

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

COMPARACIÓN DEL EFECTO DEL TADALAFIL Y SILDENAFIL SOBRE
CRECIMIENTO FETAL, CUANDO SE ADMINISTRA EN RATAS GESTANTES

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta

José Luis Cortes Altamirano

Tutor Principal:

Dr. Rafael Hernández González
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran

Comité Tutoral:

Dr. Pedro Sánchez Aparicio
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UAEM

Dr. Oscar Gutiérrez Pérez
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

MÉXICO D. F.,

NOVIEMBRE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

El autor de la presente, agradece al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACYT) por la beca otorgada durante dos años, con el número de registro 254774.

DEDICATORIA

Doy crédito a los miembros de mi familia, especialmente a mi padre José Luis Cortes López así como también a mi madre Margarita Altamirano Domínguez, que gracias a ellos he logrado todos los objetivos. Al Dr. Pedro Sánchez Aparicio por los conocimientos que me otorga día a día.

DIRECTORES DE TESIS

Dr. Horacio Merchant Larios

Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Dr. Rafael Hernández González

Jefe del Departamento de Investigación Experimental y Bioterio, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México, D.F.

Dr. Luis Ocampo Camberos

Profesor Titular C, Tiempo Completo, Departamento de Farmacología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Dr. Santiago Rene Anzaldúa Arce

Profesor Titular B, Tiempo Completo, Departamento de Morfología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Dr. Alfonso Benito Alfaro Rodríguez

Responsable del Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología en el: Instituto Nacional de Rehabilitación. México DF.

AGRADECIMIENTOS

El autor de esta tesis expresa su profundo agradecimiento a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme abierto sus puertas y recibirme día con día.

Deseo agradecer al Dr. Pedro Sánchez Aparicio, al Dr. Rafael Hernández, al Dr. Oscar Gutiérrez Pérez por el apoyo intelectual, social, moral y económico para lograr el desarrollo y la culminación de esta tesis, también por la revisión exhaustiva y detallada del material que está impreso en sus manos.

A su vez, quiero agradecer la valiosa e importante aportación y cooperación de cada una de las siguientes personalidades que intervinieron en distintas etapas del proceso de desarrollo y ejecución de este proyecto:

Dra. Herlinda Bonilla Jaime del Departamento de biología de la reproducción de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa y a todo su grupo de colaboradores que hicieron de la fase experimental una experiencia inolvidable y a su vez agradecerle por su valioso aporte en el análisis estadístico.

M.V.Z Christian Garrido Cortes Por su valioso aporte en la realización de las cirugías y por estar en todos los momentos importantes con su apoyo incondicional.

M.V.Z Isaac Villafaña Rivera por el apoyo intelectual, social y sobretodo emocional desde el inicio de mi carrera.

DATOS BIBLIOGRÁFICOS

Estudiante del programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Realizó la Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia en el periodo 2005-2009 en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México, D.F.

Durante 2010 realizó una estancia de 11 meses en el área de investigación en neurociencias en el Instituto Nacional de Rehabilitación. Participó como ayudante de profesor en el módulo de equilibrio de nutrientes para los monogástricos y selección de pie de cría. Grupo BK01V; trimestre 09/I impartido en la UAM-X, en el año 2011, México D.F. Colaboró como ayudante de profesor en las materias de Farmacología y Toxicología Veterinaria e Introducción a la Ciencia Animal en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la División Académica de Ciencias Agropecuarias durante el semestre 02-12 en el año 2012, Teapa Tabasco.

Organizador de un evento nacional: Curso Producción y Comercialización de Carne de Conejo en el Centro de Enseñanza Agropecuaria, del Taller de Carnes en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Cuautitlán, México.

Conferencista en Congresos Nacionales e Internacionales: IX Reunión Anual de Investigación en Instituto Nacional de Rehabilitación México D.F., VII Congreso Internacional de Epidemiología. San Andrés Cholula, Puebla., III Congreso Internacional de la A.M.C.A.L. Boca del Rio, Veracruz., XVI Simposio del Departamento de Ciencias de la salud. UAM-I. México. D.F., Reunión del Grupo de Bioseñales. Xalapa, Veracruz., VII Congreso de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, México, D.F., Semana de Difusión y Divulgación Científica UJAT-DACA, Teapa, Tabasco., XXXVI Congreso Nacional de Buiatría. Mérida, Yucatán IV Congreso Internacional de la A.M.C.A.L. Mérida, Yucatan

Co-autor de 2 artículos de divulgación relacionados con aspectos de Ciencia de la Carne y de 3 capítulos de libro con registro ISBN. Participa en trabajos relacionados con Obstetricia Animal en modelos animales de experimentación y farmacología clínica.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. ANTECEDENTES.....	12
1.- Crecimiento fetal.....	12
1.1. Formación de la placenta.....	12
1.2. Circulación Fetal.....	15
1.3. Placentación en humano y roedor.....	19
1.3.1. Transporte de oxígeno, agua y electrolitos.....	20
1.3.2. Transporte de anticuerpos.....	20
1.4. Generalidades.....	21
2. Fármacos inhibidores de las Fosfodiesterasas.....	22
2.1. Fosfodiesterasas.....	22
2.3. Óxido Nítrico.....	24
2.4. Tadalafil.....	26
2.4.1. Uso de tadalafil en modelos animales y mujeres gestantes.....	28
2.5. Citrato de sildenafil.....	31
2.5.1. Uso de citrato de sildenafil en modelos animales y mujeres gestantes.....	32
2.6. Generalidades.....	38
3 La rata (<i>Rattus norvegicus</i>) como modelo experimental de desarrollo uterino y crecimiento fetal.....	40
3.1. La rata en la investigación científica de crecimiento intrauterino retardado.....	41
3.2. Restricción de crecimiento fetal intrauterino.....	43
3.3. Importancia del ON en el sistema materno-fetal en mujeres y modelos animales.....	45
3.4. Generalidades.....	46
III. OBJETIVOS.....	48
General.....	48
Específicos.....	48
IV. HIPOTESIS.....	49
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	50
1. Tipo de animales y localización.....	50
1.1. Número de animales y formación de grupos.....	50
1.2. Condiciones de alojamiento.....	51
2. Tratamiento.....	52
3. Cirugía.....	52
4. Zoometría y morfometría.....	53
5. Variables observadas.....	54
6. Análisis estadísticos.....	54
VI. RESULTADOS.....	56
VII. DISCUSIÓN.....	60

VIII. CONCLUSIONES.....	62
IX. REFERENCIAS	63
XII. ANEXOS.....	71

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

Cuadro 1.	Familia de las Fosfodiesterasas en Mamíferos.....	23
Cuadro 2.	Efectos reproductivos <i>In vitro</i> relacionados con el sildenafil.....	33
Cuadro 3.	Efectos reproductivos del sildenafil evaluados <i>in vivo</i> con modelos experimentales.....	34
Cuadro 4.	Efectos reproductivo del sildenafil en mujeres gestantes.....	36
Cuadro 5.	Farmacocinética de fármacos inhibidores de PDE5.....	37
Cuadro 6.	Indicadores reproductivos de la rata.....	41
Cuadro 7.	Evaluación del peso vivo en ratas gestantes durante el tratamiento con fármacos vasodilatadores.....	55
Cuadro 8.	Efecto del Citrato de sildenafil y tadalafil sobre el peso del feto, los órganos, la canal y de la placenta de fetos extraídos de ratas gestantes.....	57
Cuadro 9.	Parámetros somatométricos de ratas al nacimiento expuestos a los efectos maternos por ingesta de Citrato de sildenafil y tadalafil.....	58

FIGURAS

Figura 1.	Desarrollo de las vellosidades coriónicas.....	13
Figura 2.	Estructura de la placenta.....	15
Figura 3.	Circulación feto/placentaria.....	17
Figura 4.	Formula química del sildenafil.....	26
Figura 5.	Formula química del tadalafil.....	31

RESUMEN

El objetivo del trabajo consistió en comparar el efecto de la administración de sildenafil y tadalafil sobre el crecimiento fetal en ratas gestantes. Se utilizaron 15 ratas gestantes Wistar, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos. A las ratas del G₁ (n=5) se les administro un volumen de 0.5 mL de solución salina estéril vía oral. A los animales incluidos en el G₂ (n=5) y G₃ (n=5), se les administró 500 µg de sildenafil y tadalafil vía oral respectivamente. Los tratamientos iniciaron el día 14 de la gestación y concluyeron el día 21, administrándoles el fármaco una vez al día y aproximadamente a la misma hora. Se obtuvo el peso de las madres al inicio de la gestación, al inicio del tratamiento y al final del tratamiento mediante una báscula mecánica de triple brazo. Los fetos fueron extraídos a fin de obtener el peso corporal mediante una báscula analítica. El peso de las ratas al inicio de la gestación, inicio del tratamiento y peso al final de la gestación mantuvieron la misma tendencia lo que indica ausencia del efecto de la madre sobre el crecimiento fetal. El peso de los fetos del G₃ (tadalafil) fue significativamente mayor respecto al peso de los fetos del G₁ y G₂ (2.70 ± 0.22^b vs. 2.02 ± 0.02^a , 1.99 ± 0.3^a). El peso de los órganos en los fetos del grupo tratado con tadalafil fue significativamente mayor ($P < 0.01$) respecto al peso de los fetos del G₁ y G₂ (0.53 ± 0.01^b vs. 0.39 ± 0.003^a , 0.37 ± 0.002^a). El perímetro abdominal, el ancho de cabeza y de grupa fueron significativamente mayores en el grupo tratado con tadalafil. Se concluye, que la administración de 500 µg de tadalafil a partir del día 14 hasta el día 21 de la gestación favorece el crecimiento del feto.

Palabras clave: PDE5, Crecimiento fetal, Morfométria, Sildenafil, Tadalafil.

ABSTRACT

The aim of the study was to compare the effect of sildenafil and tadalafil on fetal growth in pregnant rats. We used 15 pregnant Wistar rats, which were randomly assigned to three groups. A G_1 rats ($n = 5$) were administered a volume of 0.5 mL of sterile saline orally. The animals included in G_2 ($n = 5$) and G_3 ($n = 5$), were given 500 μg of oral sildenafil and tadalafil respectively. Treatments began on day 14 of gestation and concluded on day 21, administering the drug once a day at approximately the same time. Weight was obtained from the mothers at the beginning of pregnancy, the beginning of treatment and end of treatment using a triple-beam mechanical scale. The fetuses to obtain body weight by analytical scale. The weight of the rats at the beginning of pregnancy, weight baseline and at the end of pregnancy remained the same trend indicating no maternal effect on fetal growth. The weight of fetuses of G_3 (tadalafil) was significantly greater than the weight of fetuses of G_1 and G_2 (2.70 ± 0.22^b vs. 2.02 ± 0.02^a , 1.99 ± 0.3^a). The weight of the organs in fetuses tadalafil-treated group was significantly higher ($P < 0.01$) on the weight of the fetuses of G_1 and G_2 (0.53 ± 0.01^b vs. 0.39 ± 0.003^a , 0.37 ± 0.002^a). The abdominal circumference, head width and rump were significantly higher in the group treated with tadalafil. We conclude that administration of 500 μg of tadalafil from day 14 to day 21 of gestation promotes fetal growth.

Keywords: PDE5, Fetal growth, Morphometry, Sildenafil, Tadalafil.

I. INTRODUCCIÓN

El English National Health Service reportó que entre el 50-70 % de la mortalidad neonatal en humanos no han sido esclarecidos ni clasificados. Las investigaciones realizadas demuestran que en todos los casos se identificaron fallas a nivel placentario que presumiblemente derivan en problemas de crecimiento fetal (Gardosi *et al.*, 2013). En México, el Instituto Mexicano del Seguro Social (2011) estimó que anualmente nacen en el mundo 30 millones de niños con problemas de crecimiento fetal, la prevalencia en países desarrollados es de 6.9 %, en tanto países en vías de desarrollo presentan un 23.8 %. Los casos con problemas de crecimiento fetal tienen mayor riesgo de muerte perinatal, complicaciones neonatales, problemas neuronales y enfermedades relacionadas a la vida adulta como diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares e hipertensión (Conde-Agudelo *et al.*, 2013). Alisi *et al.* (2011) señalaron que existe una relación entre el peso al nacimiento y los problemas cardiovasculares en la vida adulta lo que conlleva a muertes anticipadas.

Las líneas de investigación generadas por el alto porcentaje de mortinatos al nacimiento enfocan la atención a la relación utero-placenta, es de vital importancia establecer un flujo sanguíneo adecuado para mantener la bioactividad de sustancias que son el instrumento para la adaptación, mantenimiento de la gestación, la nutrición y el crecimiento fetal adecuado (Conde-Agudelo *et al.*, 2013). Schneider (1991), señaló que el transporte útero-placentario es esencial para el mantenimiento de la homeostasis en el comportamiento fetal.

En los últimos años, se ha introducido al mercado el Tadalafil que corresponde a la clase de medicamentos con especificidad a la fosfodiesterasas tipo cinco (PDE 5) (Toque *et al.*, 2009). Difiere de otros inhibidores de fosfodiesterasa (PDE), tales como vardenafil y sildenafil, debido a que cuenta con un mejor desempeño en su farmacocinética (Wright, 2006). Es utilizado para tratar la disfunción eréctil (DE),

hipertensión pulmonar y para mejorar los síntomas de la hiperplasia prostática benigna en humanos (Toque *et al.*, 2009), pero hasta la fecha no se ha evaluado su efecto en hembras gestantes o sus neonatos.

El citrato de sildenafil fármaco inhibidor de las PDE, ha sido utilizado como un agente terapéutico para contrarrestar el problema de la DE en hombres debido a su potente acción vasodilatadora. Las PDE se encuentran en la vasculatura del cuerpo cavernoso, en el sistema arterial y venas (Mehaffey *et al.*, 2010). En mamíferos se han identificado 11 tipos de PDE, las cuales se encargan de la degradación de su segundo mensajero Guanosin Monofosfato Ciclico (GMPc) o Adenosin Monofosfato Ciclico (AMPc) (Gupta *et al.*, 2005). La PDE5 es específica para degradar al GMPc y está presente en concentraciones relativamente altas en el musculo liso y cuerpo cavernoso del pene (Cotreau *et al.*, 2005). Estudios realizados en mujeres gestantes, a las cuales se les administró citrato de sildenafil, muestran un incremento en la vasodilatación de pequeñas arterias miométriales por disminución en la resistencia periférica, resultando en la mejora de la perfusión y flujo sanguíneo del sistema útero-placentario (Wareing *et al.*, 2005). Maharaj *et al.* (2009), señalaron que la presencia de PDE5 en mujeres está localizada directamente en la circulación feto-placentaria. Sánchez-Aparicio *et al.* (2007) administraron citrato de sildenafil en cobayas gestantes durante el último tercio de la gestación y concluyeron que la administración de 0.05 mg de citrato de sildenafil a cobayas gestantes resulta en un incremento del peso fetal.

Dada la importancia que se le ha brindado al Tadalafil y sildenafil como fármacos inhibidores de PDE5 en los últimos años en el área de obstetricia, se considera necesario evaluar el efecto de estos fármacos sobre el crecimiento fetal, con la finalidad de encontrar una alternativa viable para administrarse en mujeres gestantes con problemas de crecimiento fetal.

II. ANTECEDENTES

1.- *Crecimiento fetal.*

El crecimiento fetal inicia con una célula, la cual se desarrolla un ser pluricelular con órganos y tejidos. En los primeros dos tercios de la gestación el crecimiento depende del potencial genético del feto, en el último tercio de la gestación lo más importante es el aporte de elementos nutritivos a través de la función útero-placentaria y la capacidad del feto para utilizar estos nutrientes (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

El desarrollo embrionario empieza con el cigoto, denominada como la primera célula de cada nuevo ser. El cigoto se divide por mitosis hasta transformarse en mórula, blastocito y así implantarse en la mucosa uterina, es en este momento cuando el organismo creciente deja de ser embrión y se le define como feto (Goldenberg y Culhane, 2007). Un crecimiento fetal adecuado sólo es posible si desde la circulación útero-placentaria, se transfiere al feto una cantidad suficiente de gases, glucosa, oxígeno (O₂), agua y electrolitos ya que el feto es completamente dependiente de su madre en lo que se refiere a nutrición, respiración y excreción (Baschat, 2004).

Sólo a través de la placenta es posible comprender el crecimiento fetal desde su etapa de mayor cambio, mayor crecimiento y mayor especialización. Mamíferos neonatos de especies como la rata y el ser humano, presentan similitudes en el tipo de placentación (Arbay *et al.*, 1996; Singer, 1999; Galina y Valencia, 2011); por tanto, es posible realizar comparaciones cautelosas de fetos y neonatos entre estas especies.

1.1. **Formación de la placenta.**

Inicia cuando el embrión en forma de blastocito se implanta en el endometrio, formando el complejo placentario como resultado de la interacción entre los tejidos extraembrionarios y los endometriales de la madre (Sherer y Abulafia, 2001). El

primer componente embrionario que da origen a la placenta es el trofoblasto, el cual se divide en sincitiotrofoblasto (capa externa del trofoblasto) y citotrofoblasto (capa interna). El segundo componente que está ubicado entre la cavidad del blastocisto y trofoblasto se le define como mesodermo extraembrionario. El trofoblasto y mesodermo extraembrionario son tejidos unidos que forman una estructura denominada corion (Huppertz *et al.*, 2002). El corion es una membrana fetal que tiene por objetivo formar vellosidades que provean al feto ácidos grasos, fosfolípidos, hormonas, aminoácidos, lipoproteínas (Arroyo *et al.*, 2004). Battaglia y Meschia (1986), reportaron que el O₂ y la glucosa son responsables del crecimiento y del aporte de energía.

