angiotensina juega el papel muy importante en el desarrollo de estas enfermedades por ser un potente vasoconstrictor.

Por otro lado la Angiotensina 1-7 descubierta en 1988 es un componente bioactivo del sistema renina angiotensina produce vasodilatación previniendo la acumulación de angiotensina II, aumenta la secreción de vasopresina en endotelio induce la síntesis de prostaglandinas, óxido nítrico y bradiquinina (potentes vasodilatadores).

La angiotensina 1-7 actúa como vasodilatador, cardioprotector y antiproliferativo principalmente. Por lo tanto la importancia del estudio de este heptapéptido ya que funciona como un importante cardioprotector. Actualmente las enfermedades cardiovasculares aportan el mayor número de muertes anuales en todo el mundo por lo que se considera un verdadero problema sobre la humanidad.



En este estudio se realizaron Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en presencia y ausencia de sustancias que moderan la respuesta vasoconstrictora de los péptidos mencionados.

En la gráfica 1 y 2 se muestran los resultados de las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta torácica de rata Wistar normotensa en ausencia y presencia de Angiotensina 1-7. Claramente se observa el efecto vasoconstrictor de la Angiotensina I y de la Angiotensina II. Así mismo se observa una disminución del efecto vasoconstrictor por la presencia de Angiotensina 1-7 siendo más notorio para Angiotensina I que para Angiotensina II.

En la gráfica 3 y 4 se muestra las Curvas Concentración-Respuesta en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 en SHR claramente se observa que al inhibir la actividad vasoconstrictora de Angiotensina I y II se tiene una disminución significativa de la contracción del músculo liso vascular. Determinándose que la inhibición del efecto vasoconstrictor del anillo de aorta de SHR en Angiotensina I es mayor que en Angiotensina II observándose un aumento gradual en la vasoconstricción.

Por otro lado en la gráfica 5 y 6 se muestra que en las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 con incubación del inhibidor de la sintasa de óxido nítrico en donde se muestra que el Compuesto LQM 319 presenta un efecto vasodilatador significativo comparado con el efecto determinado en la SHR control a Angiotensina I y en presencia de Angiotensina 1-7 es mayor el efecto vasodilatador. Pudiéndose decir que la participación de Angiotensina 1-7 promueve a que exista una vasodilatación mayor para la curva de Angiotensina I que para la curva de Angiotensina II.

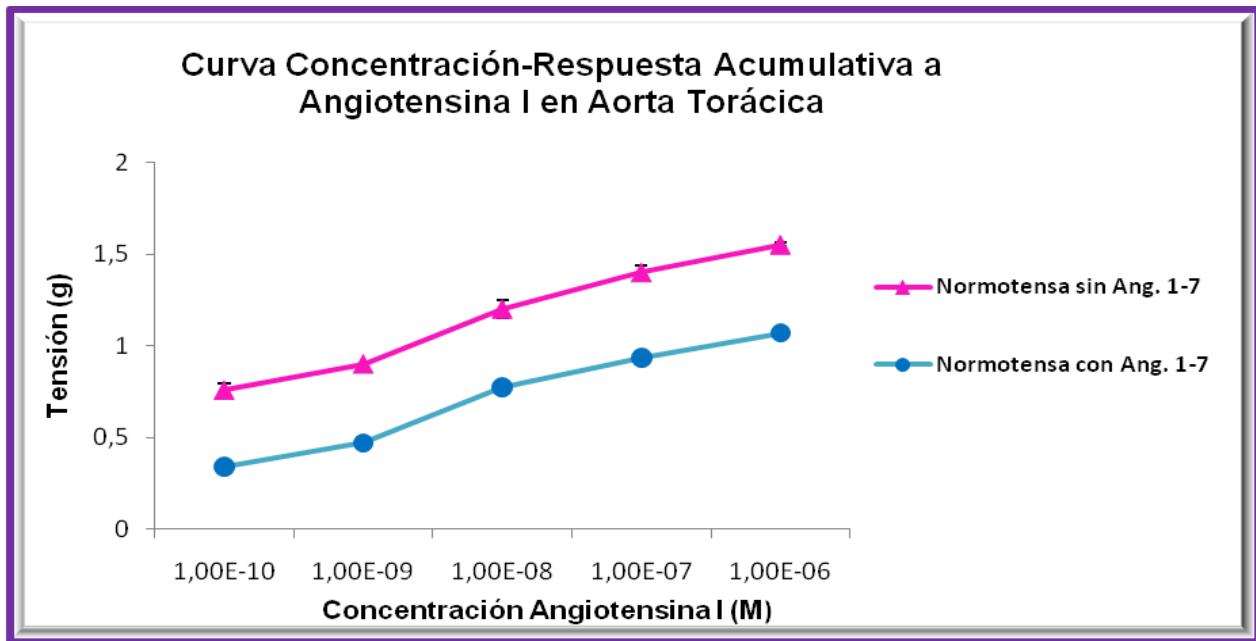
En la gráfica 7 y 8 se muestra que en las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II disminuye la vasoconstricción producida por estos



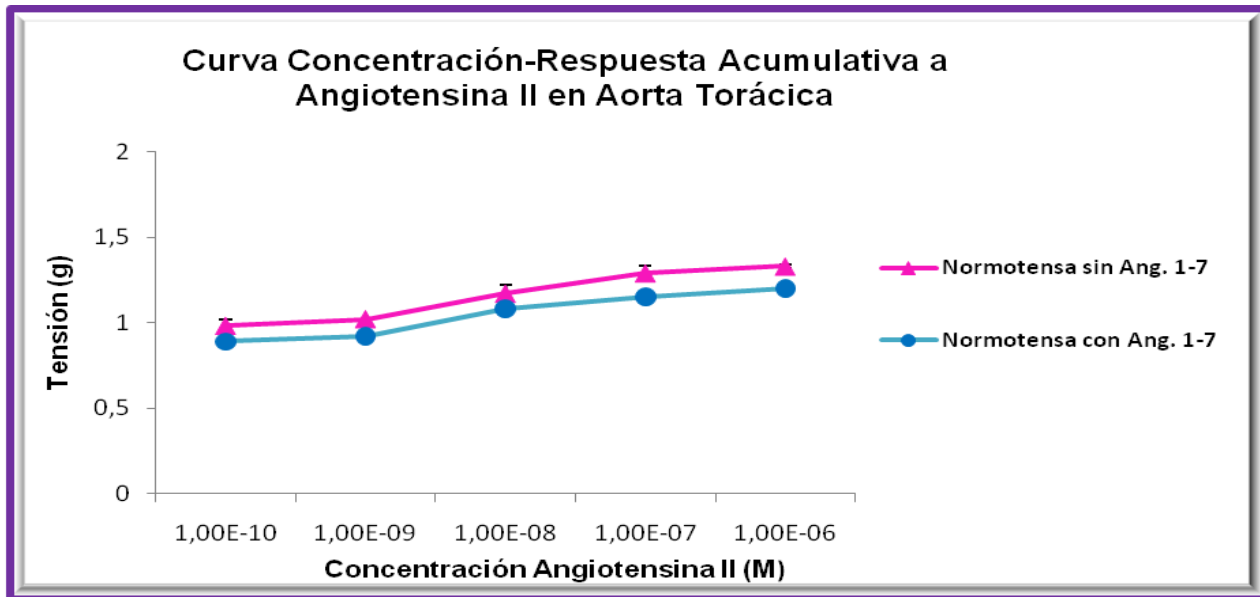
péptidos pero cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejido aislado disminuye aun más la contracción, siendo más notorio el efecto para Angiotensina I que para Angiotensina II de las ratas SHR tratadas con captopril. Se puede decir que el efecto de éste en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 sigue la misma tendencia en su efecto que para el Compuesto LQM 319 (gráfica 5 y 6).

En la gráfica 9 se muestra en resumen los diferentes protocolos referidos a la rata normotensa e hipertensa, utilizando el anillo de aorta torácica y realizando en ellas las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I. La tendencia del efecto vasodilatador en las diferentes curvas es en primer lugar rata SHR sin Ang. 1-7, rata SHR con Ang. 1-7, rata SHR Tx LQM 319 = rata SHR Tx Captopril, rata Normotensa Wistar sin Ang. 1-7, rata SHR + Tx Captopril + Ang 1-7 = SHR + Tx LQM 319 + Ang. 1-7=Normotensa Wistar con Ang. 1-7.

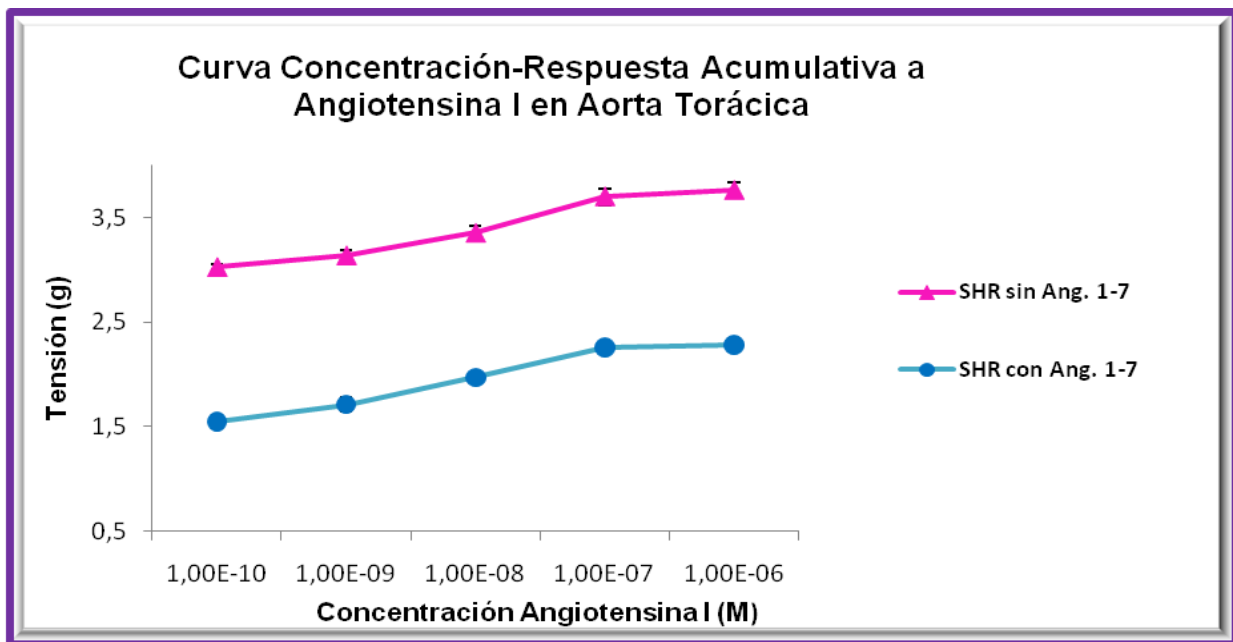
En la gráfica 10 se observa claramente que en todos los tratamientos que se hicieron en las Curvas Concentración-Respuesta Acumulativa a Angiotensina II son muy semejantes y todos mostraron un efecto vasodilatador similar a la rata Wistar Normotensa. Por último en la gráfica 11 se muestra un resumen de las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II observandose que el efecto vasodilatador en Angiotensina I en rata SHR es mayor que para Angiotensina II pero el efecto vasodilatador es mayor en Angiotensina II.



