

CODIGO B1
M-21195

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN

FACULTAD DE MEDICINA



**“EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA  
PIEL DE PAPA “LOMO NEGRO” *Solanum tuberosum* L.  
(SOLANACEAE, NATIVA DEL PERÚ) POR INHIBICIÓN DE LA  
ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA EN RATAS CON  
HIPERTENSIÓN EXPERIMENTAL Y NORMOTENSAS: UN  
ESTUDIO POR MÉTODOS INVASIVO *IN VIVO* E *IN VITRO*”**

Tesis presentada por el Bachiller:

**JUAN CARLOS ARAPA DIAZ**

Para optar al título de:

**MÉDICO CIRUJANO**

Tutores: PhD. Azael Paz Aliaga, Dr. Fredy Zegarra Aragón

AREQUIPA- PERÚ

2015

Ubicacion Física - B-1
I-12-03-49

## DEDICATORIA

*“A mi mamá Mery y a mi papá Francisco; quienes son la razón de mi vida, por su comprensión y apoyo. Sin su ayuda este trabajo no se hubiese realizado”.*

*“Al Doctor Azael Paz Aliaga, quien con su espíritu investigador me inspiró, para seguir este camino fascinante de la investigación científica. Además fue la persona que me acompañó cuando estuve navegando sin rumbo en el laboratorio y me dió sus sabios consejos”.*

## AGRADECIMIENTOS

*“Agradezco a mis hermanos Norma y Elvis, por compartir el día a día mis dudas y sufrimiento cuando en el laboratorio las cosas no salían”.*

*“Agradezco al señor Mario, el conserje de la facultad, por brindarme la disponibilidad del laboratorio, también al personal de la facultad como Edwin, Luis, etc.”.*

*“Agradezco a mis colegas Dulio Anco, Ramiro Calcina que si no compartíamos largas horas de estudio y debate en el curso de Fisiología hace 6 años cuando entonces nació la idea de cómo se podía registrar la presión arterial en animales de experimentación, y si no nos acercábamos al laboratorio la primera vez, jamás hubiese nacido el espíritu para hacer investigación científica”.*

## INDICE

	Pág.
RESUMEN.....	
ABSTRACT.....	
CAPITULO I: INTRODUCCION.....	11
CAPITULO II: MARCO TEORICO.....	18
1. La Papa ( <i>Solanum tuberosum L.</i> ) .....	18
1.1. Generalidades .....	18
1.2. Origen y domesticación de la papa cultivada.....	19
1.3. Clasificación taxonómica de la papa cultivada .....	20
1.4. Descripción botánica de la papa .....	22
1.5. Los Waru waru o camellones.....	26
1.6. Valor nutricional de la papa.....	27
1.7. Fitoquímicos de la papa.....	28
1.8. Propiedades terapéuticas .....	33
2. Extracto metanólico de la piel de papa.....	35
3. Hipertensión arterial.....	36
3.1. Epidemiología.....	36
3.2. Mecanismos de la hipertensión.....	38
3.3. Definición de hipertensión.....	43
3.4. Trastornos clínicos de la hipertensión.....	43
3.4.1. Hipertensión esencial.....	44
3.5. Estudio del paciente hipertenso.....	45
3.6. Tratamiento .....	48
3.7. Recomendaciones para el manejo de hipertensión (JNC VIII).....	57
3.8. Sistema renina-angiotensina.....	61
3.9. Inhibidores del sistema renina-angiotensina.....	78
3.10. Antagonistas de los receptores adrenérgicos $\beta$ .....	86

4. Hipertensión experimental en ratas tratadas con propranolol.....90

**CAPITULO III: MATERIAL Y METODOS.....92**

**1. MATERIALES Y EQUIPOS .....92**

1.1. Para la obtención del extracto metanólico de piel de papa.....92

1.2. Para inducción de hipertensión experimental en ratas .....92

1.3. Para la estandarización de un método invasivo de registro de la presión arterial en ratas.....93

1.4. Para registro de ECG en rata.....93

1.5. Para el efecto inhibitor del extracto sobre la vasoconstricción inducida por ANG I.....94

**2. METODOS.....94**

**2.1. Etapa pre-experimental.....94**

a) Obtención del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro”.....94

b) Inducción de hipertensión experimental en ratas normotensas, tras la suspensión del tratamiento crónico con propranolol.....95

c) Estandarización de un método invasivo para registro de la presión arterial en ratas en el laboratorio.....95

1. Montaje del sistema cerrado de solución salina heparinizada acoplado al transductor de presión, calibración del preamplificador, amplificador y traducción en el papel milimetrado de registro .....96

2. Calibración del preamplificador y amplificador para registro del ECG en la derivación II en ratas .....96

3. Procedimiento quirúrgico y colocación de catéteres arterial y venoso para registro de presión arterial y administración de drogas respectivamente.....97

d) Estandarización y montaje del sistema de órgano aislado .....99

1. Calibración del polígrafo.....99

2. Preparación de la solución de Krebs.....99

3. Obtención y preparación de los anillos aórticos.....100

4. Montaje del anillo aórtico en el sistema de órgano aislado.....100

2.2. Etapa de estandarización de las ratas.....	100
2.3. Etapa experimental.....	101
2.3.1. Efecto sobre la presión arterial y frecuencia cardiaca en ratas con hipertensión experimental con propranolol anestesiadas, tratadas en forma aguda con diferentes dosis del extracto por método invasivo.....	101
2.3.2. Efecto sobre la presión arterial y frecuencia cardiaca en ratas normotensas anestesiadas, tratadas en forma aguda con diferentes dosis del extracto por método invasivo.....	102
2.3.3. Efecto inhibitor del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” ( <i>Solanum tuberosum L.</i> ) sobre la vasoconstricción inducida por ANG I en anillos aórticos de ratas normotensas.....	103
2.4. Análisis estadístico.....	104
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS.....</b>	<b>105</b>
<b>CAPITULO V: DISCUSION.....</b>	<b>131</b>
<b>CAPITULO VI: CONCLUSIONES.....</b>	<b>154</b>
<b>CAPITULO VII: RECOMENDACIONES.....</b>	<b>156</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>157</b>
<b>ANEXOS:.....</b>	<b>173</b>

## RESUMEN

**RELEVANCIA ETNOFARMACOLOGICA:** *Solanum tuberosum* (papa) es una de las especies utilizadas por la tradición popular en Colombia para el tratamiento de la hipertensión arterial; además, la papa morada (cv. Bora Valley) es usado en la medicina tradicional en Korea para la prevención de enfermedades metabólicas. En estudios previos el extracto etanólico de papa (*Solanum tuberosum*) administrados vía i.v. tanto en ratas hipertensas y normotensas produjo hipotensión arterial; y también el consumo de papa con piel de color morado en humanos hipertensos produjo hipotensión arterial.

**OBJETIVOS:** En el presente trabajo se evaluó *in vivo* los efectos del extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum* L.) (EMPST) administrados vía i.v. en ratas con hipertensión experimental con propranolol y normotensas anestesiadas, sobre los parámetros cardiovasculares (presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) y frecuencia cardíaca (HR)). Además se evaluó *in vitro* el efecto inhibitorio de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) por parte del extracto, en anillos aórticos aislados de rata normotensa colocados en una cámara para órgano aislado.

**MATERIAL Y METODOS:** se indujo hipertensión en veinte ratas (*Rattus norvegicus*, variedad albina Swiss) (grupo experimental), tratados con una solución de propranolol a una dosis de 0.15 mg/100 g de tejido cada 12 h, vía intraperitoneal (i.p.) durante 21 días; paralelamente a seis ratas (grupo control), se les administró placebo (agua destilada) en el volumen correspondiente vía i.p. la misma cantidad de días. Trascurrido el tratamiento se suspendió el mismo, y se esperó entre veinte a treinta días para el propósito. Las ratas con hipertensión experimental con propranolol (n=6) fueron inyectados vía i.v. con el EMPST (1mg/kg; 5mg/kg, 10mg/kg y 15 mg/kg), en dosis consecutivas. Las ratas normotensas (n=6) fueron inyectados vía i.v. con EMPST (10 mg/kg; 30 mg/kg y 50 mg/kg), en dosis consecutivas. En ambos experimentos se registró la MAP, SBP, DBP por método invasivo (cateterismo carotideo) y la HR. Finalmente, tras la vasoconstricción inicial con angiotensina I (ANG I  $10^{-8}$  M), incubación con los inhibidores (EMPST (0.1 µg/ml, 1 µg/ml, 10 µg/ml y 100 µg/ml de pozo), Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M y solución de Krebs), posteriormente se indujo una segunda vasoconstricción con ANG I  $10^{-8}$  M.

**RESULTADOS:** Se produjo hipertensión experimental en ratas normotensas, tras la suspensión entre 20 a 30 días del tratamiento crónico con propranolol a dosis de 0.15mg/100 g de tejido c/12 h vía i.p. por 21 días. El EMPST ejerce efecto hipotensor dosis dependiente (1-15 mg/kg i.v.) en ratas con hipertensión experimental con propranolol anestesiadas, con una duración aproximada de 20 minutos, para la mayor dosis; y un efecto bradicardizante a partir de 5 mg/kg sin diferencia significativa entre las dosis mayores estudiadas. El EMPST ejerce efecto hipotensor dosis dependiente (10-50 mg/kg i.v.) en ratas normotensas anestesiadas, con una duración aproximada de 60 minutos, para la mayor dosis, sin alteración de la frecuencia cardiaca; adicionalmente se observó un efecto hipertensor inicial momentáneo tras los 30 segundos de la administración de las dosis estudiadas con una duración de 30 segundos aproximadamente. Finalmente el EMPST ejerce un efecto inhibidor de la vasoconstricción con ANG I  $10^{-8}$ M en pozo, dosis dependiente (0.1-100  $\mu$ g/ml de pozo), siendo mayor el efecto a la menor dosis (0.1  $\mu$ g/ml); y de acción similar al Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M (inhibidor de la ACE).

**CONCLUSIONES:** Se obtuvo un modelo de hipertensión experimental, probablemente con renina alto. Además, el efecto hipotensor del EMPST administrado vía i.v. tanto en ratas con hipertensión experimental con propranolol y normotensas en parte sería por inhibición de la ACE.

**PALABRAS CLAVES:** uso tradicional, Solanum tuberosum, hipertensión experimental, propranolol, efecto hipotensor, inhibición de la ACE.

## ABSTRACT

**Ethnopharmacological Relevance:** *Solanum tuberosum* (potato) is one of the species used by the popular tradition in Colombia for the treatment of hypertension; moreover, purple potato (cv. Bora Valley) is used in traditional medicine in Korea for the prevention of metabolic diseases. In previous studies the ethanol extract of potato (*Solanum tuberosum*) administered intravenously both hypertensive and normotensive rats induced hypotension; and consumption potato with purple skin in hypertensive humans produced hypotension.

**Aim:** The present work was evaluated in vivo the effects of methanol extract of potato skin "black back" (*Solanum tuberosum* L.) (EMPST) administered intravenously in rats with experimental hypertension with propranolol and anesthetized normotensive, on cardiovascular parameters (mean arterial pressure (MAP), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and heart rate (HR)). Additionally assessed in vitro the inhibitory effect of angiotensin converting enzyme (ACE) by the extract, in isolated aortic rings of normotensive rat placed in a chamber for isolated organ.

**Material And Methods:** Twenty hypertension was induced in rats (*Rattus norvegicus*, Swiss albino variety) (experimental group), treated with a solution of propranolol at a dose of 0.15 mg / 100 g tissue every 12 h, intraperitoneally (ip) for 21 days; parallel to six rats (control group) were administered placebo (distilled water) in the corresponding volume ip the same number of days. Elapsed treatment it was stopped, and waited between twenty to thirty days for the purpose. Rats with experimental hypertension with propranolol (n = 6) were injected intravenously with EMPST (1mg / kg; 5mg / kg, 10mg / kg and 15 mg / kg), in consecutive doses. Normotensive rats (n = 6) were injected intravenously with EMPST (10 mg / kg; 30 mg / kg and 50 mg / kg), in consecutive doses. In both experiments the MAP, SBP, DBP was recorded by invasive method (carotid catheterization) and HR. Finally, after the initial vasoconstriction with angiotensin I (Ang I  $10^{-8}$  M), incubation with inhibitors (EMPST (0.1 $\mu$ g / ml, 1  $\mu$ g / ml, 10  $\mu$ g / ml and 100 $\mu$  / ml

well),  $2 \times 10^{-4}$  M Captopril and Krebs), then a second vasoconstriction was induced by ANG I  $10^{-8}$  M.

**Results:** There was experimental hypertension in normotensive rats, following the suspension between 20-30 days of chronic treatment with propranolol at doses of 0.15 mg / 100 g tissue c / 12 h ip for 21 days. The EMPST exerts dose-dependent hypotensive effect (1-15 mg / kg iv) in rats with experimental hypertension with propranolol anesthetized with an approximate duration of 20 minutes, to the highest dose; and bradycardic effect from 5 mg / kg with no significant difference between the studied higher doses. The EMPST exerts dose-dependent hypotensive effect (10-50 mg / kg iv) in normotensive rats anesthetized with an approximate duration of 60 minutes, to the highest dose without changes in heart rate; additionally a momentary initial hypertensive effect was observed 30 seconds after the administration of the doses studied with a duration of approximately 30 seconds. Finally EMPST exerts an inhibitory effect of ANG I  $10^{-8}$ M vasoconstriction in well, dose dependent (0.1-100  $\mu$ g / ml well), the effect being greater at the lower dose (0.1  $\mu$ g / ml); and action similar to  $2 \times 10^{-4}$  M captopril (ACE inhibitor).

**Conclusions:** an experimental model of hypertension, probably with high renin was obtained. In addition, the hypotensive effect of intravenously administered EMPST both rats with experimental hypertension and normotensive propranolol would be partly by inhibition of ACE.

**Keywords:** traditional use, *Solanum tuberosum*, experimental hypertension, propranolol, hypotensive effect, inhibition of ACE.

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

#### I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION

##### 1. FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA

La hipertensión arterial es la condición más común, vista en la atención primaria, y conduce a infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, falla renal y muerte si no es detectado a tiempo y tratado apropiadamente. (James P.A., et al., 2014).

En Estados Unidos la prevalencia de hipertensión es del 33% en adultos mayores o iguales a 20 años; esto representa 78 millones de adultos con hipertensión. Los afroamericanos tienen una prevalencia de 44%, la más alta del mundo (Go, A. et al., 2013). La prevalencia de hipertensión arterial en Latinoamérica se encuentra entre el 20 y el 30% para la población adulta (Armas, M. et al., 2006). En el Perú la prevalencia de hipertensión arterial es de 23.7% (Agusti C. R., 2006).

Hay pruebas convincentes de que el sistema renina-angiotensina (RAS) juega un papel importante tanto en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular y la patogénesis de enfermedades cardiovasculares, enfermedades que van desde la hipertensión a la insuficiencia cardíaca (Barry G., 2008). La enzima convertidora de angiotensina (ACE) esta extensamente distribuida en la mayoría de los órganos de mamíferos, especialmente en el pulmón (Soffer R. L., 1976). La ACE juega un papel importante en el RAS y consecuentemente en la regulación de la presión arterial (BP), balance hídrico - electrolítico, función vascular y crecimiento celular (Kim S. y Iwao H., 2000). En el RAS, la ACE escinde el dipeptido C- terminal Histidina -Leucina del decapeptido biológicamente inactivo Angiotensina I (ANG I) para producir un potente vasoconstrictor, angiotensina II (ANG II) (Soffer R. L., 1976). La ANG II a través de las interacciones con los receptores específicos, y en particular del receptor tipo 1 (AT1) estimula una amplia variedad de señalización en el corazón, los vasos sanguíneos, los riñones y el cerebro para iniciar la mayoría de los efectos fisiológicos y fisiopatológicos que se han atribuido al RAS. (Barry G., 2008). La ANG II, aparte de su acción vasopresora, también incrementa la síntesis y liberación de aldosterona de la corteza suprarrenal, lo que provoca retención de agua y

sodio en el túbulo distal (Kim S. y Iwao H., 2000). Además en el sistema Cininacalicioreina, la ACE media la hidrólisis de Bradicinina, una sustancia que disminuye la presión arterial por vasodilatación y natriuresis. (Erdox E.G., 1977; Vanhoutte D.M., 1989; Stein J. H., et. al., 1972). La inhibición de la ACE disminuye la formación de ANG II y la degradación de bradisinina y subsecuentemente provoca incremento de la diuresis y una caída de la BP (Wong J., et. al., 2004).

En el tratamiento de la hipertensión, la mayoría de los pacientes, además del seguimiento de medidas no farmacológicas, requiere medicación (Moser M., 2005). Hay abundantes pruebas de los ensayos controlados aleatorios, que han demostrado el beneficio del tratamiento antihipertensivo, en la reducción importante de las complicaciones en personas con hipertensión (Staessen J.A., et. al., 1997; Beckett N.S., et.al., 2008; SHEP Cooperative Research Group, 1991). En cuanto al tratamiento farmacológico; en la población en general, excepto de raza negra, incluidas las personas con diabetes, el tratamiento antihipertensivo inicial debe incluir un diurético tiazídico, bloqueante de los canales de calcio (CCB), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACEI) o bloqueador del receptor de angiotensina (ARB). (Recomendación moderada - Grado B). (James P.A., et. al., 2014).

Por lo tanto, la inhibición de la ACE es un enfoque terapéutico efectivo para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, y muchos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACEIs) sintéticos como Captopril, Enalapril, Lisinopril y Ramipril son ampliamente utilizados en la clínica para el tratamiento de la hipertensión (Wong J., et. al., 2004). Sin embargo, los ACEIs sintéticos pueden tener efectos secundarios como tos, alteración del gusto, angioedema, defectos fetales, hipotensión cuando se combina con diuréticos, nitratos o  $\alpha$ -bloqueantes; hiperpotasemia en individuos con función renal reducida, etc. (Messerli, F. H., 1999; Izzo Jr, J. L., y Weir, M. R., 2011).

Considerando que aún los productos naturales son fuente directa o indirecta de al menos 50% de los fármacos disponibles (Newman D.J., 2003), que constituye la fuente de mayor diversidad química y que se dispone de técnicas eficientes no solo para identificarlos químicamente, sino para evaluarlos farmacológicamente, cabe plantear la posibilidad de encontrar alternativas terapéuticas de origen natural que contribuyan a reducir el impacto de la hipertensión. Es así que, además de las drogas sintéticas, otros ACEIs putativos aislados

de fuentes naturales, como los taninos (Liu J.C., et al., 2003), flavonoides (Kameda K., et al., 1987; Nileeka Balasuriya B.W. y Vasantha Rupasinghe H.P., 2011), péptidos y aminoácidos (Yang Y., et al., 2003; Motoi, H. y Kodama, T., 2003; Suetsuna K., et al., 2004; Bauw, G., et al., 2006) también se han desarrollado.

La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los principales cultivos alimentarios importantes del mundo y los tubérculos son una buena fuente de hidratos de carbono (almidón), proteínas, vitamina C, además de otros constituyentes. Como producto de origen vegetal también contienen metabolitos secundarios (fitoquímicos) que se ha comprobado que tienen beneficios para la salud (Ezequiel et al, 2013), lo que significa que la papa puede ser considerado un alimento funcional. La piel de papa de color contiene diferentes fitoquímicos, entre ellos destacan los flavonoides (antocianinas).

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas (Miyazawa *et al.*, 1999) y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo (Garzon G. A., 2008). *Solanum tuberosum* (papa) es una de las especies utilizadas por la tradición popular en Colombia para el tratamiento de la hipertensión arterial (García Barriga H., 1992). Escasos trabajos tanto experimentales como clínicos han demostrado su efecto hipotensor. Es así, que nos proponemos a corroborar y aclarar el mecanismo por el cual el extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum* L.) disminuye la presión arterial.

## 2. HIPOTESIS

**H<sub>1</sub>:** El extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum* L.) ejerce hipotensión por inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en ratas con hipertensión experimental y normotensas.

$H_0$ : El extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) no ejerce hipotensión por inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en ratas con hipertensión experimental y normotensas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **A. OBJETIVO GENERAL**

Determinar si el efecto hipotensor del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) es por inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en ratas con hipertensión experimental y normotensas.

#### **B. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- a) Estandarización de un método invasivo para registro de la presión arterial en ratas anestesiadas en el laboratorio.
- b) Estandarización de un método de estudio *in vitro* para registro de la respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora en anillos aórticos aislados de rata en el laboratorio.
- c) Producir hipertensión experimental en ratas mediante la administración de propranolol por 21 días y su posterior suspensión durante 30 días.
- d) Determinar la actividad que ejerce el extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) sobre los parámetros cardiovasculares (SBP, DBP, MAP Y HR) de ratas con hipertensión experimental con Propranolol.
- e) Determinar el efecto del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) sobre los parámetros cardiovasculares (SBP, DBP, MAP Y HR) de ratas normotensas.

f) Determinar el efecto inhibitor del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) sobre la vasoconstricción inducida por ANG I en anillos aórticos de ratas normotensas.

#### 4. VARIABLES DE ESTUDIO

##### VARIABLES INDEPENDIENTES

1. Tratamiento crónico con propranolol en ratas normotensas.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Administración intraperitoneal	mg/Kg de peso	Razón

2. Tratamiento agudo con diferentes dosis del extracto, en ratas anestesiadas con hipertensión experimental con propranolol.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Administración intravenosa	mg/Kg de peso	Razón

3. Tratamiento agudo con diferentes dosis del extracto, en ratas normotensas anestesiadas

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Administración intravenosa	mg/Kg de peso	Razón

4. Incubación con diferentes dosis del extracto, en pozo de cámara de órgano aislado conteniendo los anillos aórticos de rata normotensa tras la vasoconstricción inicial con angiotensina I.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Administración del extracto en pozo	µg/ml de pozo	Ordinal

##### VARIABLES DEPENDIENTES

1. Presión arterial media (MAP) después de la suspensión brusca del tratamiento crónico con propranolol en ratas normotensas anestesiadas.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento de la MAP	mmHg	razón

2. Presión arterial media (MAP) en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida con propranolol tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la MAP	mmHg	razón

3. Presión arterial sistólica (SBP) en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida con propranolol tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la SBP	mmHg	razón

4. Presión arterial diastólica (DBP) en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida con propranolol tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la DBP	mmHg	razón

5. Frecuencia Cardíaca (HR) en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida con propranolol tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la HR	Latidos por minuto (bpm)	razón

6. Presión arterial media (MAP) en ratas normotensas anestesiadas tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la MAP	mmHg	razón

7. Presión arterial sistólica (SBP) en ratas normotensas anestesiadas tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la SBP	mmHg	razón

8. Presión arterial diastólica (DBP) en ratas normotensas anestesiadas tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la DBP	mmHg	razón

9. Frecuencia Cardíaca (HR) en ratas normotensas anestesiadas tras administración intravenosa de diferentes dosis del extracto.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Aumento o disminución de la HR	bpm	razón

10. Grado de vasoconstricción de anillos aórticos de rata normotensa, tras la incubación en pozo con diferentes dosis del extracto después de la primera vasoconstricción con angiotensina I.

INDICADOR	UNIDAD	Escala
Vasoconstricción	%	razón

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEORICO**

#### **1. LA PAPA (*Solanum tuberosum* L.)**

##### **1.1. GENERALIDADES**

La papa es el cuarto cultivo alimenticio más importante del mundo después del maíz, el arroz y el trigo. En el 2010 la producción mundial de papa fue de 324,420,782 toneladas. Entre los principales productores mundiales de papa se encuentra en primer lugar China, con una producción promedio de 68,206,679 toneladas en los últimos 10 años; en segundo lugar Rusia, con 33,475,791 toneladas en promedio; la India ocupa el tercer lugar con una producción media de 28,634,018 toneladas por año; el cuarto lugar es ocupado por los Estados Unidos cuya producción promedio por año fue 20,142,327 toneladas y finalmente ocupando el quinto lugar encontramos a Ucrania con una producción media de 18,996,082 toneladas en los últimos 10 años (FAO, 2013).

A nivel de Sudamérica el Perú produce el 26,6% del total del cultivo, por lo que según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), lo ubica como el mayor productor de esta región, superando a Brasil (25,1%), Colombia (14,8%) y Argentina (14,0%). Aunque, en el ámbito mundial la producción peruana representa solo el 1,2%. En el Perú la papa es el cultivo alimenticio más importante, tanto en producción como en superficie sembrada y representa el 25% del PBI agropecuario. Es la base de la alimentación de la zona andina. La producción peruana de papa y su consumo ha aumentado a un ritmo estable en los últimos siete años. Entre el 2004 y 2011, la producción del tubérculo pasó de 3,01 millones de toneladas a 4,01 millones de toneladas, lo que significó un crecimiento 3,3% en el promedio anual, mientras que el consumo per cápita creció de 67 Kg. a 83 Kg. (8,9% de incremento). La papa se cultiva en 19 de los 24 departamentos del Perú, desde el nivel del mar hasta los 4200 metros de altura, ubicándose principalmente entre los 2,300 y 4,100 msnm. La producción de papa se obtiene mayormente del interior del país, concentrando el 98% de la producción nacional: Puno, Junín, Cusco, Huánuco, La Libertad, Cajamarca, Ayacucho, Apurímac, Huancavelica,

Pasco, Ancash, Arequipa, Amazonas, Ica, Tacna, Piura, Moquegua y Lambayeque; mientras que Lima sólo representa el 2% (Agencia Agraria de Noticias, 2013).

## 1.2. ORIGEN Y DOMESTICACIÓN DE LA PAPA CULTIVADA

Datos obtenidos con el carbono radiactivo, han demostrado que la papa fue domesticada hace 10,000 años, en el altiplano, al sureste de Perú y noroeste de Bolivia (Engel, 1964). En esta zona el número y la diversidad de especies cultivadas y silvestres es muy alto, las especies de papa más antiguas del mundo se encuentran cerca del lago Titicaca, con latitudes de 10-20° sur y altitudes que oscilan entre 3000-4000 msnm. Una evidencia más es que en los Andes se pueden encontrar especies con cromosomas diploides a pentaploides encontrándose la mayoría alrededor del lago Titicaca en la región de Perú y Bolivia (Ochoa, 1990; Ugent 1970; Hawkes, 1963; y Bukasov, 1973).

Hawkes (1979), postula a *S. leptophyes* como el ancestro de *S. stenotomum* y esta por cruzamiento natural con *S. sparcipilum*, dio origen a la papa cultivada *S. tuberosum ssp. andigena*, que fue llevado por los antepasados al sur de Chile, donde se adaptó a los días largos dando a la *subespecietuberosum* (*S. tuberosum ssp. tuberosum*, grupo *Chilotanum*).

Según Grun (1990) las especies diploides del complejo *Solanum stenotomum*, se originaron probablemente de progenitores silvestres pertenecientes al complejo *S. brevicaulle*. Sukhotu, et.al, 2005; Sukhotu y Hosaka, 2006, en base al análisis de sitios de restricción de DNA nuclear y cloroplástico plantean que *Solanum stenotomum*, se originó a partir de las especies de *S. bukasovii*, *S. canasense*, y *S. multidissectum* (pertenecientes al complejo *S. brevicaulle*), las cuales tienen en común el haplotipo s-ct-DNA. En este punto coinciden con Hawkes al considerar a *S. stenotomum* como la primera papa domesticada en el Perú, la cual posteriormente se habría dispersado a Bolivia.

*S. stenotomum* dio origen a *S. phureja*, actualmente, *S. phureja* se distribuye ampliamente en una larga y estrecha franja de los Andes, desde Venezuela hasta el centro de Bolivia, mientras que *S. stenotomum* está restringida sólo a Perú y Bolivia (Sukhotu y Hosaka, 2006).

*S. andigena* proviene de *S. stenotomum* a través de repetidos procesos de poliploidización sexual ocurridos en diversos lugares, con la consiguiente hibridación interespecífica e intervarietal a través de cruces ( $4x \times 4x$ ) y/o ( $2x \times 4x$  ó  $4x \times 2x$ ) (Sukhotu y Hosaka, 2006). La *subespecie andigena*, fue introducido en Europa a través de España en 1570, aunque según Hawkes se produjo una segunda entrada por Inglaterra. Esta subespecie fue prácticamente eliminada en 1840 a causa del ataque del tizón tardío (*Phitophthora infestans*), por lo que fue reemplazado y se introdujo desde Chile a Europa la *subespecie tuberosum* (*S. tuberosum ssp. tuberosum*, papa tetraploide actual).

Hawkes (1990) y Hosaka (2003), afirman que los cultivares chilenos nativos se derivaron secundariamente de los cultivares andinos, probablemente después de la hibridación de estos con especies bolivianas o argentinas de *S. tarijense*. Spooner *et al.* (2005), afirman que tanto las papas del grupo Andigena como las Chilotanum derivan del complejo *brevicaule*.

Ghislain *et al.* (2009) encontraron que el germoplasma *Neo-tuberosum* está estrechamente relacionado con el grupo Chilotanum (variedades de las tierras bajas de la región centro-sur de Chile), y en menor grado con el germoplasma del grupo Andigena.

Sponner *et al.* (2007), agruparon a todas las papas andinas, independientemente de su ploidia, como *S. tuberosum* grupo *andigena*. (*S. tuberosum* L.)

Actualmente, las distintas variedades cultivadas se encuentran agrupadas dentro de la especie *Solanum tuberosum* L. (Sponner *et al.*, 2007; Andre *et al.*, 2007).

Entre las especies cultivadas sobresalen *S. tuberosum* (tetraploide) que cubre 98% de la superficie global de papa con sus dos subespecies (ssp.) *tuberosum* y *andigena*.

### **1.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA PAPA CULTIVADA**

Las especies de papas cultivadas y silvestres están clasificadas dentro de la siguiente posición taxonómica. (Adaptado de Ochoa, 1999)

Reino: Vegetal

División: Fanerógamas

Subdivisión: Angiospermas

Clase: Dicotiledóneas

Subclase: Simpétala

Orden: Tubifloríneas

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum*

Sección: Petota

Subsección: Potatoe

Especie: *Solanum* ssp.

La papa pertenece al género *Solanum* dentro de la familia de las solanáceas donde también se encuentran el tomate (*Lycopersicon esculentum*), el ají (*Capsicum* spp.), la petunia (*Petunia* spp.), el tamarillo (*Cyphomandra* spp.), el tabaco (*Nicotiana Tabacum*) y otras especies con bayas venenosas (Hawkes, 1992).

A su vez, el género *Solanum* alberga más de 2000 especies (Sevilla y Holle, 2004), la mayoría de las cuales son especies no tuberizantes como el pepino (*S. muricatum*), la berenjena (*S. melongena*), el naranjillo (*S. quitoense*), la mora negra (*S. nigrum*), y muchas malas hierbas y arbustos. Solo una parte reducida del género *Solanum* se encuentra conformado por especies que forman tubérculos o tuberizantes (sección *Petota*, subsección *Potatoe*) a las que se denomina papa.

Existen alrededor de 190 especies de papa silvestre taxonómicamente distintas (Spooner y Salas, 2006) las cuales poseen un número base de cromosomas ( $x = 12$ ) y tienen una rango que varía desde diploides ( $2n = 2x = 24$ ) hasta hexaploides ( $2n = 6x = 72$ ) (Hawkes, 1994). Todas estas especies existen solo en América: crecen desde el sur de los Estados Unidos, a través de México, América Central, los países andinos, hasta el sur de Chile. Se encuentran desde el nivel del mar hasta más de 4 000 metros de altitud (Huamán, 1986).

El centro internacional de la papa (CIP), adoptó la clasificación taxonómica tradicional, realizada por Huamán (1986); según este investigador, existen 8 especies de papa cultivada, que son: *S. stenotomum* (2x), *S. goniocalix* (2x), *S. phureja* (2x), *S. ajanhuiri* (2x), *S. juzepczukii* (3x), *S. chaucha* (3x), *S. tuberosum* (4x) y *S. curtilobum* (5x).

Sin embargo, la última clasificación taxonómica realizada por Spooner *et al.*, (2007) reclasifica a la papa cultivada en cuatro especies: (i) *S. tuberosum*, con dos grupos de cultivares (grupo Andigena con variedades diploides, triploides y tetraploides de la región altoandina, y grupo Chilotanum con variedades tetraploides de las tierras bajas chilenas); (ii) *S. ajanhuiri* (diploide), (iii) *S. juzepczukii* (triploide) y (iv) *S. curtilobum* (pentaploide).

Se han calculado que hay aproximadamente unas 5000 variedades de papas cultivadas en el mundo, la mayoría de las cuales crecen principalmente en los Andes de Perú, Bolivia, Ecuador, Chile, y Colombia (Ochoa, 1999). Presentan un inmenso rango de formas, tamaños y colores, que van desde el blanco hasta el rojo y negro. En el banco de germoplasma del CIP se encuentran resguardados cerca del 80 % de los cultivares nativos y 50 % de los parientes silvestres.

De todas las especies cultivadas solamente *S. tuberosum ssp. Tuberosum* (*S. tuberosum* Grupo Chilotanum) se encuentra mundialmente distribuida, debido a su adaptación a días largos, las demás están restringidas a los países andinos, principalmente adaptadas a días cortos, en donde se encuentran millares de cultivares nativos (Huamán, 1986).

#### 1.4. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA PAPA (Egusquiza, B. R.; 2000)

##### 1.4.1. LA PLANTA

La planta de papa es de naturaleza herbácea, consta de frutos, inflorescencia, hojas, tallo aéreo, estolón, tubérculo, raíz. Presenta un sistema aéreo (con función de crecimiento, fotosíntesis y reproducción) y un sistema subterráneo (con función de absorción de agua y nutrientes, almacenamiento). **Figura 1.**

##### 1.4.2. EL BROTE

El brote es un tallo que se origina en el “ojo” del tubérculo. El tamaño y apariencia del brote varía según las condiciones en las que se ha almacenado el tubérculo. Cuando se

siembra el tubérculo los brotes aceleran su crecimiento y, al salir a la superficie del suelo, se convierte en tallos.

### **1.4.3. EL TALLO**

La papa es un conjunto de tallos aéreos (tallo principal, tallo secundario, tallo estolonífero, rama) y tallos subterráneos (estolón, tubérculo, semilla). La planta de papa es un conjunto de tallos especializados para sostener hojas y flores (tallos aéreos), transportar azúcares (estolones) y almacenar almidones (tubérculos).

### **1.4.4. LA RAIZ**

La raíz es la estructura subterránea responsable de la absorción de agua. Se origina en los nudos de los tallos subterráneos y en conjunto forma un sistema fibroso.

### **1.4.5. LA HOJA**

La hoja es la estructura que sirve para captar y transformar la energía lumínica (luz solar) en energía alimenticia (azúcares y almidón).

### **1.4.6. LA FLOR**

La flor es la estructura aérea que cumple funciones de reproducción sexual. Las características de la flor tienen importancia para la diferenciación y reconocimiento de variedades. Las flores se presentan en grupos que conforman la inflorescencia. Las numerosas especies y variedades de papa ofrecen una gran variación de características en la floración y en los elementos de la flor. Las características de la flor son constantes pero la floración y la fertilidad del polen y del óvulo pueden ser modificadas por el ambiente.

### **1.4.7. EL FRUTO Y LA SEMILLA**

El fruto o baya (semilla sexual y placenta) de la papa se origina por el desarrollo del ovario. La semilla, conocida también como semilla sexual, es el óvulo fecundado, desarrollado y maduro. El número de semillas por fruto puede variar desde cero (nada) hasta 400. Cada semilla tiene la fecundidad de originar una planta que, adecuadamente aprovechada, puede producir cosechas satisfactorias.

#### 1.4.8. EL ESTOLON

Es un tallo especializado en el transporte de las sustancias (azúcares) producidas en las hojas y que se almacenarán en el tubérculo en forma de almidones. El número y longitud de los estolones depende de la variedad, del número de tallos subterráneos y de todas las condiciones que afectan el crecimiento de la planta.

#### 1.4.9. EL TUBÉRCULO

El tubérculo es la porción apical del estolón cuyo crecimiento es fuertemente comprimido y orientado hacia los costados (expansión lateral). El tubérculo de papa es el tallo subterráneo especializado para el almacenamiento de los excedentes de energía (almidón).

Elementos externos del tubérculo: Tercio apical, central y proximal. Tiene lenticelas, cejas, pestañas, estolón en la basal.

Elementos internos del tubérculo: Piel, corteza, parénquima de reserva, medula, haz vascular, ojo. ( **figura 2**); además véase la morfología de la papa “lomo negro” (**figura 3**).

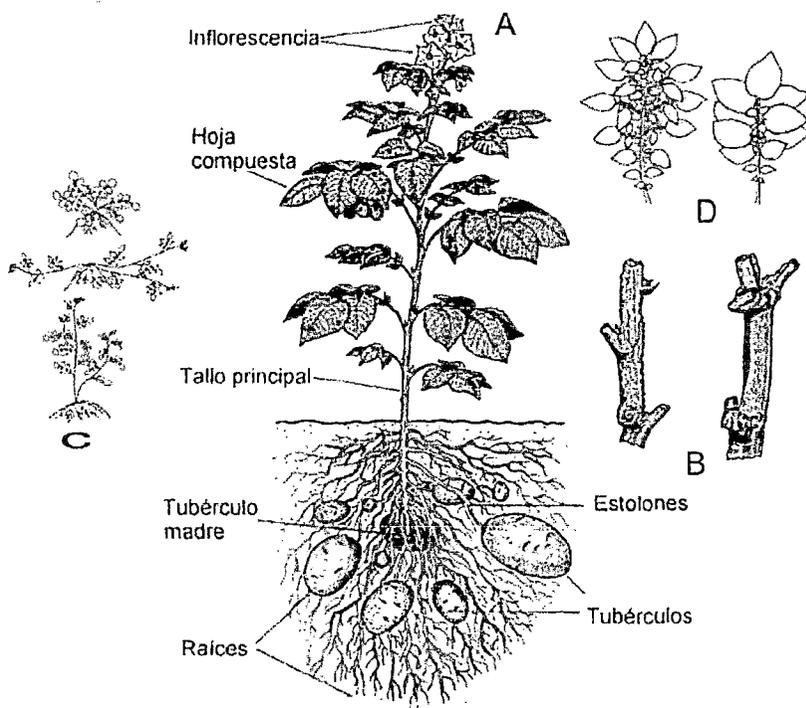


Figura 1. Morfología de la planta de papa.

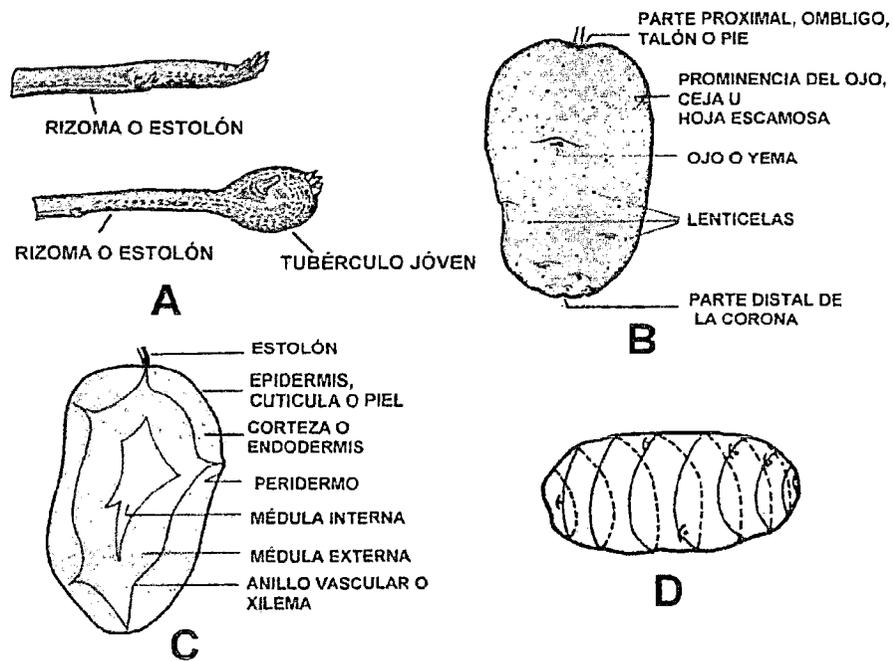


Figura 2. Morfología del tubérculo.

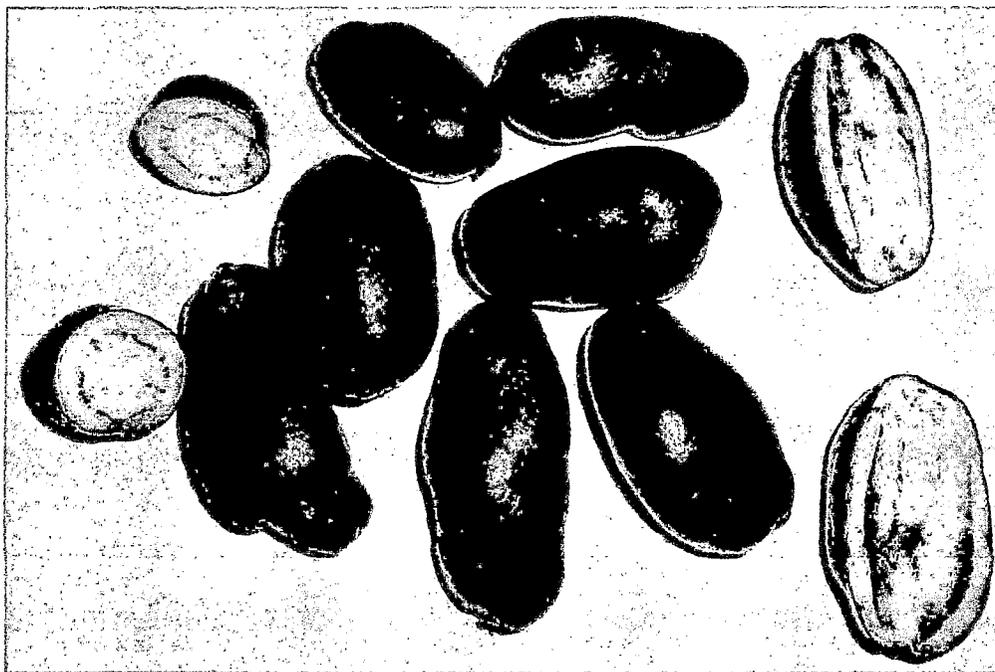


Figura 3. Tubérculos de papa "lomo negro", procedente de Yunguyo- Puno. Se observan cortes transversales y longitudinales, donde se evidencia coloración morada en zonas del anillo vascular y la médula.

#### 1.4.10. LOS WARU WARU O CAMELLONES

La segunda tecnología de manejo de suelo y agua desarrollada en el altiplano son los waru waru, conocidos también como camellones o campos elevados. A diferencia de las qochas, se encuentran en las zonas más bajas y menos inclinadas del altiplano, entre los 3,800 y 3,850 m.s.n.m. Acá las antiguas poblaciones tuvieron que enfrentar otro tipo de riesgo en los contornos del lago Titicaca y sus ríos tributarios: las inundaciones. Para ello inventaron estos surcos gigantes, de 4 a 10 m. de ancho por 100 a más de largo y 1 m. de altura, que facilitara el drenaje, mejoraban la fertilidad del suelo y causaban un espejo de agua que protegía las plantas contra el granizo y las heladas. Esta tecnología, inventada en el año 1,300 a.C. (Erickson 1996: 154), se encuentra dispersa en una extensión de 142,000 ha., e investigaciones recientes han demostrado que permiten, por ejemplo, un rendimiento de papa en más del 40% en comparación con la producción en las laderas o la pampa. Se trata, efectivamente, de grandes surcos diseñados para una irrigación de drenaje dispersos en miles de hectáreas distribuidas en las orillas del lago Titicaca, completamente abandonadas desde el siglo XVI, y que por la magnitud de los trabajos se postuló inicialmente que fueron construidos y utilizados sólo durante los períodos tardíos precoloniales. El descubrimiento de los campos elevados abrió una nueva perspectiva en el estudio de las bases económicas de las sociedades altiplánicas, tanto por enfatizar en los recursos agrícolas de altura -un poco descuidados por el peso que tradicionalmente se le dio a la ganadería-, cuanto porque significaban una tecnología sofisticada y apropiada a un medio ambiente difícil que reflejaban un alto nivel de desarrollo de las sociedades de la región, además de la coherencia en la solución de los problemas suscitados por las limitaciones del medio ambiente altiplánico (Mujica E., 1997).

Si bien el primero en llamar la atención sobre la existencia de este sistemas agrícolas fue el etnógrafo sueco Erland Nordenskiöld a principios de siglo con sus estudios en los Llanos de Mojos, al noreste de Bolivia (cf. Denevan 1967: 93), el inicio de las investigaciones sistemáticas se la debemos a los geógrafos William M. Denevan, Patrick Hamilton, James J. Parsons y Clifford 9 Smith, quienes a partir de estudios de campo y de fotointerpretación describieron los llamados "campos elevados", "camellones", waru waru o kurus (Parsons y Denevan 1967; Smith, Denevan y Hamilton 1968, 1981; Denevan 1970, 1980, 1986). Desde mediados de la década de los 70' los estudios sobre los campos elevados fueron

intensificados desde distintas perspectivas. Le debemos a Thomas Lennon (1982, 1983) el estudio de las condiciones geográficas de su construcción y funcionamiento. Pero, fue Clark Erickson quien inició el estudio desde una perspectiva netamente arqueológica, excavando camellones en la orilla norte del lago con la intención de reconstruir los sistemas constructivos, afiliación cultural y correlaciones sociales, llegando a comprobar -entre otras cosas- que la construcción y uso de camellones fueron iniciados antes del desarrollo de la cultura Pukara (Erickson 1982, 1984, 1985, 1986a, 1987, 1988a, 1992, 1996; Candler y Erickson 1987; Erickson y Candler 1989) (Mujica E., 1997).

Es importante resaltar el esfuerzo dedicado a la recuperación de los antiguos camellones para su utilización contemporánea. A diferencia de los andenes, arqueólogos, biólogos, antropólogos y sociólogos se han dado la mano para, a través de la experimentación, reconstruir camellones conjuntamente con comunidades indígenas de la región, y reutilizarlos empleando la tecnología tradicional (Erickson 1983, 1986b, 1986c, 1986d, 1988b; Erickson y Brinkmeier 1991; Garaycochea 1982, 1984, 1986a, 1986b, 1986c, 1987a, 1987b; Garaycochea et al. 1987; Dietschy 1984; Brinkmeier 1985; Ramos 1986b, 1986c; Guillet 1986; Arce 1987) (Mujica E., 1997).



Figura 4. Los Camellones o Waru Waru, donde se observa el cultivo de la papa.

## 1.5. VALOR NUTRICIONAL DE LA PAPA

Las propiedades nutricionales de la papa la hacen uno de los principales cultivos del mundo. Principalmente está compuesta de agua (75%); un alto contenido de carbohidratos

(20%), representada básicamente por almidón y en menor cantidad por fibras dietéticas; proteínas (2%); una ínfima cantidad de grasas (0.01%); y una gran cantidad de micronutrientes como las vitaminas, minerales y antioxidantes (**cuadro 1**).

Adicionalmente, su contenido proteico es particularmente valioso debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales, lo que no es común en las proteínas de otras plantas. En ello se asemeja a las proteínas de la leche y es sorprendente como se complementa con otras proteínas como las de la soja (Estrada, 2000).

**Cuadro 1.** Valor nutricional de la papa cruda sin cocinar. Tomado de la base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2011).

Valor nutricional por cada 100 g de papa cruda con cáscara	
Energía 80 Kcal (320 kJ)	
Carbohidratos	19 g
- Almidón	15 g
- Fibra dietética	2.5 g
Grasas	0.1 g
Proteínas	2 g
Agua	75 g
Tiamina (Vit. B1)	0.08 mg
Riboflavina (Vit. B2)	0.03 mg
Niacina (Vit. B3)	1.1 mg
Vitamina B6	0.25 mg
Vitamina C	20 mg
Calcio	12 mg
Hierro	1.8 mg
Magnesio	23 mg
Fósforo	57 mg
Potasio	421 mg
Sodio	6 mg

## 1.6. FITOQUIMICOS DE LA PAPA

### 1.6.1. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenolicos son una clase extremadamente heterogenea de metabolitos secundarios de la planta, pueden en general clasificarse en acidos fenolicos y flavonoides.

Los compuestos fenolicos protegen a las plantas contra el estrés biótico causado por herbívoros, insectos y patógenos como bacterias, hongos y virus, también contra daños tisulares causados por excesiva luz ultravioleta y radicales libres (Friedman 1997, Pourcel et.al, 2007). A continuación se describen los compuestos fenólicos presentes en los tuberculos de papa (Schieber, A., y Saldaña, M.; 2009):

- **Ácidos hidroxicinámicos:** ácido clorogénico (A), ácido criptoclorogenico, ácido neoclorogenico, ácido cafeico (B), ácido p-coumarinico (C) y ácido ferúlico (D)

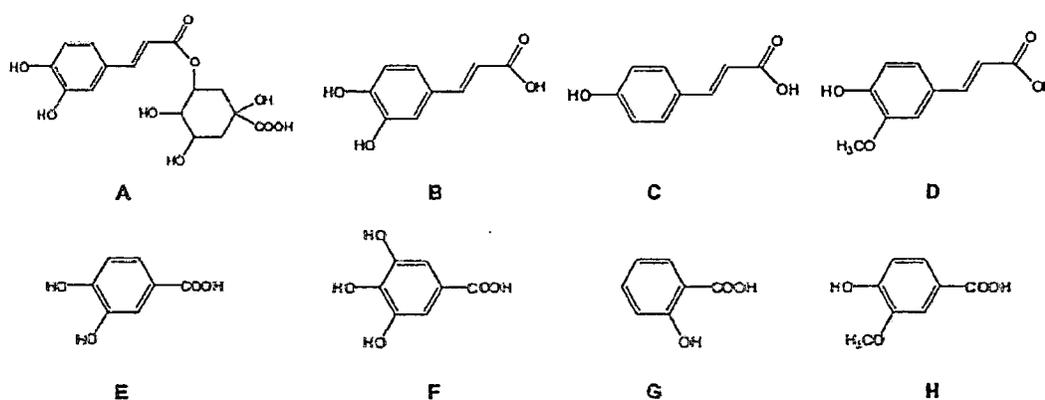
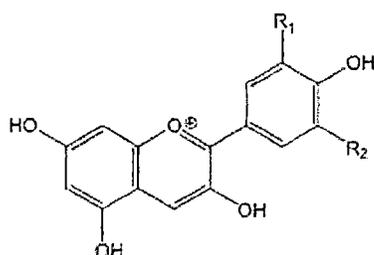


Figura 5. Estructura de los acidos hidroxicinámicos (A-D) y acidos hidroxibenzoicos (E-H) encontrados en la piel de papa.

