



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

PARTICIPACIÓN DE LA ANGIOTENSINA II EN LA RESPUESTA ADRENÉRGICA EN EL RIÑÓN DURANTE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y LA DIABETES MELLITUS

Para obtener el grado de Maestría en Ciencias en Biología Experimental

Tesis que presenta

IBT. Danny Peniel García Treviño

Directores de Tesis

D.C. Daniel Godínez Hernández

D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez

Morelia, Michoacán, Marzo de 2017

DEDICATORIA

Al pequeño motor de mi vida, Lirán.

AGRADECIMIENTOS

Al Gran Arquitecto del Universo.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	i
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Enfermedades crónico degenerativas: la diabetes mellitus y la hipertensión arterial	1
1.2 La importancia del riñon en el control de la presión arterial	10
1.3. Sistema renina-angiotensina.....	17
1.4 Efectos mediados por los receptores adrenérgicos	24
2. ANTECEDENTES.....	33
3. JUSTIFICACIÓN.....	37
4. HIPÓTESIS.....	37
5. OBJETIVOS.....	37
5.1 Objetivo general	37
5.2 Objetivos específicos	37
6. MATERIALES Y MÉTODOS	38
6.1 Modelo experimental.....	38
6.2 Protocolo experimental	38
6.2.1 Descripción de los fármacos y los tratamientos	39
6.3 Reactividad renal	40
6.4 Reactividad vascular	41
6.5 Determinación de los niveles proteicos de los receptores a angiotensina tipo 1	42
7. RESULTADOS	44
7.1. Registro del peso de las ratas en los diferentes tratamientos.....	44
7.2. Registro del consumo de agua y alimento en los diferentes tratamientos ..	45
7.3. Protocolo de análisis farmacológicos	47
7.4. Respuesta contráctil a fenilefrina en aorta de rata control	48
7.5. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con hipertensión arterial	51
7.6. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con hipertensión arterial después de la inhibición de la ECA.....	53
7.7. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con diabetes mellitus	56
7.8. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con diabetes mellitus después de la inhibición de la ECA.....	58
7.9. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñon aislado	60
7.10. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñon aislado de rata con hipertensión arterial.....	63

7.11. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con hipertensión arterial después de la inhibición de la ECA	65
7.12. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con diabetes mellitus	66
7.13. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con diabetes mellitus después de la inhibición de la ECA	67
7.14. Análisis de Western Blot del receptor a angiotensina II AT ₁ en riñón de rata	69
8. DISCUSIÓN	70
9. CONCLUSIÓN	75
10. PERSPECTIVAS	75
11. REFERENCIAS	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Señalización de la acción de la insulina	4
Figura 2. Ruta de la aldosa reductasa y los polioles.	6
Figura 3. Señalización de la acción de la angiotensina II	9
Figura 4. Circulación renal.....	12
Figura 5. Secuencia gráfica del control de la presión arterial a nivel renal.....	16
Figura 6. Sistema renina angiotensina aldosterona en la regulación de la presión arterial.....	20
Figura 7. Participación de la angiotensina II en la patología vascular.....	24
Figura 8. Corte de la glándula suprarrenal.....	25
Figura 9. Receptores adrenérgicos.	27
Figura 10. Síntesis de DAG e IP ₃ del fosfatidilinositol (IP) de la membrana.....	29
Figura 11. Estimulación de vías de transducción de señal acopladas a proteínas G por los receptores adrenérgicos α y β	32
Figura 12. Peso de las ratas en los diferentes tratamientos.....	45
Figura 13. Consumo de agua.....	46
Figura 14. Consumo de alimento.....	47
Figura 15. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata.....	49

Figura 16. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada contra grupo control más captopril.	50
Figura 17. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control con administración de captopril.....	51
Figura 18. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada contra grupo L-NAME.....	52
Figura 19. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo L-NAME.	53
Figura 20. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada contra grupo L-NAME + C.....	54
Figura 21. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo L-NAME + C.....	55
Figura 22. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de ratas grupo control comparada con grupo STZ.	56
Figura 23. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo STZ	57
Figura 24. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada con grupo STZ + C.....	58
Figura 25. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo STZ +C.....	60
Figura 26. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control.....	61
Figura 27. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo control más captopril.	63
Figura 28. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo L-NAME.....	64
Figura 29. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo L-NAME + C.	66
Figura 30. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo STZ.	67
Figura 31. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo STZ + C.....	68
Figura 32. Análisis de la inhibición de la angiotensina II en los niveles de proteína del receptor AT ₁ de riñón en ratas con diabetes mellitus.....	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la presión arterial.....	7
Tabla 2. Grupos experimentales.	39
Tabla 3. Relación farmacológica grupo control.	48
Tabla 4. Relación farmacológica grupo control con captopril.	50
Tabla 5. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo L-NAME.. .	53
Tabla 6. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo L-NAME más captopril.	55
Tabla 7. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo STZ.....	57
Tabla 8. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo STZ más captopril.	59
Tabla 9. Relación farmacológica en riñón de grupo control.	61
Tabla 10. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo control más captopril.....	62
Tabla 11. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo L-NAME.	64
Tabla 12. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo L-NAME más captopril.....	65
Tabla 13. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo STZ.....	66
Tabla 14. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo STZ más captopril.....	68

ABREVIATURAS

- [A]: Concentración del agonista farmacológico
- AC: Adenilato ciclasa
- Akt: Proteína cinasa b
- Ang II: Angiotensina II
- AT1R: Receptor a angiotensina
- cAMP: Adenosín monofosfato cíclico
- Capto: Captopril
- CE₅₀: Concentración efectiva 50
- DAG: Diacilglicerol
- E: Efecto farmacológico
- ECA: Enzima convertidora de angiotensina
- ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
- ET-1: Endotelina
- GLUT: Transportador de glucosa
- GPCR: Receptores acoplados a proteínas G
- GSH: Glutati3n reducido
- GTP: Guanosín trifosfato
- IP: Fosfatidilinositol
- IP3: Inositol-1,4,5-trifosfato
- IUPHAR: International Union of Basic and Clinical Pharmacology
- L-NAME: L-NG-Nitroarginina metil ester
- MAPK: Proteína quinasas activadas por mit3genos
- MLCK: Cinasa de cadena ligera de la miosina
- NADP: Nicotinamida adenina dinucle3tido fosfato
- OMS: Organizaci3n Mundial de la Salud
- PA: 1cido fosfat3dico
- pA₂: Afinidad
- PAI-1: Inhibidor del activador del plasmin3geno-1
- PC: Fosfatidilcolina

- PD₂: Sensibilidad
- PDEs: Fosfodiesterasas
- PI3K: Fosfoinositol 3 cinasa
- PKA: Proteína kinasa dependiente de cAMP
- PLA₂: Fosfolipasa A₂
- PLC: Fosfolipasa C
- PLD: Fosfolipasa D
- PPB: Presión de perfusión basal
- ROS: Especies reactivas de oxígeno
- SDH: Enzima sorbitol deshidrogenasa
- SRA: Sistema renina angiotensina
- SSA: Secretaría de Salud
- STZ: Streptozotocina o streptozocina
- VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular
- WKY: Wistar Kyoto-Yokamoto

RESUMEN

La hipertensión arterial y la diabetes mellitus son padecimientos de lenta evolución y duración prolongada que llevan a un deterioro integral del cuerpo. La diabetes mellitus promueve la aparición y la progresión de las complicaciones vasculares como la hipertensión arterial. En los sistemas reguladores como el sistema renina-angiotensina y el sistema adrenérgico se presentan alteraciones cuando se manifiestan estas enfermedades. La sobre estimulación con angiotensina II está implicada en la inflamación, disfunción endotelial, así como cambios estructurales y mecánicos en las paredes de los vasos sanguíneos e hipersensibilidad del sistema nervioso simpático. El cual juega un papel importante en la regulación de las respuestas fisiológicas y patológicas mediadas por catecolaminas, en particular en el sistema cardiovascular y urinario. El desarrollo de la hipertensión arterial y la diabetes mellitus es multifactorial así que se han propuesto diversos mecanismos para explicar su génesis y progresión. Por lo cual es trascendental abundar en la interacción entre el sistema renina angiotensina y la respuesta adrenérgica en la vasculatura y en el riñón durante estas patologías. Para la presente investigación se utilizaron ratas Wistar machos; con hipertensión arterial, diabetes mellitus y grupos tratados con captopril; inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina. De cada grupo se evaluó la reactividad vascular, la reactividad renal y los niveles de proteína del receptor a angiotensina II AT₁. La inhibición de la angiotensina II durante la hipertensión arterial previene el daño vascular y renal. Mientras que en el desarrollo de la diabetes mellitus el daño vascular no se ve retrasado, ya que en un estado hiperglucémico el deterioro no depende solamente de la sobre estimulación con angiotensina II. En el riñón se muestra alterada la resistencia glomerular, aumentando el flujo efectivo. Por lo que podemos mencionar que la intervención del sistema renina-angiotensina con captopril retrasa los trastornos de estas enfermedades.

Palabras clave: Hipertensión arterial, diabetes mellitus, angiotensina, captopril, riñón.

ABSTRACT

Hypertension and diabetes mellitus are conditions of slow evolution and prolonged duration that lead to an integral body deterioration. Diabetes mellitus promotes the onset and progression of vascular complications such as hypertension. In regulatory systems such as the renin-angiotensin system and the adrenergic system, alterations occur when these diseases are manifest. Overstimulation with angiotensin II is implicated in inflammation, endothelial dysfunction, as well as structural and mechanical changes in the walls of blood vessels and hypersensitivity of the sympathetic nervous system. It plays an important role in the regulation of physiological and pathological responses mediated by catecholamines, particularly in the cardiovascular and urinary systems. The development of hypertension and diabetes mellitus is multifactorial so several mechanisms have been proposed to explain its genesis and progression. Therefore it is transcendental to abound in the interaction between the renin angiotensin system and the adrenergic response in the vasculature and in the kidney during these pathologies. For the present investigation, male Wistar rats were used; with hypertension, diabetes mellitus and groups treated with captopril; inhibitor of the angiotensin-converting enzyme. Vascular reactivity, renal reactivity, and protein levels of the angiotensin II receptor AT₁ were evaluated from each group. Inhibition of angiotensin II during hypertension prevents vascular and renal damage. While in the development of diabetes mellitus the vascular damage is not delayed, in a hyperglycemic condition the deterioration does not depend only on the overstimulation with angiotensin II. In the kidney, the glomerular resistance is altered, increasing the effective flow. Therefore, it can be mentioned that the intervention of the renin-angiotensin system with captopril delays the disorders of these diseases.

Keywords: Hypertension, diabetes mellitus, angiotensin, captopril, kidney.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedades crónico degenerativas: la diabetes mellitus y la hipertensión arterial

Las enfermedades crónico-degenerativas son padecimientos de lenta evolución y duración prolongada que llevan a un deterioro integral del cuerpo. Son responsables de 38 millones de muertes al año a nivel mundial. Entre las patologías causantes se encuentran las enfermedades cardiovasculares, en las que están incluidos trastornos del corazón, vasculares del cerebro y de los vasos sanguíneos. Otras patologías son el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes mellitus, las cuales 16 millones sucedieron en personas menores de 70 años de edad. Las enfermedades cardiovasculares implicadas son las arritmias cardíacas, enfermedad cardíaca congénita, enfermedad cardíaca reumática, miocardiopatías y la aterosclerosis que puede llevar a complicaciones como la cardiopatía isquémica, enfermedad de las arterias coronarias como el ataque cardíaco; la enfermedad cerebrovascular como el derrame cerebral y las enfermedades de la aorta y las arterias, incluyendo la enfermedad vascular periférica y la hipertensión arterial (OMS, 2009).

Entre los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares, cerebrales y renales, la hipertensión arterial es el más importante y frecuentemente encontrado. Estas son la causa de la mayoría de las muertes por enfermedades crónico degenerativas con cifras de 17.5 millones de defunciones al año, seguidas del cáncer con 8.2 millones, las enfermedades respiratorias con 4 millones y la diabetes mellitus con 1.5 millones de muertes anuales. También se consideran infecciones digestivas y otras (OMS, 2015). La asociación entre patologías como la diabetes mellitus y la hipertensión arterial aumenta las complicaciones cardiovasculares; como el infarto al miocardio y la apoplejía. La diabetes mellitus y la hipertensión arterial coexisten comúnmente ya que hay factores involucrados en esta asociación los cuales incluyen: 1) Las dos entidades

aumentan su frecuencia con la edad; 2) tienen factores predisponentes comunes; 3) frecuentemente la hipertensión es secundaria a las complicaciones de la diabetes; 4) La hipertensión en los diabéticos tipo 2 puede aparecer antes o estar relacionada con la nefropatía diabética (Velasco *et al.*, 2001). La hipertensión arterial también aumenta la manifestación de complicaciones metabólicas como el síndrome metabólico, el exceso de grasa abdominal lleva a un exceso de ácidos grasos libres en la vena porta, aumentando la acumulación de grasa en el hígado y las células musculares. Lo cual se asocia con la resistencia hepática y muscular a la insulina, trastornos del metabolismo de los carbohidratos, dislipidemia, obesidad y mayor riesgo de enfermedad coronaria, la combinación de los diferentes componentes se considera peligrosa (Arango *et al.*, 2007; Huang, 2009).

Entre los pacientes que padecen diabetes mellitus el 47.8% desarrollan hipertensión arterial. La prevalencia de diabetes mellitus es dos veces superior en la población hipertensa que en la normotensa. La mayoría de los estudios en humanos y en animales han demostrado que en el accidente cerebrovascular agudo, la hiperglucemia en pacientes con o sin diabetes está asociada con un resultado clínico peor que en los pacientes sin hiperglucemia (Esterlin *et al.*, 2015; Wang-Fischer, 2008). La identificación del problema e implementación de programas que se han diseñado para el control epidemiológico de la diabetes, los resultados siguen mostrando el limitado o nulo impacto que tales acciones han tenido hasta la fecha (González *et al.*, 2011).

El origen de estos trastornos metabólicos es variado. Sin embargo, hay factores de riesgo que han provocado el aumento de su incidencia; como la inactividad física, una dieta poco saludable, el uso nocivo de alcohol y el consumo de tabaco. Un gran conflicto que afronta la población es la situación en que el desarrollo de la civilización y el estilo de vida. Este no es equiparable con el desarrollo biológico humano y sus procesos metabólicos. A lo largo del tiempo las actividades extenuantes han disminuido y con ello el gasto energético; tales actividades se han modificado por ocupaciones de mayor trabajo intelectual.

Además de que la disponibilidad de alimentos es más sencilla para gran parte de la población sin que demande mayor actividad física para obtenerlos; y a que estos alimentos rápidos generalmente son de contenido hipercalórico (Vidal *et al.*, 2016; OMS, 2015).

La regulación de la concentración de glucosa en el organismo depende de la apropiada acción entre las hormonas pancreáticas; el glucagón y la insulina secretadas por las células α y β , respectivamente: y éstas son la clave para mantener un equilibrio metabólico. La insulina es una hormona peptídica de 5.8 KDa secretada en los islotes pancreáticos de Langerhans por las células β en respuesta a niveles elevados de glucosa en la sangre. Durante los períodos de alimentación y ayuno, la concentración de glucosa en plasma se mantiene en un intervalo de concentración entre 4 y 7 mM o de 80 a 105 mg/dl. En condiciones normales, la insulina actúa favoreciendo la entrada y almacenamiento de este nutriente en el músculo y en el tejido adiposo, en el hígado favorece su almacenamiento e inhibe su producción. Además de regular el metabolismo de los carbohidratos, la insulina regula también el de los lípidos y proteínas y promueve la división y el crecimiento celular a través de sus efectos mitogénicos (Reyes *et al.*, 2008).

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica frecuentemente determinada por un estado de hiperglicemia crónica resultante de defectos en la secreción de la insulina, en su acción o en ambos. A nivel celular, la exposición prolongada a un exceso de nutrientes, tales como, glucosa y los ácidos grasos libres, puede perjudicar los procesos de señalización que normalmente regulan la captación de glucosa (Coughlan *et al.*, 2016). La diabetes mellitus se caracteriza por resistencia a la insulina, disfunción de las células beta pancreáticas y masa de células beta reducida. Sus síntomas incluyen poliuria, glucosuria, polidipsia, polifagia, algunas veces pérdida de peso y visión borrosa (Diabetes Care, 2012). Esta enfermedad es frecuentemente una consecuencia de la mala nutrición por abuso de ingesta de los alimentos que provoca el sobrepeso. El cual potencia la resistencia a la insulina provocando una disminución o incapacidad de las células

blanco de responder a la influencia de la insulina, debido a defectos en su señalización (Reyes *et al.*, 2008).

La resistencia a la insulina puede ser clasificada en: disminución de la sensibilidad del receptor a la hormona y disminución biológica de la respuesta a la insulina (Velasco *et al.*, 2001). A nivel molecular, los mecanismos por los que se genera la resistencia a la insulina pueden ser múltiples. Es la consecuencia de una deficiente señalización de la insulina causada por mutaciones o modificaciones post- traduccionales del receptor de insulina o de moléculas efectoras río abajo del mismo. Entre las alteraciones comunes se encuentran: el defecto en la unión de la insulina a su receptor, la disminución en el número de receptores de insulina y de su actividad de cinasa, fosforilación inhibitoria en residuos de serina, la disminución de la actividad de las cinasas PI3K y Akt (Figura1), así como defectos en la expresión y función del transportador de glucosa GLUT 4 (Reyes *et al.*, 2008).

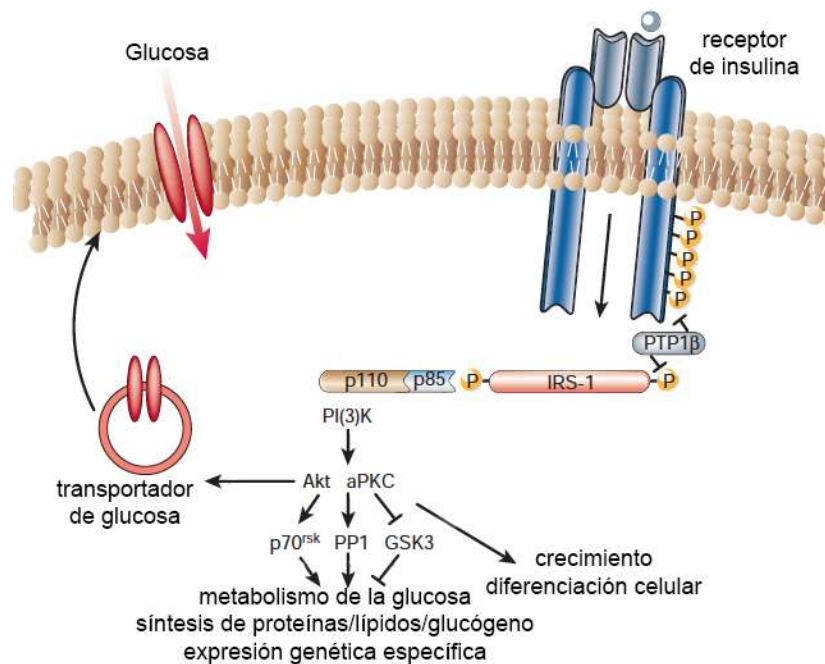


Figura 1. Señalización de la acción de la insulina. El receptor de insulina es una tirosina cinasa que cataliza la fosforilación de miembros de la familia IRS. Resultando en una serie de diversas vías de señalización, incluyendo la activación de PI3K y Akt. Estas vías actúan de manera concertada para coordinar la regulación del transporte de vesículas, la síntesis de proteínas, la

activación e inactivación de enzimas y la expresión génica, lo que da lugar a la regulación del metabolismo de glucosa, lípidos y proteínas (Modificado de Brownlee *et al.*, 2001).

La consecuencia de la insulino-resistencia en la hiperglicemia, induce una permanente estimulación exacerbada de la maquinaria secretora de las células β pancreáticas, la cual desarrolla hiperinsulinemia y/o hipoinsulinemia por agotamiento de las células. La hiperglucemia y la resistencia a la insulina parecen tener un papel importante en la patogénesis de las complicaciones vasculares. En el desarrollo temprano de la diabetes, la hiperglucemia provoca anomalías en el flujo sanguíneo, esto manifiesta disminución de la actividad de vasodilatadores como el óxido nítrico, aumento de la actividad de los vasoconstrictores, tales como la angiotensina II y la endotelina-1 y la síntesis de factores que incrementan la permeabilidad vascular tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), no obstante la deficiencia de vasodilatadores más que el exceso de un vasoconstrictor puede causar hipertensión arterial (Enríquez, 2002; Friberg *et al.*, 2010; Brownlee, 2001).

Altas concentraciones de glucosa en sangre provocan en las arterias disfunción endotelial, lo que inhibe la producción de óxido nítrico mediante un enlace O-glucosídico en la proteína óxido nítrico sintasa en su sitio de unión con Akt. Estimula la transactivación del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) con la consiguiente inhibición de la fibrinólisis en las células del músculo liso vascular provocando oclusión (Du *et al.*, 2000; Mark, 2007). La activación de PKC debido a la hiperglucemia también se ha implicado en la sobreexpresión de PAI-1. Así como el incremento de la actividad de la vía de la glucosamina, ya que ésta puede derivar varios cambios en la expresión génica al activar el factor de transcripción Sp1, promotor de PAI-1 (Brownlee, 2001).