El desarrollo de las vellosidades del corion durante la vida neonatal, es vital para la comunicación útero-placentaria y el flujo sanguíneo adecuado (Orozco *et al.*, 2008), este desarrollo tiene un crecimiento exponencial y se pueden denotar tres fases (Figura 1).

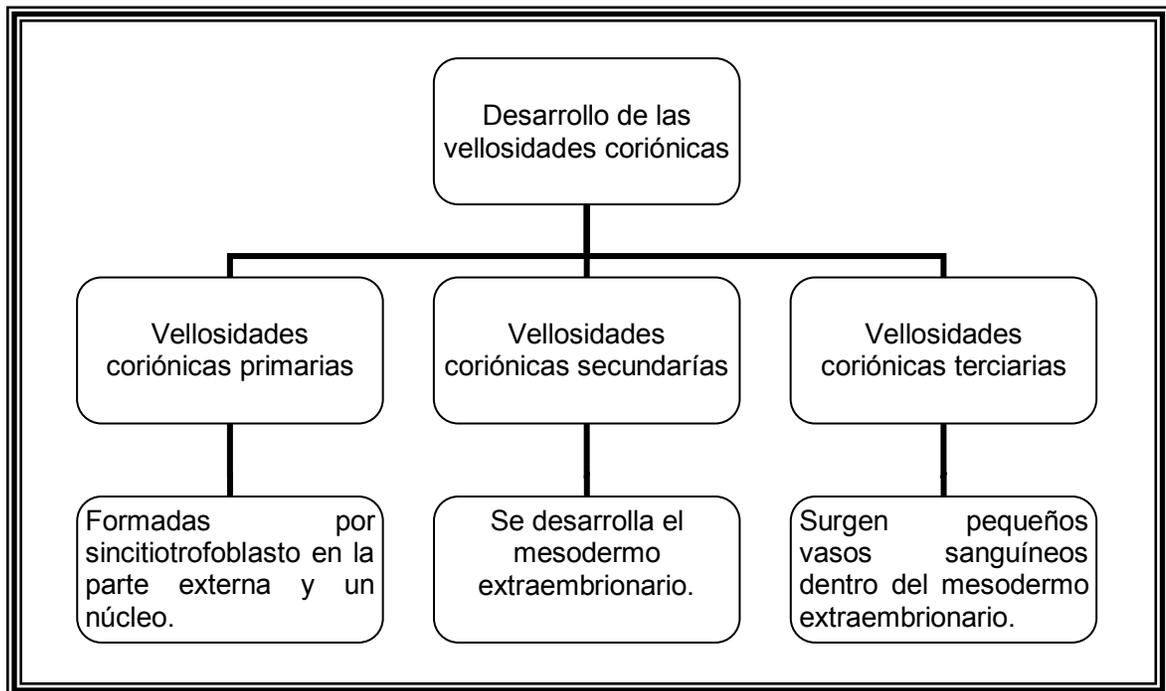


Figura 1.- Desarrollo de las vellosidades coriónicas (Demir *et al.*, 2004; Arroyo *et al.*, 2004).

El blastocito está rodeado por el trofoblasto y tiene capacidad de formar vellosidades coriales, mientras que el trofoblasto tiene la capacidad de crecer más y de ramificar sus vellosidades coriales (Goldman *et al.*, 2004). Por las características en esta región del corion se lo conoce como corion frondoso, que corresponde a la parte embrionaria de la placenta y está en contacto directo con la decidua basal, estas dos estructuras dan origen a la placenta (Schneider, 1991). La capacidad invasora de las células del trofoblasto, la proliferación y diferenciación celular placentaria así como su capacidad de adaptación a procesos patológicos son factores importantes para el desarrollo de la placenta (Huppertz *et al.*, 2002).

La estructura que está en contacto directo con la sangre materna durante la gestación es el sincitiotrofoblasto. Las vellosidades coriales se unen formando lóbulos placentarios llamados cotiledones, que se separan por estructuras derivadas de la decidua basal llamadas tabiques placentarios (Arroyo *et al.*, 2004). Entre las vellosidades y la decidua basal existen alrededor de 150 mL de sangre materna que se intercambia cada minuto, de tal manera que las arterias espirales uterinas transportan sangre materna, nutrientes y O₂ hacia las vellosidades. Estos componentes se difunden a través de la barrera placentaria y llegan a los vasos coriales por donde circula la sangre que irá de regreso hacia el embrión; de la misma manera los desechos y dióxido de carbono (CO₂) que contiene la sangre que circula por los vasos coriales, estos a su vez, son difundidos hacia la sangre materna que se encuentra por fuera de las vellosidades (Goldman *et al.*, 2004).

La placenta en humanos está conformada por miles de vellosidades coriónicas que están en contacto con la sangre materna para que se suscite el intercambio de elementos que ayuden al crecimiento fetal adecuado (Figura 2).

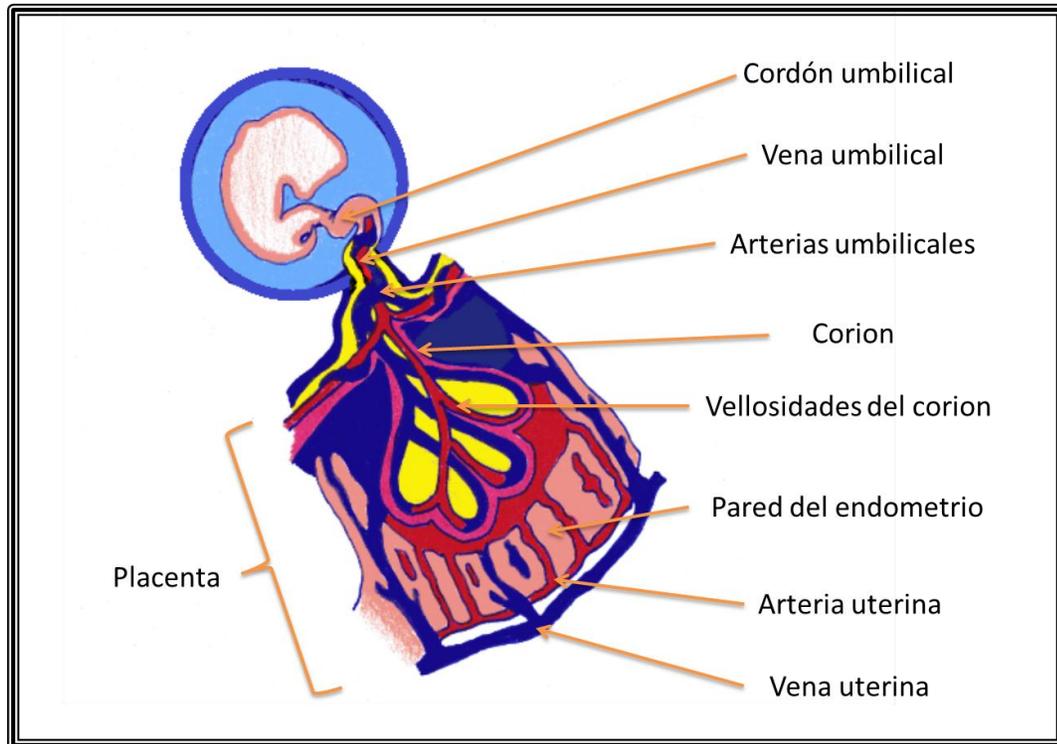


Figura 2.- Corte longitudinal de la placenta donde se aprecia una vellosidad del corion y su conexión con arterias y venas uterinas.

1.2. Circulación Fetal.

La circulación fetal difiere de la circulación extrauterina, siendo el intercambio gaseoso el que denota mayor cambio. En el periodo fetal, los pulmones no son requeridos para realizar el intercambio gaseoso ya que se encuentran colapsados y la placenta es el órgano encargado del intercambio gaseoso y nutrimental (Verburg *et al.*, 2008).

En el feto, la sangre circula en los pulmones, el cerebro y el resto del cuerpo de manera simultánea. Para asegurar este proceso, la circulación incluye derivaciones: un conducto venoso que permite el paso de sangre al hígado, el foramen oval que es una abertura entre la aurícula derecha e izquierda y el conducto arterioso que conecta la arteria pulmonar con la aorta y evita que la sangre llegue a los pulmones (Orozco *et al.*, 2008). La sangre oxigenada y con

nutrientes llega a través de la vena umbilical y la sangre con materiales de deshecho y con CO₂ viaja a la placenta a través de las 2 arterias umbilicales (Verburg *et al.*, 2008). Tanto las arterias como la vena trascurren en el cordón umbilical.

En los humanos, el aparato cardiovascular inicia su formación al final de la tercera semana de edad y es posible percibir latidos cardíacos tan temprano como a la cuarta semana de vida embrionaria. El sistema circulatorio fetal está cubierto por dos capas: una capa basal de cara al endometrio (placa trofoblástica) y una superficial de cara a la cavidad del blastocisto (placa coriónica). La placa coriónica empieza cuando el citotrofoblasto invade las trabéculas sincitiales y finalmente, se extiende a la placa trofoblástica. La sangre fetal llega a la placenta a través de la placa coriónica, las ramas más pequeñas forman redes capilares en las vellosidades coriónicas, es ahí donde ocurre el intercambio (Goldenberg y Culhane, 2007). Los capilares sanguíneos, se van consolidando en vasos venosos hasta formar la vena umbilical que lleva al feto la sangre oxigenada, con nutrientes y otras sustancias que obtiene de la sangre materna (Huppertz *et al.*, 2002; Verburg *et al.*, 2008).

Entre 80 y 100 arterias espirales del endometrio vierten la sangre en los espacios intervellosos e irrigan a las vellosidades. La sangre llega a las vellosidades con presión reducida y suficiente para transportarla al feto. La sangre venosa retorna al corazón por la vena cava superior, la vena cava inferior, el seno coronario y las venas pulmonares. De toda esta sangre, la menos oxigenada es la que proviene del cerebro y del cuerpo superior a través de la vena cava superior y del corazón a través del seno coronario. La vena cava superior garantiza que casi toda la sangre pase a través de la válvula tricuspídea (Demir *et al.*, 2004).

La angiogénesis que se lleva a cabo para dar forma al sistema circulatorio fetal requiere de una adecuada interacción de los factores de crecimiento y sus receptores, principalmente el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el

factor de crecimiento placentario que actúan a través de receptores de tirosina cinasa (Arroyo *et al.*, 2004; Demir *et al.*, 2004). Moonen *et al.* (2012) reportaron que el factor de crecimiento endotelial vascular está relacionado a la presencia de enfermedades crónicas vasculares pulmonares, retinopatías, hemorragia intraventricular y problemas renales. El feto recibe sangre oxigenada de la placenta a través de la vena umbilical, esta pasa por el sistema porta y por el conducto de arancio el cual es un vaso sanguíneo que une la vena cava con la umbilical (Figura. 3).

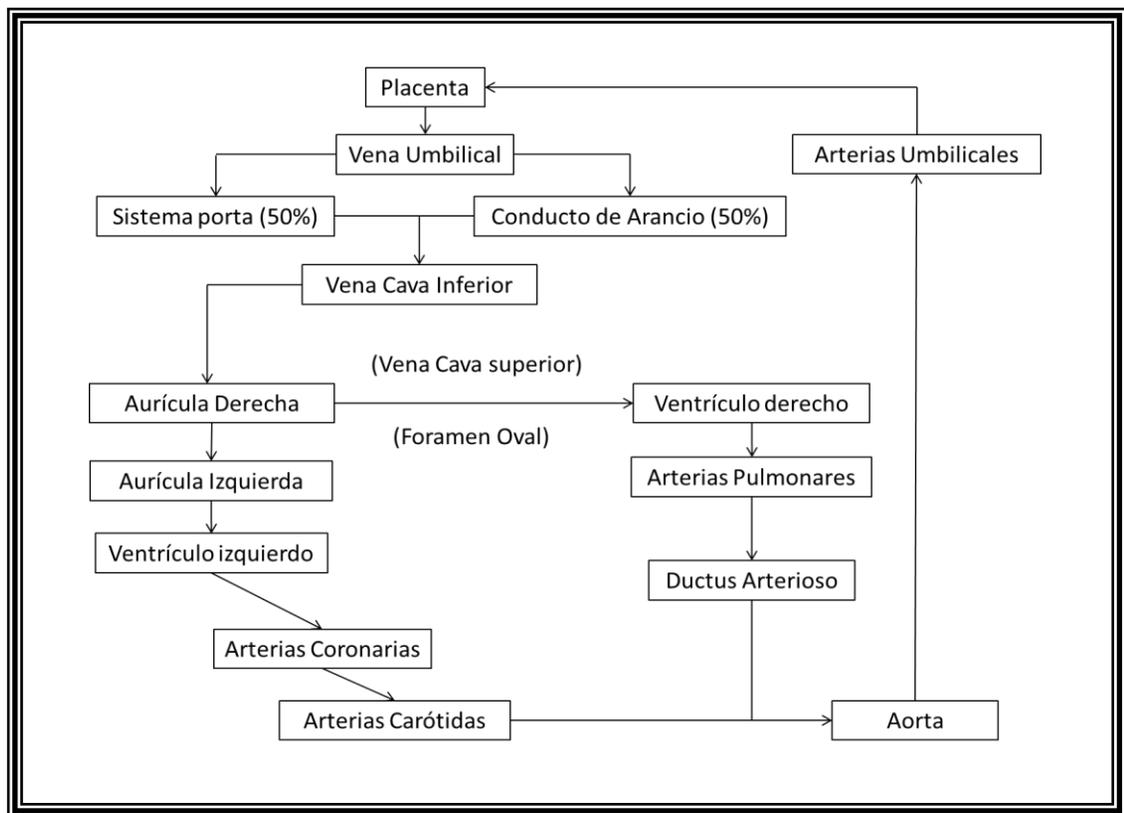


Figura. 3.- Transporte de sangre en vida fetal. La sangre proveniente de la placenta fluye por la vena umbilical, pasa al sistema porta y al conducto de arancio. Ambas derivan hacia la vena cava, quién envía la sangre a la aurícula derecha para dividir el flujo en dos direcciones. La primera circula a través del foramen oval hacia el ventrículo derecho para desembocar en la aorta. La segunda circula a la aurícula izquierda, atravesando las arterias coronarias y carótidas para desembocar en la aorta y confluir las dos vías en las arterias umbilicales y regresar a la placenta.

La mayoría de la sangre que entra, pasa a través del conducto venoso directamente en la vena cava inferior, donde la sangre rica en O₂ de la placenta se mezcla con la sangre del feto (Orozco *et al.*, 2008). La corriente mezclada de la sangre entra en la aurícula derecha y cruza la membrana interauricular a través del foramen oval al ventrículo derecho (Verburg *et al.*, 2008). En la aurícula izquierda, la sangre se mezcla otra vez con sangre pobremente oxigenada de las venas pulmonares y pasa a través del ventrículo izquierdo a la aorta. La sangre de la vena cava superior y una pequeña cantidad de sangre de la vena cava inferior es desviada en la arteria pulmonar, donde la sangre se desvía en la aorta torácica descendente a través del conducto arterial. La sangre mezclada resultante entra en la aorta, a la circulación de las vísceras y de las extremidades inferiores, alcanzando eventualmente la placenta a través de las arterias umbilicales, para la oxigenación (Orozco *et al.*, 2008).

En vida fetal, solo el 65 % de la sangre llega al corazón y transita al ventrículo derecho, el resto fluye por el ductus arterioso a la aorta descendente; de esta sangre solo la tercera parte llega al cuerpo fetal y las dos terceras partes restantes llegan a la placenta en busca de nutrientes. El ventrículo izquierdo recibe el 35 % restante del retorno venoso, de este porcentaje el 63 % de sangre es enviado al cerebro y al cuerpo superior, 8 % a las coronarias y 29 % hacia el cuerpo inferior y placenta. En fetos de mujeres gestantes el volumen de eyección de ambos ventrículos es cercano a 400 mL/kg/minuto, lo que equivale a la salida de cada ventrículo en un neonato. El flujo sanguíneo fetal humano es menor al documentado en otras especies con placentación similar, ya que la capacidad de transporte de O₂ es mucho mayor en la sangre fetal humana y el consumo de O₂ es menor (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

El flujo sanguíneo uterino y umbilical dentro de la placenta, representa la circulación de la madre y del feto, respectivamente (Ramsey, 1982; Mossman, 1987; Michel, 2006). Los autores Reynolds y Redmer (1995; 2001); Magness (1998; *et al.*, 2001) mencionaron que conforme avanza la gestación, el flujo

sanguíneo aumenta significativamente, manteniendo un ritmo durante el crecimiento fetal. Sin embargo, en la última mitad de la gestación en los humanos al aumentar la velocidad en el flujo sanguíneo la resistencia disminuye con una correlación positiva (Gadelha Da Costa *et al.*, 2005).

1.3. Placentación en humano y roedor

La placenta puede ser clasificada de acuerdo a la posición que ocupa el embrión, a la morfología o a su histología. Considerando la posición del embrión, en los primates incluyendo al humano y roedores se puede clasificar en: placentación intersticial, ya que el embrión invade completamente la mucosa uterina perdiendo todo contacto con el lumen (Galina y Valencia, 2011). De acuerdo a su morfología, es de tipo discoidal, donde la placenta forma un disco oval en el corioalantoides para unirse al endometrio. Por su histología, la placenta es de tipo hemocorial en ambas especies, está constituida por tres capas histológicas en las que se pierde el endotelio de los vasos maternos y la sangre materna se extravasa para que las vellosidades del corion estén en contacto directo con la sangre materna (Verburg *et al.*, 2008). La placenta presenta una organización progresiva y funcional, que de manera armónica se adapta a las necesidades del desarrollo de los compartimientos materno-fetales (Goldenberg y Culhane, 2007).