- **Ácidos hidroxibenzoicos:** ácido gallico (F), ácido protocatequico (E), ácido vanillico (H) y ácido salicílico (G)
- **Flavonoides no antocianinas:** catequina, epicatequina, eriodictiol, naringenin, glicosidos kaemferol y glicosidos quercetina.
- **Antocianinas:** petunidin glicosido, malvidin glicosido, pelargonidin glicosido y peonidin glicosido.



Aglycone	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Pelargonidin	H	H
Cyanidin	OH	H
Delphinidin	OH	OH
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H
Petunidin	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Figura 6. Estructura de las antocianinas

- **Poliaminas dihidrocafeolinas:** Kukoamina A.

El ácido clorogénico, constituye el 90% de los compuestos fenólicos (Friedman, 1997 y Im et al., 2008).

El incremento en el interés de los cultivares de papa de color, es debido a su color llamativo, sabor, facilidad de convertirse en pure y su uso potencial en ensaladas y por ser crocante. Esto ocasionó investigaciones en la estructura química de estos pigmentos, especialmente porque su color es retenido tras la cocción y la fritura (Rodríguez- Saona, et al., 1998).

Según Lewis C. E., et. al., 1998; la piel de los tubérculos rojos contienen principalmente antocianinas como pelargonidin-3-(p-coumaroil-rutinoside)-5-glucosido (200-2000 µg/g de peso fresco (FW)) y pocas cantidades de peonidin-3- (p-coumaroil-rutinoside)-5-glucosido (20-400 µg/g de FW); la piel de los tubérculos morados de color claro contienen antocianinas como petunidin-3- (p-coumaroil-rutinoside)-5-glucosido (1000-2000 µg/g de FW) y pocas cantidades de malvidin-3-(p-coumaroil-rutinoside)-5-glucosido (20-200µg/g de FW), mientras que la piel de los tubérculos morado oscuro contienen similares niveles de petunidin -3- (p-coumaroil-rutinoside)-5-glucosido, sin embargo contiene altas cantidades de malvidin -3-(p-coumaroil-rutinoside)-5-glucosido (2000-5000 µg/g de FW). La carne del tubérculo también contiene ácido clorogénico (30-900 µg/g de FW) y otros ácidos fenólicos y bajas concentraciones de flavonoides (0-30µg/g de FW).

La piel de los tubérculos tiene altos niveles de ácido clorogénico (1000-4000 µg/g de FW). Moderadas cantidades de ácido protocatequico (100-400 µg/g de FW), ácido caféico (40-500 µg/g de FW), ácido vanílico (20-200 µg/g de FW) y ácido sinápico (20-250 µg/g de FW); sin embargo bajas concentraciones de ácido gallico, ácido siringico, ácido p-coumarínico, ácido ferúlico, ácido salicílico y ácido cinnámico (todos entre 0-30 µg/g de FW) (Según Lewis C. E., et. al., 1998).

Los extractos de piel de papa de color, contienen flavonoides no antocianinas: catequina, epicatequina, eriodictiol, Kaemferol, 3-rutinoside y naringenin en niveles entre 10-150 µg/g de peso fresco y a bajas dosis de glicósidos de quercetina (Lewis et. al., 1998).

En general las papas con piel de color rojo y/o morado o púrpura ya sea con carne (pulpa) del mismo color tienen mayor cantidad de antocianinas en comparación de solo piel de color y carne blanca y mucho menos en tubérculos sin color. La cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides están en cantidades similares en cualquier tubérculo independientemente del color (Lewis et. al., 1998).

El almacenamiento de los tubérculos en frío cerca de 5 meses, conduce a un incremento significativo de las antocianinas (Lewis, et. Al. , 1999).

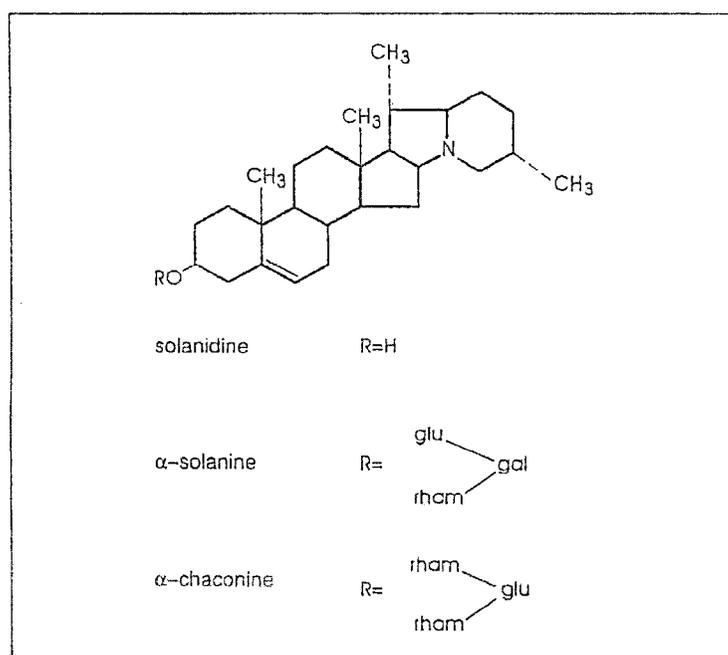
### 1.6.2. GLICOALCALOIDES

Los glicoalcaloides son metabolitos secundarios y se encuentran en todas las partes de la planta de papa, que son tóxicos para microorganismos, virus, insectos, animales y también para los humanos. De los glicoalcaloides de papas domesticas (*Solanum tuberosum*) el 95% lo constituyen  $\alpha$ -chaconina ( $C_{45}H_{73}NO_{14}$ , MW 852) y  $\alpha$ -solanina ( $C_{45}H_{73}NO_{15}$ , MW 868) (Mensinga T. T. et.al., 2005) (**figura 7**); estos son glicoalcaloides esteroideos, que tienen el aglicona solanidina. (Edwards y Cobb, 1999). Además contienen  $\beta$ -solanina,  $\gamma$ -solanina,  $\beta$ -chaconina,  $\gamma$ -chaconina, en un 5%. Estos compuestos difieren por el contenido de azúcares. (Paseshnikchenko y Guseva, 1956):

- $\alpha$ -solanina: galactosa, glucosa, ramnosa (trisacárido solatriose)
- $\beta$ -solanina: galactosa, glucosa
- $\gamma$ -solanina: galactosa
- $\alpha$ -chaconina: glucosa, ramnosa, ramnosa (trisacárido chacotriose)
- $\beta$ -chaconine: glucosa, ramnosa
- $\gamma$ -chaconine: glucosa.

Todos los alcaloides son hallados en forma de glicósidos, todas sus agliconas contienen 27 átomos de carbono y un átomo de nitrógeno. Todos tienen un esqueleto de colesterol y un grupo OH en la tercera posición de este. La remoción de los azúcares conduce a la formación de los  $\beta$  y  $\gamma$ -glicoalcaloides y finalmente al aglicona solanidina (poco tóxico). Los glicoalcaloides contenidos en los tubérculos de papa pueden variar considerablemente si tras la cosecha es influenciado por factores como exposición a la luz, irradiación, injuria mecánica, y condiciones de almacenamiento.

La piel cruda de papa contiene:  $\alpha$ -chaconina entre 1.30-56.67 mg/100 g peso fresco (FW) de piel y de  $\alpha$ -solanina entre 0.5-50.16 mg/100g FW de piel. La pulpa fresca contiene:  $\alpha$ -chaconina entre 0.02-2.32 mg/100g de FW de pulpa y  $\alpha$ -solanina entre 0.01-2.18 mg/100g de FW de pulpa. En algunas variedades de papas después de la cocción por fritura aumenta la cantidad de glicoalcaloides, así tenemos,  $\alpha$ -chaconina entre 2.18-92.82 mg/100g de piel cocida y  $\alpha$ -solanina entre 1.09-72.09 mg/100g de piel cocida. (En general los productos procesados por horneado o fritura de papa con piel contienen de  $\alpha$ -chaconina entre 3.60-13.71 mg/100g de producto cocido y de  $\alpha$ -solanina entre 1.60-10.48 mg/100g de producto cocido (Bushway R. J., et al., 1983). La cantidad de glicoalcaloides permanecen estables en las tres formas de cocción: horneado, ebullición y microondas, disminuye ligeramente con la fritura. (Bushway R.J. y Ponnampalam R, 1981).



**Figura 7.** Estructura química de la  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y su alglicona solanidina. ( glu : D-glucosa; gal: D-galactosa y rham: L-rhamnosa)

**1.6.3. COUMARINAS:** Escopolin, umbelliferone y coumarina (Chaube Sh. y Swinyard Ch. A., 1976)

#### 1.6.4. PROTEINAS

Patatina, inhibidores de proteasa tipo Kunitz, annexina, glyoxalase I, enolase, etc. (Bauw, G., et. al., 2006).

### 1.7. PROPIEDADES TERAPEUTICAS

#### 1.7.1. ANTIOXIDANTE

Los extractos de cáscara de papa poseen una fuerte actividad antioxidante, que se atribuye principalmente a su contenido de ácidoclorogénico, protocatéquico y ácido cafeico (Onyeneho y Hettiarachchy 1993). Los compuestos fenólicos: tienen actividades antioxidantes (Singh N, y Rajini PS., 2004; Brown, 2005; Teow, C.C., 2007).

#### 1.7.2. ANTICANCERIGENO O ANTIMUTAGENICO

Se ha reportado que el ácido clorogénico y otros polifenoles bloquean la formación de nitrosaminas por reacción competitiva con los nitritos (Kikugawa et al. 1983). El ácido clorogénico y varios otros ácidos fenólicos simples también inactivaron la mutagenicidad de la aflatoxina B1 (Stich y Rosin, 1984). Las antocianinas de la piel y pulpa de papa morada y roja, se observaron que inhibe marcadamente el crecimiento de la línea celular K562 de leucemia de eritrocitos humanos, lo que sugiere la posibilidad de que puedan ser explotados como una especie de nuevos agentes anti-leucémicos. (Xie et al., 2003, 2004). Los compuestos fenólicos de la papa tienen efecto anticancerígeno (Thompson et al, 2009). Las lectinas de la papa tienen efecto anticancerígeno (Valentine, U., et. al., 2004).

### **1.7.3. ANTIDIABÉTICO**

El contenido de polifenoles de la papa, se correlacionó negativamente con el nivel de glucosa en sangre (índice glucémico) de los seres humanos normales y diabéticos que consumieron en un estudio controlado (Thompson et al. 1983). Los compuestos fenólicos tienen actividad antidiabética (Singh N., et. al., 2005; Sancho y Pastore, 2012).

### **1.7.4. HIPOLIPEMIANTE**

El ácido clorogénico y otros polifenoles, también muestran una fuerte actividad antioxidante in vitro de las lipoproteínas relacionadas con la enfermedades del corazón (LDL) (Vinson et. al.1995). Los glicoalcaloides de papa tienen una fuerte afinidad por el colesterol (Friedman et al. 1997). Los compuestos fenólicos de la papa muestran actividad hipocolesterolémica (Lazarov K y Werman MJ., 1996). Anti-obesidad (Yoon S. S., et. al., 2008).

### **1.7.5. HEPATOPROTECTOR**

Hasta ahora, sólo las antocianinas de papas de color púrpura y rojo se han verificado que proveen actividad hepatoprotectora (Han et al., 2006). Los compuestos fenólicos de la papa muestran efecto hepatoprotector (Singh N., et. al., 2008).

### **1.7.6. EXCRECIÓN DE ACIDOS BILIARES SECUNDARIOS**

Mejoran la excreción de ácidos biliares secundarios y el entorno del colon en ratas (Han et al., 2008). Los compuestos fenólicos de la papa ayudan a la eliminación de sales biliares (Camire ME., et. al., 1993).

### **1.7.7. ANTIBACTERIANO, ANTIFUNGICO, ANTIVIRAL, ANTIPARASITARIO**

Los compuestos fenólicos de la papa tienen potencial antibacteriano, antifúngico (Prasad, 2007). Los glicoalcaloides de la papa poseen actividad antibiótica contra bacterias, virus, protozoos y hongos (Friedman M., 2006).

### **1.7.8. ACTIVIDAD ANTI-ACETILCOLINESTERASA**

Los glicoalcaloides tienen actividad anti-acetilcolinesterasa (Povrovskii A., 1956). Los glicoalcaloides incrementan la duración de acción de los anestésicos porque actúan como inhibidores de la acetilcolinesterasa (McGehee, et.al., 2000).

### **1.7.9. OTROS EFECTOS**

El zumo de papa tiene efecto protector de la mucosa gástrica (Sandoval, V. M., 2010); los glicoalcaloides interfieren con el transporte trans-membrana de calcio y sodio ( Toyoda, M, et. al., 1991; Blankemeyer, J. T, et. al., 1995), pueden ser útiles en el tratamiento en la dermatitis perianal (Ruseler V. E., et. al., 2004), tienen efectos antialérgico, antipirético, anti-inflamatorio (Friedman M., 2006) y son teratogénicos (Nishie, K., et. al., 1975), antiagregante plaquetario (Buitrago R. D. M., et. al., 2007), el consumo de papas pigmentadas reducen la inflamación y el daño del DNA en humanos sanos (Kaspar K. L., et. al., 2011).

## **2. EXTRACTO METANOLICO DE LA PIEL DE PAPA**

La mayor cantidad de ácidos fenólicos de la piel de papa se obtiene por extracción con metanol (Samarin, A., et. al., 2012).

### **3. HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

La hipertensión duplica el riesgo de enfermedades cardiovasculares, que incluyen cardiopatía coronaria (CHD, coronary heart disease), insuficiencia congestiva cardíaca (CHF, congestive heart failure), enfermedad cerebrovascular isquémica y hemorrágica, insuficiencia renal y arteriopatía periférica. Suele acompañarse de otros factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares. El tratamiento antihipertensivo aminora claramente los riesgos de enfermedad cardiovascular y renal, pero grandes segmentos de la población de hipertensos no recibe tratamiento o son tratados de manera inadecuada (Longo D. L. et. al, 2012).

#### **3.1. EPIDEMIOLOGÍA**

Factores como las cifras de presión arterial, el incremento de la presión arterial relacionada con la edad y la prevalencia de hipertensión, varían de un país a otro y entre subpoblaciones dentro de un mismo país. La hipertensión está presente en todas las poblaciones, salvo en un pequeño número de sujetos que viven en sociedades primitivas con aislamiento cultural. En sociedades industrializadas, la presión arterial aumenta en forma lenta y sostenida en los primeros dos decenios de la vida. En niños y adolescentes, ella acompaña al crecimiento y la maduración. La presión arterial aumenta en forma gradual con el transcurso del tiempo en niños, adolescentes y adultos jóvenes. En Estados Unidos, la presión arterial sistólica promedio es mayor en varones que en mujeres en los comienzos de la edad adulta, aunque en sujetos de mayor edad, el ritmo de incremento de la presión arterial relacionado con el envejecimiento es más marcado en mujeres. En consecuencia, en personas de 60 años y mayores, las presiones sistólicas son mayores en mujeres que en varones. En adultos, la presión diastólica también aumenta en forma progresiva hasta que la persona tiene unos 55 años, fecha después de la cual tiende a disminuir. La consecuencia es que se ensancha la presión diferencial o del pulso (diferencia entre la presión arterial sistólica y diastólica) después de los 60 años. La probabilidad de que una persona de edad madura o avanzada desarrolle hipertensión durante toda su existencia es de 90% (Longo D. L. et. al, 2012).

La posibilidad de hipertensión aumenta con el envejecimiento y en sujetos que tienen  $\geq 60$  años, la prevalencia es de 65.4%. Los datos sugieren que la prevalencia de hipertensión en Estados Unidos posiblemente vaya al alza, tal vez como consecuencia de la mayor frecuencia de obesidad en ese país. La prevalencia de hipertensión y las cifras de mortalidad por accidente cerebrovascular (apoplejía) son mayores en la zona sureste de Estados Unidos, que en otras regiones. En los estadounidenses de raza negra, el incremento de la presión arterial surge en fecha más temprana, suele ser más intenso y ocasiona cifras más altas de mortalidad y morbilidad por apoplejía, hipertrofia de ventrículo izquierdo, CHF y nefropatía terminal (ESRD, *end-stage renal disease*), que en estadounidenses de raza blanca (Longo D. L. et. al, 2012).

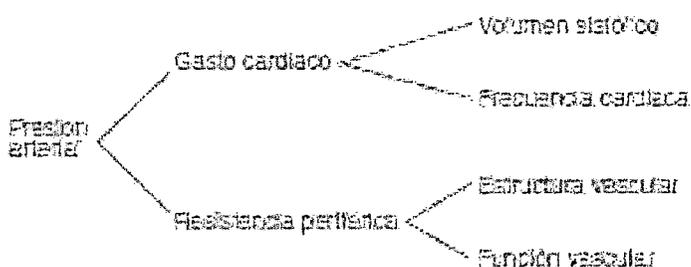
Los factores ambientales y los genéticos pueden contribuir a las variaciones regionales y raciales en la presión arterial y la prevalencia de la hipertensión. Los datos de estudios de sociedades sometidas a aculturación y de migrantes que se desplazaron de un entorno menos urbanizado a otro más urbanizado, indican que el entorno contribuye profundamente a la presión arterial. La obesidad y el sobrepeso constituyen factores importantes e independientes del riesgo de sufrir hipertensión. Se ha calculado que 60% de los hipertensos tienen sobrepeso  $>20\%$ . Entre las poblaciones, la prevalencia de hipertensión está vinculada con la ingestión de cloruro de sodio en los alimentos, que cuando es intensa, puede intensificar el incremento de la presión arterial con el paso del tiempo y con el envejecimiento. El consumo de bajas cantidades de calcio y potasio en los alimentos también puede contribuir al riesgo de hipertensión. La proporción sodio/potasio en la orina constituye un elemento de correlación de mayor peso en la presión arterial, que la participación del sodio o del potasio solos. También pueden contribuir a la hipertensión el consumo de alcohol, el estrés psicosocial y los bajos niveles de actividad física (Longo D. L. et. al, 2012).

La adopción, la condición gemelar y estudios familiares corroboran que en las cifras de presión arterial y la hipertensión existe un notable componente hereditario. Estudios familiares en que se hizo control del entorno común, señalan que las posibilidades de herencia en la presión arterial están en límites de 15 a 35%. En estudios de gemelos, la posibilidad de herencia en lo tocante a la presión arterial es cercana a 60% en varones y 30

a 40% en mujeres. El incremento de la presión arterial antes de los 55 años se observa con una frecuencia 3.8 veces mayor en personas con un antecedente familiar positivo de hipertensión (Longo D. L. et. al, 2012).

### 3.2. MECANISMOS DE LA HIPERTENSIÓN

Los dos factores determinantes de la presión mencionada son el gasto cardiaco y la resistencia periférica (**figura 8**). El gasto cardiaco depende del volumen sistólico y la frecuencia cardiaca; el volumen sistólico depende de la contractilidad del miocardio y de la magnitud del compartimiento vascular. La resistencia periférica es regido por los cambios funcionales y anatómicos en las arterias de fino calibre (diámetro interior, 100-400  $\mu\text{m}$ ) y arteriolas (Longo D. L. et. al, 2012).



**Figura 8.** Factores determinantes de la presión arterial.

#### 3.2.1. VOLUMEN INTRAVASCULAR

El volumen vascular es un factor determinante de la presión arterial, a largo plazo. El sodio es un ion predominantemente extracelular y un determinante primario del volumen extracelular. Cuando el consumo de cloruro de sodio rebasa la capacidad de los riñones para excretar sodio, en el comienzo se expande el volumen intravascular y aumenta el gasto cardiaco. Sin embargo, muchos lechos vasculares (incluidos los riñones y el cerebro) tienen la capacidad de autorregular su flujo sanguíneo y si es necesario conservar de manera constante dicho flujo, incluso si aumenta la presión arterial, deberá aumentar la resistencia dentro de ese lecho, con base en la ecuación siguiente:

$$\text{Flujo sanguíneo} = \text{presión a través del lecho vascular} / \text{resistencia vascular}$$

El incremento inicial de la presión arterial en respuesta a la expansión del volumen vascular pudiera provenir del aumento del gasto cardiaco; sin embargo, con el paso del tiempo, aumenta la resistencia periférica y el gasto cardiaco se revierte y se orienta a lo normal. Conforme aumenta la presión arterial en respuesta al consumo de grandes cantidades de cloruro de sodio, se incrementa la excreción del sodio por orina y se conserva el equilibrio de sodio a expensas de un incremento de la presión arterial. El mecanismo de dicho fenómeno de “presión arterial-natriuresis” pudiera comprender un incremento sutil de la filtración glomerular, disminución de la capacidad de absorción de los túbulos renales y posiblemente elementos hormonales como el factor natriuretico auricular. En personas con menor capacidad de excretar sodio, se necesitan incrementos mayores de la presión arterial para lograr la natriuresis y el equilibrio de dicho ion (Longo D. L. et al, 2012).

La hipertensión que depende del cloruro de sodio puede ser consecuencia de la menor capacidad del riñón para excretar sodio, por una nefropatía intrínseca o por la mayor producción de una hormona que retenga sodio (mineralocorticoide) que origina una mayor resorción de dicho ion en los túbulos renales. La resorción del sodio por dichas estructuras también puede aumentar cuando se intensifica la actividad nerviosa al riñón. En cada una de las situaciones anteriores puede ser necesaria una presión arterial mayor para alcanzar el equilibrio de sodio (Longo D. L. et al, 2012).

### **3.2.2. SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO**

El sistema nervioso autónomo conserva la homeostasia cardiovascular, por la intervención de señales de presión, volumen y de quimiorreceptores. Los reflejos adrenérgicos modulan la presión arterial a breve plazo y la función adrenérgica, concertadamente con factores hormonales y volumétricos y contribuyen a la regulación a largo plazo de la presión arterial. Las tres catecolaminas endógenas son noradrenalina, adrenalina y dopamina y las tres intervienen en forma importante en la regulación cardiovascular tónica y fásica (Longo D. L. et al, 2012).

Las actividades de los receptores adrenérgicos son mediadas por proteínas reguladoras de la unión con el nucleótido guanosina (proteínas G) y por concentraciones intracelulares del segundo mensajero en etapas siguientes. Además de la afinidad y el número de receptores,

la reactividad fisiológica a las catecolaminas puede ser modificada por la eficiencia del acoplamiento receptor/efector en un sitio “distal” respecto a la unión con el receptor. Los sitios de los receptores son relativamente específicos, para la sustancia transmisora y para la respuesta que la ocupación del sitio receptor desencadena. La noradrenalina y la adrenalina son agonistas de todos los subtipos de receptores adrenérgicos, aunque con diversas afinidades. Los receptores  $\alpha$  son ocupados y activados con mayor avidez por la noradrenalina que por la adrenalina y la situación contraria es válida en el caso de los receptores  $\beta$ . Los receptores  $\alpha_1$  están situados en las células postsinápticas en el músculo liso y desencadenan vasoconstricción. Los receptores  $\alpha_2$  están en las membranas presinápticas de terminaciones de nervios posganglionares que sintetizan noradrenalina. Los receptores  $\alpha_2$ , cuando son activados por las catecolaminas, actúan como controladores de retroalimentación negativa, que inhibe la mayor liberación de noradrenalina (Longo D. L. et. al, 2012).

En los riñones, la activación de los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  intensifica la reabsorción de sodio en los túbulos renales. Clases diferentes de fármacos antihipertensores inhiben los receptores  $\alpha_1$  o actúan como agonistas de los receptores  $\alpha_2$  y aminoran las señales simpáticas sistémicas “de salida”. La activación de los receptores  $\beta_1$  del miocardio estimula la frecuencia y la potencia de las contracciones del corazón y como consecuencia de ello, aumenta el gasto cardíaco. La activación del receptor  $\beta_1$  también estimula la liberación de renina, por el riñón. Otra clase de antihipertensores actúan al inhibir los receptores  $\beta_1$ . La activación de los receptores  $\beta_2$  por parte de la adrenalina relaja el músculo liso de los vasos y los dilata (Longo D. L. et. al, 2012).

Las concentraciones de catecolaminas circulantes pueden modificar el número de receptores adrenérgicos en diversos tejidos. La disminución del número de receptores puede ser consecuencia de los altos niveles sostenidos de catecolaminas y brinda una explicación para la menor reactividad (taquifilaxia) a las catecolaminas. Por el contrario, cuando disminuye en forma crónica la concentración de sustancias neurotransmisoras, puede aumentar el número de receptores adrenérgicos (regulación ascendente), con lo cual surge una mayor reactividad al neurotransmisor. La administración duradera de fármacos que antagonizan los receptores adrenérgicos puede hacer que surja regulación ascendente,

es decir, que aumente su número; el hecho de no administrar los fármacos comentados puede originar una situación de hipersensibilidad temporal a los estímulos simpáticos (Longo D. L. et. al, 2012).

Algunos reflejos modulan la presión arterial minuto a minuto. Un barorreflejo arterial es mediado por terminaciones sensitivas sensibles al estiramiento en los senos carotídeos y en el cayado aórtico. La velocidad de descarga de impulsos de tales barorreceptores aumenta con la presión arterial y el efecto neto es una disminución de la estimulación simpática, con lo cual disminuye la presión arterial y se lentifica la frecuencia cardíaca; el anterior es un mecanismo primario para la corrección rápida de las fluctuaciones agudas de la presión arterial que a veces surgen durante cambios posturales, estrés emocional o fisiológico y cambios en el volumen sanguíneo. A pesar de ello, la actividad de dichos barorreceptores disminuye o se adapta a incrementos sostenidos en la presión arterial, al grado de que ellos son “reajustados” para resistir presiones mayores (Longo D. L. et. al, 2012).

La estimulación simpática aumenta en la hipertensión vinculada a personas con pesos normales y obesos en la que se relaciona con la apnea obstructiva del sueño. Los fármacos que antagonizan el sistema nervioso simpático son potentes antihipertensores, lo cual denota que el sistema nervioso simpático interviene por un mecanismo permisivo (aunque no necesariamente causal) en la perpetuación de la hipertensión arterial (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.2.3. MECANISMOS VASCULARES**

El radio interior y la distensibilidad de las arterias de resistencia también constituyen factores determinantes de la presión arterial. La resistencia al flujo varía en sentido inverso a la cuarta potencia del radio y como consecuencia, disminuciones pequeñas en el diámetro interior incrementan significativamente la resistencia de la arteria. El término remodelación denota las alteraciones geométricas en la pared del vaso, sin cambios en el volumen interior. La remodelación por hipertrofia (aumento en el tamaño de las células y del depósito de matriz intercelular) o eutrófica hace que disminuya el calibre interior del vaso y con ello contribuye a una mayor resistencia periférica. También contribuyen al remodelamiento factores como apoptosis, inflamación mínima y fibrosis vascular. Los

vasos con gran elasticidad dan cabida a un volumen mayor, con un cambio relativamente pequeño en su presión, en tanto que el sistema vascular semirrígido puede hacer que cualquier aumento del volumen, por mínimo que sea, induzca un incremento relativamente grande de la presión arterial (Longo D. L. et. al, 2012).

Los sujetos hipertensos muestran arterias más rígidas y los pacientes con arterioesclerosis pueden tener en particular presiones sistólicas altas y ensanchamiento de la presión diferencial, como consecuencia de una menor distensibilidad vascular causada por cambios estructurales en la pared de los vasos.

El transporte iónico por parte de las células de musculo liso vascular puede contribuir a las anomalías propias de la hipertensión en cuanto al tono y la proliferación vasculares, funciones moduladas por el pH intracelular (pHi). Participan tres mecanismos de transporte iónico en la regulación del pH: 1) intercambio de iones sodio/hidrogeno; 2) intercambio de  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  que depende de sodio, y 3) intercambio de  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  independiente de cationes. Con base en mediciones en tipos celulares que son más accesibles que las células de músculo liso (leucocitos, eritrocitos, plaquetas, musculo estriado), la actividad del intercambiador de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  aumenta en la hipertensión y ello puede originar mayor tono vascular, por dos mecanismos. En primer lugar, la mayor penetración del sodio puede hacer que aumente el tono vascular al activar el intercambio de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  y con ello favorecer el incremento del calcio intracelular. En segundo lugar, pHi mayor intensifica la sensibilidad del calcio del aparato contráctil y ocasiona un incremento de la contractilidad en relación con una concentración particular de calcio intracelular. Como aspecto adicional, el incremento del intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  puede estimular la proliferación de células del músculo liso vascular al intensificar la sensibilidad a los mitógenos (Longo D. L. et. al, 2012).

La función del endotelio vascular también modula el tono de vasos; el endotelio vascular sintetiza y libera muy diversas sustancias vasoactivas, que incluyen el oxido nítrico, vasodilatador potente. La vasodilatación dependiente del endotelio disminuye en los sujetos hipertensos. La endotelina es un péptido vasoconstrictor producido por el endotelio y los antagonistas de endotelina que son activos después de ingeridos pueden disminuir la presión arterial en individuos con hipertensión resistente al tratamiento (Longo D. L. et. al, 2012).

### 3.3. DEFINICIÓN DE HIPERTENSIÓN

En términos generales, los criterios clínicos para definir la hipertensión se basan en el promedio de dos o más “lecturas” de presión arterial (sujeto sedente) durante dos o más visitas extrahospitalarias. El JNC VII recomienda criterios para definir lo que es presión normal, prehipertensión, hipertensión (etapas I y II) e hipertensión sistólica aislada, situación frecuente en los ancianos (**cuadro 2**), definición que no fue modificada en el último reporte del JNC VIII (James P.A., et. al., 2014).

En niños y adolescentes por lo regular se define la hipertensión como la presión sistólica, la diastólica o ambas, que siempre están arriba del percentil 95 correspondiente a edad, género y talla. Se considera que las presiones entre los percentiles 90 y 95 son prehipertensión y constituyen una indicación para emprender intervenciones en el modo de vida (Longo D. L. et. al, 2012).

**CUADRO 2.** Clasificación de la presión arterial

Clasificación	Presión sistólica, en mmHg	Presión diastólica, en mmHg
Normal	<120	y <80
Prehipertensión	120–139	o 80–89
Hipertensión en etapa 1	140–159	o 90–99
Hipertensión en etapa 2	≥160	o ≥100
Hipertensión sistólica aislada	≥140	y <90

Fuente: Con autorización de Chobanian y col.

Los criterios recomendados para diagnosticar hipertensión son: presión promedio con el sujeto consciente y despierto  $\geq 135/85$  mmHg y presión con el sujeto somnoliento  $\geq 120/75$  mmHg; los niveles señalados son muy cercanos a la cifra de 140/90 mmHg de la presión medida en una clínica (Longo D. L. et. al, 2012).

### 3.4. TRASTORNOS CLÍNICOS DE LA HIPERTENSIÓN

En el 80 a 95% de los sujetos hipertensos se hace el diagnóstico de “hipertensión esencial” (conocida también como hipertensión primaria o idiopática). En 5 a 20% de los pacientes

hipertensos restantes, se identifica un elemento de fondo “específico” que hace que aumente la presión arterial (hipertensión secundaria): hipertensión sistólica con presión diferencial amplia: menor distensibilidad vascular (arterioesclerosis), mayor gasto cardiaco (reflujo aórtico, tirotoxicosis, síndrome de corazón hiperkinético, fiebre, fistula arteriovenosa, persistencia de ducto arterioso; hipertensión sistólica y diastólica: renales (enfermedades del parénquima renal, quistes renales, tumores de riñones, uropatía obstructiva), renovasculares (displasia fibromuscular, trastorno arterioesclerótico), suprarrenales (aldosteronismo primario, síndrome de Cushing, deficiencias de  $17\alpha$ -hidroxilasa,  $11\beta$ -hidroxilasa, feocromocitoma), coartación aortica, apnea obstructiva del sueño, preeclampsia/eclampsia, neurógenas (psicógenas, síndrome diencefálico, disautonomía familiar, polineuritis, hipertensión intracraneal aguda, sección aguda de la médula espina), endocrina ( hipotiroidismo, hipertiroidismo, hipercalcemia, acromegalia), fármacos (estrógenos, corticoesteroides, descongestivos, anorexígenos, ciclosporina, antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la monoaminoxidasa, eritropoyetina, antiinflamatorios no esteroideos, cocaína) y las formas mendelianas (Longo D. L. et. al, 2012).

#### **3.4.1. HIPERTENSIÓN ESENCIAL**

La hipertensión esencial tiende a ser de carácter familiar y posiblemente constituya una consecuencia de la interacción entre factores ambientales y genéticos. La prevalencia de esa forma de hipertensión aumenta con la edad (envejecimiento) y personas que de jóvenes tuvieron presiones arteriales relativamente altas están expuestas a un mayor peligro de que más adelante presenten hipertensión. Es posible que la hipertensión esencial represente a toda una gama de trastornos con fisiopatologías básicas diferentes. En la mayor parte de los individuos con hipertensión establecida es mayor la resistencia periférica y el gasto cardiaco es normal o disminuye; sin embargo, en personas más jóvenes con hipertensión leve o lábil puede aumentar el gasto cardiaco y la resistencia periférica puede ser normal.

Cuando en un grafico se compara la actividad de renina plasmática (PRA) con la excreción de sodio durante 24 horas, de 10 a 15% de los hipertensos tiene concentraciones elevadas de PRA y 25% tiene PRA en bajas concentraciones. Los pacientes hiperreninémicos pueden tener una forma vasoconstrictora de la hipertensión, en tanto que los

hiporreninémicos pueden tener hipertensión que depende del volumen vascular (Longo D. L. et. al, 2012).

En sujetos con hipertensión esencial se han descrito vínculos inconstantes entre las concentraciones de aldosterona plasmática y la presión arterial. El vínculo entre dicha hormona y la presión es más notable en estadounidenses de raza negra y la actividad de renina plasmática tiende a ser pequeña en estadounidenses de raza negra hipertensos; ello plantea la posibilidad de que los incrementos sutiles en las concentraciones de aldosterona pudieran contribuir a la hipertensión, cuando menos en algunos grupos de pacientes que no presentan el aldosteronismo primario franco. Aun más, la espironolactona, un antagonista de aldosterona puede ser particularmente eficaz como antihipertensor en algunos individuos con hipertensión esencial, incluidos algunos con hipertensión resistente al tratamiento (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.5. ESTUDIO DEL PACIENTE HIPERTENSO**

#### **3.5.1. ANAMNESIS**

La valoración inicial de un enfermo hipertenso debe incluir la anamnesis y la exploración física completas para confirmar el diagnóstico de hipertensión, identificar otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y causas secundarias de hipertensión, detectar consecuencias cardiovasculares de la hipertensión y otras enfermedades intercurrentes, valorar el modo de vida proveniente de la presión arterial y conocer las posibilidades de intervención (Longo D. L. et. al, 2012).

Muchos sujetos hipertensos no presentan manifestaciones específicas atribuibles al incremento tensional. La cefalea, aunque es considerada popularmente como una manifestación de incremento de la presión arterial, aparece por lo común solo en individuos con hipertensión intensa. De manera característica por la mañana surge una “cefalea por hipertensión” en la región occipital. Otras manifestaciones inespecíficas que podrían vincularse con el incremento tensional son mareos, palpitaciones, fatiga fácil e impotencia. Al aparecer los síntomas por lo común provienen de enfermedad cardiovascular hipertensiva o de manifestación de hipertensión secundaria (Longo D. L. et. al, 2012).

### CUADRO 3. Aspectos sobresalientes en la anamnesis del enfermo.

---

Duración de la hipertensión
Tratamientos previos: respuestas y efectos adversos
Antecedentes familiares de hipertensión y enfermedades cardiovasculares
Antecedentes alimentarios y psicosociales
Otros factores de riesgo: cambios de peso, dislipidemia, tabaquismo, diabetes e inactividad física
Manifestaciones de hipertensión secundaria: antecedentes de nefropatías; cambio de aspecto; debilidad muscular; crisis de diaforesis, palpitaciones, temblores; sueño errático, ronquidos, somnolencia diurna; síntomas de hipotiroidismo o hipertiroidismo; uso de fármacos que pueden intensificar la presión arterial
Manifestaciones de daño de órganos efectores: antecedente de ataque isquémico transitorio, apoplejía, ceguera transitoria; angina, infarto del miocardio, insuficiencia congestiva cardíaca; función sexual
Otros cuadros coexistentes

---

#### 3.5.2. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Aspectos esenciales son la preparación adecuada del observador, la colocación precisa del paciente y la selección de la anchura y longitud del manguito. Es necesario calibrar periódicamente los esfigmomanómetros y confirmar su precisión. Antes de comenzar a medir la presión arterial la persona debe estar sentada tranquilamente en una silla con los pies apoyados en el suelo, durante cinco minutos en un entorno tranquilo y privado, con temperatura ambiente cómoda. Se harán en esa posición como mínimo, dos mediciones. El centro del manguito debe estar a nivel del corazón y la anchura del mismo debe ser como mínimo 40% de la superficie del brazo; la longitud del manguito y su cubierta deben rodear como mínimo 80% de la circunferencia del brazo. Es importante prestar atención a la colocación del manguito y del estetoscopio y la velocidad con que se desinfla el manguito (2 mmHg/s). La presión sistólica es el primero de al menos dos ruidos regulares de Korotkoff de “percusión” y la presión diastólica es el punto en que se perciben los últimos ruidos constantes de Korotkoff. La medición seriada de la presión arterial a nivel ambulatorio durante 24 horas permite anticipar con mayor precisión el riesgo de enfermedades cardiovasculares, que las mediciones hechas en el consultorio. En Estados Unidos el séptimo reporte de hipertensión (JNC7) ha recomendado la vigilancia

ambulatoria para casos de resistencia al tratamiento, hipotensión sintomática, insuficiencia del sistema autónomo e hipertensión episódica (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.5.3. EXPLORACIÓN FÍSICA**

En primer lugar el explorador se percatará de la complexión corporal, que incluya peso y talla. En el estudio inicial habrá que medir la presión arterial en los dos brazos y de preferencia en las posiciones de decúbito, sedente y de pie, para detectar hipotensión postural. Incluso si el pulso femoral es normal a la palpación, habrá que medir la presión arterial cuando menos una vez en las extremidades pélvicas en sujetos en quienes se identifica hipertensión antes de los 30 años de edad. También se registra la frecuencia cardíaca. Los sujetos hipertensos tienen una mayor prevalencia de fibrilación auricular. Es importante palpar el cuello en busca de agrandamiento de la glándula tiroides y también se valorará a los pacientes en busca de signos de hipotiroidismo e hipertiroidismo. La revisión de los vasos sanguíneos aporta datos de alguna vasculopatía primaria y debe incluir el examen del fondo de ojo, auscultación en busca de soplos en las arterias carótida y femoral y palpación de los pulsos femoral y pedio. La retina es el único tejido en el cual se pueden explorar directamente las arterias y las arteriolas. Conforme se intensifican la hipertensión y la enfermedad aterosclerótica, los cambios progresivos en el fondo de ojo comprenden intensificación del reflejo luminoso arteriolar, defectos en los “cruces” arteriovenosos, hemorragia y exudados, y en sujetos con hipertensión maligna, papiledema. La exploración del corazón puede detectar el segundo ruido intenso por cierre de la válvula aortica y el cuarto ruido de galope atribuido a la contracción auricular contra un ventrículo izquierdo poco distensible. La hipertrofia del ventrículo izquierdo se puede detectar por el impulso apical intensificado, sostenido y desplazado hacia afuera. El soplo abdominal, en particular el que se “lateraliza” y se extiende y abarca toda la sístole y parte de la diástole, plantea la posibilidad de hipertensión renovascular. Los riñones de individuos con nefropatía poliquística pueden ser palpados a través del abdomen. La exploración física también incluirá la valoración en busca de signos de insuficiencia cardiaca congestiva y un examen neurológico (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.5.4. MÉTODOS DE LABORATORIO**

El **cuadro 4** incluye los métodos recomendados de laboratorio en la valoración inicial de pacientes hipertensos. Después de que se inicia el uso de un nuevo antihipertensivo habrá que repetir las mediciones de la función renal, de electrolitos séricos, glucosa con sujeto en ayunas y lípidos, y tal esquema se repetirá cada año o con mayor frecuencia si así está indicado clínicamente. Los estudios más extensos de laboratorio convienen en sujetos con hipertensión al parecer farmacorresistente o cuando la valoración clínica sugiere una forma secundaria de hipertensión (Longo D. L. et. al, 2012).

**CUADRO 4.** Estudios básicos de laboratorio para la valoración inicial

Órgano o sistema	Prueba
Riñones	Análisis microscópico de orina, excreción de albúmina, BUN sérico/creatinina sérica o ambos
Endocrino	Sodio, potasio y calcio séricos ¿TSH?
Metabolismo	Glucemia con sujeto en ayunas, colesterol total, colesterol de HDL y LDL (a menudo por computadora), triglicéidos
Otros	Valor hematócrito, electrocardiograma

*Abreviaturas:* BUN, nitrógeno ureico en sangre; HDL, LDL, lipoproteínas de densidad alta/baja; TSH, hormona tiroestimulante.

### 3.6. TRATAMIENTO

#### 3.6.1. MODIFICACIONES EN EL ESTILO DE VIDA

Se recomienda realizar modificaciones en el estilo de vida orientadas a la salud en persona con prehipertensión y como complemento de la farmacoterapia en sujetos hipertensos. La trascendencia que tienen las intervenciones o modificaciones del modo de vida en la presión arterial es más notable en personas hipertensas, pero en investigaciones a corto plazo se ha demostrado que el adelgazamiento y la disminución del consumo de cloruro de sodio en los alimentos evitan la aparición de hipertensión. En sujetos hipertensos, incluso si con las intervenciones no se disminuye en grado suficiente la presión arterial como para evitar la farmacoterapia, puede ser menor el número de fármacos o dosis necesarias para el control de la presión arterial (Longo D. L. et. al, 2012).

**CUADRO 5.** Modificaciones en el modo de vida para controlar la hipertensión

Disminución de peso	Alcanzar y conservar BMI <25 mg/m <sup>2</sup>
Disminución de sal de mesa en los alimentos	<6 g de NaCl/día
Adaptar el plan dietético de tipo DASH	Dieta con abundantes frutas, verduras, y productos lácteos con poca grasa y un menor contenido de grasas saturadas y totales
Moderación del consumo de bebidas alcohólicas	Para sujetos que consumen alcohol, es importante que ingieran ≤2 copas/día en varones y ≤1 copa/día en mujeres
Actividad física	Actividad aeróbica regular como la marcha acelerada y constante durante 30 minutos/día

**Abreviaturas:** BMI, índice de masa corporal; DASH, Estrategias Alimentarias para Interrumpir la Hipertensión (estudio).

La prevención y el tratamiento de la obesidad son importantes para disminuir los riesgos de hipertensión y enfermedades cardiovasculares. Se han observado disminuciones promedio en la presión arterial de 6.3/3.1 mmHg con una disminución en el peso corporal medio de 9.2 kg. Las actividades físicas regulares facilitan la pérdida ponderal, disminuyen la presión arterial y aminoran el riesgo global de enfermedades cardiovasculares. La presión arterial puede disminuir con 30 min de actividad física moderadamente intensa como sería la marcha persistentemente activa seis a siete días a la semana o con entrenamientos menos frecuentes pero más intensos. Con base en resultados de metaanálisis, disminuir la presión arterial al limitar el consumo diario de cloruro de sodio a 4.4-7.4 g (75-125 mEq) permitió disminuciones de la presión arterial de 3.7-4.9/0.9-2.9 mmHg en sujetos hipertensos y disminuciones menores en personas normotensas. Los complementos de potasio pudieran disminuir la mortalidad por apoplejía (accidente cerebrovascular). El consumo de bebidas alcohólicas en personas que ingieren tres o cuatro copas al día (una copa corriente contiene en promedio 14 g de etanol), se acompaña de presiones arteriales más altas y la disminución del consumo de tales bebidas, ocasiona disminución de la presión arterial. En personas con nefropatía avanzada, la restricción de proteínas en alimentos pudiera tener un efecto pequeño para aplacar el daño renal al aminorar la transmisión intrarrenal de la presión arterial sistémica (Longo D. L. et. al, 2012).

Los datos de la investigación *Dietary Approaches to Stop Hypertension* (DASH) demostraron convincentemente que el consumo de una dieta con abundantes frutas,

verduras y productos lácteos con poca grasa, durante un lapso de ocho semanas disminuyó la presión arterial de sujetos con presiones en la franja alta de lo normal o con hipertensión leve. Las frutas y las verduras son fuentes de abundante potasio, magnesio y fibra vegetal, y los productos lácteos constituyen una fuente importante de calcio (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.6.2. FARMACOTERAPIA**

La farmacoterapia es recomendable en personas con presiones arteriales  $\geq 140/90$  mmHg. El grado de beneficio obtenido de tales fármacos depende de la magnitud de la disminución de la presión arterial. La disminución de 10 a 12 mmHg de la presión sistólica y de 5 a 6 mmHg en la diastólica confiere las disminuciones relativas de riesgo de 35 a 40% para el caso de la apoplejía y 12 a 16% para la cardiopatía congestiva en término de cinco años de haber comenzado el tratamiento. Disminuyó a la mitad el riesgo de insuficiencia cardiaca. El control de la hipertensión constituye la intervención aislada más eficaz para lentificar la evolución de nefropatía crónica por hipertensión. Muchos de los productos disponibles disminuyen 7 a 13 mmHg de la presión sistólica y 4 a 8 mmHg la presión diastólica, después de corregir el efecto placebo. Con mayor frecuencia, se necesitan combinaciones de fármacos que posean mecanismos antihipertensores complementarios para lograr la disminución de la presión arterial como objetivo. La selección de los medicamentos antihipertensores y combinaciones de los mismos deben individualizarse y tomar en consideración edad, intensidad de la hipertensión, otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, cuadros intercurrentes y consideraciones prácticas respecto a costos, efectos adversos y frecuencia de dosificación (Longo D. L. et. al, 2012).

#### **3.6.2.1. DIURÉTICOS**

Dosis pequeñas de diuréticos tiazídicos suelen utilizarse como recursos de primera línea, solos o combinados con otros antihipertensores. Las tiazidas inhiben la bomba de sodio/cloruro en la porción distal del túbulo contorneado y con ello intensifican la excreción de sodio. A largo plazo también actúan como vasodilatadores. Son fármacos inocuos, eficaces, baratos y disminuyen la frecuencia de problemas clínicos agudos. Generan efectos hipotensores adicionales cuando se combinan con  $\beta$ -bloqueadores,

inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACEIs) o antagonistas del receptor de angiotensina (ARBs). Las dosis usuales de hidroclorotiazida varían de 6.25 a 50 mg/día.

**CUADRO 6.** Dosificación de drogas antihipertensivas basados en la evidencia (JNC VIII)

Antihypertensive Medication	Initial Daily Dose, mg	Target Dose in RCTs Reviewed, mg	No. of Doses per Day
<b>ACE inhibitors</b>			
Captopril	50	150-200	2
Enalapril	5	20	1-2
Lisinopril	10	40	1
<b>Angiotensin receptor blockers</b>			
Eprosartan	400	600-800	1-2
Candesartan	4	12-32	1
Losartan	50	100	1-2
Valsartan	40-80	160-320	1
Irbesartan	75	300	1
<b>β-Blockers</b>			
Atenolol	25-50	100	1
Metoprolol	50	100-200	1-2
<b>Calcium channel blockers</b>			
Amlodipine	2.5	10	1
Diltiazem extended release	120-180	360	1
Nitrendipine	10	20	1-2
<b>Thiazide-type diuretics</b>			
Bendroflumethiazide	5	10	1
Chlorthalidone	12.5	12.5-25	1
Hydrochlorothiazide	12.5-25	25-100 <sup>a</sup>	1-2
Indapamide	1.25	1.25-2.5	1

Abbreviations: ACE, angiotensin-converting enzyme; RCT, randomized controlled trial. <sup>a</sup>Current recommended evidence-based dose that balances efficacy and safety is 25-50 mg daily.

Ante la mayor incidencia de efectos metabólicos adversos (hipopotasiemia, resistencia a la insulina y mayor nivel de colesterol), por lo regular no se recomiendan dosis mayores. La amilorida y el triamtereno, dos diuréticos ahorradores de potasio, actúan al inhibir los conductos de sodio epiteliales en la zona distal de la nefrona. Ambos fármacos son antihipertensores débiles, pero pueden utilizarse en combinación con una tiazida para proteger de la hipopotasiemia. El sitio principal en que actúan los diuréticos con acción en asa de Henle es el cotransportador de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  en la porción ascendente gruesa del asa

mencionada. Los diuréticos con acción en dicha asa por lo común se reservan para sujetos hipertensos con disminución de la filtración glomerular [que se refleja en cifras de creatinina sérica  $>220 \mu\text{mol/L}$  ( $>2.5 \text{ mg/100 ml}$ )], insuficiencia congestiva cardiaca o retención de sodio y edema de otras causas, como la administración de un vasodilatador potente como el minoxidilo (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.6.2.2. ANTAGONISTAS DEL SISTEMA DE RENINA-ANGIOTENSINA**

Los ACEIs y ARBs son eficaces como antihipertensores y pueden utilizarse solos o en combinación con diuréticos, antagonistas de calcio (CCB) y bloqueadores  $\alpha$ . Se ha demostrado que los ACEIs y ARBs mejoran la acción de la insulina y aplacan los efectos adversos de los diuréticos en el metabolismo de glucosa. En sujetos con vasculopatía o con riesgo grande de diabetes, la combinación de los dos tipos de fármacos ha originado un número mayor de trastornos adversos (como muerte de origen cardiovascular, infarto del miocardio, apoplejía y hospitalización por insuficiencia cardiaca), sin aumento en los beneficios. Sin embargo, en individuos hipertensos que tienen proteinuria, datos preliminares sugieren que la disminución de esta última con la combinación de ACEI/ARB puede ser más eficaz que el uso de cualquiera de los dos fármacos solos (Longo D. L. et. al, 2012).