El incremento intracelular de glucosa aumenta su conversión enzimática a sorbitol con la consecuente disminución de NADPH. En la vía de los polioles, la enzima aldosa reductasa reduce aldehídos generados por especies reactivas de oxígeno (ROS) para inactivar alcoholes usando NADPH como cofactor. El

polialcohol sorbitol se oxida a fructosa por la enzima sorbitol deshidrogenasa (SDH), usando como cofactor NAD^+ reduciéndolo a NADH . Como se requiere NADPH ahora restringido, para la regeneración de glutatión reducido (GSH), esto podría inducir o exacerbar el estrés oxidativo intracelular (Figura 2). Altas concentraciones de glucosa en la sangre provocan un aumento del flujo a través de la vía de los polioles que puede traer como consecuencia daño microvascular como la neuropatía diabética y retinopatía o engrosamiento de la membrana basal de los capilares de la retina, riñón y músculo, por ello la diabetes es la causa principal de ceguera y enfermedad renal terminal (Brownlee, 2001).

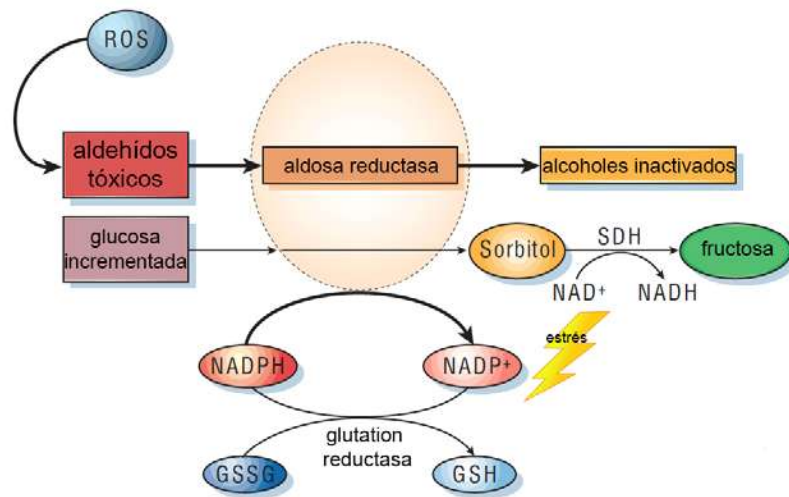


Figura 2. Ruta de la aldosa reductasa y los polioles. La enzima aldosa reductasa reduce los aldehídos generados por especies reactivas de oxígeno (ROS) a alcoholes inactivos, y la glucosa a sorbitol, utilizando NADPH como cofactor. En las células donde la actividad aldosa reductasa es suficiente para agotar el glutatión reducido (GSH) y el estrés oxidativo se incrementa. La enzima sorbitol deshidrogenasa (SDH) oxida sorbitol a fructosa utilizando NAD^+ como un cofactor (Modificado de Brownlee, 2001).

La diabetes mellitus ejerce un efecto nocivo sobre la velocidad de aparición y la progresión de las complicaciones vasculares; como la hipertensión arterial. La hipertensión arterial es un estado patológico de desequilibrio hemodinámico que origina el aumento sostenido en la resistencia vascular periférica total, determinada por el calibre de los vasos resistivos, el componente viscoso de la sangre e hipersensibilidad a estímulos vasoconstrictores. Se encuentra una amplia

gama de mecanismos fisiopatológicos de la hipertensión y el daño a los órganos relacionada con ella (Zanchetti, 2016).

La presión arterial se puede clasificar por categorías (Tabla 1). Se estima que la presión arterial diastólica persistentemente elevada en sólo 5 mmHg está asociada a un incremento en 34% del riesgo de padecer accidentes cerebro vasculares y en un 21% de padecer enfermedad de las arterias coronarias (Velasco *et al.*, 2001). La elevación de la presión arterial, aunque sea moderada, acorta la esperanza de vida. Cuando la presión arterial está muy elevada, con una presión arterial media un 50% o más por encima de lo normal, la persona no vivirá más de algunos años, a no ser que se trate correctamente. Alrededor del 13% de la población adulta mundial sufre de hipertensión. La prevalencia de la hipertensión es mayor en hombres que en mujeres pre menopáusicas de la misma edad, pero similar para los hombres de 70 años de edad y mujeres postmenopáusicas. Se ha comenzado a observar en edades más tempranas; de los adolescentes, 1.8% presentó diagnóstico de hipertensión arterial que alcanzó hasta 4% entre las mujeres de 16 a 19 años (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Tabla 1. Clasificación de la presión arterial. (modificado de Velasco *et al.*, 2001).

CATEGORÍA	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Óptima	<120	<80
Normal	<130	<85
Normal alta	130 - 139	85 - 89
Hipertensión estadio uno	140 - 159	90 - 99
Hipertensión estadio dos	160 - 179	100 - 109
Hipertensión estadio tres	>180	>110

Del 90 al 95% de los pacientes diagnosticados con hipertensión arterial son clasificados con hipertensión esencial o primaria, de causas no específicas y del 5 al 10% de los casos se clasifica como hipertensión arterial secundaria, la cual tiene una causa directa con la elevación de la presión; como defectos congénitos cardíacos o anomalías renales (SSA, 2009). La hipertensión arterial esencial o primaria es de etiología variada y se caracteriza por presentar disfunción endotelial; incapacidad de los vasos sanguíneos de alterar su arquitectura en

respuesta a los cambios hemodinámicos, la disminución de los factores relajantes como el óxido nítrico y prostaciclina, el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, el incremento en las concentraciones plasmáticas de endotelina ET-1, la sobre estimulación del sistema renina angiotensina, hipersensibilidad del sistema nervioso simpático, así como cambios estructurales y mecánicos en las paredes de los vasos sanguíneos (Sosa *et al.*, 2005).

La hipertensión arterial esencial con frecuencia presenta un conjunto de factores de riesgo aterogénico adicionales; como se ha descrito, relacionados a la resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y dislipidemia debido a la disminución de la sensibilidad a la acción de la insulina y el aumento del PAI-1 (inhibidor del activador del plasminógeno-1) que se relaciona proporcionalmente con la cifra de triglicéridos, además de encontrarse en altas concentraciones en la placa de ateroma (Henriksen *et al.*, 2001). Al igual que la hiperglucemia, la hipertensión arterial origina estrés oxidativo. El receptor a angiotensina II tipo 1 (AT₁R) aumenta la actividad de NADPH oxidasa lo que conduce a la generación de especies reactivas de oxígeno, ampliamente implicados en la inflamación vascular y fibrosis (Chu, 2006).

La activación del receptor de angiotensina AT₁ también puede inhibir la liberación de insulina de las células β -pancreáticas en respuesta al aumento de glucosa, a través de modificaciones en la síntesis de la proinsulina, situación que sucede cuando los niveles endógenos de angiotensina II son más altos que en condiciones normales. La angiotensina II (Ang II) también promueve la asociación de proteínas de andamiaje, como la paxilina, talina y p130Cas, que conducen a la adhesión concentrada y la formación de la matriz extracelular (Figura 3). Estas cascadas de señalización conducen a la contracción, el crecimiento de células de músculo liso, a la hipertrofia y la migración de células, acontecimientos que contribuyen a la función vascular normal; pero cuando son estimulados de manera aguda participan en la progresión de la enfermedad. Lo cual incrementa el riesgo de daño en lechos vasculares de diversos órganos como la retina, el cerebro, el corazón y los riñones (Leung, 2007; Chu, 2006; Mehta *et al.*, 2007).

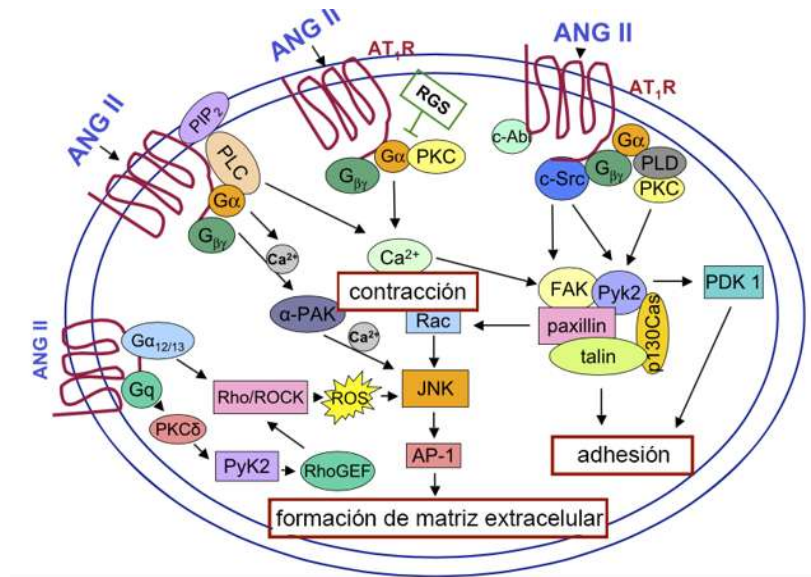


Figura 3. Señalización de la acción de la angiotensina II. La asociación inducida por Ang II de FAK, Pyk2, paxillina, talina y p130Cas forma un complejo que promueve la adhesión celular y la síntesis de matriz extracelular mediante la activación de JNK. La evidencia muestra que el calcio juega un papel vital en la mediación de estos procesos inducidos por Ang II. (Modificado de Mehta *et al.*, 2007).

Los efectos letales de la hipertensión arterial se producen principalmente de tres formas: un exceso de la carga de trabajo sobre el corazón que produce insuficiencia cardíaca precoz y cardiopatía coronaria, provocando la muerte como consecuencia de un ataque cardíaco. Cuando la hipertensión arterial daña algún vaso sanguíneo mayor del cerebro, con lo que mueren porciones importantes de ese órgano; es lo que se denomina infarto cerebral. Dependiendo de la parte del cerebro afectada, el ictus provoca parálisis, demencia, ceguera o muchos otros trastornos cerebrales graves. La hipertensión casi siempre provoca lesiones en los riñones, produciendo muchas zonas de destrucción renal y finalmente, insuficiencia renal, uremia y muerte. Es una enfermedad que puede llegar a ser asintomática hasta que se manifiestan las consecuencias dañinas, por ello es conocida como “el asesino silencioso”. Estudios prospectivos han mostrado que el estrés crónico y la ansiedad, causan un impacto en el desarrollo de la hipertensión (Ettner *et al.*, 2012).

Los cambios vasculares consisten en aumento del grosor de la capa media vascular en todos los vasos sanguíneos, como respuesta adaptativa de la pared arterial para regular el flujo local y se observa dicho fenómeno en la totalidad de las arterias; desde grandes arterias hasta arteriolas de resistencia, condición que amplifica y perpetúa la hipertensión arterial. El tratamiento clínico de este tipo de padecimientos se realiza en base a diversas clases de fármacos como: β -bloqueadores, nitratos orgánicos, diuréticos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de la entrada de calcio como las 1,4-dihidropiridinas, entre otras (Velasco *et al.*, 2001; Hernández-Gallegos *et al.*, 2003).

1.2 La importancia del riñón en el control de la presión arterial

El riñón es importante no sólo como órgano blanco de la hipertensión arterial, sino también como el que pudiera causarla. Los riñones, derecho e izquierdo, están situados a los lados de la columna vertebral, a la altura de las dos últimas vértebras dorsales y de las dos primeras lumbares, aplicados a la pared posterior y alta del abdomen, por detrás del peritoneo (Quiroz, 2010). En la región medial existe una muesca denominada *hilio*, a través de la cual penetra la arteria renal y salen la vena renal y el uréter. Cada riñón está cubierto por una cápsula dura, fibrosa y rígida de tejido conectivo que sirve para limitar los cambios de volumen que pueden producirse en respuesta a cualquier elevación de la presión arterial, se divide en dos regiones; la corteza y una región interna que se divide en la médula y la pelvis renal (Pocock, 2005).

La pelvis renal contiene los vasos sanguíneos principales del riñón y es la región donde se origina el uréter. La médula está dividida en masas cónicas llamadas pirámides renales. El vértice o papila de cada pirámide está situado en el espacio central de la pelvis renal, que recoge la orina antes de su paso hacia la vejiga. El espacio central se divide en cálices que recogen la orina de las papilas renales. Los riñones reciben un importante aporte sanguíneo de la aorta abdominal a través de las arterias renales. Su drenaje venoso es a través de las venas renales y hacia la vena cava inferior (Pocock, 2005).

La circulación renal está regulada por nervios procedentes tanto de la división parasimpática como de la división simpática del sistema nervioso autónomo. Los riñones forman la parte superior del tracto urinario y la orina que producen llega a la vejiga a través de los uréteres. La vejiga acumula continuamente orina y vacía periódicamente su contenido a través de la uretra bajo control de un esfínter externo (Pocock, 2005).

En la disposición de la circulación renal, la arteria renal penetra en el riñón por el hilio y se ramifica para formar las arterias interlobulares, que originan las arterias arqueadas, circulan alrededor de la región más externa de la médula. Las arterias arqueadas se continúan en las arterias corticales radiales o arterias interlobulares, que ascienden hacia la cápsula renal y se ramifican por el camino para formar las arteriolas aferentes de la cápsula de Bowman. Las arteriolas aferentes son el origen de los capilares contenidos en la cápsula de Bowman, que vuelven a unirse para formar las arteriolas eferentes (Pocock, 2005).

Las arteriolas eferentes de la parte más externa de la corteza dan lugar a una rica red de capilares que rodea los túbulos renales. La sangre procedente de estos capilares peritubulares drena, en primer lugar, a las venas estrelladas y a través de ellas, a las venas corticales radiales y a las venas arqueadas. En cambio, las arteriolas eferentes próximas a la médula originan diversos vasos rectos descendentes (vasa recta) que se encargan de irrigar las regiones medulares interna y externa. La sangre procedente de los vasos rectos ascendentes drena a las venas arqueadas (Figura 4) (Pocock, 2005).

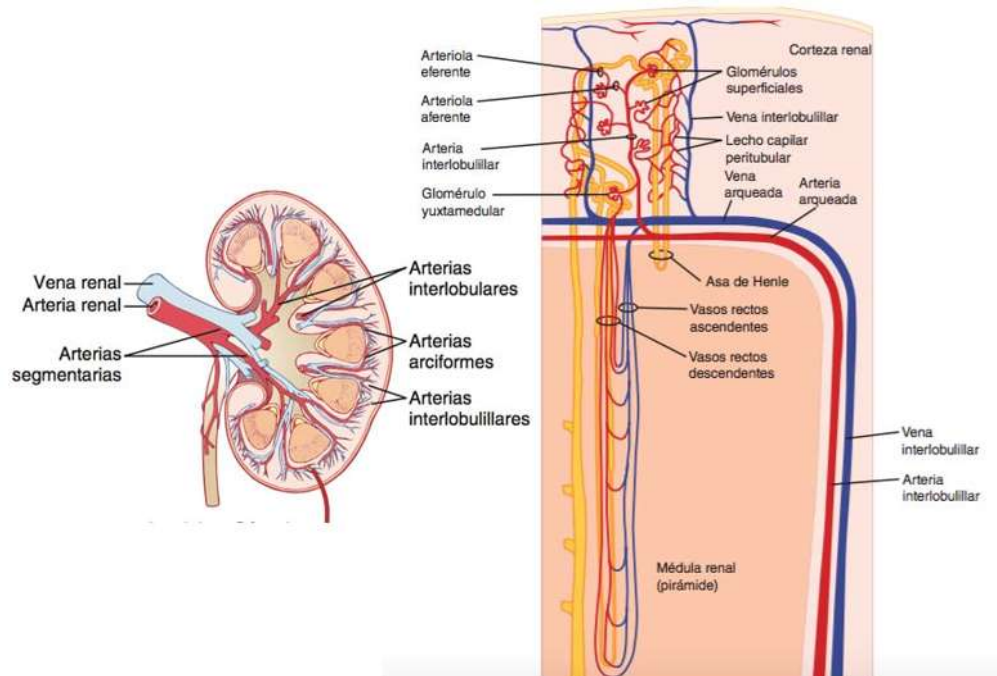


Figura 4. Circulación renal. Sección de riñón humano que muestra los principales vasos que aportan el riego sanguíneo al riñón y esquema de la microcirculación de cada nefrona (Modificado de Barret *et al.*, 2013, Guyton *et al.*, 2011).

En los riñones sucede la reabsorción regulada lo que les permite reciclar al plasma de modo selectivo, los iones y el agua para mantener la homeostasis. A través del equilibrio entre la captación de estas sustancias y su excreción urinaria, de acuerdo con el principio de equilibrio masas. Esta ley establece que la cantidad de una sustancia en el cuerpo permanece constante, su ganancia (entrada) y su pérdida (salida) deben estar compensadas. Cuando el balance de masas se rompe, la homeostasis es responsable de retornar los sistemas a sus niveles normales, por los mecanismos fisiológicos de retroalimentación positiva y negativa (Gal Iglesias, 2007).

La función renal se puede dividir en varias áreas generales (Silverthorn, 2008):

1. *Regulación del volumen del líquido extracelular y de la presión arterial:* si el volumen del líquido extracelular disminuye, la presión arterial también se reduce. Si ambos disminuyen demasiado el cuerpo no

puede mantener el flujo sanguíneo adecuado para irrigar todo el cuerpo. Los riñones trabajan en conjunto con el aparato cardiovascular para lograr que la presión arterial se mantenga dentro de los valores aceptables.

2. *Regulación de la osmolaridad*; el funcionamiento renal integra ciertas reacciones como la sed, para mantener la osmolaridad de la sangre en un valor cercano a 290 mOsm.
3. *Mantenimiento del equilibrio iónico*; los riñones mantienen las concentraciones de los iones fundamentales dentro de un rango normal al equilibrar la captación de la ingesta y la eliminación urinaria. El sodio (Na^+) es el principal ión que participa en la regulación del volumen del líquido extracelular y de la osmolaridad. Las concentraciones de potasio (K^+) y calcio (Ca^{2+}) también se regulan en forma estricta.
4. *Regulación homeostática del pH*; si el líquido extracelular se torna demasiado ácido, los riñones eliminan H^+ y retienen los iones bicarbonato (HCO_3^-), que actúa como amortiguador del pH. Por el contrario, cuando el líquido extracelular se torna muy alcalino, los riñones eliminan HCO_3^- y retienen H^+ . Aunque no lo corrigen de manera tan rápida como lo hacen los pulmones.
5. *Excreción de desechos*; los riñones eliminan los productos de desecho metabólicos y sustancias extrañas al organismo; como los fármacos y toxinas ambientales.
6. *Producción de hormonas*; las células renales sintetizan eritropoyetina, la hormona/citocina que regula la síntesis de glóbulos rojos. También liberan renina, una enzima que regula la producción de hormonas que participan en la homeostasis de la presión arterial y del equilibrio del sodio. Las enzimas renales ayudan a convertir la vitamina D_3 en una hormona que regula el equilibrio del Ca^{2+} llamada calcitriol.

Los nervios renales pasan adyacentes a los vasos sanguíneos renales conforme entran en el riñón. Contienen varias fibras eferentes simpáticas posganglionares procedentes de la cadena paravertebral simpática T12-L2 y algunas fibras aferentes. Asimismo, hay una inervación colinérgica a través del nervio vago (Barret *et al.*, 2013).

El tono de los vasos sanguíneos es mediado por el sistema nervioso autónomo, la presión arterial está controlada estrechamente por dos tipos de mecanismos reguladores, la regulación rápida hormonal por el sistema nervioso simpático, que se produce principalmente a través de los efectos del sistema nervioso sobre la resistencia vascular periférica total, la capacitancia y sobre la capacidad de la bomba cardíaca. El control a largo plazo del volumen sanguíneo está mediado principalmente por los riñones (Pocock, 2005). Este control a largo plazo de la presión arterial está íntimamente relacionado con la homeostasis del volumen de líquido en el organismo, que está determinada por el balance entre la ingestión y la eliminación de líquidos (Hall *et al.*, 2006).

El sistema de líquidos renal-corporal para el control de la presión arterial actúa de forma lenta, si el volumen de sangre aumenta y la capacitancia vascular no se altera, la presión arterial también aumenta. No obstante, cuando ésta aumenta demasiado, el riñón excreta simplemente el exceso de volumen hacia la orina y alivia la presión sanguínea. Cuando la presión es baja, el riñón excreta menos líquido del que ingiere. La eliminación renal de agua, se conoce como diuresis por presión y el aumento de la presión arterial también provoca un aumento aproximadamente igual de la eliminación de sodio, que es el fenómeno de natriuresis por presión. La eliminación de agua y sal debe ser igual a la ingestión, el cambio de nivel de ingestión de sal y agua también puede cambiar la presión arterial, reduciéndola o aumentándola (Guyton *et al.*, 2011).