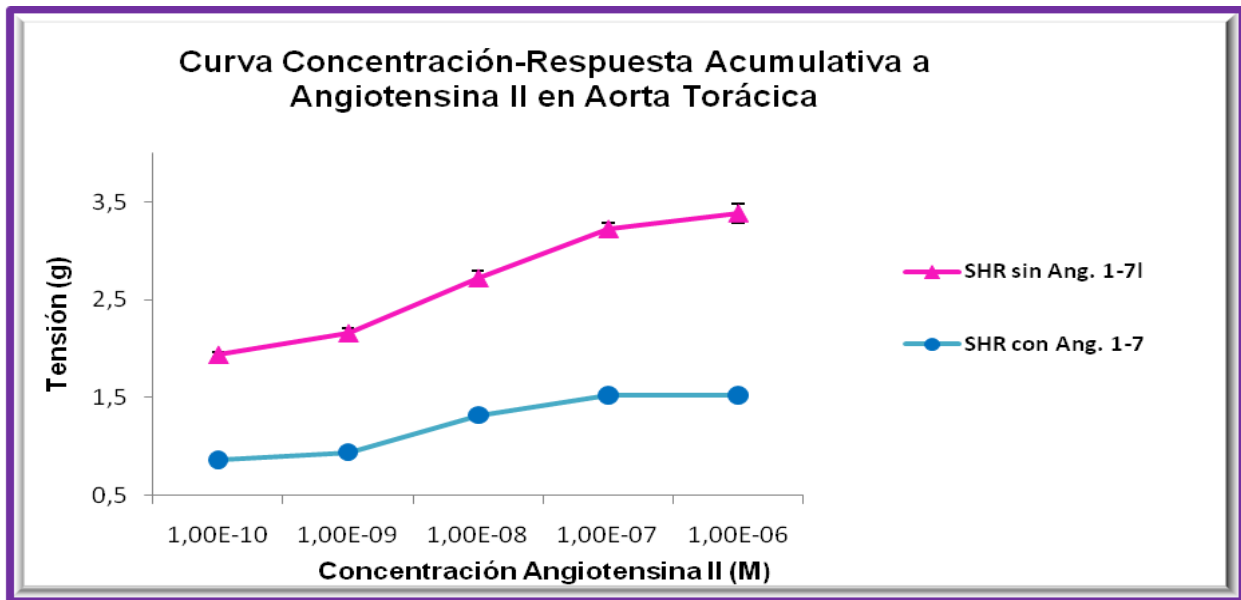
Gráfica 1. Curva Concentración-Respuesta Acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata Wistar normotensa. Los valores obtenidos de las ratas control se muestran con ▲ y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7 con ● Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n = 5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha = 0,05$, *F-Fischer*. Se puede observar que existe una disminución en la contracción muscular producida por Angiotensina I en presencia de Angiotensina 1-7.



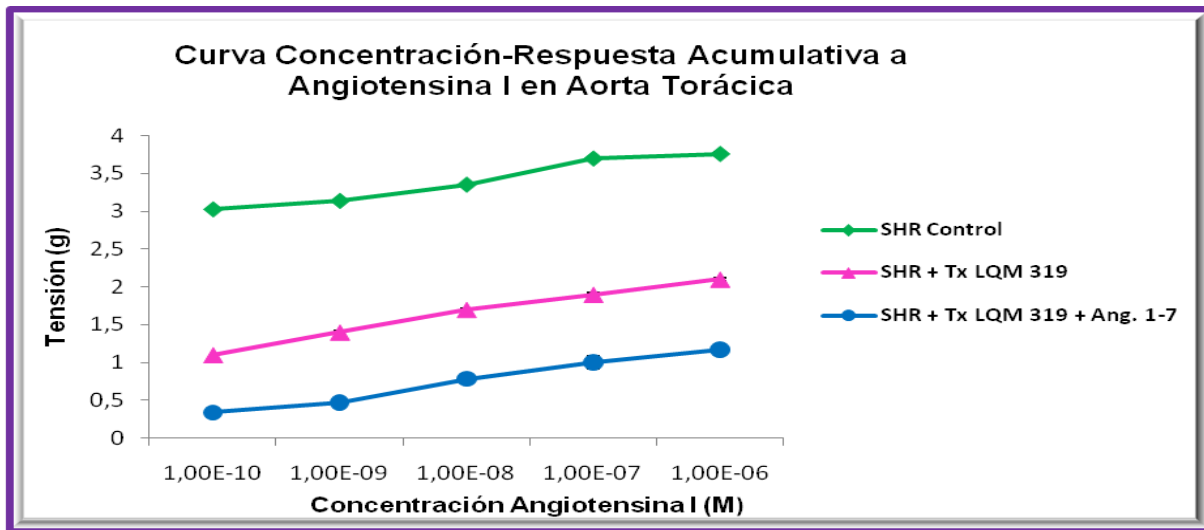
Gráfica 2. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata Wistar normotensa. Los valores obtenidos de las ratas control se muestran con ▲ y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7 con ●. Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha=0.05$, *F-Fischer*. Se puede observar que existe una disminución en la contracción muscular producida por Angiotensina II en presencia de Angiotensina 1-7.



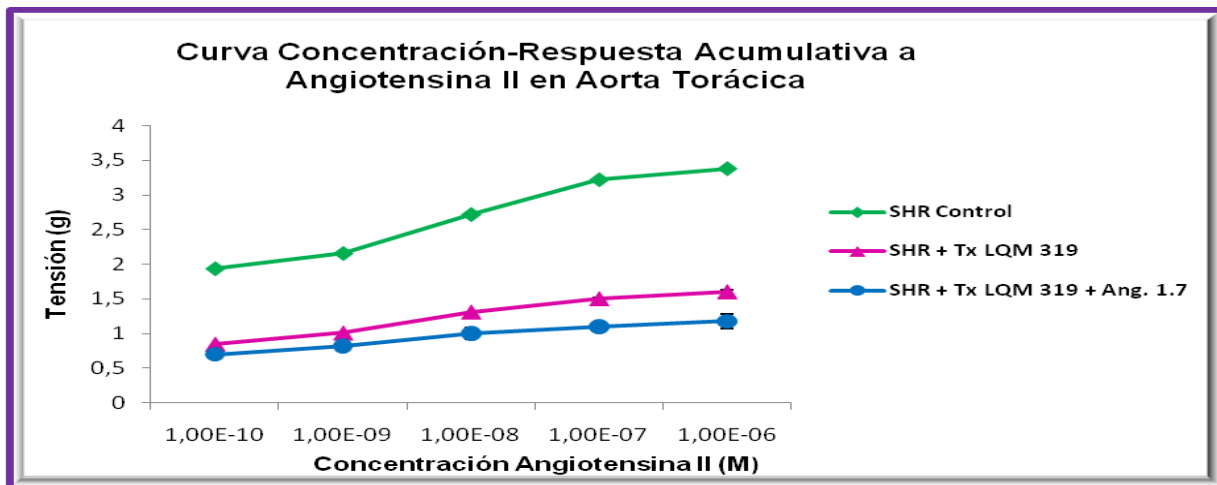
Gráfica 3. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea. Los valores obtenidos de las ratas control se muestran con ▲ y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7 con ●. Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha=0.05$, *F-Fischer*. Se puede observar que el heptapéptido por su efecto vasodilatador bloquea la vasoconstricción producida por Angiotensina I.



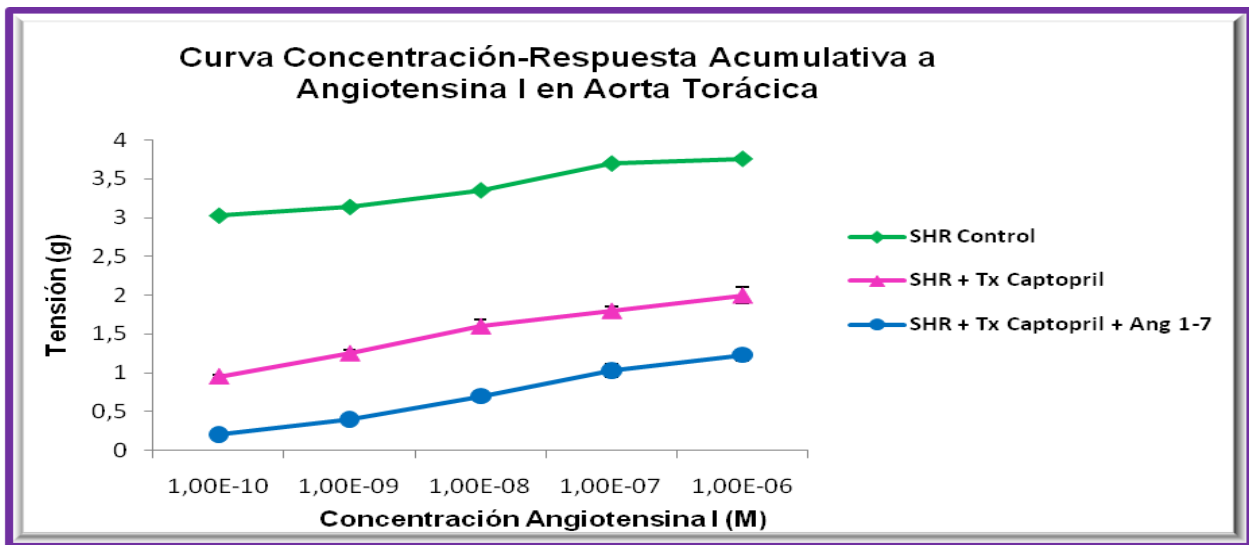
Gráfica 4. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea. Los valores obtenidos de las ratas control se muestran con ▲ y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7 con ●. Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha=0.05$, *F-Fischer*. Se puede observar que el heptapéptido por su efecto vasodilatador bloquea la vasoconstricción producida por Angiotensina II.