Las sustancias que pasan desde la sangre materna hacia la circulación fetal son el O₂, agua, electrolitos, vitaminas, hormonas, anticuerpos, fármacos y sustancias tóxicas. El intercambio o transporte en ambos sentidos (madre-feto/feto-madre) es la función más relevante de la placenta, la cual utiliza los mecanismos de las membranas celulares: difusión simple, difusión facilitada, transporte activo y endocitosis. Existen factores únicos de la membrana placentaria que influyen en el transporte. Por ejemplo, la superficie de intercambio que aumenta progresivamente a medida que avanza la edad gestacional (Goldenberg y Culhane, 2007). La magnitud de la superficie de las vellosidades coriales se

correlaciona con la superficie de los capilares placentarios que puede considerarse como la superficie real de intercambio, es decir a mayor superficie mayor flujo sanguíneo. Pero a medida que la gestación avanza, ambas circulaciones se aproximan progresivamente. Al término del embarazo, están separadas por una sola capa de células sincitiales y endotelio vascular (Galina y Valencia, 2011).

1.3.1. Transporte de oxígeno, agua y electrolitos.

El O₂, que se encuentra disuelto en la sangre materna pasa por difusión simple guiado por un gradiente de presión de O₂ entre la sangre materna y la fetal, esto significa que la presión parcial de O₂ en la sangre materna es mayor a la presión de la sangre fetal (Verburg *et al.*, 2008). Una interrupción del flujo sanguíneo por breve que sea, reducirá el suministro de O₂ y puede afectar su crecimiento intrauterino e incluso ser letal para el feto.

El agua se intercambia de forma libre y rápida, los electrolitos como Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ necesitan bombas que gastan adenosin trifosfato para su transporte. Las vitaminas atraviesan la barrera placentaria y lo hacen más rápido las que son hidrosolubles. El transporte de glucosa de la madre hacia el feto se lleva a cabo por difusión facilitada y es la principal fuente de energía del feto (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

1.3.2. Transporte de anticuerpos.

Los anticuerpos son de naturaleza proteica y pueden atravesar la barrera placentaria, son captados por receptores y transferidos a la circulación fetal, principalmente la inmunoglobulina G (IgG), favoreciendo en el feto la adquisición de inmunidad para algunos microorganismos (Gardosi *et al.*, 2013). Los macrófagos placentarios o células de Hofbauer, son componentes microscópicos de la placenta que se encuentran entre el mesodermo extraembrionario. Se les han atribuido algunas funciones como células de la inmunidad embrionaria y como reguladores de la respuesta inmune materna para evitar que la madre ataque al embrión como cuerpo extraño (Singer, 1999).

1.4. Generalidades.

La placenta es fundamental en el crecimiento y desarrollo fetal, de tal forma que las alteraciones que tienen lugar en ésta se correlacionan con problemas fetales y en su mayoría con pobre crecimiento. Los procesos normales por los cuales cursa el sistema circulatorio fetal permiten comprender y analizar los cambios fisiológicos y morfológicos a los cuales se ve sometido el neonato durante la vida intrauterina. La placenta provee al feto de elementos tales como ácido grasos, fosfolípidos, hormonas, aminoácidos, glucosa y O₂. Hathcock (2003), con ayuda de modelos animales mencionó, que si se disminuye bruscamente el flujo placentario en más del 50 % en el lado materno o fetal, disminuye la captación de O₂ en el feto y por ende comienza a sufrir problemas de crecimiento intrauterino.

Las características placentarias tales como el área de superficie de intercambio, los niveles de flujo sanguíneo, la permeabilidad de la urea y la capacidad de transferencia de la glucosa continua incrementándose hasta el final de la gestación, por lo cual el tamaño y función placentaria son los factores más importantes del crecimiento fetal. Se ha comprobado que después de una inadecuada comunicación útero-placentaria, el feto corre riesgo de muerte (Figueras y Gardosi, 2010; Gardosi *et al.*, 2013). Siendo necesarias nuevas investigaciones que permitan esclarecer los problemas de crecimiento fetal.

Solo el entendimiento de la fisiología placentaria permite la comprensión de la dinámica sanguínea fetal y sienta la base científica para el uso responsable de pruebas diagnósticas e Intervenciones farmacológicas con fines terapéuticos que permitan contrarrestar los problemas de crecimiento intrauterino.

2. Fármacos inhibidores de las Fosfodiesterasas.

2.1. Fosfodiesterasas

Las fosfodiesterasas son enzimas que inactivan al adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y guanosin monofosfato cíclico (GMPc), los segundos mensajeros del Óxido Nítrico (ON). Una variedad de procesos fisiológicos en el sistema cardiovascular están controlados por la ruta de señalización ON /GMP_c (Ignarro, 2002; Sánchez Aparicio, 2008). Dichas enzimas están distribuidas en el organismo, tienen diferente acción y afinidad de sustratos. El GMPc Intracelular se inactiva rápidamente a GMP por la actividad de PDE (Maurice *et al.*, 2003).

En los mamíferos, las enzimas PDE se clasifican en 11 familias, iniciando por la PDE1 y acabando con la-PDE11 (Cuadro 1). La clasificación se basa en: secuencias de aminoácidos, propiedades reguladoras, propiedades farmacológicas y en su distribución tisular. Funcionalmente diferentes PDE de la misma familia están relacionados y pueden tener diferentes especificidades de sustrato. Algunas son hidrolasas selectivas de AMPc, otras son GMPc selectivas y otras pueden hidrolizar AMPc y GMPc (Mehrotra *et al.*, 2007). La nomenclatura de la familia PDE se indica mediante un número arábigo que es seguido por una letra mayúscula para denotar el gen de la familia. Un segundo número arábigo indica la variante del receptor derivado de un solo gen (por ejemplo, PDE1C3 = familia: 1, gen: C, variante del receptor: 3). Las PDE regulan la duración, y la amplitud de nucleótidos cíclicos dentro de los dominios de señalización celular.

Cuadro 1.- Familia de las Fosfodiesterasas en Mamíferos.

PDE	Numero de isoformas	Actúa a nivel de segundo mensajeros	Órganos involucrados
1	8	Estimula calmodulina Ca +2	Corazón, Cerebro, Pulmón y Musculo liso
2		Estimula GMPc	Glándula adrenal, Corazón, Pulmón e hígado
3	4	Inhibe GMPc Especifico AMPc	Corazón, Pulmón, Tejido Adiposo Células de la inflamación
4	20	Especifico AMPc	Células de Sertoli, Pulmón, Riñón, Hígado, Cerebro y Células de la inflamación
5	3	Especifico GMPc	Pulmón, Musculo liso
6		Especifico GMPc Especifico AMPc	
7	3	Especifico AMPc	Musculo esquelético, Corazón, Riñón, Cerebro, Páncreas y linfocitos T
8		Selectivo AMPc	Ojo, Hígado, Musculo esquelético, corazón, Riñón, Ovario y Cerebro
9	4	Especifico GMPc Especifico AMPc	Riñón Hígado, Pulmón y Cerebro
10	2	Selectivo AMPc	Cerebro
11	2	Especifico GMPc	Musculo esquelético, Próstata, Riñón, Hígado y Glándula Pituitaria

Adaptado de Mehrotra *et al.*, 2007.

Los inhibidores de PDE5 tienen un volumen de distribución que excede el total de volumen de agua corporal, lo que indica una distribución en los tejidos y, posiblemente su unión a proteínas plasmáticas (Sussman, 2004). Son eficaces en el tratamiento de la DE sola o asociada con enfermedad vascular. La DE consiste en la incapacidad para lograr o mantener la erección del pene suficiente para tener rendimiento sexual satisfactorio (Yuan *et al.*, 2013). Algunos medicamentos desarrollados para el tratamiento de DE como el citrato de sildenafil o tadalafil tienen efectos hemodinámicos en sujetos sanos. Kloner *et al.* (2001) reportaron que el sildenafil es eficaz en el tratamiento de la DE en hombres hipertensos.

Los fármacos inhibidores de PDE5 bloquean esta enzima y previene la degradación del GMPc resultando en la relajación de músculo liso en el cuerpo cavernoso, aumento del flujo sanguíneo y erección. El fármaco produce efectos similares en las arterias miométriales. La vía principal de eliminación de la PDE5 es el metabolismo hepático, con excreción renal. El sildenafil se excreta principalmente como metabolitos en las heces (73-88 %) y en menor medida en la orina (6-15 %). En tanto, el tadalafil se excreta principalmente como metabolitos inactivos después de la administración oral principalmente en las heces (61 %) y en la orina 36 % (Mehrotra *et al.*, 2007). Las diferencias en la farmacocinética y la farmacodinamia de los inhibidores de la PDE5 dan lugar a propiedades específicas de interés para su perfil de riesgo-beneficio y uso clínico, así como requisitos diferenciales para ajustar la dosis en interacciones medicamentosas en poblaciones especiales (Gupta *et al.*, 2005). Rosen y Kostis (2003), confirmaron que la inhibición de las PDE5 relaja el músculo liso por el aumento de GMPc y tiene una íntima relación con la liberación de ON.

2.3. Óxido Nítrico

Es conocido que el óxido nítrico (ON) está involucrado en una variedad de procesos fisiológicos (Norman *et al.*, 1999). Actúa en el sistema nervioso central y periférico siendo un mediador importante de interacciones paracrinas, en especial

en el sistema vascular. Este es un poderoso inhibidor de agregación plaquetaria y un potente vasodilatador (Cameron y Campbell, 1998). La variedad en las funciones del ON se reduce a la presencia de componentes que generan aniones de superóxido como la xantina y xantina oxidasa, y su acción se potencializa por el superóxido dismutasa (SOD) enzima distribuida a lo largo del sistema que inactiva los aniones de superóxido (Cameron y Campbell, 1998; Sánchez-Aparicio, 2007).

Enzimas generadas a partir del ON como lo son la sintasa del óxido nítrico (SON) han sido identificadas en el endometrio de un cierto número de especies, sugiriendo que el ON puede estar involucrado en algunas funciones endometriales como lo es el control local del endometrio (Cameron y Campbell, 1998). Isoformas del ON, ONS_i (inducible) y ONS_e (endotelial) han sido identificadas en el endotelio vascular del endometrio y miometrio humano (Norman *et al.*, 1999; Sher y Fisch, 2000). Tres isoformas de NOS; NOS_e y NOS_n (neuronal), ambas dependientes del calcio y de enzimas las cuales están expresadas constitutivamente han sido descritas en tejido miometrial (Norman *et al.*, 1999), su expresión en el endometrio fue descrita originalmente como enzimas constitutivas generadoras de pequeñas cantidades de ON para neurotransmitir y mantener el tono vascular (Cameron y Campbell, 1998). Mientras que la enzima ONS_i es independiente del calcio, cuya expresión puede ser inducida en diversas células por varias citocinasas (Norman *et al.*, 1999).

Una variedad de vías de señalamiento y moléculas que intervienen para mantener la contractilidad uterina durante la gestación y hasta su finalización han sido estudiadas, incluyendo el ON, GMP_c , y canales iónicos en miometrio de humanos y ratas (Khan *et al.*, 2004). Schmidt *et al.* (1992), sugieren que el ON está involucrado en la relajación miometrial como efecto del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (*cgrp*). El ON derivado del endometrio puede contribuir en el control local de la contractilidad miometrial. Sin embargo, el ON derivado del endometrio también puede suprimir la contractilidad miometrial. Por lo tanto, existe interés sobre la parte en que el ON puede mantener la relajación miometrial

durante la gestación, sugiriendo la administración de donadores de ON como una propuesta terapéutica para el tratamiento durante el trabajo de parto (Cameron y Campbell, 1998).

2.4. Tadalafil

Tadalafil, forma parte de una clase de medicamentos llamados de especificidad a la PDE5 es decir es un inhibidor selectivo de la PDE5, se utiliza principalmente para tratar la DE, hipertensión pulmonar y mejorar los síntomas de la hiperplasia prostática benigna en humanos (Croxtall y Lyseng-Williamson, 2010). Fue aprobado en 2003 por la FDA para el tratamiento de la DE, con la siguiente fórmula química: (6R-trans) -6- (1,3-benzodioxol-5-il) - 2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahidro-2-metil-pirazino 1',2':1,6] pirido [3,4-b]indole-1,4-diona. Su peso molecular es de 389.4 g/mol; tiene efectos farmacológicos similares al citrato de sildenafil a nivel hemodinámico, pulmonar, hematológico y en cuerpo cavernoso. La presentación comercial es en comprimidos de 5 y 20 mg con una capa entero gástrica, constituida de lactosa monohidratada, hipromelosa, triacetina, dióxido de titanio y óxido de hierro amarillo. La vía de administración recomendada es la vía oral (Pickering *et al.*, 2002).

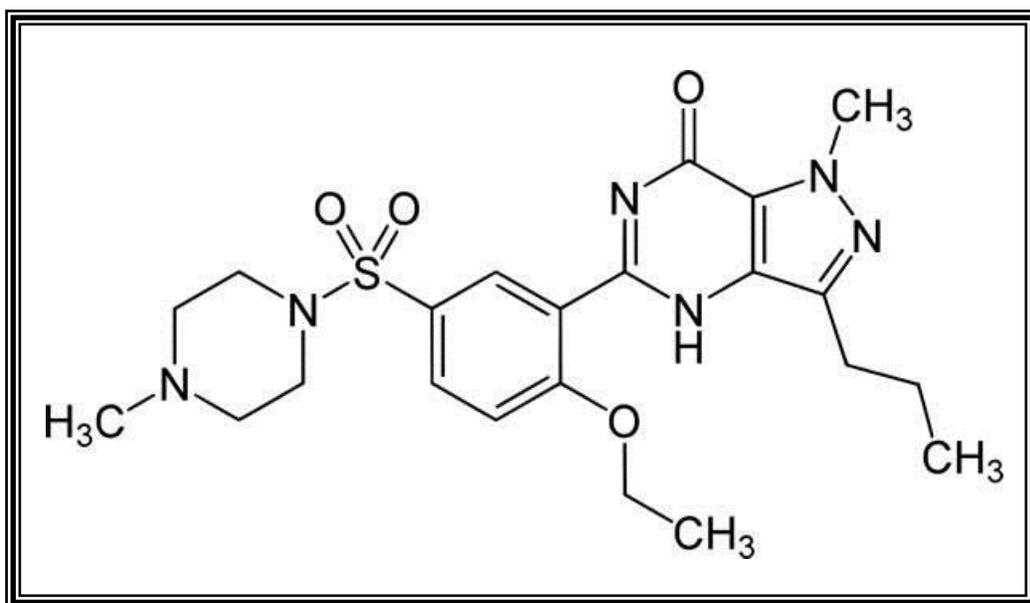


Figura 4.-Fórmula química del sildenafil.

La PDE5 es encontrada en el cuerpo cavernoso del músculo liso, el músculo liso vascular y visceral, esquelético muscular, plaquetas, riñón, pulmón, cerebelo, y el páncreas (Yuan *et al.*, 2013). En estudios *in vitro* han demostrado que el efecto de tadalafil es más potente sobre la PDE5 que sobre otras fosfodiesterasas. Siendo el tadalafil > 10 000 veces más potente para la PDE5 que para PDE1, PDE2, PDE4 y PDE7 en humanos. Las enzimas se encuentran en el corazón, cerebro, vasos sanguíneos, hígado, leucocitos, músculo esquelético, y otros órganos (Mehrotra *et al.*, 2007). Tadalafil es 10.000 veces más potente para la PDE5 que para la PDE3, una enzima que se encuentra en el corazón y los vasos sanguíneos. Tadalafil es 700 veces más potente para la PDE5 que para la PDE6, que se encuentra en la retina y es responsable de la fototransducción. Tadalafil es > 9000 veces más potente para la PDE5 que para PDE8, PDE9 y PDE10. Tadalafil es 14 veces más potente para la PDE5 que para la PDE11. El papel fisiológico y clínico consecuencia de la inhibición de la PDE11 en los seres humanos aún no se han definido (Croxtall y Lyseng-Williamson, 2010).

El tadalafil, inhibidor PDE5, aumenta los niveles de GMPc y por lo tanto aumenta el ON generando una vasodilatación, se absorbe rápidamente por vía oral y la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) se alcanza en un tiempo promedio de 2 h. La velocidad y tasa de absorción del tadalafil no están influidos por la ingesta de alimentos (Croxtall y Lyseng-Williamson, 2010). El volumen de distribución medio es de aproximadamente 63 L, se distribuye ampliamente en los tejidos. A concentraciones terapéuticas, el 94 % del tadalafil en plasma se encuentra unido a proteínas. El principal metabolito circulante es el glucurónido de metilcatecol. Este metabolito es al menos 13,000 veces menos selectivo que tadalafil para la PDE5. Por consiguiente, no se espera que sea clínicamente activo a las concentraciones observadas. La depuración promedio de tadalafil es de 2.5 L/h y su vida media es de 17.5 h. El tadalafil tiene un tiempo máximo de acción (t_{max}) de aproximadamente 2 h y un tiempo de inicio de 30 a 120 min después de la dosis, iniciando 16 min después de la dosificación (Eardley *et al.*, 2002). Algunos investigadores (Carson y Lue, 2005; Pickering *et al.*, 2002) han demostrado su

eficacia 36 h después de su administración. Se excreta predominantemente en forma de metabolitos inactivos, principalmente en heces (aproximadamente 61 %) y en menor grado en la orina (aproximadamente el 36 %).