El efecto del aumento crónico en la presión renal sobre la eliminación de orina, se debe a que el aumento de la presión no sólo tiene efectos hemodinámicos directos en los riñones para incrementar la excreción, sino también efectos indirectos mediados por cambios nerviosos y hormonales que

tienen lugar cuando aumenta la presión de la sangre. Por ejemplo, un aumento en la presión arterial reduce la actividad del sistema nervioso simpático y de varias hormonas, como la angiotensina II y la aldosterona, que tienden a reducir la excreción de sal y agua a través de los riñones. Por el contrario, cuando la presión arterial se reduce, el sistema nervioso simpático se activa y se incrementa la formación de hormonas antinatriuréticas, lo que se añade a los efectos directos de reducción de la presión para disminuir la eliminación renal de sal y agua. Esta combinación de efectos directos de la presión en los riñones y efectos indirectos de la presión en el sistema nervioso simpático y varios sistemas hormonales, hace que la natriuresis y la diuresis por presión sean los más importantes para el control a largo plazo de la presión arterial y los volúmenes de líquidos del organismo (Guyton *et al.*, 2011).

La importancia de las influencias neurales y hormonales en la natriuresis por presión es evidente especialmente durante los cambios crónicos en la ingesta de sodio. Por ejemplo, la reducción quirúrgica de la masa renal o la lesión en el riñón debida a hipertensión, diabetes y diversas enfermedades renales hacen que la presión sanguínea sea más sensible a los cambios en la ingesta de sal (Guyton *et al.*, 2011).

Muchas veces el aumento de la resistencia periférica total induce también una mayor resistencia vascular intrarrenal, lo que altera la función del riñón y provoca hipertensión. Pero el culpable es el aumento de la resistencia renal por el daño ya provocado, no el aumento de la resistencia periférica total. Los trastornos vasculares de los riñones incluyen la oclusión parcial o completa de los vasos de calibre grande, mediano o pequeño que suelen afectar a los glomérulos y como consecuencia de estas alteraciones, se desarrolla una insuficiencia renal progresiva así, la hipertensión arterial produce más hipertensión arterial (Guyton *et al.*, 2011; Mark, 2007).

El exceso de líquido puede elevar la presión arterial al aumentar el gasto cardíaco o la resistencia periférica total y si la capacidad vascular no se incrementa simultáneamente resulta en la elevación del volumen del líquido

extracelular; acrecienta el volumen de sangre, que a su vez, intensifica la presión de llenado de la circulación, que eleva el retorno venoso de sangre hacia el corazón, vigoriza el gasto cardíaco, y sube la presión arterial. El aumento en la presión arterial también incrementa la excreción renal de sal y agua devolviendo el líquido extracelular a valores casi normales en condiciones fisiológicas (Figura 5); pero cuando la función renal ha sido alterada provoca una elevación considerable de la presión arterial (Guyton *et al.*, 2011).

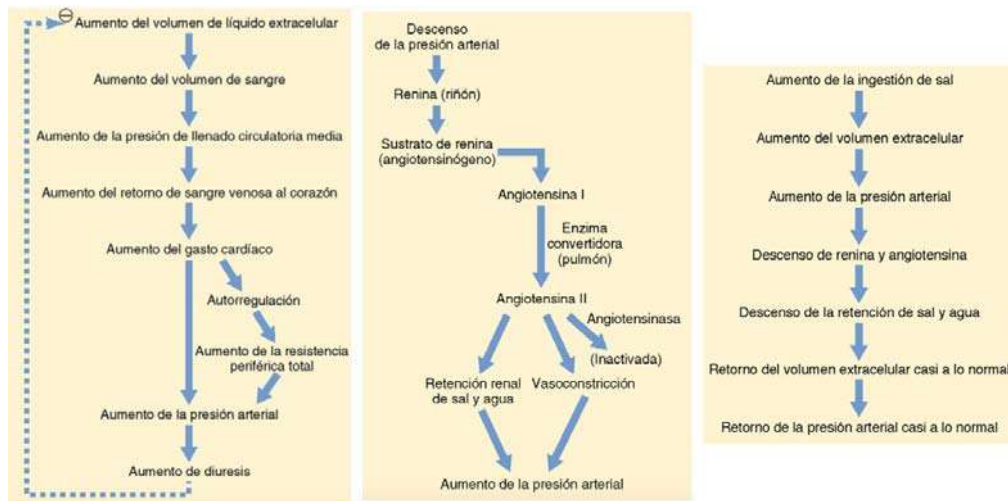


Figura 5. Secuencia gráfica del control de la presión arterial a nivel renal. Pasos fisiológicos secuenciales fisiológicos por los que se regula la presión arterial (Modificado de Guyton *et al.*, 2011).

A medida que se acumula la sal en el organismo aumenta indirectamente el volumen de líquido extracelular, aumenta la osmolalidad del líquido, lo que a su vez, estimula el centro de la sed en el cerebro, haciendo que esta persona beba cantidades extra de agua para normalizar la concentración extracelular de sal, aumentando el volumen de líquido extracelular. El aumento de la osmolalidad causado por el exceso de sal en el líquido extracelular también estimula el mecanismo secretor del eje hipotálamo-hipófisis posterior para segregar cantidades mayores de hormona antidiurética. A su vez, la hormona antidiurética provoca la reabsorción renal de cantidades mucho mayores de agua del líquido tubular renal, lo que disminuye el volumen excretado de orina, pero aumenta el

volumen de líquido extracelular, lo que provoca una elevación considerable de la presión arterial (Guyton *et al.*, 2011).

1.3. Sistema renina-angiotensina

Los riñones además de tener la capacidad de controlar la presión arterial a través de los cambios de volumen del líquido extracelular. También tienen otro mecanismo potente para controlar la presión arterial, el sistema renina-angiotensina. Este sistema es un componente central de las respuestas fisiológicas y patológicas del sistema cardiovascular. Su activación desempeña un papel importante en la génesis de la disfunción vascular en los hipertensos (Velasco *et al.*, 2001).

La renina se sintetiza y almacena en una forma inactiva conocida como prorenina en las células yuxtaglomerulares por estimulación β adrenérgica de los riñones. Las células yuxtaglomerulares son miocitos lisos modificados situados en las paredes de las arteriolas aferentes, inmediatamente proximales a los glomérulos. Cuando desciende la presión arterial se producen una serie de reacciones intrínsecas de los riñones que provocan la escisión de moléculas de prorenina de las células yuxtaglomerulares hasta la liberación de renina, la mayor parte entra en la circulación sanguínea renal para circular después por todo el organismo. No obstante, quedan pequeñas cantidades de renina en los líquidos locales del riñón que inician varias funciones intrarrenales (Guyton *et al.*, 2011).

La aspartil proteasa renina es una enzima y no una sustancia vasoactiva, que actúa sobre otra proteína plasmática, una globulina denominada sustrato de renina o angiotensinógeno, para liberar un péptido de 10 aminoácidos, la angiotensina I, que tiene propiedades vasoconstrictoras moderadas, no suficientes para provocar cambios en la función circulatoria. La renina persiste en la sangre durante 30 minutos hasta 1 hora y continúa provocando la formación de aún más angiotensina I durante todo este tiempo. Unos segundos a minutos después de la formación de angiotensina I se escinden otros dos aminoácidos a partir de la angiotensina I para formar el péptido de 8 aminoácidos: la angiotensina II. Esta

conversión se produce en gran medida en los pulmones y es catalizada por una enzima denominada enzima convertidora de la angiotensina, una dipeptidil carboxipeptidasa que está presente en el endotelio de los vasos pulmonares. También, otros tejidos como los riñones y los vasos sanguíneos, contienen a la enzima convertidora y forman angiotensina II localmente. La angiotensina II no sólo media los efectos fisiológicos inmediatos de la vasoconstricción y la regulación de la presión de la sangre, sino que también está implicada en la inflamación, disfunción endotelial, aterosclerosis, hipertensión e insuficiencia cardíaca congestiva (Guyton *et al.*, 2011; Mehta *et al.*, 2007).

La angiotensina II es una sustancia vasoconstrictora muy potente, que aumenta la presión sanguínea inclusive más que la noradrenalina, no obstante, tiene una vida media biológica en la circulación que va de 15 a 60 segundos, porque se inactiva rápidamente por varias enzimas tisulares y sanguíneas, llamadas angiotensinasas. La degradación de la Ang II por éstas aminopeptidasas lleva a la formación de la angiotensina III y angiotensina IV (Ang III y Ang IV, respectivamente) cuya actividad biológica es poco conocida. La angiotensina II tiene dos efectos principales que pueden elevar la presión arterial. El primero de ellos, es la vasoconstricción de varias zonas del organismo, la cual es muy intensa en las arteriolas y mucho menor en las venas. La constricción de las arteriolas aumenta la resistencia periférica total, con lo que aumenta la presión arterial. Además, la constricción leve de las venas favorece el incremento del retorno de sangre venosa hacia el corazón, con lo que se facilita la función de bomba cardíaca contra una presión en aumento. El segundo efecto es el descenso de la excreción, tanto de sal como de agua por los riñones, lo que aumenta lentamente el volumen del líquido extracelular, lo que después aumenta la presión arterial durante las horas y días sucesivos (Guyton *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2006).

El sistema vasoconstrictor renina-angiotensina requiere unos 20 minutos para estar totalmente activado, por lo que su control sobre la presión sanguínea es más lento que el de los reflejos nerviosos y el sistema simpático noradrenalina-adrenalina. La angiotensina II tiene varios efectos renales directos que hacen que

los riñones retengan sal y agua. Uno de los efectos principales es contraer las arteriolas renales, con lo que disminuye el flujo sanguíneo a través de los riñones. El flujo lento de sangre reduce la presión de los capilares peritubulares, lo que provoca una reabsorción rápida de líquido desde los túbulos. También tiene acciones directas importantes sobre las propias células tubulares, aumentando la reabsorción tubular de sodio y agua. El resultado total de todos estos efectos es significativo, un descenso de la producción de orina que llega a ser menor de la quinta parte de lo normal (Guyton *et al.*, 2011).

La angiotensina II es uno de los factores estimulantes más potentes de la secreción de aldosterona por las glándulas suprarrenales, por tanto, la velocidad de secreción de aldosterona aumenta también cuando se activa el sistema renina-angiotensina. Una de las funciones consecuentes de la aldosterona consiste en lograr un aumento importante de la reabsorción de sodio en los túbulos renales, con lo que aumenta el sodio en el líquido extracelular. Este aumento de sodio provoca a su vez la retención hídrica, aumentando el volumen de líquido extracelular y provocando secundariamente una elevación crónica de la presión arterial (Figura 6). El sistema renina-angiotensina es un mecanismo automático de retroalimentación que mantiene la presión arterial en un nivel normal o casi normal incluso cuando aumenta la ingestión de sal. Cuando la ingestión de sal disminuye por debajo de lo normal se consiguen efectos exactamente opuestos (Guyton *et al.*, 2011).

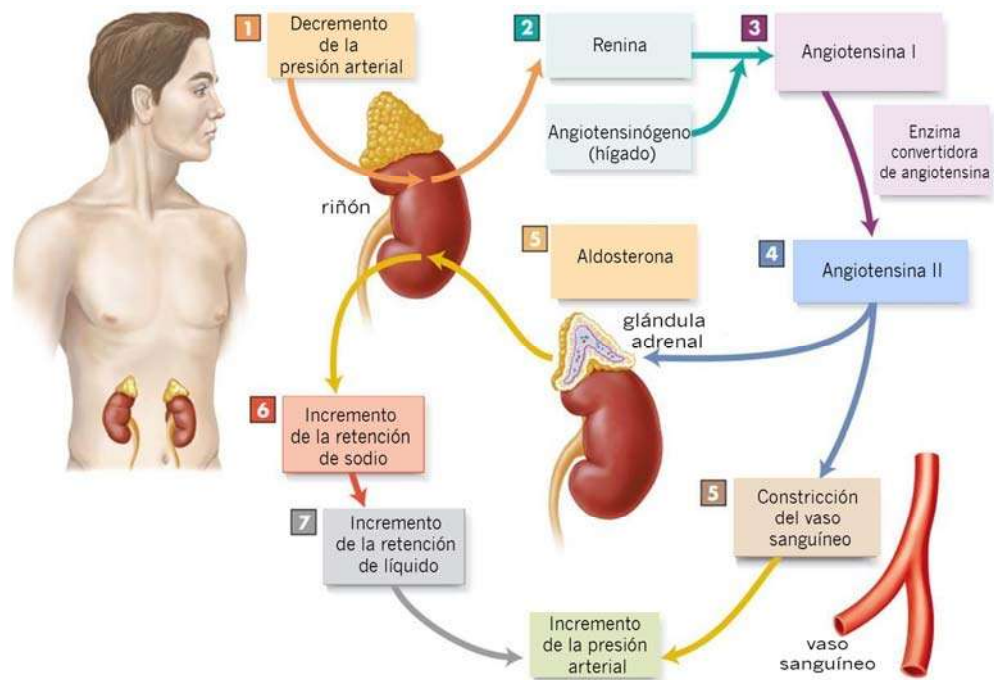


Figura 6. Sistema renina angiotensina aldosterona en la regulación de la presión arterial. Sucesos que conducen al aumento de la presión arterial (modificado de Antranik, 2012).

La angiotensina II tiene efectos importantes sobre el balance de líquidos y la presión arterial más allá de estimular la secreción de aldosterona, lo que destaca las funciones integradas de los sistemas renal y cardiovascular. La angiotensina II aumenta la presión arterial tanto de forma directa como indirecta a través de cuatro vías adicionales (Silverthorn, 2008):

1.- La angiotensina II aumenta la secreción de vasopresina. Los receptores de angiotensina II en el hipotálamo inician este reflejo. La retención de líquido en el riñón bajo influencia de la vasopresina ayuda a conservar el volumen sanguíneo, lo que mantiene así la presión arterial.

2.- La angiotensina II estimula la sed. La ingestión de líquidos es una respuesta conductual que expande el volumen sanguíneo y eleva la presión arterial.

3.- La angiotensina II es uno de los vasoconstrictores más potentes conocidos. La vasoconstricción eleva la presión sanguínea sin cambios en el volumen sanguíneo.

4.- La activación de los receptores de angiotensina II en el centro de control cardiovascular aumenta la eferencia simpática hacia el corazón y los vasos sanguíneos. La estimulación simpática aumenta el volumen y la vasoconstricción y ambos aumentan la presión arterial.

La estimulación aguda con angiotensina II regula la homeostasis sal/agua, la vasoconstricción, modulando la presión sanguínea, mientras que la estimulación crónica promueve la hiperplasia y la hipertrofia de las células del músculo liso vascular, la hipertrofia cardíaca, la reducción de la fibrinólisis y la fibrosis renal. La mayoría de los efectos fisiológicos conocidos de la angiotensina II están mediados por los subtipos de receptores de angiotensina: el receptor AT₁ (359 aminoácidos ~41 kD) y el receptor AT₂ (363 aminoácidos ~44 kD), los cuales pertenecen a la superfamilia de receptores membranales acoplados a proteínas G. Además de estos, existen otros dos receptores membranales para la Ang II: el receptor AT₃ y el receptor AT₄. También denominados receptores atípicos, los cuales son capaces de unir a la Ang II, y a sus productos: la Ang III y la Ang IV. La distribución del receptor AT₁ ha sido estudiada extensamente, reconociéndose en la actualidad en la mayoría de los tejidos en humanos, primates y roedores, siendo además el tipo predominante en los adultos en todos los órganos, incluyendo el hígado, las glándulas suprarrenales, el cerebro, los pulmones, riñones, corazón y vasculatura. El receptor AT₁ es el encargado de mediar la mayoría de las acciones conocidas de la Ang II como son la vasoconstricción y el incremento en la proliferación celular (Díaz *et al.*, 2006).

Los pacientes con un desequilibrio en la homeostasis del sistema renina angiotensina también presentan disminución de la sensibilidad a la insulina. La capacidad del receptor de la insulina para autofosforilarse y fosforilar otras sustancias resulta en la activación de vías que guían efectos metabólicos, transcripcionales y mitogénicos de la insulina, e interferencias en su señalización

podría incapacitar su metabolismo. También se ha demostrado que la angiotensina II aumenta la fosforilación de residuos de serina en la subunidad β del receptor de insulina (Mehta *et al.*, 2007).

Una vez que la angiotensina II se une a su receptor, se activa una serie de cascadas de señalización. La evidencia muestra que cuando es activado por un agonista, el receptor de angiotensina tipo 1 (AT_1) se une a los complejos $G\alpha_q/11$, $G\alpha_{12/13}$, y $G\beta\gamma$, que activan la fosfolipasa C (PLC), la fosfolipasa A2 (PLA2) y la fosfolipasa D (PLD). La activación de PLC produce inositol-1, 4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 se une a su receptor en el retículo sarcoplásmico, permitiendo la apertura de canales de calcio y el eflujo de este al citoplasma. El calcio se une a la calmodulina y activa a la cinasa de cadena ligera de la miosina (MLCK), fosforilando la cadena ligera de la miosina, causando contracción de las células del músculo liso. La activación de la PLD, también resulta en la hidrólisis de la fosfatidilcolina (PC) a colina y ácido fosfatídico (PA). El PA se convierte rápidamente en DAG, que conduce a la activación de la proteína cinasa C (PKC) y la contracción muscular sostenida (Mehta *et al.*, 2007).

Se ha observado que las vías de señalización de PLC/PLD presentan actividad incrementada en ratas hipertensas en comparación con ratas controles, lo que sugiere que las alteraciones en los segundos mensajeros de proteínas G pueden desempeñar un papel en la patogénesis de la hipertensión. Además, muchos de los efectos patológicos de la angiotensina II en la vasculatura ocurren a través de la activación de la NADPH oxidasa y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), como ión superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Ahora se conoce que las ROS son potentes segundos mensajeros intercelulares e intracelulares que median la señalización en vías que causan la hipertensión, la inflamación de los vasos y la aterosclerosis. Una de las consecuencias del superóxido generado por la angiotensina II, es la inactivación del óxido nítrico (NO) en las células endoteliales y en las células del músculo liso vascular (Figura 7). Por lo tanto, las interacciones entre la señalización de Ang II y

las ROS conducen a cambios estructurales y funcionales de la vasculatura y son críticas en la patología vascular (Mehta *et al.*, 2007).

Como ya se ha establecido que la angiotensina II eleva la presión arterial, se han buscado herramientas farmacéuticas para bloquearla, como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. Estos inhibidores son péptidos o derivados peptídicos y su principal mecanismo de acción es bloquear el sitio activo de la enzima, por lo que se inhibe la conversión de angiotensina I a angiotensina II, ayudando a relajar los vasos sanguíneos y disminuir la presión arterial. Por lo cual, también disminuyen los niveles plasmáticos de aldosterona, la reabsorción de Na⁺ y finalmente disminución del líquido extracelular, lo que reduce la resistencia periférica por la activación de las propiedades natriuréticas de la bradicinina (Silverthorn, 2008; Velasco *et al.*, 2001).

Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina se unen al ion zinc localizado en el sitio activo de la molécula de la enzima convertidora de angiotensina y de acuerdo con el ligando del zinc, se pueden clasificar en tres tipos: fármacos que contienen sulfidrilo como el captopril (por ejemplo, fentiapril, pivalotril, etc.), fármacos que contienen dicarboxilo como el enalapril (por ejemplo, lisinopril, benazepril, quinapril, etc.) y fármacos que contienen fósforo como el fosinopril (Velasco *et al.*, 2001).

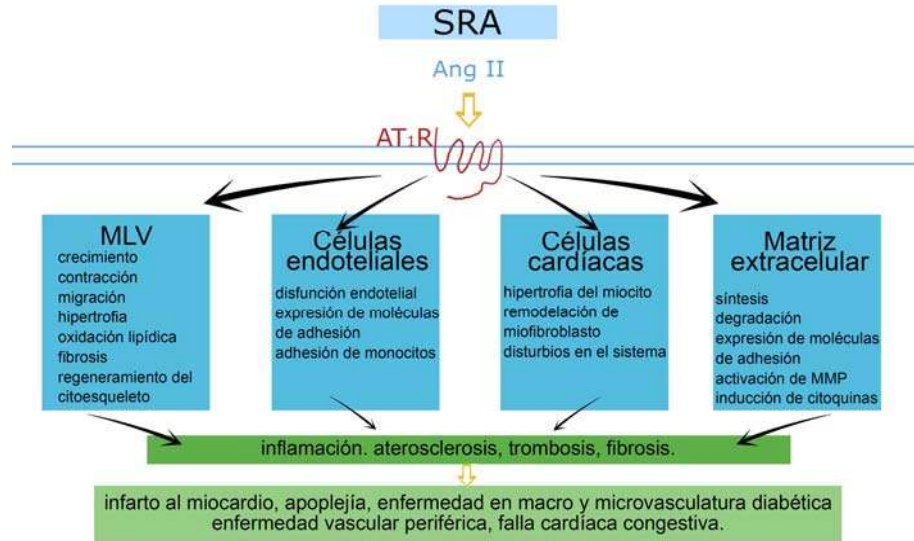


Figura 7. Participación de la angiotensina II en la patología vascular. La Ang II ejerce sus múltiples efectos en la modulación de la fisiología y patología cardiovascular mediante la inducción de vías de señalización en las células del músculo liso vascular, las células endoteliales y los fibroblastos cardíacos; afectando su interacción con la matriz extracelular. La convergencia de estas cascadas de eventos, además de anomalías en el sistema de coagulación, conduce en última instancia a aterosclerosis y trombosis con el desarrollo final de signos clínicamente observables y síntomas de enfermedad cardiovascular (Modificado de Mehta *et al.*, 2007).