El bloqueo del sistema renina angiotensina (RAS) es más completo con los inhibidores de la renina (DRI) que con ACEI o ARB. El aliskireno es el primero de una categoría de inhibidores competitivos orales no peptídicos, de la actividad enzimática de la renina. La administración de aliskireno en monoterapia al parecer tiene la misma eficacia de los ACEI o ARB para disminuir la BP, pero no es más eficaz. Es posible alcanzar disminuciones mayores de la presión cuando se combina el aliskireno con un diurético tiazídico, un ACEI, un ARB o CCB. En la actualidad se considera que el aliskireno no es un antihipertensor de primera línea (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.6.2.3. ANTAGONISTAS DE ALDOSTERONA**

La espironolactona es un antagonista no selectivo de aldosterona que puede utilizarse solo o en combinación con un diurético tiazídico. Puede ser particularmente eficaz en sujetos con hipertensión esencial hiporreninémica, hipertensión resistente al tratamiento y

aldosteronismo primario. En personas con CHF, la espironolactona en dosis pequeñas aminora la tasa de mortalidad y las hospitalizaciones por insuficiencia cardiaca cuando se agrega al tratamiento corriente a base de ACEI, digoxina y diuréticos con acción en asa de Henle. La espironolactona se une a los receptores de progesterona y de andrógenos, razón por la cual sus efectos adversos pueden ser ginecomastia, impotencia y anormalidades menstruales. La eplerenona es el fármaco que no ocasiona dichos efectos, pues es un antagonista selectivo de aldosterona. Se ha aprobado su uso en Estados Unidos para tratar la hipertensión (Longo D. L. et. al, 2012).

#### **3.6.2.4. $\beta$ -BLOQUEADORES**

Los fármacos de esta categoría son particularmente eficaces en sujetos hipertensos con taquicardia y su potencia hipotensora es intensificada si se administran junto con un diurético. En dosis pequeñas, algunos  $\beta$ -bloqueadores inhiben de manera selectiva los receptores  $\beta_1$  cardiacos y ejercen menor influencia en los receptores  $\beta_2$  en las células de musculo liso de bronquios y vasos; sin embargo. Los  $\beta$ -bloqueadores sin actividad simpaticomimética disminuyen la cifra de muerte súbita, mortalidad global e infarto recurrente del miocardio. En personas con CHF se ha demostrado que los  $\beta$ -bloqueadores disminuyen los riesgos de hospitalización y mortalidad (Longo D. L. et. al, 2012).

#### **3.6.2.5. $\alpha$ -BLOQUEADORES**

Los antagonistas selectivos de receptores adrenérgicos  $\alpha$  a nivel postsináptico disminuyen la presión arterial al aminorar la resistencia vascular periférica. Son antihipertensores eficaces que se pueden utilizar solos o en combinación con otros fármacos. No disminuye la morbilidad ni mortalidad cardiovascular ni protege contra CHF (Longo D. L. et. al, 2012).

#### **3.6.2.6. SIMPATICOLÍTICOS**

Los agonistas  $\alpha_2$  simpáticos con acción central disminuyen la resistencia periférica al inhibir la estimulación simpática centrífuga. Pueden ser particularmente útiles en sujetos con neuropatía del sistema autónomo, que muestran amplias variaciones en la presión arterial por desnervación de barorreceptores. Entre sus efectos molestos están somnolencia,

xerostomía y cuando se abandona su uso, hipertensión de rebote. Los simpaticolíticos periféricos disminuyen la resistencia periférica y la constricción venosa al agotar la noradrenalina en la terminación nerviosa. Pueden ser antihipertensores eficaces, pero su utilidad es frenada por manifestaciones como la hipotensión ortostática, la disfunción sexual e innumerables interacciones medicamentosas (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.6.2.7. BLOQUEADORES DE LOS CONDUCTOS DE CALCIO (CCB)**

Los CCB disminuyen la resistencia vascular al bloquear el canal L de calcio, lo cual aminora la concentración intracelular de calcio y también la vasoconstricción; se trata de un grupo heterogéneo de fármacos que incluye algunos de las tres clases siguientes: fenilquilaminas (verapamil); benzotiazepinas (diltiazem) y 1,4-dihidropiridinas (productos similares al nifedipino). Solos o en combinación con otros fármacos (como ACEI,  $\beta$ -bloqueadores y  $\alpha_1$ -bloqueadores), los CCB disminuyen eficazmente la BP. Los efectos adversos como hiperemia, cefalea y edema con la dihidropiridina, dependen de su potencia como dilatadores arteriolares; el edema surge por un incremento en los gradientes de presión transcapilares (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.6.2.8. VASODILATADORES DIRECTOS**

Los compuestos de esta categoría disminuyen la resistencia periférica y de manera concomitante activan mecanismos que “defienden” la BP, en particular el sistema nervioso simpático, el RAS y la retención de sodio. Por lo común no se les considera fármacos de primera línea, pero son más eficaces si se añaden a una combinación que incluye un diurético y un  $\beta$ -bloqueador. La hidralazina es un potente vasodilatador directo con acciones antioxidantes y de intensificación del NO y el minoxidilo es un fármaco particularmente potente que se usa muy a menudo en sujetos con insuficiencia renal, resistentes a todos los demás fármacos. La hidralazina puede inducir un síndrome similar al lupus y entre los efectos adversos del minoxidilo están hipertriosis y derrame pericárdico (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.6.2.9. COMPARACIONES ENTRE LOS ANTIHIPERTENSORES**

Son equivalentes esencialmente los efectos hipotensores de las seis clases de fármacos cuando se utilizan solos: diuréticos tiazídicos,  $\beta$ -bloqueadores, ACEI, ARB, CCB y  $\alpha_2$ -bloqueadores. En promedio, las dosis ordinarias de casi todos los antihipertensores disminuyen 8-10/4-7 mmHg la presión arterial; sin embargo, a veces hay diferencias en la reactividad, entre los subgrupos. Los pacientes más jóvenes pueden tener mayor respuesta a los  $\beta$ -bloqueadores y los ACEI, en tanto que quienes tienen más de 50 años pueden tener una mayor reactividad a los diuréticos y los CCB. Los sujetos con hipertensión hiperreninémica pueden reaccionar en grado mayor a los ACEI y ARB que a otras clases de fármacos, en tanto que los pacientes con hipertensión hiporreninémica reaccionan más a los diuréticos y los CCB. Los estadounidenses de raza negra hipertensos tienden a mostrar hiporreninemia y necesitar dosis mayores de ACEI y ARB que los sujetos caucásicos para el control óptimo de la BP, aunque dicha diferencia queda abolida cuando se combinan los fármacos mencionados con un diurético. Los  $\beta$ -bloqueadores también al parecer son menos eficaces que los diuréticos tiazídicos en los estadounidenses de raza negra, que en personas que no pertenecen a esa etnia (Longo D. L. et. al, 2012).

Los ACEI y ARB disminuyen la presión intraglomerular y la proteinuria, además pueden retrasar la evolución de la insuficiencia renal, situación que no es explicada del todo por sus efectos hipotensores, en nefrópatas diabéticos y no diabéticos. El aliskireno, independientemente de sus efectos antihipertensores, genera otros de tipo protector en los riñones en sujetos con hipertensión, diabetes tipo 2 y nefropatía. El efecto renoprotector de dichos antagonistas de renina-angiotensina, en comparación con otros antihipertensores, es menos manifiesto si las presiones arteriales son más bajas. En muchos sujetos con hipertensión e insuficiencia cardíaca causada por disfunción sistólica, diastólica o de ambos tipos, se recomienda emplear diuréticos, ACEI o ARB y  $\beta$ -bloqueadores para mejorar la supervivencia. Independientemente de la BP en sujetos hipertensos y normotensos los ACEI atenúan la aparición de hipertrofia de ventrículo izquierdo, mejoran el cuadro sintomático y el riesgo de muerte por CHF y disminuyen las cifras de morbilidad y mortalidad después de infarto del miocardio. Con el empleo de los ARB se han observado beneficios similares en los índices de morbilidad y mortalidad en personas con CHF. Con ACEI se obtiene mayor protección coronaria que con los CCB, en tanto que estos últimos brindan una mayor protección contra la apoplejía. La combinación de ACEI (benazepril) y

un CCB (amlodipino) son mejor que la combinación de ACEI y un diurético (hidroclorotiazida) para disminuir el riesgo de trastornos cardiovasculares agudos y muerte en sujetos de alto riesgo con hipertensión. Sin embargo, la combinación de ACEI y un diurético permite lograr disminuciones todavía mayores en aspectos como la morbilidad y la mortalidad en personas muy ancianas (Longo D. L. et. al, 2012).

Después de apoplejía, la combinación de un ACEI y un diurético, aminora el índice de accidente cerebrovascular recurrente (Longo D. L. et. al, 2012).

### **OBJETIVOS DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSOR EN LA PRESIÓN ARTERIAL**

La protección máxima contra los puntos finales cardiovasculares en combinación se logra con presiones <135-140 mmHg para la sistólica y <80-85 mmHg para la diastólica; sin embargo, el tratamiento no ha aminorado el riesgo de enfermedad cardiovascular hasta el nivel que tienen los sujetos no hipertensos. Los objetivos más intensivos en cuanto al control de la presión arterial (<130/80 mmHg) son recomendables, para sujetos con diabetes, cardiopatía coronaria, nefropatía crónica u otros factores adicionales de riesgo de enfermedad cardiovascular. En personas con proteinuria (>1 g/ día) pudiera ser deseable fijar una cifra menor como objetivo en la presión arterial (presión sistólica, de 120 mmHg en promedio), porque la disminución de la filtración glomerular en ellos depende particularmente de la presión mencionada. En diabéticos, el control eficaz de la BP aminora el riesgo de trastornos cardiovasculares agudos y muerte y también el de enfermedad microvascular (nefropatía, retinopatía). La disminución del riesgo es mayor en diabéticos que en no diabéticos. En sujetos con insuficiencia cardíaca, un objetivo razonable sería la cifra mínima que no se acompaña de manifestaciones de deficiencia de riego sanguíneo (Longo D. L. et. al, 2012).

Para alcanzar los objetivos recomendados en cuanto a BP, la mayor parte de sujetos hipertensos necesitara recibir más de un fármaco. A menudo se necesitan tres o más fármacos en personas con diabetes e insuficiencia renal.

Es importante que el control de la BP no sufra deterioro, simplemente para evitar que aumente un poco el nivel de creatinina. Incluso en sujetos de mayor edad con hipertensión

sistólica aislada, la disminución ulterior de la presión diastólica no origina daño. Sin embargo, es poca la información disponible respecto a la proporción de riesgo/beneficio del tratamiento antihipertensivo en personas >80 años y en dicha población, posiblemente convenga una disminución tensional gradual a niveles “prefijados” menos intensivos (Longo D. L. et. al, 2012).

### **3.7. RECOMENDACIONES PARA EL MANEJO DE HIPERTENSION (JNC VIII)**

#### **3.7.1. RECOMENDACIÓN 1**

En general en la población con edad  $\geq$  a 60 años, iniciar el tratamiento farmacológico para reducir la presión arterial (BP), si la presión arterial sistólica (SBP) es  $\geq$  a 150 mmHg o la presión arterial diastólica (DBP) es  $\geq$  a 90 mmHg y la meta es SBP < de 150 mmHg y una DBP < de 90 mmHg. (Fuerte recomendación, grado A)

#### **3.7.2. RECOMENDACIÓN COROLARIO**

En general en la población con edad  $\geq$  a 60 años, Si el tratamiento resulta en una disminución de p.ej. SBP < de 140 mmHg, y el tratamiento es tolerado sin efectos para la salud y la calidad de vida, no necesita ajuste. (Opinión de expertos, grado E).

#### **3.7.3. RECOMENDACIÓN 2**

En general en la población con edad < de 60 años, iniciar tratamiento farmacológico para disminuir la BP, si la DBP  $\geq$  a 90 mmHg, y la meta del tratamiento es DBP < de 90 mmHg (para edades de 30-59 años una fuerte recomendación, grado A; para edades de 18-29 años, opinión de expertos, grado E)

#### **3.7.4. RECOMENDACIÓN 3**

En general en la población con edad < de 60 años, iniciar tratamiento farmacológico para disminuir la BP, si la SBP  $\geq$  a 140 mmHg, y la meta del tratamiento es SBP < de 140 mmHg (opinión de expertos, grado E)

#### **3.7.5. RECOMENDACIÓN 4**

En la población con edad  $\geq$  a 18 años con enfermedad renal crónica (CKD), iniciar tratamiento farmacológico para disminuir la presión arterial (BP) si tenemos una SBP  $\geq$  a 140 mmHg o DBP  $\geq$  a 90 mmHg, y la meta del tratamiento es una SBP  $<$  de 140 mmHg y una DBP  $<$  de 90 mmHg (opinión de expertos, grado E)

### **3.7.6. RECOMENDACIÓN 5**

En la población con edad  $\geq$  a 18 años con diabetes, iniciar tratamiento farmacológico para disminuir la presión arterial (BP) si tenemos una SBP  $\geq$  a 140 mmHg o DBP  $\geq$  a 90 mmHg, y la meta del tratamiento es una SBP  $<$  de 140 mmHg y una DBP  $<$  de 90 mmHg (opinión de expertos, grado E)

### **3.7.7. RECOMENDACIÓN 6**

En general en la población no negra, incluyendo a aquellos con diabetes, iniciar tratamiento antihipertensivo que puede incluir un diurético tipo tiazida, un bloqueador de canales de calcio (CCB), un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACEI) o un bloqueador de los receptores de angiotensina (ARB) (recomendación moderada, grado B)

### **3.7.8. RECOMENDACIÓN 7**

En general en la población negra, incluyendo a aquellos con diabetes, iniciar tratamiento antihipertensivo con un diurético tipo tiazida o un CCB (en general para la población negra: recomendación moderada, grado B; para los pacientes negros con diabetes: recomendación débil, grado c)

### **3.7.9. RECOMENDACIÓN 8**

En la población con edad  $\geq$  a 18 años con CKD, el tratamiento antihipertensivo inicial (o adicional) puede incluir un ACEI o un ARB para mejorar el resultado renal, esto aplicado a todos los pacientes con CKD e hipertensión sin considerar raza o estado de diabetes (recomendación moderada, grado B)

### **3.7.10. RECOMENDACIÓN 9**

El principal objetivo del tratamiento de la hipertensión es alcanzar y mantener la BP meta. Si la BP meta no es alcanzado dentro de un mes de tratamiento, incrementar la dosis de la droga inicial o adicionar una segunda droga de una de las clases de la recomendación 6 (diurético tipo tiazida, CCB, ACEI o ARB). La clínica puede continuar para valorar la BP y ajustar el régimen de tratamiento hasta alcanzar la BP meta. Si la BP meta no es alcanzado con dos drogas, adicionar una tercera droga de la lista provista, no usar un ACEI y un ARB juntos en un mismo paciente. Si la BP meta no es alcanzada usando solamente las drogas de la recomendación 6, debido a una contraindicación o la necesidad de usar mas de tres drogas para alcanzar la BP meta. Drogas antihipertensivas de otras clases pueden ser usados. La Referencia a un especialista en hipertensión puede ser indicado en pacientes en el cual la BP meta no fue alcanzado usando la estrategia arriba mencionada para el manejo de pacientes complicados, para el cual una consulta clínica adicional es necesaria.

El tratamiento con las drogas impuestas se basa en que deben de producir menos eventos y /o muertes cardiovasculares o cerebro vasculares. El panel no recomiendan  $\beta$ -bloqueadores para tratamiento inicial de hipertensión ya que presenta alta tasa de muerte cardiovascular, infarto de miocardio o accidente cerebrovascular en comparación con ARB (produce accidente cerebro vascular). No se incluyó  $\alpha$ - bloqueadores porque también resulta en eventos cerebrovasculares y falla cardiaca. Incluye diuréticos tiazídicos: clortalidona, indapamide, no incluye a los ahorradores de potasio. En caso de enfermedad arterial coronaria o falla cardiaca la recomendación 6 puede aplicarse con precaución.

### **Algoritmo para el manejo de la hipertensión arterial (JNC VIII)**



### 3.8. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (RAS)

#### 3.8.1. HISTORIA

En 1898, Tiegerstedt y Bergman observaron que los extractos salinos de riñón sin refinar contenían una sustancia presora que denominaron *renina*. En 1934, Goldblatt et al., demostraron que la constricción de las arterias renales producía hipertensión persistente en perros. En 1940, Braun-Menéndez et al., en Argentina, así como Page y Helmer en Estados Unidos, informaron que la renina era una enzima que actuaba sobre un sustrato de proteína plasmática para catalizar la formación del material presor real, un péptido, que el primer grupo denominó *hipertensina*, y el segundo, *angiotensina*. Esos dos términos persistieron casi 20 años, hasta que se acordó renombrar la sustancia presora como angiotensina, y llamar al sustrato plasmático *angiotensinógeno*. A mediados de la década de 1950 se reconocieron dos formas de angiotensina, el primero es un decapeptido (angiotensina I), y el segundo, un octapeptido (angiotensina II), formado por el desdoblamiento enzimático de la angiotensina I (ANG I) por otra enzima, llamada *enzima convertidora de angiotensina* (ACE). Se demostró que el octapeptido es la forma más activa, y su síntesis realizada en 1957 por Schwyzer y Bumpus hizo que el material estuviera disponible para estudio intensivo. Después se demostró que los riñones son importantes para la regulación de aldosterona y que la angiotensina estimula en forma potente la producción de aldosterona en seres humanos. Además, se observó el incremento de secreción de renina ante la disminución del  $\text{Na}^+$ . Así, el RAS llegó a reconocerse como un mecanismo que estimulaba la síntesis y secreción de aldosterona, y como un importante mecanismo homeostático que regulaba la presión arterial (BP) y la composición de electrolitos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

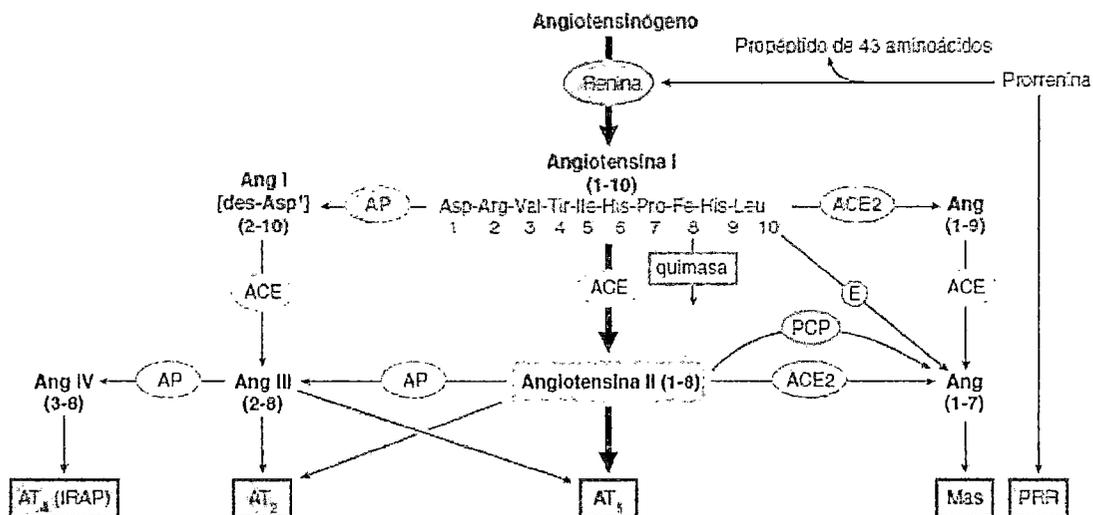
A principios de la década de 1970 se descubrieron polipéptidos que inhibían la formación de angiotensina II (ANG II) o bloqueaban a los receptores de la misma. Estos inhibidores revelaron funciones fisiológicas y fisiopatológicas del RAS e inspiraron la creación de una nueva clase de fármacos antihipertensores con amplia eficacia: los ACEI activos por vía oral. Los estudios con ACEI descubrieron la participación del RAS en la fisiopatología de la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, las vasculopatías y la insuficiencia renal. La creación de antagonistas selectivos y competitivos de los receptores de ANG II dio origen

al losartán, el primer antagonista de los receptores de ANG II, no peptídico, potente, muy selectivo y activo por vía oral. Más tarde, se desarrollaron muchos otros antagonistas de los receptores de ANG II. En fecha reciente se aprobó el uso de aliskireno, un inhibidor directo de la renina, para el tratamiento de la hipertensión (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### 3.8.2. COMPONENTES DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

#### 3.9.2.1. ASPECTOS GENERALES

La ANG II, el péptido de angiotensina más activo, deriva del angiotensinógeno en dos pasos proteolíticos. Primero, la renina, una enzima que liberan los riñones, segmenta el deca péptido ANG I del amino terminal del angiotensinógeno (sustrato de renina). A continuación, la ACE elimina el dipéptido carboxilo terminal de la ANG I para producir el octapéptido ANG II. En la **figura 9** se resumen estos pasos enzimáticos. La ANG II actúa uniéndose a dos receptores heptahelicoidales acoplados a proteína G (GPCR),  $AT_1$  y  $AT_2$ .



**Figura 9.** Componentes del RAS. Las flechas gruesas muestran la vía clásica, las flechas delgadas indican la vía alterna. ACE, enzima convertidora de angiotensina; Ang, angiotensina; AP, aminopeptidasas; E, endopeptidasas; IRAP, aminopeptidasas reguladas por insulina; PCP, proliocarboxilpeptidasas; PRR, receptor de (pro)renina. Receptores que participan:  $AT_1$ ,  $AT_2$ , Mas,  $AT_4$  y PRR. La exposición del sitio activo de renina puede también ocurrir por mecanismos no proteolíticos.

En fecha reciente se ha conocido mejor el RAS. En la actualidad se considera que el RAS también incluye un RAS local (hístico), otras vías para la síntesis de ANG II (independiente de la ACE), la formación de otros péptidos de angiotensina con actividad biológica (angiotensina III, angiotensina IV, angiotensina [1-7]) y más receptores de unión a

angiotensina (subtipos de angiotensina 1, 2 y 4 [AT<sub>1</sub>, AT<sub>2</sub>, AT<sub>4</sub>]; Mas) que participan en el crecimiento y la diferenciación celulares, hipertrofia, inflamación, fibrosis y apoptosis (Brunton L. L., et. Al, 2012).

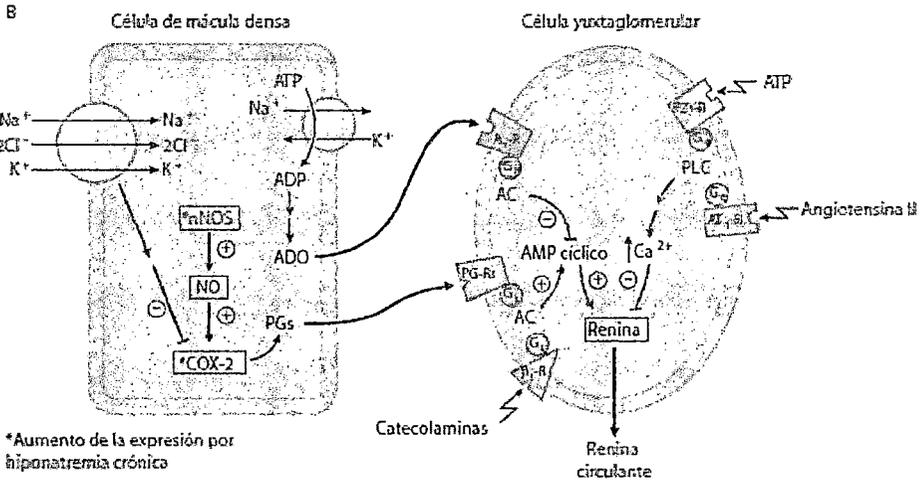
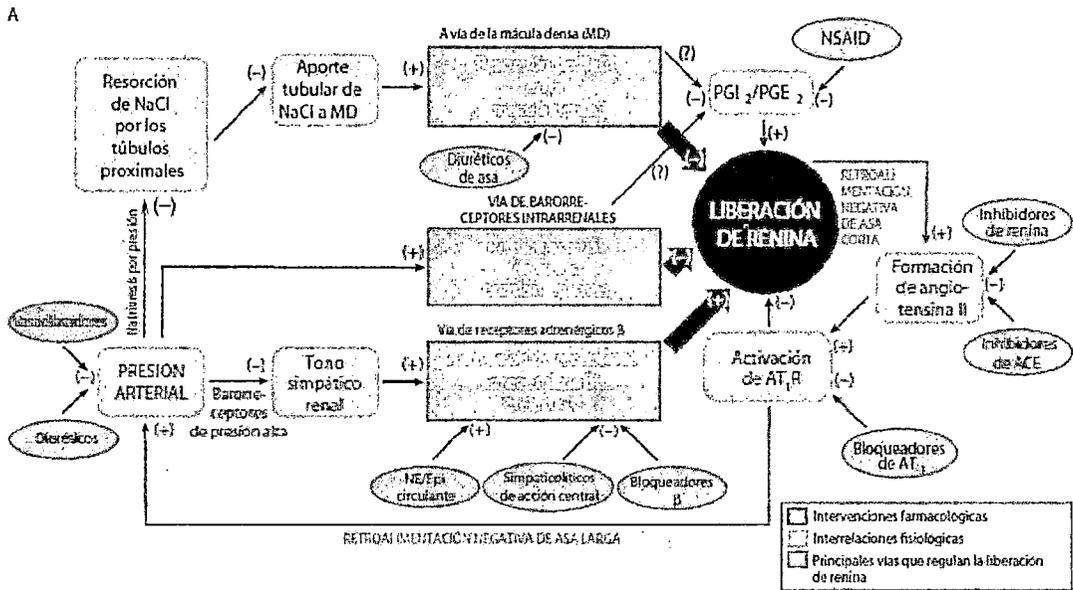
### 3.9.2.2. RENINA

El volumen de la renina liberado por los riñones es el principal determinante de la tasa de producción de ANG II. La renina se sintetiza, almacena y secreta mediante exocitosis hacia la circulación arterial renal por las células yuxttaglomerulares (JGC) granulares (**figura 10**) ubicadas en las paredes de las arteriolas aferentes. La renina es una proteasa de aspartilo que segmenta el enlace entre los residuos 10 y 11 del amino terminal del angiotensinógeno para producir ANG I. La forma activa de renina es una glucoproteína que contiene 340 aminoácidos. Se sintetiza como una proenzima de 406 residuos aminoácidos que se procesan en prorenina. La prorenina es activada por proteólisis por las enzimas proconvertasa I o catepsina B que eliminan 43 aminoácidos (propéptido) de su terminal amino para dejar al descubierto el sitio activo de la renina. El sitio activo de la renina se ubica en una hendidura entre los dos lóbulos homólogos de la enzima. La activación no proteolítica de la prorenina, fundamental en la activación del RAS local, tiene lugar cuando la prorenina se une al receptor de prorenina/renina, lo que da origen a cambios de conformación que despliegan el propéptido y exponen el sitio con actividad catalítica de la enzima (Danser et al., 2005). La renina y la prorenina se almacenan en las JGC y, cuando se liberan, circulan en el torrente sanguíneo. La concentración de prorenina en la circulación es 10 veces más alta que la de la enzima activa. La semivida de la renina circulante es de alrededor de 15 minutos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### 3.9.2.3. CONTROL DE LA SECRECIÓN DE RENINA

La secreción de renina procedente de las JGC está controlada de manera predominante por tres vías (**figura 10**):

El primer mecanismo es la *vía de la mácula densa*. La mácula densa se encuentra adyacente a las JGC y se compone de células epiteliales cilíndricas especializadas que se localizan en la pared de la rama ascendente gruesa cortical que pasa entre las arteriolas aferente y eferente del glomérulo.



**Figura 10. A.** Representación esquemática de las tres vías fisiológicas principales que regulan la liberación de renina. MD, mácula densa; PGI<sub>2</sub>/PGE<sub>2</sub>, prostaglandinas I<sub>2</sub> y E<sub>2</sub>; NSAID, antiinflamatorios no esteroideos; Ang II, angiotensina II; ACE, enzima convertidora de angiotensina, AT<sub>1</sub>R, receptor de angiotensina subtipo 1; NE/Epi, noradrenalina /adrenalina; JGC, células yuxtaglomerulares. **B.** Mecanismos por los que la mácula densa regula la liberación de renina. Tanto los cambios agudos en el aporte tubular de NaCl a la mácula densa como los cambios prolongados en el consumo de sodio alimentario causan las señales apropiadas para que se transporten de la mácula densa a las JGC. La disminución prolongada de sodio aumenta la sintasa de óxido nítrico neuronal (nNOS) y la ciclooxigenasa (COX-2) inducible en la mácula densa. El incremento del transporte de NaCl agota el trifosfato de adenosina (ATP) y aumenta los valores de adenosina (ADO) en la mácula densa. La ADO se difunde a las células yuxtaglomerulares y activa la vía AT<sub>1</sub>-G<sub>i</sub>, inhibiendo la adenililciclase (AC) y disminuyendo el cAMP celular. El incremento del transporte de NaCl en la mácula densa aumenta la salida de ATP a través de canales maxianiónicos basolaterales, y el ATP se convierte en adenosina en el compartimiento extracelular e inhibe la adenililciclase a través de receptores A<sub>1</sub>. Además, el ATP liberado de la mácula densa puede inhibir de manera directa la liberación de renina durante unión a los receptores P2Y acoplados a G<sub>q</sub> en las JGC. La Ang II circulante se une a receptores AT<sub>1</sub> en las JGC e inhibe la liberación de renina a través de incrementos del Ca<sup>2+</sup> intracelular inducidos durante G<sub>q</sub>.

Un cambio de la resorción de NaCl por la mácula densa da como resultado transmisión de señales químicas hacia las JGC cercanas, que modifican la secreción de renina. Los incrementos del flujo de NaCl a través de la mácula densa inhiben la liberación de renina, y las disminuciones la estimulan. El ATP, la adenosina y las prostaglandinas median la vía de la mácula densa; el ATP y la adenosina se liberan cuando aumenta el transporte de NaCl. El ATP actúa sobre los receptores de P2Y para inhibir la liberación de renina. La adenosina actúa por la vía del receptor de adenosina A<sub>1</sub> para inhibir la liberación de renina. Se liberan prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) cuando disminuye el transporte de NaCl y estimulan la liberación de renina al intensificar la formación de AMP cíclico. La ciclooxigenasa-2 inducible (COX-2) estimula la producción de prostaglandinas. Tanto COX-2 como la sintasa de óxido nítrico neuronal (nNOS) participan en los mecanismos por los que la mácula densa estimula la liberación de renina. La expresión de COX-2 y nNOS aumenta por la restricción prolongada del sodio alimentario, y la inhibición selectiva de COX-2 o de nNOS reduce la liberación de renina. La vía nNOS/NO puede mediar, en parte, los incrementos de la expresión de COX-2 inducidos por una dieta con poco sodio (Brunton L. L., et. Al, 2012).

La regulación de dicha vía depende más de la concentración luminal de Cl<sup>-</sup> que del Na<sup>+</sup>. El transporte de NaCl hacia la mácula densa está mediado por el simportador de Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> (**figura 10B**), y las concentraciones de la mitad del máximo de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> necesarias para el transporte por medio de este simportador son de 2- 3 y de 40 meq/L, respectivamente. Dado que la concentración luminal de Na<sup>+</sup> en la mácula densa por lo general es mucho mayor que la cifra necesaria para el transporte de la mitad del máximo, las variaciones fisiológicas de las concentraciones lumbales de Na<sup>+</sup> en la mácula densa muestran escaso efecto sobre la liberación de renina (esto es, el simportador permanece saturado con respecto al Na<sup>+</sup>). Por otro lado, los cambios fisiológicos de la concentración de Cl<sup>-</sup> (20 a 60 meq/L) en la mácula densa generan profundos efectos sobre la liberación de renina mediada por esta última estructura (Brunton L. L., et. Al, 2012).

El segundo mecanismo que controla la liberación de renina se denomina *vía del barorreceptor intrarrenal*. Los incrementos y decrementos de la BP en los vasos preglomerulares bloquean y estimulan la liberación de renina, respectivamente. Se cree que

el estímulo inmediato para la secreción es reducir la tensión dentro de la pared de la arteriola aferente. La liberación de prostaglandinas renales y el acoplamiento biomecánico por la vía de los conductos iónicos activados por estiramiento pueden mediar en parte la vía de los barorreceptores intrarrenales (Wang et al., 1999).

El tercer mecanismo, denominado *vía del receptor adrenérgico  $\beta$* , es mediado por la liberación de noradrenalina procedente de nervios simpáticos posganglionares; la activación de los receptores  $\beta_1$  sobre las JGC aumenta la secreción de renina (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Las tres vías que regulan la liberación de renina están incorporadas en un mecanismo de retroalimentación regulador (**figura 10A**). Cuando la secreción de renina aumenta, se intensifica la formación de ANG II, misma que estimula a los receptores  $AT_1$  en las JGC para inhibir la liberación de renina, efecto denominado *mecanismo de retroalimentación negativa de asa corta*. La ANG II incrementa la sangre arterial vía los receptores  $AT_1$ ; este efecto inhibe la liberación de renina por:

- La activación de barorreceptores de presión alta, lo cual reduce el tono simpático renal
- El incremento de presión en los vasos preglomerulares
- La reducción de la resorción de NaCl en los túbulos proximales (natriuresis por presión), que aumenta la liberación tubular de NaCl hacia la mácula densa.

La inhibición de la liberación de renina debido a incrementos de la BP inducidos por ANG II se ha denominado *mecanismo de retroalimentación negativa de asa larga*. La BP, el consumo de sal alimentaria y varios fármacos influyen en las vías fisiológicas que regulan la liberación de renina (**figura 10A**). Los diuréticos de asa estimulan la liberación de renina porque reducen la BP y bloquean la resorción de NaCl en la mácula densa. Los antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) inhiben la síntesis de prostaglandinas y en consecuencia disminuyen la liberación de renina. Los ACEIs, ARBs y los inhibidores de renina interrumpen los mecanismos de retroalimentación negativos de asa corta y asa larga y, por tanto, incrementan la liberación de renina. Los simpaticolíticos de acción central, así

como los  $\beta$ -bloqueadores, reducen la secreción de renina porque disminuyen la activación de los receptores adrenérgicos  $\beta$  en las JGC (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.2.4. ANGIOTENSINÓGENO**

El sustrato para la renina es el angiotensinógeno, glucoproteína globular abundante (MW = 55 000 a 6 0000). La ANG I se segmenta del amino terminal del angiotensinógeno. El angiotensinógeno del ser humano contiene 452 aminoácidos y se sintetiza como preangiotensinógeno, que tiene un péptido de señal de 24 ó 33 aminoácidos. El angiotensinógeno se sintetiza sobre todo en el hígado, también en la grasa, ciertas regiones del SNC y en los riñones. Se sintetiza y secreta de manera continua en el hígado y su síntesis se estimula por inflamación, insulina, estrógenos, glucocorticoides, hormona tiroidea y ANG II (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Las concentraciones circulantes de angiotensinógeno son casi iguales al  $K_m$  de renina respecto de su sustrato (cerca de 1  $\mu$ M). En consecuencia, la rapidez de la síntesis de ANG II, y, por tanto, la BP pueden modificarse con los cambios en los niveles de angiotensinógeno (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.2.5. ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA (ACE)**

La ACE es una dipeptidil-carboxil-metalopeptidasa que contiene un átomo de zinc, es una ectoenzima que es una glucoproteína con peso molecular de 170 kDa. La ACE de seres humanos contiene 1 277 residuos aminoácidos y posee dos dominios homólogos, cada uno con un sitio catalítico extracelular amino terminal, un dominio intracelular corto carboxilo terminal y una zona hidrófoba transmembrana de 17 aminoácidos. La ACE es más bien inespecífica y desdobla unidades dipéptido de sustratos con diversas secuencias de aminoácidos. Los sustratos preferidos sólo tienen un grupo carboxilo libre en el aminoácido carboxilo terminal, y la prolina no debe ser el penúltimo aminoácido; por eso, la enzima no desintegra la ANG II. La ACE es idéntica a la cininasa II, que inactiva bradiginina y otros péptidos vasodilatadores potentes. Si bien en el plasma ocurre conversión lenta de ANG I en ANG II, el metabolismo muy rápido que se observa *in vivo* se debe en gran parte a la actividad de la ACE unida a membrana de células endoteliales de todo el sistema vascular (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### 3.9.2.6. ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA 2 (ACE2)

La ACE2 del ser humano tiene 805 aminoácidos, con una posible secuencia de señal corta. Contiene un dominio catalítico aislado que es 42% idéntico a los dos dominios catalíticos de la ACE. La ACE2 segmenta la ANG I en angiotensina (1-9) y procesa la ANG II en angiotensina (1-7). La ACE2 regula las concentraciones de ANG II y limita sus efectos al convertirla a angiotensina (1-7), que se une a los receptores *Mas* y desencadena una respuesta vasodilatadora y antiproliferativa (Varagic et al., 2008). La ACE2 no es inhibida por los inhibidores estándar de la ACE y no tiene ningún efecto en la bradicinina (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### 3.9.2.7. PÉPTIDOS DE ANGIOTENSINA

Cuando se aplica por vía intravenosa, la ANG I se convierte con rapidez en ANG II. Sin embargo, la propia ANG I tiene menos del 1% de la potencia de la ANG II sobre músculo liso, corazón y corteza suprarrenal. La angiotensina III (ANG III), también denominada angiotensina (2-8), puede formarse por el efecto de la aminopeptidasa sobre la ANG II, o por el de la ACE sobre angiotensina (2-10). Las ANG II y III causan efectos cualitativamente similares. La ANG II es casi igual de potente que la III en la estimulación de la secreción de aldosterona; sin embargo, la ANG III sólo tiene 10 y 25% de la potencia de la ANG II para aumentar la BP y estimular la médula suprarrenal, respectivamente (Brunton L. L., et. Al, 2012).

La angiotensina (1-7) se forma por múltiples vías (**figura 9**). La ANG I puede metabolizarse en angiotensina (1-7) por endopeptidasas. La ANG II puede convertirse en angiotensina (1-7) por la prolilcarboxipeptidasa (Ferrario et al., 1997). La ACE2 convierte la ANG I en angiotensina (1-9) y la ANG II en angiotensina (1-7); la ACE metaboliza la angiotensina (1-9) en angiotensina (1-7). En modelos en animales, la angiotensina (1-7) se opone a muchos de los efectos de la ANG II: induce vasodilatación, favorece la producción de NO, potencia los efectos vasodilatadores de la bradicinina e inhibe la activación de ERK<sub>1/2</sub> inducida por ANG II; posee actividad antiangiogénica, antiproliferativa y antitrombótica; asimismo, ejerce un efecto cardioprotector en la isquemia cardiaca y en la insuficiencia cardiaca. Los efectos de la angiotensina (1-7) son mediados por un receptor

Más específico. Ferrario et al. (1997) propusieron que la angiotensina (1-7) actúa como contrarregulador de las acciones de la ANG II, lo que puede depender del cociente de actividad de ACE-ANG II/ACE2-angiotensina (1-7) (Santos et al. 2008). Los ACEIs incrementan las concentraciones hísticas y plasmáticas de angiotensina (1-7), porque las concentraciones de ANG I se incrementan y se desvían de la formación de ANG II (**figura 9**) y porque la ACE contribuye a la eliminación plasmática de angiotensina (1-7). El antagonismo de los receptores AT<sub>1</sub> incrementa en gran medida las concentraciones de ANG II a la que la ACE2 convierte a angiotensina (1-7) (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.9.2.8. ANGIOTENSINASAS**

Este término se aplica a diversas peptidasas que participan en la desintegración e inactivación de péptidos angiotensina; ninguna es específica. Entre ellas se encuentran aminopeptidasas, endopeptidasas y carboxipeptidasas (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.9.2.9. SISTEMAS RENINA-ANGIOTENSINA LOCALES (RAS HISTICO)**

En la actualidad, también se incluye el RAS local. Este último es un sistema productor de ANG II que se ha identificado por su participación en la hipertrofia, inflamación, remodelamiento y apoptosis. Para la activación del RAS local y la producción de ANG II se necesita la unión de renina o de prorenina al receptor específico de prorenina (PRR), ubicado en las superficies celulares. En este sentido, es importante diferenciar entre RAS local *extrínseco* e *intrínseco*. Así en el RAS local extrínseco, la ACE se encuentra en las células del endotelio vascular y la pared arterial (y otros tejidos) capta la renina circulante de origen renal (Danser et al., 1994). Mientras que el RAS local intrínseco, de muchos tejidos (encéfalo, hipófisis, vasos sanguíneos, corazón, riñones y suprarrenales) expresan mRNA para renina, angiotensinógeno, ACE, o todos, y diversos tipos de células en cultivo obtenidos a partir de esos tejidos producen renina, angiotensinógeno, ACE o angiotensinas I, II y III. Por ende, parece ser que los RAS locales operan en forma autocrina o paracrina, además influyen en la función y la estructura de vasos, corazón y riñones en forma complementaria con el RAS sistémico (Paul et al., 2006; Delcaire C, et. al., 2015)

### **3.9.2.9. RECEPTOR DE PRORRENINA (PRR)**

El PRR ubicado en la superficie celular que se une a la prorenina y renina con gran afinidad ( $K_D$  de casi 6 y 20 nM, respectivamente) y especificidad (Batenburg y Danser, 2008). El PRR humano es una proteína de 350 aminoácidos que no comparte homología con ninguna proteína de la membrana. La unión de prorenina al PRR incrementa la actividad catalítica de renina en cuatro a cinco veces e induce la activación no proteolítica de prorenina. Una vez que se ha unido, la prorenina activada cataliza la conversión de angiotensinógeno a ANG I, que más tarde se convierte en ANG II por acción de la ACE que se encuentra en la superficie celular. La ANG II que se produce en forma local se une a los receptores  $AT_1$  y activa los episodios de señalización intracelular que regulan el crecimiento celular, los depósitos de colágena, fibrosis, inflamación y apoptosis (Nguyen y Danser, 2008).

La unión de prorenina al PRR también induce episodios de señalización independientes de la ANG II que incluye la activación de  $ERK_{1/2}$ , p38, tirosina cinasa, expresión del gen de  $TGF-\beta$ , e inhibidor del activador de plasminógeno de tipo 1 (PAI-1). Estas vías de señalización no son antagonizadas por los ACEIs o por antagonistas de los receptores  $AT_1$ ; se ha notificado que contribuyen a fibrosis, necrosis y daño orgánico (Kaneshiro et al., 2007; Nguyen y Danser, 2008). El PRR abunda en corazón, encéfalo, ojos, glándulas suprarrenales, placenta, tejido adiposo, hígado y riñones. La prorenina ya no se considera el precursor inactivo de la renina. La prorenina puede activar el RAS local y episodios dependientes e independientes de ANG II que pueden contribuir al daño orgánico. Las concentraciones plasmáticas circulantes de prorenina son 10 veces más altas que las de renina en sujetos sanos, pero se incrementan hasta 100 veces en individuos diabéticos y se asocian a mayor riesgo de nefropatía, fibrosis renal y retinopatía (Danser y Deinum, 2005; Nguyen y Danser, 2008). La interacción de prorenina con PRR se ha convertido en un objetivo de intervenciones terapéuticas.

### **3.9.2.10. OTRAS VÍAS PARA LA BIOSÍNTESIS DE ANGIOTENSINA**

El angiotensinógeno puede convertirse en ANG I o de manera directa en ANG II por acción de la Catepsina G y tonina. Otras enzimas que convierten la ANG I en ANG II son Catepsina G, enzima generadora de ANG II sensible a quimiostatina y quimasa cardiaca.

La quimasa contribuye a la conversión local de ANG I en ANG II, en particular en corazón y riñones (Paul et al., 2006).

### **3.9.2.11. RECEPTORES DE ANGIOTENSINA**

Las ANG II y III se acoplan a GPCR específicos denominados AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> (de Gasparo et al., 2000). El receptor AT<sub>1</sub> tiene una afinidad 10 000 mayor por el losartán y que el receptor AT<sub>2</sub>. El receptor AT<sub>1</sub> (359 aminoácidos de largo) y el receptor AT<sub>2</sub> (363 aminoácidos) comparten 34% de homología de secuencia. Casi todos los efectos biológicos conocidos de la ANG II son mediados por el receptor AT<sub>1</sub> (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Los receptores AT<sub>2</sub>, ejercen cambios anti-proliferativos y pro-apoptóticos, en las células musculares lisas de los vasos sanguíneos, principalmente por antagonismo de los receptores AT<sub>1</sub> vía activación de tirosina o serina/treonina fosfatasas; además de efectos vasodilatador y antihipertensor. La expresión de los receptores AT<sub>2</sub> disminuye tras el nacimiento, sugiriendo que puede tener un rol importante en el desarrollo fetal (Jones et al., 2008; Carey et al., 2001; Delcaire C, et. al., 2015). Aunque el receptor AT<sub>2</sub> suele considerarse como un receptor protector cardiovascular, su expresión excesiva y activación puede contribuir a hipertrofia de miocitos y fibrosis cardíaca (D' Amore et al., 2005; Ichihara et al., 2001). La expresión de receptores AT<sub>2</sub> se incrementa en las enfermedades cardiovasculares, como insuficiencia cardíaca, fibrosis cardíaca y cardiopatía isquémica; sin embargo, es poco clara la importancia del aumento de la expresión de los receptores AT<sub>2</sub> (Jones et al., 2008).

El receptor *Mas* media los efectos de la angiotensina (1-7), que incluye vasodilatación y efectos antiproliferativos. La delección del gen *Mas* en ratones transgénicos revela disfunción cardíaca (Santos et al., 2008).

### **3.9.2.12. ACOPLAMIENTO RECEPTOR-EFECTOR DE ANGIOTENSINA**

Los receptores AT<sub>1</sub> se acoplan a varias proteínas G heterotriméricas, como G<sub>q</sub>, G<sub>12/13</sub> y G<sub>i</sub>. En casi todos los tipos de células, los receptores AT<sub>1</sub> se acoplan a G<sub>q</sub> para activar la vía fosfolipasa C (PLC) β-trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>)- Ca<sup>2+</sup>. Secundaria a la activación de G<sub>q</sub>, puede ocurrir activación de cinasa de proteína C (PKC), PLA<sub>2</sub> y PLD y la producción de

eicosanoides, así como la activación de cinasas de proteína activada por mitógenos (MAP) y dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  y la activación de la NOS dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina. Puede surgir la activación de  $G_i$  y reducir la actividad de la adenililciclase, lo que disminuye el contenido celular de AMP cíclico; sin embargo, también hay pruebas de la actividad cruzada  $G_q \rightarrow G_s$  de tal manera que la activación de la vía  $\text{AT}_1$ - $G_q$ -PLC aumenta la producción de AMP cíclico (Meszaros et al., 2000; Epperson et al., 2004). Las subunidades  $\beta\gamma$  de  $G_i$  y la activación de  $G_{12/13}$  conducen a la activación de cinasa de tirosina y proteínas G pequeñas como Rho. Por último, se activa la vía JAK/STAT y se induce una diversidad de factores reguladores transcripcionales. Con estos mecanismos, la angiotensina influye en la expresión de un grupo de productos génicos relacionados con el crecimiento celular y la producción de componentes de la matriz extracelular. Los receptores  $\text{AT}_1$  también estimulan la actividad de una oxidasa de NADH/NADPH unida a la membrana que genera especies reactivas de oxígeno (ROS). ROS pueden contribuir a los efectos bioquímicos (activación de la MAP cinasa, tirosina cinasa y fosfatasas; inactivación de NO y expresión de la proteína 1 quimioatrayente de los monocitos) y a los efectos fisiológicos (efectos agudos en la función renal, efectos crónicos en la BP e hipertrofia e inflamación vasculares) (Mehta y Griendling, 2007; Higuchi et al., 2007). La importancia relativa de esta miríada de vías de transducción de señal en la mediación de las respuestas biológicas a la ANG II es específica de cada tejido. La presencia de otros receptores puede alterar la respuesta a la activación del receptor  $\text{AT}_1$ .

El señalamiento procedente de los receptores  $\text{AT}_2$  es mediado en gran parte por vías dependientes e independientes de la proteína G. Las consecuencias de la activación del receptor  $\text{AT}_2$  incluyen activación de fosfoproteinfosfatasas, conductos del potasio, síntesis NO y GMP cíclico, producción de bradicinina e inhibición de las funciones de los conductos del calcio (Jones et al., 2008). Los receptores  $\text{AT}_2$  pueden tener actividad constitutiva. Se ha notificado que la expresión excesiva de receptores  $\text{AT}_2$  induce la producción de NO en las células de músculo liso vascular e hipertrofia en los miocitos cardiacos por la actividad intrínseca de los receptores de  $\text{AT}_2$  independientes de la unión a angiotensina (D'Amore et al., 2005; Jones et al., 2008). El receptor  $\text{AT}_2$  puede unirse en forma directa al receptor  $\text{AT}_1$  y antagonizarlo (AbdAlla et al., 2001) y puede formar

heterodímeros con el receptor B<sub>2</sub> de bradicinina para favorecer la producción de NO (Abadir, et. al., 2006).

### 3.9.3. FUNCIONES Y EFECTOS DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

Los principales efectos de la ANG II en el aparato cardiovascular son:

- Respuesta presora rápida
- Respuesta presora lenta
- Hipertrofia y remodelamientos vascular y cardiaco

Aumentos moderados de las concentraciones plasmáticas de ANG II incrementan de manera aguda la BP; sobre una base molar, la ANG II es casi 40 veces más potente que la noradrenalina, y la EC<sub>50</sub> de la ANG II, para el incremento agudo de la presión arterial, es alrededor de 0.3 nM/L. Cuando se inyecta por vía intravenosa una sola dosis moderada de ANG II, la presión arterial de la circulación general empieza a aumentar en segundos, alcanza rápido un máximo y vuelve a lo normal en minutos. Esta *respuesta presora rápida* a la ANG II se debe a un incremento repentino de la resistencia periférica total, respuesta que ayuda a conservar la BP en una exposición aguda a hipotensión (p. ej., hemorragia o vasodilatación). Si bien la ANG II incrementa de manera directa la contractilidad cardiaca (por medio de la abertura de los conductos del Ca<sup>2+</sup> sensibles a voltaje en miocitos cardiacos), y de manera indirecta la frecuencia cardiaca (mediante facilitación del tono simpático, aumento de la neurotransmisión adrenérgica y liberación de catecolaminas suprarrenales), el incremento rápido de la BP activa un reflejo barorreceptor que disminuye el tono simpático y aumenta el tono vagal. Por eso, la ANG II puede incrementar, disminuir o no cambiar la contractilidad, la frecuencia y el gasto cardiacos, según el estado fisiológico. Por lo tanto, los cambios del gasto cardiaco contribuyen poco, si es que lo hacen, a la respuesta presora rápida inducida por la ANG II (Brunton L. L., et. Al, 2012).