Un estudio realizado en pacientes geriátricos con insuficiencia renal crónica, insuficiencia hepática y diabetes no mostro modificaciones en la farmacocinética del tadalafil. El tadalafil es principalmente metabolizado en hígado por el citocromo P450 y CYP34A. Fármacos inhibidores del citocromo P450 y CYP34A como el ketoconazol aumenta el efecto de fármacos como el tadalafil (Croxtall y Lyseng-Williamson, 2010).

2.4.1. Uso de tadalafil en modelos animales y mujeres gestantes

Desde la introducción del tadalafil en el 2003, este ha sido usado ampliamente en el tratamiento de la disfunción eréctil (DE) (Croxtall y Lyseng-Williamson, 2010). Recientemente nuevas líneas de investigación han surgido en torno a este fármaco, basándose principalmente en urología y en medicina cardiovascular, pero hasta la fecha no se han realizado estudios que relacionen el fármaco con aspectos de crecimiento fetal. Gardosi *et al.* (2013) demostraron que existen varios factores de riesgo relacionados a la presencia de mortinatos en el embarazo, el factor más importante y común es la restricción del crecimiento fetal, por lo que es necesario incrementar los esfuerzos para la prevención de este problema.

Una variedad de procesos fisiológicos en el sistema cardiovascular están controlados por la ruta de señalización ON/GMPc (Ignarro, 2002). Cremers *et al.* (2003) determinaron que el uso de tadalafil en humanos amplifica la vaso relajación inducida por el ON en los vasos sanguíneos y provoca la dilatación de las arterias coronarias cuando se administra a pacientes con enfermedad de la arteria coronaria. En voluntarios sanos, el tadalafil se asocia con una disminución de 0.2/4.6 mm Hg en la presión arterial sistólica de personas con un aumento en la

frecuencia cardíaca 0 a 5 latidos por minuto (Kloner *et al.*, 2003). Al examinar las propiedades vasodilatadores del tadalafil, Cleber *et al.* (2005) demostraron que logra relajar potentemente la aorta aislada de rata y que el efecto depende directamente de mecanismos de participación del ON. Estos hallazgos corroboran los informes donde la relajación vascular mediada por el tadalafil está relacionada con la ruta ON/GMPc. Existe esta vaso relajación en la aorta de la rata (Sussman, 2004), en el conducto arterioso de conejo (Montorsi *et al.*, 2004), en arterias intrapulmonares de rata (Andersen *et al.*, 2005) y en la arteria basilar de cobaya (Cleber *et al.*, 2005).

Toque *et al.* (2009) reportaron el uso de tadalafil en un estudio detallado de un análisis comparativo de las propiedades farmacológicas en el músculo coxígeo de la rata, los resultados demuestran que la inhibición de las PDE5 tiene acción en la relajación del musculo coxígeo producido por el aumento de GMPc y tiene una íntima relación con la liberación de ON. Tadalafil está aprobado para el tratamiento de pacientes con hipertensión pulmonar, la cual es una enfermedad que abarca un grupo heterogéneo de padecimientos que se caracterizan por remodelación vascular, como resultado de la vasoconstricción, la proliferación celular, la trombosis y obstrucción luminal. Croxtall y Lyseng-Williamson (2010) han demostrado que 40 mg de tadalafil administrados vía oral una vez al día resulta ser eficaz en la mejora de pacientes con problemas de hipertensión pulmonar. Se realizó una investigación en un modelo animal recién nacido con hipertensión pulmonar aguda al cual se le administro tadalafil vía oral y resulto en la reducción de la resistencia vascular pulmonar y aumento en la oxigenación arterial mediante el aumento del gasto cardíaco (Mehaffey *et al.*, 2010).

Guzeloglu *et al.* (2013) administraron tadalafil en conejos para tratar la hiperplasia neointima, enfermedad que se caracteriza por la respuesta al daño arterial causado por intervenciones terapéuticas y es un factor principal en la patogenia de la restenosis, que se produce después de la arteriosclerosis, daño vascular y angioplastia. Los resultandos señalan que después de la

revascularización, se inhibe la proliferación neointimal debido al aumento de la permeabilidad vascular lo que ayuda a prevenir la hiperplasia neointima.

El tadalafil aún no se ha estudiado como un agente terapéutico para problemas relacionados con las mujeres gestantes. Sin embargo, Downing *et al.* (2004) proponen que, la inhibición de PDE5 en la preeclampsia dilata las arterias espirales y arterias umbilicales mejorando la comunicación sanguínea y postulan al tadalafil como un potente agente terapéutico para tratar problemas de preeclampsia en mujeres gestantes. La patogénesis de la preeclampsia se deriva de cambios aberrantes en la interface placentaria. La invasión trofoblástica endovascular a las arterias espirales los convierten en conductos pasivos. Lo que causa Insuficiencia útero-placentaria y feto-placentaria resultando en problemas de crecimiento fetal (Roberts, 2000). La información que se tiene de este problema aun es inconclusa (Karasu *et al.*, 2011).

Existe un interés significativo en el tadalafil como fármaco inhibidor de las PDE5 que se refleja en un relevante número de publicaciones. Sin embargo, el interés se ha centrado exclusivamente en problemas a nivel de urología (DE) y en medicina cardiovascular. Los hallazgos derivados de estas investigaciones, nos hacen pensar en la utilización del tadalafil como un potente agente terapéutico en problemas relacionados con restricción de crecimiento fetal. Por lo cual, es necesario realizar investigaciones en las que se consideren los efectos vasodilatadores de este fármaco y su contribución en el desarrollo fetal. Este tipo de caracterización será importante a fin de realizar determinaciones que sirvan como pauta para realizar experimentos posteriores en modelos animales de ratas tratadas con fármacos vasodilatadores y su posterior aplicación en el área de perinatología humana.

2.5. Citrato de sildenafil.

La fórmula química del citrato de sildenafil es 1-[[3-(6,7-dihidro-1-metil-7-oxo-3-propil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidin-5-yl)-4-etoxifenil]sulfoni]-4-citrato de metilpiperazina, cuyo peso molecular es de 666,7. Es conocido como sildenafil o sildenafil, caracterizado por ser un potente inhibidor competitivo de la PDE5. El citrato de sildenafil (Viagra®) está indicado para el tratamiento de la DE (Khan *et al.*, 2004; Hernández-González *et al.*, 2006; Sánchez-Aparicio, 2008).

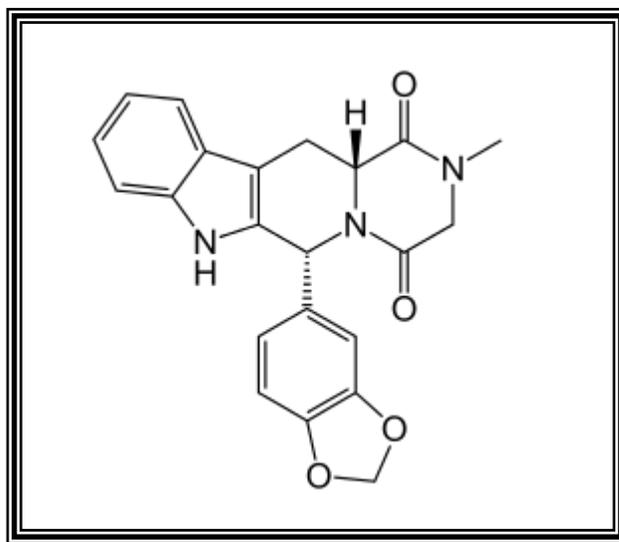


Figura 5.-Formula química del tadalafil

Los programas de investigación del sildenafil comenzaron en 1985 intentando su aprobación como el primer tratamiento oral para la DE del hombre. El objetivo del proyecto inicial fue el diseño y síntesis de inhibidores de PDE que pudieran incrementar los niveles tisulares de GMPc, y ser de utilidad para el tratamiento en padecimientos cardiovasculares. Los programas de investigación que condujeron al descubrimiento del sildenafil, fueron creados por el interés de crear un factor natriuretico atrial (FNA), un péptido endógeno con propiedades vasodilatadoras y natriuréticas que ejercen su papel fisiológico por la estimulación de la guanilato ciclasa para incrementar los niveles tisulares de GMPc a través de éste segundo mensajero degradado rápidamente por una PDE específica (Campbell, 2000). La PDE es familia de las isoenzimas que hidrolizan al AMPc y GMPc. Se ha

identificado que Inhibidores específicos de subtipos PDE pueden aumentar los efectos de nucleótidos cíclicos en tejidos blanco (Sher y Fisch, 2000; Muirhead *et al.*, 2002) Estudios *in vitro* han demostrado que el efecto del sildenafil es más potente sobre la PDE5 que sobre otras fosfodiesterasas conocidas (> 80 veces para la PDE1 y > 1,000 veces sobre las PDE2, PDE3 y PDE4). La selectividad aproximadamente 4,000 veces mayor para la PDE5 en comparación con la PDE3 estos indicadores son importantes, debido a que la PDE participa en el control de la contractilidad cardiaca (PLM, 2009) Tras la administración oral, el sildenafil se absorbe rápidamente, alcanzando la $C_{m\acute{a}x}$ en 1 h (rango: 0,5 a 2 h) en ayuno. El tiempo de inicio de la acción generalmente es de ½ a 2 h después de su administración. Mehrotra *et al.* (2007) reportaron tiempos de activación de 11 min después de la dosis. Su biodisponibilidad oral es del 41 %. El área bajo la curva y $C_{m\acute{a}x}$ aumentan proporcionalmente con dosis habituales (25 a 100 mg). El volumen de distribución es de 105 L. El grado de unión a las proteínas de sildenafil y su metabolito circulante es del 96 %. Se metaboliza mayoritariamente en el hígado, principalmente por las isoenzimas hepáticas CYP3A4, originando, entre otros, el derivado N-desmetilo de sildenafil, metabolito con similar selectividad sobre PDE que sildenafil con la mitad de potencia. Las concentraciones plasmáticas de este metabolito son del 40 % que las observadas con sildenafil. Se excreta mayoritariamente metabolizado en las heces (80 %), y en menor medida con la orina (13 %).

2.5.1. Uso de citrato de sildenafil en modelos animales y mujeres gestantes

Desde la introducción del sildenafil en 1997 y hasta el 2000 no se había evaluado su efecto en mujeres (Sher y Fisch, 2000). Aunque el viagra es una droga bien establecida para el tratamiento de DE, este es efectivo cuando se aplica de forma terapéutica en mujeres post-menopáusicas con disfunción sexual (Zoma *et al.*, 2001).

El citrato de sildenafil a altas concentraciones activa la relajación del miometrio en mujeres embarazadas, esto incrementa la posibilidad de que el citrato de sildenafil o moléculas relacionadas puedan tener un futuro promisorio por su potente aplicación tocolítica (Khan *et al.*, 2004). Se ha observado que el citrato de sildenafil potencializa el efecto de vasodilatación de los nitratos (Zoma *et al.*, 2004). La sal citrato de sildenafil puede favorecer el aumento del peso fetal por el incremento del flujo sanguíneo útero-placentario debido a su potente acción tocolítica. En un reporte preliminar Sher y Fisch (2000), describen el uso del sildenafil para mejorar el flujo sanguíneo de la arteria uterina y la apariencia sonográfica endometrial en cuatro pacientes (mujeres) con repeticiones de reproducción cíclica asistida no exitosa debido a una pobre respuesta endometrial. Encontrando que el sildenafil vaginal puede ser efectivo, mejorando el flujo de sangre en la arteria uterina y el desarrollo endometrial en pacientes con fertilización *in vitro* con pobre respuesta del endometrio.

La aplicación del sildenafil ha iniciado nuevas líneas de investigación en cuanto a su uso, p.e. gestaciones exitosas en estudios con fertilización *in vitro*. Agha y Taha (2001) realizaron un experimento *in vitro* en el que obtuvieron un tejido uterino de rata al cual se le había administrado sildenafil y reportaron un aumento en las concentraciones de progesterona, prostaglandinas y acetil colina. Khan *et al.* (2004) realizaron experimentos *in vitro* con tejido de útero humano al cual se le administro sildenafil y concluyeron que, la relajación del miometrio ocurre probablemente independiente de GMPc. Wareing *et al.* (2005) utilizaron pequeñas arterias obtenidas en el parto por cesárea de biopsias de miometrio de mujeres sanas y las mujeres con restricción de crecimiento fetal y de manera *in vitro* se les administro el sildenafil, resultando en una menor vasoconstricción del tejido. En resumen ésta puede ser la labor del sildenafil en el tratamiento de disfunción sexual en la hembra (Cuadro 2).

El sildenafil se ha administrado a modelos animales, Zoma *et al.* (2001) realizaron un estudio con 5 ovejas ovariectomizadas no gestantes a las cuales se

les administro 50 mg de sildenafil observándose un incremento en el flujo sanguíneo uterino. Investigaciones demuestran que la administración de sildenafil a diferentes dosis en ratas no gestantes durante 10 días, no demuestran cambios en los pesos de los órganos ni se encuentran malformaciones en la histopatología de los ovarios, en ratas gestantes no se encontró ningún tipo de teratogenia ni toxicidad al fármaco, la conducta de los animales no se vio afectada (Abbott *et al.*, 2004). Buhimschi *et al.* (2004) concluyen en su trabajo que una dosis de sildenafil en ratas gestantes durante el pre parto genera una reducción de la presión intrauterina.

Cuadro 2.- Efectos reproductivos *In vitro* relacionados con el sildenafil.

Investigador	Modelo experimental	Dosis	Duración del tratamiento	Efecto
Agha y taha 2001	Tejido uterino fue obtenido de cada cuerno uterino de un número indeterminado de ratas. Cada evaluación consistió en 4 experimentos	30 and 100nM	Periodo de incubacion: 15min	Un desfase a la derecha de las curvas de concentración-respuesta no acumulativas de PGE2 oxitocina y Ach fue observed.Pre-incubación de tiras uterinas con azul de metileno reduce los efectos del sildenafil sobre la oxitocina y la ACh contracciones evocados
Khan <i>et al.</i> 2004	Muestras de miometrio de mujeres que se sometieron a cesárea a las 39-42 semanas de gestación. Número de tiras de tejido evaluados varió de 4 a 12	10 nmo1/1to 1 mmo1/1	Sildenafil cada 30 min	La relajación del miometrio ocurre probablemente independiente de GMPC, pero dependiente de los canales de K +
Wareing <i>et al.</i> 2005	Arterias pequeñas obtenidas mediante biopsia de miometrio de mujeres gestantes sanas y mujeres gestantes con problemas de restricción de crecimiento fetal	0, 10 and 100 nmo1/1	Periodo de incubacion:1h	Vasodilatación de las pequeñas arterias del miometrio de mujeres sanas y con problemas de restricción fetal

Fuente. Sánchez-Aparicio *et al.*, 2007

Belik (2005) informa que la administración de sildenafil en ratas gestantes conlleva fetos con mayor ganancia de peso en comparación de fetos de ratas no tratadas con sildenafil. Refuerzo *et al.* (2006) utilizaron ratas hipoxicas a las cuales se le administro sildenafil a una sola dosis, los resultados reportados indican un aumento de tamaño en los fetos de ratas hipoxicas tratadas con sildenafil en comparación con fetos de ratas hipoxicas no tratadas. Sánchez-Aparicio *et al.* (2007) trabajaron con el sildenafil a dos diferentes dosis, administrándolo en cobayas gestantes resultando en que la dosi baja favorece tolerabilidad de asfixia

fetal durante el parto inducido y las dosis altas generaron un aumento en el peso fetal. Pellicer *et al.* (2011) concluyen en su trabajo que el uso de sildenafil en ratas gestantes aumenta el flujo sanguíneo fetal y esto genera un aumento de peso en los fetos, en la placenta y no aumenta el número de muertes perinatales (cuadro 3).

Cuadro 3.- Efectos reproductivos del sildenafil evaluados in vivo con modelos experimentales

Investigador	Modelo experimental	Dosis	Duración del tratamiento	Efecto
Zoma <i>et al.</i> 2001	5 ovejitas ovariectomizadas no gestantes	50 mg	Una dosis	Incremento en el flujo uterino
	Ratas		10 días	
		50, 150 y 500 mg/Kg		No hay cambios en el peso de los órganos y la histopatología de los ovarios
	Perros	10, 45 y 200 mg/kg 3, 12 y 60 mg/kg 10, 30 y 80 mg/kg 5, 20 y 80 mg/kg 3, 25 y 80 mg/kg	1 meses 6 meses 10 meses 1 meses 6 meses	No especifica
Abbott <i>et al.</i> 2004*	Ratas gestantes	menor de 50 mg/kg	No especifica	No se observaron efectos relacionados con el tratamiento sobre la conducta de apareamiento, el éxito del embarazo u otros parámetros reproductivos
	Embrión de rata/ Toxicidad fetal	3, 10 y 50 mg/kg	Durante la organogénesis	Toxicidad materna leve o mínima registrada en la dosis máxima. No toxicidad fetal registrado
	Embrión de conejo/ Toxicidad fetal	10, 50 y 200 mg/kg	Durante la organogénesis	No especifica
Buhimschi <i>et al.</i> 2004	Dos grupos de 7 y 6 ratas, respectivamente	Dosis acumuladas de (0,005, 0,05, 0,5, 5 mg/kg)	Durante pre-parto y parto	Reducción de la presión intrauterina en principio del parto y pre-parto a 0,5 mg / kg
Belik 2005*	Ratas	?	Vía oral a partir del día 17 de la gestación	Un aumento en la ganancia de peso fetal
Refuerzo <i>et al.</i> 2006	7 ratas no hipóxicas y 7 controles, así como 4 ratas hipóxicas y 6 controles	45 mg/kg q 12 h	En los días 18-21 de gestación a los dos grupos	Una disminución en el tamaño de las crías de ratas no hipóxicas. Un aumento en el tamaño de las crías que nacen de animales hipóxicos
Sánchez-Aparicio <i>et al.</i> 2007	20 cuyos gestantes	50 y 500 µg/µg	A partir del día 35 de la gestación	Las dosis bajas favorecen la tolerabilidad a la asfixia durante el parto inducido. Las dosis altas aumentaron de peso fetal

Fuente. Sánchez-Aparicio *et al.*, 2007

Se han publicado investigaciones relacionadas con la administración de sildenafil en mujeres no gestantes. Sher y Fisch (2002) realizaron un análisis retrospectivo con mujeres a las cuales se le aplicó sildenafil vía intravaginal resultando en un incremento del flujo sanguíneo uterino. Paulus *et al.* (2002) incluyeron en su experimento a diez mujeres gestantes con problemas de flujo

sanguíneo uterino y pobre desarrollo endometrial, se les administro sildenafil vía intravaginal, concluyendo que no existió un incremento en el flujo sanguíneo uterino, no obstante se registró un aumento de espesor del endometrio. Check *et al.* (2004) introdujeron en el estudio mujeres gestantes con un espesor de 8 mm de endometrio y se les administro sildenafil vía intravaginal. No se produjo la mejora del grosor endometrial o el flujo de sangre uterina. Lacassie *et al.* (2004) incluyeron en su experimentación a una mujer gestante con problemas de hipertensión pulmonar a la cual se le administro sildenafil a partir de la semana 31 de la gestación y hasta el final de la misma, se reportó un aumento en la ganancia de peso fetal. De la misma manera Molelekwa *et al.* (2005) incluyeron una mujer gestante con problemas de hipertensión pulmonar y de la misma manera se observó un incremento fetal.