1.4 Efectos mediados por los receptores adrenérgicos

Dos tipos principales de receptores transmembranales, los receptores adrenérgicos α y β , median la mayoría de las señales biológicas generadas por el sistema adrenérgico en la vasculatura, aunque los dos tipos de receptores se pueden acoplar a la misma hormona. Estos receptores juegan un papel importante en la regulación de las respuestas fisiológicas y patológicas mediadas por las catecolaminas, en particular en el sistema cardiovascular y urinario. Las hormonas se almacenan en vesículas, lo que asegura su liberación regulada y tienen una vida media limitada; la adrenalina solo dura unos pocos segundos (a diferencia de la insulina que puede durar muchas horas). Las catecolaminas permiten la regulación de la frecuencia del latido cardíaco y de la presión sanguínea, liberación de glucosa y ácidos grasos desde los sitios de almacenamiento. Por lo que el tono vascular resulta de interacciones entre los receptores de control endoteliales y el sistema nervioso (Black *et al.*, 2014; Becker *et al.*, 2006).

Las catecolaminas incluyen a la dopamina, y a las hormonas noradrenalina y adrenalina, todas ellas derivadas de la hidroxilación y la descarboxilación del aminoácido tirosina, la dopamina se puede convertir en noradrenalina, y la noradrenalina en adrenalina. Esto puede suceder en las neuronas noradrenérgicas; la dopamina es transportada hacia las vesículas sinápticas donde es convertida en noradrenalina por la dopamina- β -hidroxilasa. Las neuronas del sistema nervioso central, al igual que las células de la médula suprarrenal, contienen la enzima feniletanolamina-N-metiltransferasa, que convierte la noradrenalina en adrenalina. La noradrenalina tiene más afinidad por los receptores adrenérgicos α en tanto que la adrenalina es de 10 a 50 veces más potente que la noradrenalina en los receptores adrenérgicos β . Las catecolaminas también se sintetizan en la glándula suprarrenal por las células cromafines que las secretan directamente en la corriente sanguínea (Figura 8). La sinapsis que usan estos neurotransmisores se denomina sinapsis adrenérgica (Black *et al.*, 2014; Becker *et al.*, 2006; Barret *et al.*, 2013).

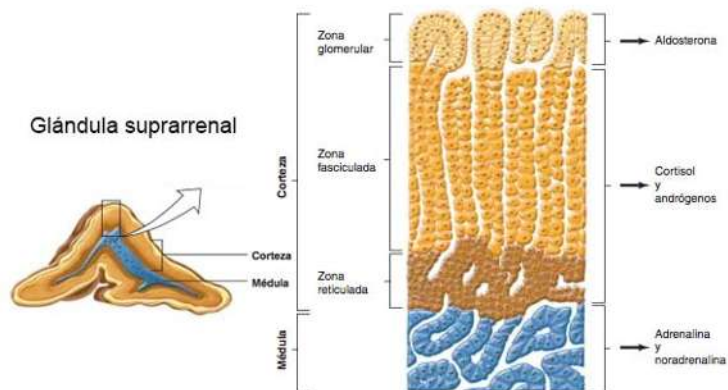


Figura 8. Corte de la glándula suprarrenal. Se observan la médula y corteza con las hormonas que secretan (Modificado de Barret *et al.*, 2013).

Los adrenoreceptores son receptores acoplados a proteínas G (GPCR) con actividad GTPasa, que se integran en la membrana plasmática como una haz de siete hélices α . Se denominan así debido a que la unión al receptor produce un cambio en su conformación que activa a alguna proteína G en particular, es el

grupo más grande de receptores de superficie celular en los mamíferos y que comprenden >1% del genoma humano. Podemos describir a las proteínas G como un tipo de interruptor molecular cuyo estado encendido o apagado depende de si la proteína está unida a GTP o a GDP. Los receptores adrenérgicos se han dividido en tres tipos principales: α_1 , α_2 y β , en función de la selectividad del ligando, su afinidad por agonistas y antagonistas, los segundos mensajeros, el acoplamiento a proteínas G (G_q , G_i y G_s , respectivamente) y la secuencia de aminoácidos (Becker *et al.*, 2006; Goodman y Gilman, 2012; Lynch *et al.*, 2008).

Si bien, los receptores α y β se consideran clases de receptor y α_1 y α_2 se consideran subtipos. Las isoformas de receptores α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} y α_{2A} , α_{2B} y α_{2C} difieren poco en cuanto a sus propiedades bioquímicas, aunque es diferente su distribución en los tejidos. Los subtipos de receptores adrenérgicos β_1 y β_3 muestran diferencias tanto en la distribución y regulación en los tejidos, como en la fosforilación de proteínas G y PKA (proteína cinasa dependiente de AMP cíclico). En los dominios que abarcan la membrana, los tres receptores adrenérgicos α_1 comparten una identidad cercana a 75% en cuanto a los residuos de aminoácidos, al igual que los tres receptores α_2 (Becker *et al.*, 2006; Goodman y Gilman, 2012; Lynch *et al.*, 2008).

Los receptores de este tipo tienen la misma orientación en la membrana (el extremo N-terminal de la proteína está expuesto al fluido extracelular), contienen siete regiones transmembrana helicoidales similares: cuatro segmentos extracelulares y cuatro segmentos citosólicos. El segmento carboxilo terminal y el bucle citosólico largo entre los segmentos helicoidales 5 y 6 crean el sitio de la interacción con una proteína G trimérica. La unión del ligando causa que estas hélices cambien su conformación y se muevan una respecto a la otra (Figura 9) (Becker *et al.*, 2006; Lodish, 2004).

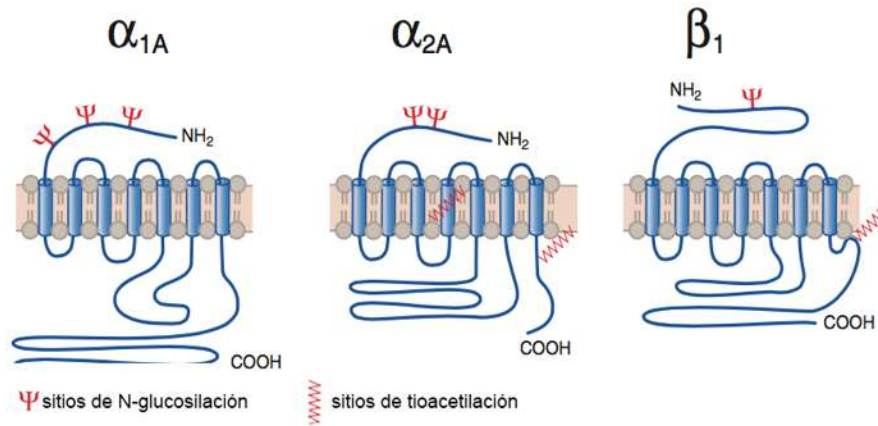


Figura 9. Receptores adrenérgicos. Todos los receptores adrenérgicos son GPCR con siete dominios transmembrana. Se muestra una representación de cada tipo, cada uno tiene tres subtipos: α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} ; α_{2A} , α_{2B} y α_{2C} y β_1 , β_2 y β_3 (Modificado de Goodman y Gilman, 2012).

Es crucial para la comprensión de los diversos efectos de las catecolaminas y los fármacos simpaticomiméticos relacionados, discernir la clasificación y propiedades de los diferentes tipos de receptores adrenérgicos. Aunque tienen relación estructural, los diferentes receptores regulan distintos procesos fisiológicos al controlar la síntesis o liberación de diversos segundos mensajeros (Goodman y Gilman, 2012).

Los adrenoceptores α_1 están presentes en muchos tejidos; el subtipo α_{1A} se localiza en el corazón, hígado, músculo liso, vasos sanguíneos, pulmón, conducto deferente, próstata, cerebelo, corteza cerebral e hipocampo. Los receptores α_1 juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis, es el subtipo predominante que causa contracción del músculo liso vascular, es responsable de la estructura y crecimiento del corazón, causa vasoconstricción de arteriolas grandes de resistencia en el músculo estriado. Es el receptor predominante que causa vasoconstricción en muchos lechos vasculares, lo que incluye las siguientes arterias: mamaria, mesentérica, esplénica, hepática, epiploica, renal, pulmonar y coronaria epicárdica. También es el subtipo predominante en la vena cava y en las venas safena y pulmonar. La ubicación del gen en el cromosoma humano que codifica para el receptor α_1 es 8p21-p11.2 (Goodman y Gilman, 2012).

El subtipo α_{1B} es encontrado en el riñón, bazo, pulmón, vasos sanguíneos y tronco del encéfalo, es el más abundante en el corazón, favorece el crecimiento y estructura cardíacos. La ubicación del gen en el cromosoma humano es 5q23-q32. El receptor α_{1D} se ubica en plaquetas, próstata, aorta, arterias coronarias, corteza cerebral e hipocampo. Es el receptor predominante que causa vasoconstricción en la aorta y en arterias coronarias, su gen se localiza en el cromosoma 20p13 (Goodman y Gilman, 2012).

Las respuestas que siguen a la activación de los tipos de receptores α_1 adrenérgicos resultan en la generación de segundos mensajeros a través de la vía G_q -PLC-IP₃. Las subunidades G_q (α_{11} , α_{14} , α_{16} , cuyo peso molecular oscila entre 39 y 52 kDa) activan todas las formas de fosfolipasa C; también pueden activar los miembros de la familia de la PLD y PLA₂, la PLC cual cataliza la producción de inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG) por hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bifosfato en la membrana plasmática (Figura 10). El inositol trifosfato, un producto hidrosoluble, difunde desde la membrana plasmática al retículo endoplásmico, donde se une a receptores específicos de IP₃ y provoca la apertura de canales de calcio del retículo endoplásmico. El calcio es así liberado al citosol y su concentración citosólica aumenta rápidamente hasta 10^{-6} M. Un efecto de la concentración de calcio elevada es la activación de la PKC, la cual fosforila varios sustratos, lo que incluye proteínas de membrana como conductos, bombas, proteínas de intercambio iónico; por ejemplo, transporte de Ca^{2+} con ATP asa. El diacilglicerol coopera con el calcio en la activación de la PKC, por lo que también actúa como segundo mensajero; el cual se regula frecuentemente a través de otras vías sensibles a la calmodulina como las CaM cinasas (Nelson y Cox, 2013; Goodman y Gilman, 2012).

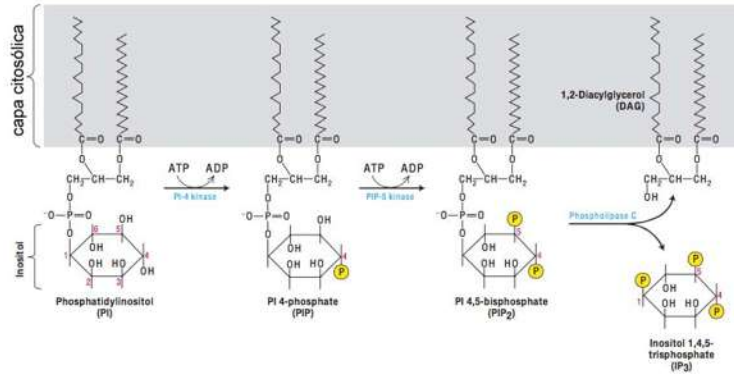


Figura 10. Síntesis de DAG e IP₃ del fosfatidilinositol (IP) de la membrana. Cada PI cinasa unida a membrana coloca un fosfato (círculos amarillos) sobre un grupo hidroxilo específico en el anillo de inositol, produciendo inositol fosfato (Modificado de Lodish, 2004).

En la mayor parte de músculo liso el incremento en la concentración intracelular de Ca²⁺ finalmente causa contracción, como consecuencia de la activación de las proteínas cinasas sensibles a Ca²⁺, como la cinasa de miosina de cadena ligera dependiente de calmodulina; la fosforilación de la cadena ligera de miosina se asocia con el desarrollo de tensión. Los receptores α₁ también activan MAPK (mitogen-activated protein kinases) y otras cinasas como PI3 lo que produce efectos importantes en la proliferación y crecimiento celulares, se les ha implicado en la síntesis de proteínas, la transcripción de genes y la supervivencia celular, por ejemplo, la estimulación prolongada de los receptores α₁ favorece el crecimiento de los miocitos cardiacos y de las células de músculo liso vascular. En el hígado estos receptores modulan la glucogenólisis, gluconeogénesis, síntesis de urea, metabolismo de ácidos grasos, y síntesis y secreción de proteínas (Goodman y Gilman, 2012; García-Sáinz *et al.*, 1999).

Otra propiedad importante de los receptores fisiológicos es su capacidad para amplificar de manera significativa una señal fisiológica. El primer efecto observado de los adrenoreceptores α₂ fue la inhibición de la actividad de la adenililciclasa; ya sea a través de subunidades G_{i/o} o por estimulación directa débil de G_s. El subtipo α_{2A} es encontrado en plaquetas, neuronas simpáticas, ganglios autónomos, páncreas, vasos coronarios, y en el sistema nervioso central (en el *locus ceruleus* del tronco del encéfalo) y en la médula espinal. Es el receptor

inhibidor predominante en las neuronas simpáticas, también es responsable de vasoconstricción de los vasos precapilares pequeños en el músculo estriado, desempeña una función importante al inhibir la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas simpáticas y suprimir los estímulos simpáticos eferentes desde el encéfalo, produciendo hipotensión. Probablemente en el sistema nervioso central también produce efectos antinociceptivos, sedación, hipotermia, hipotensión y acciones conductuales propias de los agonistas α_2 . La ubicación de su gen en el cromosoma humano es 10q24-q26 (Goodman y Gilman, 2012).

El adrenoreceptor α_{2B} es el receptor predominante que media la vasoconstricción α_2 . Se localiza en el hígado, riñón, páncreas, plaquetas, vasos sanguíneos, vasos coronarios y en el sistema nervioso central (en el diencéfalo). La ubicación de su gen en el cromosoma humano es 2q12-q13. El subtipo α_{2C} es el receptor que modula predominantemente el efecto de la dopamina e inhibe la liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal. Se sitúa en los núcleos basales, corteza cerebral, cerebelo e hipocampo. La ubicación de su gen en el cromosoma humano es 4p16 (Goodman y Gilman, 2012). Estas respuestas son reguladas a través de una variedad de vías de señalización corriente abajo, incluyendo la inhibición de la adenilciclase, el bloqueo de canales de calcio tipo L y la activación de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) (Lynch *et al.*, 2008).

Los receptores adrenérgicos β son proteínas que regulan numerosas respuestas funcionales, incluida la frecuencia cardíaca y contractilidad, relajación del músculo liso, crecimiento y múltiples eventos metabólicos en numerosos tejidos, incluyen a las células adiposas, hepáticas y de músculo estriado. Los tres subtipos de receptores (β_1 , β_2 y β_3) se acoplan con la proteína G_s y activan la adenilciclase. Estudios más recientes sugieren que tanto los adrenoreceptores β_2 y β_3 también son capaces de exhibir un acoplamiento dual a la proteína G_s y G_i . Los receptores pueden diferir en cuanto a sus vías de señalización intracelular y ubicación subcelular; el subtipo β_1 es el receptor predominante en el corazón que

produce efectos inotrópicos y cronotrópicos positivos (Goodman y Gilman, 2012; Lynch *et al.*, 2008).

La localización hística de los receptores β está en el corazón, riñones, adipocitos, músculo estriado, núcleo olfatorio, corteza cerebral, núcleo cerebeloso, tronco del encéfalo y médula espinal. La ubicación de su gen en el cromosoma humano es 10p240q26. El subtipo β_2 es el receptor abundante de los receptores β en las células de músculo liso vascular donde media la relajación y en el músculo estriado donde puede mediar la hipertrofia. Hay una mayor densidad de estos receptores adrenérgicos en los músculos de contracción lenta que en los músculos de contracción rápida. Se encuentran en el corazón, pulmón, vasos sanguíneos, músculo liso bronquial y del tubo digestivo, riñón, músculo estriado, bulbo olfatorio, corteza piriforme, corteza cerebral e hipocampo. La ubicación de su gen en el cromosoma humano es 531-q32. El subtipo β_3 tiene dos isoformas presentes en ratón β_{3a} y β_{3b} , sus efectos son a nivel metabólico. Se encuentra en el tejido adiposo, en el tubo digestivo y en el corazón. La ubicación de su gen en el cromosoma humano es 8p12-p11.2 (Goodman y Gilman, 2012; Lynch *et al.*, 2008; Nelson y Cox, 2006).

La unión de la adrenalina a los diferentes subtipos de receptores β adrenérgicos activa a la proteína G_s , la unión de la adrenalina a su receptor activa a la proteína G_s , lo que produce la disociación del complejo GTP- $G_{s\alpha}$, el complejo entonces se une a la adenilato ciclasa (AC) activándola; la AC es enzima unida a la membrana que genera cAMP (adenosín monofosfato cíclico) a partir de ATP. Existen al menos nueve isoformas distintas de adenilato ciclasa (AC1-AC9), además de una forma soluble (sAC). Todas las isoformas de AC muestran una estructura similar de una región variable NH_2 terminal, dos dominios transmembrana hidrófobos y dos dominios citoplásmicos (catalíticos). Un incremento en la concentración de cAMP puede producir efectos diferentes en distintos tipos celulares. El incremento transitorio en la concentración de cAMP en el citosol en el músculo esquelético y en las células hepáticas activa a la PKA (proteína kinasa dependiente de cAMP) por una fosforilación dependiente de ATP.

PKA activa entonces otra cascada de eventos que comienza con la fosforilación de la enzima fosforilasa kinasa. Esto conduce a la conversión de la glucógeno fosforilasa de la fosforilasa b, menos activa, a la fosforilasa a, forma más activa, y así, la fosforilasa a entonces cataliza la hidrólisis fosforolítica del glucógeno en moléculas de glucosa-1-fosfato. La señal de cAMP se termina a través de su hidrólisis a 5'-AMP por las fosfodiesterasas (PDEs) las cuales son activadas por fosforilación por PKA (Figura 11). La proteína kinasa dependiente de cAMP también promueve la fosforilación y la activación de la fosfolipasa que cataliza la hidrólisis de los triglicéridos almacenados para producir ácidos grasos libres y glicerol (Becker, *et al.*, 2006; Lynch *et al.*, 2008).

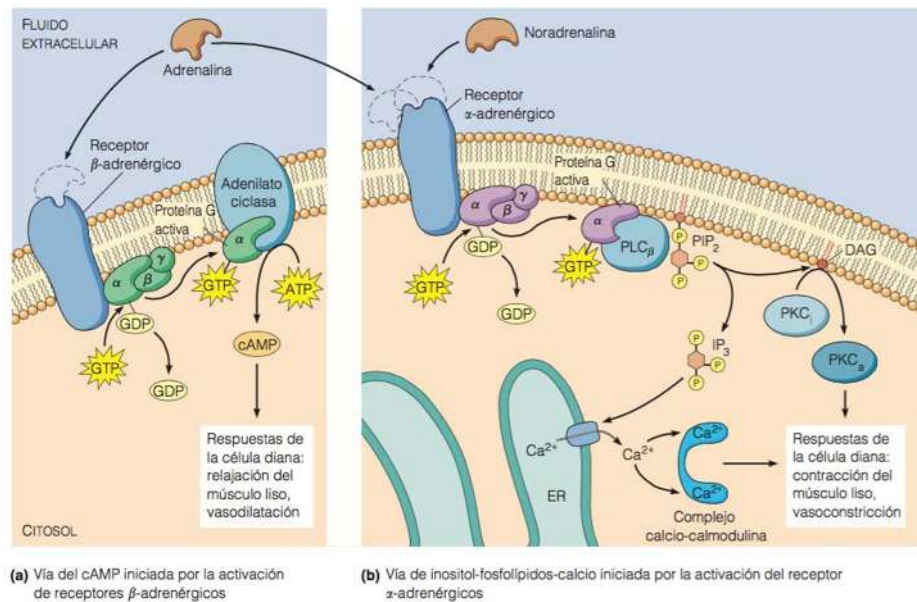


Figura 11. Estimulación de vías de transducción de señal acopladas a proteínas G por los receptores adrenérgicos α y β . Los dos tipos de receptores se pueden unir a la misma hormona (adrenalina, noradrenalina), activan distintas vías de transducción de señal ya que activan a distintas proteínas G. (a) Los receptores β activan a Gs y estimulan la vía de transducción de señal de cAMP. (b) Los receptores α activan a Gp y estimulan la vía de transducción de señal de inositol-fosfolípidos-calcio (Modificado de Becker *et al.*, 2006).