La ANG II también genera una *respuesta presora lenta* que ayuda a estabilizar la BP a largo plazo. Un suministro continuo de dosis en un inicio supresoras de ANG II incrementó de manera gradual la BP; se necesitan días para alcanzar el efecto máximo. Es probable que esta respuesta presora lenta esté mediada por una merma de la función renal excretora que cambia la curva de presión renal-natriuresis a la derecha. La ANG II estimula la síntesis de

endotelina 1 y anión superóxido, que puede contribuir a la respuesta presora lenta. Además de sus efectos en la BP, la ANG II estimula la remodelación del aparato cardiovascular lo que causa hipertrofia de células vasculares y cardíacas y aumenta la síntesis y depósito de colágeno por fibroblastos cardíacos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### 3.9.3.1. MECANISMOS POR LOS CUALES LA ANGIOTENSINA II INCREMENTA LA RESISTENCIA PERIFÉRICA TOTAL

La ANG II aumenta la resistencia periférica total (TPR) por medio de efectos directos indirectos sobre los vasos sanguíneos (figura 11).

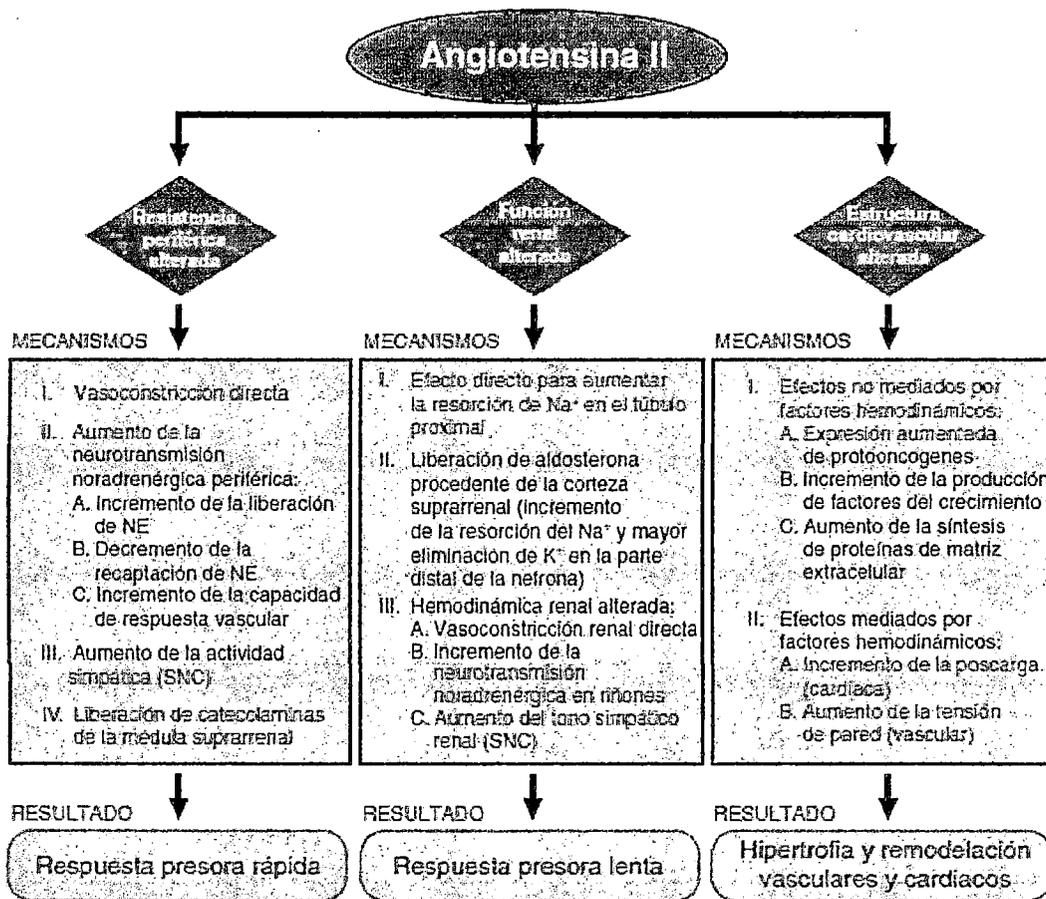


Figura 11. Resumen de los tres efectos principales de la angiotensina II y los mecanismos que lo median. NE, noradrenalina.

#### 3.9.3.1.1. RESPUESTA PRESORA RÁPIDA

##### 3.9.3.1.1.1. VASOCONSTRICCIÓN DIRECTA

La ANG II contrae arteriolas precapilares y, en menor grado, vénulas poscapilares por la activación de los receptores AT<sub>1</sub> localizados en células de músculo liso vascular y por la estimulación de la vía G<sub>q</sub>-PLC-IP<sub>3</sub>-Ca<sup>2+</sup>. La ANG II tiene efectos diferenciales en los lechos vasculares. La vasoconstricción directa es más potente en los riñones y un poco menor en el lecho vascular esplácnico; en estas regiones, con la administración de ANG II disminuye de repente el flujo sanguíneo. La vasoconstricción inducida por ANG II es mucho menor en vasos cerebrales y más débiles aún en pulmones y músculo estriado. No obstante, concentraciones circulantes altas de ANG II pueden disminuir el flujo sanguíneo cerebral y coronario (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.1.2. AUMENTO DE LA NEUROTRANSMISIÓN NORADRENÉRGICA PERIFÉRICA**

La ANG II incrementa la liberación de noradrenalina procedente de terminales nerviosas simpáticas, inhibe la recaptación de noradrenalina hacia las terminales nerviosas y aumenta la respuesta vascular a la noradrenalina. Las concentraciones altas del péptido estimulan de manera directa a las células ganglionares (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.1.3. EFECTOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

Pequeños volúmenes de ANG II aplicados en las arterias vertebrales incrementan la BP. Este efecto se encuentra mediado por aumento de la descarga eferente simpática a causa de un efecto de la hormona sobre los núcleos circunventriculares que no se encuentran protegidos por la barrera hematoencefálica (área postrema, órgano subfornical y órgano vasculoso de la lámina terminal). La ANG II circulante también atenúa las reducciones mediadas por barorreceptores de la actividad simpática, lo cual incrementa la BP. Tanto la ANG II transportada por la sangre como la que se forma dentro del encéfalo afectan al sistema nervioso central. El cerebro contiene todos los componentes del RAS. Además de aumentar el tono simpático, la ANG II también causa un efecto dipsógeno con mediación central e incrementa la liberación de vasopresina procedente de la neurohipófisis (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.1.4. LIBERACIÓN DE CATECOLAMINAS PROCEDENTES DE LA MÉDULA SUPRARRENAL**

La ANG II estimula la liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal al despolarizar células cromafínicas (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.9.3.1.2. RESPUESTA PRESORA LENTA**

#### **3.9.3.1.2.1. ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL**

La ANG II genera efectos pronunciados sobre la función renal al reducir la excreción urinaria de  $\text{Na}^+$  y agua, en tanto incrementa la excreción de  $\text{K}^+$ . El efecto general de la ANG II sobre los riñones es desviar hacia la derecha la curva de presión renal-natriuresis (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.2.2. EFECTOS DIRECTOS DE LA ANG II SOBRE LA RESORCIÓN DE SODIO EN LOS TÚBULOS RENALES**

Las concentraciones muy bajas de ANG II estimulan el intercambio de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  en los túbulos proximales, efecto que incrementa la resorción de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y bicarbonato. Este mecanismo afecta a cerca del 20 al 30% del bicarbonato manejado por la nefrona. La ANG II también aumenta la expresión del simportador de  $\text{Na}^+$ -glucosa en el túbulo proximal (Bautista et al., 2004). Es paradójico que en concentraciones altas, la ANG II pueda inhibir el transporte de  $\text{Na}^+$  en el túbulo proximal. La ANG II también estimula de manera directa el simportador de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  en la rama ascendente gruesa. El túbulo proximal secreta angiotensinógeno y el túbulo conector libera renina, de tal manera que es posible que un sistema tubular paracrino de renina-angiotensina contribuya a la resorción de  $\text{Na}^+$  (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.2.3. LIBERACIÓN DE ALDOSTERONA PROCEDENTE DE LA CORTEZA SUPRARRENAL**

La ANG II estimula la zona glomerular de la corteza suprarrenal para incrementar la síntesis y secreción de aldosterona; asimismo, aumenta las respuestas a otros estímulos (a la ACTH y  $\text{K}^+$ ). Las concentraciones muy reducidas de ANG II, que tienen poco efecto o ninguno sobre la BP, desencadenan el incremento de la producción de aldosterona. Esta última actúa sobre los túbulos distales y colectores para causar retención del  $\text{Na}^+$  y excreción de  $\text{K}^+$  e  $\text{H}^+$ . El efecto estimulante de la ANG II sobre la síntesis y liberación de

aldosterona aumenta en situaciones de hiponatremia o hiperpotasemia, y se reduce cuando las concentraciones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  se alteran en la dirección opuesta (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.2.4. HEMODINÁMICA RENAL ALTERADA**

La ANG II reduce el flujo sanguíneo renal y la función excretora renal al constreñir de manera directa el músculo liso vascular renal, aumentar el tono simpático renal (un efecto en el SNC) y facilitar la transmisión adrenérgica renal (efecto intrarrenal). La vasoconstricción de microvasos preglomerulares inducida por ANG II aumenta por la adenosina endógena debido a una interacción entre los sistemas de transducción de señal activados por  $\text{AT}_1$  y los receptores  $\text{A}_1$  de adenosina (Hansen et al., 2003). La ANG II influye en la tasa de filtración glomerular (GFR) por medio de varios mecanismos:

- Constricción de las arteriolas aferentes, que reduce la presión intraglomerular y tiende a disminuir la GFR
- Contracción de células mesangiales, que aminora el área de superficie capilar dentro del glomérulo disponible para filtración y tiende también a reducir la GFR
- Constricción de las arteriolas eferentes, que incrementa la presión intraglomerular y tiende a aumentar la GFR

En situaciones normales, la ANG II reduce un poco la tasa de filtración glomerular; sin embargo, durante la hipotensión de la arteria renal, predominan los efectos de la ANG II sobre la arteriola eferente, de modo que en esta situación la ANG II incrementa la filtración glomerular. Así, el bloqueo del RAS puede causar insuficiencia renal aguda en personas con estenosis bilateral de la arteria renal o en aquellas con estenosis unilateral que sólo tienen un riñón (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.9.3.1.2.5. PARTICIPACIÓN DEL RAS EN LA CONSERVACIÓN A LARGO PLAZO DE LA BP A PESAR DE EXTREMOS EN LA INGESTIÓN DEL $\text{NA}^+$ ALIMENTARIO**

La presión arterial (BP) es un determinante muy importante de la excreción de  $\text{Na}^+$ . Esto puede ilustrarse con una gráfica en la que se traza la excreción urinaria de  $\text{Na}^+$  en contraposición con la presión arterial media (MAP), gráfica conocida como *curva de presión renal-natriuresis*. A largo plazo, la excreción de  $\text{Na}^+$  debe ser igual a la ingestión del mismo; por ende, el valor predeterminado para las cifras a largo plazo de BP puede obtenerse como la intersección de una línea horizontal que representa la ingestión de  $\text{Na}^+$  con la curva de presión renal-natriuresis. El RAS es muy importante en la conservación de un valor predeterminado constante para las cifras de BP a largo plazo, a pesar de cambios extremos de la ingestión de  $\text{Na}^+$  alimentario. Cuando dicha ingestión es baja, se estimula la liberación de renina, y la ANG II actúa sobre los riñones, desviando así hacia la derecha la curva de presión renal-natriuresis. Por el contrario, cuando el  $\text{Na}^+$  alimentario es alto, se inhibe la liberación de renina, y la supresión de ANG II causa desviación hacia la izquierda de la curva de presión renal-natriuresis. Cuando se evita con fármacos la regulación del RAS, los cambios de la ingestión de sal afectan mucho las cifras a largo plazo de la BP (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.10. INHIBIDORES DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA**

El interés clínico se centra en el desarrollo de inhibidores del RAS. Con fines terapéuticos se utilizan tres tipos de inhibidores (**figura 12**):

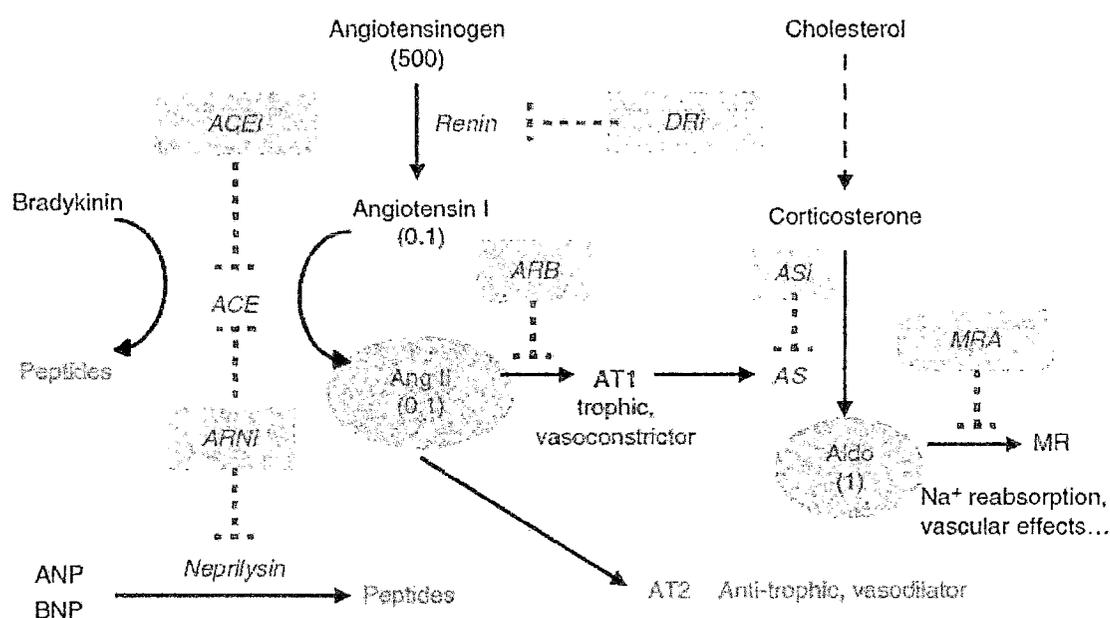
- Inhibidores de la ACE (ACEI)
- Antagonistas de los receptores de angiotensina (ARB)
- Inhibidores directos de la renina (DRI)

#### **3.10.1. INHIBIDORES DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA (ACEIs)**

##### **3.10.1.1. HISTORIA**

Durante la década de 1960, Ferreira et al. Observaron que los venenos de serpientes de la familia de los crótalos contienen factores que intensifican las respuestas a la bradicinina. Estos factores que potencian la bradicinina son una familia de péptidos que inhiben a la

cininasa II, una enzima que inactiva a la bradicinina. Erdős y su grupo establecieron que la ACE y la cininasa II en realidad son la misma enzima que cataliza tanto la síntesis de ANG II, una potente sustancia presora, como la destrucción de bradicinina. Con base en estos hallazgos, se sintetizó después el nonapéptido teprotido (péptido del veneno de serpientes que inhibe la cininasa II y la ACE) y se probó en seres humanos. Se observó que disminuyó la BP en muchos pacientes con hipertensión esencial y ejerció efectos beneficiosos en pacientes con insuficiencia cardíaca (Brunton L. L., et. Al, 2012).



**Figura 12.** Esquema del RAAS y sus inhibidores, enzimas en color verde, inhibidores en color rojo. Enzima convertidora de angiotensina (ACE), inhibidores de ACE (ACEi), inhibidor directo de renina (DRi), bloqueador del receptor de angiotensina (ARB), aldosterona (Aldo), sintasa de aldosterona (AS), inhibidores de aldosterona (ASI), antagonistas del receptor de mineralocorticoides (MRA), inhibidores del receptor angiotensina Nephilisin (ARNi). Los valores entre paréntesis con concentraciones medias en nMol/L (Delcaire C, et. al., 2015)

El inhibidor de la ACE, eficaz por vía oral, *captoprilo*, se creó mediante un método racional que comprendió el análisis del efecto inhibitor del teprotido, inferencia acerca del efecto de la ACE sobre sus sustratos y analogía con la carboxipeptidasa A, que se sabía quedaba inhibida por el ácido d-benzilsuccínico. Ondetti, Cushman et al.; afirmaron que podría inhibirse la ACE mediante succinilaminoácidos, que correspondían en longitud al dipéptido desdoblado por la ACE. Esto condujo a la síntesis de una serie de derivados carboxi

alcanoílo y mercapto alcanoílo que actuaron como potentes inhibidores competitivos de la ACE. El más activo fue el captoprilo (Vane, 1999).

### **3.10.1.2. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN ANIMALES DE LABORATORIO Y SERES HUMANOS NORMALES**

El efecto de esos compuestos sobre el RAS es inhibir la conversión de la ANG I en la ANG II activa. La inhibición de la producción de ANG II reducirá la BP y aumentará la natriuresis. La ACE es una enzima con muchos sustratos e inhibirla puede inducir efectos no relacionados con la reducción de las concentraciones de ANG II. Dado que los ACEIs incrementan las concentraciones de bradicinina, y puesto que esta última estimula la biosíntesis de prostaglandina, ambas pueden contribuir a los efectos farmacológicos de los ACEIs. Los ACEIs aumentan en cinco veces las concentraciones circulantes del regulador natural de células madre *N*-acetil-seril-aspartil-lisil-prolina, que puede contribuir a los efectos cardioprotectores de los ACEIs (Rhaleb et al., 2001). Además, dichos medicamentos interfieren en la retroalimentación negativa de asa tanto corta como larga sobre la liberación de renina (**figura 10A**). La ANG I acumulada se dirige por otras vías metabólicas, lo cual da como resultados el incremento de la producción de péptidos vasodilatadores como angiotensina (1-7).

En animales y seres humanos sanos y con cifras normales de  $\text{Na}^+$ , una sola dosis oral de un ACEI tiene poco efecto sobre la BP de la circulación general. En contraste, incluso una sola dosis de esos inhibidores disminuye de modo sustancial la BP en sujetos normales cuando se ha procedido a reducir el sodio.

### **3.10.1.3. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS CLÍNICAS**

Se han sintetizado muchos ACEIs, que pueden clasificarse en tres grandes grupos 1) fármacos que contienen sulfhidrilo y tienen una relación estructural con el captoprilo; 2) compuestos que contienen dicarboxilo y una relación estructural, con el enalaprilo (p. ej., lisinoprilo, benazeprilo, quinaprilo, moexiprilo, ramiprilo, trandolaprilo, perindoprilo), y 3) medicamentos que contienen fósforo y muestran relación estructural con el fosinoprilo. Muchos ACEIs son profármacos que contienen éster y que son ACEIs 100 a 1 000 veces menos potentes que los metabolitos activos, pero con mucho mejor biodisponibilidad oral

que las moléculas activas. En la actualidad, hay 11 inhibidores de la ACE aprobados para uso clínico en Estados Unidos. Dichos fármacos difieren en cuanto a tres propiedades: potencia; si la inhibición de la ACE se debe de manera primaria al propio medicamento o a la conversión de un profármaco en un metabolito activo y la farmacocinética (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Con las excepciones del fosinopriilo y el espirapriilo (que muestran eliminación equilibrada por hígado y riñones), los ACEIs se eliminan de modo predominante por los riñones. Por ende, el deterioro de la función renal disminuye mucho la depuración plasmática de casi todos los ACEIs, y en sujetos con deterioro renal es necesario reducir las dosis de esos compuestos. La actividad de la renina plasmática (PRA) aumentada genera gran capacidad de respuesta a la hipotensión inducida por ACEIs, y las dosis iniciales de todos estos compuestos deben reducirse en sujetos que muestran concentraciones plasmáticas altas de renina (p. ej., pacientes con insuficiencia cardiaca o con hiponatremia) (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Todos los inhibidores de la ACE (ACEIs) bloquean la conversión de ANG I en ANG II y tienen indicaciones terapéuticas, perfiles de efectos adversos y contraindicaciones similares. El captopriilo y enalapriilo tienen prácticamente la misma eficacia antihipertensora y seguridad, pero el *Quality-of-Life Hypertension Study Group* notificó que el captopriilo puede tener un efecto más favorable en la calidad de vida (Testa et al., 1993). Debido a que la hipertensión suele necesitar tratamiento de por vida, es muy importante tener en cuenta los aspectos de la calidad de vida cuando se comparan los fármacos antihipertensores. Los ACEIs difieren mucho en la distribución hística; es posible que esta diferencia pueda aprovecharse para inhibir parte del RAS local al tiempo que deja los demás relativamente intactos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.4. CAPTOPRILO**

Es un potente ACEI, el primero que se comercializó, con una constante de inhibición ( $K_i$ ) de 1.7 nM. Es el único ACEI que contiene una porción sulfhidriilo aprobado para uso en Estados Unidos. Por vía oral, el captopriilo se absorbe con rapidez y tiene biodisponibilidad de alrededor de 75%. Si se administra por vía oral, el captopriilo se absorbe con rapidez y

tiene una biodisponibilidad cercana al 75%. La biodisponibilidad se reduce en 25 a 30% con los alimentos, de forma que el captoprilo debe administrarse 1 h antes de los alimentos. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan en el transcurso de 1 h y el fármaco se elimina con rapidez (la semivida es de unas 2 h). La mayor parte del medicamento se elimina en orina, 40 a 50% como captoprilo, y el resto como dímeros disulfuro de este último y disulfuro de captoprilo-cisteína. La dosis de captoprilo varía de 6.25 a 150 mg, dos a tres veces al día; 6.25 mg tres veces al día o 25 mg dos veces al día son apropiados al inicio del tratamiento de la insuficiencia cardiaca e hipertensión, respectivamente. La mayoría de los enfermos no debe recibir dosis diarias de más de 150 mg, aunque la dosis máxima autorizada para la insuficiencia cardiaca es de 450 mg/día (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.10.1.5. INHIBIDORES DE LA ACE EN HIPERTENSIÓN**

La inhibición de la ACE disminuye la resistencia vascular periférica y las presiones arteriales media, diastólica y sistólica en diversos estados de hipertensión, excepto cuando la hipertensión se debe a aldosteronismo primario. El cambio inicial de la BP tiende a guardar una relación positiva con la PRA y las concentraciones plasmáticas de ANG II antes del tratamiento. Algunos pacientes muestran un decremento, posible de medir, de la BP, y el efecto antihipertensor muestra entonces poca correlación o ninguna con las cifras de PRA previas al tratamiento. Es posible que el aumento de la producción local de ANG II o el incremento de la capacidad de respuesta de los tejidos con concentraciones normales de esta última haga a algunos hipertensos sensibles a los ACEIs a pesar de una PRA normal (Brunton L. L., et. Al, 2012).

La disminución a largo plazo de la BP que se observa en hipertensos tratados con ACEIs se acompaña de desviación hacia la izquierda de la curva de presión renal-natriuresis, y decremento de la resistencia periférica total, en la cual hay participación variable de diferentes lechos vasculares. El riñón es una notable excepción porque los vasos renales poseen sensibilidad excepcional a los efectos vasoconstrictores de la ANG II. El flujo sanguíneo renal aumenta sin que se incremente la filtración glomerular; por eso, se reduce la fracción de filtración (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Los ACEIs causan una dilatación arteriolar general e incrementan la adaptabilidad de arterias de gran calibre, lo cual contribuye a reducir la presión sistólica. La función cardiaca en hipertensión no complicada casi siempre muestra poco cambio, aunque el volumen sistólico y el gasto cardiaco pueden aumentar un poco con el tratamiento sostenido. No hay alteración de la función barorreceptora ni de los reflejos cardiovasculares, y las respuestas a los cambios posturales y el ejercicio casi no cambian. Aun así, sorprende que incluso cuando se alcanza un decremento sustancial de la BP, la frecuencia cardiaca y las concentraciones plasmáticas de catecolaminas por lo general sólo aumentan poco, o nada. Esto quizá refleja anomalía de la función barorreceptora con aumento de la adaptabilidad arterial y la pérdida de la influencia tónica normal de la ANG II sobre el sistema nervioso simpático (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Los ACEIs reducen, pero no cambian mucho, la secreción de aldosterona en la población general de hipertensos. Dicha secreción se conserva en cifras adecuadas mediante otros estímulos esteroidógenos como hormona adrenocorticotrópica y  $K^+$ . La actividad de estos secretagogos sobre la zona glomerulosa de la corteza suprarrenal sólo necesita, a lo mucho, volúmenes tróficos o permisivos muy pequeños de ANG II, que siempre están presentes porque la inhibición de la ACE nunca es completa. Sólo hay retención excesiva del  $K^+$  en personas que toman complementos de este mismo, en aquellas con deterioro renal o en quienes consumen otros fármacos que reducen la excreción del potasio (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Los ACEIs solos normalizan la BP en alrededor del 50% de los pacientes con hipertensión leve a moderada. En 90% de los enfermos con hipertensión leve a moderada, la hipertensión se controlará con la combinación de un ACEI y un bloqueador de canales de  $Ca^{2+}$ , un  $\beta$ -bloqueador o un diurético. Los diuréticos aumentan la respuesta antihipertensora a los ACEIs al hacer que la BP se torne dependiente de renina. Varios ACEIs se comercializan en combinaciones de dosis fijas con un diurético tiazídico o con un antagonista de los canales de  $Ca^{2+}$  para el tratamiento de la hipertensión (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.10.1.6. EFECTOS SECUNDARIOS DE LOS INHIBIDORES DE LA ACE**

En general se toleran bien estos fármacos. Durante el tratamiento con estos inhibidores por tiempo prolongado no se observan efectos secundarios metabólicos. Los medicamentos no alteran las concentraciones plasmáticas de ácido úrico ni de  $\text{Ca}^{2+}$  y en realidad pueden mejorar la sensibilidad a la insulina en pacientes con resistencia a esta hormona y disminuir las concentraciones de colesterol y lipoproteínas en la nefropatía proteinúrica (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.1. HIPOTENSIÓN**

Después de la primera dosis de un ACEI quizás ocurra disminución empinada de la BP en sujetos con aumento de la PRA. A este respecto, es necesario tener cuidado en pacientes con hiponatremia, en aquellos que reciben tratamiento con múltiples antihipertensores y en personas con insuficiencia cardíaca congestiva (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.2. TOS**

En 5 a 20% de los enfermos, los ACEIs inducen tos seca y molesta mediada por acumulación en pulmones de bradicinina, sustancia P o prostaglandinas. El antagonismo de tromboxano, el ácido acetilsalicílico y los complementos de hierro disminuyen la tos inducida por ACEIs. En ocasiones es eficaz la reducción en la dosis de ACEI o el cambio a un ARB. Una vez que se suspenden los ACEIs, desaparece la tos, por lo general en el transcurso de cuatro días (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.3. HIPERPOTASIEMIA**

Rara vez se encuentra retención importante del  $\text{K}^+$  en sujetos con función renal normal. De cualquier modo, los ACEIs pueden causar hiperpotasiemia en personas con insuficiencia renal o en aquellas que toman diuréticos ahorradores del  $\text{K}^+$ , complementos del  $\text{K}^+$ ,  $\beta$ -bloqueadores o antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs)(Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.4. INSUFICIENCIA RENAL AGUDA**

La ANG II, al constreñir las arteriolas eferentes, ayuda a conservar una filtración glomerular adecuada cuando la presión de riego renal es reducida. La inhibición de la ACE favorece la aparición de insuficiencia renal aguda en sujetos con estenosis bilateral de

arteria renal, estenosis de la arteria que riega al riñón restante único, insuficiencia cardiaca o deshidratación por diarrea o diuréticos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.5. POTENCIAL FETOPÁTICO**

Esos efectos fetopáticos quizá se deban en parte a hipotensión fetal. Una vez que se diagnostica embarazo es indispensable que dichos fármacos se suspendan lo antes posible (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.6. EXANTEMA CUTÁNEO**

Los ACEIs en ocasiones suscitan un exantema maculopapular que puede o no generar escozor, pero que se resuelve en forma espontánea o con antihistamínicos. Si bien estos efectos secundarios se atribuyeron al principio a la presencia del grupo sulfhidrilo en el captoprilo, también ocurre con otros ACEIs, aunque menos a menudo (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.7. ANGIOEDEMA**

En 0.1 a 0.5% de los pacientes, ACEIs inducen inflamación rápida de nariz, garganta, boca, glotis, laringe, labios o lengua. Una vez que se suspenden los ACEIs, el angioedema desaparece en horas; entre tanto, es necesario proteger las vías respiratorias del enfermo y, si es necesario, aplicar adrenalina, un antihistamínico o glucocorticoide. Los estadounidenses de raza negra tienen un riesgo 4.5 veces mayor de mostrar angioedema inducido por ACEIs que los sujetos de raza blanca (Brown et al., 1996). Aunque es infrecuente, también se ha notificado angioedema intestinal (angioedema visceral) caracterizado por vómito, diarrea acuosa y dolor abdominal (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.6.8. OTROS EFECTOS SECUNDARIOS**

Algunos efectos secundarios en extremo infrecuentes, pero reversibles, son *disgeusia* (alteración o pérdida del sentido del gusto), *neutropenia* (cuyos síntomas incluyen dolor faríngeo y fiebre), *glucosuria* (pérdida de glucosa en la orina en ausencia de hiperglucemia) y *hepatotoxicidad* (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.10.1.7. INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS**

Los antiácidos pueden reducir la biodisponibilidad de los ACEIs; la capsaicina empeora la tos inducida por estos últimos; los NSAIDs, entre ellos el ácido acetilsalicílico, disminuyen la respuesta antihipertensora a dichos inhibidores, y los diuréticos ahorradores de  $K^+$  así como los complementos de  $K^+$  exacerbaban la hiperpotasiemia inducida por ACEIs. Estos últimos fármacos incrementan las concentraciones plasmáticas de digoxina y litio, y aumentan las reacciones de hipersensibilidad al alopurinol (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.11. ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS $\beta$ ( $\beta$ -bloqueadores)**

#### **3.11.2.3. ASPECTOS GENERALES**

El propranolol es un antagonista competitivo de los receptores  $\beta$  y sigue siendo el prototipo con el cual se comparan otros antagonistas de esta categoría. Estos fármacos se pueden distinguir por las propiedades siguientes: afinidad relativa por los receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$ ; actividad simpaticomimética intrínseca; antagonismo de las acciones de los receptores  $\alpha$ ; diferencias en la liposolubilidad; capacidad de inducir vasodilatación y parámetros farmacocinéticos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

El propranolol muestra igual afinidad por los receptores adrenérgicos  $\beta_1$  y  $\beta_2$ , por lo que es un antagonista no selectivo de los receptores adrenérgicos  $\beta$ . El propranolol es un antagonista puro, pero es capaz de activar los receptores  $\beta$ . Los agonistas parciales poseen actividad simpaticomimética intrínseca. Este tipo de actividad, si es sustancial, sería por completo antagonista y contraproducente en relación con la respuesta que se espera de un antagonista  $\beta$ ; sin embargo, una mínima actividad residual, puede, por ejemplo, impedir la bradicardia profunda o el inotropismo negativo en el corazón en reposo. Algunos  $\beta$ -bloqueadores tienen también actividad anestésica local o de estabilización de la membrana, similar a la de lidocaína, independiente del bloqueo  $\beta$ . Dichos fármacos comprenden propranolol, acebutolol y carvedilol (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.11.2.5. ACTIVIDAD COMO ANTIHIPERTENSORES**

En términos generales, los  $\beta$ -bloqueadores no disminuyen la BP, si esta es normal. Sin embargo, si la disminuyen en personas hipertensas. La liberación de renina de las JGC es

estimulada por el sistema nervioso simpático por medio de los receptores  $\beta_1$ , y tal efecto es bloqueado por los  $\beta$ -bloqueadores. Sin embargo, no es clara la relación entre este fenómeno y la disminución de la BP. Algunos investigadores han observado que el efecto antihipertensor del propranolol es más intenso en personas con concentraciones más altas de renina plasmática, en comparación con individuos cuya concentración de tal sustancia es normal o baja. No obstante, los  $\beta$ -bloqueadores son eficaces incluso en individuos con disminución del nivel de renina plasmática (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Los receptores  $\beta$  presinápticos intensifican la liberación de norepinefrina procedente de las neuronas simpáticas, pero no se ha dilucidado la importancia de la menor liberación de norepinefrina para los efectos antihipertensores de los  $\beta$ -bloqueadores. Si bien no podría esperarse que los  $\beta$ -bloqueadores disminuyeran la contractilidad del musculo de fibra lisa vascular, la administración prolongada de estos fármacos a sujetos hipertensos culmina en una disminución de la resistencia vascular periférica (Manin't Veld, et al., 1988). Se desconoce el mecanismo de dicho efecto importante, pero esta disminucióntardía en la resistencia vascular periférica, ante la disminución persistente del gasto cardiaco, al parecer explica gran parte del efecto antihipertensor de estos fármacos. Se ha planteado la hipótesis de que las acciones de los  $\beta$ -bloqueadores en el sistema nervioso central también pudieran contribuir a sus efectos antihipertensores (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Algunos  $\beta$ -bloqueadores tienen otros efectos que pudieran contribuir a su capacidad de disminuir la BP. Todos producen vasodilatación periférica y se han planteado como mínimo seis propiedades que pueden contribuir a tal efecto e incluyen: producción de NO; activación de receptores  $\beta_2$ ; bloqueo de receptores  $\alpha_1$ ; bloqueo de la penetración de calcio; abertura de los conductos del potasio, y actividad antioxidante. Estos al parecer contribuyen a los efectos antihipertensores al intensificar la hipotensión, incrementar el flujo sanguíneoperiférico y disminuir la poscarga (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.11.2.6.1. EFECTOS EN EL APARATO CARDIOVASCULAR**

El bloqueo de los receptores  $\beta$  puede originar o exacerbar la insuficiencia en sujetos con insuficiencia cardiaca compensada, infarto agudo del miocardio o cardiomegalia. Sin embargo, han surgido pruebas convincentes de que la administración a largo plazo de los  $\beta$ -

bloqueadores es eficaz para prolongar la vida en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca en pacientes escogidos (Brunton L. L., et. Al, 2012).

La bradicardia es una respuesta normal a los  $\beta$ -bloqueadores, pero en individuos con defectos de conducción AV parcial o completa, pueden causar bradiarritmias letales. Hay que tener precaución particular en individuos que reciben otros fármacos como el verapamilo o diversos antiarrítmicos que pudieran disminuir la función del nodo sinusal o la conducción AV (Brunton L. L., et. Al, 2012).

Algunos pacientes se quejan de frío en las extremidades cuando reciben  $\beta$ -bloqueadores. Los síntomas de enfermedad vascular periférica pueden empeorar, si bien tal situación es poco frecuente o a veces aparece el fenómeno de Raynaud. Con esta categoría de fármacos es probable que sea pequeñísimo el riesgo de que empeore la claudicación intermitente, y pudieran tener mucha importancia los beneficios clínicos de los  $\beta$ -bloqueadores en personas con enfermedad vascular periférica y coronariopatía coexistente (Brunton L. L., et. Al, 2012).

La interrupción repentina del uso prolongado de los  $\beta$ -bloqueadores exagera la angina y puede agravar el riesgo de muerte repentina. Se sabe muy bien que hay una mayor sensibilidad a los agonistas de los receptores  $\beta$  en individuos que recibieron por largo tiempo  $\beta$ -bloqueadores e interrumpieron de manera repentina el uso del bloqueador. La interrupción repentina del propranolol ocasiona una sensibilidad al isoproterenol, mayor de lo normal, situación que se manifiesta varios días después de interrumpir el propranolol y que persiste una semana, como mínimo. Este aumento de la sensibilidad puede aplacarse si se disminuye poco a poco la dosis del  $\beta$ -bloqueador durante varias semanas antes de interrumpirlo además de restringir el ejercicio (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.11.2.7. USOS TERAPÉUTICOS**

Los antagonistas de los receptores  $\beta$  se utilizan de manera generalizada en el tratamiento de la hipertensión, de la angina de pecho y síndromes coronarios agudos, así como en la insuficiencia cardiaca congestiva. También se emplean a menudo para tratar arritmias supraventriculares y ventriculares (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.11.2.8. PROPRANOLOL**

El propranolol interactúa con los receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$  con igual afinidad, no tiene actividad simpaticomimética intrínseca y no bloquea los receptores  $\alpha$  (Brunton L. L., et. Al, 2012).

#### **3.11.2.8.1. ABSORCIÓN, DESTINO Y ELIMINACIÓN**

El propranolol es muy lipófilo y se absorbe casi por completo después de la administración oral. Sin embargo, gran parte del fármaco es metabolizado en el hígado durante su primer paso por la circulación porta; solo alrededor del 25% llega a la circulación general. Además, se advierte una variación considerable de una persona a otra en la depuración presistémica del propranolol por parte del hígado, lo que contribuye a la enorme variabilidad en su concentración plasmática (unas 20 veces) después de la administración oral del fármaco, y es uno de los factores por los que las dosis para obtener eficacia clínica varían tanto. Una desventaja clínica del medicamento es que con el paso del tiempo es necesario incrementar muchas veces sus dosis. El grado de extracción hepática del propranolol disminuye conforme se aumenta su dosis. La biodisponibilidad de dicho fármaco puede aumentar con la ingestión simultánea de alimento y durante la administración del fármaco por largo tiempo (Brunton L. L., et. Al, 2012).

El propranolol tiene un gran volumen de distribución (4 L/ kg) y penetra con facilidad en el SNC. Cerca del 90% del fármaco en la circulación está unido a proteínas plasmáticas. Se metaboliza de manera extensa y muchos de sus metabolitos aparecen en la orina. Un producto del metabolismo por el hígado es el 4-hidroxiopropranolol, que posee actividad antagonista adrenérgica  $\beta$  moderada (Brunton L. L., et. Al, 2012).

El análisis de la distribución del propranolol, su captación y depuración por el hígado, así como su actividad, se complica por la estereoespecificidad de dichos procesos (Walle et al., 1988). Los enantiómeros (-) del propranolol y otros bloqueadores  $\beta$  constituyen las formas activas del fármaco. Al parecer el enantiómero (-) es eliminado con mayor lentitud del cuerpo que el enantiómero inactivo. La depuración del propranolol puede variar con la corriente sanguínea hepática y la presencia de hepatopatías, y también cambia a veces durante la administración de otros medicamentos que alteran el metabolismo del hígado. Las relaciones entre las concentraciones plasmáticas del propranolol y sus efectos

farmacodinámicos son complejas; por ejemplo, a pesar de que su semivida en plasma es breve (cerca de 4 h), su efecto antihipertensor dura lo suficiente como para que se pueda administrar dos veces al día en algunos pacientes. Parte del enantiomero (-) del propranolol y otros bloqueadores  $\beta$  es captado en las terminaciones de nervios simpáticos y liberado cuando ellos son estimulados (Walle et al., 1988).

Se han creado presentaciones de propranolol de liberación sostenida para que persistan durante 24 h las concentraciones terapéuticas del fármaco en plasma. La supresión de la taquicardia inducida por el ejercicio se conserva así durante todo el intervalo entre una y otra dosis, lo que mejora el apego al tratamiento (Brunton L. L., et. Al, 2012).

### **3.11.2.8.2. USOS TERAPÉUTICOS**

Para el tratamiento de la hipertensión y de la angina de pecho, la dosis inicial del propranolol oral suele ser de 40 a 80 mg al día. Luego se puede aumentar poco a poco la dosis hasta obtener la respuesta óptima. En la hipertensión es posible que deban transcurrir algunas semanas para que surja la respuesta plena en la presión arterial. Las dosis habituales son menores de 320 mg/día. Si se ingiere el fármaco dos veces al día contra la hipertensión, habrá que medir la presión arterial en forma exacta antes de ingerir la dosis para asegurar que el efecto ha durado lo suficiente. Para saber si el bloqueo adrenérgico  $\beta$  es suficiente, se mide la supresión de la taquicardia inducida por el ejercicio. El propranolol también se utiliza contra arritmias/taquicardias supraventriculares, arritmias/taquicardias ventriculares, contracciones ventriculares prematuras, taquiarritmias inducidas por digitálicos, infarto del miocardio, feocromocitoma, temblor esencial y para la profilaxia de la migraña. También se le ha utilizado para diversas indicaciones no incluidas entre las señaladas por el fabricante, como son los temblores parkinsonianos (en este caso se administra solo en la presentación de liberación prolongada), la acatisia inducida por antipsicóticos, la hemorragia de varices en la hipertensión porta y en el trastorno de ansiedad generalizada (Brunton L. L., et. Al, 2012).

## **4. HIPERTENSION EXPERIMENTAL EN RATAS TRATADAS CON PROPRANOLOL**

La incapacidad del riñón para eliminar un volumen normal de agua y sal con un régimen de presión normal es papel asignado al riñón por distintos investigadores, en la fisiopatología de la hipertensión arterial (HTA) (Coleman TG, et. al., 1976; Guyton AC y Coleman TG, 1980).

La etiopatogenia de la HTA primaria se ha planteado a partir de la secuencia siguiente: retención de sal y agua a consecuencia de un trastorno renal, aumento de la volemia y consecuentemente del gasto cardíaco, aumento de la presión arterial y contracción secundaria de las arteriolas periféricas con mayor elevación de la presión arterial, donde pudiera jugar un papel vasoconstrictor la hormona natriurética, la que compensaría la volemia y el gasto, pero reforzaría el aumento de la resistencia periférica (Wardener HE y McGregor GA, 1982). Sin embargo, los trastornos renales que se señalan como iniciales y que serían los causantes de la retención hidrosalina no son totalmente conocidos (Guyton AC, 1987; Osborn JL, 1991).

En tal sentido, Barber MO, et. al., 1992; González R., et. al., 1985; han encontrado un aumento de la presión arterial concomitante con una hipertrofia renal, 15 días después de la supresión de la administración de propranolol a ratas normotensas. Los autores le atribuyeron al aumento de la presión arterial una posible retención hidrosalina causada por la hipertrofia tubular encontrada.

Según Chaple La Hoz, et. al., 1996, el tratamiento con propranolol y su posterior supresión produjo una hipertrofia tubular y un aumento significativo del volumen tubular proximal, de la volemia, presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión circulatoria media, presión venosa central, lo cual se explica por una posible retención hidrosalina como consecuencia del desbalance glomérulo-tubular al suprimirse el fármaco. Estos resultados apoyan la hipótesis de un nuevo modelo de hipertensión arterial (HTA) renal generado en el laboratorio, que esclarecería aún más el papel del riñón en la génesis de la HTA primaria.

## CAPITULO III

### MATERIAL Y METODOS

#### LUGAR Y TIEMPO

El presente estudio se realizó entre los meses de Mayo hasta Noviembre del 2014, en la **Unidad de Biología Vascular y Hemodinámica (UBioVasH)** del **Centro de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEDEC)** de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú.

#### 1. MATERIALES Y EQUIPOS

##### 1.1. PARA LA OBTENCION DEL EXTRACTO METANOLICO DE PIEL DE PAPA

- Material vegetal: Se ha obtenido 10 kg de papa de la variedad “lomo negro”, procedente de Yonguyo del departamento de Puno, del mercado “Feria del Altiplano, sección alimentos andinos” de la ciudad de Arequipa, Perú. El cual fue sometido a su registro y clasificación taxonómica en la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú.
- Escobillón, cubeta de plástico, agua a chorro, pelador de papa, horno, molinobalanza analítica, metanol Industrial al 99% adquirido de DIPROQUIM, agitador magnético, papel filtro, tubos de ensayo, centrífuga, vaso de precipitado de 400 ml, baño María.

##### 1.2. PARA INDUCCION DE HIPERTENSION EXPERIMENTAL EN RATAS

- Reactivo biológico: 26 ratas macho, sanas, normotensas, de la especie *Rattus norvegicus*, variedad albina Swiss, de cuatro a cinco meses de edad, con un peso aproximado de 300 a 400 g, del bioterio del Centro de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEDEC) de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa-Perú.
- Propranolol tabletas de 40 mg, agua destilada, probeta de 50 ml, matraz Erlenmeyer, varilla de vidrio, jeringas de 1 ml, vaso de precipitado de 15 ml.

### **1.3. PARA LA ESTANDARIZACION DE UN METODO INVASIVO DE REGISTRO DE LA PRESION ARTERIAL EN RATAS**

- Reactivo biológico: 20 ratas normotensas de la especie *Rattus norvegicus*, variedad albina Swiss, de cuatro a cinco meses de edad, con un peso aproximado de 300 a 400 g, del bioterio del CIDEC.
- Ketamina ampollas de 500 mg/ 10 ml, diazepam ampollas de 10 mg/2 ml, suero salino fisiológico 0.9% 1L, heparina sódica 5000 UI/ ml frasco por 5 ml, xilocaina (s/epinefrina), isodine solución, alcohol yodado, jeringas (1ml, 5ml, 10ml, 20ml), llaves de triple vía, agujas (Nro. 22, 26, 27 G).
- Catéteres intravenosos y, arteriales: construidos a base de tubos de polietileno PE - 50 o tubos de polietileno (PE) con un diámetro interno (ID) de 0.5mm y un diámetro externo (OD) de 0.9 mm acoplado a agujas Nro. 22 x ½" y 26 x ½", según el peso del animal, los cuales fueron acondicionados con punta en bisel romo, con una longitud de 10-15 cm (Parasuraman, S. y Raveendran, R., 2012).
- Cánula endotraqueal: tubo de polietileno rígido, con diámetro interno de 2 mm y diámetro externo de 2.5 a 3 mm con una longitud de 4-5 cm, dependiendo del peso del animal.
- Material para el sistema cerrado del transductor de presión: tensiómetro, jeringa de vidrio graduada de 50 ml, tapón de jebes con agujero, tubo en Y, tubos de equipo de venoclisis y hemodiálisis.
- Lámpara quirúrgica, mesa quirúrgica, esparadrapo, campos quirúrgicos, gasas.
- Instrumental quirúrgico para animales pequeños: pinzas hemostáticas, pinzas de disección; tijera de tejidos, tijera de hilos; hoja de bisturí Nro. 15, mango de bisturí Nro. 3.
- Seda negra multiempaque 2/0, guantes quirúrgicos, mandil, gorro, lentes y barbijo descartables.
- Transductor de presión (Statham), polígrafo (GRASS MODEL 7 POLYGRAPH, SERIAL C83204), Bomba de Infusión, papel milimetrado, tinta.

### **1.4. PARA REGISTRO DE ELECTROCARDIOGRAMA (ECG) EN RATA**

- Cables para la entrada de señal (G1 (-), G2 (+) Y GND (neutro))
- Cocodrilos, agujas de metal: terminales, canal ECG del polígrafo, papel milimetrado de registro.

### **1.5. PARA EL EFECTO INHIBIDOR DEL EXTRACTO SOBRE LA VASOCONSTRICCIÓN INDUCIDA POR ANG I**

- Angiotensina I (ANG I) adquirido de SIGMA-ALDRICH, noradrenalina clorhidrato (NE) ampollas de 4mg/4ml, acetilcolina (ACh), solución de Krebs, suero salino fisiológico al 0.9% (SSF), hielo, sistema de órgano aislado, transductor de tensión isométrica, polígrafo Grass, micropipetas de 0.1 -20  $\mu$ L, de 0.5-20  $\mu$ L, de 20-200  $\mu$ L, de 200-1000  $\mu$ L, puntas de micropipetas estériles, pesa de 2g, placas petri, pinzas de uso oftálmico, bisturí Nro. 21, jeringa de 1 ml, cronómetros, balones de Oxígeno y CO<sub>2</sub>, termómetro.

## **2. METODOS**

### **2.1. ETAPA PRE-EXPERIMENTAL**

#### **a) OBTENCIÓN DEL EXTRACTO METANOLICO DE LA PIEL DE PAPA “LOMO NEGRO”.**

Se procedió a la clasificación de los tubérculos, y al lavado estricto uno por uno para retirar todo el material adherido a la piel (superficie) con un escobillón y se retiró la piel con una profundidad de 3 mm, en un ambiente sin exposición a la luz solar, luego se secó en un horno a temperatura menor de 40 °C por el lapso de tres días, seguidamente se procedió al pulverizado y se guardó en un frasco oscuro en refrigeración.

El extracto se obtuvo por maceración durante 7 días, mezclando 10 g de piel molida de papa con 200 ml de metanol, los cuales eran removidos en un agitador magnético a temperatura ambiente protegido de la luz. El extracto se filtró con papel filtro Wathman No.42. El filtrado se sometió a temperatura de 5°C por 10 minutos, luego se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos y el sobrenadante se evaporó en baño María a temperatura menor de 40°C. Después del secado se procedió al raspado del polvo adherido al vaso de precipitado luego se pesó y guardó en un frasco oscuro en refrigeración (modificado de Sotillo, R.D., et. al., 1994).

Por cada 10g de piel molida de papa, se obtuvo 403.04 mg de extracto metanólico puro. De 7 papas medianas (4x4x8cm c/u aprox.) se obtuvo un peso seco de 8907.6 mg de piel de papa, Obteniéndose 359.01 mg de extracto metanólico puro.

#### **b) INDUCCION DE HIPERTENSION EXPERIMENTAL EN RATAS NORMOTENSAS, TRAS LA SUSPENSION DEL TRATAMIENTO CRONICO CON PROPRANOLOL**

El procedimiento se realizó con dos grupos, cuyos elementos fueron distribuidos aleatoriamente. Veinte ratas (grupo experimental), recibieron tratamiento con una solución de propranolol a una dosis de 0.15 mg/100 g de tejido cada 12 h, el cual fue calculado en un volumen de administración no mayor de 1 ml y administrado por vía intraperitoneal (i.p.) durante 21 días; paralelamente a seis ratas (grupo control), se les administro placebo (agua destilada) en el volumen correspondiente vía i.p. la misma cantidad de días. Trascurrido el tratamiento se suspendió el mismo, y se esperó entre veinte a treinta días para el propósito.

#### **c) ESTANDARIZACION DE UN METODO INVASIVO PARA REGISTRO DE LA PRESION ARTERIAL Y ECG EN RATAS DE LABORATORIO**

Todos los animales se mantuvieron en ayunas un periodo mínimo de 8-10 horas antes de los experimentos, pero se les permitió el acceso libre de agua hasta 1 h antes de comenzar con los mismos (Ojewole J. A., 2006; Parasuraman S. y Raveendran R., 2012).

El volumen de administración intravenosa por bomba de infusión a 100  $\mu$ L/20 seg. del suero salino fisiológico (SSF) o de cualquier droga fue de 100  $\mu$ L, terminando la infusión lavando el catéter venoso con otros 100  $\mu$ L de SSF al 0.9%, para evitar alteraciones hemodinámicas por volumen y velocidad de administración (Ammer O. Z., et. al., 2010; Parasuraman S. y Raveendran R., 2012, Qaiser J. y Aslam N., 2013).