En un reporte preliminar, se describió el uso del sildenafil con el objeto de determinar si su aplicación mejora el flujo sanguíneo de la arteria uterina y la apariencia sonográfica endometrial en cuatro pacientes (mujeres) con repeticiones de reproducción cíclica asistida no exitosa debido a una pobre respuesta del endometrio (Sher y Fisch, 2000). Después de sus hallazgos, reportaron que la aplicación de sildenafil vía vaginal mejora el desarrollo endometrial y favorece el flujo sanguíneo de la arteria uterina en pacientes con pobre respuesta endometrial sometidas a fertilización *in vitro*. Los mismos investigadores sugieren que es necesaria una evaluación aleatoria de un número considerable de pacientes para validar este tipo de tratamientos (cuadro 4).

La rata se ha utilizado como modelo animal para estudiar el efecto del citrato de sildenafil sobre la repolarización cardiaca y sobre los cambios estructurales en los órganos genitales en respuesta a los casos clínicos de muerte repentina en pacientes humanos que consumieron citrato de sildenafil. Chiang *et al.* (2002) usaron técnicas convencionales de micro-electrodos en músculo aislado de roedor, encontrando que la duración del potencial de acción con 90 % de repolarización no fue afectada por el consumo de citrato de sildenafil en rangos terapéuticos ($1 \leq$

microM), pero fue acortada por elevadas concentraciones (≥ 10 microM). La dosis dependiente del citrato de sildenafil bloqueó los canales de Ca^{2+} tipo-L, pero no tuvo efectos sobre la persistencia de corrientes de iones de Na^+ en los miocitos ventriculares de cobayo, concluyendo que el citrato de sildenafil no prolonga la repolarización cardiaca.

Cuadro 4.- Efectos reproductivo del sildenafil en mujeres gestantes.

Investigador	Pacientes	Dosis y duración del tratamiento	Efecto
Sher y Fisch 200	4 pacientes en programas de reproducción asistida debido a la falta de respuesta del endometrio	25 mg intravaginal 4 veces al día por 7 días	En combinación de estradiol, se mejoró el flujo de sangre y el espesor del endometrio
Sher y Fisch 202	El análisis retrospectivo de un grupo de 105 mujeres	25 mg intravaginal 4 veces al día por 3 - 10 día	Se ha producido un aumento del desarrollo endometrial en el 70% de los pacientes
Paulus et al. 2002	10 mujeres con reducción de flujo de la arteria uterina y pobre desarrollo endometrial	25 mg intravaginal 4 veces al día por 9 - 10 días	No demostró efectos de vasodilatación pero se produjo un aumento del grosor endometrial
Check et al., 2004	Mujeres con un grosor endometrial de 8 mm	25 mg intravaginal 4 veces al día	No hubo incremento en el espesor del endometrio. Sin embargo, existió mejora del flujo de sangre
Lacassie et al., 2004	Mujer de 23 años de edad, de primera gestación con hipertensión pulmonar	150 mg / Sildenafil de inicio y hasta la semana 9 del embarazo se reinició en la semana 31 de gestación. También fue tratada con diltiazem y L-arginina	Un aumento en la ganancia de peso fetal ocurrió.
Molelekwa et al., 2005	Mujer de 23 años de edad, de primera gestación con hipertensión pulmonar	De la semana 28 a la 30 la dosis no fue especificada. A su vez fue tratada con progesterona, oxigenoterapia continua y dexametasona	Pario una niña sana de 1,4 kg

Fuente. Sánchez-Aparicio et al., 2007

Kilinc et al. (2003) determinaron los efectos ultra-estructurales que causa la administración de 0.5 mg/kg de citrato de sildenafil en los órganos genitales de ratas Wistar que estaban ciclando, concluyendo que son evidentes los cambios histológicos causados por la administración de sildenafil en el cuerpo cavernoso del clítoris y las glándulas de Bartolini debido a que fueron los órganos que mostraron los mayores efectos.

Cuadro 5. Farmacocinética de fármacos inhibidores de PDE5.

Farmacocinética	Sildenafil	Tadalafil
Dosis Disponibles (mg)	25, 50, 100	5, 10, 20
Absorción oral F (%)	92	36
Tiempo máximo de acción T_{max} (h)	1 (0.5-2)	2 (0.5-6)
Duración de la acción (h)	4-8	24-36
Vida media $T_{1/2}$ (h)	3-5	17.5
Concentración máxima C_{max} ($\mu\text{g/l}$)	560 (100mg)	378 (20 mg)
Unión a Proteínas (%)	96	94

Adaptado de Mehrotra *et al.*, 2007.

2.6. Generalidades

Los fármacos inhibidores de la PDE5 bloquean esta enzima resultando en la relajación de músculo liso en el cuerpo cavernoso, aumento del flujo sanguíneo y erección. El sildenafil y el tadalafil tienen el mismo mecanismo de acción, pero se observan diferencias entre los compuestos con respecto a su selectividad y especificidad, como podemos notarlo en el cuadro 5 (Gupta *et al.*, 2005). Las diferencias en la farmacocinética y la farmacodinamia de los inhibidores de la PDE5 da lugar a propiedades específicas de interés para su perfil de riesgo-beneficio y uso clínico, así como requisitos diferenciales para ajustar la dosis en interacciones medicamentosas en pacientes especiales (Mehrotra *et al.*, 2007). Se ha demostrado que el sildenafil es muy eficaz y bien tolerado en pacientes con DE, mujeres, y modelos animales experimentales. La aplicación de citrato de sildenafil es efectiva en problemas de crecimiento fetal, no obstante el tadalafil es un fármaco que dentro de esta problemática no ha sido clarificado (Sánchez-Aparicio *et al.*, 2008). El uso del sildenafil o tadalafil, ambos considerados como vasodilatadores potentes en farmacología pueden representar una alternativa para

que los neonatos durante el último tercio de crecimiento tengan un mejor desarrollo orgánico que les permita tolerar de mejor manera problemas relacionados durante la vida intra y extra uterina. Cleber *et al.* (2005) demostraron que al examinar las propiedades vasodilatadoras de sildenafil, vardenafil y tadalafil en la aorta aislada de rata, los tres inhibidores logran relajar potentemente el flujo sanguíneo que dependen de mecanismos de participación de ON. Sin embargo, los estudios que relacionan efectos comparativos de tadalafil y sildenafil son ausentes.

3 La rata (*Rattus norvegicus*) como modelo experimental de desarrollo uterino y crecimiento fetal.

El modelo animal experimental usado en investigaciones biomédicas es la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*). Este animal es originario del este de Asia, llegó a principios del siglo XVIII viajando como polizón en barcos mercantes a Europa y América. Fue en el año 1728 que se recogen por primera vez datos escritos sobre su existencia en Europa. Se distribuyó por todo el continente a partir de la península Nórdica (de ahí su nombre). Los investigadores que usaban ratas en sus trabajos empezaron a trabajar con albinas atraídos por su gran docilidad. A finales del siglo XIX se creó el instituto Wistar, considerado la cuna de la rata de laboratorio. Fue pasando a diferentes laboratorios y universidades que desarrollaron sus propias colonias y cepas para obtener ratas libres de todo patógeno y no expuestas a enfermedades. La rata es miembro del orden *Rodentia*, y ha sido usada extensamente como un animal experimental sometido a una diversidad de investigaciones que hasta el momento proporcionan diferentes enfoques como nutrición, inmunología, genética, cáncer, neurociencia, pruebas biomédicas entre otras. La mayoría de las ratas de laboratorio se derivan de la *Rattus Norvegicus*, de la cual se han derivado estirpes (Wistar, Sprague-Dawley y Long-Evans entre otras), y cepas (Fisher 344, Lewis y Brown Norway) que son utilizadas en laboratorios desde la década de los 50 's, por sus características genéticas (Pass y Freeth, 1993). Los datos disponibles acerca de la reproducción de la rata, son indispensables para poder llevar a cabo investigaciones y/o reproducción de esta especie (Hernández-González *et al.*, 2006). Debe haber prudencia al llevar a cabo la comparación entre humanos y ratas, en términos de metabolismo y susceptibilidad de ciertos problemas. Este apartado tiene como meta validar el modelo animal para la investigación de desarrollo uterino y crecimiento fetal.

3.1. La rata en la investigación científica de crecimiento intrauterino retardado.

Durante la gestación puede haber algunas condiciones intrauterinas adversas que varían en cuanto a la duración, severidad y recuperación (Hernández-González *et al.*, 2006). Las características morfológicas y mecanismos moleculares que conducen a complicaciones durante la gestación no se entienden completamente, siendo necesarios los modelos experimentales adecuados (Giussani *et al.*, 2007). Hay estudios en los que se demuestra la capacidad de recuperación del feto respecto a las condiciones intrauterinas adversas cuando los periodos de exposición son cortos (Gardner *et al.*, 2001). La mayoría de los casos de crecimiento intrauterino retardado se manifiestan hasta el último tercio del embarazo, y en ausencia de pruebas de detección eficaces, las estrategias de prevención deben incluir investigaciones veraces en biomodelos que permitan generar tratamientos confiables al momento de ser detectado este problema (Gardosi *et al.*, 2013).

Durante la gestación, los roedores presentan alteraciones a nivel de receptores encargados de incrementar vasoconstricción pulmonar y remodelación vascular (Moonen *et al.*, 2012). Las ratas recién nacidas se caracterizan por nacer ciegas, con conductos auditivos cerrados, sin pelo e incapaces de regular su temperatura. Estos animales dependen completamente de los cuidados y atención de su madre para sobrevivir (Vaillancourt y Boksa, 2000; Villanueva y Hernández, 2004) como también ocurre en el ser humano (Bernert *et al.*, 2003). Cabe señalar que la rata es un importante modelo animal de experimentación debido a las similitudes que existen con la biología reproductiva del ser humano.

Existe abundante literatura dispersa en un sin número de investigaciones acerca de los aspectos reproductivos de la rata, esta información es indispensable para llevar a cabo investigación y/o reproducción. La información básica

concerniente a la reproducción de la rata ha sido compilada por Hernández-González *et al.*, (2006) (Cuadro 1).

Cuadro 6. Indicadores reproductivos de la rata.

Parámetros	Rata (Wistar)
Peso adulto:	
Macho (g)	300-400
Hembra(g)	250-300
Peso al nacimiento (g)	5-6
Temperatura corporal (°C)	37.5
Tiempo de vida (años)	2.5-3
Consumo alimento (100 g de peso corporal/día)	5 g
Consumo agua (100 g de peso corporal/día)	8-11 mL
Inicio de madurez sexual:	
Macho	200-250
Peso (g)	50±10
Edad (d)	
Hembra	150-180
Peso (g)	50±10
Edad (d)	
Ciclo estral (días)	4-5
Gestación (días)	21-23
Pseudo preñez (días)	12
Fertilidad de estro post-parto (%)	50
Tamaño camada	8-12
Peso al destete (g)	35-55
Frecuencia respiratoria (respiraciones/min)	85
Frecuencia cardiaca (respiraciones/min)	300-500
Duración del estro (horas)	10-20
Esquema de monta	Pares o 1M/10H

Fuente: Hernández-González *et al.*, 2006.

3.2. Restricción de crecimiento fetal intrauterino.

La restricción del crecimiento fetal intrauterino se define como la dificultad del feto para lograr su óptimo crecimiento y constituye un importante problema de salud clínica y pública, en países en vías de desarrollo (Conde-Agudelo *et al.*, 2013). Es considerada como un síndrome que está asociado a trastornos hipertensivos del embarazo, tabaquismo, infecciones y desnutrición. La forma más común en la que se presentan condiciones intrauterinas adversas en gestaciones humanas es la compresión del cordón umbilical ya que ocurre con una incidencia del 40 % (Clapp *et al.*, 1999; Hernández-González *et al.*, 2006; Sánchez-Aparicio, 2008). Esta es la razón por la cual se han desarrollado algunas técnicas para la inducción de condiciones adversas *in utero* en modelos animales experimentales a fin de caracterizar la respuesta cardiovascular (bradicardia, presión arterial y vasoconstricción periférica), magnitud hemodinámica, endocrina y metabólica del feto. El método irreversible y severo más común que induce condiciones intrauterinas adversas, es la compresión temprana del cordón umbilical que causa reducción del flujo sanguíneo umbilical en 30 % y restricción de la capacidad placentaria para transportar nutrientes y O₂ en el feto. Como resultado de la compresión, hay una reducción en el tamaño de la placenta que da inicio a hipoglucemia, hipoxemia, alteración en el balance endocrino y retraso en el crecimiento fetal, estos son indicativos de daño cerebral que a su vez, incrementan la incidencia en la mortalidad fetal (Gardner *et al.*, 2001). La restricción del crecimiento fetal, es responsable de una considerable mortalidad y morbilidad perinatal ya que incrementa el riesgo de complicaciones previas al nacimiento en los neonatos, como son diestrés, asfixia, encefalopatía neonatal, hipotermia e hipoglucemia, pobre alimentación así como riesgos neurológicos a largo plazo, y desordenes del desarrollo (Wareing *et al.*, 2005).

La restricción de crecimiento fetal intrauterino está fuertemente relacionada con la obesidad en la vida adulta, es por ello que diversos investigadores sugieren que es de vital importancia reenfocarse en la salud y nutrición de la madre durante la

gestación (Sarr *et al.*, 2012). Entre 1944 y 1945 durante la hambruna en Holanda, se realizaron los primeros estudios con bajo peso al nacimiento, resultado de la restricción del crecimiento fetal y observando que este problema conduce a la expansión del tejido adiposo en los adultos (Sarr *et al.*, 2012). Tolcos *et al.* (2002), desarrollaron un modelo experimental para producir restricción de crecimiento fetal *in utero*, a través de la alteración y restricción de la perfusión útero-placentaria por medio de una técnica que consiste en la ligadura unilateral de la arteria uterina materna entre el día 28 y 30 de gestación en cobayas gestantes de la cepa Monash. Esta técnica ha sido empleada por diversos investigadores obteniendo como resultado una reducción en el peso y tamaño de los fetos, hipoxia crónica, desnutrición (asociada a reducción celular) (Lafeber *et al.*, 1984), alteración en el balance endocrino (Jones *et al.*, 1987) y restricción de crecimiento asimétrico en roedores recién nacidos. Sarr *et al.* (2012) demostraron que la restricción de crecimiento fetal durante la gestación administrando 50 % menos de proteína en dieta, se traduce en bajo peso al nacimiento y obesidad en etapa adulta. Mallard *et al.* (2000) realizaron un estudio en cobayos con restricción de crecimiento, entre sus hallazgos se incluye reducción del peso cerebral y del cerebelo, así como del volumen del hemisferio cerebral, además de alteraciones en la estructura cerebral de neonatos con bajo peso. Thompson *et al.* (2000) demostraron que la hipoxia crónica en roedores causada por la restricción de crecimiento uterino no altera el crecimiento fetal, peso del corazón, cerebro y placenta, así como la relación del peso de estos órganos respecto al peso corporal de los roedores. Otros estudios realizados en roedores con restricción de crecimiento fetal intrauterino han demostrado una reducción del flujo sanguíneo (Detmer y Carter, 1991) y oxigenación (Jensen *et al.*, 1996). De acuerdo con Mallard *et al.* (2000) la restricción de crecimiento fetal intrauterino en ratas y/o cobayas resultan en cambios drásticos en cuanto al contenido de aminoácidos y metabolismo de la serotonina a nivel cerebral asociado a retraso en la maduración de la función colinérgica.

La restricción del crecimiento fetal trae como consecuencia la asfixia perinatal, considerada como un estrés fisiológico que estimula el sistema nervioso autónomo en general, y en particular activa los receptores de dióxido de carbono y O₂ (Ting *et al.*, 1994). Tolcos *et al.* (2002) reportaron una reducción cerebral de la tolerancia a la hipoxia en roedores, demostrando que la restricción de crecimiento fetal intrauterino está asociada con alteraciones en la respuesta de ventilación y termorregulación del recién nacido sometido a asfixia e hipercapnia, ya que la ventilación basal durante un estado de hipercapnia tiende a elevarse y se incrementa significativamente durante la asfixia perinatal respecto a la concentración de CO₂ (> al 5 % de CO₂).