2. ANTECEDENTES

La relación que existe entre el Sistema Renina Angiotensina (SRA) y el Sistema Adrenérgico y la implicación de esta en la génesis de complicaciones vasculares es un trascendental tema de investigación que requiere especial atención. Durante la última década el SRA ha sido reconocido como un importante sistema que controla las funciones cardiovasculares y renales. La Angiotensina II; el péptido clave puede afectar virtualmente todos los órganos y participa en el delicado equilibrio que denominamos salud, así como en la patogénesis de diversas afecciones mórbidas. Las catecolaminas endógenas adrenérgicas (adrenalina y noradrenalina) son reguladoras clave de las funciones cardiovasculares a través de la familia de receptores adrenérgicos, los cuales producen cambios morfológicos y funcionales en la vasculatura. Se ha sugerido que la interacción entre el SRA y las vías periféricas adrenérgicas, a nivel vascular, podría ser importante en la hiperreactividad vascular e hipertrofia (Gallardo-Ortiz *et al.*, 2016).

Algunos datos sugieren una posible interacción neuro-muscular (vascular) entre el receptor adrenérgico α_{1D} y el receptor AT_1 . Se sabe que la Angiotensina II induce la expresión del receptor adrenérgico α_{1D} en células del músculo liso vascular de aorta aislada de rata y aumenta la síntesis de ADN y proteínas, sugiriendo que ambos sistemas podrían estar relacionados con el inicio de la hipertensión. Otros mecanismos de la Ang II que conducen a la hipertrofia vascular incluyen la liberación y la acción de la noradrenalina y varios factores de crecimiento, además de promover la hiperreactividad vascular. La hipótesis de que las acciones pro-hipertensivas de la Ang II pueden implicar aumento del receptor adrenérgico α_{1D} vascular, funcionalmente probado en la aorta aislada de las ratas SHR prehipertensivas, exhibe aumento de Ang II en sangre, hipertrofia cardíaca e hipertensión (Gallardo-Ortiz *et al.*, 2016). En este modelo de prehipertensión en rata (SHR) la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) reduce la presión arterial, disminuye la hiperreactividad a los agonistas del receptor

adrenérgico α_1 y disminuye tanto el ARNm del receptor adrenérgico α_{1D} como su proteína en la aorta, apoyando la idea de que Ang II y el receptor adrenérgico α_{1D} actúan combinadamente en el aumento de la presión arterial. La Ang II ejerce una clara influencia en el desarrollo de la hipertensión a través de receptores adrenérgicos vasculares. Así mismo la terapia con dosis bajas de captopril (inhibidor de la ECA) inhibe este fenómeno (Godínez-Hernández *et al.*, 2006).

El efecto de la intervención del SRA ha sido ensayado en varios modelos de diabetes; inhibidores de la ECA como el perindopril, zofenopril y enalapril pueden prevenir la progresión de la aterosclerosis diabética. Pruebas en aortas de ratones hiperglucémicos *db/db* muestran una sobrerregulación del receptor a angiotensina II AT_1 y subunidades de la NADPH oxidasa, que pudieron ser normalizadas por tratamiento crónico con valsartán o enalapril. Sugiriendo que el bloqueo del SRA regula la expresión del receptor AT_1 y suprime la actividad de las NADPH oxidasas las cuales son el mayor generador de especies reactivas de oxígeno por angiotensina II que provocan daño vascular (Wong *et al.*, 2010).

El riñón es blanco del proceso hipertensivo por la hiperactividad del sistema renina-angiotensina y por acciones pleiotrópicas de la Ang II. En este sentido, los riñones expresan todos los componentes del SRA. El hecho de que la Ang II cause vasoconstricción tanto por acción directa sobre las células del músculo liso como indirectamente, al facilitar la liberación de noradrenalina de las neuronas simpáticas posganglionares, ha demostrado que la interacción entre la Ang II y la neurotransmisión adrenérgica en el modelo SHR determina la alteración sistémica y las respuestas hemodinámicas que pueden afectar la función renal. Además de que los niveles de proteína del receptor AT_1 en la corteza renal y médula, muestran una disminución en la SHR adulta, lo que podría contribuir al proceso hipertensivo o podría ser una respuesta compensatoria a la mayor Ang II circulante por desensibilización de los receptores. Resultados de Castro-Moreno y colaboradores (2012), concuerdan con los informes en los que la inhibición de la ECA y/o el antagonismo del receptor AT_1 , reducen tanto el desarrollo de la hipertensión como la disfunción renal en ratas SHR, ya que el SRA intrarrenal

puede ser sobre activado, lo que a su vez contribuye al desarrollo de la hipertensión (Castro-Moreno *et al.*, 2012; Gallardo-Ortíz *et al.*, 2016).

La terapia con inhibidores de la ECA y antagonistas del receptor AT₁ ha demostrado ser exitosa en pacientes y ratas con hipertensión, nefropatía diabética, insuficiencia cardíaca e hipertrofia ventricular izquierda. El bloqueo del sistema renina-angiotensina en el riñón aumenta el flujo sanguíneo renal efectivo y altera la hemodinámica intrarrenal mediante la dilatación de las arteriolas eferentes, causando así una caída de la presión intraglomerular, que explica la antiproteinuria y la renoprotección, efectos más allá de los atribuibles a la disminución de la presión arterial por sí misma (Castro-Moreno *et al.*, 2012).

En el riñón, la inhibición aguda o crónica de la síntesis del NO produce vasoconstricción arteriolar y retención de sodio y agua, así la deficiencia de NO está relacionada con una disminución del flujo sanguíneo renal que contribuye de esta manera al desarrollo de la hipertensión arterial. Al comparar la reactividad a fenilefrina en la vasculatura renal de ratas normotensas Wistar Kyoto-Yokamoto (WKY) y espontáneamente hipertensas de 3 y 6 meses de edad, se observa una disminución significativa en la respuesta en las ratas espontáneamente hipertensas, que a lo largo del tiempo condiciona daño en la barrera glomerular e incrementa la salida de proteínas, con lo que se modifica el contenido de espacio intersticial y favorece la retención de Na⁺ sistémico, por lo que la hipertensión se establece y la nefropatía hipertensiva progresa a la insuficiencia renal crónica. De esta manera, la rata WKY posee una mayor capacidad contráctil vascular para accionar los mecanismos de autorregulación renal (Sosa *et al.*, 2005).

Se ha mostrado que la contracción mediada por catecolaminas promueve la proliferación y la hipertrofia en el músculo liso del sistema urinario y en las células del músculo liso vascular, así como de los fibroblastos adventicios. La nefropatía diabética se caracteriza por una serie de cambios ultraestructurales, incluyendo daño glomerular y tubular como hipertrofia, expansión mesangial, glomeruloesclerosis y fibrosis tubulointersticial (Zhao *et al.*, 2014). La literatura

sobre la expresión del receptor AT₁ en el riñón en condiciones diabéticas es conflictiva. Varios investigadores han establecido que la densidad del receptor AT₁ glomerular se reduce significativamente en la rata diabética inducida por STZ. Sin embargo, otros estudios mostraron sobrerregulación del receptor AT₁ en modelos diabéticos, especialmente en el modelo de diabetes tipo 2. Una de las posibles razones es la secreción de insulina que es diferente entre el modelo diabético tipo 1 y tipo 2. La insulina provocaría la regulación positiva del receptor AT₁ en las células mesangiales *in vitro*, así como *in vivo* (Xu *et al.*, 2009). La interacción de la Ang II con los receptores AT₁ intrarrenales presentes en las células mesangiales globulares, células tubulares y células intersticiales, también ha sido implicada en la progresión de la nefropatía diabética. La ECA glomerular parece estar regulada positivamente en la diabetes temprana tanto en ratas como en seres humanos y la hiperglucemia puede aumentar la síntesis de Ang II de los túbulos proximales (Wehbi *et al.*, 2001). Existen datos que sugieren que los inhibidores de la ECA mejoran la función selectiva del tamaño de la barrera glomerular en la enfermedad renal experimental y humana. Una reducción en la excreción urinaria de proteínas se correlaciona con la función renal mejorada y la supervivencia en la enfermedad renal no diabética y diabética (Kumar *et al.*, 2016).

3. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de enfermedades crónico degenerativas como la hipertensión y la diabetes mellitus está en aumento. Estas patologías son multifactoriales por lo que se han propuesto diversos mecanismos para explicar su génesis y progresión. Se sabe que la activación del sistema renina angiotensina produce un aumento en la respuesta adrenérgica, que incide directamente sobre la vasculatura durante la hipertensión arterial. Por otro lado, no se conoce si la angiotensina II influye sobre la respuesta adrenérgica en el riñón durante la diabetes mellitus. Por lo anterior, es trascendental abundar en la interacción entre la angiotensina II y la respuesta adrenérgica en la vasculatura y en el riñón durante esta patología.

4. HIPÓTESIS

La angiotensina II aumenta la respuesta adrenérgica α_{1D} en la aorta y en el riñón de rata durante la hipertensión arterial y la diabetes mellitus.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la influencia de la angiotensina II en la respuesta adrenérgica en la hipertensión arterial y en la diabetes mellitus.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la angiotensina II sobre la respuesta contráctil adrenérgica en el riñón aislado de ratas con hipertensión arterial y con diabetes mellitus.
- Determinar el efecto de la angiotensina II sobre la respuesta contráctil adrenérgica en la arteria aorta de rata con hipertensión arterial y con diabetes mellitus.

- Evaluar el efecto de la inhibición de la angiotensina II en los niveles de proteína del receptor a angiotensina II AT₁ en ratas con diabetes mellitus.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Modelo experimental

Como modelos experimentales se dispuso de ratas macho de la cepa Wistar de 8 semanas de edad de 300 ± 50 g de peso para imitar las patologías bajo situación controlada. Los animales se alojaron en jaulas a una temperatura ambiente de $25 \pm 2^\circ$ C, con un ciclo de luz oscuridad de 12 h, con acceso *ad libitum* de alimento durante todo el estudio y con el control de agua. Se separaron en jaulas por grupos conforme su tratamiento correspondiente. Los animales son cuidados conforme a los lineamientos establecidos en las regulaciones federales para el uso y cuidado de los animales de laboratorio según los aspectos normativos; NOM-062-ZOO-1999.

6.2 Protocolo experimental

Para los estudios las ratas se dividieron en seis grupos experimentales; 1. Grupo control; normoglucémico y normotenso. 2. Grupo control con administración del fármaco captopril. 3. Grupo experimental deficiente de óxido nítrico con administración de L-NAME. 4. Grupo experimental deficiente de óxido nítrico con administración de L-NAME y captopril. 5. Grupo experimental de diabetes mellitus inducida por estreptozotocina. 6. Grupo experimental de diabetes mellitus inducida por estreptozotocina y administración de captopril, Tabla 2.

Tabla 2. Grupos experimentales. Clasificación de los grupos experimentales con su correspondiente clave de identificación.

	GRUPOS EXPERIMENTALES	CLAVE DEL GRUPO
1	Control normoglucémico y normotenso	Control
2	Control con administración de captopril	Captopril
3	Con hipertensión arterial	L-NAME
4	Con hipertensión arterial más captopril	L-NAME + C
5	Con diabetes mellitus	STZ
6	Con diabetes mellitus más captopril	STZ + C

Se hizo un registro del consumo de agua diario para ajustar las dosis de los fármacos correspondientes en relación a su peso. La presión arterial se midió por el método de pletismografía en la cola de las ratas consientes. El índice de glucosa se midió con tiras reactivas en el glucómetro. Al llegar a la edad de 12 semanas; después de cuatro semanas de tratamiento las ratas se sacrificaron para realizar los estudios correspondientes.

6.2.1 Descripción de los fármacos y los tratamientos

La dosis de captopril (N-[(S)-3-Mercapto-2-metilpropionil]-L-prolina) suministrada es 30 mg·kg⁻¹ (Gutiérrez-Pérez *et al.*, 2013) diluida en las botellas del agua de bebida, durante dos semanas (Rivera-Jardón *et al.*, 2009).

La inducción de la hipertensión arterial en las ratas del grupo 3 y 4 es con L-NAME (clorhidrato de N_ω-Nitro-L-arginina metil ester) 50 mg·kg⁻¹ (Gutiérrez-Pérez *et al.*, 2013) diluida en las botellas del agua de bebida, durante dos semanas (Rivera-Jardón *et al.*, 2009).

La inducción de diabetes mellitus en las ratas del grupo 5 y 6 es con estreptozotocina (N-(Metilnitrosocarbamoil)-α-D-glucosamina) en única dosis de 55 mg·kg⁻¹ por inyección vía intraperitoneal después de 12 a 16 h de ayuno (Khan *et al.*, 2009).

BMY 7378 (diclorhidrato de 8-[2-[4-(2-Metoxifenil)-1-piperazinil]etil]-8-azaspiro [4.5] decano-7, 9-diona). Agonista parcial de los receptores 5-HT_{1A}. Antagonista selectivo para el subtipo de los receptores adrenérgicos α_{1D} (pK_i

8.2 ± 0.06 en rata) y tiene una alta afinidad (pA_2 8.9 ± 0,1) por los adrenoreceptores α_1 de la aorta de rata. Herramienta útil para discriminar subtipos de receptores adrenérgicos que participan en la contracción (Goetz *et al.*, 1995; Villalobos-Molina *et al.*, 1999).

6.3 Reactividad renal

Las ratas fueron privadas de comida 12 h antes del experimento para el estudio funcional del riñón. Las ratas se someten a anestesia con la aplicación de pentobarbital sódico (5-Etil-5-(1-metilbutil)-2,4,6 trioxohexa-hidropirimidina), por inyección vía intraperitoneal 60 mg·kg⁻¹ (Sosa *et al.*, 2005) a nivel del epigastrio. El tiempo de latencia fue entre 10 y 15 min, una vez en estado somnífero se procedió a hacer una laparotomía longitudinal, hasta exponer el riñón derecho. Se disecó la arteria renal derecha, la arteria aorta abdominal, la arteria mesentérica superior y la vena porta. Para eliminar las glándulas suprarrenales se decapsuló el riñón, mediante sutura se cerró el flujo sanguíneo en cada arteria disecada; la sutura en la arteria renal derecha asegura el catéter que es introducido para canular el riñón a través de la arteria mesentérica. Se extrae el riñón y es colocado en el sistema para órgano aislado y perfundido.

Para medir la presión de perfusión renal se empleó el modelo de órgano aislado perfundido, en donde se emplea un aparato que integra un circuito con dos bombas y dos líquidos circulantes. Un circuito cerrado con agua destilada que tiene como objeto mantener la temperatura a 37° Celsius, y el otro circuito conectado a una bomba peristáltica donde se perfundió el riñón con una solución amortiguadora de Krebs-Henseleit con la siguiente composición: 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.2 mM MgSO₄·7H₂O, 2.5 mM CaCl₂·2H₂O, 20 mM NaHCO₃, 11.7 mM glucosa y 0.026 mM EDTA. Con un pH de 7.4. La solución Krebs permaneció en burbujeo constante con carbógeno en una mezcla de gases de 95% O₂ y 5% CO₂. El flujo de perfusión se ajustó a 10ml·min⁻¹ para obtener una presión de perfusión basal. Los cambios en la presión de perfusión se midieron utilizando un sensor de presión acoplado a un transductor Grass FT03 (astro-med,

Inc. WestWarwik, RI, EE. UU.), adaptado a un sistema de adquisición de datos MP100 (Biopac System Inc. Santa Barbara, California, EE. UU.).

Después de un período de estabilización, se evaluaron las respuestas renovasculares (cambios en la presión de perfusión), se realizaron curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de fenilefrina con administración en bolo en los riñones derechos de las ratas de los diferentes tratamientos. La fenilefrina es un agonista adrenérgico α , que posteriormente se elimina por lavado, a continuación la reactividad se mide nuevamente en presencia de antagonista BMY 7378 (específico α_{1D}), para determinar la participación directa de estos receptores. El antagonista se incubó durante 30 minutos previo a las siguientes curvas del agonista. Las curvas se realizaron con volúmenes de 10 μ L de fenilefrina con las siguientes concentraciones: [1×10^{-6} M], [3.16×10^{-6} M], [1×10^{-5} M], [3.16×10^{-5} M], [1×10^{-4} M], [3.16×10^{-4} M], [1×10^{-3} M], [3.16×10^{-3} M] y [1×10^{-2} M]. Para determinar la participación contráctil de los receptores adrenérgicos α_{1D} , se utilizó la bomba de infusión continua con concentraciones crecientes de antagonista BMY 7378. Con los rangos de concentración [3.16×10^{-9} M], [1×10^{-8} M] y [3.16×10^{-9} M]. Para controlar una respuesta de la activación inespecífica de la fenilefrina a los receptores adrenérgicos α_2 , se añadió 100 μ L rauwalscina (clorhidrato de 17 α -Hidroxi-20 α -yohimban-16 β -ácido carboxílico metil ester) a una concentración de [1×10^{-7} M]. Para inhibir el efecto de los receptores β adrenérgicos se agregó 100 μ L de propranolol clorhidrato de (\pm)-1-Isopropilamino-3-(1-naftiloxi)-2-propanol [1×10^{-7} M] (Sosa *et al.*, 2005) por litro en la solución Krebs-Henseleit. Al término del experimento se pesa el riñón y se reserva para análisis posterior.

6.4 Reactividad vascular

Para el estudio funcional vascular, después del procedimiento del aislamiento del riñón derecho se continúa con la disección de la arteria aorta en la región torácica para determinar la reactividad vascular. Una vez disecada la arteria se limpia del tejido conectivo y graso. Las aortas aisladas se cortaron en anillos de 4 a 5 mm de longitud, a los anillos les fue removido el endotelio frotando

suavemente la superficie interna de los vasos con un estilete metálico de superficie rugosa. Cada anillo se colocó con ganchos metálicos en cámaras para órgano aislado que contenían 10 ml de solución amortiguadora Krebs-Henseleit. Las cámaras para órgano aislado se mantuvieron a condiciones fisiológicas (37° Celsius, pH 7.4) y con burbujeo constante con una mezcla gases de 95% O₂ y 5% CO₂. Cada anillo arterial se montó en dos ganchos de níquel; el extremo de uno de los ganchos se fijó al fondo de la cámara y con el otro gancho se fijó a un transductor de tensión (Grass FT03 force displacement transducer; Astro-Med, Inc. West Warwick, RI, USA), conectado a un sistema de adquisición de datos (MP100; Biopac Systems Inc. Santa Bárbara, CA, USA), para registrar los cambios de fuerza en la tensión isométrica desarrollados por los anillos arteriales (Godínez *et al.*, 2006). Los anillos se sometieron a una tensión inicial de 3 g y se sensibilizaron 3 veces con una concentración de fenilefrina [3.16x10⁻⁶M], después de contraer por tercera vez los anillos, y antes del lavado, fueron expuestos a carbacol [1x10⁻⁴M] concentración final. Se obtuvieron curvas concentración-respuesta graduales a fenilefrina de [1x10⁻⁹M], [3.16x10⁻⁹M], [1x10⁻⁸M], [3.16x10⁻⁸M], [1x10⁻⁷M], [3.16x10⁻⁷M], [1x10⁻⁶M] y [3.16x10⁻⁶M], inicialmente una curva control, después se realizaron curvas concentración-respuesta en presencia de concentraciones crecientes del antagonista selectivo α_{1D} BMY 7378 ([3.16x10⁻⁹M] y [1x10⁻⁸M]), adicionado 30 minutos antes de realizar la curva al agonista. Todas las curvas se realizaron en presencia de rauwolscina [1x10⁻⁷M] y propranolol [1x10⁻⁷M], con el objetivo de antagonizar las respuestas mediadas por los receptores adrenérgicos α_2 y β y registrar solamente las respuestas mediadas por los receptores adrenérgicos α_1 .

6.5 Determinación de los niveles proteicos de los receptores a angiotensina tipo 1

Se determina la abundancia de la proteína de los receptores a angiotensina tipo 1 (AT₁) por medio de un análisis por Western blot en muestras de riñón.

El riñón (corteza y médula renal) de los animales de los 6 grupos se trató individualmente con ayuda de un homogeneizador (Polytron; DragonLab) en 500µl de buffer de lisis, y se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 min a 4° Celsius.

La concentración de proteínas del sobrenadante se determinó con el Método modificado de Bradford. La curva se construyó a partir de una solución madre de 1 µg/µl de albúmina sérica bovina. En el caso de las muestras, se agregaron 4 µl del homogenizado y agua destilada para un volumen de 800µl. Tanto a la curva de calibración como a las muestras se les agregaron 200 µl de reactivo de Bradford, se mezcló cada tubo y se leyó la absorbancia a 595 nm.

Se construyó la curva de calibración en Excel (Microsoft Office) y se estimó la concentración de proteínas de las muestras, empleando la ecuación de la línea recta. Se mezclaron alícuotas de las muestras con de buffer de carga Laemmli y se desnaturalizaron por 5 minutos.