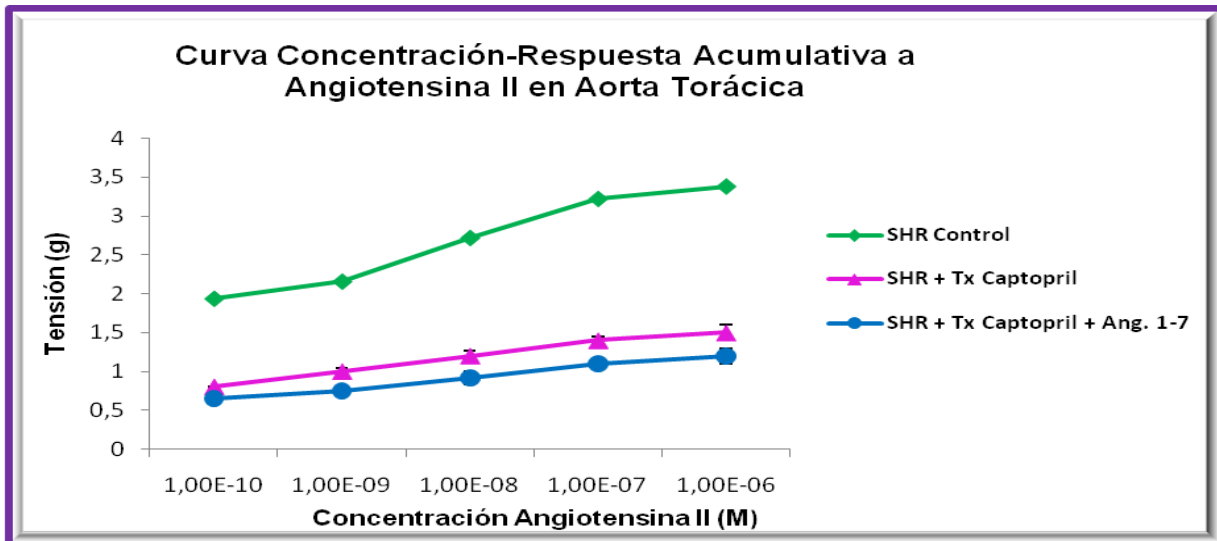
Gráfica 5. Curva Concentración-Respuesta Acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 y Angiotensina 1-7. Los valores obtenidos de las ratas SHR control se muestran con \blacklozenge , las ratas tratadas con LQM 319 se muestran con \blacktriangle y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7+LQM 319 con \bullet . Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n= 5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha= 0.05$, *F-Fischer* .Se puede observar que el Compuesto LQM 319 disminuye la vasoconstricción producida por Angiotensina I pero cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejidos aislados disminuye aun más la contracción en comparación con la tensión observada en la SHR Control.



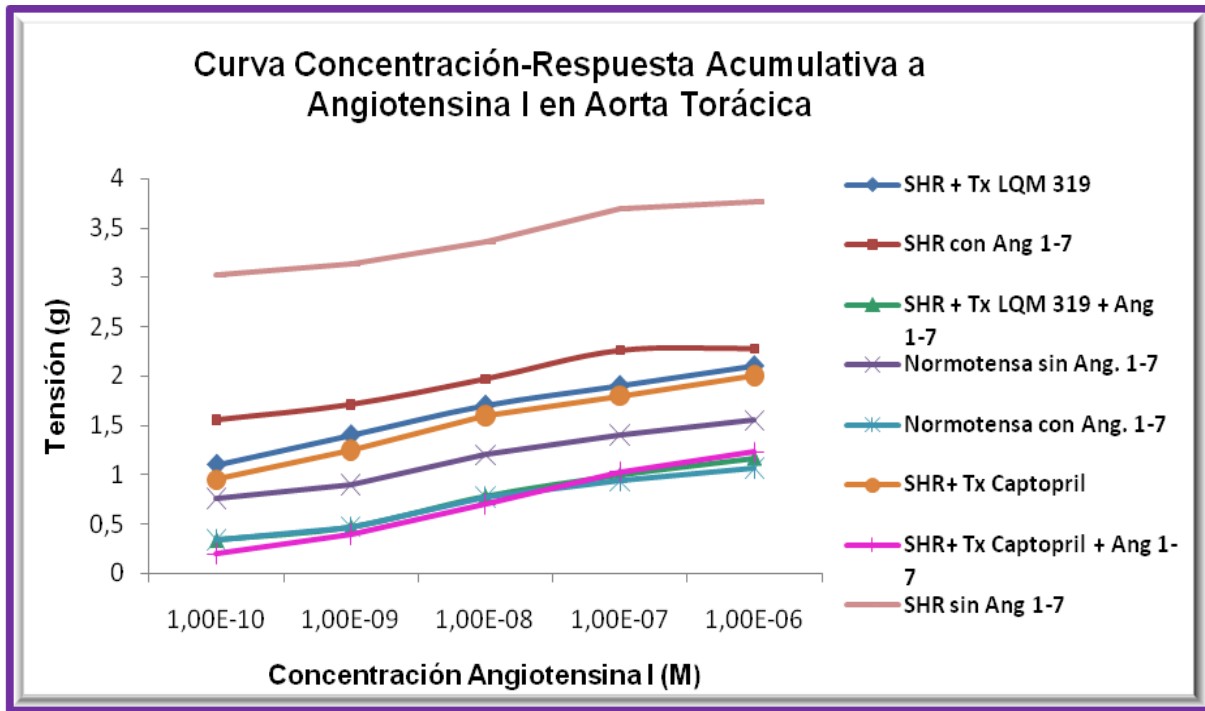
Gráfica 6. Curva Concentración-Respuesta Acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con LQM 319 y Angiotensina 1-7. Los valores obtenidos de las ratas SHR control se muestran con \blacklozenge , las ratas tratadas con LQM 319 se muestran con \blacktriangle y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7+ LQM 319 con \bullet . Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n= 5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha= 0.05$, *F-Fischer*. Se puede observar que el Compuesto LQM 319 disminuye la vasoconstricción producida por Angiotensina I pero cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejidos aislados disminuye aun más la contracción en comparación con la tensión observada en la SHR Control.



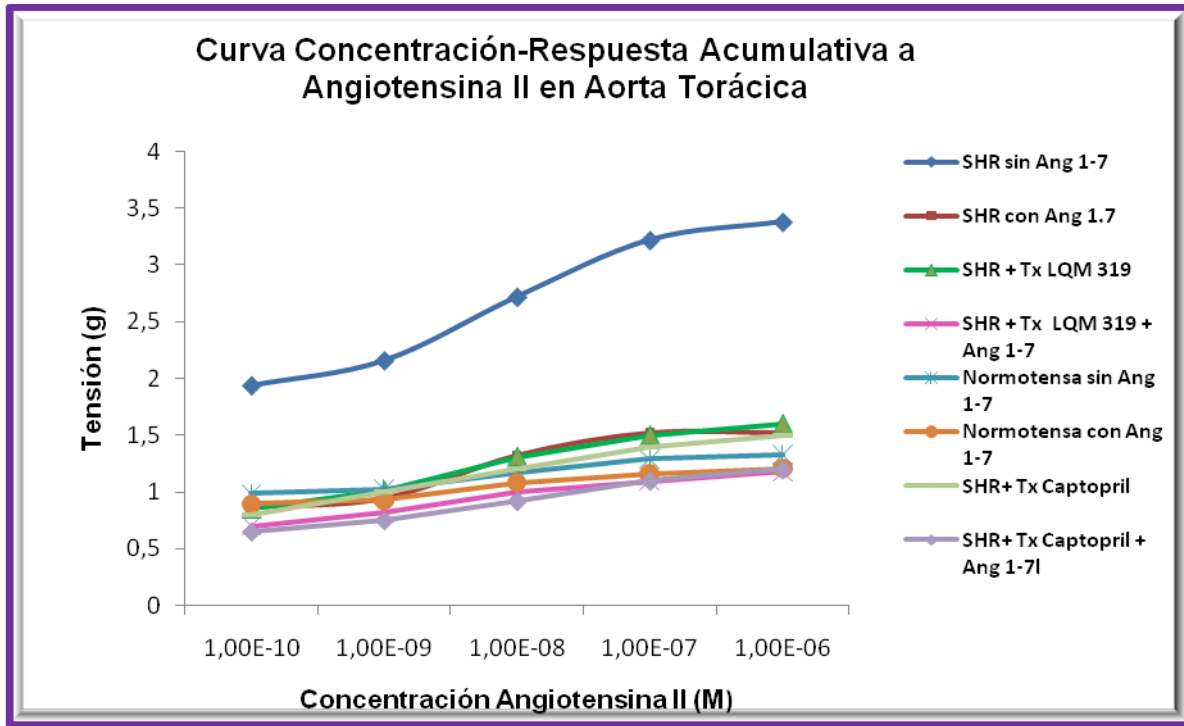
Gráfica 7. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Captopril y Angiotensina 1-7. Los valores obtenidos de las ratas control se muestran con \blacklozenge , las ratas tratadas con Captopril se muestran con \blacktriangle y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7 + Captopril con \bullet . Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n= 5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha= 0.05$, *F-Fischer*. Se puede observar que Captopril disminuye la vasoconstricción producida por Angiotensina I pero cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejidos aislados disminuye aun más la contracción inducida por Angiotensina I.