La solución salina heparinizada para llenar los catéteres, el transductor y como vehículo para administración de las drogas fue preparado con 50-100 UI de heparina sódica/ml de SSF al 0.9%. (Mahalaxmi Mohan, et.al., 2009).

## **1. MONTAJE DEL SISTEMA CERRADO DE SOLUCION SALINA HEPARINIZADA ACOPLADO AL TRASDUCTOR DE PRESION, CALIBRACION DEL PRE-AMPLIFICADOR, AMPLIFICADOR Y TRADUCCION EN EL PAPEL MILIMETRADO DE REGISTRO**

En primer lugar, se procedió al montado del sistema de calibración ideado y acoplado, constituido por el transductor, conectado por medio de una llave de triple vía a la jeringa de 20 ml llena de SSF heparinizado (purgador, permeabilizador) por un lado y por otro lado al tubo de polietileno conectado a la jeringa de vidrio de 50 ml, luego se procedió al llenado del sistema con SSF heparinizado sin burbujas de aire, se colocó el tapón de jebe de la jeringa de vidrio, con el tubo en Y conectado por un extremo al tapón de jebe, por los otros extremos opuestos por medio de tubos de polietileno al tensiómetro y la bombilla.

Paso seguido se coloca el papel milimetrado en el Polígrafo trabajándose con la segunda plumilla para registro de Presión Arterial, luego calibramos el preamplificador como sigue: IMPUT BRIDGE: 2K, BALANCE VOLTAJE: 40 MV, 1MV/TURN: 4.31, SENSITIVITY ADJ.CAL. = 2CM: 2, MV/CM: 0.05; el amplificador: POLARITY: USE, ½ AMP. HIGH. FREQ.: 75, DRIVER SENSITIVITY: 3, BASE LINE POSITION: DN 3.

Una vez realizado lo anterior, se procedió a encender el equipo con la velocidad del papel a 5 mm/min, y se acciona la bombilla observándose el recorrido de la aguja del tensiómetro que equivalentemente hará su recorrido la pluma inscriptora marcando así en el papel desde 20 – 200 mmHg con intervalos de 10 mmHg.

## **2. CALIBRACION DEL PRE-AMPLIFICADOR Y AMPLIFICADOR PARA REGISTRO DEL ECG EN LA DERIVACION II EN RATAS**

Se trabajó con la siguiente calibración del pre-amplificador: LEAD SELECTOR: II, ½ AMP. LOW FREQ.: 0.04, TIME CONSTANT: 2.5, SENSITIVITY: 9. Amplificador: POLARITY -UP: USE, ½ AMP. HIGH FREQ.: 35, DRIVER SENSITIVITY: 5, BASE LINE POSITION DN: 1. Con una velocidad del papel a 25mm/seg y 100mm/seg. Se

colocó los electrodos de la siguiente forma: el negativo en la extremidad anterior derecha, el positivo en la extremidad posterior izquierda y el neutro en la extremidad anterior izquierda de la rata. Se calculó la frecuencia cardiaca, teniendo en cuenta el número de cuadraditos pequeños (1 mm) que hay entre 2 ondas R consecutivas, se dividió 1500 entre el número de cuadraditos pequeños.

### **3. PROCEDIMIENTO QUIRURGICO Y COLOCACION DE CATETERES ARTERIAL Y VENOSO PARA REGISTRO DE PRESION ARTERIAL INVASIVA Y ADMINISTRACION DE DROGAS RESPECTIVAMENTE**

Las ratas en ayunas desde la noche anterior, fueron anestesiadas con Ketamina 80 mg/kg y Diazepam 5mg/ kg, por inyección intraperitoneal en diferentes jeringas (Qaiser J. y Aslam N., 2013). Se sujetó a la mesa quirúrgica con esparadrapo por las extremidades y la región cefálica a través de la mandíbula, seguidamente se procedió al rasurado de la región anterior del cuello y antisepsia de la misma con isodine solución, para luego cubrir con campos estériles y sólo dejar visible la región operatoria. Paso seguido se procedió a la disección haciendo una incisión en Y invertida que haciendo apertura en la intersección de las ramas de la Y con tijera de tejidos y traccionando la piel con pinza, seccionamos la piel siguiendo las ramas de la Y cuyos extremos corresponden a las extremidades anteriores y el extremo opuesto a la mandíbula, luego la piel incidida fue sujetado con pinza de campos formando así un área triangular de trabajo, en este área se procede a la disección roma, sin seccionar los vasos sanguíneos y se visualiza de arriba abajo las glándulas salivales mandibulares, profunda a estas los músculos maseteros, abajo en la línea media los músculos esternohioideos, y lateralmente los músculos esternomastoideos y los músculos pectorales, en este mismo plano en ambos lados, se ve un triangulo formado por los músculos esternohioideo, esternomastoideo y masetero que será el punto de exposición y entrada a las arterias carótidas (Parasuraman S. y Raveendran R., 2012; Gray M. H., 1996 ) Separando los esternohioideos en la línea media se visualizó la traquea y con cuidado se la aisló para colocar por debajo un hilo para fijar el tubo endotraqueal, paso seguido se realizó traqueotomía entre el segundo y tercer anillos traqueales, para colocar el tubo endotraqueal para facilitar su respiración espontanea (Priscila de Souza, et.al., 2011). Las

secreciones traqueales fueron aspiradas en caso de ser necesarios con un tubo de polietileno.

Se procedió la cateterización carotídea izquierda, que por disección roma y separación de las fascias de dichos musculos en el triangulo izquierdo, se visualizó el latido de la arteria carótida izquierda, que forma un sifón en las ratas hipertensas, a su vez rodeado del nervio vago y sus ramificaciones nerviosas se procedió a separarlos con cuidado sin seccionar ninguna ramificación ni manipular demasiado el nervio vago, teniendo así una longitud de 2 cm de la carótida izquierda aislada, para posteriormente colocar tres ligaduras con seda negra 2/0, una ligadura fija en el extremo superior, una ligadura suelta en la parte media para fijar el catéter y una ligadura temporal en el extremo inferior que obstruya la salida de sangre hacia la carótida. Seguidamente se conectó el catéter arterial al transductor cuyo sistema esta lleno con SSF heparinizado y se procedió a llenar el catéter con el mismo, cerrando la llave de triple vía que va al transductor para evitar el ingreso de sangre. Luego por incisión con bisturí se realizó la arteriotomía, para seguidamente introducir el cateter arterial, atando la ligadura media suavemente, se soltó la ligadura inferior y cuidadosamente se avanzó hacia el nacimiento de la carótida 1 cm aproximadamente y se probó la permeabilidad de catéter accionando la jeringa acoplada al sistema, luego se procedió a la fijación total de las ligaduras inferiores, y se abrió la llave conectándolo al transductor y se visualizó el registro de presión arterial en el papel a las velocidades de 25 mm/min, 10 mm/min, 25mm /seg.

Seguidamente, se colocó el catéter en la vena yugular externa derecha, separando el tejido celular subcutáneo en el lado derecho del cuello y aislando la vena, se colocó dos hilos por debajo de la misma, la superior para obstruir el retorno venoso de la cabeza, y el inferior para fijar el catéter. Se llenó el catéter con SSF heparinizado y se realizó la venotomía y se colocó el catéter, para seguidamente probar la permeabilidad de la misma y se fijó.

Finalmente se cubrió el campo quirúrgico con gasa empapada en SSF para evitar la deshidratación de las estructuras expuestas. Se colocó a 20 cm del abdomen una lámpara incandescente para mantener la temperatura ( $35 \pm 2$  °C), el cual fue monitorizado con un termómetro rectal. Se colocaron también los electrodos en las extremidades para registrar ECG en derivada II. Antes de empezar con la administración de drogas, se dejó equilibrar

la Presión arterial y la frecuencia cardiaca por 10 minutos. (Abdulla, M. H., et. al., 2013; Kang D. G., et. al., 2003; Ojewole, J. A., 2006).

#### **d) ESTANDARIZACION Y MONTAJE DEL SISTEMA DE ORGANO AISLADO**

El sistema de órgano aislado consta de dos cámaras para el presente trabajo, los cuales fueron construidos en el laboratorio, uno de ellos denominado cámara principal con pozo de 20 ml de capacidad (Durante W., et. al., 1988; Noel Trochu J, et. al., 1999; Rees D. D., et. al., 1989) que se encuentra sumergido en una cubierta de aluminio para evitar la elongación de todo el sistema, dentro del pozo se encuentran ubicados dos postes de acero inoxidable uno de ellos fijado a la pared del pozo y el otro fijado y acoplado al extremo del transductor de fuerza para el registro de la contracción (tensión) muscular isométrica, estos postes son para montar los anillos aórticos en experimentación, además de dos tubos para el ingreso de Oxígeno y CO<sub>2</sub>. La cámara principal esta conectado por medio de dos tuberías, a una segunda cámara accesoria con pozo de 10 ml de capacidad (Singer H. A., et. al., 1982), el cual sirve para mantener viable el resto de los anillos aórticos. A su vez, ambas cámaras cierran el sistema por dos tuberías conectados al termociclador y termostato.

#### **1. CALIBRACION DEL POLIGRAFO**

- Calibración del preamplificador: IMPUT BRIDGE: 2K, BALANCE VOLTAJE: 50 MV, 1MV/TURN: 8.20, SENSITIVITY ADJ.CAL. = 2CM: 9, MV/CM: 0.2.
- Calibración del amplificador: POLARITY: USE, ½ AMP. HIGH. FREQ.: 0.5, DRIVER SENSITIVITY: 5, BASE LINE POSITION: UP: 2. (estas dos ultimos son variables).

#### **2. PREPARACION DE LA SOLUCION DE KREBS**

La solución de Krebs cuenta con la siguiente composición química en (mM): 120 de NaCl; 5.9 de KCl; 15.5 de NaHCO<sub>3</sub>; 1,2 de Mg Cl<sub>2</sub>; 1.2 de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2.5 de CaCl; 11.5 de glucosa anhidra. Con un pH de 7.4±0.1, el cual fue amortiguado con un ácido débil como

es el  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y con una osmolaridad de 337.5 mosm/L (Bolton T. B. y Clapp L. H., 1986)

### **3. OBTENCION Y PREPARACION DE LOS ANILLOS AORTICOS**

Para este propósito se anestesió a la rata con pentobarbital sódico (Halatal) a dosis de 60 mg/kg; una vez anestesiada la rata se sujeto y se procedió a administrar 200  $\mu\text{L}$  de SSF heparinizado a dosis de 100 UI de heparina sódica /ml de SSF al 0.9% por punción cardiaca (Tsfamariam B., et. al., 1990), ello con el fin de evitar los coágulos en la aorta, después de 1 minuto, se procedió a la sección de las carótidas y exanguinación, para seguidamente hacer la toracotomía y apertura de la cavidad torácica y con mucho cuidado con tijera curva de tejidos, se procede a seccionar las ramas arteriales y se retira la aorta con cuidado de no pinzar y estirar, seccionando la vena cava inferior, los frénicos, el esófago, los ligamentos cardiofrénicos, para finalmente seccionar la aorta a nivel de su entrada al abdomen en el diafragma; para posteriormente en bloque el pulmón-corazón ser sumergirlo en solución de Krebs con hielo y se aisló la aorta en su máxima longitud, seguidamente se procedió a la limpieza del tejido conectivo y tejido graso con sumo cuidado para proteger el endotelio de daños inadvertidos y seccionando las ramificaciones de la misma y pasando por una serie de placas petri con solución Krebs con hielo. Para finalmente seccionarlos en anillos de 5 mm de longitud, y su uso inmediato (Kang D. G., et. al., 2003)

### **4. MONTAJE DEL ANILLO AORTICO EN EL SISTEMA DE ORGANO AISLADO**

Con el sistema de órgano aislado en funcionamiento con temperatura de 37 °C, con las cámaras llenas de solución de Krebs con cambios de la misma cada 15 y 20 minutos para la cámara accesoria y principal respectivamente; y con burbujeo de  $\text{O}_2$  al 95% y  $\text{CO}_2$  al 5%; se procede al montado de un anillo aórtico con sumo cuidado en la cámara principal cuyos postes están aproximados al máximo, y paralelamente se colocan los demás anillos aórticos en la cámara accesoria para mantenerlos viables. Seguidamente se enciende el polígrafo, para calibrar el amplificador en lo referente a la sensibilidad y la posición de base de la aguja inscriptora.

### **2.2. ETAPA DE ESTANDARIZACION DE LAS RATAS**

Los animales fueron dispuestos de a cuatro en jaulas de alambre y metal; bajo condiciones de laboratorio: a temperatura ambiental de 20-22°C, humedad ambiental de 50-60%, y con ciclos de luz desde 8:00-20:00 h y con acceso libre a alimento estándar Tomasino y agua *ad libitum*, en el bioterio del CIDEA. Esta etapa se realizó 10 días previos a los ensayos. Todos los procedimientos experimentales se realizaron según los lineamientos establecidos en la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio: “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Washington, DC. 1996.” (Clark, J. D, et. al., 1997)

### **2.3. ETAPA EXPERIMENTAL**

#### **2.3.1. EFECTO SOBRE LA PRESION ARTERIAL Y FRECUENCIA CARDIACA EN RATAS CON HIPERTENSION EXPERIMENTAL CON PROPRANOLOL ANESTESIADAS, TRATADAS EN FORMA AGUDA CON DIFERENTES DOSIS DEL EXTRACTO POR METODO INVASIVO**

**DISEÑO DE INVESTIGACION:** Experimental *in vivo*

#### **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Las ratas tratadas con propranolol, con presión arterial  $\geq 140/90$  mmHg serán consideradas hipertensas para este estudio.
- Ratas hipertensas que en el momento de cateterismo no sufran pérdida sanguínea.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSION**

- Ratas tratadas con propranolol, con presión arterial  $< 140/90$  mmHg.
- Las ratas hipertensas que en el momento de cateterismo pierdan sangre.

Después del periodo de equilibrio una vez realizado los procedimientos quirúrgicos, las ratas con hipertensión experimental con propranolol (n=6) fueron inyectados con el extracto metanólico disuelto en SSF al 0.9% heparinizado, a las dosis de 1mg/kg; 5mg/kg,

10mg/kg y 15 mg/kg. El intervalo de administración entre dosis, fue el tiempo suficiente hasta que la presión retornara al nivel basal.

Los cambios en la BP debido a la administración de los extractos se obtuvieron mediante el cálculo de la diferencia entre la BP antes de inyectar el extracto y el registro mas bajo de BP después de administrar las diferentes dosis del extracto. La presión arterial media (MAP) fue calculado usando la siguiente fórmula:  $MAP = DBP + \frac{1}{3} (SBP - DBP)$ , donde la DBP es la presión arterial diastólica y SBP es la presión arterial sistólica (Hoe, S. Z., et. al., 2007) y la frecuencia cardiaca se calculó a partir del ECG en derivada II el cual fue registrado a 25 mm/ seg.

### **2.3.2. EFECTO SOBRE LA PRESION ARTERIAL Y FRECUENCIA CARDIACA EN RATAS NORMOTENSAS ANESTESIADAS, TRATADAS EN FORMA AGUDA CON DIFERENTES DOSIS DEL EXTRACTO POR METODO INVASIVO**

**DISEÑO DE INVESTIGACION:** Experimental *in vivo*

#### **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Ratas sanas, normotensas con peso entre 300 - 400g
- Ratas que en el momento de cateterismo no sufran pérdida sanguínea.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSION**

- Ratas que en el momento de cateterismo sufran hemorragia.

Después del periodo de equilibrio una vez realizado los procedimientos quirúrgicos, las ratas normotensas (n= 6) fueron inyectados con el extracto metanólico disuelto en SSF al 0.9% heparinizado, a las dosis de 10 mg/kg; 30 mg/kg y 50 mg/kg. El intervalo de administración entre dosis, fue el tiempo suficiente hasta que la presión retornara al nivel basal.

Los cambios en la BP debido a la administración de los extractos se obtuvieron mediante el cálculo de la diferencia entre la BP antes de inyectar el extracto y el registro mas bajo de BP después de administrar las diferentes dosis del extracto. La presión arterial media

(MAP) fue calculado usando la siguiente fórmula:  $MAP = DBP + \frac{1}{3} (SBP - DBP)$ , donde la DBP es la presión arterial diastólica y SBP es la presión arterial sistólica (Hoe, S. Z., et al., 2007) y la frecuencia cardiaca se calculó a partir del EKG en derivada II el cual fue registrado a 25 mm/seg.

### **2.3.3. EFECTO INHIBIDOR DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA PIEL DE PAPA “LOMO NEGRO” (*Solanum tuberosum* L.) SOBRE LA VASOCONSTRICCIÓN INDUCIDA POR ANG I EN ANILLOS AÓRTICOS DE RATAS NORMOTENSAS**

#### **CRITERIOS DE INCLUSION**

Anillos aórticos cuyo endotelio vascular fue considerado intacto, cuando se relajaron más del 90% con acetilcolina después de la precontracción inducida por noradrenalina (Furchgott R.F. y Zawadzki J.V., 1980; Furchgott R.F. y Vanhoutte P.M., 1989; Onsaard, A., et al., 2013).

#### **CRITERIOS DE EXCLUSION**

Anillos aórticos cuyo endotelio vascular fue considerado alterado, cuando los anillos aórticos se relajaron menos 90% con acetilcolina después de la precontracción por noradrenalina.

**DISEÑO DE INVESTIGACION:** Experimental *in vitro*

#### **REGISTRO DEL TONO ISOMÉTRICO VASCULAR**

Una vez montado el anillo aórtico en la cámara principal, fue sometido a una tensión inicial sin pesa para su estabilización y acondicionamiento a la misma durante los primeros 15 minutos, seguidamente, se sometió a una segunda tensión con pesa de 2g por el lapso de otros 15 minutos, luego se procedió a una primera prueba de viabilidad del tejido aórtico con contracción máxima con  $NE 2 \times 10^{-7} M$  (De Mey J. G. y Vanhoutte P. M., 1981; Chen G., et al., 1988; Koga T., et al., 1989) esperándose de 5 a 10 minutos, una vez en la contracción de meseta se administró el vasorelajador Ach  $6 \times 10^{-7} M$  para esperar la respuesta

instantánea en cuestión de segundos ( Gruetter C. A., et. al., 1988), una vez obtenida más del 90% de relajación, se prosiguió con el ensayo, lavando el pozo tres veces durante los primeros 10 minutos con solución de Krebs seguidamente se estabilizó la aorta sin modificar la tensión por el lapso de 20 minutos. Para luego someter el anillo aórtico a la primera vasoconstricción con ANG I  $10^{-8}$ M ( Boulanger Ch. M., et. al., 1998), el cual se esperó a que termine su efecto que dura entre 10 y 12 minutos, y retorne a la línea de base sin modificar la tensión, después de ello se lavó tres veces con solución de Krebs cada 10 minutos, para estabilizar el tejido y disminuir la taquifilaxia a la ANG I ( Sim M. K. y Kuttan S. C, 1992; Kuttan S. C. y Sim M. K., 1993; Vicaut E., et. al., 1989) seguidamente se administró nuestro supuesto inhibidor de ACE (diferentes dosis del EMST, grupo experimental), el vehículo (control negativo) y el captopril  $2 \times 10^{-4}$ M (control positivo) ( Kikta D. C. y Fregly M. J., 1982), incubándose por el lapso de 20 minutos. Seguidamente se sometió a una segunda contracción con ANG I  $10^{-8}$ M para esperar su efecto por el lapso de 10-12 minutos (Ruiz-Giménez P., et. al., 2007; Schnapp L. M., et. al., 1998; Kang D. G., et. al., 2003; Lau Y. S., et. al., 2012; Rodriguez A., et. al., 2006; L. Person I. A., et. al., 2006; ), una vez que la tensión retornó a la línea de base, se sometió a una segunda prueba de viabilidad del tejido aórtico tras administración de NE  $2 \times 10^{-7}$ M y su respuesta a la Ach  $6 \times 10^{-6}$ M, de obtenerse buena contracción y más del 90 % de la relajación se consideró el resultado del experimento válido.

Los cambios en la tensión se harán en forma relativa (% de vasoconstricción) (Antonaccio, M. J., et. al., 1981).

#### **2.4. ANALISIS ESTADISTICO**

Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  S.E.M (error medio estándar). Se determinó las diferencias significativas entre las medias de grupos utilizando la prueba t de Student no pareado, se utilizó ANOVA cumpliendo con los criterios de normalidad y homocedasticidad para las muestras de estudio, con una significancia de  $p < 0.05$ . Para la base de datos, análisis estadístico y los gráficos se utilizó el programa GraphPad PRISM versión 6.05.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

1. Valores de presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) en mmHg del grupo de ratas anestesiadas tras 30 días de la suspensión de la administración crónica de propranolol por 21 días, versus el grupo de ratas que recibió agua destilada.

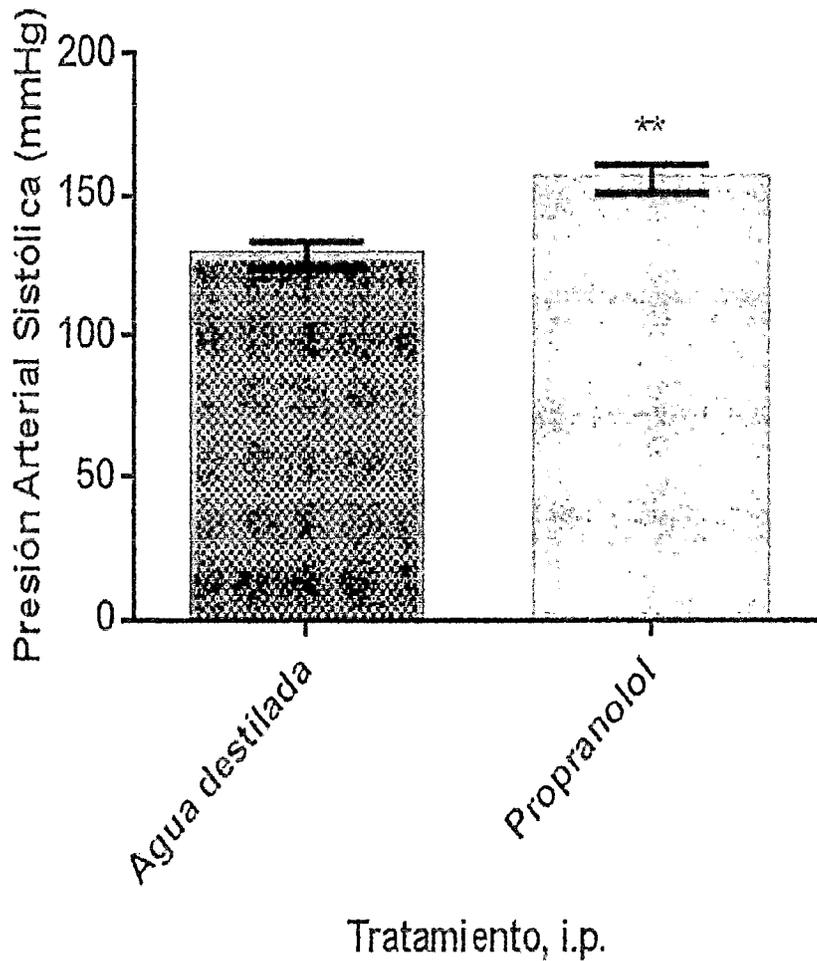
CUADRO Nro. 1

	Agua destilada 1ml i.p. (control)	Propranolol 0.15mg/100 g, c/12 h, i.p. (en un volumen de 1 ml de agua destilada)
SBP	128.8 ±4.743	155.8 ±5.069**
MAP	105.3 ±4.930	129.9 ±5.281**
DBP	93.50 ±5.201	117.0 ±5.774*

Cada valor representa la media ± S.E.M. (error medio estándar), n= 6 animales. Se aplicó el estadístico t de Student no pareado, con una significancia de  $p < 0.05$ .  
Donde: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$  vs control

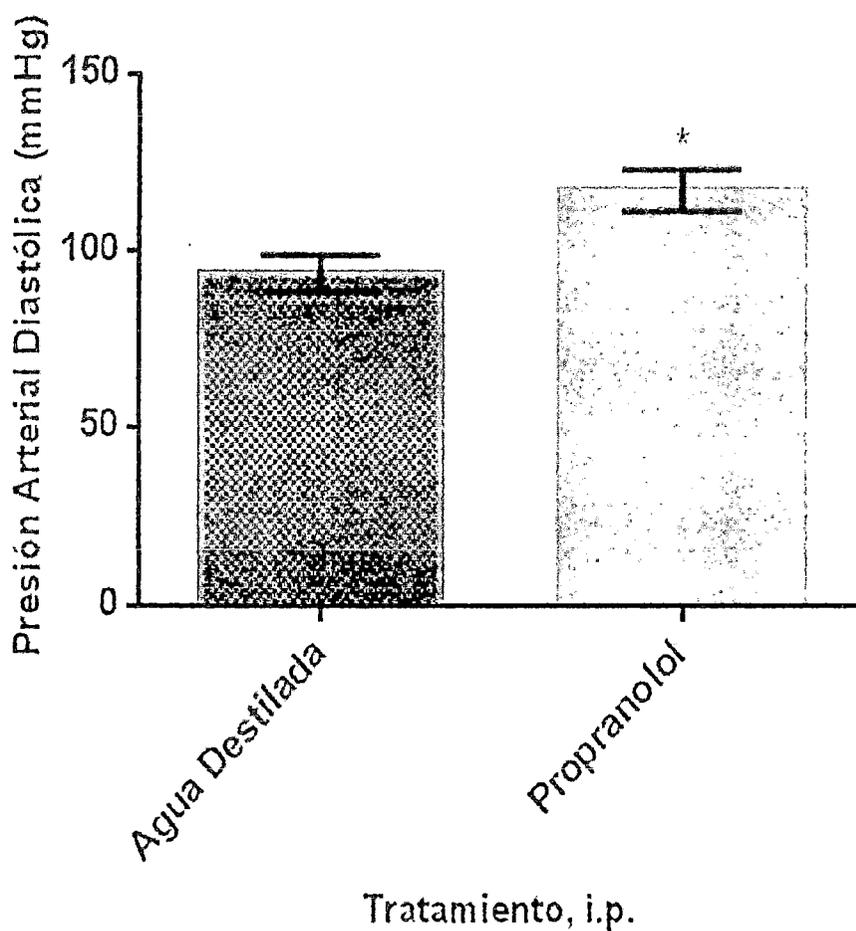
El cuadro Nro. 1, muestra que tras la administración de agua destilada vía i.p. al grupo control, los valores de la SBP (128.8 ±4.743), de la DBP (93.50 ±5.201) y de la MAP (105.3 ±4.930) corresponde a la normalidad para estos animales; mientras que en el grupo propranolol los valores de la SBP (155.8 ±5.069), de la DBP (117.0 ±5.774) y de la MAP (129.9 ±5.281) se consignan dentro de la clasificación de hipertensión, como moderada; si comparamos ambos grupos tanto la SBP y la MAP muestran diferencias muy significativas (\*\*,  $p < 0.0$ ) y si comparamos las DBP de ambos grupos difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ). Estos resultados nos indican que tras 30 días de la suspensión del tratamiento crónico con propranolol por 21 días a dosis de 0.15 mg/100 g de peso, cada 12h., produce una hipertensión en grados I – II (JNC VII), constituyéndose un método para producir hipertensión experimental.

GRÁFICO Nro. 1



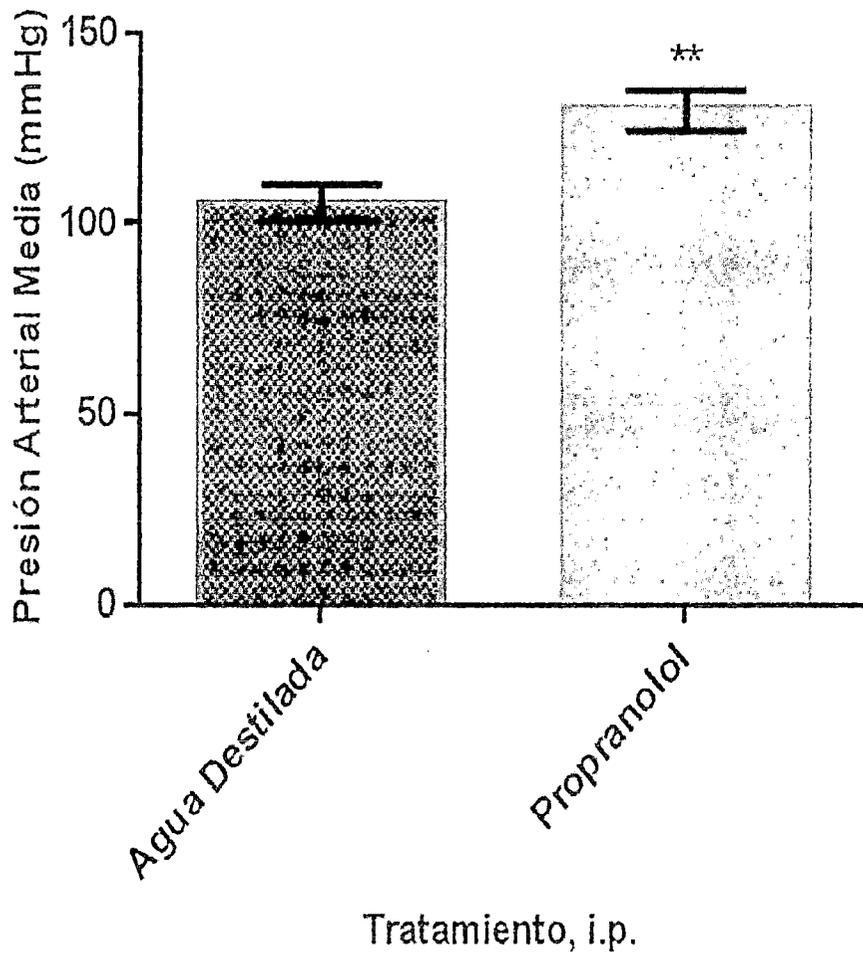
Presión arterial sistólica (SBP) en ratas anestesiadas, tras 30 días de suspensión del tratamiento crónico con propranolol por 21 días a dosis de 0.15 mg/100 g de tejido cada 12 h y agua destilada para el grupo control vía i.p. Se aplicó la prueba t de Student no pareado, los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M., con una significancia de  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ,  $n=6$  animales.

GRÁFICO Nro. 2



Presión arterial diastólica (DBP) en ratas anestesiadas, tras 30 días de suspensión del tratamiento crónico con propranolol por 21 días a dosis de 0.15 mg/100 g de tejido cada 12 h y agua destilada para el grupo control vía i.p. Se aplicó la prueba t de Student no pareado, los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M., con una significancia de  $p < 0.05$ ; \*,  $p < 0.05$ ,  $n=6$  animales.

GRÁFICO Nro. 3



Presión arterial media (MAP) en ratas anestesiadas, tras 30 días de suspensión del tratamiento crónico con propranolol por 21 días a dosis de 0.15 mg/100 g de tejido cada 12 h y agua destilada para el grupo control vía i.p. Se aplicó la prueba t de Student no pareado, los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M., con una significancia de  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ,  $n=6$  animales.

2. Efecto del EMPST (1-15 mg/kg, i.v.) en la presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) y frecuencia cardiaca (HR) de ratas anestesiadas, con hipertensión inducida tras la suspensión del tratamiento crónico con propranolol.

**CUADRO Nro. 2**

Parámetro cardiovascular	control	SSF	EMPST mg/kg, i.v.			
			1	5	10	15
SBP (mmHg)	155.8±5.06	151.7±4.890	97.17±8.16****	93±3.54****	77±6.37****	61.5±8.67****
MAP (mmHg)	129.9±5.28	126.8±5.360	78.06±6.53****	71.56±4.09****	56.33±4.28****	37.72±4.08****
DBP (mmHg)	117±5.77	114.3±5.981	68.50±5.99****	60.83±4.52****	46±3.56****	25.83±1.90****
HR (lpm)	330±13.42	296.7±20.76	280±12.65	256±10.85**	246.7±6.67**	250±10**

Cada valor representa la media ± S.E.M. (error medio estándar), n= 6 animales. Se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

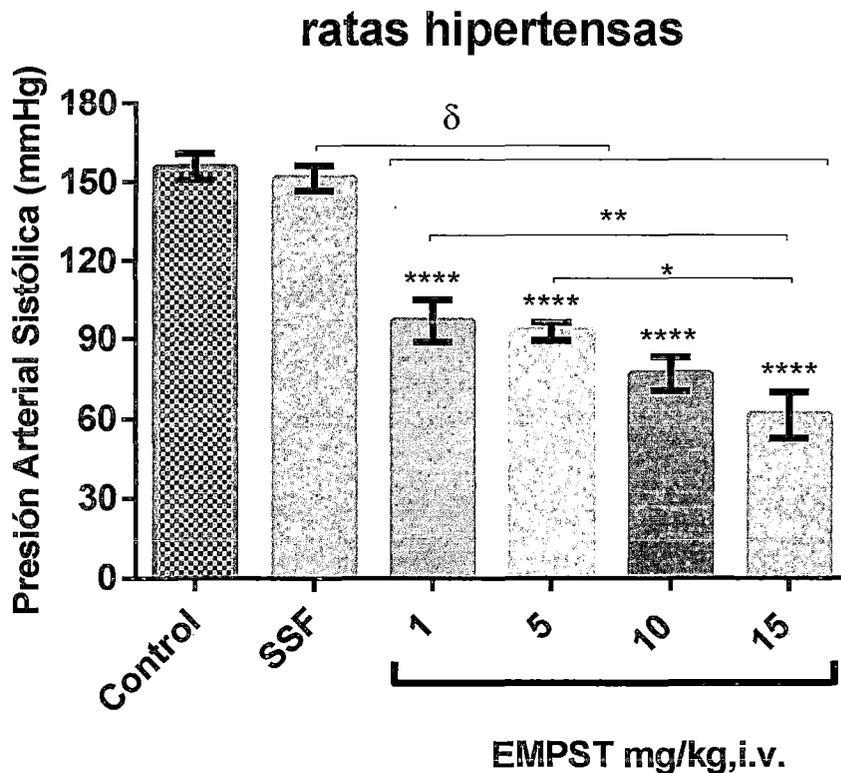
Donde: \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  vs control

El cuadro Nro. 2, muestra los valores de MAP, SBP, DBP y HR tras la administración aguda de diferentes dosis del EMPST (1-15 mg/kg) vía i.v., en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol.

Los resultados indican, que las SBP tras la administración de las dosis de 1, 5, 10 y 15 mg/kg i.v. del extracto ( $97.17 \pm 8.16$ ,  $93 \pm 3.54$ ,  $77 \pm 6.37$  y  $61.5 \pm 8.67$  respectivamente) vs el control ( $155.8 \pm 5.06$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ). Las DBP tras la administración de las dosis de 1, 5, 10 y 15 mg/kg i.v. del extracto ( $68.50 \pm 5.99$ ,  $60.83 \pm 4.52$ ,  $46 \pm 3.56$  y  $25.83 \pm 1.90$  respectivamente) vs el control ( $117 \pm 5.77$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ). Las MAP tras la administración de las dosis de 1, 5, 10 y 15 mg/kg i.v. del extracto ( $78.06 \pm 6.53$ ,  $71.56 \pm 4.09$ ,  $56.33 \pm 4.28$  y  $37.72 \pm 4.08$  respectivamente) vs el control ( $129.9 \pm 5.28$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ). Finalmente la HR control ( $330 \pm 13.42$ ) comparado con las HR tras la administración aguda del extracto a dosis de 5, 10 y 15 mg/kg ( $256 \pm 10.8$ ,  $246.7 \pm 6.67$  y  $250 \pm 10$  respectivamente) difieren muy significativamente (\*\*,  $p < 0.01$ ).

Estos resultados nos indican que el efecto hipotensor del EMPST es mayor a medida que se incrementa la dosis. En cuanto a la HR, a partir de la dosis de 5 mg/kg i.v. del extracto disminuyen esta variable muy significativamente con respecto al control, no habiendo diferencias entre las dosis mayores estudiadas.

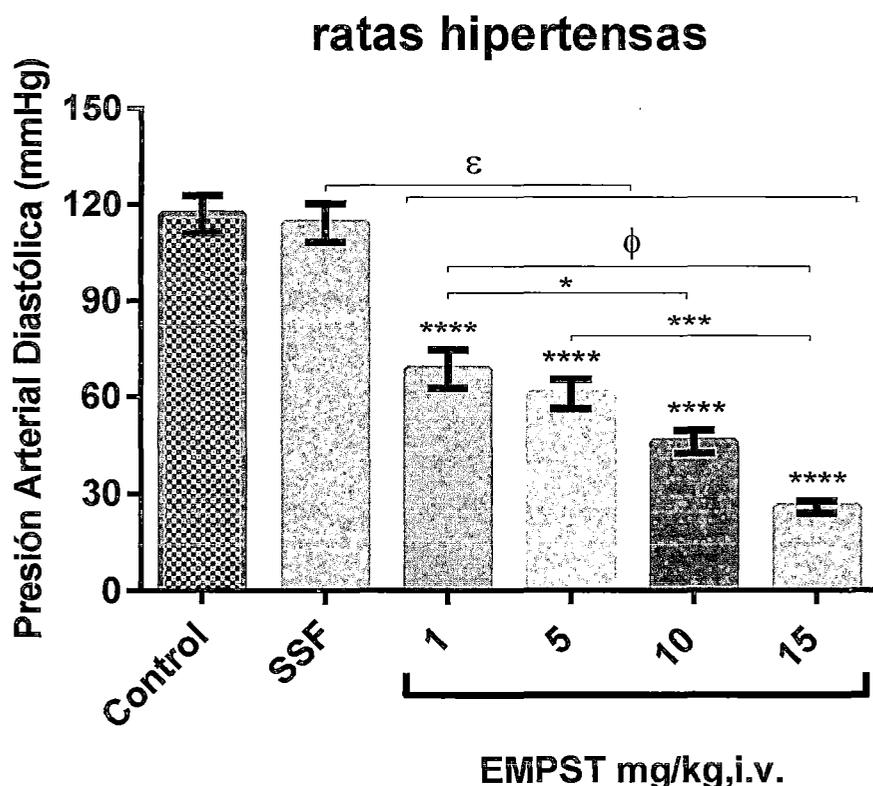
GRÁFICO Nro. 4



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial sistólica (SBP), en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol, comparando con el control (presión arterial sistólica basal), con la infusión de suero salino fisiológico (SSF) y la comparación de las diferentes dosis entre si. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: todas las dosis del extracto vs el control y vs el SFF, tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $\delta$ ;  $p < 0.0001$ ); las dosis de 1 y 15 mg/kg tienen diferencias muy significativas (\*\*,  $p < 0.01$ ) entre si; y las dosis de 5 y 15 mg/kg tienen diferencias significativas (\*,  $p < 0.05$ ) entre si.

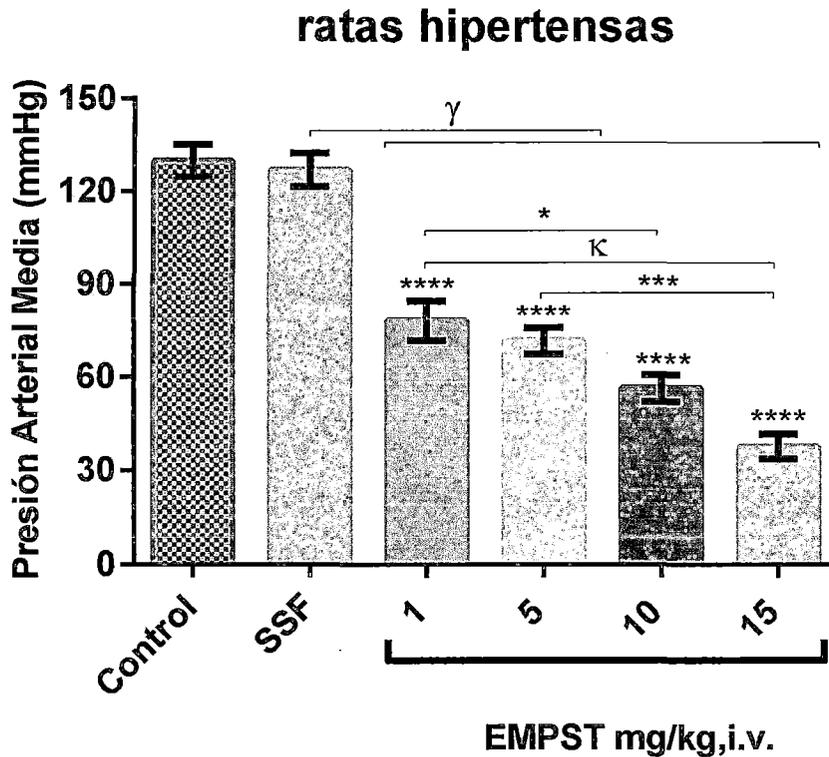
GRÁFICO Nro. 5



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial Diastólica (DBP), en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol, comparado con el control (presión arterial diastólica basal), con la infusión de suero salino fisiológico (SSF) y la comparación de las diferentes dosis entre si. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

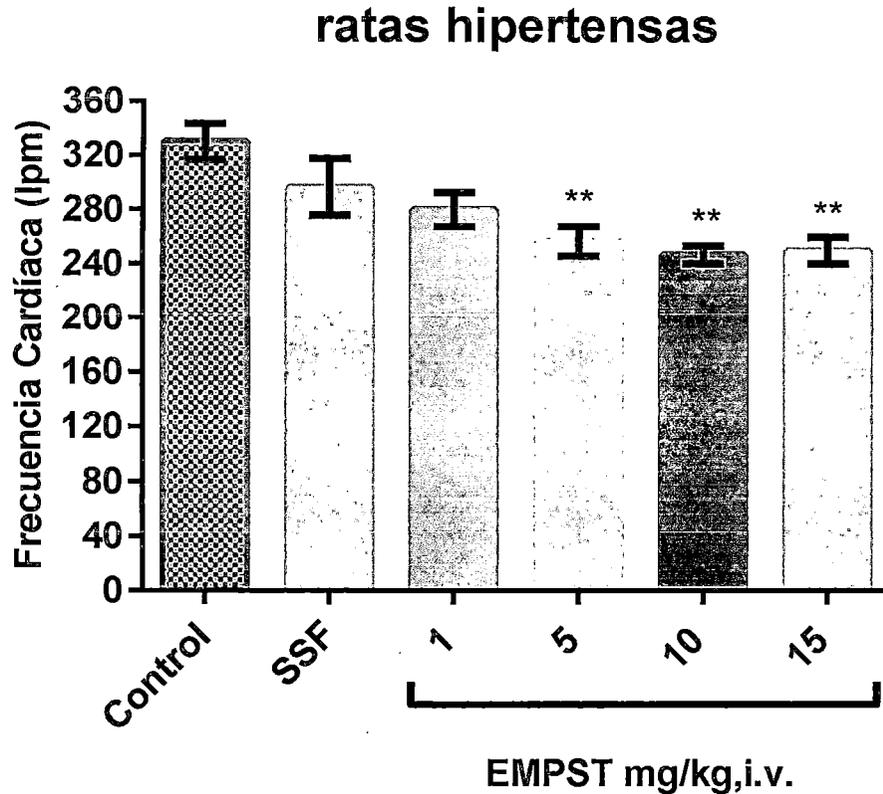
Con los siguientes resultados: todas las dosis del extracto vs el control y vs el SSF tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $\epsilon$ ;  $p < 0.0001$ ), las dosis de 1 y 15 mg/kg tienen diferencias muy extremadamente significativas ( $\phi$ ,  $p < 0.0001$ ) entre si, las dosis de 5 y 15 mg /kg tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ) entre si, y las dosis de 1 y 10 mg/kg tienen diferencias significativas (\*,  $p < 0.05$ ) entre si.

GRÁFICO Nro. 6



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial media (MAP), en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol, comparado con el control (presión arterial media basal), con la infusión de suero salino fisiológico (SSF) y la comparación de las diferentes dosis entre si. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: todas las dosis del extracto vs el control y vs el SSF tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $\gamma$ ;  $p < 0.0001$ ), las dosis de 1 y 15 mg/kg tienen diferencias muy extremadamente significativas ( $\kappa$ ,  $p < 0.0001$ ) entre si, las dosis de 5 y 15 mg /kg tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ) entre si, y las dosis de 1 y 10 mg/kg difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ) entre si.



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la frecuencia cardíaca (HR), en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol, comparado con el control (frecuencia cardíaca basal). Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: las dosis del extracto de 5, 10 y 15 mg /kg tienen una diferencia muy significativa vs el control (\*\*,  $p < 0.01$ ).

3. Duración del efecto del EMPST (1-15 mg/kg, i.v.) en la presión arterial media (MAP), de ratas anestesiadas, con hipertensión inducida tras la suspensión del tratamiento crónico con propranolol.

CUADRO Nro. 3

		Tiempo (min)						
		0	0.5	1	5	10	15	20
Presión Arterial Media (MAP)	SSF	128.83±5.26	122.83±6.49	118.66±3.71	118.66±5.55	121.94±5.19	118.55±5.23	122.17±5.18
	EMPST 1 mg/kg	127.72±4.33	105.99±3.97	109.77±4.27	115.05±4.15	117.83±2.93	118.22±2.94	118.22±2.94
	EMPST 5 mg/kg	126.33±4.65	80.83±6.58****	85.05±8.58****	105.94±5.16	111.44±6.08	112.88±5.02	112.88±5.02
	EMPST 10 mg/kg	124.22±4.48	65.38±5.05****	65.22±7.88****	95.38±4.50*	99.16±7.57*	106.11±6.65	106.44±6.29
	EMPST 15 mg/kg	128.55±3.87	57.38±8.13****	59.61±10.33****	85.27±3.38****	89.61±7.23****	95.77±3.86*	95.88±3.96**

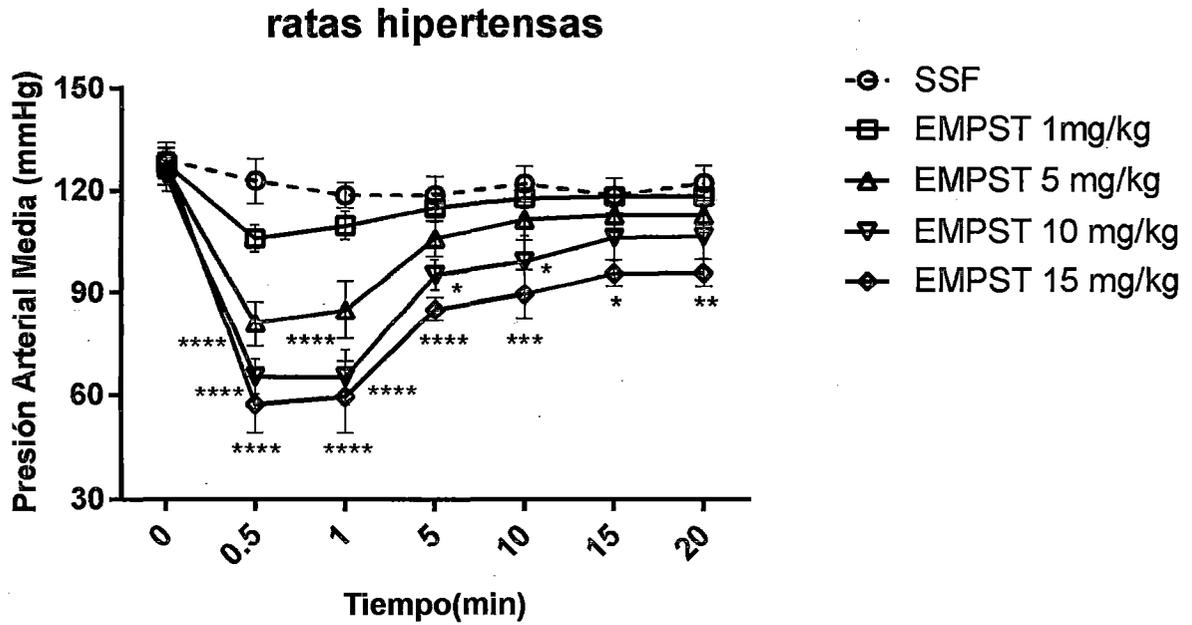
Cada valor representa la media ± S.E.M., n= 6. Se aplicó el estadístico Two-way ANOVA, y el post test de Bonferroni con una significancia de p < 0.05. donde: \*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01; \*\*\*, p < 0.001; \*\*\*\*, p < 0.0001 vs SSF

El cuadro Nro. 3, muestra los valores de la MAP en el tiempo, tras la administración aguda de diferentes dosis del EMPST (1-15 mg/kg) vía i.v., en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol.

Los resultados indican que la MAP en los primeros 30 segundos después de la administración del extracto a dosis de 5, 10 y 15 mg/kg i.v., cuyos valores son  $80.83 \pm 6.58$ ,  $65.38 \pm 5.05$  y  $57.38 \pm 8.13$  respectivamente, vs el SSF ( $122.83 \pm 6.49$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ); al igual que en el primer minuto tras la administración del extracto a dosis de 5, 10 y 15 mg/kg i.v., la MAP cuyos valores son  $85.05 \pm 8.58$ ,  $65.22 \pm 7.88$  y  $59.61 \pm 10.33$  respectivamente, vs el SSF ( $118.66 \pm 3.71$ ) también tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ); La MAP a los 5 minutos tras la administración de 10mg/kg i.v. ( $95.38 \pm 4.50$ ) vs SSF ( $118.66 \pm 5.55$ ) tienen diferencias significativas (\*,  $p < 0.05$ ) y a dosis de 15 mg/kg i.v. ( $85.27 \pm 3.38$ ) vs el SSF ( $118.66 \pm 5.55$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ); la MAP a los 10 de la administración del extracto a dosis de 10 mg/kg i.v. ( $99.16 \pm 7.57$ ) vs el SSF ( $121.49 \pm 5.19$ ) difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ), y a dosis de 15 mg/kg i.v. ( $89.61 \pm 7.23$ ) vs el SSF ( $121.49 \pm 5.19$ ) tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ); la MAP a los 15 minutos tras la administración del extracto a dosis de 15 mg/kg i.v. ( $95.77 \pm 3.86$ ) vs el SSF ( $118.55 \pm 5.23$ ) tienen diferencias significativas (\*,  $p < 0.05$ ); y finalmente la MAP a los 20 minutos tras la administración del extracto a dosis de 15 mg/kg i.v. ( $95.88 \pm 3.96$ ) vs el SSF ( $122.17 \pm 5.18$ ) tienen diferencias muy significativas (\*\*,  $p < 0.01$ ).