3.3. Importancia del ON en el sistema materno-fetal en mujeres y modelos animales

Estudios recientes han examinado el endometrio en diferentes especies, rata (Schmidt *et al.*, 1992; Buhimschi *et al.*, 2004), ovino (Zoma *et al.*, 2004) e incluso humanos (Cameron y Campbell, 1998; Khan *et al.*, 2004; Norman *et al.*, 1999), para discutir la potente acción vasodilatadora y antiplaquetaria del ON, ya que pueden jugar un papel importante en la implantación, o bien el ON derivado del endometrio puede actuar como un relajante en el músculo liso vascular y endometrial (Cameron y Campbell, 1998).

En ratas y conejos, se ha demostrado la importancia del ON en el mantenimiento de la relajación uterina durante el trabajo de parto; la actividad del ON en el tejido uterino es elevada a lo largo de la gestación, pero disminuye antes del momento del parto, aunque otros han postulado que el ON también puede ser responsable del mantenimiento de la relajación uterina durante el trabajo de parto en humanos (Norman *et al.*, 1999). Dos líneas de investigación apoyan estas hipótesis, la primera que el ON relaja el miometrio humano *in vitro* y la segunda, que productos de ON dependientes de GMPC están presentes en el miometrio

humano grávido o no gestante. Estos datos sugieren que el ON es producido en el miometrio durante la gestación y puede mantener la relajación uterina por un efecto de relajación en el miometrio. Este señalamiento es de suma importancia ya que la relajación automática del útero grávido durante la mayor parte de la gestación facilita el crecimiento y maduración fetal (Khan *et al.*, 2004).

La rata de estirpe Sprague-Dawley ha sido usada por Kim *et al.* (2004) para investigar la respuesta vaginal de la hembra y el papel del ON sobre la vía del flujo sanguíneo vaginal *in vivo*. Los cambios del flujo sanguíneo vaginal fueron inducidos por estimulación nerviosa pélvica a través de un láser de efecto Doppler, que determina la frecuencia de respuesta en cada animal (Khan *et al.*, 2004). En suma, los cambios en el flujo vaginal fueron medidos después de la administración intravenosa de un inhibidor de sintetas de óxido nítrico L-NAME (NG-nitro-L-arginina metil ester) o citrato de sildenafil, inhibidor específico de la PDE5. Dichos investigadores concluyeron que la administración de citrato de sildenafil incrementó significativamente la estimulación nerviosa pélvica inducida por el flujo de sangre vaginal (166.9 ± 25.8 % vs testigo a 30 minutos, $p < 0.00001$).

3.4. Generalidades

Los roedores son modelos animales experimentales útiles que pueden proporcionar información fidedigna en la investigación científica respecto a la administración de fármacos vasodilatadores como sildenafil y tadalafil. Gardosi *et al.* (2013) sugieren que la detección temprana de problemas de crecimiento fetal puede reducir sustancialmente el riesgo de muerte fetal y debe convertirse en un indicador clave de seguridad y eficacia en la atención prenatal.

Diversos investigadores (Chiang *et al.*, 2002; Kilinc *et al.*, 2003; Kim *et al.* 2004) usaron a la rata como modelo experimental para demostrar el papel que juega el ciclo del ON en la vía guanosin monofosfato durante la vasodilatación del musculo liso. Estos hallazgos corroboran los informes anteriores donde la relajación vascular mediada por inhibidores de la PDE5 (sildenafil y vardenafil) fue

encontrado para ser relacionado con la ruta ON/GMPc durante la señalización de la aorta en la rata (Wilkins *et al.*, 2002), en arterias intrapulmonares (Andersen *et al.*, 2005), en el conducto arterioso de conejo (Thebaud *et al.*, 2002) y en arteria basilar de cobaya (Toque *et al.*, 2009).

La comprensión y prevención del trabajo de parto prematuro continúa siendo uno de los objetivos principales en la investigación obstétrica y es la principal causa de muerte y morbilidad de neonatos (Norman *et al.*, 1999; Sánchez-Aparicio, 2008). Respecto a la aplicación de tadalafil y citrato de sildenafil, ambas parecen ser efectiva y con seguridad causarán inquietud las observaciones sobre los efectos en el sistema materno-fetal. Posiblemente el tadalafil y el citrato de sildenafil pueden activar la relajación del miometrio en mujeres embarazadas por su afinidad a las PDE5 en tracto reproductivo, incrementando la posibilidad de que el citrato de sildenafil o moléculas relacionadas puedan tener un futuro promisorio en su aplicación tocolítica al potencializar el efecto de vasodilatación de los nitratos. La administración de tadalafil o de citrato de sildenafil, considerados como potentes vasodilatadores en farmacología representan una alternativa para que los neonatos durante el último tercio de crecimiento tengan un mejor desarrollo orgánico.

III. OBJETIVOS

General

Comparar el efecto de la administración de sildenafil y tadalafil en ratas gestantes sobre el crecimiento fetal.

Específicos

- Comparar y evaluar el efecto de la administración de sildenafil y tadalafil sobre el peso en la rata gestante y en los fetos.
- Evaluar el efecto del sildenafil y tadalafil sobre el peso de los órganos y de la canal en roedores.
- Evaluar el desarrollo corporal de los fetos de ratas tratadas con sildenafil y tadalafil a través de las características morfométricas

IV. HIPOTESIS

- El uso de tadalafil promueve un mayor crecimiento fetal que el citrato de sildenafil en el modelo de la rata, y representan una alternativa para que los fetos tengan un mejor desarrollo orgánico durante el último tercio de la gestación.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Tipo de animales y localización.

Los animales bajo estudio fueron ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), sin signos clínicos de enfermedad, su estancia fue en el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa bajo condiciones controladas.

1.1. Número de animales y formación de grupos.

Machos

Para lograr la gestación de las hembras empleadas en el experimento, se usaron 7 machos, estos fueron entrenados durante 7 días a fin de obtener una monta exitosa. Durante la etapa de entrenamiento, cada uno de los machos fue colocado en un redondel de acrílico (50 cm Ø x 50 cm altura), se le hacía acompañar de una rata que previamente (24 h) había recibido una inyección de progesterona vía SC, con el objetivo de lograr una regresión del C.L. y posteriormente la presencia de signos de estro que estimularon a los machos para realizar la monta y favorecer de esta manera su entrenamiento. Al final del entrenamiento, solo fueron elegidos 3 machos en función a la presencia de 2 eyaculaciones.

Hembras

Inicialmente, 19 ratas multíparas fueron consideradas para su reproducción. Conforme las hembras fueron presentando estro, se asignaron de forma aleatoria (mediante el uso de una tabla de números al azar) con uno de los machos previamente elegidos, con la finalidad de lograr la monta y eyaculación. Inmediatamente después, las hembras fueron revisadas con la intención de identificar la presencia de un tapón vaginal y constatar la eyaculación del macho. Este procedimiento se llevó a cabo empleando el redondel previamente descrito.

Un total de 15 hembras resultaron gestantes, las cuales fueron alojadas en contenedores individuales durante el periodo de gestación.

Se consideró como el día uno de la gestación en el momento de la monta y confirmando la presencia del tapón vaginal, en ese día las hembras fueron pesadas con una báscula mecánica de triple brazo con capacidad de 0-2610gr (Ohaus, Florham Park, New Jersey, USA). Catorce días después, los animales fueron pesados nuevamente y examinados por palpación abdominal a fin de confirmar la presencia de gestación. El último día de la gestación se obtuvo la tercera medición del peso corporal de las ratas.

Los animales empleados en el experimento fueron manejados de acuerdo a lo estipulado en el apartado 5.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio que hace referencia al cuidado específico de roedores: Rata, ratón, cobayo, hámster y jerbo.

1.2. Condiciones de alojamiento.

Desde el día 1 de la gestación y hasta el día de la cirugía, las ratas fueron alojadas en contenedores individuales de polipropileno con piso sólido y cama tipo virutas (Aspen Shavings®) cuyo espacio vital fue de 0,078 mts². La temperatura ambiental fue de 22 ± 2 °C, humedad relativa promedio de 50 ± 10 %, ventilación de 20 recambios de aire/hora con ciclos controlados de iluminación invertida de 12 horas luz/12 horas de oscuridad. Se emplearon comederos de acero inoxidable tipo “j” para proporcionarles alimento balanceado en forma de pellet *ad libitum* todos los días aproximadamente a la misma hora (10:00 am), de la marca comercial Harlan Tekland Global para roedores con 18% de proteína cruda, 5.0% de grasa cruda y 5.0% de fibra cruda. El agua potable fue provista *ad limitum* en botellas de vidrio.

2. Tratamiento.

El citrato de sildenafil y el tadalafil fueron adquiridos en forma comercial (tabletas) a una concentración de 100 y 20 mg respectivamente bajo condiciones asépticas, éstas fueron maceradas en un mortero y diluidas en un matraz Erlenmeyer, en el caso del Sildenafil este se diluyó en 100 mL de solución salina estéril y en promedio se administró un volumen 0,5 mL. El volumen fue obtenido a través de una conversión matemática ajustada de tal manera que representa una dosis de 0.500 µg de Sildenafil. Por otra parte, en el caso del Tadalafil este se diluyó en 20 mL de solución salina estéril y en promedio se administró un volumen 0,5 mL. El volumen fue obtenido a través de una conversión matemática ajustada de tal manera que esta representara una dosis de 0.500 µg de Tadalafil. Para ambos casos se utilizó una jeringa con capacidad de 3 mL adaptada a una cánula especial para la especie y el fármaco fue administrado día a día a las hembras bajo estudio por vía oral. Los animales del grupo control (n=5) recibieron solución salina estéril 0,5 mL, mientras que los grupo 2 (n=5) y grupo 3 (n=5) recibieron citrato de sildenafil (Viagra®, Pfizer, Sandwich, UK) y Tadalafil (Cialis®, Lili Icos, Indianapolis, Indiana) a una dosis única de 0.500 µg para ambos fármacos. El sildenafil y Tadalafil fueron administrados diariamente a las 14:00 horas, incluyendo los fines de semana, iniciando a partir del día 14 de gestación hasta el día de la cirugía.

3. Cirugía.

La duración total de la gestación de las ratas fue de 21 días para todos los animales. El proceso de cirugía en las ratas se inició con la eutanasia del animal conforme lo indica la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio., Apartado 9.5.3.3. Decapitación.

De forma simultánea, se procedió a la asepsia del área abdominal para realizar una incisión cráneo-caudal de aproximadamente 4 cm de longitud. Se identificó y

se diseccionaron los cuernos uterinos e inmediatamente después se colocaron en una caja de Petri la cual estaba en contacto directo con hielo, esto con la finalidad de provocar la eutanasia de los productos. Pasado aproximadamente 10 min y corroborando la eutanasia del producto, se procedió a la disección de los productos, estos fueron cuidadosamente expuestos y una incisión en cada cuerno fue realizada. Por conveniencia, para ser ordenados y homogéneos durante el procedimiento quirúrgico, se decidió abrir en primera instancia el lado izquierdo del útero. De forma manual se obtuvieron a cada uno de los fetos a través de la presión cautelosa de los cuernos y fueron separadas las membranas placentarias.

El peso (kg) de las madres al inicio del experimento (día 0 post-monta), al inicio del tratamiento (día 14 post-monta) y al final del periodo de tratamiento (día 21 post-monta) fueron obtenidos por una báscula analítica con capacidad de 0-210 gr. y una sensibilidad de 0.0001gr (Ohaus, Florham Park, New Jersey, USA).

4. Zoometría y morfometría.

A fin de evaluar el crecimiento fetal y caracterizar la zoometría del feto, se realizaron mediciones zoométricas en los cadáveres. Los siguientes parámetros fueron obtenidos: peso a la extracción (g), longitud de la cabeza a la base de la cola o largo dorsal (mm) , longitud de la cabeza y grupa (mm), longitud torácica y abdominal (mm), perímetro de cañas anterior (mm). La longitud de todos los parámetros fueron obtenidos por un vernier digital. (Digital Caliper 300mm/12inch. Senator U.K)

El peso de la placenta, fetos y sus órganos fueron obtenidos por una báscula analítica con capacidad de 0-210 gr. y una sensibilidad de 0.0001gr (Ohaus, Scale Corporation, Florham Park, New Jersey, USA).

5. Variables observadas

Los indicadores neonatales observados fueron: número de ratas extraídas, por hembra, mediciones zoométricas y morfometría. El seguimiento de la cirugía, pesaje y medición de órganos, fue a través del llenado de una bitácora de registros.

6. Análisis estadísticos

El análisis recomendado fue un ANOVA para saber si existen diferencias entre los grupos, de ser así se construirá una DMSH (diferencia mínima significativa honesta o método de Tukey) con el fin de saber en cuales grupos se encuentran las diferencias.

Con el siguiente modelo estadístico:

ANOVA :

$$Y_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} : Respuesta de la unidad experimental j del tratamiento i .

μ_i : Promedio de las respuestas de todas las unidades experimentales que reciben el tratamiento i .

ε_{ij} : Error o residual de la unidad j que recibió el tratamiento i .

TUKEY :

$$9\alpha_k(n-k) \sqrt{\frac{CM_{ERROR}}{2}} \left[\sqrt{\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j}} \right]$$

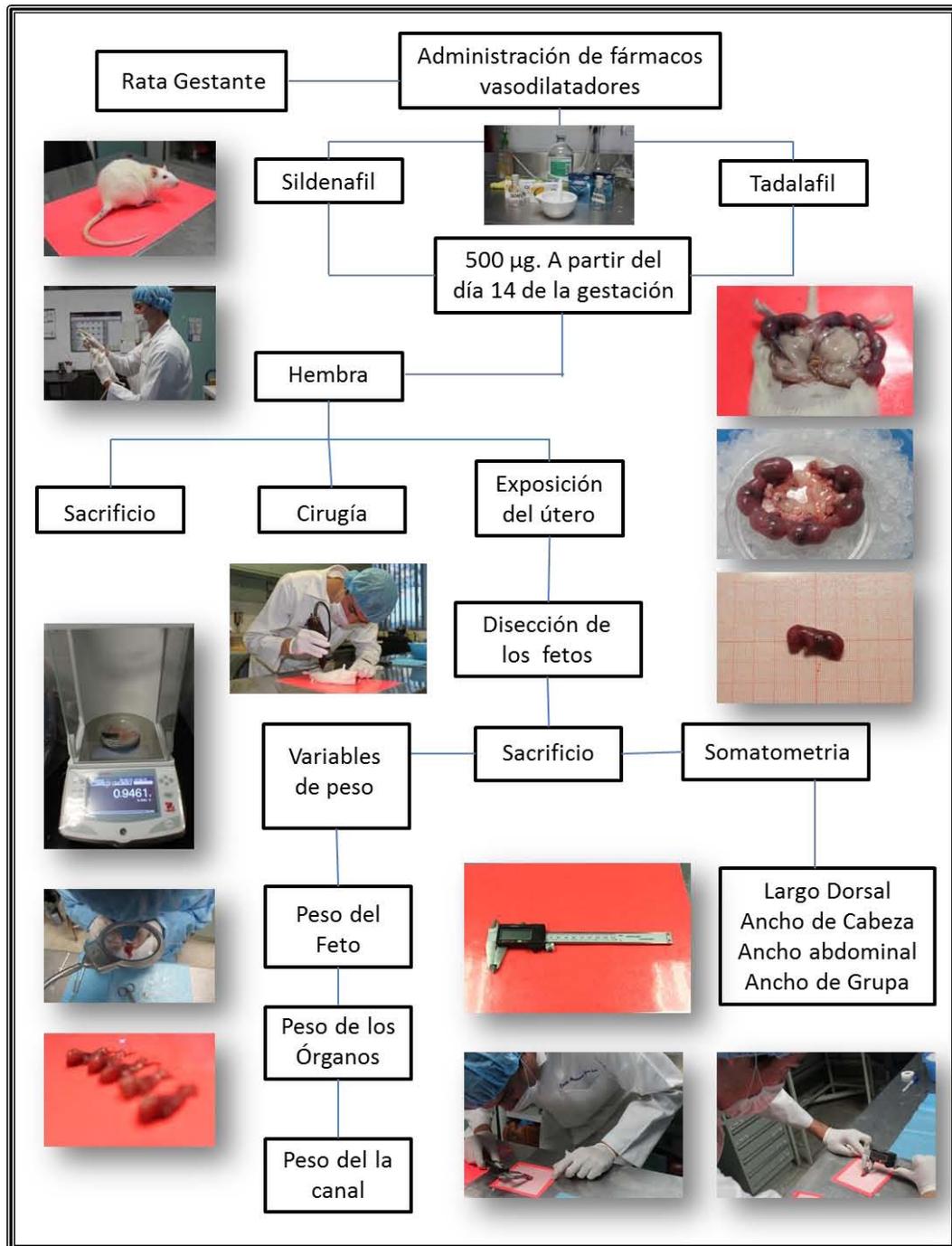
Dónde:

$9\alpha_k$: Es el valor de significancia de la población k y los grados de libertad del error $-k$.

n_i y n_j : Son los tamaños de muestras o repeticiones de los tratamientos i y j cuyas medias se comparan.

CM_{ERROR} : Cuadrado medio del error de las medias de los tratamientos

Esquema 1.- Representación general de la metodología empleada antes, durante y después de la cirugía.