Se prepararon geles para SDS-PAGE al 8% y se cargó una cantidad de proteína constante de 50 µg de la muestra de riñón. La electroforesis se llevó a cabo durante 3 horas a 105 Volts, para separar las proteínas en función de su peso molecular en un campo eléctrico. Una vez terminada la electroforesis, las proteínas separadas presentes en el gel se transfirieron a membranas de PVDF (floruro de polivinilideno) empleando un equipo de transferencia en semihúmedo (Bio-Rad) durante 45 min a 25 Volts. Una vez realizada la transferencia, las membranas fueron bloqueadas con una proteína no específica (2.5 g leche baja en grasa en una solución de buffer de lavado TBS-T), en agitación durante 1 hora a 4° Celsius. Después, las membranas se incubaron con anticuerpo de cabra contra los receptores a angiotensina tipo 1 (\approx 43 kDa) o contra β -actina, diluidos 1:1000, en TBS-T - leche 5% a 4°C durante toda la noche, con agitación continua. Las membranas se lavaron 4 veces con TBS-T por 5 min y se incubaron con anticuerpo secundario (anti-cabra; Santa Cruz Biotechnology), diluido 1:5000 en TBS-T - leche 5% durante 1 hora a temperatura ambiente y se lavaron 4 veces con TBS-T por 5 min. Las membranas se incubaron con sustrato

quimioluminiscente (Sustrato Immobilon quimoiluminiscente de HRP para transferencias "Western"), siguiendo las recomendaciones del fabricante, posteriormente se hizo la visualización y captura con fotodocumentador (Gel Doc XR System Bio-Rad).

7. RESULTADOS

7.1. Registro del peso de las ratas en los diferentes tratamientos

El peso de las ratas se midió desde las cuatro semanas de edad, antes de iniciar el tratamiento, en la inducción de las dos patologías estudiadas y después de haber iniciado la administración de los fármacos, para un control metabólico que nos indique la salud de los animales (Figura 12).

El aumento de masa de las ratas lleva un desarrollo gradual y constante dependiente del tiempo en el grupo control con un promedio de 330 ± 17.24 g, igualmente para el grupo control con captopril a las 12 semanas 340 ± 9.6 g. El grupo con hipertensión arterial mostró un retraso en el aumento de peso en un 10% con un promedio de 295 ± 5.61 g. En el grupo con hipertensión arterial más captopril tuvo un promedio de 313 ± 9.8 g a las 12 semanas. Los grupos con diabetes presentaron retardo en el aumento de peso en un 36% con un promedio de 210 ± 5.5 g, mientras que en el grupo diabético con captopril hubo un retraso de 16% con un promedio de 276 ± 15 g exponiendo alteraciones en el metabolismo, en el que la célula al no asimilar la glucosa hace uso de las reservas energéticas del cuerpo como el tejido graso afectando los procesos relacionados con la glucosa, los lípidos y las proteínas (Deeds *et al.*, 2011). En el caso del grupo con hipertensión arterial el retraso del peso puede deberse a las modificaciones metabólicas ocasionadas por las complicaciones del sistema vascular durante el desarrollo de la patología.

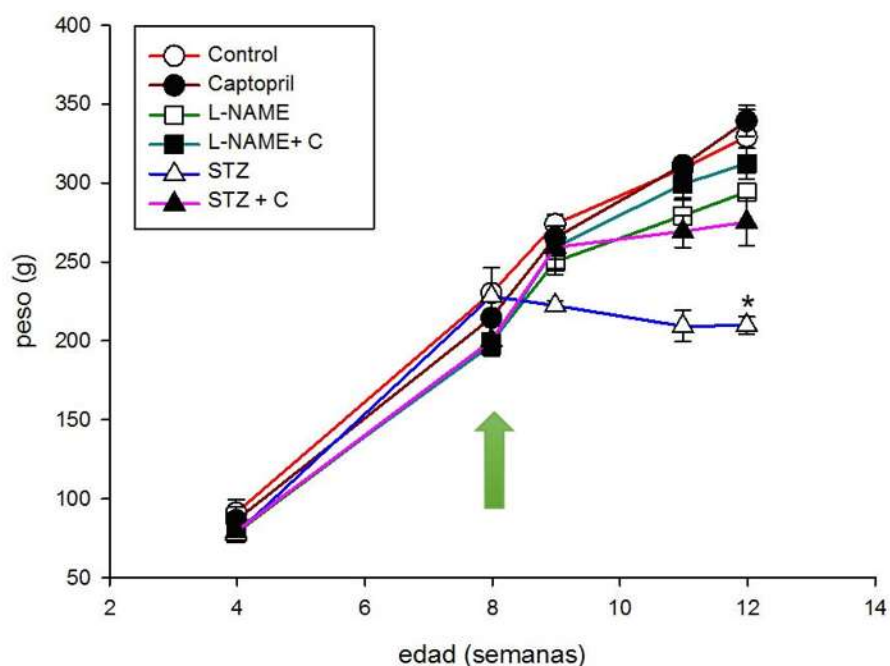


Figura 12. Peso de las ratas en los diferentes tratamientos. Registro del peso correspondiente a la edad de las ratas en semanas, la flecha indica la inducción de los tratamientos. Los resultados son el promedio \pm E.E. $n=6$, * $P < 0.05$ respecto al Control (prueba t-Student).

7.2. Registro del consumo de agua y alimento en los diferentes tratamientos

Se valoró la ingesta de agua y de alimento del modelo experimental en los seis tratamientos durante todo proceso (Figura 13), para excluir que los tratamientos farmacológicos tuvieran efectos adversos.

El consumo de agua durante las cuatro semanas del tratamiento fue de aproximadamente 50 ± 0.33 ml en el grupo control. La administración de L-NAME no tuvo efectos sobre el consumo de agua para los grupos con hipertensión arterial, ni la administración de captopril en el agua de bebida tuvo diferencia estadística en el grupo L-NAME + C. Mientras que el consumo de agua en los grupos con diabetes inducida tuvo un incremento de hasta 150%, con un promedio de consumo de 125 ± 5.6 ml de agua. En el grupo con diabetes más el tratamiento con captopril el aumento en el consumo fue de 300%, con un promedio de 200 ± 3.81 ml de agua al día por cada rata. Esto indica que el modelo experimental

diabético percibió polidipsia, un síntoma característico de esta patología (Deeds *et al.*, 2011). El grupo con diabetes más captopril tuvo tal intensificación en el consumo del agua por el trastorno hormonal al inhibir el sistema renina-angiotensina (Akhigbe *et al.*, 2011), ya que no hay estimulación por angiotensina II de la glándula adrenal para la secreción de aldosterona y como consecuencia hay pérdida de sodio y líquido en el cuerpo.

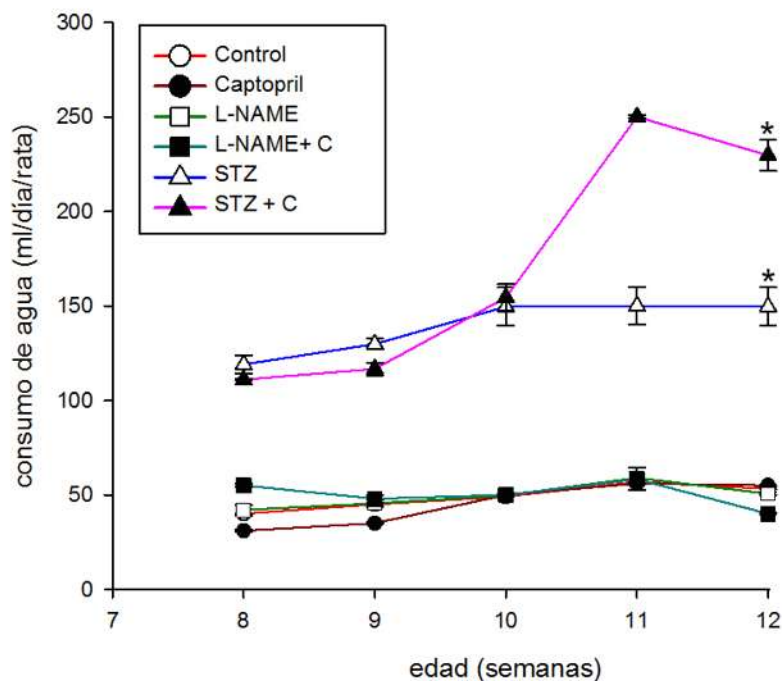


Figura 13. Consumo de agua. Se valoró el consumo de agua durante todo el tratamiento, los resultados son el promedio \pm E.E. $n=6$. * $P < 0.05$ respecto al Control (prueba t-Student).

El consumo de alimento a las 12 semanas del tratamiento fue de aproximadamente 37 ± 0.21 g en el grupo control. En el grupo L-NAME hubo un aumento en el consumo de alimento un 32% con un promedio de 49 ± 0.35 g. Para el grupo con hipertensión arterial más captopril no hubo diferencia estadística respecto al control. En los grupos con diabetes inducida hubo un incremento de 8% con un promedio de 40 ± 0.73 g de alimento a las 12 semanas. En el grupo con diabetes más el tratamiento con captopril el aumento en el consumo fue de 43% con un promedio de 53 ± 0.33 g de alimento al día por cada rata. Esto

muestra las alteraciones ocurridas en el metabolismo de las ratas en ambas patologías en el que se exhibe el síntoma clásico de polifagia (Figura 14).

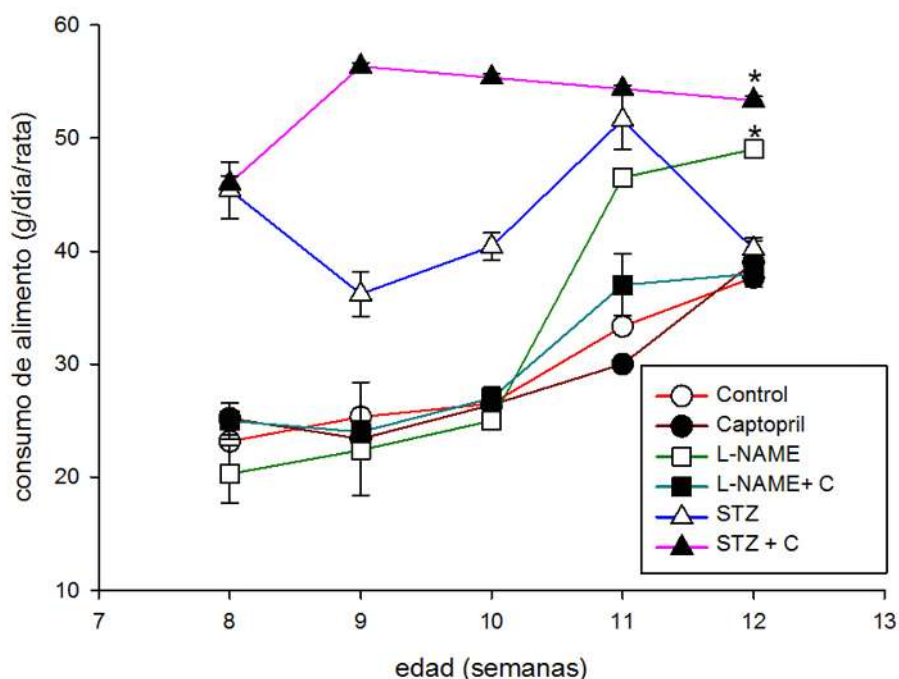


Figura 14. Consumo de alimento. Se valoró el consumo de alimento durante todo el tratamiento, los resultados son el promedio \pm E.E. n=6.*P < 0.05 respecto al Control (prueba t-Student).

7.3. Protocolo de análisis farmacológicos

En el registro de la contracción del órgano aislado, los datos representan el promedio \pm el Error Estándar de la media de 3 a 4 anillos de aorta de diferentes animales. Los valores de CE_{50} (concentración efectiva 50) y de PD_2 ($-\log CE_{50}$) se determinan en un análisis de regresión no lineal. Se emplea un modelo sigmoideo para el ajuste de las curvas concentración respuesta, con el empleo de la siguiente ecuación:

$$E = E_{\max} [A]^m / [A] + [CE_{50}]$$

Dónde: E representa el efecto farmacológico, [A] la concentración del agonista farmacológico, CE_{50} representa los parámetros de localización, m la pendiente y E_{\max} representa la asíntota de la línea (Castro-Moreno, 2006).

Los valores de pA_2 se obtuvieron por medio de un análisis de Schild (Arunlakshana y Schild, 1959).

En el registro de la presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado todos los datos se presentan como media \pm el Error Estándar de 3 a 15 ratas por grupo.

Para obtener diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), entre cada tratamiento, se realizó una Prueba t de Student.

7.4. Respuesta contráctil a fenilefrina en aorta de rata control

Se determinó la sensibilidad pD_2 , la afinidad pA_2 y efecto máximo de las arterias (sin endotelio) de rata de 12 semanas de edad en respuesta al agonista fenilefrina y para ello se efectuaron curvas concentración respuesta al agonista adrenérgico α_1 . Los resultados muestran que la fenilefrina produce una contracción dependiente de la concentración. Se determinó la participación de los subtipos de receptores adrenérgicos α_1 al adicionar un antagonista específico (BMY 7378). La Figura 15 muestra que el BMY 7378 produce un desplazamiento de manera paralela de las curvas al agonista hacia la derecha, dependiente de la concentración, lo que indica un antagonismo competitivo. Se determina la relación con el análisis de Schild del grupo control para los valores de afinidad aparente (pA_2), el cual resultó de 8.90 para el tratamiento con BMY 7378 con una pendiente de 0.82 y un coeficiente de determinación (R^2) de 0.93. La sensibilidad es de 8.25 para la curva control y el efecto máximo de 4.51 ± 0.12 g (Tabla 3).

Tabla 3. Relación farmacológica grupo control. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y afinidad aparente pA_2 .

GRUPO CONTROL	
E_{max}	4.51 ± 0.12
pD_2	8.25 ± 0.1
pA_2	8.9 ± 0.25

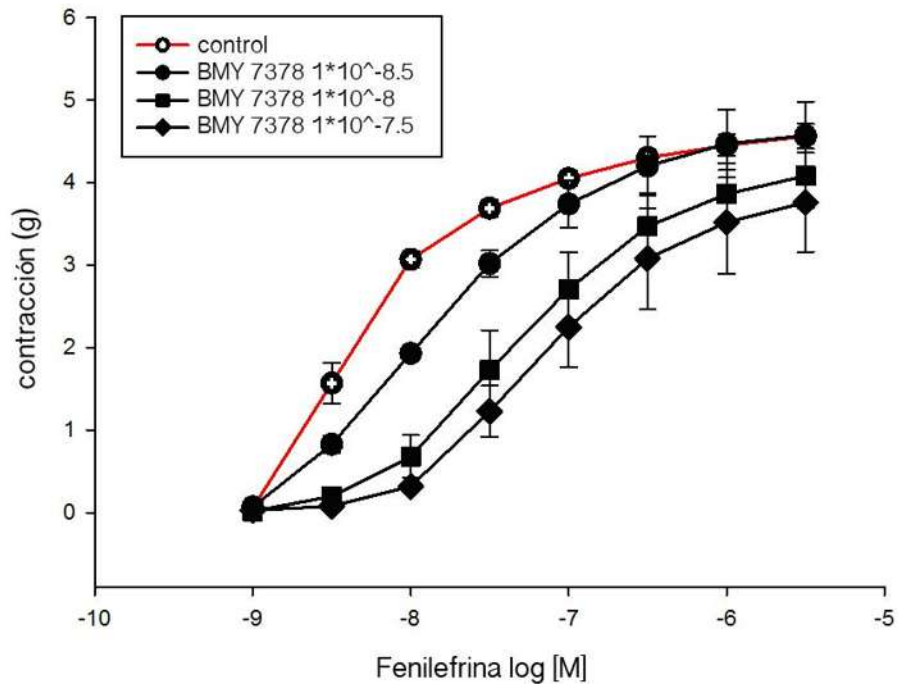


Figura 15. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata. Rata grupo control con incubación de BMY 7378, el efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE n=6.

Los valores de afinidad obtenidos ratifican que el receptor adrenérgico α_{1D} , participa de manera predominante en la respuesta contráctil mediada por la fenilefrina en la arteria aorta de rata control de 12 semanas de edad. Analizando el grupo control con captopril no se observa diferencia significativa en los resultados (Figura 16).

Analizando el grupo control con captopril no se observa diferencia significativa con respecto al control (Figura 16). Se determina la relación con el análisis de Schild del grupo control con captopril para los valores de afinidad aparente (pA_2), el cual resultó de 8.61 para el tratamiento con captopril con una pendiente de 0.76 y un coeficiente de determinación (R^2) de 0.98 (Figura 17). La sensibilidad es de 8.32 para la curva control y el efecto máximo de 5.14 ± 0.39 g (Tabla 4).

Tabla 4. Relación farmacológica grupo control con captopril. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y afinidad pA_2 en arteria aorta de rata en el grupo captopril.

GRUPO CAPTOPRIL	
E_{max}	5.14 ± 0.39
pD_2	8.32 ± 0.01
pA_2	8.61 ± 0.58

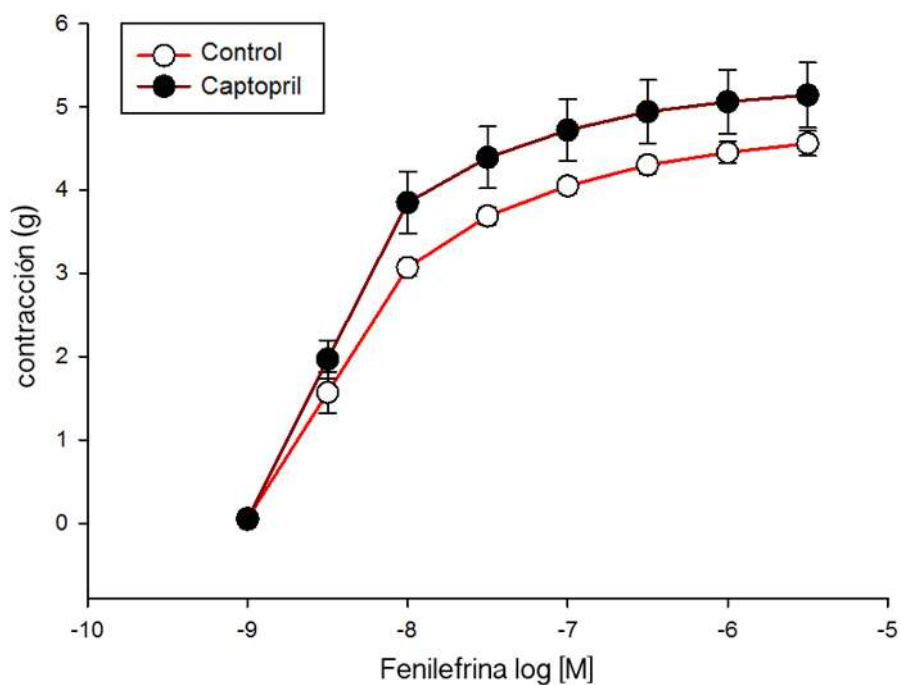


Figura 16. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada contra grupo control más captopril. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE $n=6$.

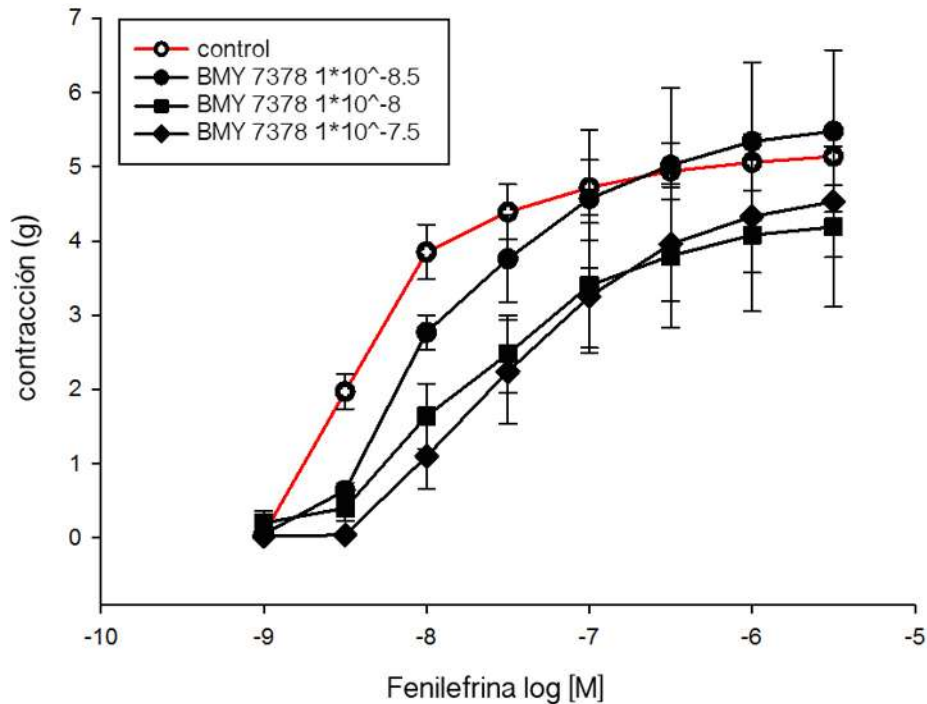


Figura 17. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control con administración de captopril. Con la incubación de BMY 7378, el efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE n=6.