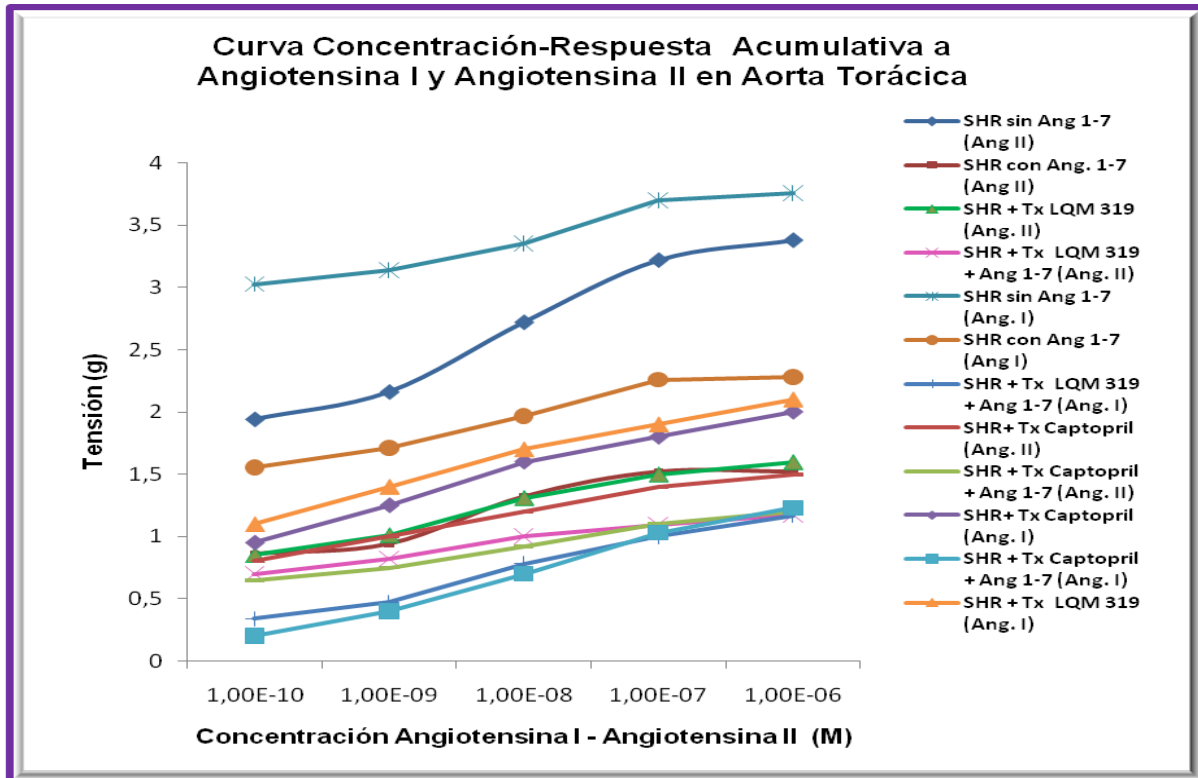
Gráfica 8. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Captopril y Angiotensina 1-7. Los valores obtenidos de las ratas control se muestran con \blacklozenge , las ratas tratadas con Captopril se muestran con \blacktriangle y la contracción de las ratas después de la incubación con Angiotensina 1-7 + Captopril con \bullet . Los resultados fueron significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n= 5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha= 0.05$, *F-Fischer*. Se puede observar que Captopril disminuye la vasoconstricción producida por Angiotensina II pero cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejidos aislados disminuye aun más la contracción inducida por Angiotensina II.



Gráfica 9. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en aorta torácica de rata hipertensa espontánea. Los valores obtenidos de las ratas normotensas tratadas con Angiotensina 1-7 (**línea azul**) presentan una disminución en la contracción muscular comparadas con las ratas normotensas control (**línea morada**), mientras que en las ratas hipertensas espontáneas control (**línea rosa**) la contracción es mayor que cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 (**línea roja**) por otra parte se observa una disminución significativa en las SHR tratadas con el compuesto LQM 319 + Angiotensina 1-7 (**línea verde**) que las SHR tratadas solamente con el compuesto LQM 319 (**línea azul rey**), por último se observa que Captopril bloquea la vasoconstricción producida por Angiotensina I (**línea naranja**) pero cuando éste es administrado conjuntamente con el vasodilator la relajación es mucho mayor (**línea rosa mexicano**) y se bloquea el efecto de Angiotensina I, por lo tanto se determinó que el efecto vasorrelajante de Captopril y LQM 319 es semejante. Los resultados son significativos y corresponde a un valor \pm error estándar con una $n = 5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con $\alpha = 0.05$, *F-Fischer*.



Gráfica 10. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en aorta torácica de rata hipertensa espontánea. Los valores obtenidos de las ratas normotensas tratadas con Angiotensina 1-7 (**línea naranja**) presentan una disminución en la contracción muscular comparadas con las ratas normotensas control (**línea azul**), mientras que en las ratas hipertensas espontáneas control (**línea azul rey**) la contracción es mayor que cuando los animales son incubados con Angiotensina 1-7 (**línea roja**) por otra parte se observa una disminución significativa en las SHR tratadas con el compuesto LQM 319 + Angiotensina 1-7 (**línea rosa**) que las SHR tratadas solamente con el compuesto LQM 319 (**línea verde**), por último se observa que Captopril bloquea la vasoconstricción producida por Angiotensina II (**línea gris**) pero cuando éste es administrado conjuntamente con el vasodilatador la relajación es mucho mayor (**línea morada**) y se bloquea el efecto de Angiotensina II, por lo tanto se determinó que el efecto vasorrelajante de Captopril y LQM 319 es semejante.



Gráfica 11. Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I y Angiotensina II en aorta torácica. En esta gráfica se puede observar el efecto de Angiotensina 1-7, LQM 319 y Captopril sobre la constricción muscular producida por Angiotensina I y II, en donde observamos que existe un mayor efecto en Angiotensina I, por lo tanto se determinó que el efecto vasorrelajante de Captopril y LQM 319 es semejante y que cuando los anillos son incubados con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejidos aislados disminuye aun más la constricción.



7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Actualmente se estima que existen en el mundo aproximadamente un billón de enfermos de HTA, de estos, 750 millones corresponden a países en vías de desarrollo. Se calcula que 1.5% de todos los hipertensos mueren cada año por causas directamente relacionados a HTA. La incidencia de enfermedades cardiovasculares en México se ha incrementado de manera considerable en los últimos años, principalmente a causa de la hipertensión arterial, que pasó de una tasa de 401 a 529 por 100.000 habitantes.¹

Anteriormente se pensaba que el Sistema Renina Angiotensina era sólo un sistema lineal además de que su principal péptido (Angiotensina II) es un colaborador importante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Ahora se sabe que dicha cascada no es lineal y que Angiotensina 1-7 es un componente de dicha cascada. La activación de Angiotensina 1-7 contribuye a muchas acciones cardioprotectoras como son acción vasodilatadora mediada por liberación de óxido nítrico y bradicinina endotelial, contribuye al remodelamiento cardiaco reduciendo y atenuando la disfunción ventricular después de un infarto al miocardio y ejerciendo un efecto antihipertensivo.³

Los componentes de este sistema son el substrato de renina (o angiotensinógeno), la renina, la angiotensina I, enzima convertidora, la angiotensina II y varios péptidos menores. Además constituye un mediador fundamental en numerosos procesos biológicos que interesan al aparato cardiovascular, su importancia quedó probada en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial, en la insuficiencia cardiaca, postinfarto del miocardio, del remodelado ventricular tanto de origen hipertensivo como de origen isquémico y de la función renal por citar sólo algunos ejemplos.²⁹ Consecuentemente se ha tratado de buscar agentes que controlen la actividad desordenada de la cascada bioquímica cuando determinados procesos fisiológicos la hiperactiva.



Se denomina acción farmacológica a la modificación que produce una sustancia de las funciones del organismo incrementándolas o deprimiéndolas. Para determinar las acciones farmacológicas de los medicamentos debe tenerse en cuenta un principio fundamental “los fármacos no crean nunca acciones fisiológicas nuevas, se limitan a modificarlas incrementándolas o disminuyéndolas”. El efecto o respuesta de un fármaco es una manifestación de la acción de una sustancia que puede apreciarse mediante modelos experimentales como es el caso del uso de órganos aislados. En el presente trabajo se utilizó un modelo “in vitro” de aorta de rata hipertensa espontánea para evaluar el efecto vasodilatador de LQM 319 y Captopril en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 más un inhibidor de la L-Arginina (sintasa de óxido nítrico).

El uso de órganos aislados mantenidos en condiciones lo más semejante posible a las fisiológicas (lo cual se logra mediante el suministro de los electrolitos fundamentales, manteniendo la temperatura y la oxigenación constantes) representa un refinamiento de la metodología farmacológica que permite un estudio más detallado del mecanismo de acción y del efecto del medicamento estudiado sobre un órgano o tejido específico.

Diferentes órganos pueden ser utilizados en las preparaciones de órgano aislado en este caso el tejido de elección fue la aorta de rata hipertensa espontánea ya que es la arteria más importante del cuerpo, además de que tiene respuesta específica por sus receptores α_1 . La aorta torácica es la que recibe mayor presión desde el corazón.²⁸



Los fármacos antihipertensivos que existen hoy en día y que conforman la terapia habitual; son fármacos desarrollados en el extranjero para una población con una idiosincrasia completamente diferente a la de la población mexicana, tanto en costumbres, alimentación, ritmo de vida y hábitos en general, por lo cual en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en la Unidad de Estudios de Posgrado, en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio se ha evaluado compuestos que presenten mayor efecto antihipertensivo, menos efectos adversos y que podrían ser de bajo costo, creados por y para la población mexicana.

Estudios previos de evaluación farmacológica de los compuestos de la serie LQM300 muestran que el compuesto LQM319 (4-tert-butil-2, 6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil) fenol) presenta un efecto hipotensor en rata Normotensa y un efecto antihipertensivo en rata SHR. Por otro lado el Captopril (IECA) se ha utilizado como fármaco de referencia para los estudios de actividad biológica donde se ha comparado su efecto antihipertensivo.

Los efectos de los IECA se deben no sólo a una inhibición de la síntesis de angiotensina II (AII), sino a un aumento de la disponibilidad de bradiquinina. A su vez la bradiquinina libera óxido nítrico (NO) y PGI₂ de las células endoteliales, por lo que en última instancia, estos dos factores vasodilatadores se consideran mediadores de las acciones de los IECA. Además, la Angiotensina II puede convertirse en Angiotensina (1-7) por acción de la ECA₂.²⁸

Una manera de conocer y caracterizar el efecto de un fármaco es la determinación de su Curva Concentración-Respuesta. En general el incremento de la dosis produce un aumento paralelo de la intensidad de la respuesta hasta un determinado límite que es el efecto máximo. En este caso la realización de este tipo de curvas a partir de un incremento logarítmico de la dosis de Angiotensina I y Angiotensina II nos permitió evaluar el efecto vasodilatador del compuesto LQM 319 y Captopril para



lo cual fue necesario inducir una contracción vascular del músculo liso provocado por la presencia de Angiotensina I y II en las cámaras de tejido aislado.