Estos resultados nos indican que a medida que se incrementan las dosis del extracto, tienen buen efecto hipotensor y de mayor duración.

GRÁFICO Nro. 8



Duración del efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial media (MAP), en ratas anestesiadas con hipertensión experimental inducida por la suspensión del tratamiento crónico con propranolol, comparado con la infusión del vehículo (SSF) en el mismo volumen. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. (error medio estándar) de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico Two-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia de  $p < 0.05$ , donde (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$  y \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  vs el SSF).

4. Efecto del EMPST (10-50mg/kg, i.v.) en la presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) y frecuencia cardiaca (HR) de ratas normotensas anestesiadas.

CUADRO Nro. 4

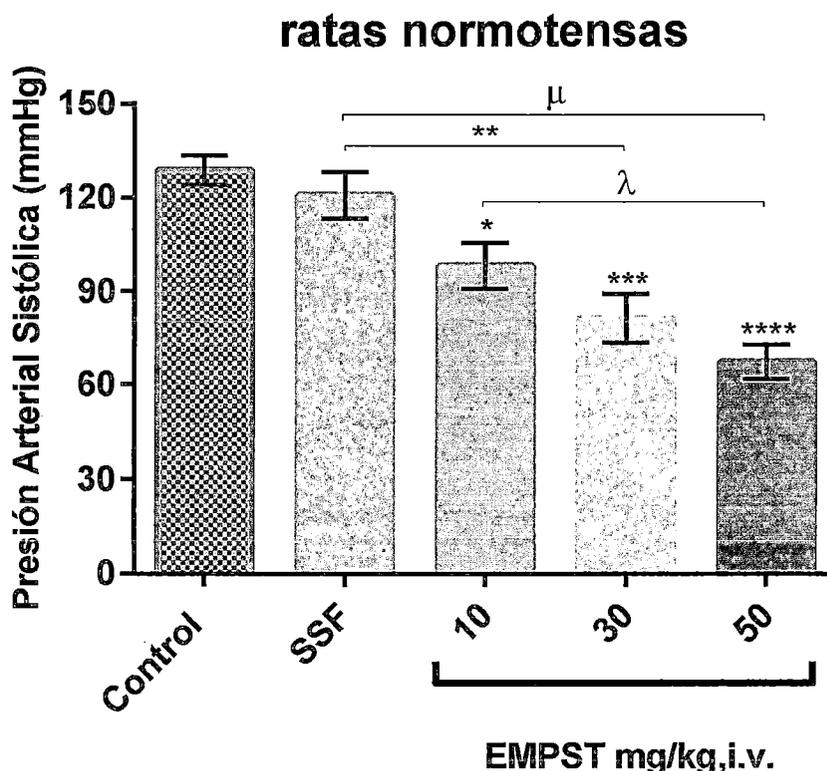
Parámetro cardiovascular	control	SSF	EMPST mg/kg, i.v.		
			10	30	50
SBP (mmHg)	128.8±4.743	120.8 ±7.463	98.17±7.405*	81.17±7.989***	67.17±5.400****
MAP (mmHg)	105.3±4.930	99.39 ±6.394	77.06 ±6.697*	53.06±7.776****	38.39±3.431****
DBP (mmHg)	93.50±5.201	88.67 ±5.931	66.50±6.454*	39.00±7.703****	24.00±3.958****
HR (lpm)	340.0±6.325	326.7 ±5.578	335.0±9.220ns	330.0±11.25ns	338.3±9.458ns

El cuadro Nro. 4, muestra los valores de MAP, SBP, DBP y HR tras la administración aguda de diferentes dosis del EMPST (10-50 mg/kg) vía i.v., en ratas normotensas anestesiadas.

Los resultados indican que la SBP control ( $128.8 \pm 4.743$ ) vs las SBP tras la administración aguda de la dosis de 10 mg/kg i.v. del EMPST ( $98.17 \pm 7.405$ ) difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ), la SBP tras la administración de 30 mg/kg i.v. del extracto ( $81.17 \pm 7.989$ ) vs el control ( $128.8 \pm 4.743$ ) tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ) y a la dosis de 50 mg/kg i.v. la SBP ( $67.17 \pm 5.400$ ) vs el control ( $128.8 \pm 4.743$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ). La DBP tras la administración del extracto a dosis de 10 mg/kg i.v. ( $66.50 \pm 6.454$ ) vs el control ( $93.50 \pm 5.201$ ) difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ), Las DBP tras la administración del extracto a las dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. ( $39.00 \pm 7.703$ ,  $24.00 \pm 3.958$  respectivamente) vs el control ( $93.50 \pm 5.201$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ). La MAP tras la administración del extracto a dosis de 10 mg/kg i.v. ( $77.06 \pm 6.697$ ) vs el control ( $105.3 \pm 4.930$ ) difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ), las MAP tras la administración del extracto a dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. ( $53.06 \pm 7.881$ ,  $38.39 \pm 3.431$  respectivamente) vs el control ( $105.3 \pm 4.930$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ). Finalmente las HR tras la administración de las diferentes dosis del extracto vs el control no tienen diferencias significativas (ns,  $p > 0.05$ ).

Estos resultados nos indican que la MAP, SBP y DBP disminuyen conforme se incrementa la dosis; y en cuanto a la HR a las dosis estudiadas no se altera.

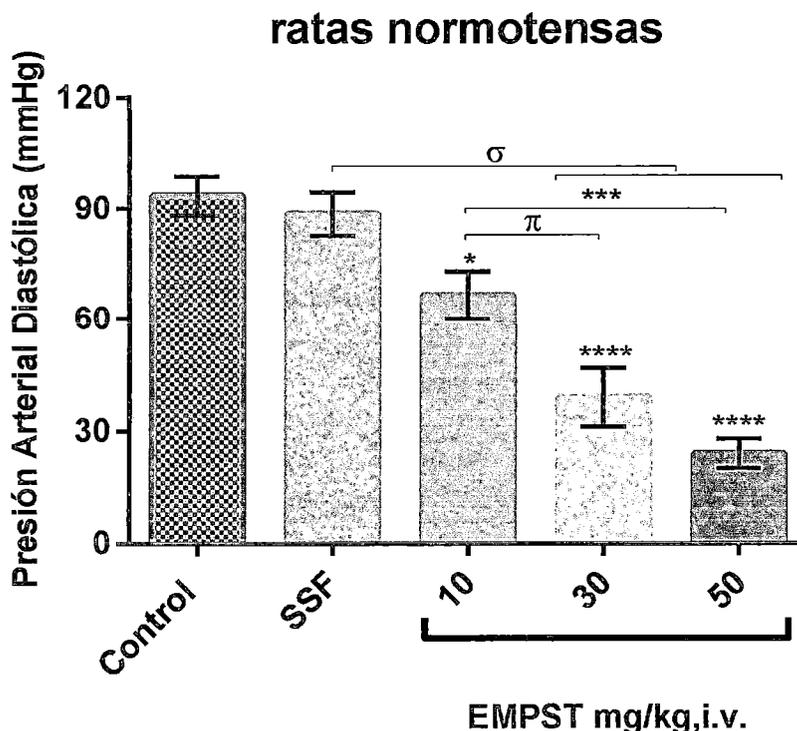
GRÁFICO Nro. 9



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial sistólica (SBP), en ratas normotensas anestesiadas vs el control (presión arterial sistólica basal), vs el suero salino fisiológico (SSF) y la comparación de las diferentes dosis entre sí. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. (error medio estándar) de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: la SBP a las dosis de 10, 30 y 50 mg/kg i.v. vs el control tienen diferencias (significativas \*,  $p < 0.05$ ; extremadamente significativas \*\*\*,  $p < 0.001$  y muy extremadamente significativas \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  respectivamente), mientras que la SBP a las dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. vs el SSF tienen diferencias (muy significativas \*\*,  $p < 0.01$  y muy extremadamente significativas  $\mu$ ,  $p < 0.0001$  respectivamente) y finalmente la SBP a la dosis de 10 y 50 mg/kg i.v. difieren significativamente entre sí ( $\lambda$ ,  $p < 0.05$ ).

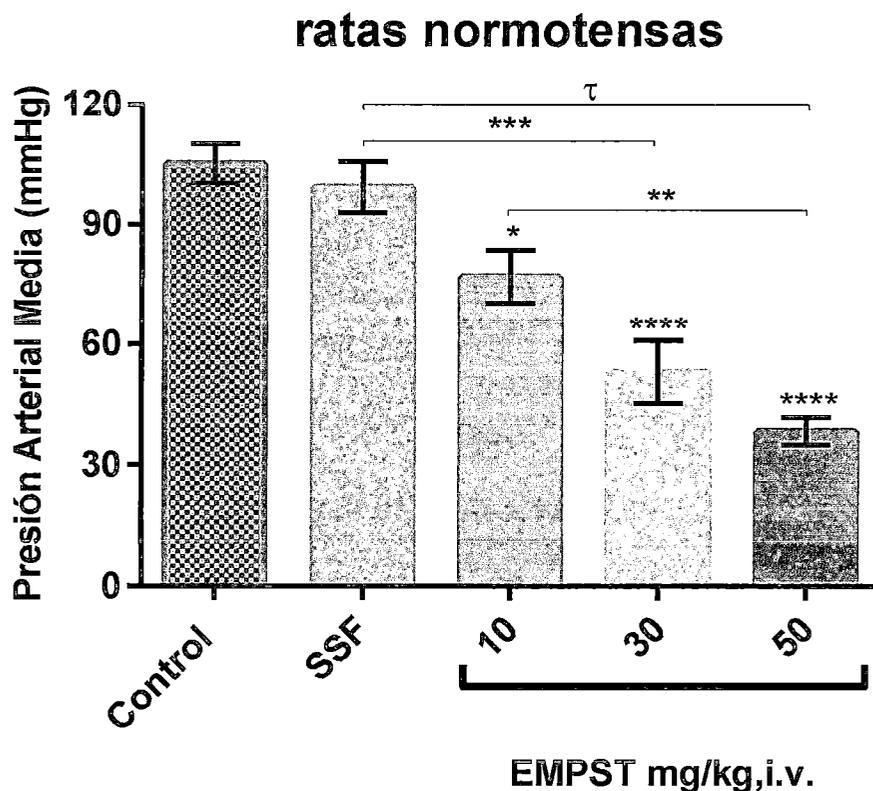
GRÁFICO Nro. 10



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial diastólica (DBP), en ratas normotensas anestesiadas vs el control (presión arterial sistólica basal), vs el suero salino fisiológico (SSF) y la comparación de las diferentes dosis entre si. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. (error medio estándar) de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: la DBP a la dosis de 10 mg/kg i.v. vs el control difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ); la DBP a las dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. vs el control tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ); mientras que la DBP a las dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. vs el SSF tienen diferencias muy extremadamente significativas ( $\sigma$ ,  $p < 0.0001$ ); las DBP a las dosis de 10 y 30 mg/kg i.v. difieren significativamente entre si ( $\pi$ ,  $p < 0.05$ ) y las DBP a las dosis de 10 y 50 mg/kg i.v. tienen diferencias extremadamente significativas entre si (\*\*\*,  $p < 0.001$ ).

GRÁFICO Nro. 11

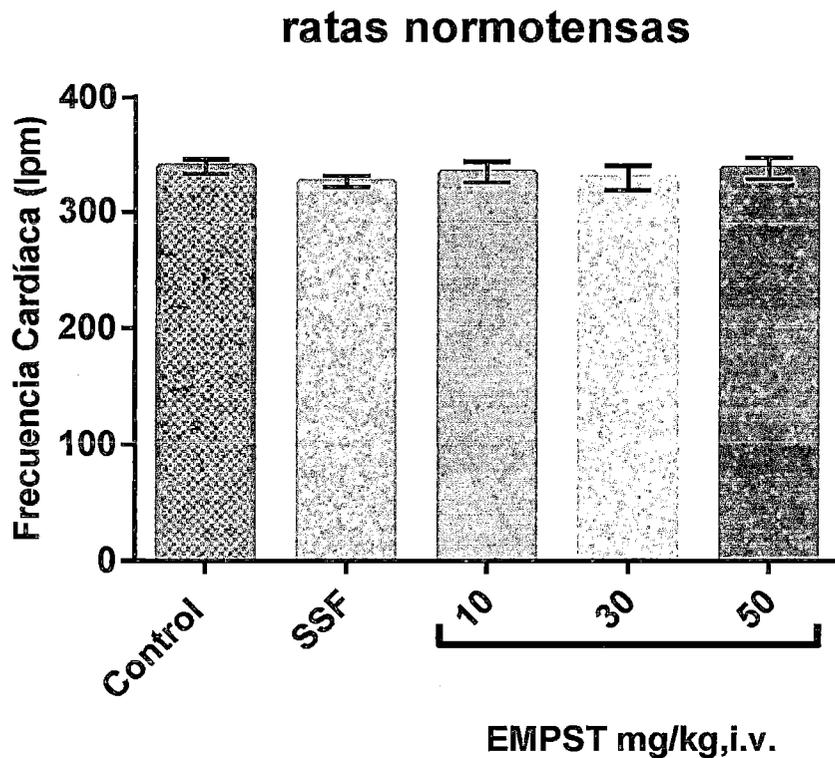


Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial media (MAP), en ratas normotensas anestesiadas vs el control (presión arterial media basal), vs el suero salino fisiológico (SSF) y la comparación de las diferentes dosis entre si. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. (error medio estándar) de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: la MAP a la dosis de 10 mg/kg i.v. vs el control difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ); la MAP a las dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. vs el control tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ); mientras que la MAP a las dosis de 30 mg/kg i.v. vs el SSF tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ), la MAP a la dosis de 50 mg/kg i.v. vs el SSF tienen

diferencias muy extremadamente significativas ( $\tau$ ,  $p < 0.0001$ ); y las MAP a las dosis de 10 y 50 mg/kg i.v. tienen diferencias muy significativas entre si (\*\*,  $p < 0.0001$ ).

GRÁFICO Nro. 12



Efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la frecuencia cardiaca (HR), en ratas normotensas anestesiadas vs el control (frecuencia cardiaca basal). Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia  $p < 0.05$ .

Con los siguientes resultados: la HR a las dosis de 10, 30 y 50 mg/kg i.v. vs el control no tienen diferencia significativa (ns,  $p > 0.05$ ), lo que indica que no tiene efecto en esta variable.

**5. Duración del efecto del EMPST (10-50 mg/kg, i.v.) en la presión arterial media (MAP) de ratas normotensas anestesiadas.**

**CUADRO Nro. 5**

	Tiempo (min)	SSF	EMPST mg/kg, i.v.		
			10	30	50
Presión Arterial Media (MAP)	0	105.22±4.925	104.053±4.963	104.053±4.963	104.053±4.963
	0.5	101.273±4.303	120.887±4.680	115.387±4.555	128.273±9.674**
	2	104.107±3.545	82.108±6.962*	69.497±9.997***	54.830±6.117****
	10	99.385±6.394	96.497±6.677	76.440±9.500*	50.942±5.554****
	20	104.107±3.545	103.387±5.435	70.718±9.688***	58.440±6.169****
	30	100.050±4.314	104.053±4.963	91.498±5.253	63.885±3.742***
	40	101.273±4.303	103.832±5.115	97.220±4.731	74.330±6.469**
	50	103.608±5.170	103.997±4.986	98.163±4.654	74.887±6.247**
	60	102.497±5.327	104.108±4.955	98.163±4.654	77.665±4.926*

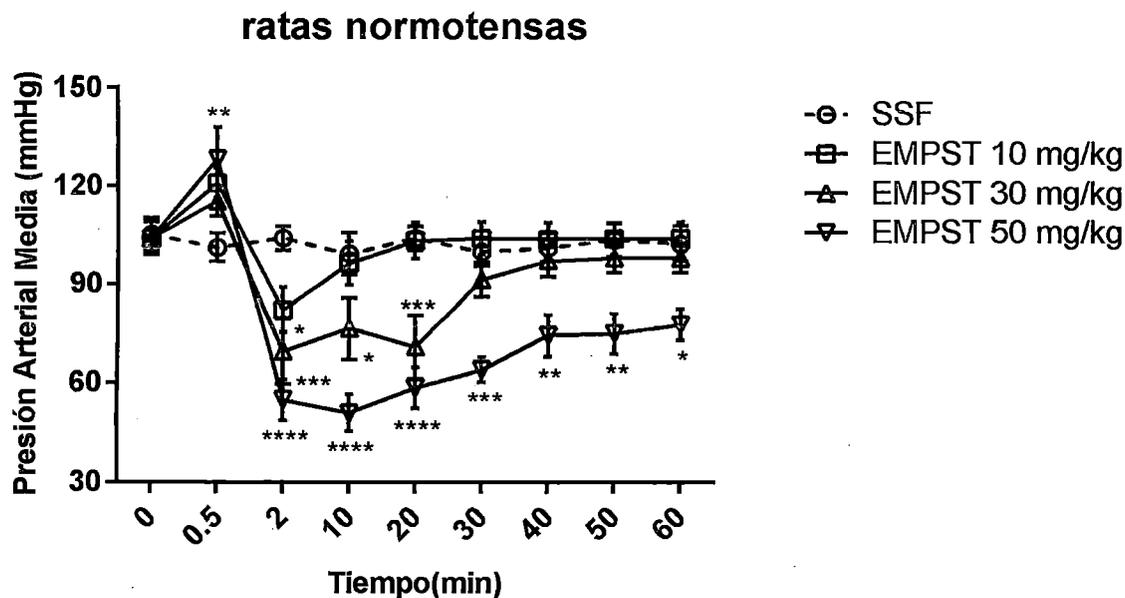
Cada valor representa la media ± S.E.M. (error medio estándar), n= 6. Se aplicó el estadístico Two-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia de p < 0.05.  
 Donde: \*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01; \*\*\*, p < 0.001; \*\*\*\*, p < 0.0001 vs SSF

El cuadro Nro. 5, muestra los valores de la MAP en el tiempo, tras la administración aguda de diferentes dosis del EMPST (10-50 mg/kg) vía i.v., en ratas normotensas anestesiadas. Los resultados indican: que la MAP en los primeros 30 segundos después de la administración del extracto a las dosis de 10, 30 y 50 mg/kg i.v. tienden a incrementarse conforme aumenta la dosis, siendo así, que la MAP después de la administración de 50 mg/kg i.v. (128.273±9.674) vs la MAP del SSF (101.273±4.303) tienen diferencias muy significativas (\*\*, p< 0.01). Las MAP a los 2 minutos de la administración de las dosis del extracto a dosis de 10, 30 y 50 mg/kg i.v. (82.108±6.962, 69.497±9.997 y 54.830±6.117 respectivamente) vs la MAP del SSF (104.107±3.545) tienen diferencias (significativas \*,

$p < 0.05$ ; extremadamente significativas \*\*\*,  $p < 0.001$  y muy extremadamente significativas \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  respectivamente). Las MAP a los 10 minutos de la administración de las dosis del extracto a dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. ( $76.440 \pm 9.500$ ,  $50.942 \pm 5.554$  respectivamente) vs la MAP del SSF ( $99.385 \pm 6.394$ ) tienen diferencias (significativas \*,  $p < 0.05$ ; muy extremadamente significativas \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  respectivamente). Las MAP a los 20 minutos de la administración del extracto a dosis de 30 y 50 mg/kg i.v. ( $70.718 \pm 9.688$ ,  $58.440 \pm 6.169$  respectivamente) vs la MAP del SSF ( $104.107 \pm 3.545$ ) tienen diferencias (extremadamente significativas \*\*\*,  $p < 0.001$ ; muy extremadamente significativas \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  respectivamente). La MAP a los 30 minutos de la administración del extracto a dosis de 50 mg/kg i.v. ( $63.885 \pm 3.742$ ) vs la MAP del SSF ( $100.050 \pm 4.314$ ) tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ). La MAP a los 40 minutos de la administración del extracto a dosis de 50 mg/kg i.v. ( $74.887 \pm 6.247$ ) vs la MAP del SSF ( $101.273 \pm 4.303$ ) tienen diferencias muy significativas (\*\*,  $p < 0.01$ ). La MAP a los 50 minutos de la administración del extracto a dosis de 50 mg/kg ( $74.887 \pm 6.247$ ) vs la MAP del SSF ( $103.608 \pm 5.170$ ) tienen diferencias muy significativas (\*\*,  $p < 0.01$ ). Finalmente la MAP a los 60 minutos tras la administración del extracto a dosis de 50 mg/kg i.v. ( $77.665 \pm 4.926$ ) vs la MAP del SSF ( $102.497 \pm 5.327$ ) difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ).

Indicándonos así, que a medida que se incrementa la dosis en los primeros 30 segundos tras la administración del extracto se produce un efecto hipertensor momentáneo que se incrementa con la dosis, siendo muy significativo a dosis de 50 mg/kg i.v.; para luego ya a los 2 minutos observar su efecto hipotensor, que se potencia y es de mayor duración conforme se incrementa la dosis.

GRÁFICO Nro. 13



Duración del efecto dosis dependiente del EMPST administrado por infusión vía i.v. sobre la presión arterial media (MAP), en ratas normotensas anestesiadas, comparado con la infusión del vehículo (SSF) en el mismo volumen. Los datos son expresados como la media  $\pm$  S.E.M. (error medio estándar) de  $n=6$  animales, se aplicó el estadístico Two-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia de  $p < 0.05$ ; donde (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$  y \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  vs el SSF).

6. Grado de vasoconstricción de anillos aórticos de ratas normotensas, con la segunda dosis de angiotensina I (ANG I)  $10^{-8}$  M, tras la incubación en pozo con diferentes dosis del EMPST  $\mu\text{g/ml}$  de pozo, solución de Krebs (control negativo) y Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M en pozo (control positivo) después de la primera vasoconstricción aortica con angiotensina I  $10^{-8}$  M.

CUADRO Nro. 6

Incubación por 20 minutos, tras la primera vasoconstricción aortica con ANG I $10^{-8}$ M en pozo						
Solución de Krebs	Captopril $2 \times 10^{-4}$ M en pozo	EMPST $\mu\text{g/ml}$ de pozo				
		0.1	1	10	100	
Porcentaje de vasoconstricción aortica tras la segunda dosis de ANG I $10^{-8}$ M en pozo (%)	72.03 $\pm$ 4.880	6.9 $\pm$ 1.08****	21.12 $\pm$ 2.582****	29.84 $\pm$ 3.253****	33.65 $\pm$ 3.183****	47.22 $\pm$ 2.926***

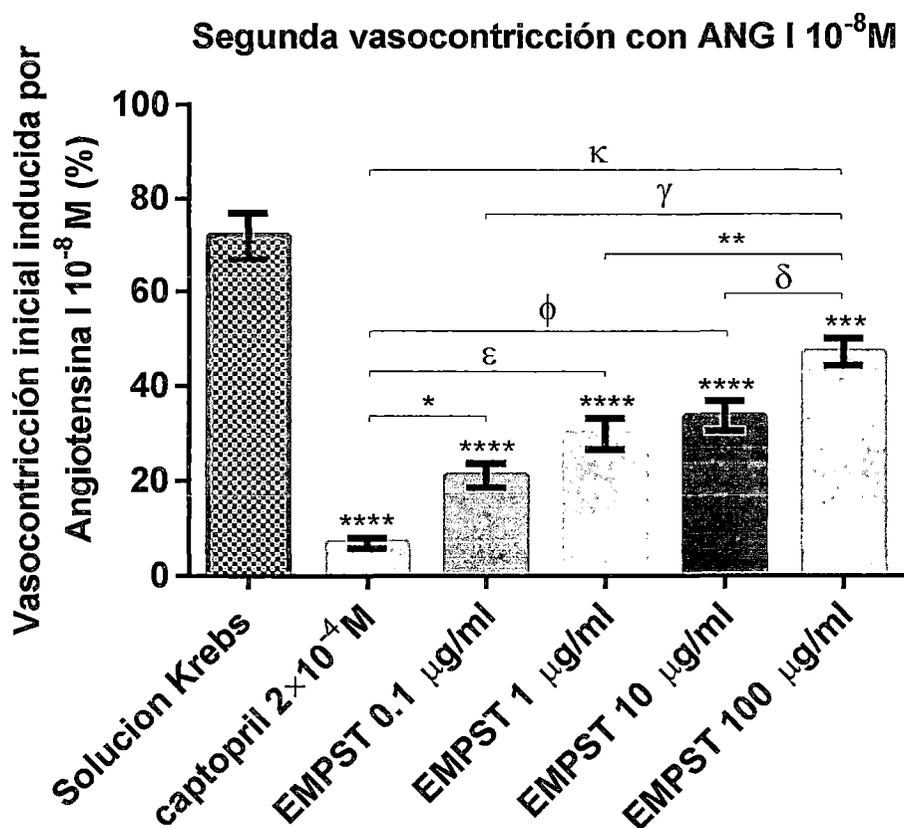
Cada valor representa la media  $\pm$  S.E.M. (error medio estándar), n= 6-8 anillos. Se aplicó el estadístico One-way ANOVA, y el post test de Tukey con una significancia de  $p < 0.01$ ; M: moles/L.  
 Donde: \*\*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*,  $p < 0.0001$  vs el Control negativo (solución de Krebs)

En el cuadro Nro. 6, observamos el grado de vasoconstricción (%) de anillos aórticos de rata normotensa, tras someterlos a la segunda prueba (vasoconstricción) con Angiotensina I  $10^{-8}$  M en pozo; los cuales fueron incubados por 20 minutos con las diferentes dosis del EMPST  $\mu\text{g/ml}$  de pozo, solución de Krebs (vehículo, control negativo) y Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M en pozo (control positivo), después de someterlos a la primera prueba (vasoconstricción) con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo.

Obteniéndose los siguientes resultados: los grados de vasoconstricción (%) con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo, tras la incubación de los anillos aórticos con las dosis de 0.1, 1 y 10  $\mu\text{g/ml}$  de pozo ( $21.12 \pm 2.582$ ,  $29.84 \pm 3.253$ ,  $33.65 \pm 3.183$  respectivamente) vs el control negativo ( $72.03 \pm 4.880$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ); el grado de vasoconstricción (%) con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo, tras la incubación de los anillos aórticos con la dosis de 100  $\mu\text{g/ml}$  de pozo ( $47.22 \pm 2.926$ ) vs el control negativo ( $72.03 \pm 4.880$ ) tienen diferencias extremadamente significativas (\*\*\*,  $p < 0.001$ ); y el grado de vasoconstricción (%) con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo, tras la incubación con Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M en pozo ( $6.9 \pm 1.08$ ) vs el control negativo ( $72.03 \pm 4.880$ ) tienen diferencias muy extremadamente significativas (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ).

Estos resultados nos indican que al incubar los anillos aórticos a las diferentes dosis del extracto en pozo, ejercen su mayor efecto inhibitor de la vasoconstricción a la segunda prueba con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo a la dosis de 0.1  $\mu\text{g/ml}$  de pozo; disminuyendo su efecto a medida que se incrementa la dosis del extracto en pozo, hasta una dosis límite que es aproximadamente 300  $\mu\text{g/ml}$  de pozo, en el cual no hay ningún efecto; mas bien, se potencia la vasoconstricción a la segunda prueba con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo a dosis mayores de 300  $\mu\text{g/ml}$  de pozo (datos no mostrados).

GRAFICO Nro. 14



En el grafico, observamos el grado de vasoconstricción de anillos aórticos de ratas normotensas, sometidos a la segunda vasoconstricción con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo; tras la incubación por 20 minutos con las diferentes dosis del extracto, Krebs (control negativo) y Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M (control positivo) en pozo; ello después de someterlos a la primera vasoconstricción aortica con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo. Se aplicó el estadístico One-way ANOVA y el post test de Tukey, asumiendo una significancia con un  $p < 0.05$ ,  $n = 6-8$  anillos por grupo. Donde: \*,  $\delta$   $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $\epsilon$   $p < 0.001$ ; \*\*\*\*,  $\phi$ ,  $\kappa$ ,  $\gamma$   $p < 0.0001$ .

En el grafico, los grados de vasoconstricción de los anillos aórticos sometidos a la segunda prueba con ANG I  $10^{-8}$  M en pozo después de incubar los anillos tanto con Captopril  $2 \times 10^{-4}$

4 M en pozo, como con la menor dosis del extracto a 0.1  $\mu\text{g/ml}$  de pozo, difieren significativamente (\*,  $p < 0.05$ ); lo que nos indica que el extracto ejerce un efecto inhibitor de la ACE cercano al Captopril; pero si consideramos una significancia de  $p < 0.01$ , no habría diferencia significativa entre ambos, lo cual nos indicaría que el extracto ejerce un efecto inhibitor de la enzima convertidora de angiotensina (ACEI) similar al Captopril.

Además el grafico nos muestra que el grado de vasoconstricción tras la segunda prueba, después de incubar con la dosis de 1  $\mu\text{g/ml}$  de pozo vs el Captopril tienen diferencias extremadamente significativas ( $\epsilon$ ,  $p < 0.001$ ); el grado de vasoconstricción tras la segunda prueba, después de incubar los anillos con las dosis del extracto de 10 y 100  $\mu\text{g/ml}$  de pozo vs el Captopril tienen diferencias muy extremadamente significativas ( $\phi$ ,  $\kappa$   $p < 0.0001$ ); los grados de vasoconstricción tras la segunda prueba, después de incubar los anillos con la dosis del extracto de 0.1  $\mu\text{g/ml}$  de pozo vs 100  $\mu\text{g/ml}$  de pozo tienen diferencias muy extremadamente significativas ( $\gamma$ ,  $p < 0.0001$ ); los grados de vasoconstricción tras la segunda prueba, después de incubar los anillos con la dosis del extracto de 10 y 100  $\mu\text{g/ml}$  de pozo tienen diferencias significativas (\*,  $p < 0.05$ ); y finalmente si comparamos los grados de vasoconstricción a la segunda prueba tras la incubación de los anillos aórticos con las dosis del extracto a 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$  de pozo tienen diferencias muy significativas entre si (\*\*,  $p < 0.01$ ).

## CAPITULO V

### DISCUSION

**En primer lugar**, se ha demostrado, que tras la suspensión por 30 días del tratamiento crónico por 21 días de ratas normotensas con propranolol a dosis de 0.15 mg/100 g de tejido c/12h vía i.p., se produjo hipertensión arterial en etapas I y II, si comparamos con la clasificación de hipertensión en humanos del JNC VII (Chobanian A.V., et.al, 2003); el cual fue determinado por método invasivo (directo) en ratas anestesiadas (Kurtz, T. W. et. al., 2005). Lo cual nos indica que sería un método de producción experimental de ratas hipertensas.

Numerosos estudios han demostrado que los estímulos de agonistas  $\beta$ -adrenérgicos liberan renina (Keeton T. K. y Campbell W. B., 1980). El propranolol disminuye la liberación de renina (Pettinger, W. A. et. al. 1976; Pettinger, W. A, et al. 1975), por bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos a nivel del aparato yuxtaglomerular del riñón (Lew R. y Summers R. J., 1987), y consecuentemente caída de la presión arterial. Por lo cual el organismo sano de las ratas tratadas con este fármaco, interpretan como que tienen que producir mayor cantidad de renina y recuperar la presión arterial al valor normal. Es decir habría una sobre-activación del sistema nervioso simpático. En estudios realizados por Holdaas H, et. al., 1981a y 1981b; la activación nerviosa renal en forma crónica estimula la síntesis de renina todo el tiempo, esto afecta la modulación del flujo sanguíneo renal y función tubular. Dibona G. F., 1985 y Kirchheim H. R., et. al., 1981; realizaron experimentos controlados de estos factores, encontraron una clara relación entre el incremento de la actividad nerviosa simpática renal y la secreción de renina en forma mantenida. Tal es así, que las células renales se adaptan a esa fisiopatología, de producir grandes cantidades de renina para contrarrestar el efecto bloqueador del propranolol; lo cual resulta en modificación de los túbulos renales por una hipertrofia tubular y consecuente retención hidrosalina y aumento de la presión arterial como observaron Chaple La Hoz, M., et. Al., 1996.

A ello se agregaría el efecto de la suspensión del fármaco en forma brusca, ello produce un incremento tanto de la frecuencia cardíaca (HR) y de la presión arterial (BP) esto se observó en humanos hipertensos y normotensos (Walden R. J., et.al, 1990; Walden R. J., et. al, 1982; Lindenfield et. al, 1980; Goldstein et. al., 1981; Nattel et. al., 1979); además de hipersensibilidad de los receptores  $\beta$ - adrenérgicos en especial a isoprenalina, llevando a una mayor respuesta del sistema nervioso simpático (Walden R. J., et.al, 1990), y cambios hormonales tras el periodo de suspensión de  $\beta$ - bloqueadores con incremento del cortisol plasmático, insulina y glicemia; los cuales están relacionados con los cambios hemodinámicos (Walden R. J., et.al, 1990), y clínicamente observaron cefalea, dolor torácico, palpitaciones y sudoración (Nattel et. al., 1979). Todos estos hallazgos en humanos podrían contribuir a los cambios fisiopatológicos que se han observado en animales de laboratorio, ratas normotensas, tratados con propranolol y su posterior suspensión, como lo describieron Chaple La Hoz, M., et. Al., 1996.

**En segundo lugar**, se ha demostrado que la administración aguda vía i.v. del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” *Solanum tuberosum* (EMPST), ejerce hipotensión dosis dependiente en ratas anestesiadas con hipertensión experimental con propranolol, disminuyendo la presión arterial sistólica y diastólica en similar magnitud, cuyo efecto es de mayor duración a medida que se incrementa la dosis, teniendo un buen efecto hipotensor a la mayor dosis estudiada 15 mg/kg i.v. durante los primeros 20 minutos.

La caída instantánea y muy extremadamente significativa de la presión arterial con respecto al control (SSF), a dosis menores del EMPST (1 mg/kg i.v.), sería debido a la alta sensibilidad de todo el sistema cardiovascular, ello a consecuencia del proceso patológico inducido, esto se explicaría, debido a que en muchos casos las drogas hipotensoras muestran su mayor efecto en condiciones de hipertensión a las dosis estándar.

En cuanto a la frecuencia cardíaca (HR) registrada paralelamente tras la administración de diferentes dosis del extracto, sufrió una caída (con una diferencia muy significativa con respecto al control) a partir de 5 mg/kg i.v., manteniéndose sin diferencia significativa hasta la mayor dosis, lo que nos indica que ejerce un efecto cronotrópico negativo. Este último

resultado se debería al efecto que ejercen los glicoalcaloides que se encuentran en el extracto, así como lo demostraron Aldous C. N. y Sharma R. P.,(1980), que tras la administración i.p. en ratas Sprague Dawley, de  $\alpha$ -chaconina a dosis bajas (10 mg/kg) y a dosis altas (40 mg/kg) produjo taquicardia; mientras que a dosis intermedias (20 ó 30 mg/kg) produjo bradicardia.

Contrastando estos resultados con otros estudios:

Guerrero M. F. et. al., (2003); demostraron el efecto hipotensor dosis dependiente del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* administrados vía i.v. en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) a las dosis de 5- 15 mg/kg, sin alteración de la frecuencia cardiaca (HR); en cuanto al efecto sobre la HR los resultados del presente trabajo difieren.

Gómez J. M. y Guerrero M.F. (2009), evaluaron los efectos sobre la presión arterial y la frecuencia cardiaca en rata desmedulada (*piihed*) ejercidos por el extracto etanólico total de *Solanum tuberosum* en comparación con  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, la mezcla de los glicoalcaloides (50:50) y el ácido clorogénico. Sus resultados mostraron que el extracto total ejerce hipotensión dosis dependiente (1  $\mu$ g/kg- 10 mg/kg i.v.) y que los compuestos glicoalcaloidales, la mezcla alcaloidal o el ácido clorogénico no modifican significativamente la presión arterial. Lo cual nos indica que los constituyentes mayores, probados en forma aislada ejercen efectos hipotensores no significativos, o tal vez se deberá a otros constituyentes que se encuentran en menor cantidad o su efecto tal vez implique la participación de todos. Siendo así necesario el estudio de los otros constituyentes como los compuestos fenólicos (excepto el ácido clorogénico), flavonoides no antocianinas, antocianinas (abundante en papas de color) y poliaminas de la piel de *Solanum tuberosum* (Schieber, A., y Saldaña, M.; 2009).

Otros estudios de los efectos cardiovasculares de plantas del género *Solanum* (Solanaceas) en ratas hipertensas:

La administración i.v. del extracto hidroalcohólico de raíz cruda de *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae) a dosis de 50 y 100 mg/kg produjo una disminución

significativa de la presión arterial en ratas hipertensas (hipertensión por regeneración suprarrenal + tratamiento con acetato de deoxicorticosterona (ARH + DOCA)) (Ibarrola D.A., et. al., 1996).

El extracto de *Solanum torvum* (100 – 300 mg/kg, p.o. por 6 semanas) puede prevenir el desarrollo de hipertensión arterial inducida por una dieta rica en fructosa (10%) probablemente por reversión de las alteraciones metabólicas inducidas por la fructosa (Mohan M., et. al., 2009).

**En tercer lugar**, se ha demostrado que la administración aguda vía i.v. del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” *Solanum tuberosum* (EMPST), ejerce un efecto hipertensor inicial momentáneo en ratas normotensas anestesiadas (que dura 30 segundos aproximadamente) tras los 30 segundos de administrar el extracto a dosis de 10, 30 y 50 mg/kg i.v., el cual es dosis dependiente, obteniéndose una diferencia muy significativa con la mayor dosis estudiada con respecto al control (SSF), acompañado de bradicardia según lo observado.

Esto se explicaría, debido al efecto inotrópico positivo de los glicoalcaloides en su mayor porcentaje ( $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina) presentes en cierta cantidad en el extracto de *Solanum tuberosum*, ello contrastando con el estudio realizado por Nishie K., et.al., (1971) quienes indican que la solanina y solanidina (producto final del metabolismo de los glicoalcaloides) son muy similares a los glicósidos cardiacos con respecto a su efectos en el corazón. Estos compuestos producen una acción inotrópica positiva en ventrículos aislados de rana. Efectos análogos al producido por el glicósido cardiaco K- strophantoside. El aglicona solanidina tiene cerca de 1/5 de la actividad de este glicósido, mientras que la solanina tiene una potencia equivalente comparado en base a la molaridad. Además altas concentraciones de solanina produce contractura terminal del corazón según indican estos autores. Un similar efecto cardiotónico a sido atribuido a solasodine por Tuvora et. al., (1961). A dosis de 10  $\mu$ g/ml, los efectos inotrópicos positivos de  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y tomatina en ventrículos aislados de rana fueron esencialmente los mismos (Nishie K., et. al., 1975). La bradicardia concomitante durante esta respuesta hipertensora se debería a la

presencia de los glicoalcaloides en el extracto como lo demostraron Aldous C. N. y Sharma R. P., (1980).

Después de este efecto hipertensor inicial momentáneo, se observó su efecto hipotensor dosis dependiente en ratas normotensas anestesiadas, que se evidenció a los 2 minutos de administrado las diferentes dosis en una forma significativa, siendo el mayor efecto hipotensor y de mayor duración aproximadamente de 60 minutos a la dosis de 50 mg/kg i.v., sin producir arritmias cardiacas, ya que estas se evidenciaron en algunos casos a partir de 100 mg/kg i.v. (datos no mostrados). En cuanto a la frecuencia cardiaca, esta no fue afectada tras la administración de las diferentes dosis del extracto en ratas normotensas.

Estos resultados nos muestran que hay clara diferencia en la sensibilidad cardiovascular a las dosis del extracto, comparando con las ratas en estado patológico hipertensas con propranolol, ya que éstas tienen respuesta hipotensora inmediata a partir de 1 mg/kg hasta 15 mg/kg del extracto, sin producir arritmias cardiacas, ya que se evidenciaron en algunos casos a partir de 30 mg/kg (datos no mostrados) y además no se evidenció el efecto hipertensor inicial momentáneo con las dosis estudiadas, tal vez esto se deba a la poca cantidad de los glicoalcaloides en el extracto a esas dosis menores.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos por Guerrero M. F., et. al., (2003); ellos encontraron un efecto hipotensor dosis dependiente del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* administrados vía i.v. en ratas normotensas (Wistar) anestesiadas a las dosis de 5- 15 mg/kg, sin alteración de la frecuencia cardiaca (HR). Los resultados de este trabajo difieren a la de estos autores, en cuanto a las dosis administradas, ya se obtuvo un efecto hipotensor a dosis mayores del extracto, además del efecto hipertensor momentáneo inicial que no mencionan ellos. Esto podría deberse a las diferencias de los constituyentes de los extractos, ya que se usó diferentes solventes para extraer los metabolitos activos, a la variación de las sepas de animales de laboratorio, a la diferente variedad de papa utilizada (incluyendo diferencias de clima, altitud, latitud y forma de almacenamiento). En cuanto a la no afección de la frecuencia cardiaca en ratas normotensas anestesiadas si coincidimos.

Otros estudios realizados con los glicoalcaloides puros de la papa, como las realizadas por Nishie K., et. al. (1971), tras la inyección intravenosa de solanina (2 mg/kg) en conejos anestesiados con pentobarbital produce un incremento transiente de la frecuencia respiratoria, extrasístoles ventriculares y caída de la presión arterial. Nishie K., et. al. (1975), realizaron otro estudio en conejos blancos New Zealand conscientes, que tras la administración i.v. de las dosis de 1-1.5 mg/kg de  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y tomatina, encontraron que ligeramente disminuyen la frecuencia cardiaca y la presión arterial por corto tiempo. Y a dosis de 2 mg/kg i.v. los glicoalcaloides producen extrasístoles ventriculares tras 7 minutos de la inyección. Estos hallazgos indican, que en alguna medida los glicoalcaloides de nuestro extracto contribuirían a la caída de la presión arterial. En cuanto a las arritmias cardiacas que se observó en algunos animales, se explicarían también por los resultados que obtuvieron estos autores. Y se debería pues a los glicoalcaloides y quizá también a los otros constituyentes del extracto metanólico de *Solanum Tuberosum*.

Se mencionan otros estudios de los efectos cardiovasculares de plantas del género *Solanum* (Solanaceas) en ratas normotensas:

En ratas normotensas anestesiadas la administración i.v. del extracto hidroalcolico de raíz cruda de *Solanum sisymbriifolium* (solanaceae) a dosis de 50 y 100 mg/kg produce hipotensión arterial dosis dependiente (Ibarrola D.A., et. al., 1996).

Alfa-solamargina, un compuesto extraido y aislado de frutos secos de *Solanum americanum* Miller administrado a ratas Wistar a las dosis de 10 y 50 mg/kg i.p., los resultados obtenidos de los estudios electrocardiograficos indicaron que las frecuencias cardiacas son similares en forma y amplitud con respecto a las ratas control; en contraste  $\alpha$ -solamargina a tales dosis disminuyó transientemente la presión arterial en forma dosis dependiente. (Mendez R., et.al., 2007).

En ratas Wistar normotensas concientes, la administración aguda de la fracción acuosa del extracto etanólico de los tallos de *Solanum stipulaceum* (AES) a dosis de 0.5, 2 y 4 mg/kg

i.v., produce hipotensión significativa dosis dependiente asociado con un incremento en la HR. (Ribeiro E. A. N., et. al., 2002)

El extracto acuoso de *Solanum melongena* (SME) administradas via i.v. en ratas albinas normotensas anestesiadas, produce hipotensión dosis dependiente (1, 10 y 100 mg/kg i.v.) y la duración de la respuesta fue también dosis dependiente (Shum O. L. y Chiu K. W., 1991)

El Nuatigenosido, una molecula aislada del *Solanum sisymbriifolium* administrado via i.v. en ratas wistar normotensas anestesiadas produce disminución de la presión arterial a las dosis de 100µg /kg y 1 mg/kg (Ibarrola D. A., et. al., 2006)

El extracto acuoso (AES) y metanólico (MES) del fruto de *Solanum torvum* (Solanaceae), administrado vía i.v. en ratas Wistar normotensas anestesiadas produce una reducción significativa de la presión arterial. El AES a dosis de 1 y 2 mg/kg no afecta la frecuencia cardiaca. Mientras que el MES reduce la frecuencia cardiaca a las dosis de 1, 2 y 5 mg/kg. (Nguelefack, T. B., et. al., 2008)

El extracto acuoso del fruto seco de *Solanum torvum* administrado por via oral (p.o.) a dosis de 200 mg/kg/dia, crónicamente durante 30 dias en ratas Wistar normotensas, induce potenciación de la hipertensión arterial e hipertrofia cardiaca en estos animales tratados concomitantemente con L-NAME (inhibidor de la oxido nítrico sintetasa) a dosis de 40 mg/kg/dia p.o. Estos efectos pueden ser resultado de una reducción en la sensibilidad a agentes vasorelajantes y un incremento en la sensibilidad a agentes contráctiles; el extracto posee una potente actividad vasocontractil in vitro (anillos aórticos de ratas normotensas) que puede resultar de la activación de la via  $\alpha$ - adrenérgica y el influjo de calcio. (Nguelefack, T. B., et. al., 2009).

Claramente en estos dos últimos trabajos se observan resultados duales, que dependen de la forma de extraer los principios activos y de la vía de administración del mismo, lo cual explicarían los resultados que se han obtenido en este trabajo y las diferencias con los otros.

**En cuarto lugar**, para demostrar la vía metabólica, por el cual el extracto disminuye la presión arterial tanto en ratas con hipertensión experimental como en normotensas; se ha tenido que ensayar experimentos preliminares para descartar otras vías metabólicas y así reforzar lo que se planteó inicialmente en este trabajo.

Guerrero M. F., et. al., (2003), demostraron el efecto vasodilatador del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en anillos aórticos de ratas Wistar normotensas, tras someterlos a una pre-contracción con cloruro de potasio (KCl) 80 mM, siendo su mejor respuesta a las dosis de 1 mg/ml de pozo. Sin embargo se ensayó el mismo experimento para corroborar lo que habían encontrado, sometiendo a pre-contracción los anillos aórticos de ratas normotensas (*Rattus Norvegicus*) con KCl 80 mM, y realizar curvas dosis respuesta, y se obtuvo un efecto vasoconstrictor a la mayor dosis estudiada por estos investigadores, sin embargo al administrar dosis mayores a 4 mg/ml de pozo se obtuvo un efecto vasodilatador; lo cual más se debería tal vez al efecto tóxico y de lisis celular del aparato contráctil, de los anillos aórticos según se planteó, aunque cabe la posibilidad de que algunos constituyentes del extracto como solanina tengan efectos *acetilcolina-like*, como también lo demostró Nishie K. et. al., (1971), al comparar las amplitudes de contracción del musculo liso de tiras de íleon de Guinea pig, mostrando que los efectos de la solanina a niveles de 50 y 100 µg/ml fue comparable a 5ng/ml y  $10^{-2}$  µg/ml de acetilcolina (ACh). En otro estudio similar, los efectos parasimpáticos de la  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y tomatina fueron determinados por la contracción del musculo liso de tiras de íleon de Guinea pig, a dosis de 20 µg /ml comparados con ACh a dosis de 0.01µg /ml (Nishie K., et. al., 1975). Pensando en un efecto *acetilcolina-like* del extracto se deberá ensayar aun más, para descartar ese posible efecto tóxico en anillos que se planteó.

Por otro lado, Gómez J. M. y Guerrero M. F. (2009), evaluaron los efectos sobre la presión arterial y la frecuencia cardiaca en rata desmedulada (*pithed*), ejercidos por el extracto etanólico total de *Solanum tuberosum* y sus constituyentes mayores, encontrando un efecto hipotensor dosis dependiente, un efecto inhibidor de la respuesta hipertensora a noradrenalina y parcial reversión del efecto del extracto por parte de L-NAME un inhibidor de la oxido nítrico sintetasa. Concluyendo que el efecto hipotensor del extracto es

parcialmente por vía del óxido nítrico no atribuibles a  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina ni al ácido clorogénico en forma aislada. Esto nos indicaría de que *in vivo*, el extracto ejercería bloqueo adrenérgico y por esa supuesta acción *acetilcolina-like* activaría la vía del óxido nítrico.

Por otro lado, estos hallazgos podrían ser explicados por otros estudios: así Alozie et. al., (1979b), encontraron una inhibición de la butirilcolinesterasa (BuChE) de rata *in vivo*, en un 49% tras la administración i.p. de  $\alpha$ -chaconina a dosis de 10mg/kg. En otro estudio Nigg H. N., et. al., 1996; encontraron que la  $\alpha$ -chaconina y  $\alpha$ -solanina son inhibidores reversibles de la BuChE humana, estos glicoalcaloides a dosis de  $2.88 \times 10^{-6}$  M inhiben la BuChE plasmática en un 70 y 50 % respectivamente.

Así también, Alozie S. O. et. al., (1979a) demostraron que la concentración de  $\alpha$ -chaconina en el cerebro de hamsters Golden ha sido máximo, durante el periodo de 3 y 12 h después de su administración por vía oral. Estos mismos investigadores en otro estudio demostraron que la actividad de la AChE cerebral de ratas Sprague Dawley, fue inhibida en un 21% y 45% a las dosis de 10 y 30 mg/kg i.p. de  $\alpha$ -chaconina respectivamente (Alozie S. O. et. al., (1979b). Aldous C. N. y Sharma R. P., (1980), demostraron el efecto de la  $\alpha$ -chaconina, a las dosis de 3, 8 y 20 mg/kg sobre el sistema nervioso central de ratas Sprague Dawley, y sobre los niveles de algunos neurotransmisores como acetilcolina, norepinefrina, dopamina, serotonina y el metabolito de serotonina ácido 5-hidroxiindolacético. Siendo los síntomas observados a dosis de 8 y 10 mg/kg como sedación, alteración respiratoria, constricción de los músculos abdominales; y el patrón del electroencefalograma mostró un incremento significativo en la proporción de actividad de baja frecuencia. Además los niveles de acetilcolina y los demás neurotransmisores no tuvieron cambios significativos, estos datos difieren de los estudios que indican que la  $\alpha$ -chaconina produce inhibición de la AChE cerebral.

Los glicoalcaloides naturales producidos por plantas de la familia Solanaceae, incluidos los de papas y tomates, inhiben tanto la acetilcolinesterasa (AChE) y la BuChE. Siendo la IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M) para chaconina  $17 \pm 2.0$  y solanina  $14 \pm 1.0$  para su efecto inhibitorio de la AChE; y para la inhibición de la BuChE la IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M), para chaconina  $0.066 \pm 0.001$  y solanina

0.17±0.02; además se debe tener en cuenta que el rango de los glicoalcaloides séricos tras el consumo de una cantidad estándar de puré de papa (200- 400 g) es de 0.001 – 0.1 µM (Harvey M. H., et. al., 1985 y Hellenas K. E., 1992); lo cual indicaría que la chaconina y solanina de algún modo ejercería su efecto inhibitor sobre la BuChE y no sobre la AChE, para el cual sería necesario el mayor consumo del tubérculo (McGehee D. S., et. al., 2000).