7.5. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con hipertensión arterial

Para establecer la sensibilidad pD_2 , la afinidad pA_2 y efecto máximo de las arterias de rata con hipertensión arterial inducida con 12 semanas de edad en respuesta al agonista fenilefrina, se efectuaron curvas concentración respuesta al agonista adrenérgico α_1 (Figura 18).

Se muestra que la fenilefrina produce una contracción dependiente de la concentración y la hipertensión arterial ha afectado la fuerza de contracción de las arterias respecto a las arterias de rata control. El efecto máximo es de 2.85 ± 0.18 g para el grupo L-NAME, lo que muestra disminución en la respuesta a la fenilefrina en aproximadamente 37%.

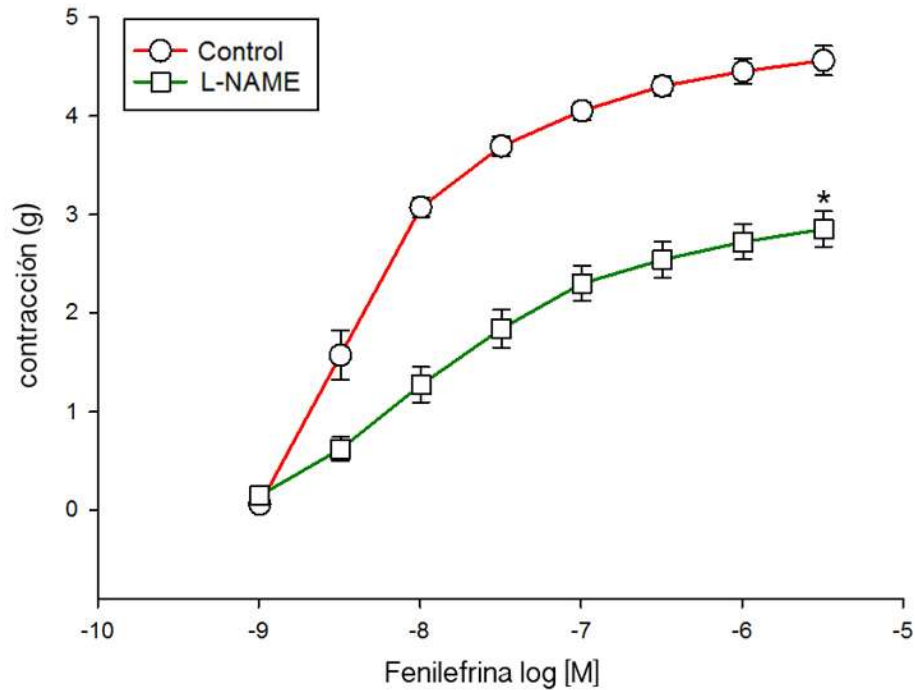


Figura 18. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada contra grupo L-NAME. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm el EE n=6. *P<0.05 (prueba t-Student).

El valor de sensibilidad representado como pD_2 para el grupo de ratas hipertensas es de 7.82 ± 0.13 ésta concentración es mayor que en el grupo control; lo que quiere decir que requiere una mayor concentración del agonista en las arterias hipertensas para producir el 50% del efecto máximo. Se sometió a contracción en respuesta al agonista en ausencia y presencia de antagonista BMY 7378. Se muestra que el BMY 7378 produce un desplazamiento de las curvas al agonista hacia la derecha, dependiente de la concentración, lo que indica antagonismo competitivo (Figura 19). Se observa a concentraciones bajas de fenilefrina en presencia del antagonista que no hay respuesta contráctil, sino hasta la cuarta estimulación a concentraciones más elevadas de fenilefrina [$3.16 \times 10^{-8} M$]. El análisis de Schild del grupo L-NAME indica valores de afinidad aparente (pA_2) para el BMY 7378 de 9.14 ± 0.45 (Tabla 5).

Tabla 5. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo L-NAME. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y afinidad pA_2 en arteria aorta de rata en el grupo control contra grupo L-NAME. Los resultados son el promedio \pm EE. * $P < 0.05$ respecto al control (prueba t-Student).

	CONTROL	L-NAME
E_{max}	4.51 ± 0.12	$2.85 \pm 0.18^*$
pD_2	8.25 ± 0.1	7.82 ± 0.13
pA_2	8.9 ± 0.25	9.14 ± 0.45

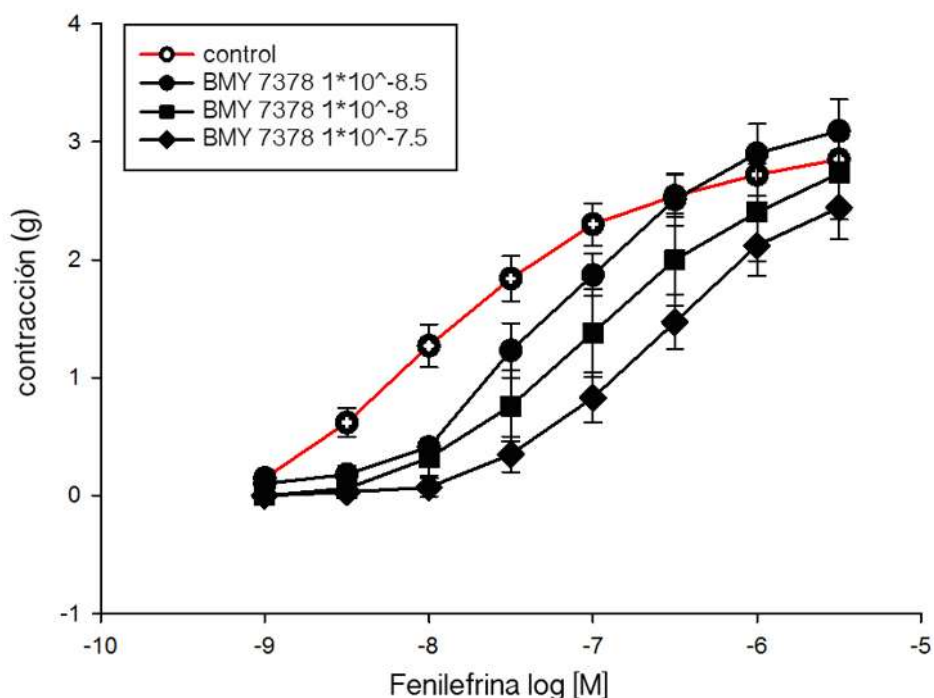


Figura 19. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo L-NAME. Con la incubación de BMY 7378. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE $n=6$.

7.6. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con hipertensión arterial después de la inhibición de la ECA

Para establecer la sensibilidad pD_2 , la afinidad pA_2 y efecto máximo en respuesta a la fenilefrina en anillos de arteria aorta de rata con hipertensión arterial y con administración de captopril durante 4 semanas, se efectuaron curvas concentración respuesta al agonista adrenérgico α_1 (Figura 20).

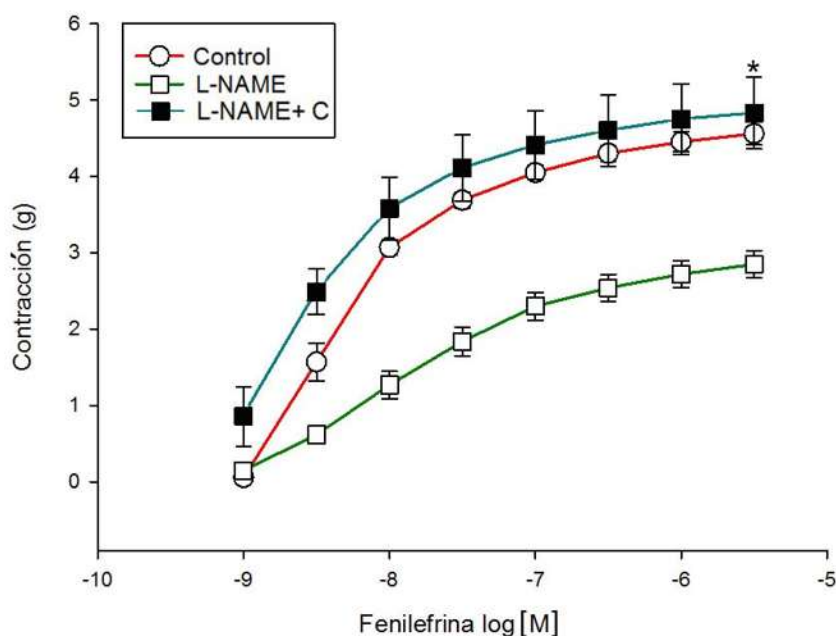


Figura 20. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada contra grupo L-NAME + C. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE n=6. *P<0.05 respecto al grupo L-NAME (prueba t-Student).

La fenilefrina produce una contracción dependiente de la concentración. La administración de captopril revierte las consecuencias de la hipertensión arterial sobre la reactividad vascular. El efecto máximo es de 4.83 ± 0.47 g para el grupo L-NAME+C hasta alcanzar el grupo control. Los anillos de aorta del grupo L-NAME+C reaccionan desde la primera concentración de fenilefrina [1×10^{-9} M], con una fuerza de contracción de 0.86 ± 0.39 g.

El valor de sensibilidad representado como pD_2 para el grupo L-NAME+C es de 8.51 ± 0.09 el cual es mayor que en el grupo L-NAME, lo que quiere decir que requiere una menor concentración del agonista para producir el 50% del efecto máximo. Se expuso a contracción en respuesta al agonista en ausencia y presencia de concentraciones crecientes del antagonista BMY 7378. Se muestra que el BMY 7378 produce un desplazamiento de las curvas al agonista hacia la derecha, dependiente su concentración (Figura 21). Se hace la determinación de

la relación con el análisis de Schild del grupo L-NAME + C para los valores de afinidad aparente (pA_2) por el BMY 7378, el cual resultó de 8.89 ± 0.68 (Tabla 6).

Tabla 6. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo L-NAME más captopril. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y afinidad pA_2 , en arteria aorta de rata en el grupo control contra grupo L-NAME + C. * $P < 0.05$ respecto al grupo L-NAME (prueba t-Student).

	CONTROL	L-NAME	L-NAME + C
E_{max}	4.51 ± 0.12	2.85 ± 0.18	$4.83 \pm 0.47^*$
pD_2	8.25 ± 0.1	7.82 ± 0.13	$8.51 \pm 0.09^*$
pA_2	8.9 ± 0.25	9.14 ± 0.45	8.89 ± 0.68

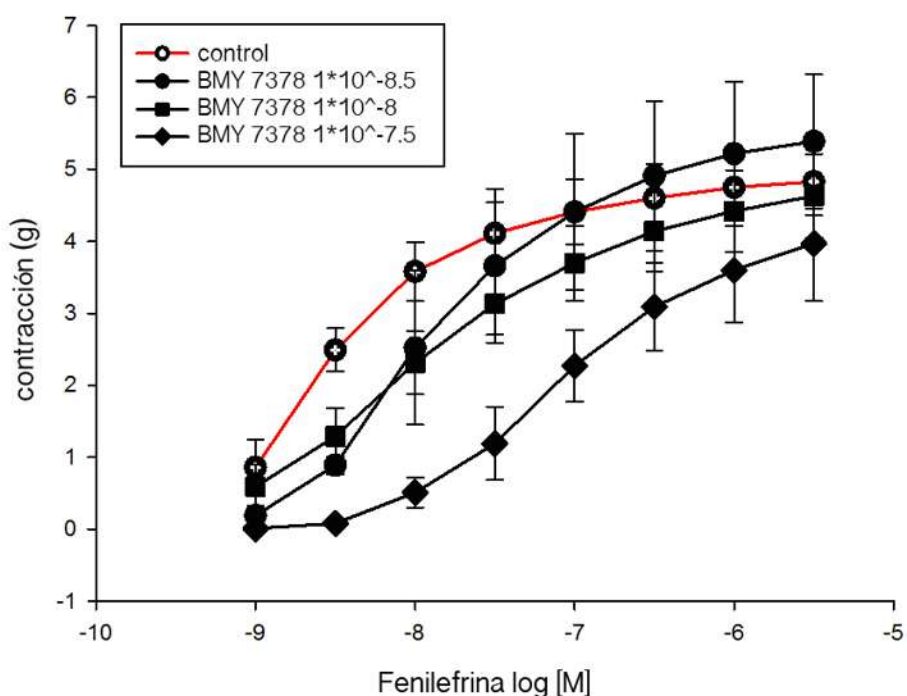


Figura 21. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo L-NAME + C. Con la incubación de BMY 7378. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE $n=6$.

7.7. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con diabetes mellitus

Se efectuaron curvas concentración respuesta a fenilefrina agonista adrenérgico α_1 para establecer la sensibilidad pD_2 , la afinidad pA_2 y efecto máximo de las arterias de rata con diabetes mellitus inducida con estreptozotocina (STZ) con 12 semanas de edad (Figura 22).

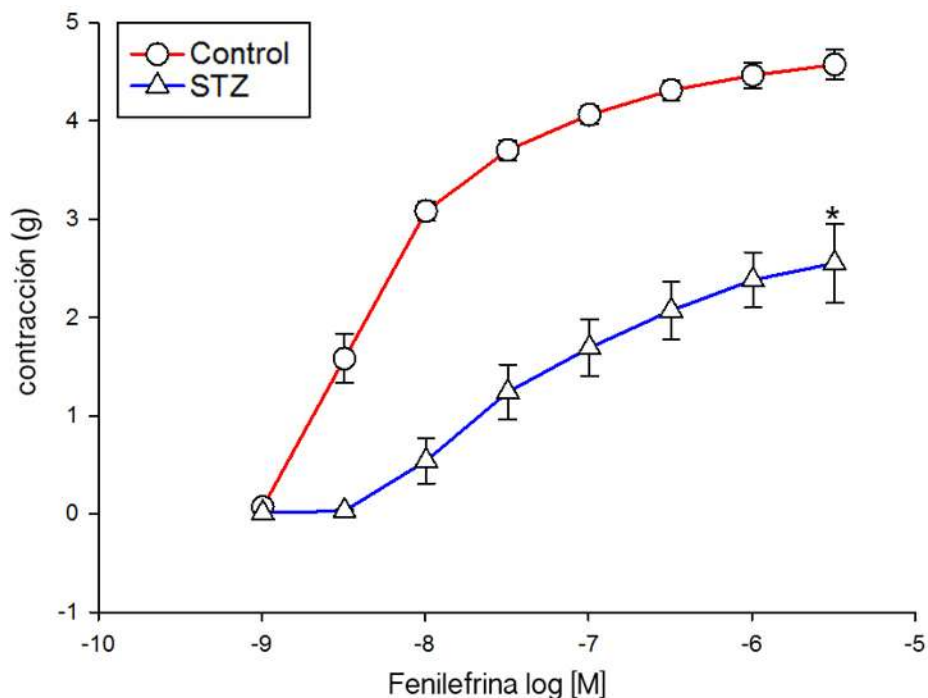


Figura 22. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de ratas grupo control comparada con grupo STZ. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE n=6. *P<0.05 (prueba t-Student).

Se muestra que la fenilefrina produce una contracción dependiente de la concentración. La diabetes mellitus ha afectado la fuerza de contracción de las arterias respecto a las arterias de rata control. El efecto máximo es de $2.54 \pm 0.40g$ para el grupo STZ. Lo que muestra disminución en la respuesta a la fenilefrina de 44% aproximadamente.

El valor de sensibilidad representado como pD_2 para el grupo STZ es de 7.43 ± 0.2 lo que quiere decir que requiere una mayor concentración del agonista

para producir el 50% del efecto máximo. Se evaluó la contracción en respuesta al agonista en ausencia y presencia de concentraciones crecientes del antagonista BMY 7378. Se muestra que el BMY 7378 produce un desplazamiento de las curvas al agonista hacia la derecha, dependiente de la concentración; lo que indica antagonismo competitivo (Figura 23). Se determina la relación con el análisis de Schild del grupo STZ para los valores de afinidad aparente (pA_2), el cual resultó de 9.41 ± 0.33 (Tabla 7).

Tabla 7. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo STZ. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y afinidad pA_2 en arteria aorta de rata en el grupo control contra grupo STZ. Los resultados son el promedio \pm EE. * $P < 0.05$ (prueba t-Student).

	CONTROL	STZ
E_{max}	4.51 ± 0.12	$2.54 \pm 0.40^*$
pD_2	8.25 ± 0.1	$7.43 \pm 0.20^*$
pA_2	8.9 ± 0.25	9.41 ± 0.33

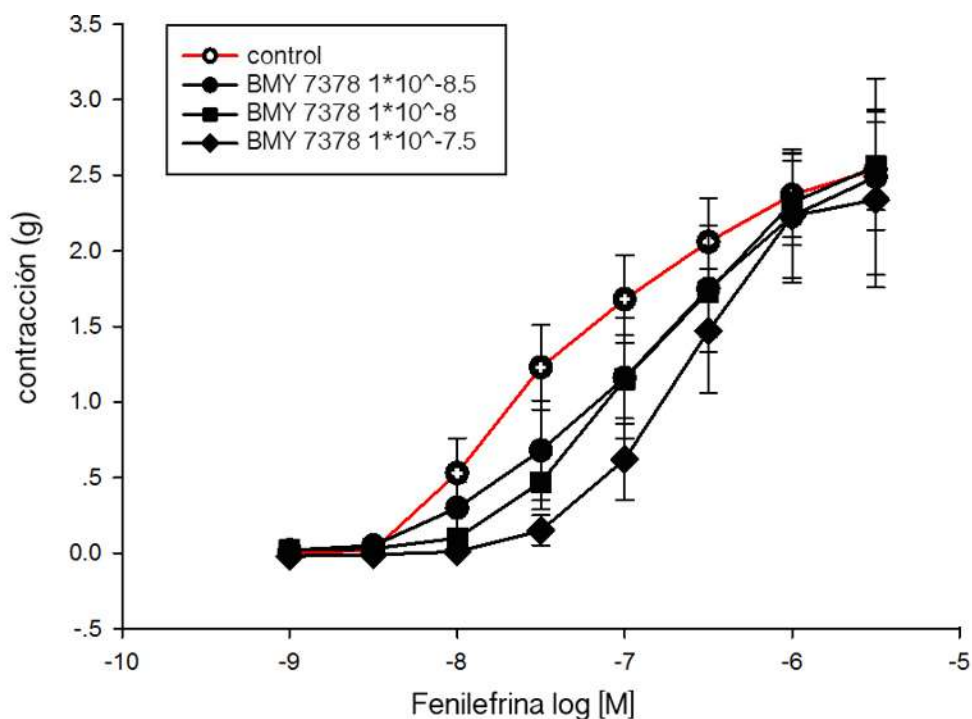


Figura 23. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo STZ. Con la incubación de antagonista BMY 7378. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE $n=6$.

7.8. Respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con diabetes mellitus después de la inhibición de la ECA

Para establecer la sensibilidad pD_2 , la afinidad pA_2 y efecto máximo en respuesta a la fenilefrina en anillos de arteria aorta de rata con diabetes mellitus con administración de captopril y durante 4 semanas, se efectuaron curvas concentración respuesta al agonista adrenérgico α_1 (Figura 24).

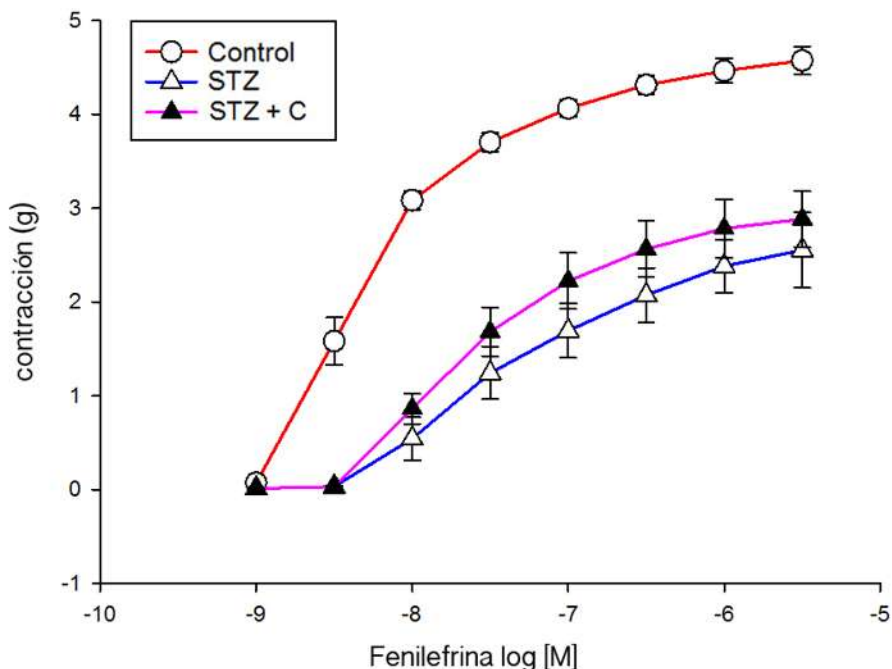


Figura 24. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo control comparada con grupo STZ + C. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE n=6.