VI. RESULTADOS

Catorce días después de haber identificado el tapón vaginal en las ratas, la gestación fue confirmada y su distribución en los tres grupos formados se realizó aleatoriamente. El peso corporal de las madres al inicio de la gestación, al inicio del tratamiento y al final de la gestación fue estadísticamente diferente ($p=0.01$) entre los tres grupos. Sin embargo, la ganancia promedio de peso desde el inicio, hasta el final del tratamiento para los grupos control, sildenafil y tadalafil fue similar y no se reportaron diferencias estadísticas significativas entre grupos (cuadro 8).

Cuadro 8.- Evaluación del peso vivo en ratas gestantes durante el tratamiento con fármacos vasodilatadores (promedio \pm ES)

	Control	Sildenafil (500 μg)	Tadalafil (500 μg)	Valor P
Madres (n)	5	5	5	--
<i>Peso al inicio de la gestación (g)</i>	253,3 \pm 6.79 ^a	283 \pm 24.2 ^b	273,3 \pm 4.93 ^c	0.01
<i>Peso al inicio del tratamiento (kg)</i>	288,5 \pm 2.70 ^a	322,6 \pm 19.2 ^b	307,7 \pm 8.43 ^c	0.01
<i>Peso al final de la gestación (kg)</i>	341,4 \pm 11.4 ^a	374,3 \pm 27.3 ^b	364,4 \pm 18.93 ^c	0.01
<i>Ganancia de peso durante el tratamiento</i>	52.9	51.7	56.7	

^a $P<0.01$, Control vs Sildenafil; ^b $P<0.01$, Sildenafil vs Tadalafil; ^c $P<0.01$, Control vs Tadalafil.

Respecto al peso de las madres desde el inicio de la gestación, durante el tratamiento y al final de la gestación, se observó la misma tendencia en cuanto al incremento en el peso corporal (Grafico 1).

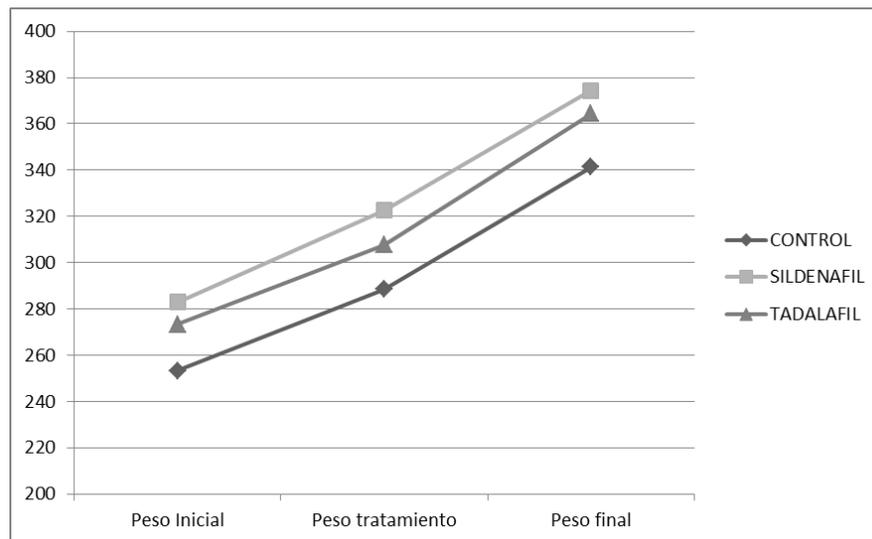


Grafico 1.- Tendencia de la ganancia de peso de las ratas tratadas con los fármacos vasodilatadores y de las ratas del grupo control

Se identificó que no existe diferencia significativa entre el peso de los fetos extraídos de madres del grupo control vs. el grupo de fetos de madres tratadas con Sildenafil. No obstante, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre el peso de fetos cuyas madres fueron tratadas con Tadalafil en comparación a los otros dos grupos. Para la variable peso de órganos, se observó la misma tendencia en los resultados ($P < 0.01$). Respecto al peso de la canal, se observó un mayor peso en los fetos extraídos de madres tratadas con tadalafil cuyas diferencias resultaron significativas ($P < 0.01$) al contrastarlos con el grupo control y tadalafil. Respecto al peso de la placenta, este presentó diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre el grupo de madres tratadas con Sildenafil y el grupo de madres control en comparación con el grupo de madres tratadas con Tadalafil teniendo mayor peso el tratado con Tadalafil. Finalmente, no se observaron malformaciones morfológicas en los fetos o sus órganos (cuadro 9).

Cuadro 9.- Efecto del Citrato de Sildenafil y Tadalafil sobre el peso del feto, los órganos, la canal y de la placenta de fetos extraídos de ratas gestantes (promedio \pm ES)

	Control	Sildenafil (500 μg)	Tadalafil (500 μg)	Valor P
Fetos (n)	55	48	48	
Peso del feto (g)	2.02 \pm 0.02 ^a	1.99 \pm 0.3 ^a	2.70 \pm 0.22 ^b	0.01
Peso de Órganos (g)	0.39 \pm 0.003 ^a	0.37 \pm 0.002 ^a	0.53 \pm 0.01 ^b	0.01
Peso de la canal (g)	1.47 \pm 0.01 ^a	1.41 \pm 0.01 ^a	1.93 \pm 0.15 ^b	0.01
Placenta (g)	0.43 \pm 0.07 ^a	0.43 \pm 0.04 ^a	0.48 \pm 0.05 ^b	0.05

^b $P < 0.01$, Control, Sildenafil vs Tadalafil. No hubo diferencias al comparar los parámetros entre el grupo control y el grupo Sildenafil.

Respecto a los parámetros somatométricos de las ratas al nacimiento, se identificó que el largo dorsal fue mayor en los fetos del grupo tadalafil y estadísticamente ($P < 0.01$) diferente a lo hallado en los grupos control y sildenafil. En relación a la variable perímetro torácico, se revelaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.01$) entre los grupos control, sildenafil vs. Tadalafil, siendo el grupo de fetos de madres tratadas con tadalafil el de mayor talla respecto a los otros dos. Por otra parte, el ancho de cabeza y ancho de grupa, no fue diferente entre los fetos de madres tratadas con sildenafil en comparación con fetos de madres del grupo control, no así los fetos de madres tratadas con Tadalafil, los cuales revelaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.01$) siendo este grupo el de mayor tamaño.

Cuadro 10.- Parámetros somatométricos de ratas al nacimiento expuestas a los efectos maternos por ingesta de Citrato de Sildenafil y Tadalafil (promedio \pm ES)

	Control	Sildenafil (500 μg)	Tadalafil (500 μg)	Valor P
Fetos (n)	55	48	48	
# de fetos extraídos por hembra	11	9.6	9.6	
Largo Dorsal (mm)	20.63 \pm 1.3 ^a	20.8 \pm 1.2 ^a	24.0 \pm 1.5 ^b	0.01
Perímetro Abdominal (mm)	6.36 \pm 0.18 ^a	6.36 \pm 0.27 ^a	7.20 \pm 0.24 ^b	0.01
Ancho de cabeza (mm)	6.35 \pm 0.18 ^a	6.48 \pm 0.26 ^a	7.04 \pm 0.18 ^b	0.01
Ancho de grupa (mm)	8.29 \pm 0.30 ^a	8.27 \pm 0.27 ^a	9.59 \pm 0.54 ^b	0.01

^bP<0.01, Control, Sildenafil vs Tadalafil. No hubo diferencias al comparar los parámetros entre el grupo control y el grupo Sildenafil.

VII. DISCUSIÓN

En este estudio, el sildenafil administrado a dosis de 500 µg/kg en el tercer tercio de la gestación en ratas no aumenta el tamaño de sus crías. La dosis utilizada en nuestro estudio fue tres veces mayor que la dosis efectiva según se informó anteriormente en cobayas (Sánchez-Aparicio *et al.*, 2007). Sin embargo, en las ratas, el sildenafil favorece el crecimiento fetal sólo a dosis entre 4-15 mg/kg (Pellicer *et al.*, 2011; Ozdegirmenci *et al.*, 2011). Dosis diarias de 90 mg/kg de sildenafil aumentaron el tamaño de las crías que nacen de ratas hipóxicas, mientras que en las ratas no hipóxicas se redujo el tamaño de las crías, a pesar de que el período de administración fue del 18 al día 21 de gestación (Refuerzo *et al.*, 2006).

La duración del tratamiento con sildenafil también parece estar influenciado por la dosis. La administración de 4 mg/kg durante todo el embarazo aumenta el peso fetal (Pellicer *et al.*, 2011). El sildenafil administrado en ratas con dosis entre 10-50 mg/kg durante todo el embarazo no demuestra tener efecto en la longitud o en el peso de las crías (Sasser y Baylis, 2010). En los seres humanos, la dosis diaria de 75 mg (es decir, 25 mg tres veces al día) de sildenafil en mujeres embarazadas con restricción del crecimiento intrauterino de aparición temprana ha demostrado ser eficaz para aumentar la velocidad de crecimiento fetal (von Dadelszen *et al.*, 2011). Aunque esta dosis es más alta que la dosis diaria de 60 mg (es decir, 20 mg tres veces al día) actualmente dosis aprobada para el tratamiento de la hipertensión pulmonar, los sujetos pueden tolerar 80 mg tres veces al día (Es decir, 240 mg / día) (Croom y Curran, 2008). Además, hay un informe anecdótico de una mujer que tomaba 150 mg/día de sildenafil, y demostró tener un incremento fetal durante el tratamiento y el producto nació sano (Lacassie *et al.*, 2004; Villanueva-García *et al.*, 2007.).

En relación al tadalafil, se conoce de un estudio en ratas expuestas a 10 mg/kg del fármaco desde el día 15 al 19 de la gestación, donde se reportaron crías nacidas aproximadamente 1,5 veces más pesadas que en los del grupo control (Ozdegirmenci *et al.*, 2011). En nuestro estudio, las crías que nacieron en el grupo de ratas tratadas con 500 µg de tadalafil fueron aproximadamente 1,4 veces superiores a las del grupo control y que las crías nacidas en el grupo tratado con sildenafil, aunque esta dosis es aproximadamente 7 veces menor que el de prueba de Ozdegirmenci *et al.* (2011). Por comparación directa, 500 µg de tadalafil sería una dosis aproximadamente 25,2 veces mayor que la dosis actualmente aprobada para el tratamiento de hipertensión pulmonar, que para el caso de un sujeto de 60 kg es de 40 mg / día (Falk *et al.*, 2010.; Udeoji y Schwarz 2013).

En la actualidad a pesar de la escasa información disponible sobre los efectos del tadalafil durante el embarazo, se puede esperar una variación similar en base a su mecanismo de acción y sensibilidad sobre el efecto directo de los fetos provocados por sildenafil según la especie. Sin embargo, tadalafil parece ser dos veces más potente que el sildenafil para inducir el crecimiento fetal. El tadalafil puede administrarse en una sola dosis diaria debido a su vida media más larga en comparación con sildenafil (17,5 vs. 4 h, respectivamente) (Falk *et al.*, 2010), el primero podría ser una buena alternativa para el tratamiento de las mujeres embarazadas con restricción del crecimiento intrauterino

VIII. CONCLUSIONES

En conclusión, el tadalafil aumento el crecimiento fetal en ratas cuando se administró en dosis diarias de 500 µg durante el tercer tercio de la gestación. Mientras sildenafil a 500 µg no. Este efecto es debido al mecanismo de acción, el cual es similar, sin embargo el largo período de biodesintegración del tadalafil permite un esquema de dosificación más conveniente. El tadalafil parece un buen candidato para realizar estudios posteriores como una alternativa para tratamiento restricción del crecimiento intrauterino.

IX. REFERENCIAS

- Abbott D, Comby P, Charuel C, Graepel P, Hanton G, Leblanc B. 2004. Preclinical safety profile of sildenafil. *International Journal of Impotence Research* 16:498-504.
- Agha AM, Taha RA. 2001. Sildenafil inhibits agonist-evoked rat uterine contractility: Influence of guanylyl cyclase inhibition. *European Journal of Pharmacology* 428:343-348.
- Alisi A, Panera N, Agostoni C, Nobili V. 2011. Intrauterine growth retardation and nonalcoholic Fatty liver disease in children. *International Journal of Endocrinology*.
- Andersen CU, Mulvany MJ., Simonsen U. 2005. Lack of synergistic effect of molsidomine and sildenafil on development of pulmonary hypertension in chronic hypoxic rats *Eur J Pharmacol* 510:87–96.
- Arbay O, Cifti F, Cahit T, Ibrahim K, Nebil B, Akgun H. 1996. In utero defecation by the normal fetus: a radionuclide in the rabbit. *Journal Pediatrics Surgery* 31:1409-1412
- Arroyo J, Torry RJ, Torry DS. 2004. Deferential regulation of placenta growth factor (PlGF) –mediated signal transduction in human primary term trophoblast and endothelial cells. *Placenta* 25:379-86.
- Ballabriga A, Carrascosa A. 2006. Nutrición fetal: retraso del crecimiento intrauterino. En: *Nutrición en la infancia y adolescencia*, 3.^a ed. Madrid: Ergon, 1-52.
- Battaglia FC, Meschia G. 1986. An introduction to fetal physiology. Academic Press. London.
- Baschat AA. 2004. Fetal responses to placental insufficiency: an update. *BJOG*; 111:1031-1041.
- Belik J. 2005. Sildenafil administration during pregnancy increases fetal rat weight gain.
- Bernert G, Hoeger H, Mosgoeller W, Stolzlechner D, Lubec B. 2003. Neurodegeneration, neuronal loss, and neurotransmitter changes in the adult cobayo with perinatal asphyxia. *Pediatric Research* 54(4):523-528.
- Buhimschi CS, Garfield RE, Weiner CP, Buhimschi IA. 2004. The presence and function of phosphodiesterase type 5 in the rat myometrium. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 190:268-274.
- Cameron IT, Campbell FS. 1998. Nitric oxide in the endometrium. *Human Reproduction Update* 4(5):565-569.
- Carson CC, Lue TF. 2005. Phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. *BJU Int.* 96:257–80.
- Check JH, GRaziano V, Lee G, Nazari A, Choe JK, Dietterich C. 2004. Neither sildenafil nor vaginal estradiol improves endometrial thickness in women with thin endometria after taking oral estradiol in graduating dosages. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology* 31:99-102.

- Chiang CE, Luk HN, Wang TM, Ding PY. 2002. Effects of sildenafil on cardiac repolarization. *Cardiovascular Research* 55(2):290-299.
- Clapp JF, López B, Simonean S. 1999. Nuchal cord and neurodevelopmental performance at 1 year. *J Soc. Gynaecology Invest.* 6:268-272.
- Cleber E, Privieiro B., Clinton R. 2005. Differential effects of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil in rat aorta. *Jornal Pharmacology* 5:2 :654-661.
- Cotreau MM, von Moltke LL, Greenblatt DJ. 2005. The influence of age and sex on the clearance of cytochrome P450 3A substrates. *Clin Pharmacokinetics* 44: 33–60.
- Conde-Agudelo A, Papageorghiou AT, Kennedy SH, Villar J. 2013. Novel biomarkers for predicting intrauterine growth restriction: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1111/1471-0528:12172.
- Cremers B, Scheler M, Maack C, Wendler O, Schafers HJ, Sudkamp M, and Bohm M. 2003. Effects of sildenafil (Viagra) on human myocardial contractility, in vitro arrhythmias and tension of internal mammaria arteries and saphenous veins. *J Cardiovasc Pharmacol* 41:734–743.
- Croom KF, Curran MP. 2008. Sildenafil: a review of its use in pulmonary arterial hypertension. *Drugs* 68:383-397.
- Croxtall J., Lyseng-Williamson. 2010. Tadalafil in pulmonary arterial hypertension. *Adis Drug Profil* 70(4):479-488
- Demir R, Kayisli UA, Seval Y, Celic-Ozenci C. 2004. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta* 25: 560-72.
- Detmer A, Gu W, Carter AM. 1991. The blood supply to the heart and brain in the growth retarded guinea pig fetus. *J Devl Physiol* 15:153-160.
- Downing JW, Ramasubramaniana R, Johnsona RF, Minztera BH, Paschalla RL, Sundellb HW, Engelhardt B, Lewis R. 2004. Hypothesis: selective phosphodiesterase-5 inhibition improves outcome in preeclampsia. *Medical Hypotheses* 63:1057–1064.
- Diagnóstico y Tratamiento de la restricción del crecimiento uterino. México, Secretaria de Salud. 2011.
- Eardley I, Cartledge J. 2002. Tadalafil (Cialis) for men with erectile dysfunction. *Int J Clin Pract* 56:300–304.
- Falk JA, Philip KJ, Schwarz ER. 2010. The emergence of oral tadalafil as a once-daily treatment for pulmonary arterial hypertension. *Vasc Health Risk Manag* 6:273-280.
- Figueras F, Gardosi J. 2010. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *Am J Obstet Gynecol* 20:24-27.
- Gadelha Da Costa A, Mauad Filho F, Spara P, Barreto Gadelha E & Vieira Santana Netto P. 2005. Fetal hemodynamics evaluated by Doppler velocimetry in the second half of pregnancy. *Ultrasound Med Biol* 31:1023–1030.