Harris H. y Whittaker M., 1962; encontraron que la solanina y solanidina presentan inhibición diferencial de la colinesterasa sérica de individuos con fenotipos “usuales”, “intermedios” y “atípicos” de la enzima. Estos efectos son similares a los obtenidos con el extracto acuoso diluido de papa. La α-chaconina y otros alcaloides de papa también producen al igual que los organofosforados, síntomas tipo colinérgicos en humanos (Hellenas K. E., et. al., 1992).

De estos ensayos preliminares se debe comprender que la respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora en cuanto al extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) depende de la dosis, tal es así, que a dosis menores es vasoconstrictor y a dosis altas más de 4 mg/ ml de pozo es vasodilatador *in vitro* (datos no mostrados). De aquí parte del efecto vasodilatador e hipotensor *in vivo*, sería debido a este efecto *acetilcolina like* o inhibitor de la Acetilcolinesterasa, tal vez, predominantemente a nivel periférico, de los constituyentes del extracto, traducándose en un efecto predominantemente parasimpático (colinérgico), lógicamente esto depende de la dosis y de los constituyentes del extracto, lo cual faltaría ensayar aún más.

Teniendo en cuenta, que la mayoría de los investigadores en este tipo de estudios, con la hipótesis de que el efecto vasodilatador de un extracto “x” sea por la vía del óxido nítrico (NO), vía de la ciclooxigenasa, calcio antagonismo, anti-adrenérgico, etc. trabajan en el rango de dosis menores a 1 mg/ml de pozo con algunas excepciones, lo cual indicaría que si no obtenemos ninguna respuesta vasodilatadora a esas dosis “habituales” ( 100-300 µg/ml de pozo), tras pre-contrair los anillos aórticos ya sea con cloruro de potasio (KCl), noradrenalina o fenilefrina, el mecanismo de acción sería otro (comunicación personal con Guerrero M. F., Agosto, 2014) ; se ha demostrado que fármacos inhibidores de la enzima

convertidora de angiotensina (ACE) y los antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARB II) no relajan anillos aórticos contraídos con KCl o fenilefrina (comunicación personal con Guerrero M. F., Septiembre, 2014), haciendo una analogía, tal vez realmente parte del mecanismo hipotensor del extracto metanólico de *Solanum tuberosum* se deba a que actúa como alguno de estos fármacos. Es así que se cambió la metodología de estudio experimental in vitro con anillos aórticos aislados de ratas.

La metodología de estudio que se planteó para corroborar el efecto inhibitorio de la ACE o bloqueador del receptor de angiotensina II (ARB II) en anillos aórticos de rata normotensa, se basó en los trabajos realizados por: Ruiz-Giménez P., et al., 2007; Schnapp L. M., et al., 1998; Kang D. G., et al., 2003; Lau Y. S., et al., 2012; Rodríguez A., et al., 2006; L. Person I. A., et al., 2006 y otros. Es así, que tras verificar la funcionalidad del endotelio e integridad del aparato contráctil del anillo aórtico, contrayendo y relajando con Noradrenalina y Acetilcolina respectivamente, se estabilizó el anillo aórtico y se le sometió a la primera prueba vasocontráctil con ANG I  $10^{-8}$ M, para obtener la curva completa del mismo hasta que llegue a la tensión basal inicial, después de ello tras los lavados sucesivos con solución de Krebs, ello con el fin de disminuir la taquifilaxia a la ANG I, se incubó durante 20 minutos con el control negativo (solución de Krebs), control positivo (Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M en pozo ) y las dosis del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum*) a dosis de 0.1, 1, 10 y 100  $\mu$ g/ml de pozo. Es así, que se sometió a la segunda prueba vasocontráctil con ANG I  $10^{-8}$  M. obteniéndose un efecto inhibitorio de la vasoconstricción de anillos aórticos con ANG I  $10^{-8}$  M, con una diferencia muy extremadamente significativa con la menor dosis, es decir, 0.1  $\mu$ g/ml de pozo vs el control negativo (solución de Krebs). Este efecto inhibitorio de la vasoconstricción de anillos aórticos por parte del extracto es dosis dependiente, es decir que tiene un buen efecto inhibitorio de la vasoconstricción a la menor dosis, el cual disminuye a medida que se incrementa la dosis, hasta una dosis crítica de 500  $\mu$ g/ml de pozo a partir del cual se potencia la vasoconstricción con ANG I  $10^{-8}$ M (datos no mostrados).

Resultados similares obtuvieron Buitrago D. M., et al., 2011, en una publicación personal; ellos indican que el extracto etanólico de *Solanum tuberosum* poseen efectos

vasodilatadores en anillos aórticos pre-contraídos con ANG I y ANG II; siendo más representativos los efectos en presencia de ANG II, con lo que sugieren que el extracto posee efectos inhibitorios en los receptores AT<sub>1</sub> de angiotensina II. En cuanto al efecto inhibidor de la vasoconstricción por ANG I, mas específicamente la inhibición de la conversión de ANG I a ANG II, es decir inhibición de la ACE, coincidimos. No estaría de más pensar, en que los metabolitos activos del extracto inhiban ambos constituyentes del sistema renina- angiotensina. Sería necesario ensayar también si el extracto bloquea los receptores AT<sub>1</sub> de ANG II, para apoyar estos hallazgos.

Los efectos inhibidores de ACE que se han obtenido en este trabajo, se deberían a los compuestos fenólicos que se encuentran en el extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), ya que éste se caracteriza por presentar un color purpura intenso tanto en la piel como en zonas de la capa vascular y de la médula del tubérculo. Estos resultados serian apoyados por los estudios realizados por otros investigadores:

De los estudios en animales *in vivo*, Suzuki et al., 2002; demostraron que el acido clorogénico y sus derivados, disminuyen la presión arterial en ratas hipertensas y mejora la vasodilatación.

De los estudios *in vitro* con la papa: YoungEun, P., et. Al., 2007; demostraron que las papas con tubérculo de colores tienen actividad inhibitoria significativa de ACE y actividad xantina- oxidasa.

Sallem F., 2010, ha evaluado la inhibición de la ACE en respuesta al extracto acuoso de 54 variedades de papa chilena (*Solanum tuberosum ssp. Tuberosum L*) con variación de colores. Encontrando una alta actividad inhibitoria de la ACE (88%) en algunas variedades estudiadas; baja correlación entre los fenoles totales y la inhibición de ACE; y baja correlación entre la actividad antioxidante y la inhibición de la ACE. Lo que sugiere que la actividad inhibitoria de la ACE no depende de los compuestos fenólicos. Estos resultados difieren del estudio anterior.

Pihlanto A., et. al., 2008; demostraron que las proteínas aisladas del tubérculo de *Solanum tuberosum* con y sin hidrólisis inhiben la ACE y tienen poder antioxidante; la hidrólisis incrementó dichos efectos.

En otro estudio similar realizado por Makinen S., et. al., 2008; la autólisis de proteínas aisladas de la capa vascular y tejido interno de papa (*Solanum tuberosum*) incrementó la inhibición de la ACE, la edad fisiológica del tubérculo afecta la fuerza de inhibición, así alta actividad inhibitoria mostraron los tubérculos almacenados 5 – 6 meses antes de la brotación; la actividad inhibitoria de la ACE presentó correlación positiva con la actividad proteasa de tejidos del tubérculo. Muchas proteínas del tubérculo incluidos inhibidores de proteasa aspártica fueron degradados durante la autólisis, esto indica que existe diferencias enzimáticas en diferentes partes del tubérculo y también en relación al estadio fisiológico. Esto sugiere que las enzimas nativas y proteínas sustratos de la papa pueden ser útiles para buscar fármacos para el manejo de la hipertensión.

Li et. al., 2005, demostraron que el ácido caféico, atenuó la reacción proliferativa de las células musculares lisas vasculares (VSMCs) a la estimulación de ANG II en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y Wistar Kioto (WKY) por inhibición de la generación de especies reactivas de oxígeno y el bloqueo parcial de la cascada de señalización JAK/STAT y la cascada Ras/Raf-1/ERK<sub>1/2</sub>.

De los estudios *in vitro*, tanto al parecer que los compuestos fenólicos y proteínas inhiben la ACE, lo cual reforzaría nuestros resultados.

De los estudios en humanos: Vinson, J. A., et. al., 2012, realizaron un estudio cruzado con 18 sujetos hipertensos con un índice de masa corporal (BMI) promedio de 29, a los cuales, se les dio ya sea de seis a ocho pequeñas papas moradas enteras (con piel) cocidas en microondas, dos veces al día por 4 semanas, y después se les dio otro régimen que consiste en almidón refinado en forma de galletas cocidas, por otras 4 semanas. Sus resultados indican que la presión arterial diastólica (DBP) se redujo significativamente en un 4,3%, con una reducción de 4 mmHg. Y la presión arterial sistólica (SBP) se redujo un 3,5%, con una reducción de 5 mmHg. Esta caída de la presión arterial se produjo a pesar de que 14 de

los 18 sujetos estaban tomando fármacos antihipertensivos. Estos resultados indicarían que el efecto hipotensor de esta papa sería por mecanismos diferentes a los fármacos. Además podría deberse a los altos contenidos de potasio, que también es un regulador de la presión arterial.

Kozuma et al., 2005; demostraron que el ácido clorogénico aislado del extracto acuoso de grano de café verde, disminuyó la presión arterial en pacientes con hipertensión moderada.

Nagao et. al., 2007, en un estudio en humanos con presiones arteriales sistólicas mayor o iguales a 130 mmHg, demostraron que la catequina, produjo una mayor disminución de la presión arterial sistólica (PAS) comparado con el grupo control.

Otros trabajos sobre la inhibición de la ACE, de compuestos fenólicos de otras plantas:

Ojeda D., et. al., 2010; demostraron que Delfinidin-3-*O*-sambubiosides y Cianidin-3-*O*-sambubiosides, antocianinas aisladas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) del extracto acuoso de *Hibiscus Saffdariffa*, inhiben la ACE por competición con el sustrato por el sitio activo en una forma dosis dependiente.

Kwon E. K., et. al., 2010; demostraron que Cianidin-3-*O*- $\beta$ -glucosido aislado de la fracción de etil acetato (EtOAc) de la especie de rosa (*Rosa damascene*), suprimen significativamente la actividad de la ACE, mientras que los otros flavonoides aislados fueron inefectivos.

Shindo M., et. al., 2007; encontraron que tras la administración continua de una dieta rica en antocianinas (Cianidin-3-glucosido, peonidin-acylglucosido, pelargonidin-acylglucosido) de maíz morado (*Zea mays*), camote morado (*Ipomoea batatas*) y rabano rojo (*Raphanus sativus*) respectivamente; a ratas espontáneamente hipertensas (SHR), disminuyó la presión arterial y la frecuencia cardíaca; estos efectos también pueden sugerir que dependen de la propiedad común de las antocianinas como antioxidante.

Actis-Goreta L., et. al., 2006; evaluaron la actividad de la ACE en presencia de compuestos aislados de alimentos ricos en flavanoles como vino, chocolates, te y flavonoides purificados. Siendo mas efectiva la actividad inhibitoria de la ACE por los flavanoles de vino rojo y te verde. Además ensayaron con los polifenoles aislados, procyanidinas (dimeros y hexámeros) y epigallocatequin, estos inhiben significativamente la enzima.

Actis.Goreta L., et. al., 2003; determinaron la actividad inhibitoria de la ACE por los flavan-3-ols y procyanidinas. Este efecto depende del número de epicatequinas que forman las procyanidinas. La actividad fue en forma competitiva con el sustrato, las fracciones de tetrámeros y hexámeros fueron más potentes inhibidores. Como la ACE es una proteína de membrana, la interacción de los flavanoles y procyanidinas con la enzima puede estar relacionado con el número de grupos hidroxilo de las procyanidinas, el cual determina su capacidad de ser absorbido por la membrana.

L. Persson I. A., et. al., 2006; comprobaron que la actividad inhibitoria de la ACE es dosis dependiente, de las cuatro mayores catequinas de te verde, (-)-epicatequin, (-)-epigallocatequin, (-)-epicatequingallate y (-)- epigallocatequingallate, en cultivo de células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC).

Ottaviani J. I., et. al., 2006; estudiaron la relación entre la estructura de los flavanoles y la propiedad inhibitoria de la ACE *in vitro*. El incremento en el número de epicatequinas en las procyanidinas incrementa la inhibición de la enzima. Así la inhibición de la ACE por las procianidinas *in vivo* puede proveer un mecanismo que explica los beneficios del consumo de flavonoides sobre las enfermedades cardiovasculares.

Nileka Balasuria B. W. y Vasantha Ruphasinghe, 2011; demostraron que los flavonoides del extracto de piel de manzana (ASE), muestran inhibición de la ACE concentración dependiente *in vitro*, la propiedad inhibitoria varia de acuerdo al tipo de azúcar unido al carbono en posición 3 de la molécula de los flavonoides.

Debemos comprender, que la ACE es una dipeptidil-carboxil-metalopeptidasa que contiene un átomo de zinc, además posee dos dominios homólogos, cada uno con un sitio catalítico extracelular amino terminal, un dominio intracelular corto carboxilo terminal y una zona hidrófoba transmembrana de 17 aminoácidos. Muchos autores sugieren que la actividad de los flavonoides y otros polifenoles es debido a la formación de complejos quelantes con el átomo de zinc dentro del sitio activo de las metalopeptidasas dependientes de zinc (Chen et al., 1992). Posiblemente esto también resulta de la formación de puentes de hidrogeno entre el inhibidor y los aminoácidos cercanos al sitio activo (Bormann and Melzig, 2000; Lacaille-Dubois et. al., 2001).

Finalmente estos estudios sobre la inhibición de la ACE *in vitro* y efecto hipotensor *in vivo* por parte de los compuestos fenólicos de diversas plantas, podrían explicar los resultados de este trabajo.

Estos son trabajos representativos de muchos acerca de la inhibición de la ACE por los compuestos fenólicos de diversos alimentos de la dieta del ser humano. Así la piel de la papa contiene Ácidos hidroxicinámicos: ácido clorogénico, ácido criptoclorogénico, ácido neoclorogénico, ácido caféico, ácido p-coumarinico y ácido ferúlico; Ácidos hidroxibenzoicos: ácido gallico, ácido protocatequico, ácido vanillico y ácido salicílico; Flavonoides no antocianinas: catequina, epicatequina, eriodictiol, naringenin, glicosidos kaemferol y glicosidos quercetina y Antocianinas: petunidin glicosido, malvidin glicosido, pelargonidin glicosido y peonidin glicósido (Schieber, A., y Saldaña, M.; 2009).

Estos constituyentes son abundantes en las papas de color del género *Solanum tuberosum* L., en especial de la subespecie *andigenum*, que crecen con abonos naturales. Así como son las variedades de papa “lomo negro” un tubérculo que crece en el altiplano peruano, en la localidad de Yunguyo, en las orillas del lago Titicaca y en el departamento del Cuzco. Según los pobladores indígenas de la zona aymara del altiplano peruano, ellos acostumbran a consumir la papa con cáscara (incluido la piel); sería interesante hacer un cribado para diagnosticar problemas cardiovasculares, en especial hipertensión arterial en la población de estas zonas.

Esta adaptación al consumo de la papa entera (con piel) y que no presenten efectos adversos tras el consumo de este tubérculo por estos pobladores, puede ser debido a que mucha de las variantes alélicas de la butirilcolinesterasa (BuChE) exhiben sensibilidad diferentes a los inhibidores naturales como son los glicoalcaloides (GAs) de solanáceas, esto puede conferir una ventaja de la evolución contra la exposición de una dieta tóxica (Krasowski M. D., et. al., 1997).

Los glicoalcaloides (GAs) pueden tener dos acciones tóxicas, tanto en la membrana celular y otro en la acetilcolinesterasa (Morris y Lee, 1984). La toxicidad de las membranas conduce al estallido celular por la formación de complejos de las moléculas lipofílicas de los GAs con el colesterol en las membranas (Keukens et. al., 1992). Un estudio con animales de experimentación y cultivo celular, mostró que los GAs pueden afectar adversamente la permeabilidad intestinal (Patel et. al., 2002).

Los síntomas clínicos de la toxicidad de papa por los GAs en humanos son bastante consistente por todos los casos documentados: disturbios gastrointestinales agudos (dolor abdominal, vómitos y diarrea), broncoespasmo, progresa en casos severos a síntomas neurológicos (apatía, somnolencia, confusión mental, estupor, disturbios visuales, vértigo, alucinaciones, temblor, parálisis), insuficiencia respiratoria, falla cardíaca y coma. Muchos de estos síntomas son parecidos al síndrome de estimulación colinérgica masiva. Los síntomas se presentan tras 2-24h después de la ingestión (Harris F. W. y Cockbum T., 1918; Mensinga T. T., et. al., 2005). Una de las mayores intoxicaciones fue reportado en 78 escolares británicos, los niños afectados severamente se recuperaron después de una semana de hospitalización. Las concentraciones de BuChE en 10 de 17 niños analizados, fueron anormalmente bajas tras 6 días de la exposición. En un caso de todos, los niveles han retornado al valor normal tras 4 ó 5 semanas (Mcmillan M. y Thompson J. C., 1979). Este análisis sugiere un reservorio sustancial de GAs en el organismo tras el consumo de papas.

Los GAs a las dosis mayores de 2 mg/kg de peso son tóxicos y más de 3 mg/kg son potencialmente letales (Morris S. C., y Lee T. H., 1984). En tres estudios con hombres

voluntarios, los síntomas de diarrea, vómitos y/o náuseas ocurrieron con niveles de GAs en el rango de 1-2.6 mg/kg de peso (Hellenas K. E., et. al., 1992).

La cantidad consumida de papa diariamente por individuos estadounidenses, británicos y suecos es: 167 g, 140 g y 300 g respectivamente (Willard M, 1993; Hopkins J, 1995; Slanina P., 1990); con la ingesta diaria de GAs de 28, 33 y 60 mg respectivamente.

La reciente guía de agricultura recomienda, que las papas consumidas deben tener no más de 200 mg de GAs / kg de tubérculo. La cantidad de GAs encontrada en las papas comerciales es menor de 100 mg/ kg de peso fresco. En Reino Unido, de una muestra de 133 papas comerciales, reveló un promedio de los niveles totales de glicoalcaloides entre 90 y 175 mg/kg de peso fresco, mientras que un 2% excedía el nivel máximo recomendado (Davies y Blincow, 1984). Ciertamente es posible que una persona pueda consumir 500 g de papa, con un nivel de seguridad, que puede ser de 100 mg de glicoalcaloides (GAs); en sujetos sanos y con ligero sobrepeso pueden tener síntomas de toxicidad. (Friedman M. y McDonald G. M., 1997).

Algunos estudios sobre la toxicidad y farmacocinética de los glicoalcaloides en humanos se han realizado.

Así, Claringbold W. D. B. et al., 1982; evaluaron la cinética y retención de solanidina (metabolito final de los glicoalcaloides) en sujetos voluntarios sanos, tras inyección i.v. de solanidina tritium ( $^3\text{H}$ ). La concentración en eritrocitos es 2-5 veces mayor que en el plasma; además tres fases en el aclaramiento del tritium en el plasma fue identificado con  $t_{1/2}$  de 2-5 min, 120-300 min y de 70-105 h. La tasa de excreción en orina y heces fue menor tras 24 h de la administración, 1-4% de la dosis de tritium en orina y en heces 1-3%. La solanidina ha sido identificada en hígado humano post-mortem por espectroscopia de masas. Estos datos nos indican que la solanidina de la dieta es almacenada en el cuerpo por periodos prolongados de tiempo. Lo que sugiere que cuando se incrementa el estrés metabólico (embarazo, desnutrición y enfermedades debilitantes), la solanidina puede ser movilizado de sitios inocuos con efectos deletéreos.

Rompelberg C. J. M., et. al., 2001; en un estudio piloto de la farmacocinética de los GAs en sujetos voluntarios indican que los glicoalcaloides pueden potencialmente acumularse en el cuerpo; el clearance puede ser más de 24 h tras la dosis; la variabilidad interindividual es potencialmente amplia, algunos sujetos pueden ser más sensibles que otros a los glicoalcaloides. Además efectos adversos sistémicos como hipotensión y respiración rápida se han visto, pero no fueron observados tras una sola dosis de los glicoalcaloides.

Mensinga T. T., et. al., 2005; realizaron un estudio de toxicidad y farmacocinética tras la administración oral de glicoalcaloides (GAs) ( $\alpha$ -chaconina y  $\alpha$ -solanina), con humanos voluntarios que recibieron una solución de glicoalcaloides totales (TGA) a dosis de 0.3, 0.5 y 0.7 mg /kg de peso o puré de papas con TGA a dosis de 0.95, 1.10 y 1.25 mg/kg. Ninguno de estos tratamientos indujo efectos agudos sistémicos. Un sujeto que recibió la dosis de 1.25 mg/ kg (440-452 g de puré de papas, con dosis absoluta TGA en el rango de 87.5-90 mg) presentó náuseas y vómitos tras 4 h de la ingesta, posiblemente debido a toxicidad local de los glicoalcaloides. La concentración sérica de los GAs tras la dosis, tuvo un pico de concentración máxima a las 6 h., sin embargo la concentración sérica de los GAs disminuye gradualmente pero no retorna al basal dentro de las 24 h pos dosis. De aquí la eliminación de los GAs puede tomar más de 24 h, y tienen el potencial de acumularse en el cuerpo en caso de la ingesta diaria. El tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) de  $\alpha$ -chaconina esta en el rango de 27-84 h y de  $\alpha$ -solanina de 5-42 h. Sin embargo futuras investigaciones en poblaciones amplias (incluido el dosaje de solanidina) es necesario para conocer el metabolismo de los GAs en relación a la ocurrencia de sus efectos adversos.

Se han realizados estudios de la distribución y farmacocinética de los compuestos fenólicos:

La mayoría de la procianidinas oligoméricas ingeridas, pueden entrar al intestino delgado intactos con el potencial de ser absorbidos (García-Conesa M-T., et. al., 2009). Numerosos reportes describen la aparición de procianidinas en plasma tras la ingesta oral. La absorción de dímeros y trímeros de procianidinas ha sido demostrado en ratas y en

humanos. Con valores reportados en plasma en el rango de 10-100 nM (Holt R. R., et. al., 2002; Tsang C., et. al., 2005).

Las células endoteliales humanas responden a procianidinas oligoméricas, por exhibición de un menor fenotipo migratorio y por una modulación general de la expresión de genes que están asociados con eventos clave en el proceso de angiogénesis. Estos cambios son consistentes con los efectos beneficios de los flavan-3-ols en la función vascular (García-Conesa M-T., et. al., 2009).

En cuanto a la estabilidad de los fitoquímicos en los modos de cocción y procesamiento:

En un estudio por HPLC del extracto hidrometanólico (20:80) de papas cocidas sin pelar, se encontró que los tubérculos retienen 66.4, 52.8 y 82.5 % del ácido clorogénico tras ebullición, horneado, cocción en microondas respectivamente; no afectando su capacidad antioxidante (Xu X., et. al., 2009).

La cocción de papas blancas peladas, por ebullición, microondas y fritura provoca una disminución parcial de los flavonoides (quercetinas), con una retención de los mismos en el rango de 4-16 mg/213g de una comida. Mientras que la cocción a vapor resultó en una alta retención de los derivados del ácido caféico (ácido clorogénico y otros) y aminoácidos aromáticos (triptófano y tirosina) que con los otros métodos de cocción (Tudela J., et. al., 2002).

En cuanto al mito de que el consumo de papas pueden incrementar el peso corporal y conducir a obesidad:

Vinson J. A., et. al., 2012; demostraron en humanos, que tras una sola dosis de 6 a 8 papas moradas con piel cocidas en microondas o galletas de almidón refinado de papa en 8 sujetos normales; la papa causó un incremento de la actividad antioxidante en plasma y orina, mientras el almidón refinado de papa causó disminución de ambos, es decir actúa como pro-oxidante. Estos mismos autores en sujetos hipertensos con un índice de masa

corporal de BMI de 29 kg/m<sup>2</sup>, a quienes se les dio una dieta que consiste en 6-8 papas moradas con piel cocidas en microondas por 4 semanas dos veces al día y otra dieta que consiste en almidón refinado de papa dos veces al día por otras 4 semanas. Encontraron que no hubo cambios significativos en la glucosa postprandial, en los lípidos ni en la hemoglobina glicosilada (HbA1c); además no hubo un incremento significativo en el peso corporal (este régimen con papas incrementó a la dieta en energía 1155 kJ (276 kcal) por día y en siete días esta dieta incrementó las calorías en 707±929 kJ (169±222 kcal), respecto al almidón refinado, aun con esta adición no ganaron peso.

La papa morada (cv. Bora Valley) es usado en la medicina tradicional en Korea para la prevención de enfermedades metabólicas. Es así, que Yoon S. S., et. al., 2008; demostraron que el extracto etanólico de *Solanum tuberosum* (papa morada) inhibió la proliferación y diferenciación de las células adiposas 3T3-L1, como también redujo los niveles de leptina, colesterol y triglicéridos; además de la grasa corporal total medido por resonancia magnética (MRI) en ratas Sprague-Dawley tratadas con el extracto a la dosis de 500 mg/kg tras ser sometidos a una dieta rica en grasa. Este efecto anti-obesidad fue mediado por la inhibición de la p38, una proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) relacionado a la obesidad en células adiposas 3T3-L1 y activación de la expresión de la UCP-3 (via de la termogénesis) en grasa y tejido hepático.

En cuanto al perfil teratológico y toxicológico de los glicoalcaloides y compuestos fenólicos de *Solanum tuberosum*:

Chaube S. y Swinyard C. A., 1976; en un estudio comparativo agudo y crónico tras la administración i.p., en ratas Wistar gestantes y no gestantes, de los glicoalcaloides  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina, extracto de glicoalcaloides totales (TGA) y compuestos fenólicos (ácido clorogénico y ácido caféico) de *Solanum tuberosum*. Encontraron que la dosis letal tóxica aguda (LD<sub>50</sub>) en ratas no gestantes de  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y TGA fue de 84, 67 y 60 mg/kg. Tras la administración crónica de  $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina y TGA en ratas no gestantes tratadas por 2 días (40mg/kg/día) y 8 días (20mg/kg/día) resultó en un 40 y 42 % de mortalidad. Tras 8 inyecciones diarias de  $\alpha$ -chaconina (5-20mg/kg) en los días 5-12 ó 2

dosis (40 mg/kg) en los días 5 y 6 en ratas gestantes, resultó en muerte materna (40-66%) y muerte fetal (15-100%). Mientras que  $\alpha$ -solanina y TGA administrado en forma similar fue letal solo en el feto (17-86%). Mientras que el ácido clorogénico (5-500 mg/kg) y ácido caféico (40-187.5 mg/kg) en los días 5-12 de la gestación no causó muerte materna ni fetal. Ninguno produjo defectos del tubo neural. Estos hallazgos nos indicarían que el consumo del tubérculo entero podría tener efectos teratogénicos en mujeres embarazadas, por lo cual estarían contraindicados.

Hasta aquí, puede ser potencialmente peligroso el consumo de la papa entera (con piel); sin embargo los estudios anteriores han demostrado que a niveles próximos a 200 mg de GAs /kg de peso fresco del tubérculo, el límite superior aceptado, en general no produjo efectos tóxicos sistémicos, con algunas excepciones. Esto puede ser debido a las diferencias genéticas de alelos que codifican las acetilcolinesterasas en diferentes poblaciones de humanos, ello depende de la exposición del tubérculo en la dieta de nuestros antepasados y el lugar donde han sido domesticados estos tubérculos. Los descendientes de las culturas sudamericanas podrían tener mejor tolerancia a los tóxicos de la papa en comparación de las personas de los demás continentes, ello debido a la evolución genética reciente como respuesta adaptativa al consumo de este tubérculo; y los casos de intoxicación se ha visto justamente con las personas de los continentes asiáticos, británicos, etc. Bien se sabe que el contenido de GAs en las papas que se consumen es de 100 mg/ kg de tubérculo fresco. De ahí que habría menos probabilidad de experimentar efectos tóxicos sistémicos tras el consumo de este tubérculo entero. Es cierto que los metabolitos finales de los glicoalcaloides como la solanidina puede acumularse en el organismo, esto dependería de la capacidad de metabolizar estos compuestos en forma individual, lo cual es una ventaja. Pero junto a la ingesta de estos tóxicos, también se estarían agregando a la dieta muchos fitoquímicos que se han demostrado en estudios animales y en el hombre tienen efectos benéficos para la salud. De ahí parte la importancia del consumo de este tubérculo entero (incluido la piel) y que mejor aquellos tubérculos de color rojo y morado que contienen abundantes compuestos fenólicos (antocianinas).

Si bien es cierto, que las poblaciones menos evolucionadas para el consumo de este tubérculo entero pueden presentar toxicidad; están siendo modificadas genéticamente algunas variedades cultivadas que provean abundantes compuestos fenólicos y menor cantidad de tóxicos para aprovechar sus beneficios. Otra posibilidad sería aislar los metabolitos activos beneficiosos y convertirlos en fármacos o crear compuestos sintéticos molecularmente semejantes.

Recordemos que las papas que contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos son aquellos que son sembrados sin fertilizantes sintéticos, de ahí la importancia del consumo de papas del genero *Solanum tuberosum ssp. andigenum*, que sólo crece en los andes sudamericanos en especial en el Perú, a ello se agrega la probable capacidad de metabolizar los tóxicos como los glicoalcaloides debido a que el hombre del ande es menos sensible a estos tóxicos por el proceso evolutivo, y de tal forma se podría aprovechar los demás fitoquímicos benéficos en su dieta; sería importante impulsar y poner de conocimiento el beneficio del consumo de este tubérculo en forma entera, para que finalmente puedan prevenirse enfermedades como el cáncer, obesidad, diabetes, hiperlipidemia y problemas cardiovasculares.

En cuanto a los estudios de coccion de las papas, se ha demostrado que los compuestos felonicos son estables en alguna medida, que mejor a la cocion en vapor, que conserva en buen porcentaje estos constituyentes. Y cuando son ingeridos son fácilmente absorbidos y se pueden aprovechar sus beneficios.

En cuanto al mito de que el consumo de papas induce a sobrepeso y obesidad, no es tan cierto, como lo demostraron algunos estudios en animales y en humanos, en especial si se consumen papas con piel y carne de color.

En cuanto al posible efecto teratogenico, se han hecho trabajos en animales de experimentación, encontrándose mortalidad tanto materna como fetal en un 50% aproximadamente, esto por los toxicos glicoalcaloides; tal vez el consumo de estos tuberculos en mujeres embarazadas puede llevar a teratogenicidad en el feto, aunque no hay datos al respecto, tendríamos que indicar la suspensión de su consumo en este periodo.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

#### **PRIMERO:**

Se estandarizó un método invasivo (directo) para registro de la presión arterial en ratas anestesiadas en nuestro laboratorio. El cual servirá para la realización de posteriores trabajos de investigación, con el fin de hacer cribado de extractos de plantas que tengan efecto hipotensor e hipertensor, la dilucidación del mecanismo de acción de las mismas y realizar trabajos de las drogas sintéticas recientes, con la finalidad de descubrir otras vías metabólicas y mecanismos de acción en animales de laboratorio *in vivo*.

#### **SEGUNDO:**

Se estandarizó un método para estudio *in vitro* en cámara de órgano aislado, de la respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora de anillos aórticos de rata sometidos a diferentes drogas. Además de un protocolo para el estudio, del efecto inhibitor tanto de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) como del efecto bloqueador de los receptores de angiotensina II, de extractos de plantas en anillos aórticos montados en una cámara de órgano aislado. Además para realizar estudios de drogas sintéticas recientes, para descubrir otras vías metabólicas y sus mecanismos de acción.

#### **TERCERO:**

Se produjo hipertensión experimental en ratas normotensas, tras la suspensión entre 20 y 30 días del tratamiento crónico con propranolol a dosis de 0.15mg/100 g de tejido c/12 h vía *i.p.* por 21 días. Obteniéndose un modelo animal de hipertensión experimental leve a moderada, probablemente con renina alto, ideal para este tipo de estudios.

#### **CUARTO:**

El extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), ejerce efecto hipotensor dosis dependiente (1-15 mg/kg *i.v.*) en ratas con hipertensión experimental con propranolol anestesiadas, con una duración aproximada de 20 minutos, para la mayor dosis;

y un efecto bradicardizante a partir de 5mg/kg i.v. sin diferencia significativa entre las dosis mayores estudiadas.

#### **QUINTO:**

El extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), ejerce efecto hipotensor dosis dependiente (10-50 mg/kg i.v.) en ratas normotensas anestesiadas, con una duración aproximada de 60 minutos, para la mayor dosis, sin alteración de la frecuencia cardiaca; adicionalmente un efecto hipertensor inicial momentáneo tras los 30 segundos de la administración de las dosis estudiadas con una duración de 30 segundos aproximadamente.

#### **SEXTO:**

El extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), ejerce un efecto inhibidor de la vasoconstricción con ANG I  $10^{-8}$ M en pozo, dosis dependiente (0.1, 1, 10 y 100  $\mu$ g/ml de pozo), siendo mayor el efecto a la menor dosis; y de acción similar al Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M en pozo (inhibidor de la ACE). Lo cual no lleva a concluir que parte del efecto hipotensor del extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) es por inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) en anillos aórticos de ratas normotensas.

## CAPITULO VII

### RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de cribado de extractos de plantas medicinales que tengan efecto hipotensor e hipertensor en animales de experimentación en el laboratorio.
2. Aislar los metabolitos activos del extracto metanólico de piel de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), para posteriormente verificar su efecto hipotensor y sus mecanismos de acción de cada fitoquímico.
3. Realizar un estudio enzimático con el extracto, para observar la actividad inhibitoria enzimática de la ACE por parte del extracto metanólico de la piel de papa “lomo negro” *Solanum tuberosum in vitro*.
4. Realizar estudios clínicos en pacientes hipertensos de nuestro medio, que permita determinar la farmacocinética y farmacodinámica del extracto o los metabolitos aislados de papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), en la búsqueda de proponer la dosificación adecuada y los niveles de toxicidad en nuestros pacientes.
5. Una vez realizado el estudio clínico, tal vez se pueda elaborar un fármaco ya sea de los constituyentes naturales de la papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*) o un fármaco sintético similar a las moléculas aisladas del mismo.
6. Recomendamos el consumo de esta especie alimenticia con cáscara (con piel) en especial de las papas serranas de color y también de la papa “lomo negro” (*Solanum tuberosum L.*), entre 6 a 8 papas pequeñas llevados a cocción en vapor de agua o sometidos a ebullición junto con los alimentos diariamente, para prevenir el cáncer, obesidad, problemas cardiovasculares, en especial la hipertensión arterial en personas sanas.
7. También sería recomendable, que los pacientes hipertensos que reciben medicación, puedan incluir a su dieta la papa “lomo negro”, como se mencionó anteriormente.
8. No está recomendado su consumo con cáscara (con piel) en mujeres embarazadas, ya que podría tener algún efecto teratogénico por los glicoalcaloides que contiene.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abadir PM, Periasamy A, Carey RM, et al. Angiotensin II type 2 receptor-bradykinin B2 receptor functional heterodimerization. *Hypertension*, 2006, 48:316–322.
2. AbdAlla S, Lothar H, Abdel- tawab AM, Quitterer U. The angiotensin II AT2 receptor is an AT1 receptor antagonist. *J Biol Chem*, 2001, 276:39721–39726.
3. Abdulla, M. H., Sattar, M. A., Abdullah, N. A., & Johns, E. J. (2013). The effect of high-fructose intake on the vasopressor response to angiotensin II and adrenergic agonists in Sprague-Dawley rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 26(4).
4. Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., & Fraga, C. G. (2006). Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 54(1), 229-234.
5. Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., Keen, C. L., &Fraga, C. G. (2003).Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins. *FEBS letters*, 555(3), 597-600.
6. Agencia Agraria de Noticias. 2013. <http://www.agraria.pe/noticias/peru-es-el-primerproductor-de-papa-en-sudamerica>.
7. Agusti C. Regulo. Epidemiologia de la Hipertension arterial en el Peru. *Acta Med Per*. 23 (2) 2006.
8. Aldous, C. N., Sharma, R. P., &Salunkhe, D. K. (1980). Effects of  $\alpha$ -chaconine on brain biogenic amines, electroencephalogram, cardiac rates and respiratory response in rats. *Journal of Food Safety*, 2(1), 20-33
9. Alozie, S. O., Sharma, R. P. and Salunkhe, D. K. 1979a. Physiological disposition, subcellular distribution and tissue binding of  $\alpha$ -chaconine (3 H). *J. Food Safety*. 1,257-273.
10. Alozie, S. O., Sharma, R. P. and Salunkhe, D. K. 1979b. Inhibition of rat cholinesterase isoenzymes in vitro and in vivo by the potato alkaloid,  $\alpha$ -chaconine. *J. Food Biochem*. 2,259-276.
11. Andre, C.M., M. Ghislain, P. Bertin, M. Oufir, M.R. Herrera, L. Hoffmann, J.F. Hausman, Y. Larondelle y D. Evers. 2007. Andean potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) as a source of antioxidant and mineral micronutrients. *Agric. Food Chem*. 55, 366-378.
12. Antonaccio, M. J., Rubin, B., & Kotler, D, (1981). Effects of captopril on vascular reactivity of SHR in vivo and in vitro. *Hypertension*, 3(6 Pt 2), II-211.

13. Armas, M. et al. La hipertensión en Latinoamérica. Revista Latinoamericana de Hipertension. Volumen 1, numero 1. Enero –marzo, 2006. Pp 10 -17.
14. Balasuriya, BW Nileeka, and HP Vasantha Rupasinghe. "Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension." *Functional foods in Health and Disease* 5 (2011): 172-188.
15. Barber MO, Barber E, Fox MO. Efectos renales y hemodinámicos en ratas de la saralasin y su supresión. Tesis para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Fisiología normal y patológica. ICBP "Victoria de Girón", 1992.
16. Barry Greenberg, MD, FACC. An ACE in the Hole Alternative Pathways of the Renin Angiotensin System and Their Potential Role in Cardiac Remodeling. Journal of the American College of Cardiology Vol. 52, No. 9, 2008.
17. Batenburg W, Danser AJ. Prorenin and the (pro) renin receptor: Binding kinetics, signalling and interaction with aliskiren. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2008, 9:181–184.
18. Bautista R, Manning R, Martinez F, et al. Angiotensin II–dependent increased expression of Na<sup>+</sup>–glucose cotransporter in hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286:F127–F133.
19. Bauw, G., Nielsen, H. V., Emmersen, J., Nielsen, K. L., Jørgensen, M., & Welinder, K. G. (2006). Patatins, Kunitz protease inhibitors and other major proteins in tuber of potato cv. Kuras. *FEBS Journal*, 273(15), 3569-3584.
20. Beckett NS, Peters R, Fletcher AE, et al; HYVET Study Group. Treatment of hypertension in patients 80 years of age or older. *N Engl J Med*. 2008; 358(18):1887-1898.
21. Blankemeyer, J. T.; Atherton, R.; Friedman, M. Effect of potato glycoalkaloids R-chaconine and R-solanine on sodium active transport in frog skin. *J. Agric. Food Chem*. 1995, 43, 636-639.
22. Bolton, T. B., & Clapp, L. H. (1986). Endothelial-dependent relaxant actions of carbachol and substance P in arterial smooth muscle. *British journal of pharmacology*, 87(4), 713-723.
23. Boulanger, C. M., Ezan, E., Massé, F., Mathieu, E., Lévy, B. I., & Azizi, M. (1998). The hemoregulatory peptide N-acetyl-ser-asp-lys-pro impairs angiotensin I-induced contractions in rat aorta. *European journal of pharmacology*, 363(2), 153-156.
24. Brown NJ, Ray WA, Snowden M, Griffin MR. Black Americans have an increased rate of angiotensin converting enzyme inhibitor– associated angioedema. *Clin Pharmacol Ther*, 1996, 60:8–13.
25. Brown, C.R. (2005). Antioxidants in potato. *American Journal of Potato Research*, 82, 163-175.

26. Brunton L. L., et. al., Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mexico, Mcgraw-Hill Interamericana editores, S.A. de C.V. 12<sup>ava</sup> ed. 2012.
27. Buitrago, D. M., Ramos, G., Rincón, J., & Guerrero, M. F. (2007). Antiagregant activity of the ethanolic extracts of solanum tuberosum in human platelets. *Vitae*, 14(1), 49-54.
28. Buitrago, D. M., Rincón, J., & Guerrero, M. F. Efecto Vasodilatador del Extracto Etanólico de Solanum tuberosum. <http://www.enid.unal.edu.co/2012/memorias/fscommand/Biotecnologia/73.pdf>.
29. Bukasov, S. M. (1973). Taxonomy and geography of potato species. *Genetika Kartofelia*.
30. Bushway, R. J., & Ponnampalam, R. (1981). Alpha.-Chaconine and alpha.-solanine content of potato products and their stability during several modes of cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(4), 814-817.
31. Bushway, R. J., Bureau, J. L., & McGann, D. F. (1983). Alpha-Chaconine and Alpha-Solanine Content of Potato Peels and Potato Peel Products. *Journal of Food Science*, 48(1), 84-86.
32. Camire ME, Zhao J, Violette DA. In vitro binding of bile acids by extruded potato peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1993;41(12):2391-2394.
33. Carey RM, Howell NL, Jin X- H, Siragy HM. Angiotensin type 2 receptor-mediated hypotension in angiotensin type 1 receptor-blocked rats. *Hypertension*, 2001, 38:1272-1277.
34. Chaple La Hoz, M., Barber Gutiérrez, E., Román Aldama, W., Castillo Herrera, J., Fox Pascual, M. O., & Barber Fox, M. O. (1996). Efectos hemodinámicos de la supresión del propranolol en ratas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 15(2).
35. Chaube, S., & Swinyard, C. A. (1976). Teratological and toxicological studies of alkaloidal and phenolic compounds from Solanum tuberosum L. *Toxicology and applied pharmacology*, 36(2), 227-237.
36. Chen, G., Suzuki, H., & Weston, A. H. (1988). Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *British journal of pharmacology*, 95(4), 1165-1174.
37. Chobanian AV et al: The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report. *JAMA* 289:2560, 2003
38. Claringbold, W. D. B., Few, J. D., & Renwick, J. H. (1982). Kinetics and retention of solanidine in man. *Xenobiotica*, 12(5), 293-302.
39. Clark, J. D., Gebhart, G. F., Gonder, J. C., Keeling, M. E., & Kohn, D. F. (1997). The 1996 guide for the care and use of laboratory animals. *ILAR journal*, 38(1), 41-48.

40. Coleman TG, Guyton AC, Cowley AW Jr, Young DG, Decue JW, Cevese AA. Renal abnormalities that do and do not cause hypertension. *Proc Int Congr Nephrol* 1976; 6:266-73.
41. D'Amore A, Black MJ, Thomas WG. The angiotensin II type 2 receptor causes constitutive growth of cardiomyocytes and does not antagonize angiotensin II type 1 receptor-mediated hypertrophy. *Hypertension*, 2005, 46:1347–1354.
42. Danser AH, Deinum J. Renin, prorenin and the putative (pro) renin receptor. *Hypertension*, 2005, 46:1069–1076.
43. Danser AH, van Kats JP, Admiraal PJ, et al. Cardiac renin and angiotensins: Uptake from plasma versus *in situ* synthesis. *Hypertension*, 1994, 24:37–48.
44. de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, et al. International union of pharmacology: XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev*, 2000, 52:415–472.
45. De Mey, J. G., & Vanhoutte, P. M. (1981). Role of the intima in cholinergic and purinergic relaxation of isolated canine femoral arteries. *The Journal of physiology*, 316(1), 347-355.
46. Delcayre, C., Fazal, L., Ragot, H., Prudhomme, M., Azibani, F., & Samuel, J. L. (2015). The Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Cardiovascular Diseases. In *Introduction to Translational Cardiovascular Research* (pp. 51-71). Springer International Publishing.
47. Durante, W., Sen, A. K., & Sunahara, F. A. (1988). Impairment of endothelium-dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats. *British journal of pharmacology*, 94(2), 463-468.
48. Edwards E. J, Cobb A. H. The effect of prior storage og the potential of potato tubers (Solanum tuberosum) to accumulate glycoalkaloids and chlorophylls during light exposure, including artificial neural network modelling”, *J. Sci.Food Agric*, 79, 1999, p.1289-1297.
49. Egusquiza, B. R. (2000). *La papa: producción, transformación y comercialización*. International Potato Center.
50. Engel KH, Meinel G, Raeuber A (1964) Das tagesperiodische Wachstum der Kartoffelknollen und der Verlauf der Temperatur. *Z Angew Meteo* 4:364–369
51. Epperson S, Gustafsson AB, Gonzalez AM, et al. Pharmacology of G-protein-linked signaling in cardiac fibroblasts. In: Villarreal FJ, ed. *Interstitial Fibrosis and Heart Failure*. Springer, New York, 2004, pp. 83–97.
52. Erdos EG: The angiotensin I converting enzyme. *Fed Proc* 1977; 36: 1760-1765.
53. Estrada, R. La Biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. PROINPA/CIA/CIP. 2000. Bolivia.
54. Ezequiel R., Singh, N., Sharma, S. and Kaur, (2013) A. Beneficial phytochemicals in potato-a review, *Food Research International*, 50, 487-496.

55. FAO. Estadísticas de producción de cultivos de la organización para la alimentación y agricultura de las Naciones Unidas (FAOSTAT 2013). Disponible en: [http://faostat3.fao.org/home/index\\_es.html?locale=es#VISUALIZE](http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#VISUALIZE).
56. Ferrario CM, Chappell MC, Tallant EA, et al. Counterregulatory actions of angiotensin-(1-7). *Hypertension*, 1997, 30:535-541.
57. Friedman, M. (2006). Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8655-8681.
58. Friedman, M., McDonald, G. M., & Filadelfi-Keszi, M. (1997). Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety, and plant physiology. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 16(1), 55-132.
59. Friedman, M.; Fitch, T.E.; Levin, C.E.; Yokoyama, W.H. 1997: Reduction of dietary cholesterol in hamsters fed tomatine. Presented at the National Meeting of the American Chemical Society. Abstract AGFD 81.
60. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J*. 1989; 3 (9):2007-18.
61. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288 (5789):373-6.
62. García Barriga H. Flora Medicinal de Colombia. Tomo II. Bogotá: Tercer Mundo; 1992; pp. 84-91.
63. Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biol Colomb*, 13(3), 27-36.
64. Ghislain, M., J. Núñez, M.R. Herrera y D.M. Spooner. 2009. The single Andigenum origin of *Neo-tuberosum*-*Tuberosum* potato materials is not supported by microsatellite and plastid marker analyses. *Theor. Appl. Genet.* 118(5), 963-969.
65. Go, A. et al. Heart Disease and Stroke Statistics – 2013 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2013; 127:e6-e245.
66. Gómez, J. M., & Guerrero, M. F. (2009). Evaluación de los efectos cardiovasculares del extracto y compuestos de *Solanum tuberosum* en rata desmedulada. *Vitae*, 16(3), 320-326.
67. González R, Barber E, Pérez S, Fox MO, Roca G. Efectos de la supresión del propranolol sobre la presión arterial y el riñón. *Rev Cubana Invest Biomed* 1985; 4(1):48-57.
68. Gray, M. H. 1996. Techniques of anesthesia and catheter placement in the rat (*Rattusrattus*). Pages 153- 165, in *Tested studies for laboratory teaching*, Volume 17 (J. C. Glase, Editor). *Proceedings of the 17th Workshop/Conference of the Association for Biology*

- Laboratory Education (ABLE), 255 pages.<http://www.ableweb.org/volumes/vol-17/10-gray.pdf>.
69. Gruetter, C. A., Ryan, E. T., Lemke, S. M., Bailly, D. A., Fox, M. K., & Schoepp, D. D. (1988). Endothelium-dependent modulation of angiotensin II-induced contraction in blood vessels. *European journal of pharmacology*, 146(1), 85-95.
  70. Grun, P. 1990. The evolution of cultivated potatoes. *Econ. Bot.* 44, Supl. 3, 39-55.
  71. Guerrero, M. F., Carrón, R., & Martín, M. L. (2003). Identificación de la actividad hipotensora del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en ratas. *RCCQF*, 32(1), 30-36.
  72. Guyton AC, Coleman TG. Salt balance and long-term blood pressure control. *Annu Rev Med* 1980;31:15
  73. Guyton AC. Renal function curve: a key to understanding the pathogenesis of hypertension. *Hypertension* 1987;10:1
  74. Han KH, Hashimoto N, Hashimoto M, Noda T, Shimada K, Lee CH, Sekikawa M, Fukushima M (2006). Red potato extract protects from D-galactosamine- induced liver injury in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70: 2285-2288.
  75. Han KH, Hayashi N, Hashimoto N, Shimada K, Sekikawa M, Noda T, Fukushima M (2008). Feeding potato flakes affects cecal short-chain fatty acids, microflora and fecal bile acids in rats. *Ann. Nutr. Metab.*52: 1-7.
  76. Hansen PB, Hashimoto S, Briggs J, Schnermann J. Attenuated renovascular constrictor responses to angiotensin II in adenosine 1 receptor knockout mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 285:R44–R49.
  77. Harvey MH, McMillan M, Morgan MR, Chan HW: Solanidine is present in sera of healthy individuals and in amounts dependent on their dietary potato consumption. *Hum Toxicol* 1985; 4:187–94
  78. Hawkes J.G. Origins of cultivated Potatoes and Species Relationships. In: *Potato Genetics*. 1994. CAB International University Press UK Cambridge.
  79. Hawkes, J. G. 1963. A revision of the tuber-bearing solanums, 2d ed. In *Scottish Plant Breeding Station Record*, 76–181. Scottish Plant Breeding Station, Pentlandfield, Scotland.
  80. Hawkes, J.G. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press, London.
  81. Hawkes, J.G. y J. Francisco-Ortega. The potato in Spain during the late 16th century. *Econ. Bot.* 1992. 46(1), 86-97.