Por lo que en este estudio mediante las Curvas Concentración-Respuesta acumulativas a Angiotensina I y Angiotensina II se determinó que tanto el compuesto LQM 319 y Captopril presentaron un efecto vasorrelajante semejante y cuando se incubaron los anillos con Angiotensina 1-7 en las cámaras de tejidos aislados disminuyeron aún más la contracción provocada por Angiotensina I y Angiotensina II en la aorta torácica de SHR.

Como podemos observar en la gráfica 11 se observa una disminución de la vasoconstricción producida por Angiotensina I y Angiotensina II en presencia de angiotensina 1-7 ésta vasodilatación observada fue independiente de la vía óxido nítrico ya que se administró un análogo de la L-arginina que compite con ésta por el sitio de unión de la NOS. Es importante considerar que el óxido nítrico es una sustancia vasodilatadora derivada del endotelio y es generado por el aminoácido L-arginina mediante la participación de la enzima NO sintetasa endotelial (NOS III) por lo tanto al haber administrado la N^G-monometil-L-arginina (L-NMMA) se creía que la contracción en las ratas hipertensas no iba a disminuir pero obtuvimos lo contrario.

El Compuesto LQM 319 muestra una eficacia y potencia significativa con la característica de ser un compuesto Tiomorfolínico con un radical terbutil, en donde este radical incrementa su acoplamiento con sus receptores con los cuales interactúa para disminuir el gasto cardiaco por lo que presenta un mayor efecto al disminuir el volumen de salida, debido quizá a una estimulación a nivel endotelial y liberar mecanismos vasodilatadores que van a incrementar el flujo y disminuir la resistencia periférica total con lo que disminuye la presión.



En general se pudo observar que el efecto que ejerce Captopril y el compuesto LQM 319 es similar e independiente de la sintasa de óxido nítrico al producir un antagonismo a la Angiotensina I y Angiotensina II. Esto nos indica el avance que se ha logrado dentro de la investigación y desarrollo de nuevos fármacos con efecto hipotensor.

El compuesto LQM 319 podría actuar combinándose con el receptor en el mismo sitio en que generalmente se combina Angiotensina I o Angiotensina II pero de una forma tan firme que no puede ser desplazado, combinándose en un sitio diferente de tal forma que evite un cambio en la configuración del receptor que sea esencial para su combinación con el vasoconstrictor para producir la respuesta característica o induciendo por sí mismo un cambio en la configuración del receptor que inhiba la reactividad del sitio donde debería interactuar el agonista.

Se espera contar con el apoyo de Industrias Farmacéuticas Nacionales e Instituciones Gubernamentales que inviertan recursos para continuar con el desarrollo de nuevos fármacos y que en un futuro puedan comercializarse en nuestro país haciendo a estos medicamentos más baratos en comparación de los que actualmente se encuentran en el mercado y más específicos para la población mexicana. Tiene que ser específica para ésta población porque la Hipertensión Arterial sigue diversos lineamientos y en un momento dado puede ser imprecisa y difícil de aplicar.

Por lo tanto se cree que el Compuesto LQM 319 tendrá en un futuro cercano un amplio uso terapéutico además de esclarecer la independencia de la vasodilatación observada en la vía óxido nítrico el cual juega un papel importante en el control de la Hipertensión Arterial el cual requiere de investigaciones futuras.



8. CONCLUSIONES

Mediante un modelo “in vitro” de aorta de rata hipertensa espontánea y a partir de las Curvas Concentración-Respuesta a Angiotensina I y Angiotensina II en presencia y ausencia de Angiotensina 1-7 del compuesto LQM 319 y Captopril así como la realización del análisis de varianza se determinó que el efecto vasodilatador de Angiotensina 1-7 sobre Captopril y LQM 319 es independiente de la vía óxido nítrico.

Se adquirió la experiencia en el manejo del equipo BIOPAQ SYSTEMS tras la administración del fármaco de referencia (Captopril) para evaluar el efecto hipotensor del compuesto Tiomorfolínico LQM 319 en rata hipertensa espontánea.

De acuerdo de los resultados obtenidos se concluye:

- ◆ El compuesto LQM 319 presentó un efecto vasodilatador en aorta torácica de rata SHR.
- ◆ El compuesto LQM319 y Captopril presentaron un efecto vasodilatador similar en aorta torácica de SHR.
- ◆ El efecto vasoconstrictor en Angiotensina I en rata SHR es mayor que para Angiotensina II pero el efecto vasodilatador es mayor en Angiotensina II.
- ◆ El compuesto LQM 319 así como el Captopril en administración conjunta con Angiotensina 1-7 observa un efecto vasorrelajante mayor.
- ◆ El compuesto LQM 319 y Captopril con administración previa de Angiotensina 1-7 y LNMMA presentan un efecto vasodilatador independiente de la sintasa de óxido nítrico.

Por lo tanto se cree que al administrar el compuesto LQM 319 con Angiotensina 1-7 pero sin el inhibidor de la sintasa de óxido nítrico se potencie el efecto vasodilatador.



Dentro de las ventajas de este compuesto de la serie LQM se encuentra que es de origen natural lo cual representa menor costo y fácil acceso para los pacientes con base a la comparación se demostró que éste compuesto presenta un efecto similar a Captopril el cual es un antihipertensivo que ya existe en el mercado con el desarrollo de nuevos fármacos antihipertensivos específicos para la población mexicana se descartan las variaciones causadas por los factores genéticos, fisiológicos, ambientales, etc.

PROPUESTAS

- ◆ Dar inicio a los estudios farmacodinámicos del compuesto LQM 319 para obtener información acerca de los posibles mecanismos de acción.
- ◆ Comparar con diferentes estudios que permitan la incorporación del compuesto LQM 319 en una formulación farmacéutica que permita una liberación controlada para la reducción del número de tomas del medicamento.



9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. TORRES, Salazar B; Martínez Ramírez, M. (2000). “Perfil de riesgo cardiovascular: base para la prescripción razonada en Hipertensión Arterial”. Unidad de Medicina Familiar No. 28 Instituto del Seguro Social. México, D.F.
2. ROSAS, Peralta Martín; Lara Esqueda Agustín. (2005). “Re-encuesta Nacional de Hipertensión Arterial (RENAHTA): Consolidación Mexicana de los factores de riesgo Cardiovascular”. Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” México, D.F.
3. GUARDIA, Cecilia; Vito, Eduardo. (2006). “El Sistema Renina Angiotensina en la Hipertensión Arterial”. Argentina. págs. 1-24.
4. FERRARIO, Carlos; Gallagher, Patricia. “Angiotensin (1-7) inhibits growth of cardiac myocytes through activation of the Mas receptor”. Am. J Physiol Heart Circ Physiol. 289: (2005). H1560-H1566.
5. KALANT, Harold. México. (1998). “Farmacología Médica.” Oxford, México. págs. 459-476.
6. GOODMAN Gilman Alfred. (1981). “Las bases Farmacológicas de la terapéutica” 6ª ed. Médica Panamericana, México. págs. 696, 697.
7. FLOREZ, Jesús. (2004). “Farmacología Humana”. 4ª ed. Masson. Barcelona. págs. 675-698.
8. OPIE, Lionel H. Gersh Berand J. (2001). “Fármacos en Cardiología” México. págs. 274-341.
9. Gad. SC: fundam Apply Toxicology 15(1):8, 1990.



10. CLARKE FH. ed: How Modern Medicines are developed, Futura, MT Kisko. NY. 1977.
11. TOPLISS JG: Medical Chemistry 15, 1006, 1885.
12. HOPFINGER AJ: J. Medical Chemistry 28; 1133, 1905.
13. HARTZEMA AG; Annual Pharmacotherapy PMA, Washington DC, 4, 1987.
14. GAL, Iglesias Beatriz; López, Gallardo Meritxell; Martín, Velasco Ana Isabel; Prieto, Moltalvo Julio. (2001). "Bases de la Fisiología Humana". Tébar, España. págs. 143-145, 151-152.
15. Dr VARGAS Barrón Jesús. (2006). "Tratado de Cardiología". Editorial. Intersistemas.
16. KMORY Myce. (2004). "Farmacología". 2ª ed. Mc Graw Hill. págs. 181- 241.
17. KEVIN Taylor. www. universityhealthcare. com. (2005). University of Utha
18. PHILIP I. Aaronson, Jeremy P. T. Ward. (2001). "El Sistema cardiovascular en esquemas". 3ª ed. Medica, España. págs. 22-29 y 32-33.
19. ANTÓN J M. Roks. Meter Paúl Van Geel. (1999). "Angiotensin 1-7 is a modulator of the human rennin- angiotensin system". Hypertension 34: 296- 301.