- Galina C, y Valencia J. 2011. Reproduccion de animals domesticos. 3ra Edicion Limusa. México.
- Gardner SD, Fletcher WJA, Fowden LA, Giussani AD. 2001. A novel method for controlled and reversible long term compression of the umbilical cord in fetal sheep. *Journal of Physiology* 535:217-229.
- Gardosi J, Madurasinghe V, Williams M, Malik A, Francis A. 2013. Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. *BMJ Researcher*. 346:f108.
- Giussani DA, Salinas CE, Villena M, Blanco CE. 2007. The role of oxygen in prenatal growth: studies in the chick embryo. *J Physiology* 585: 911-917.
- Goldenberg RL, Culhane JF. 2007. Low birth weight in the United States. *Am J Clin Nutr* 85(2):584S-590S.
- Goldman-Wohl D, Greenfield C, Haimov-Kochman R, Ariel I. 2004. Eph and Ephrin expression in normal placental development and preeclampsia. *Placenta* 25: 623-30.
- Gupta M, Kovar A, Meibohm B. 2005. The clinical pharmacokinetics of phosphodiesterase-5 inhibitors for erectile dysfunction. *J Clin Pharmacology* 45: 987–1003.
- Guzeloglu M, Aykut K, Albayrak G, Atmaca S, Oktar S, Bagriyanik A, Hazan E. 2013. Effect of Tadalafil I on Neointimal Hyperplasia in a Rabbit Carotid Artery Anastomosis Model. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 11: 93-100.
- Hathcock A. 2003. Increasing infant mortality among very low birth weight infants delawar. *Biomedical Collection* 52(36):862-6.
- Hernández-González R, Sánchez-Aparicio P, Mota-Rojas D, Arch-Tirado E, Verduzco-Mendoza A, González Lozano M. 2006. El cobayo (*Cavia Porcellus*) y la rata (*Rattus norvergicus*) como modelos experimentales del crecimiento fetal e hipoxia perinatal. En: Mota-Rojas D, Nava-Ocampo A, Villanueva-García D, Alonso-Spilsbury M. (eds). *Perinatología Animal: enfoques clínicos y experimentales*. 1ª ed. México DF: B M Editores, SA de CV: pp. 375-388.
- Huppertz B, Kaufmann P, Kingdom J. 2002. Trophoblast turnover in health and disease. *Fet Mat Med Rev* 13: 103-8.
- Ignarro LJ. 2002. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 53:503–514.
- Jensen A, Klonne HJ, Detmer A, Carter AM. 1996. Catecholamine and serotonin concentrations in fetal guinea-pig brain: relation to regional cerebral blood flow and oxygen delivery in the growth-restricted fetus. *Reproduction, Fertility and Development* 8:355-364.
- Jones CT, Lafeber HN, Price DA, Parer JT. 1987. Studies on the growth of the fetal cobayo. Effects of reduction in uterine blood flow on the plasma sulphation-promoting activity and on the concentration of insulin-like growth factors-I and -II. *J. Development*
- Karasua E, Kayacanb N, Sadana G, Y Dincb B. 2011. Different effects of different phosphodiesterase type-5 inhibitors in pre-eclampsia. *Pregnancy*

- Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health 1: 231–237.
- Khan RN, Hamoud H, Warren A, Wong LF, Arulkumaran S. 2004. Relaxant action of sildenafil citrate (Viagra) on human myometrium of pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 191:315-321.
- Kilinc K, Gunduz MI, Gumus BH, Vatansever S, Kaymaz F. 2003. Ultrastructural effect of sildenafil citrate on corpus cavernosum and other genital organs in female rats. *Asian Journal of Andrology* 5(1):37-41.
- Kim SW, Jeong SJ, Munarriz R, Kim NN, Goldstein I, Traish AM. 2004. An in vivo rat model to investigate female vaginal arousal response. *Journal of Urology* 171(3):1357-1361.
- Kloner RA, Brown M, Prisant LM, Collins M. 2001. Effect of sildenafil in patients with erectile dysfunction taking antihypertensive therapy. *Am J Hypertens* 14:70–73.
- Kloner RA, Mitchell M, Emmick JT. 2003. Cardiovascular effects of tadalafil. *Am J Cardiol* 92:37M–46M.
- Lacassie HJ, Germain AM, Valdes G, Fernandez MS, Allamand F, Lopez H. 2004. Management of Eisenmenger syndrome in pregnancy with sildenafil and L-arginine. *Obstetrics and Gynecology* 103:1118-1120.
- Lafeber HN, Rolph TP, Jones CT. 1984. Studies on the growth of the fetal cobayo. The effects of ligation of the uterine artery on organ growth and development. *Journal Development Physiology* 6:441-459.
- Magness RR. 1998. Maternal cardiovascular and other physiological responses to the endocrinology of pregnancy. In *The Endocrinology of Pregnancy*, ed. Bazer FW, pp. 507–539. Humana Press, Totowa, NJ.
- Magness RR, Sullivan JA, Li Y, Phernetton TM., Bird IM. 2001. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. VI. Ovarian and pregnancy effects on eNOS and NO(x). *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280,H1692–H1698.
- Maharaj C, Toole D, Lynch T, Carney j, Jarman J, Higgins B, Morrison J, and Laffey J. 2009. Effects and mechanisms of action of sildenafil citrate in human chorionic arteries. *Reproductive Biology and Endocrinology* 7:34.
- Mallard C, Loeliger M, Copolov D, Rees S. 2000. Reduced number of neurons in the hippocampus and the cerebellum in the postnatal guinea-pig following intrauterine growth-restriction. *Neuroscience* 100(2):327-333.
- Maurice DH, Palmer D, Tilley DG, Dunkerley HA, Netherton SJ, Raymond DR, Elbatarny HS., Jimmo SL. 2003. Cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, expression and targeting in cells of the cardiovascular system. *Mol Pharmacology* 64:533–546.
- Mehaffey K, Higginson A, Cowan J, Osborne GM, Arbour LT. 2010. Maternal smoking at first prenatal visit as a marker of risk for adverse pregnancy outcomes in the Qikiqtaaluk (Baffin) Region. *Rural Remote Health Physiology* 9:181-201.

- Mehrotra N, Gupta M, Kovar A., Meibohm V. 2007. The role of pharmacokinetics and pharmacodynamics in phosphodiesterase-5 inhibitor therapy. *International Journal of Impotence Research* 19:253–264.
- Michel T. 2006. Treatment of myocardial ischemia. In Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th edn, ed. Brunton LL, Lazo JS & Parker KL, pp. 823–844. McGraw-Hill, New York.
- Molelekwa V, Akhter P, McKenna P, Bowen M, Walsh K. 2005. Eisenmenger's syndrome in a 27 week pregnancy: management with bosentan and sildenafil. *Irish Medical Journal* 98:87-88.
- Montorsi F, Briganti A, Salonia A, Montorsi P., Rigatti P. 2004. The use of phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. *Curr Opin Urol* 14:357–359.
- Moonen R, Kessels G, Zimmermann L, Villamor E. 2012. Mesenteric artery reactivity and small intestine morphology in a chicken model of hypoxia-induced fetal growth restriction. *Journal of Physiology and Pharmacology* 63:601-612.
- Mossman HW. 1987. *Vertebrate Fetal Membranes*. Rutgers University Press. New Brunswick, NJ.
- Muirhead GJ, Rance JD, Walker KD, Wastall P. 2002. Comparative human pharmacokinetics and metabolism of single-dose oral and intravenous sildenafil citrate. *British Journal of Clinical Pharmacology* 53:1S-3S.
- Norman JE. 1996. Nitric oxide and the myometrium. *Pharmacology* 70:91-100.
- Orozco H, Olmos A, Mota D, Nava A, Villanueva D. 2008. Circulación fetal y neonatal: sistema feto-placentario y adaptación a la vida extrauterina. En *Perinatología y Obstetricia animal*. Pp 15-25.
- Ozdegirmenci O, Kucukozkan T, Akdag E, Topal T, Haberal A, Kayir H, Oter S, Akyol M, Uzbay T. 2011. Effects of sildenafil and tadalafil on ischemia/reperfusion injury in fetal rat brain. *J Matern Fetal Neonatal Med* 24:317-323.
- Pass D, Freeth G. 1993. The rat. *Anzccart News* 6(4):1-4.
- Paulus WE, Strehler E, Zhang M, Jellinkova L, El-Danasouri I, Sterzik K. 2002. Benefits of vaginal sildenafil citrate in assisted reproduction therapy. *Fertility and Sterility* 77:846-847.
- Pellicer C, Herraiz S, Cauli O, Rodrigo R, Asensi M, Cortijo J, Serra V, Morcillo E, Felipe V, Simon C, Pellicer A. 2011. Haemodynamic effects of long-term administration of sildenafil in normotensive pregnant and non-pregnant rats. *Journal of Obstetrics and Gynecology* 10:111-112.
- Pickering TG, Mancina G, Glasser DB, Orazem J. 2002. Safety of Viagra (sildenafil citrate) in men with erectile dysfunction and arterial hypertension who are taking multiple antihypertensive treatments. *Am J Hypertens* 15(suppl 1):A55–A56.
- Ramsey EM. 1982. *The Placenta, Human and Animal*. Praeger, New York.
- Refuerzo JS, Sokol RJ, Aranda JV, Hallak M, Hotra JW, Kruger M, *et al.*, 2006. Sildenafil citrate and fetal outcome in pregnant rats. *Fetal Diagnosis and therapy* 21:259-263.

- Reynolds LP, & Redmer DA. 1995. Utero-placental vascular development and placental function. *J Anim Sci* 73:1839–1851.
- Reynolds LP, & Redmer DA. 2001. Minireview: Angiogenesis in the placenta. *Biol Reprod* 64:1033–1040.
- Roberts JM. 2000. Preeclampsia: what we know and what we do not know. *Semin Perinatol* 24:24–8.
- Rosen RC, Kostis JB. 2003. Overview of phosphodiesterase 5 inhibition in erectile dysfunction. *Am. J. Cardiology* 92: M9–18.
- Sánchez-Aparicio P. 2007. Uso de sildenafil en cobayas gestantes y su efecto sobre el crecimiento uterino, desarrollo fetal y tolerancia a la asfixia en fetos evaluada a través de gasometría sanguínea. FMVZ. UNAM.
- Sánchez-Aparicio P, Mota-Rojas D, Nava Ocampo A, Trujillo-Ortega ME, González Lozano M, Arch-Tirado E, Alfaro-Rodríguez A, Ramírez-Necoechea R, Alonso-Spilsbury M. 2008. Effects of sildenafil on the fetal growth of guinea pigs and their capability to survive induced-intrapartum asphyxia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 198(1):127e1-127e6.
- Sánchez-Aparicio P, Mota-Rojas D, Ramírez Necoechea R, Olmos-Hernández A, Alonso-Spilsbury M, Villanueva-García D, Trujillo-Ortega ME., Hernández-González R. 2007. Systemic effects of sildenafil citrate on pregnancy and perinatal periods. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6(2):267-271.
- Sarr O, Yang K, Regnault T. 2012. In Utero Programming of Later Adiposity: The Role of Fetal Growth Restriction. *Journal of Pregnancy ID* 134758.
- Sasser JM, Baylis C. 2010. Effects of sildenafil on maternal hemodynamics and fetal growth in normal rat pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298:R433-438.
- Schneider H. 1991. Placental transport function. *Reprod Fertil Dev.* 3:45-53.
- Schmidt HHHW, Gagne GD, Nakane M. 1992. Mapping of neural nitric oxide synthase in the rat suggests frequent co-localization with NADPH diaphorase but not with soluble guanylyl cyclase, and novel paraneural functions for nitrinergic signal transduction. *Histochem Cytochem* 40:1439-1456.
- Sher G, Fisch JD. 2000. Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. *Human Reproduction* 15:806-809.
- Sher G, Fisch JD. 2002. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertility and Sterility* 78:1073-1076.
- Sherer DM., Abulafia O. 2001. Angiogenesis during implantation, and placental and early embryonic development. *Placenta* 22: 1-13.
- Singer, D. 1999. Neonatal tolerance to hypoxia: a comparative physiological approach. *Brain Research Bulletin* 48(3):233-238.
- Sussman DO. 2004. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and efficacy of phosphodiesterase type 5 inhibitors. *J Am Osteopath Assoc.* 104: S11–S15.
- Thompson PL, Aguan K, Pinkas G, Weiner PC. 2000. Chronic hypoxia increases the NO contribution of acetylcholine vasodilation of the fetal cobayo heart.

- American Journal Physiology Regulatory Integrative Comp Physiology 279:R1813-R1820.
- Ting P, Wang P, Song H, Xu S. 1994. Neuro-pathophysio-biochemical profiles of neonatal asphyxia. *Acta Neurochir (Suppl.)* 60:203-206.
- Tolcos M, Rees S, McGregor H, Walter D. 2002. Consequences of intrauterine growth restriction on ventilatory and thermoregulatory responses to asphyxia and hypercapnia in the newborn guinea-pig. *Reproduction, Fertility and Development* 14:85-92.
- Udeoji DU, Schwarz ER. 2013. Tadalafil as monotherapy and in combination regimens for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Ther Adv Respir Dis* 7:39-49.
- Vaillancourt C, Boksa P. 2000. Birth insult alters dopamine-mediated behavior in a precocial species, the cobayo: implications for schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 23(6):654-666.
- Verburg BO, Jaddoe VW, Wladimiroff JW, Hofman A, Witteman JC, Steegers EA. 2008. Fetal hemodynamic adaptive changes related to intrauterine growth: the Generation R Study. *Circulation* 117(5): 649-59.
- Villanueva SO, Hernández GR. 2004. *Manual en Ciencias de los Animales de Laboratorio*. México: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.
- Villanueva-García D, Mota-Rojas D, Hernández-González R, Sánchez-Aparicio P, Alonso-Spilsbury M, Trujillo-Ortega ME, Ramírez Necochea R, Nava-Ocampo AA. 2007. A systematic review of experimental and clinical studies of sildenafil citrate for intrauterine growth restriction and preterm labor. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 27
- von Dadelszen P, Dwinnell S, Magee LA, Carleton BC, Gruslin A, Lee B, Lim KI, Liston RM, Miller SP, Rurak D, Sherlock RL, Skoll MA, Wareing MM, Baker PN. 2011. Research into Advanced Fetal Diagnosis and Therapy (RAFT) Group. Sildenafil citrate therapy for severe early-onset intrauterine growth restriction. *BJOG* 118:624-628.
- Wareing M, Myers JE, O'Hara M, Baker PN. 2005. Sildenafil citrate (Viagra®) enhances vasodilatation in fetal growth restriction. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 90:2550-2555.
- Wright PJ. 2006. Comparison of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors. *Int J Clin Pract* 60:967-975.
- Wilkins MR, Aldashev A, Morrell NW. 2002. Nitric oxide, phosphodiesterase inhibition, and adaption to hypoxic conditions. *Lancet* 359:1539-40.
- Yuan J, Zhang R, Yang Z, Lee J, Liu Y, Tian J, Qin X, Jia Ren Z, Ding H, Chen Q, Mao C, Tang J. 2013. Comparative Effectiveness and Safety of Oral Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors for Erectile Dysfunction: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *European Association of Urology* 4951;1-11.
- Zoma WD, Baker RS, Friedman A, Clark KE. 2001. Sildenafil citrate (Viagra) increase uterine blood flow and potentiates estrogen-induced vasodilatation. *Journal of the society for Gynecologic Investigation* 8:286A.

Zoma WD, Baker RS, Clark KE. 2004. Effects of combined use of sildenafil citrate (Viagra) and 17 β -estradiol on ovine coronary and uterine hemodynamics. American Journal of Obstetrics and Gynecology 190(5):1291-1297.

XII. ANEXOS

Listado de trabajos derivados del proyecto.

José Luis Cortes Altamirano, Pedro Sánchez Aparicio, Rafael Hernández González, Oscar Gutiérrez Pérez. 2011. Validación de un modelo animal para evaluar el efecto de vasodilatadores sobre el crecimiento fetal. III Congreso Internacional de la A.M.C.A.L. Veracruz.

Hernández González Rafael, **Cortes Altamirano José Luis**, Sánchez Aparicio Pedro, Gutiérrez Pérez Oscar, Uribe Escamilla Rebeca, Aguillón González Clara. La rata (*rattus norvegicus*) como modelo animal para evaluar el efecto de fármacos vasodilatadores sobre el crecimiento fetal: revisión. XVI Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud. México, Distrito Federal. 21-23 de Septiembre de 2011. P. 13

Cortés-Altamirano JL., Hernández-González R., Gutiérrez-Pérez O., Victoria-Mora J.M., Bonilla-Jaime H., Sánchez-Aparicio P. Evaluación del efecto de fármacos vasodilatadores sobre el crecimiento fetal: revisión. XI Reunión del grupo de bioseñales. Xalapa, Veracruz. 24 al 26 de Mayo de 2012. P. 25.

Cortés, A JL., Hernández GR., Sánchez AP., Gutiérrez PO. Comparación del efecto del tadalafil y sildenafil sobre crecimiento fetal, cuando se administra en ratas gestantes. VII Congreso Programa de Maestría y doctorado en ciencias de la producción y de la salud. México D. F. Julio de 2012.

Cortés-Altamirano, J.L., Hernández-González, R., Gutiérrez-Pérez, O., Bonilla-Jaime, H., Victoria-Mora, J.M., Ibancovich-Camarillo, J.A., Sánchez-Aparicio, P. 2013. Administración de fármacos vasodilatadores en *Rattus Norvegicus* gestantes. IX Congreso Internacional AMCAL 2013. Mérida, Yucatán. 26-29 de Junio de 2013. P. 35.

Cortés-Altamirano, J.L., Hernández-González, R., Gutiérrez-Pérez, O., Bonilla-Jaime, H., Victoria-Mora, J.M., Ibancovich-Camarillo, J.A., Sánchez-Aparicio, P. 2013. Efecto del tadalafil y sildenafil sobre el peso y somatometría de fetos extraídos por cesárea de ratas gestantes. IX Congreso Internacional AMCAL 2013. Mérida, Yucatán. 26-29 de Junio de 2013. P. 107.