82. Hawkes. J. G. 1979. Evolution and polyploidy in potato species. In *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. Edited by J. G. Hawkes, R. N. Lester. and A. D. Skelding. Linnean Society Symposium Series No. 7. pp. 637-645.
83. Hellenas KE, Nyman A, Slanina P, Loof L, Gabrielsson J: Determination of potato glycoalkaloids and their aglycone in blood serum by high-performance liquid chromatography: Application to pharmacokinetic studies in humans. *J Chromat* 1992; 573:69–78
84. Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, et al. Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: Novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci*, 2007, 112:417–428.
85. Hoe, S. Z., Kamaruddin, M. Y., & Lam, S. K. (2007). Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by a partially purified fraction of *Gynura procumbens* in spontaneously hypertensive rats. *Medical Principles and Practice*, 16(3), 203-208.
86. Hosaka, K. 2003. T-type chloroplast DNA in *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* was conferred by some populations of *S. tarijense* Hawkes. *Amer. J. Potato Res.* 80, 21-32.
87. Huamán, Z. Botánica Sistemática y Morfología de la Papa. En: Boletín de información Técnica 6. Centro Internacional de la Papa. 1986. Segunda edición. Lima Perú. P 22.
88. Ichihara S, Senbonmatsu T, Price E Jr, et al. Angiotensin II type 2 receptor is essential for left ventricular hypertrophy and cardiac fibrosis in chronic angiotensin II-induced hypertension. *Circulation*, 2001, 104:346–351.
89. Im, H. W., Suh, B. S., Lee, S. U., Kozukue, N., Ohnisi-Kameyama, M., Levin, C. E., & Friedman, M. (2008). Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry in potato plant flowers, leaves, stems, and tubers and in home-processed potatoes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(9), 3341-3349.
90. Izzo Jr, J. L., & Weir, M. R. (2011). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *The Journal of Clinical Hypertension*, 13(9), 667-675.
91. James, P. A., Oparil, S., Carter, B. L., et. al., (2014). 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *Jama*, 311(5), 507-520.
92. Jones E, Vinh A, McCarthy CA, et al. AT2 receptors: Functional relevance in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*, 2008, 120:292–316.
93. Kameda K, Takaku T, et al: Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J Nat Prod* 1987; 50: 680-683.

94. Kaneshiro Y, Ichihara A, Sakoda M, et al. Slowly progressive, angiotensin II-independent glomerulosclerosis in human (pro) renin receptor-transgenic rats. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18:1789–1795.
95. Kang, D. G., Kim, Y. C., Sohn, E. J., Lee, Y. M., Lee, A. S., Yin, M. H., & Lee, H. S. (2003). Hypotensive effect of butein via the inhibition of angiotensin converting enzyme. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(9), 1345-1347.
96. Kang, D. G., Sohn, E. J., Kwon, E. K., Han, J. H., Oh, H., & Lee, H. S. (2002). Effects of berberine on angiotensin-converting enzyme and NO/cGMP system in vessels. *Vascular pharmacology*, 39(6), 281-286.
97. Kaspar, K. L., Park, J. S., Brown, C. R., Mathison, B. D., Navarre, D. A., & Chew, B. P. (2011). Pigmented potato consumption alters oxidative stress and inflammatory damage in men. *The Journal of nutrition*, 141(1), 108-111.
98. Kikta, D. C., & Fregly, M. J. (1982). Effect of in vitro administration of captopril on vascular reactivity of rat aorta. *Hypertension*, 4(1), 118-124.
99. Kikugawa, K.; Hakamada, T.; Hasunuma, M.; Kurechi, T. 1983: Reaction of p-hydroxycinnamic acid derivatives with nitrite and its relevance to nitrosamine formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31: 780- 785.
100. Kim S. Iwao H: Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 11-34.
101. Koga, T., Takata, Y., Kobayashi, K., Takishita, S., Yamashita, Y., & Fujishima, M. (1989). Age and hypertension promote endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the rat. *Hypertension*, 14(5), 542-548.
102. Kozuma, K., Tsuchiya, S., Kohori, J., Hase, T., Tokimitsu, I., 2005. Antihypertensive effects of green coffee bean extract on mildly hypertensive subjects. *Hypertens. Res.* 28, 711–718.
103. Krasowski, M. D., McGehee, D. S., & Moss, J. (1997). Natural inhibitors of cholinesterases: implications for adverse drug reactions. *Canadian journal of anaesthesia*, 44(5), 525-534.
104. Kuttan, S. C., & Sim, M. K. (1993). Angiotensin II-induced tachyphylaxis in aortas of normo-and hypertensive rats: changes in receptor affinity. *European journal of pharmacology*, 232(2), 173-180.
105. Kwon, E. K., Lee, D. Y., Lee, H., Kim, D. O., Baek, N. I., Kim, Y. E., & Kim, H. Y. (2009). Flavonoids from the buds of *Rosa damascena* inhibit the activity of 3-hydroxy-3-

- methylglutaryl-coenzyme a reductase and angiotensin I-converting enzyme. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(2), 882-886.
106. Lau, Y. S., Kwan, C. Y., Ku, T. C., et.al (2012). Apocynum venetum leaf extract, an antihypertensive herb, inhibits rat aortic contraction induced by angiotensin II: A nitric oxide and superoxide connection. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 565-571.
  107. Lazarov K, Werman MJ. Hypocholesterlaemic effect of potato peels as a dietary fiber source. *Journal of Medical Sciences Research* 1996; 24:581-582.
  108. Lewis, C. E., Walker, J. R., & Lancaster, J. E. (1999). Changes in anthocyanin, flavonoid and phenolic acid concentrations during development and storage of coloured potato (*Solanum tuberosum* L) tubers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(2), 311-316.
  109. Lewis, C. E., Walker, J. R., Lancaster, J. E., & Sutton, K. H. (1998). Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 45-57.
  110. Li, P. G., Xu, J. W., Ikeda, K., Kobayakawa, A., Kayano, Y., Mitani, T., & Yamori, Y. (2005). Caffeic acid inhibits vascular smooth muscle cell proliferation induced by angiotensin II in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension research*, 28(4), 369-377.
  111. Liu JC, Hsu FL, et al: Antihypertensive effects of tannins isolated from traditional Chinese herbs as non-specific inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Life Sci* 2003; 73: 1543-1555.
  112. Longo D. L. et. al., Harrison Principios de Medicina Interna. Mexico. Mcgraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C. V. 18<sup>ava</sup> edición, 2012.
  113. Mäkinen, S., Kelloniemi, J., Pihlanto, A., Mäkinen, K., Korhonen, H., Hopia, A., & Valkonen, J. P. (2008). Inhibition of angiotensin converting enzyme I caused by autolysis of potato proteins by enzymatic activities confined to different parts of the potato tuber. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(21), 9875-9883.
  114. Man in't Veld AJ, Van den Meiracker AH, Schalekamp MA. Do  $\beta$  blockers really increase peripheral vascular resistance? Review of the literature and new observations under basal conditions. *Am J Hypertens*, 1988, 1:91-96.
  115. McGehee, D. S., Krasowski, M. D., Fung, D. L., Wilson, B., Gronert, G. A., & Moss, J. (2000). Cholinesterase inhibition by potato glycoalkaloids slows mivacurium metabolism. *Anesthesiology*, 93(2), 510-519.
  116. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: Physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292:C82-C97.

117. Mensinga, T. T., Sips, A. J., Rompelberg, C. J., et al. (2005). Potato glycoalkaloids and adverse effects in humans: an ascending dose study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41(1), 66-72.
118. Messerli, F. H. (1999). Combinations in the treatment of hypertension: ACE inhibitors and calcium antagonists. *American journal of hypertension*, 12(8), 86S-90S.
119. Meszaros JG, Gonzalez AM, Endo-Mochizuki Y, et al. Identification of G protein-coupled signaling pathways in cardiac fibroblasts: Cross-talk between G<sub>q</sub> and G<sub>s</sub>. *Am J Physiol*, 2000, 278:154-162.
120. Miyazawa T, Nakagawa K, Kudo M, Muraishi K, Someya K. Direct Intestinal Absorption of Red Fruit Anthocyanins, Cyanidin-3-Glucoside and Cyanidin- 3,5-Diglucoside, Into Rats and Humans. *J Agric Food Chem*. 1999; 47:1083-1091.
121. Moser M. Are lifestyle interventions in the management of hypertension effective? How long should you wait before starting specific medical therapy? An ongoing debate. *J Clin Hypertens*. 2005; 7 (6): 324-326
122. Motoi, H., Kodama, T. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from wheat gliadin hydrolysate. *Food/Nahrung*, 2003, 47(5), 354-358.
123. Mujica, E. (1997, May). Los andenes de Puno en el contexto del proceso histórico de la cuenca norte del Titicaca. In *Llerena et al.[2004], Symposium Conservación y Abandono de Andenes, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima* (Vol. 8).
124. Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J Nat Prod*. 2003; 66 (7): 1022-1037.
125. Nguyen G, Danser AH. Prorenin and (pro) renin receptor: A review of available data from in vitro studies and experimental models in rodents. *Exp Physiol*, 2008, 93:557-563.
126. Nishie, K., Norred, W. P., & Swain, A. P. (1975). Pharmacology and toxicology of chaconine and tomatine. *Research communications in chemical pathology and pharmacology*, 12(4), 657.
127. Ochoa, C.M. 1990. The potatoes of South America: Bolivia. Cambridge University Press, Cambridge.
128. Ochoa, C.M. 1999. Las papas de Sudamérica. Centro Internacional de la Papa, Lima.
129. Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of ethnopharmacology*, 127(1), 7-10.

130. Ojewole, J. A. (2006). Vasorelaxant and hypotensive effects of *Sclerocarya birrea* (A Rich) Hochst (Anacardiaceae) stem bark aqueous extract in rats: cardiovascular topics. *Cardiovascular Journal of South Africa* Vol 17 (3): 117-123.
131. Onsa-ard, A., Shimbhu, D., Tocharus, J., Sutheerawattananonda, M., Pantan, R., & Tocharus, C. (2013). Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Sericin-Derived Oligopeptides in Rats. *International Scholarly Research Notices*, 2013.
132. Onyeneho, S.N.; Hettiarachchy, N.S. 1993: Antioxidant activity, fatty acids and phenolic acids compositions of potato peels. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62: 345-350.
133. Osborn JL. Relations between sodium take renal function and the regulation of arterial pressure. *Hypertension* 1991; 17 (Suppl I):91-6.
134. Ottaviani, J. I., Actis-Goretta, L., Villordo, J. J., & Fraga, C. G. (2006). Procyanidin structure defines the extent and specificity of angiotensin I converting enzyme inhibition. *Biochimie*, 88(3), 359-365.
135. Parasuraman, S., & Raveendran, R. (2012). Measurement of invasive blood pressure in rats. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, 3(2), 172-177.
136. Paseshnichenko U. A., Guseva A.P. (1956) – „The quantitative determination of the glycoalkaloids of the potato and methods for their separation” *Biokhimiya*, 21, x, p. 585- 590.
137. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local reninangiotensin systems. *Physiol Rev*, 2006, 86:747–803.
138. Persson, I. A. L., Dong, L., & Persson, K. (2006). Effect of *Panax ginseng* extract (G115) on angiotensin-converting enzyme (ACE) activity and nitric oxide (NO) production. *Journal of ethnopharmacology*, 105(3), 321-325.
139. Persson, I. A. L., Josefsson, M., Persson, K., & Andersson, R. G. (2006). Tea flavanols inhibit angiotensin-converting enzyme activity and increase nitric oxide production in human endothelial cells. *Journal of pharmacy and Pharmacology*, 58(8), 1139-1144.
140. Pihlanto, A., Akkanen, S., & Korhonen, H. J. (2008). ACE-inhibitory and antioxidant properties of potato (*Solanum tuberosum*). *Food Chemistry*, 109(1), 104-112.
141. Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepiniec, L., & Debeaujon, I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in plant science*, 12(1), 29-36.
142. Povrovskii A. The effects of the alkaloids of the sprouting potato on cholinesterase [Russian]. *Biokhimiia* 1956;21:705–10

143. Prasad AGD, Pushpa HN. Antimicrobial activity of potato peels waste. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences* 2007; 9(3):559-561.
144. Qaiser J. y Aslam N. "Hypotensive, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory and diuretic activities of the aqueous-methanol extract of *Ipomoea reniformis*." *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 12.4 (2013): 769-776.
145. Rees, D. D., Palmer, R. M., Hodson, H. F., & Moncada, S. (1989). A specific inhibitor of nitric oxide formation from l-arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *British journal of pharmacology*, 96(2), 418-424.
146. Rhaleb N-E, Peng H, Yang X-P, et al. Long-term effect of *N*-acetylseryl- aspartyl-lysly-proline on left ventricular collagen deposition in rats with two-kidney, one-clip hypertension. *Circulation*, 2001, 103:3136–3141.
147. Rodríguez, A., Frühbeck, G., Gomez-Ambrosi, J., et. al (2006). The inhibitory effect of leptin on angiotensin II-induced vasoconstriction is blunted in spontaneously hypertensive rats. *Journal of hypertension*, 24(8), 1589-1597.
148. Rodriguez-Saona, L. E., Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (1998). Anthocyanin Pigment Composition of Red-fleshed Potatoes. *Journal of Food Science*, 63(3), 458-465.
149. Rompelberg, C. J. M., Sips, A. J. A. M., van Twillert, K., Tj, M., Meulenbelt, J., & van Egmont, H. P. (2001). A pilot study on the pharmacokinetics of potato glycoalkaloids in healthy volunteers.
150. Ruiz-Gimenez, P., Burguete, M. C., Castelló-Ruiz, et. al, (2007). Bovine lactoferrin pepsin hydrolysate exerts inhibitory effect on angiotensin I-converting enzyme-dependent vasoconstriction. *International dairy journal*, 17(10), 1212-1215.
151. Ruseler-Van Emden, J. G.; van Lieshout, L. M.; Smits, S. A.; van Kessel, I.; Laman, J. G. Potato tuber proteins efficiently inhibit faecal proteolytic activity: implication for treatment of peri-anal dermatitis. *Eur. J. Clin. Invest.* 2004, 34, 303-311.
152. Sallem F. Anti-diabetic potentials of phenolic enriched Chilean potato and select herbs of Apiaceae and Lamiaceae Families, A Thesis Presented by Submitted to the Graduate School of the University of Massachusetts Amherst in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, 2010:110
153. Samarin, A. M., Poorazarang, H., Hematyar, N., & Elhamirad, A. (2012). Phenolics in Potato Peels: Extraction and Utilization as Natural Antioxidants. *World Applied Sciences Journal*, 18(2), 191-195.
154. Sancho, R. A. S. & Pastore, G. M., 2012. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. Review. *Food Research International*, 46, 378-386.

155. Sandoval-Vegas, Miguel, et al. "Efecto antioxidante y citoprotector del *Solanum tuberosum* (papa) en la mucosa gástrica de animales de experimentación." *Anales de la Facultad de Medicina*. Vol. 71. No. 3. UNMSM. Facultad de Medicina, 2010.
156. Santos RA, Ferreira AJ, Simões ESAC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7)-Mas axis. *Exp Physiol*, 2008, 93:519–527.
157. Schieber, A., & Saldaña, M. D. A. (2009). Potato peels: A source of nutritionally and pharmacologically interesting compounds—A review. *Food*, 3(2), 23-29.
158. Schnapp, L. M., Goswami, S., Rienzi, N., Koteliansky, V. E., Gotwals, P., & Schachter, E. N. (1998). Integrins inhibit angiotensin II-induced contraction in rat aortic rings. *Regulatory peptides*, 77(1), 177-183.
159. Sevilla R. y Holle M. 2004. Recursos Genéticos Vegetales. Luis León Asociados S.R.L. (Eds.) Lima, Perú. 445 p.
160. SHEP Cooperative Research Group. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension: final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). *JAMA*. 1991; 265(24):3255- 3264.
161. Shindo, M., Kasai, T., Abe, A., & Kondo, Y. (2007). Effects of dietary administration of plant-derived anthocyanin-rich colors to spontaneously hypertensive rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 53(1), 90-93.
162. Sim, M. K., & Kuttan, S. C. (1992). Effects of Noradrenaline and Prostaglandin F2 $\alpha$  on Angiotensin-Induced Contraction and Tachyphylaxis in Rat Aortic Rings. *Pharmacology & toxicology*, 70(1), 60-64.
163. Singer, H. A., & Peach, M. J. (1982). Calcium-and endothelial-mediated vascular smooth muscle relaxation in rabbit aorta. *Hypertension*, 4(3 Pt 2), 19-25.
164. Singh N, Kamath V, Narasimhamurthy K, Rajini PS. Protective effect of potato peels extract against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2008; 26(2):241-246.
165. Singh N, Kamath V, Rajini PS. Attenuation of hyperglycemia and associated biochemical parameters in STZ-induced diabetic rats by dietary supplementation of potato peel powder. *Clinica Chimica Acta* 2005; 353(1-2):165-175.
166. Singh N, Rajini PS. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry* 2004; 85(4):611-616.
167. Soffer RL: Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Ann Rev Biochem* 1976; 45: 73–94

168. Spooner, D.M. y A. Salas. 2006. Structure, biosystematics, and genetic resources. pp. 1-39. En: Gopal, J. y S.M. Paul Khurana (eds.). Handbook of potato production, improvement, and postharvest management. Haworth's Press, Binghamton, NY
169. Spooner, D.M., J. Núñez, G. Trujillo, M. del R. Herrera, F. Guzmán y M. Ghislain. 2007. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *PNAS* 104(49), 19398-19403.
170. Spooner, D.M., K. McLean, G. Ramsay, R. Waugh y G. Bryan. 2005. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *PNAS* 102, 14694-14699.
171. Staessen JA, Fagard R, Thijs L, et al; The Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. Randomised double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension. *Lancet*. 1997;350(9080):757-764.
172. Stein JH, Congbalay RC, et al; The effect of bradykinin on proximal tubular sodium reabsorption in the dogs: evidence for functional nephron heterogeneity. *J Clin Invest* 1972; 51: 1709-1721.
173. Stich, H.F.; Rosin, M.P. 1984: Naturally occurring phenolics as antimutagenic and anticarcinogenic agents. In: Nutritional and Toxicological Aspects of Food Safety, Friedman, M., Ed. Plenum, New York. Pp. 1-29.
174. Suetsuna K., Maekawa, K., et al; Antihypertensive effects of *Undaria pinnatifida* (wakame) peptide on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2004, 15(5), 267-272.
175. Sukhotu, T. y K. Hosaka. 2006. Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome* 49, 636-647.
176. Sukhotu, T., O. Kamijima y K. Hosaka. 2005. Genetic diversity of the Andean tetraploid cultivated potato (*Solanum tuberosum* L. ssp. *andigena* Hawkes) evaluated by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome* 48, 55-66.
177. Teow, C.C., Truong, V.D., McFeeters, R.F., Thompson, R.L., Pecota K.V. & Yencho, G.C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$ -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*, 103, 829-838.
178. Tesfamariam, B., Brown, M. L., Deykin, D., & Cohen, R. A. (1990). Elevated glucose promotes generation of endothelium-derived vasoconstrictor prostanoids in rabbit aorta. *Journal of Clinical Investigation*, 85(3), 929.
179. Testa MA, Anderson RB, Nackley JF, et al. Quality of life and antihypertensive therapy in men: A comparison of captopril with enalapril. *New Engl J Med*, 1993, 328:907-913.

180. Thompson, L.U.; Yoon, J.H.; Jenkins, D.J.A.; Wolwer, J.; Jenkins, A.L. 1983: Relationship between polyphenol intake and blood glucose response of normal and diabetic individuals. *American Journal of Clinical Nutrition* 39: 745-751.
181. Thompson, M.D., Thompson, H.J., McGinley, J.N., Neil, E.S., Rush, D.K., Holm, D.G. & Stushnoff, C. (2009). Functional food characteristics of potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.). Phytochemical composition and inhibition of 1-methyl-1-nitrosourea induced breast cancer in rats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 571–576.
182. Toyoda, M.; Rausch, W. D.; Inoue, K.; Ohno, Y.; Fujiyama, Y.; Takagi, K.; Saito, Y. Comparison of solanaceous glycoalkaloids- evoked calcium influx in different types of cultured cells. *Toxicol. in Vitro* 1991, 5, 347-351.
183. Trochu, J. N., Leblais, V., Rautureau, Y., Bévérélli, F., Le Marec, H., Berdeaux, A., & Gauthier, C. (1999). Beta 3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *British journal of pharmacology*, 128(1), 69-76.
184. Tudela, J. A., Cantos, E., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2002). Induction of antioxidant flavonol biosynthesis in fresh-cut potatoes. Effect of domestic cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5925-5931.
185. Turova, A. C., Seiful, K. I., and Belvkh, M. S. (1961). Pharmacological studies of solasodine. *Farmakol. Toksikol.* 24, 469-474.
186. Ugent, D. 1970. The potato: what is the origin of this important crop plant, and how did it first become domesticated? *Sci.* 170, 1161-1166.
187. USDA. Base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. 2011. Enlace: <http://ndb.nal.usda.gov/>.
188. Valentine, U.; Fabian, S.; Schumacher, U.; Leathem, A. J. The influence of dietary lectins on the cell proliferation of human breast cancer cell line *in Vitro*. *Anticancer Res.* 2004, 23 (2B), 1197-2006.
189. Vane JR. The history of inhibitors of angiotensin converting enzyme. *J Physiol Pharmacol*, 1999, 50:489–498.
190. Varagic J, Trask AJ, Jessup JA, et al. New angiotensins. *J Mol Med*, 2008, 86:663–671.
191. Vicaut, E., Montalescot, G., Hou, X., Stucker, O., & Teisseire, B. (1989). Arteriolar vasoconstriction and tachyphylaxis with intraarterial angiotensin II. *Microvascular research*, 37(1), 28-41.
192. Vinson, J. A., Demkosky, C. A., Navarre, D. A., & Smyda, M. A. (2012). High-antioxidant potatoes: acute *in vivo* antioxidant source and hypotensive agent in humans after

- supplementation to hypertensive subjects. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(27), 6749-6754.
193. Vinson, J.A.; Jan, J.; Dabbagh, Y.A.; Serry, M.M.; Cai, S. 1995: Plant polyphenols exhibit lipoprotein-bound antioxidant activity using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2687-2689.
  194. Walle T, Webb JG, Bagwell EE, et al. Stereoselective delivery and actions of  $\beta$  receptor antagonists. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37:115–124.
  195. Wang J-L, Cheng H-F, Harris RC. Cyclooxygenase-2 inhibition decreases renin content and lowers blood pressure in a model of renovascular hypertension. *Hypertension*, 1999, 34:96–101.
  196. Wardener HE de, McGregor GA. Hormona natriurética e hipertensión esencial. *Sedyt* 1982;4(1):1.
  197. Wong J, Patel R A, Kowey PR: The clinical use of angiotensin –converting enzyme inhibitors. *Prog Cardiovasc Dis* 2004; 47: 116-130.
  198. Xie QH, Li YX, Li Z, Qing C, Wang L, Xie SQ (2004). Anti-tumor activity of specialty potatoes. *Chinese Potato* 18: 213-214. (in Chinese)
  199. Xie QH, Li Z, Li YX (2003). Multiple utilization of specialty potatoes. *Chinese Potato* 17: 362-363. (in Chinese)
  200. Xu, X., Li, W., Lu, Z., Beta, T., &Hydamaka, A. W. (2009). Phenolic content, composition, antioxidant activity, and their changes during domestic cooking of potatoes. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 57(21), 10231-10238.
  201. Yang Y, Marczak ED, Yokoo M, Usui H, Yoshikawa, M: Isolation and antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from spinach Rubisco. *J Agric Food Chem* 2003; 51:4897– 4902.
  202. Yoon, S. S., Rhee, Y. H., Lee, H. J., et. al.,(2008). Uncoupled protein 3 and p38 signal pathways are involved in anti-obesity activity of *Solanumtuberosum* L. cv. Bora Valley. *Journal of ethnopharmacology*, 118(3), 396-404.
  203. YoungEun, P., HuynMook, C., HyeonJin, L., et. al., (2007). Antioxidant and inhibition on angiotensin converting enzyme activity of colored potato extracts. *Korean Journal of Crop Science/Hanguk Jakmul Hakhoe Chi*, 52(4), 447-452.

## ANEXOS

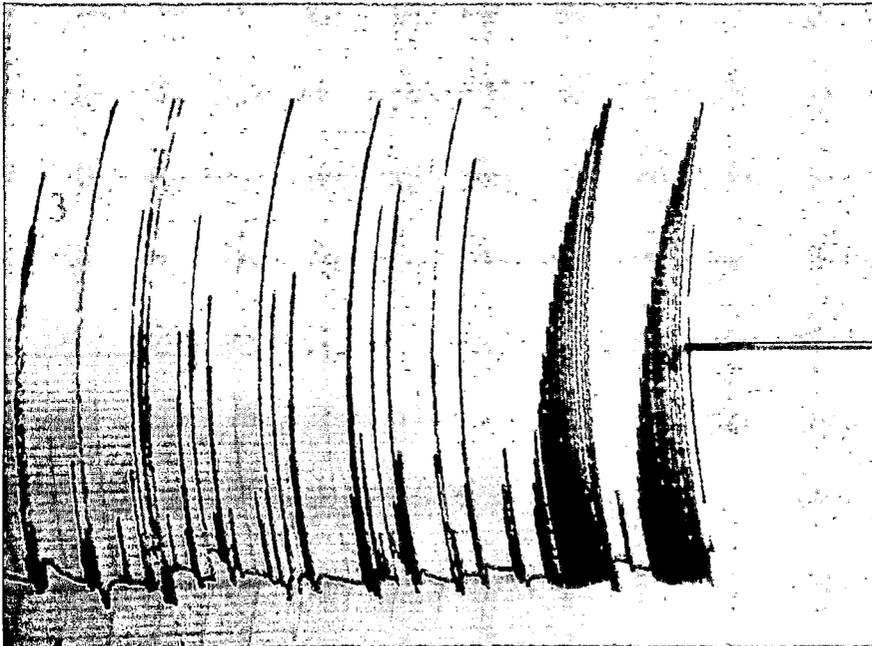
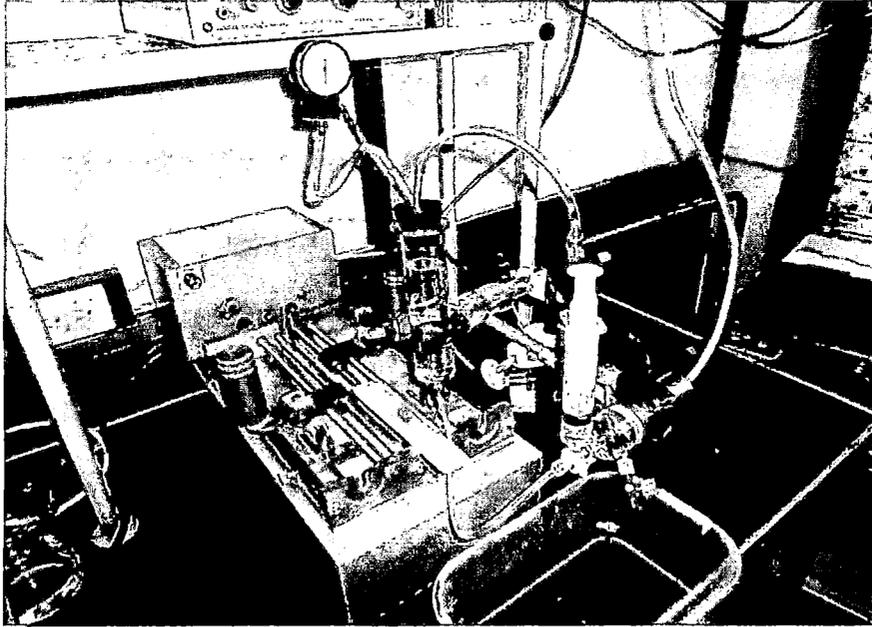
### Obtencion del extracto metanólico



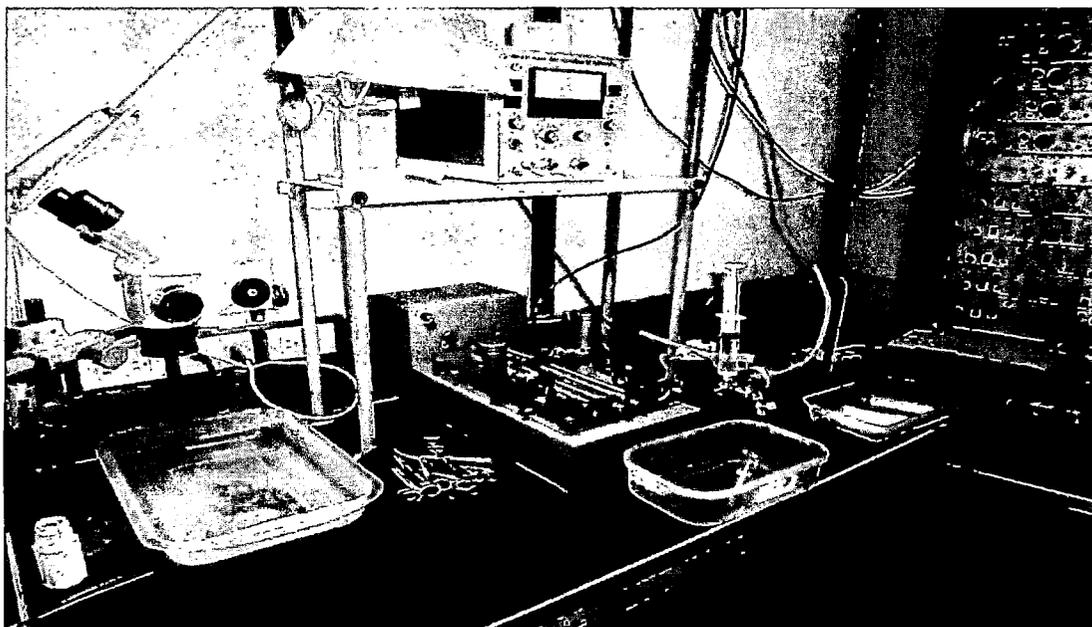
### Administración i.p. de propranolol en ratas normotensas.



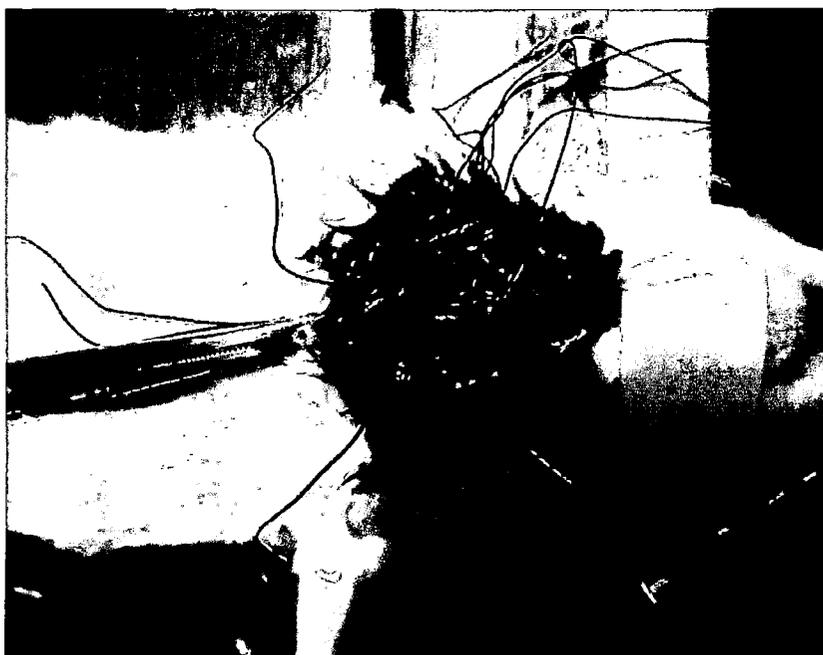
**Calibracion del papel de registro.**



## Laboratorio de Hemodinámica



### Procedimiento quirúrgico: cateterismo arterial y venoso



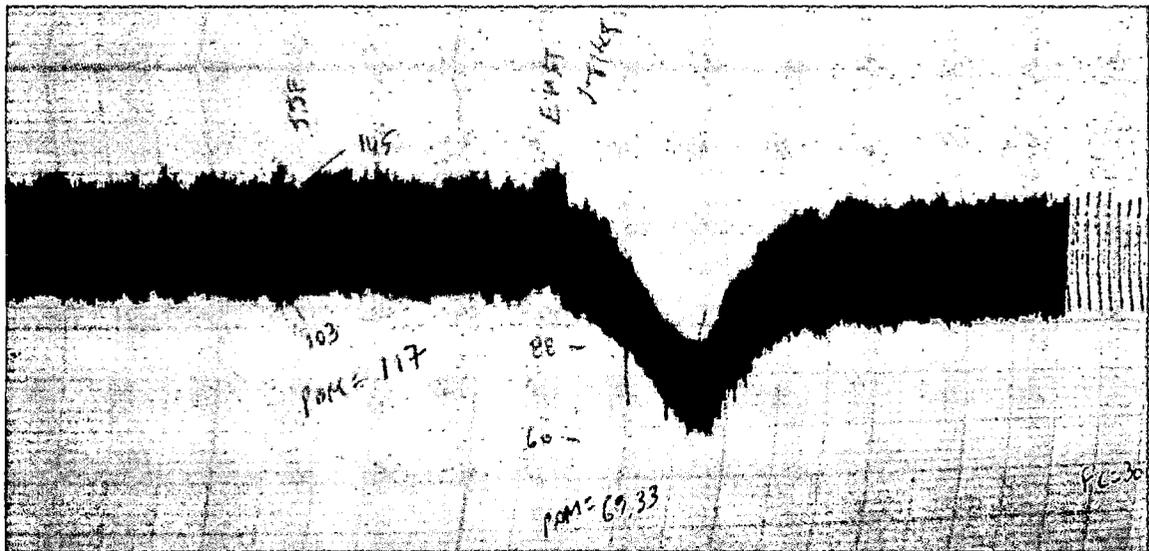
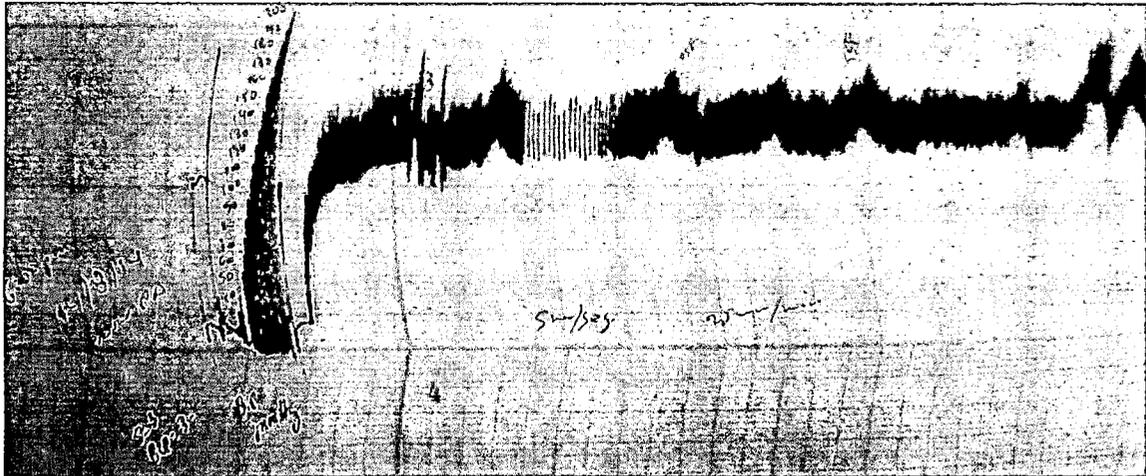
**Registro de la presión arterial y ECG**

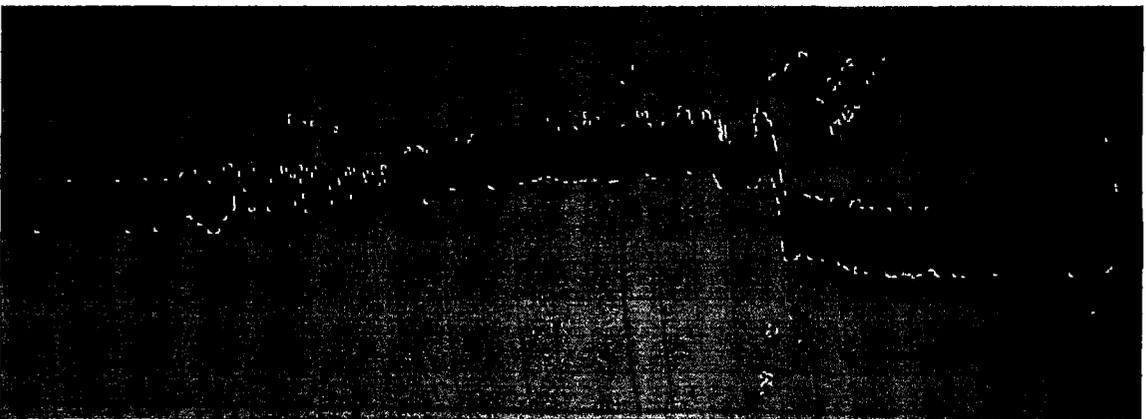
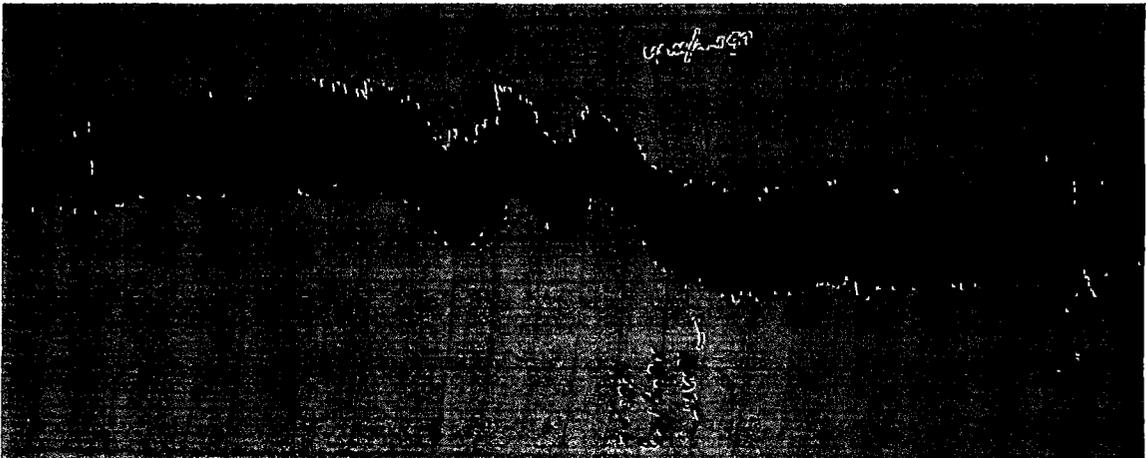
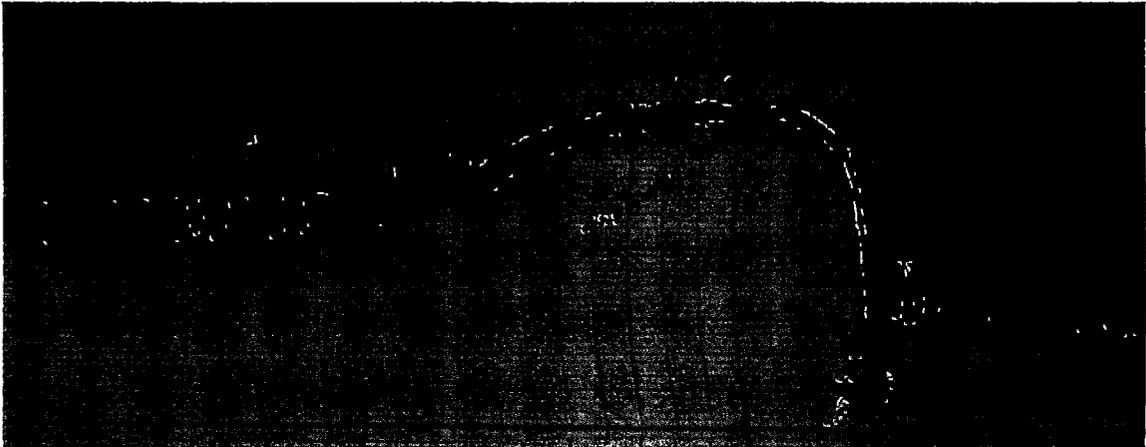


**Laboratorio de biología Vascular**

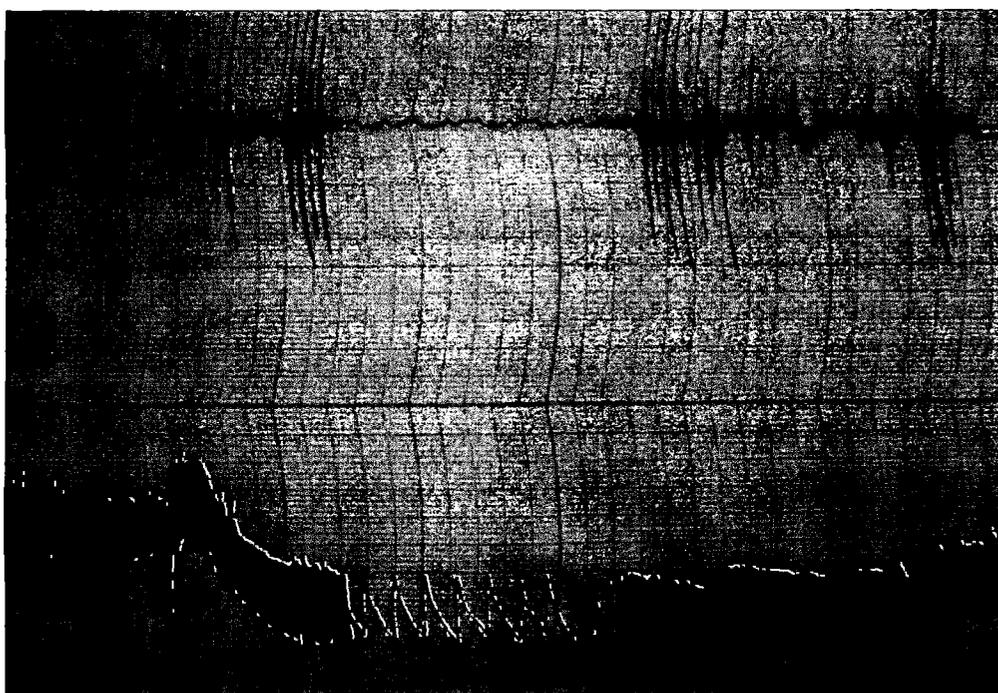
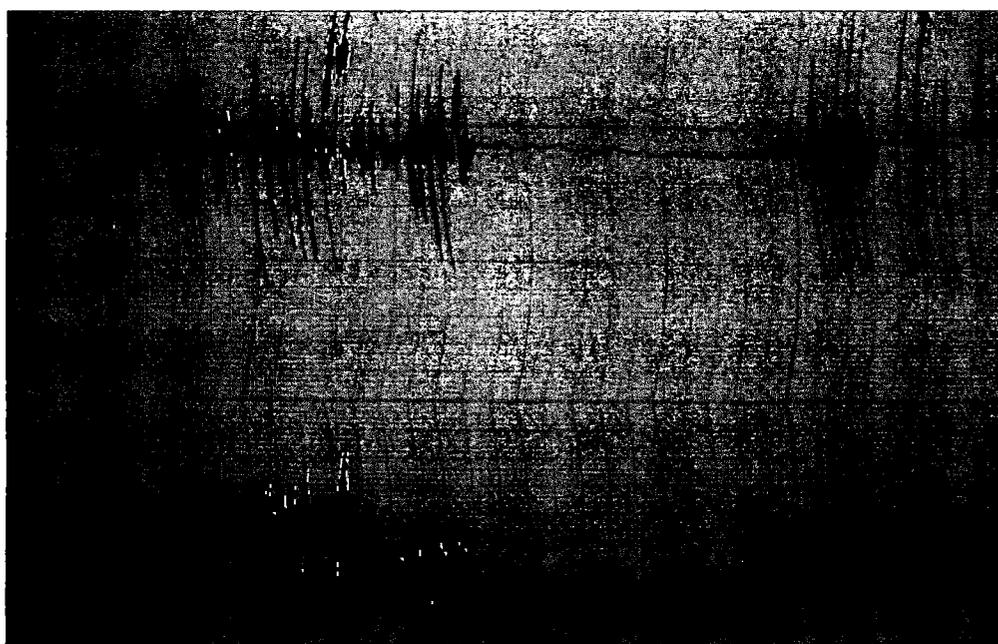


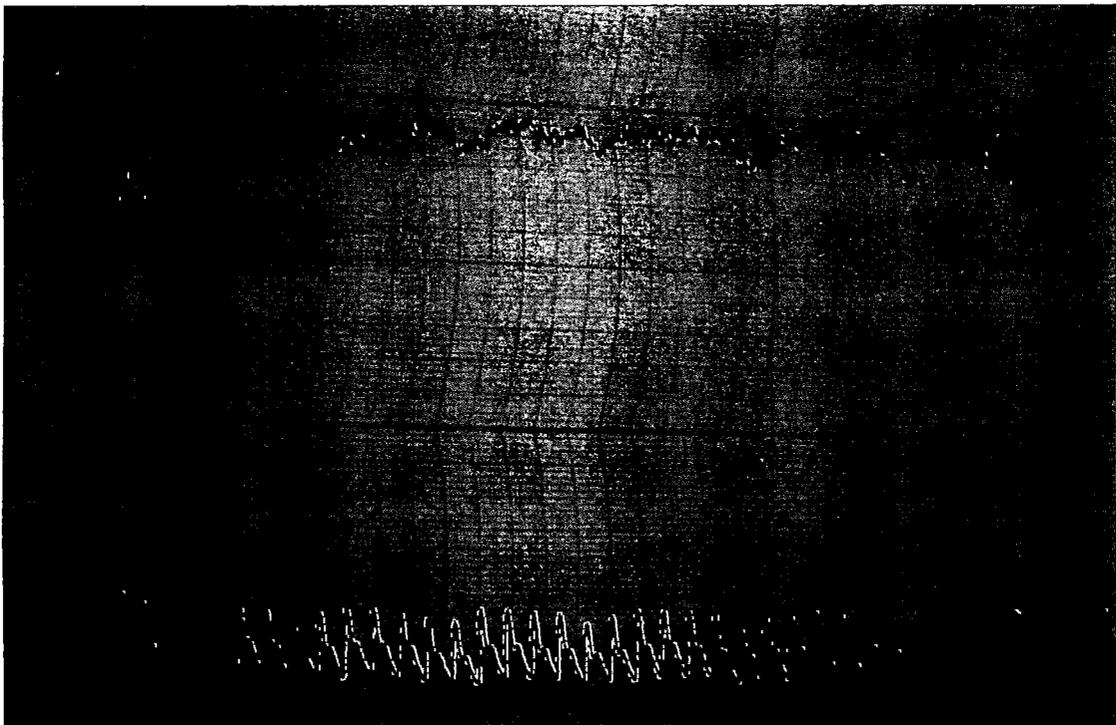
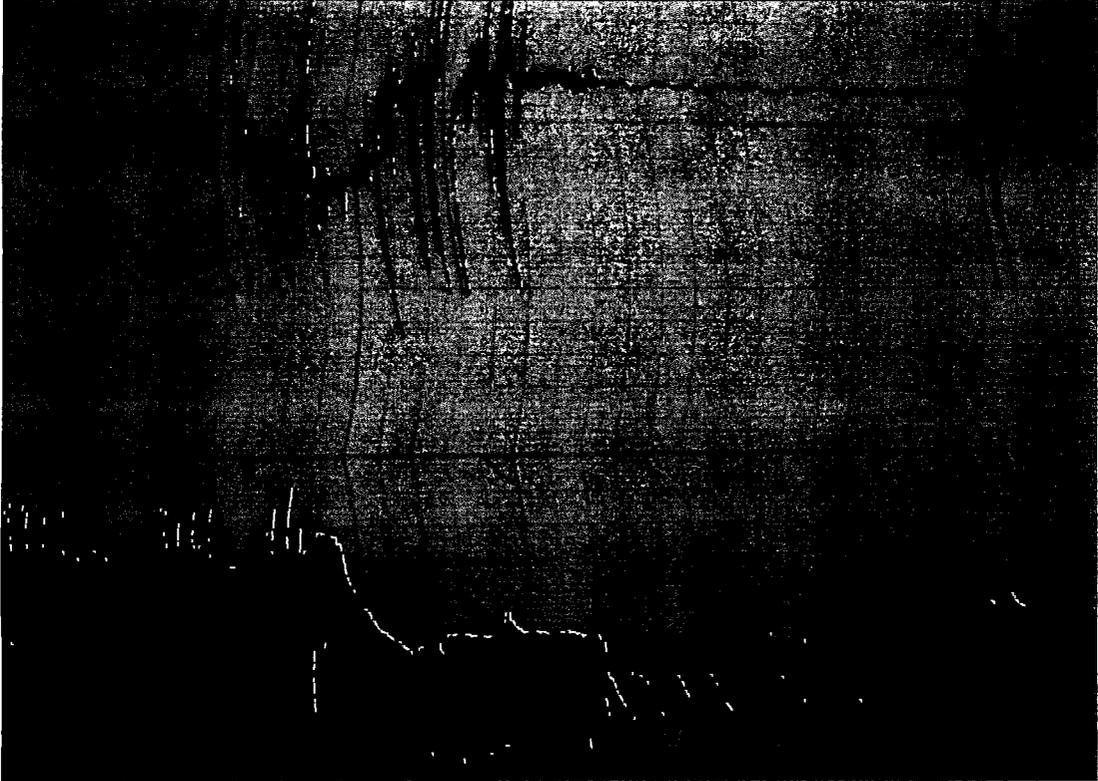
Efecto del EMPST (1,5, 10 y 15 mg/kg, i.v. respectivamente) en la presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) y frecuencia cardiaca (HR) de ratas anestesiadas, con hipertensión inducida tras la suspensión del tratamiento crónico con propranolol.





**Efecto del EMPST (10, 30 y 50mg/kg, i.v. respectivamente) en la presión arterial media (MAP), presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) y frecuencia cardíaca (HR) de ratas normotensas anestesiadas (parte superior de los gráficos ECG)**





Grado de vasoconstricción de anillos aórticos de ratas normotensas, con la segunda dosis de angiotensina I (ANG I)  $10^{-8}$  M, tras la incubación en pozo con diferentes dosis del EMPST (0.1, 1, 10 y 100)  $\mu\text{g/ml}$  de pozo, solución de Krebs (control negativo) y Captopril  $2 \times 10^{-4}$  M en pozo (control positivo) después de la primera vasoconstricción aortica con angiotensina I  $10^{-8}$  M.