20. Universidad Autónoma de Juárez. (1997).
<http://www.monografias.com/trabajos17/corazon-y-rinion/corazon-yrinion>.
21. REVUELTAS Miranda María Esther (1991). “Manual de Bioquímica de Sistemas”. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Pág. 167 a 168.
22. GARCÍA Joaquín. (2003) “ACE 2 una enzima protectora del sistema Cardiovascular” Cardiovascular Pharmacology. Instituto de Cardiología. Argentina. págs. 1-5.
23. LAHERA Vicente. (2004). “Angiotensina II y Arteriosclerosis” Boletín del Consejo Argentino de Hipertensión. Año 5. págs. 1-10.
<http://www.sac.org.ar/Publicaciones/boletin/10/hta10-4.pdf>
24. www.americanheart.org/presenter. (2007). American heart association.
25. CONTRERAS, F. L Terán. (2000). “Aspectos funcionales del sistema renina angiotensina aldosterona y bloqueantes de los receptores de angiotensina II en hipertensión arterial”. 19: 2 Caracas. págs. 1-5.
26. MANCIA, Giuseppe. (2007). “Guía de práctica clínica para el tratamiento de la Hipertensión Arterial 2007”. Grupo de trabajo para el tratamiento de Hipertensión Arterial de la Sociedad Europea de Hipertensión (ESH) y de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC).
27. CHAPUIS, T. Barriguet, J.A Cheron, P. Hernández, M. Vieyra, A & García, M. (2006). “Hipertensión Arterial: diagnóstico y tratamiento”. Enlaces Médicos Francia-México. Obtenido de Google el día 03 de Julio de 2010.
http://www.insp.mx/Portal/Centros/cenidsp/pdf/boletinffmm_1.pdf



28. TÓRTORA, J. Gerard; Graowsky, Reynolds Sandra. (2003). “Principios de Anatomía y Fisiología”. 9ª ed. Oxford University Press. México, D.F. págs. 649-651.
29. 2010. “Fisiopatología, Genética, Medio Ambiente e Historia Natural de la Hipertensión Arterial” Revista de Cardiología. Obtenido de **Google** el día 22 de mayo de 2010.
http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cardiologia/v23_n3/fisio_genetica.htm
30. ZARCO P. (2001). “Inhibidores de la ECA y antagonistas AII en la insuficiencia Cardíaca”. Vol. 10 No.1 Cardiovascular risk factors. págs. 25-34.
31. ALEGRIA Ezquerro. J. Gavira Gómez. (2002) “Efectos pleotrópicos de los inhibidores angiotensínicos” Cardiovascular risk factors. págs. 350-359.
32. VALLE, L. Nelly. “Introducción a la farmacología del SRA”. (2006). Obtenido de Google el día 20 de Mayo de 2010.
www.geocities.com/carminepascuzzolima/SRA.pdf.
33. José Federico Saabi. Sociedad Colombiana de Urología. Obtenido de Google el día 18 de Mayo de 2010. www.abcmedicus.com.
34. GUARDIA Cecilia. (2006) “El sistema renina angiotensina en la hipertensión arterial”. Argentina. págs. 24-50.
35. CHRISTOP P. Klett and Joel P. Granger. (2001) “Physiological elevation in plasma angiotensinogen increases blood pressure”. American Journal Physiology Regul Integr Comp Physiol Vol. 281: R1437-R1441.



36. SERNA, Fernando. (2006). “Sistema Renina Angiotensina Aldosterona”. Insuficiencia cardiaca crónica. Capítulo 4. págs. 42-63.
37. GARCIA Barreto David. (1997). “Los inhibidores de la enzima conversora de angiotensina”. Revista Cubana de Cardiología. 11 (1): 29- 46.
38. MENDOZA, Víctor Uriel. (2003). Tesis de Doctorado. “La Angiotensina II aumenta a una corriente de K⁺ del tipo rectificador tardío en neuronas simpáticas”. Universidad Autónoma de Colima. Facultad de Medicina. págs. 1-49.
39. (2000). Volumen 16. No. 1. Centro Andaluz de Información de Medicamentos. Obtenido de Google el día 22 de Mayo de 2010. www.easp.es/cadime.
40. GAMIZ, Viviana Llamas. (2002). “¿Cual es la evidencia de los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina en la hipertensión arterial?” Madrid. Vol. 11 No. 5 Cardiovascular Risk Factors págs. 299-306.
41. BALASZCZUK Ana. Participación del Sistema Renina- Angiotensina hipotalámico en animales hipertensos por coartación aórtica. Obtenido de Google el día 20 de Mayo de 2010. www.sac.com.
42. CARRETERO, Oscar. (2006). “Nuevos mecanismos de acción de la enzima de conversión y sus inhibidores”. Hipertensión and Vascular Research División, Boletín del Consejo Argentino de Hipertensión. Año 7.



43. FERREIRA J. Santos. “Cardiovascular actions angiotensin (1-7)”. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. April (2005) Vol. 38(04) págs. 499-507.
44. KOSTENIS, Milligan G, Christopoulos A. “G-Protein coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type I receptor” Circulation 2005: 111 págs. 1806-1813.
45. YAMAMOTO, MC Chappell, KB Brosnihan and CM Ferrario. (1992). “In vivo metabolism of angiotensin I by neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in spontaneously hypertensive rats” Hypertension, Vol. 19, 692-696.

10. ANEXO I

DATOS ESTADÍSTICOS

En este apartado se muestra los datos estadísticos obtenidos experimentalmente para la realización de las Curvas Concentración-Respuesta acumulativa a Fenilefrina en aorta de rata SHR, como son promedio, desviación estándar y error.

Tamaño de Muestra: n=5

Tabla 1. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata normotensa.

NORMOTENSA CONTROL					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.10	0.0	0.12	0.1	0.02
ERROR ESTÁNDAR	0.04	0.0	0.05	0.04	0.01
NORMOTENSA TRATADA (Ang. 1-7)					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.33	0.47	0.77	0.936	1.07
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.01	0.04	0.02	0.03	0.06
ERROR ESTÁNDAR	0.00	0.02	0.01	0.01	0.02
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
2678.29654	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas normotensas control y la ratas administradas con Angiotensina 1-7

Tabla 2. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata normotensa.

NORMOTENSA CONTROL					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.86	0.79	0.91	0.99	1.00
ERROR ESTÁNDAR	0.024	0.022	0.026	0.028	0.029
NORMOTENSA TRATADA (Ang. 1-7)					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.89	0.92	1.08	1.15	1.20
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.86	0.79	0.91	0.99	1.00
ERROR ESTÁNDAR	0.024	0.022	0.026	0.028	00.29
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
120.824652	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas normotensas control y las ratas administradas con Angiotensina 1-7

Tabla 3. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea.

SHR CONTROL					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	3.028	3.14	3.354	3.7	3.76
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.07	0.11	0.13	0.18	0.16
ERROR ESTÁNDAR	0.03	0.05	0.06	0.08	0.07
SHR TRATADA (Ang. 1-7)					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	1.55	1.712	1.97	2.26	2.28
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.14	0.16	0.10	0.08	0.14
ERROR ESTÁNDAR	0.06	0.07	0.04	0.04	0.06
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
7036.01085	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas hipertensas control y las ratas administradas con Angiotensina 1-7.

Tabla 4. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea.

SHR CONTROL					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	1.94	2.16	2.72	3.22	3.38
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.05	0.11	0.17	0.14	0.23
ERROR ESTÁNDAR	0.02	0.05	0.08	0.06	0.10
SHR TRATADA (Ang. 1-7)					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.86	0.94	1.32	1.52	1.52
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.05	0.05	0.08	0.08	0.08
ERROR ESTÁNDAR	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
99.7116913	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas hipertensas control y las ratas administradas con Angiotensina 1-7.

Tabla 5. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea.

SHR CONTROL (LQM 319)					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	1.1	1.4	1.7	1.9	2.1
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.01	0.04	0.02	0.05	0.06
ERROR ESTÁNDAR	0.005	0.02	0.01	0.02	0.02
SHR TRATADA (Ang. 1-7 + LQM 319)					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.338	0.47	0.782	1	1.17
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.01	0.04	0.02	0.05	0.06
ERROR ESTÁNDAR	0.005	0.02	0.01	0.02	0.02
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
771.267606	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas hipertensas tratadas con el Compuesto LQM 319 y las ratas administradas con Angiotensina 1-7 y el Compuesto LQM 319.

Tabla 6. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea.

SHR CONTROL (LQM 319)					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.85	1.01	1.31	1.5	1.6
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.008	0.0427	0.0054	0.0044	0.0044
ERROR ESTÁNDAR	0.004	0.01	0.002	0.002	0.002
SHR TRATADA (Ang. 1-7 + LQM 319)					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.7	0.82	1	1.096	1.176
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.008	0.005	0.008	0.04	0.05
ERROR ESTÁNDAR	0.003	0.002	0.003	0.019	0.025
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
28.7454	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas hipertensas tratadas con el Compuesto LQM 319 y las ratas administradas con Angiotensina 1-7 y el Compuesto LQM 319.

Tabla 7. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea.

SHR CONTROL (Captopril)					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.95	1.25	1.6	1.8	2.0
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.10	0.007	0.12	0.1	0.025
ERROR ESTÁNDAR	0.003	0.002	0.003	0.019	0.02
SHR TRATADA (Ang. 1-7 + Captopril)					
Angiotensina I	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.2	0.4	0.7	1.03	1.23
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.01	0.04	0.025	0.039	0.064
ERROR ESTÁNDAR	0.02	0.05	0.08	0.06	0.10
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
792.31068	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas hipertensas tratadas con Captopril y las ratas administradas con Angiotensina 1-7 + Captopril.

Tabla 8. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea.

SHR CONTROL (Captopril)					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.8	1.0	1.2	1.4	1.5
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.008	0.0427	0.0054	0.0044	0.033
ERROR ESTÁNDAR	0.004	0.01	0.002	0.002	0.002
SHR TRATADA (Ang. 1-7 + Captopril)					
Angiotensina II	1.00E-10 (M)	1.00E-09 (M)	1.00E-08 (M)	1.00E-07 (M)	1.00E-06 (M)
PROMEDIO	0.65	0.75	0.92	1.1	1.2
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.02	0.05	0.02	0.03	0.06
ERROR ESTÁNDAR	0.01	0.04	0.07	0.05	0.1
Resultado del Análisis de Varianza					
F experimental	F tablas		Interpretación		
83.3791349	7.70864742		S*p≤0.05		

(S*p≤0.05) Diferencia significativa entre la contracción vascular de las ratas hipertensas tratadas con Captopril y las ratas administradas con Angiotensina 1-7 + Captopril.

Tabla 9. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina I en rata hipertensa espontánea.

Angiotensina I (M)	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	0.33	0.47	0.77	0.936	1.07
SHR Control	3.028	3.14	3.354	3.7	3.76
SHR Tratada (Ang. 1-7)	1.55	1.712	1.97	2.26	2.28
SHR Control (LQM 319)	1.1	1.4	1.7	1.9	2.1
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	0.338	0.47	0.782	1	1.17
SHR Control (Captopril)	0.95	1.25	1.6	1.8	2.0
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	0.2	0.4	0.7	1.03	1.23
Resultado del Análisis de Varianza					
	F calculado	F tablas	Interpretación	Significado	
Normotensa Control					
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	2678.2965	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Control	8354.1604	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Control (LQM 319)	169.194842	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Tratada (Ang. 1-7)	1997.5031	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	860.2289	7.7086	(S*p≤0.05)	S	



SHR Control (Captopril)	62.1317254	7.7086	(S*p≤0.05)	S
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	83.7035133	7.7086	(S*p≤0.05)	S

Tabla 10. Determinación de la tensión (g) para la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Angiotensina II en rata hipertensa espontánea.

Angiotensina II (M)	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	0.89	0.92	1.08	1.15	1.20
SHR Control	1.94	2.16	2.72	3.22	3.38
SHR Tratada (Ang. 1-7)	0.86	0.94	1.32	1.52	1.52
SHR Control (LQM 319)	0.85	1.01	1.31	1.5	1.6
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	0.7	0.82	1	1.096	1.176
SHR Control (Captopril)	0.8	1.0	1.2	1.4	1.5
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	0.65	0.75	0.92	1.1	1.2
Resultado del Análisis de Varianza					
Normotensa Control	F calculado	F tablas	Interpretación	Significado	
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	120.8246	6.3882	(S*p≤0.05)	S	
SHR Control	51.0378	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Tratada (Ang. 1-7)	1.011	7.7086	(S*p≤0.05)	NS	
SHR Control (LQM 319)	1.6647	7.7086	(S*p≤0.05)	NS	
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	80.0496	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Control (Captopril)	10.784172	7.7086	(S*p≤0.05)	S	
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	46.5612245	7.7086	(S*p≤0.05)	S	



11. ANEXO II

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa control-Normotensa tratada con Angiotensina 1-7.....**120**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa control-Normotensa tratada con Angiotensina 1-7.....**121**

Análisis de varianza de la tensión en rata SHR control-SHR tratada con Angiotensina 1-7.....**122**

Análisis de varianza de la tensión en rata SHR control-SHR tratada con Angiotensina 1-7.....**123**

Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (LQM 319)-SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + LQM 319).....**124**

Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (LQM 319)-SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + LQM 319).....**125**

Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (Captopril)-SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + Captopril).....**126**

Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (Captopril)-SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + Captopril).....**127**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Control.....**128**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7).....**129**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (LQM 319).....**130**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319).....**131**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Captopril).....**132**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril).....**133**



Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Control.....**134**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7).....**135**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (LQM 319).....**136**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319).....**137**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Captopril).....**138**

Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril).....**139**



ANALISIS DE VARIANZA

(ANOVA)

Los resultados que fueron obtenidos en este proyecto experimental se les aplicó un análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo para determinar si existía diferencia significativa entre los valores de tensión para las ratas tratadas con el compuesto LQM 319 y Captopril. En dicho análisis se puede observar si el resultado obtenido es significativo para cada estudio, por lo tanto se proponen las siguientes hipótesis:

H₀: El valor de las medias de la Curva Control es igual a las medias de la Curva Concentración-Respuesta acumulativa.

H₁: Por lo menos una de las medias de la Curva Control es diferente a las medias de la Curva Concentración-Respuesta acumulativa.

Tales hipótesis se comprobaron con los valores de F para una $n=5$ y con una $\alpha=0.05$ de significancia, considerando entonces que:

Si $F_{\text{exp}} < F_{\text{teórico}}$ SE ACEPTA H_0

Si $F_{\text{exp}} > F_{\text{teórico}}$ SE RECHAZA H_0

Cuando no se acepta H_0 existe diferencia significativa entre los valores obtenidos (tensión) después de la administración intramuscular del Compuesto LQM 319 a ratas SHR y la administración de Captopril.

Cuando no se rechaza H_0 no existe diferencia significativa entre los valores obtenidos después de la administración intramuscular del Compuesto LQM 319 a ratas SHR y la administración de Captopril.

Tabla 11. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa control- Normotensa tratada con Angiotensina 1-7

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	0.33	0.47	0.77	0.936	1.07

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.778	1.1556	0.1052408
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	5	3.586	0.7172	0.0950612
1E-10	2	1.094	0.547	0.087362
1E-09	2	1.37	0.685	0.09245
0.00000001	2	1.972	0.986	0.091592
0.0000001	2	2.336	1.168	0.107648
0.000001	2	2.592	1.296	0.102152

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.4804864	1	0.480486	2678.29654	8.3436E-07	7.7086474
Columnas	0.8004904	4	0.200122	1115.51059	2.4051E-06	6.3882329
Error	0.0007176	4	0.000179			
Total	1.2816944	9				

$$F_{\text{exp}} (2678.2965) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata normotensa tratada con Angiotensina 1-7.

Tabla 12. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa control- Normotensa tratada con Angiotensina 1-7

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	0.89	0.92	1.08	1.15	1.20

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.7935	1.1587	0.02416095
Normotensa Tratada (Ang. 1-7)	5	5.2698	1.05396	0.01920468
1E-10	2	1.8768	0.9384	0.00406802
1E-09	2	1.9483	0.97415	0.00420444
0.0000001	2	2.2533	1.12665	0.00375844
0.0000001	2	2.4466	1.2233	0.00889778
0.000001	2	2.5383	1.26915	0.00740544

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.0274261	1	0.02742617	120.824	0.00038927	7.70864742
Columnas	0.1725545	4	0.04313864	190.045	8.1909E-05	6.38823291
Error	0.0009079	4	0.00022699			
Total	0.2008886	9				

$$F_{\text{exp}} (120.824) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata normotensa tratada con Angiotensina 1-7.

Tabla 13. Análisis de varianza de la tensión en rata SHR control-SHR tratada con Angiotensina 1-7

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
SHR Control	3.028	3.14	3.354	3.7	3.76
SHR Tratada (Ang. 1-7)	1.55	1.712	1.97	2.26	2.28

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SHR Control	5	16.982	3.3964	0.1069088
SHR Tratada (Ang. 1-7)	5	9.778	1.9556	0.1042808
1E-10	2	4.584	2.292	1.083392
1E-09	2	4.852	2.426	1.019592
0.0000001	2	5.324	2.662	0.957728
0.0000001	2	5.96	2.98	1.0368
0.000001	2	6.04	3.02	1.0952

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	5.1897616	1	5.1897616	7036.0108	1.2108E-07	7.70864742
Columnas	0.841808	4	0.210452	285.31995	3.6509E-05	6.38823291
Error	0.0029504	4	0.0007376			
Total	6.03452	9				

$$F_{\text{exp}} (7036.0108) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Angiotensina 1-7.

Tabla 14. Análisis de varianza de la tensión en rata SHR control-SHR tratada con Angiotensina 1-7

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
SHR Control	1.94	2.16	2.72	3.22	3.38
SHR Tratada (Ang. 1-7)	0.86	0.94	1.32	1.52	1.52

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Control Hipertensa	5	13.42	2.684	0.40028
Tratada Normotensa	5	6.16	1.232	0.09932
1E-10	2	2.8	1.4	0.5832
1E-09	2	3.1	1.55	0.7442
0.0000001	2	4.04	2.02	0.98
0.0000001	2	4.74	2.37	1.445
0.000001	2	4.9	2.45	1.7298

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	5.27076	1	5.27076	99.711691	0.00056515	7.70864742
Columnas	1.78696	4	0.44674	8.4513810	0.03121498	6.38823291
Error	0.21144	4	0.05286			
Total	7.26916	9				

$$F_{\text{exp}} (99.711) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Angiotensina 1-7.



Tabla 15. Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (LQM 319)- SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + LQM 319).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
SHR Control (LQM 319)	1.1	1.4	1.7	1.9	2.1
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	0.338	0.47	0.782	1	1.17

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SHR Control (LQM 319)	5	8.2	1.64	0.158
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	5	3.76	0.752	0.122012
1E-10	2	1.438	0.719	0.290322
1E-09	2	1.87	0.935	0.43245
0.0000001	2	2.482	1.241	0.421362
0.0000001	2	2.9	1.45	0.405
0.000001	2	3.27	1.635	0.43245

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	1.97136	1	1.97136	771.267606	9.9999E-06	7.70864742
Columnas	1.109824	4	0.277456	108.550861	0.00024845	6.38823291
Error	0.010224	4	0.002556			
Total	3.091408	9				

$$F_{\text{exp}} (771.2676) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Angiotensina 1-7 + Compuesto LQM 319.



Tabla 16. Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (LQM 319)- SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + LQM 319).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
SHR Control (LQM 319)	0.85	1.01	1.31	1.5	1.6
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	0.7	0.82	1	1.096	1.176

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SHR Control (LQM 319)	5	6.27	1.254	0.10153
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	5	4.792	0.9584	0.0384848
1E-10	2	1.55	0.775	0.01125
1E-09	2	1.83	0.915	0.01805
0.0000001	2	2.31	1.155	0.04805
0.0000001	2	2.596	1.298	0.081608
0.000001	2	2.776	1.388	0.089888

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.2184484	1	0.2184484	28.7454	0.00584052	7.70864742
Columnas	0.5296616	4	0.1324154	17.4244	0.00851778	6.38823291
Error	0.0303976	4	0.0075994			
Total	0.7785076	9				

$$F_{\text{exp}} (28.7454) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Angiotensina 1-7 + Compuesto LQM 319.



Tabla 17. Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (Captopril)-SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + Captopril).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
SHR Control (Captopril)	0.95	1.25	1.6	1.8	2.0
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	0.2	0.4	0.7	1.03	1.23

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SHR Control (Captopril)	5	7.6	1.52	0.17825
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	5	3.56	0.712	0.18227
1E-10	2	1.15	0.575	0.28125
1E-09	2	1.65	0.825	0.36125
0.00000001	2	2.3	1.15	0.405
0.0000001	2	2.83	1.415	0.29645
0.000001	2	3.23	1.615	0.29645

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	1.63216	1	1.63216	792.3106	9.478E-06	7.70864742
Columnas	1.43384	4	0.35846	174.0097	9.7575E-05	6.38823291
Error	0.00824	4	0.00206			
Total	3.07424	9				

$$F_{\text{exp}} (792.3106) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Angiotensina 1-7 + Captopril.



Tabla 18. Análisis de varianza de la tensión en rata SHR Control (Captopril)-SHR Tratada (Angiotensina 1-7 + Captopril).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
SHR Control (Captopril)	0.8	1.0	1.2	1.4	1.5
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	0.65	0.75	0.92	1.1	1.2

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SHR Control (Captopril)	5	5.9	1.18	0.082
SHR Tratada (Ang. 1-7+Captopril)	5	4.62	0.924	0.05313
1E-10	2	1.45	0.725	0.01125
1E-09	2	1.75	0.875	0.03125
0.00000001	2	2.12	1.06	0.0392
0.0000001	2	2.5	1.25	0.045
0.000001	2	2.7	1.35	0.045

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.16384	1	0.16384	83.3791349	0.00079815	7.70864742
Columnas	0.53266	4	0.133165	67.7684478	0.00062822	6.38823291
Error	0.00786	4	0.001965			
Total	0.70436	9				

$$F_{\text{exp}} (83.37) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata hipertensa espontánea tratada con Angiotensina 1-7 + Captopril.



Tabla 19. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Control.

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
SHR Control	3.028	3.14	3.354	3.7	3.76

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	16.982	3.3964	0.1069088
SHR Control	5	5.778	1.1556	0.1052408
1E-10	2	3.784	1.892	2.580992
0.000000001	2	4.04	2.02	2.5088
0.000000001	2	4.554	2.277	2.319858
0.00000001	2	5.1	2.55	2.645
0.0000001	2	5.282	2.641	2.504322

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	12.5529616	1	12.5529616	8354.16052	8.59012E-08	7.70864742
Columnas	0.842588	4	0.210647	140.18834	0.000149785	6.38823290
Error	0.0060104	4	0.0015026			
Total	13.40156	9				

$$F_{\text{exp}} (8354.16052) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR.

Tabla 20. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
SHR Tratada (Ang. 1-7)	1.55	1.712	1.97	2.26	2.28

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	9.778	1.9556	0.1042808
SHR Tratada (Ang. 1-7)	5	5.778	1.1556	0.1052408
1E-10	2	2.312	1.156	0.32
0.00000001	2	2.612	1.306	0.329672
0.00000001	2	3.17	1.585	0.29645
0.0000001	2	3.66	1.83	0.3698
0.000001	2	3.802	1.901	0.287282

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	1.6	1	1.6	1997.5031	1.49875E-06	7.708647421
Columnas	0.8348824	4	0.2087206	260.57503	4.37341E-05	6.388232909
Error	0.003204	4	0.000801			
Total	2.4380864	9				

$$F_{\text{exp}} (1997.5031) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Angiotensina 1-7.

Tabla 21. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (LQM 319).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
SHR Control (LQM 319)	1.1	1.4	1.7	1.9	2.1

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Normotensa Control	5	5.77	1.154	0.10608
SHR Control (LQM 319)	5	8.2	1.64	0.158
1E-10	2	1.85	0.925	0.06125
1E-09	2	2.3	1.15	0.125
0.0000001	2	2.9	1.45	0.125
0.0000001	2	3.3	1.65	0.125
0.000001	2	3.62	1.81	0.1682

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	0.59049	1	0.59049	169.194842	0.00020158	7.70864742
Columnas	1.04236	4	0.26059	74.6676218	0.00051935	6.38823291
Error	0.01396	4	0.00349			
Total	1.64681	9				

$$F_{\text{exp}} (169.194842) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con LQM 319.



Tabla 22. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	0.338	0.47	0.782	1	1.17

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.778	1.1556	0.1052408
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	5	3.76	0.752	0.122012
1E-10	2	1.094	0.547	0.087362
0.000000001	2	1.37	0.685	0.09245
0.00000001	2	1.982	0.991	0.087362
0.0000001	2	2.4	1.2	0.08
0.000001	2	2.692	1.346	0.061952

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.4072324	1	0.4072324	860.2289818	8.0457E-06	7.708647421
Columnas	0.9071176	4	0.2267794	479.0439375	1.3E-05	6.388232909
Error	0.0018936	4	0.0004734			
Total	1.3162436	9				

$$F_{\text{exp}} (869.22) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Ang. 1-7 + LQM 319.

Tabla 23. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Captopril).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
SHR Control (Captopril)	0.95	1.25	1.6	1.8	2.0

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Normotensa Control	5	5.77	1.154	0.10608
SHR Control (Captopril)	5	7.6	1.52	0.17825
1E-10	2	1.7	0.85	0.02
1E-09	2	2.15	1.075	0.06125
0.0000001	2	2.8	1.4	0.08
0.0000001	2	3.2	1.6	0.08
0.000001	2	3.52	1.76	0.1152

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	0.33489	1	0.33489	62.131725	0.00140057	7.70864742
Columnas	1.11576	4	0.27894	51.751391	0.00106446	6.38823291
Error	0.02156	4	0.00539			
Total	1.47221	9				

$$F_{\text{exp}} (62.13) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Captopril.



Tabla 24. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril).

Angiotensina I	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.75	0.9	1.2	1.4	1.52
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	0.2	0.4	0.7	1.03	1.23

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.77	1.154	0.10608
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	5	3.56	0.712	0.18227
1E-10	2	0.95	0.475	0.15125
1E-09	2	1.3	0.65	0.125
0.00000001	2	1.9	0.95	0.125
0.0000001	2	2.43	1.215	0.06845
0.000001	2	2.75	1.375	0.04205

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.48841	1	0.48841	83.7035133	0.00079221	7.70864742
Columnas	1.13006	4	0.282515	48.4173093	0.00121189	6.38823291
Error	0.02334	4	0.005835			
Total	1.64181	9				

$$F_{\text{exp}} (83.70) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Ang. 1-7 + Captopril.



Tabla 25. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Control.

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
SHR Control	1.94	2.16	2.72	3.22	3.38

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.7935	1.1587	0.02416095
SHR Control	5	13.42	2.684	0.40028
1E-10	2	2.9235	1.46175	0.457446125
0.000000001	2	3.18	1.59	0.6498
0.00000001	2	3.89	1.945	1.20125
0.0000001	2	4.51	2.255	1.86245
0.000001	2	4.71	2.355	2.10125

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	5.81635022	1	5.816350225	51.03786	0.00203079	7.7086474
Columnas	1.2419179	4	0.310479475	2.724424	0.17756065	6.3882329
Error	0.4558459	4	0.113961475			
Total	7.51411402	9				

$$F_{\text{exp}} (51.03) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR.

Tabla 26. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
SHR Tratada (Ang. 1-7)	0.86	0.94	1.32	1.52	1.52

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.7935	1.1587	0.02416095
SHR Tratada (Ang. 1-7)	5	6.16	1.232	0.09932
1E-10	2	1.8435	0.92175	0.007626125
0.000000001	2	1.96	0.98	0.0032
0.00000001	2	2.49	1.245	0.01125
0.0000001	2	2.81	1.405	0.02645
0.000001	2	2.85	1.425	0.01805

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.013432225	1	0.013432225	1.01100784	0.37155092	7.7086474
Columnas	0.4407799	4	0.110194975	8.29408267	0.03223906	6.38823290
Error	0.0531439	4	0.013285975			
Total	0.507356025	9				

$$F_{\text{exp}} (1.011) \leq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se rechaza Ho, por lo tanto no existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Angiotensina 1-7.



Tabla 27. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (LQM 319).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
SHR Control (LQM 319)	0.85	1.01	1.31	1.5	1.6

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.7935	1.1587	0.02416095
SHR Control (LQM 319)	5	6.27	1.254	0.10153
1E-10	2	1.8335	0.91675	0.008911125
0.000000001	2	2.03	1.015	5E-05
0.00000001	2	2.48	1.24	0.0098
0.0000001	2	2.79	1.395	0.02205
0.000001	2	2.93	1.465	0.03645

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.022705225	1	0.022705225	1.664731037	0.266500172	7.708647421
Columnas	0.4482079	4	0.112051975	8.215571551	0.03276913	6.388232909
Error	0.0545559	4	0.013638975			
Total	0.525469025	9				

$$F_{\text{exp}} (1.66) \leq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se rechaza Ho, por lo tanto no existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con LQM 319.



Tabla 28. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	0.7	0.82	1	1.096	1.176

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.7935	1.1587	0.02416095
SHR Tratada (Ang. 1-7 + LQM 319)	5	4.792	0.9584	0.0384848
1E-10	2	1.6835	0.84175	0.040186125
0.000000001	2	1.84	0.92	0.02
0.000000001	2	2.17	1.085	0.01445
0.00000001	2	2.386	1.193	0.018818
0.0000001	2	2.506	1.253	0.011858

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.100300225	1	0.100300225	80.0496618	0.000863182	7.708647421
Columnas	0.2455711	4	0.061392775	48.9976057	0.001184113	6.388232909
Error	0.0050119	4	0.001252975			
Total	0.350883225	9				

$$F_{\text{exp}} (80.04) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Ang. 1-7 + LQM 319.

Tabla 29. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Captopril).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
SHR Control (Captopril)	0.8	1.0	1.2	1.4	1.5

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.79	1.158	0.02447
SHR Control (Captopril)	5	5.9	1.18	0.082
1E-10	2	1.78	0.89	0.0162
1E-09	2	2.02	1.01	0.0002
0.0000001	2	2.37	1.185	0.00045
0.0000001	2	2.69	1.345	0.00605
0.000001	2	2.83	1.415	0.01445

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.00121	1	0.00121	10.784172	0.73293111	7.70864742
Columnas	0.38974	4	0.097435	0.1339236	0.02038127	6.38823291
Error	0.03614	4	0.009035			
Total	0.42709	9				

$$F_{\text{exp}} (10.78) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Captopril.



Tabla 30. Análisis de varianza de la tensión en rata Normotensa Control-SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril).

Angiotensina II	1.00E-10	1.00E-09	1.00E-08	1.00E-07	1.00E-06
Normotensa Control	0.98	1.02	1.17	1.29	1.33
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	0.65	0.75	0.92	1.1	1.2

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Normotensa Control	5	5.79	1.158	0.02447
SHR Tratada (Ang. 1-7 + Captopril)	5	4.62	0.924	0.05313
1E-10	2	1.63	0.815	0.05445
1E-09	2	1.77	0.885	0.03645
0.00000001	2	2.09	1.045	0.03125
0.0000001	2	2.39	1.195	0.01805
0.000001	2	2.53	1.265	0.00845

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.13689	1	0.13689	46.5612245	0.00241182	7.70864742
Columnas	0.29864	4	0.07466	25.3945578	0.00419742	6.38823291
Error	0.01176	4	0.00294			
Total	0.44729	9				

$$F_{\text{exp}} (46.56) \geq F_{\text{teo}} (7.70)$$

No se acepta Ho, por lo tanto existe diferencia significativa en la contracción vascular de la aorta torácica de rata Normotensa Control y SHR Tratada con Ang. 1-7 + Captopril.