La fenilefrina produce una contracción dependiente de la concentración. La inhibición de la ECA no ha detenido las consecuencias de la diabetes mellitus. La fuerza de contracción de las arterias disminuye respecto a las arterias de rata control. El efecto máximo es de 2.87 ± 0.30 g para el grupo STZ+C. Lo que muestra disminución en la respuesta a la fenilefrina en un 37%. El valor de sensibilidad representado como pD_2 es de 7.71 ± 0.03 lo que quiere decir que requiere una mayor concentración del agonista para producir el 50% del efecto máximo. Los anillos de arteria aorta de rata con diabetes mellitus más tratamiento

con captopril se sometieron a contracción en respuesta a la fenilefrina en ausencia de antagonista BMY 7378 como curva control y en presencia de concentraciones crecientes del antagonista. Se muestra que el BMY 7378 produce un desplazamiento de las curvas al agonista hacia la derecha, dependiente de la concentración; lo que indica antagonismo competitivo (Figura 25). Se determina la relación con el análisis de Schild del grupo STZ + C para los valores de afinidad aparente (pA_2), el cual resultó de 7.93 ± 0.05 , presentando menor afinidad hacia el BMY 7378 por los receptores adrenérgicos α_{1D} (Tabla 8).

Tabla 8. Relación farmacológica grupo control comparado con grupo STZ más captopril. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} , afinidad pA_2 en arteria aorta de rata en el grupo control contra grupo STZ +capto. Los resultados son el promedio \pm EE. * $P < 0.05$ (prueba t-Student) respecto al control.

	CONTROL	STZ	STZ + C
E_{max}	4.51 ± 0.12	2.54 ± 0.40	$2.87 \pm 0.30^*$
pD_2	8.25 ± 0.1	7.43 ± 0.20	$7.71 \pm 0.03^*$
pA_2	8.9 ± 0.25	9.41 ± 0.33	7.93 ± 0.05

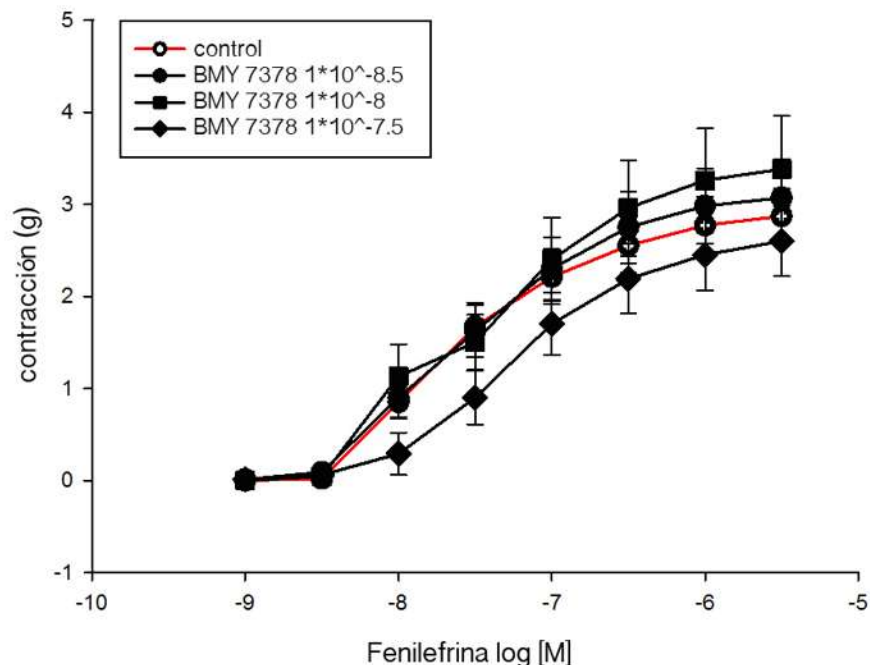


Figura 25. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta de rata grupo STZ +C. Con incubación de antagonista BMY 7378. El efecto del agonista se muestra como fuerza de contracción en gramos. Los resultados son el promedio \pm EE n=6.

7.9. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado

Se sometió a prueba el riñón de rata de 12 semanas de edad acoplado a un sistema de órgano aislado para evaluar la respuesta inducida por fenilefrina (Figura 26). El agonista α_1 indujo una contracción dependiente de la concentración en la vasculatura de los riñones aislados de todos los grupos de ratas, representado como delta del aumento de la presión de perfusión en mmHg. Para probar la especificidad de la respuesta adrenérgica del receptor α_{1D} en el riñón de rata, se agregó BMY 7378 ($[1 \times 10^{-8} \text{M}]$, $[3.16 \times 10^{-8} \text{M}]$ y $[1 \times 10^{-7} \text{M}]$), antes y durante la curva a fenilefrina por medio de una bomba de infusión continua a una velocidad de 5 ml/min. No se observa un desplazamiento claro de las curvas concentración respuesta, indicando baja interacción entre el antagonista y el receptor adrenérgico α_{1D} en la funcionalidad de la vasculatura renal de ratas. Con un efecto máximo delta 169.73 ± 9.41 mmHg, presión de perfusión basal 69.33 ± 2.03 mmHg y CE_{50} de $[2.5 \times 10^{-4} \text{M}]$, sensibilidad representada como pD_2 de 3.59 ± 0.07 . La relación se determina con el análisis de Schild del grupo control para los

valores de afinidad aparente (pA_2), el cual resultó de 6.37 para el tratamiento con BMY 7378 (Tabla 9), al mostrar una afinidad resistente (6.6 ± 0.12 conforme la base de datos de IUPHAR, Dianne *et al.*, 2015) señalando baja interacción entre el BMY 7378 por el receptor adrenérgico α_{1D} .

Tabla 9. Relación farmacológica en riñón de grupo control. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} , presión de perfusión basal (PPB) y afinidad aparente pA_2 en riñón de rata control. Los resultados son el promedio \pm EE.

GRUPO CONTROL	
E_{max}	169.73 ± 9.41
PPB	69.33 ± 2.03
pD_2	3.59 ± 0.07
pA_2	6.37

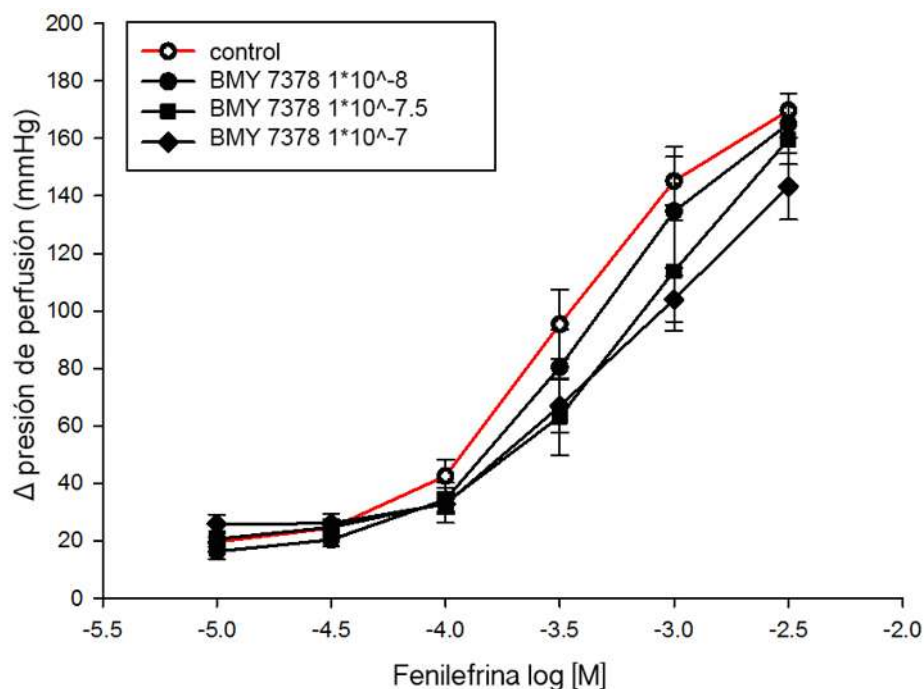


Figura 26. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control. Con infusión continua de antagonista BMY 7378. El efecto del bolo de $10\mu l$ de fenilefrina se muestra como delta de la presión de perfusión en mmHg. Los resultados son el promedio \pm EE $n=3$.

La respuesta a fenilefrina fue similar en las tres curvas con infusión continua del antagonista BMY 7378 comparada con la curva control. Esto muestra que el receptor adrenérgico α_{1D} participa en la respuesta contráctil mediada por

fenilefrina en el riñón rata control de 12 semanas de edad; sin embargo su participación no es predominante.

Se realizaron curvas concentración respuesta a fenilefrina en riñón de rata control con administración de captopril durante 4 semanas. El agonista α_1 indujo una contracción en la vasculatura renal de los riñones representado como delta de la presión de perfusión en mmHg (Figura 27). Con un efecto máximo delta 162.11 ± 18.50 mmHg, presión de perfusión basal 82.99 ± 9.43 mmHg y CE_{50} de $[6.7 \times 10^{-5} M]$, sensibilidad representada como pD_2 de 4.13 ± 0.15 . La inhibición de la ECA en el grupo control aumentó la sensibilidad por el agonista al presentar un pD_2 mayor que el grupo control sin tratamiento (Tabla 10).

Tabla 10. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo control más captopril. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y PPB en riñón de rata control con captopril comparado contra rata control. Los resultados son el promedio \pm EE n=6. * $P < 0.05$ (prueba t-Student).

	CONTROL	CAPTOPRIL
E_{max}	169.73 ± 9.41	162.11 ± 18.50
PPB	69.33 ± 2.03	82.99 ± 9.43
pD_2	3.59 ± 0.07	$4.13 \pm 0.15^*$

El efecto de la fenilefrina en concentraciones medias de $[3.16 \times 10^{-5} M]$ y $[1 \times 10^{-4} M]$ aumentó respecto a la presión de perfusión del grupo control sin tratamiento.

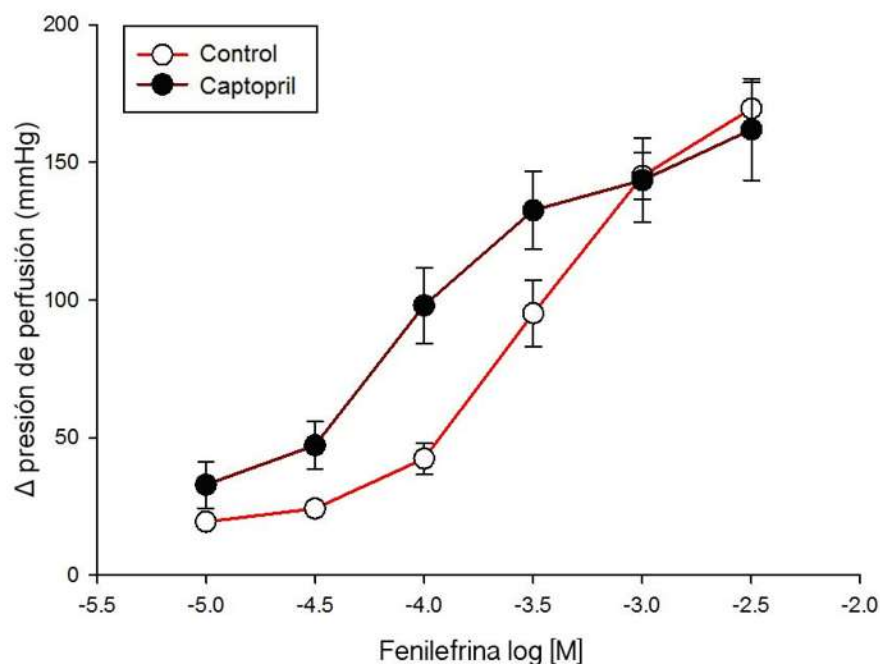


Figura 27. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo control más captopril. El efecto del bolo de 10 μ l de fenilefrina se muestra como delta de la presión de perfusión en mmHg. Los resultados son el promedio \pm EE n=6.

7.10. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con hipertensión arterial

Se realizan curvas concentración respuesta a fenilefrina en riñón de rata con hipertensión arterial de 12 semanas de edad. El agonista α_1 induce una respuesta en la vasculatura de los riñones representado como delta de la presión de perfusión en mmHg (Figura 28). Con un efecto máximo delta 178.84 ± 8.73 mmHg, presión de perfusión basal 109.02 ± 6.14 mmHg y CE_{50} de $[1.3 \times 10^{-4} M]$, sensibilidad representada como pD₂ de 3.74 ± 0.08 . El desarrollo de la hipertensión arterial tuvo un efecto en la presión basal con una diferencia significativa mayor respecto del grupo control (Tabla 11).

Tabla 11. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo L-NAME. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y PPB en riñón de rata con hipertensión arterial comparado contra rata control. Los resultados son el promedio \pm EE. * $P < 0.05$ (prueba t-Student).

	CONTROL	L-NAME
E_{max}	169.73 ± 9.41	178.84 ± 8.73
PPB	69.33 ± 2.03	$109.02 \pm 6.14^*$
pD_2	3.59 ± 0.07	3.74 ± 0.08

El efecto de la fenilefrina en concentraciones medias de $[1 \times 10^{-5}M]$, $[3.16 \times 10^{-5}M]$ y $[1 \times 10^{-4}M]$ aumentó respecto a la presión de perfusión del grupo control sin tratamiento. Lo que indica que la sensibilidad de los receptores adrenérgicos α_1 en el riñón está modificada durante la hipertensión arterial.

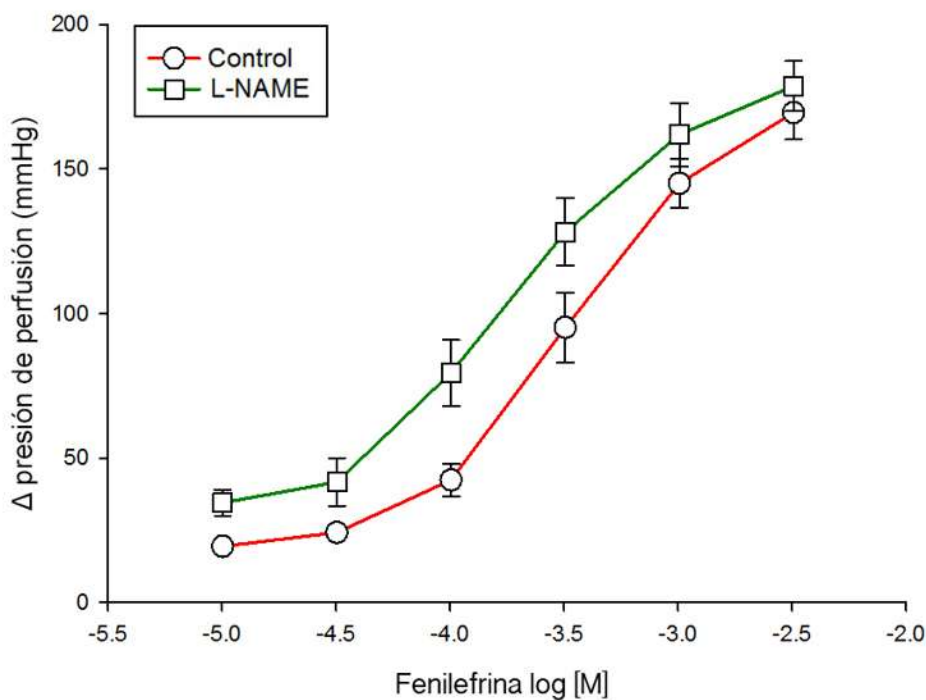


Figura 28. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo L-NAME. El efecto del bolo de $10 \mu l$ de fenilefrina se muestra como delta de la presión de perfusión en mmHg. Los resultados son el promedio \pm EE $n=10$.

7.11. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con hipertensión arterial después de la inhibición de la ECA

Se realizan curvas concentración respuesta a fenilefrina en riñón de rata con hipertensión arterial y administración de captopril durante 4 semanas (Figura 29). El grupo de L-NAME+C presentó un efecto máximo delta de 194.66 ± 10.30 mmHg, presión de perfusión basal 78.12 ± 1.27 mmHg (que es menor que el grupo L-NAME), una CE_{50} de $[9.4 \times 10^{-5} M]$ y una sensibilidad representada como pD_2 de 3.97 ± 0.10 .

La inhibición de la ECA durante la hipertensión arterial mostró un cambio en la sensibilidad de los receptores adrenérgicos α_1 a nivel renal; en el grupo L-NAME + C aumentó la reactividad de la población de receptores α_1 por el antagonista al presentar un pD_2 mayor que el grupo control (Tabla 12).

Tabla 12. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo L-NAME más captopril. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y presión de perfusión basal PPB en riñón de rata con hipertensión arterial más captopril. Los resultados son el promedio \pm EE $n=6$. * $P < 0.05$ (prueba t-Student) respecto al grupo control, ** $P < 0.05$ respecto al grupo L-NAME.

	CONTROL	L-NAME	L-NAME+C
E_{max}	169.73 ± 9.41	178.84 ± 8.73	194.66 ± 10.30
PPB	69.33 ± 2.03	109.02 ± 6.14	$78.12 \pm 1.27^{**}$
pD_2	3.59 ± 0.07	3.74 ± 0.08	$3.97 \pm 0.10^*$

El efecto de la fenilefrina en concentraciones de $[3.16 \times 10^{-5} M]$, $[1 \times 10^{-4} M]$, $[3.16 \times 10^{-4} M]$, $[1 \times 10^{-3} M]$ aumentó significativamente respecto a la presión de perfusión del grupo control. Lo que indica que la sensibilidad de los receptores adrenérgicos α_1 en el riñón está modificada durante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en la hipertensión arterial.

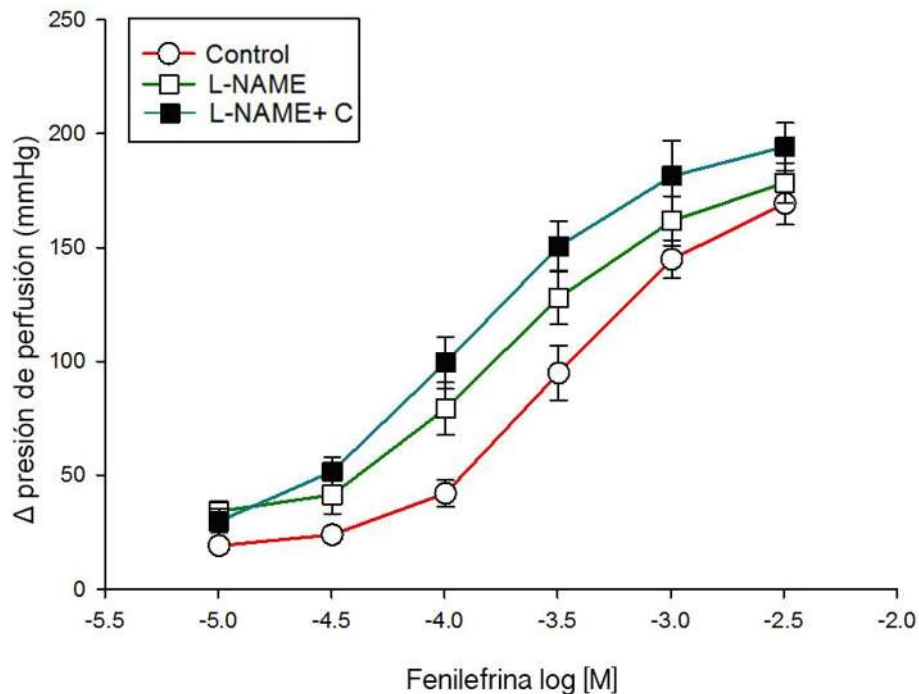


Figura 29. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo L-NAME + C. El efecto del bolo de 10 μ l de fenilefrina se muestra como delta de la presión de perfusión en mmHg. Los resultados son el promedio \pm EE n=6.

7.12. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con diabetes mellitus

Se realizan curvas concentración respuesta a fenilefrina en riñón de rata con diabetes mellitus de 12 semanas de edad (Figura 30). Los resultados indican un efecto máximo delta 169.40 ± 23.30 mmHg, un incremento en la presión de perfusión basal 88.35 ± 2.25 mmHg y CE_{50} de $[1.7 \times 10^{-4}M]$, sensibilidad representada como pD_2 de 3.65 ± 0.07 (Tabla 13).

Tabla 13. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo STZ. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y presión de perfusión basal (PPB) en riñón de rata con diabetes mellitus comparado contra rata control. * $p < 0.05$ respecto al grupo control (prueba t-Student). Los resultados son el promedio \pm EE.

	CONTROL	STZ
E_{max}	169.73 ± 9.41	169.40 ± 23.30
PPB	69.33 ± 2.03	$88.35 \pm 2.25^*$
pD_2	3.59 ± 0.07	3.65 ± 0.07

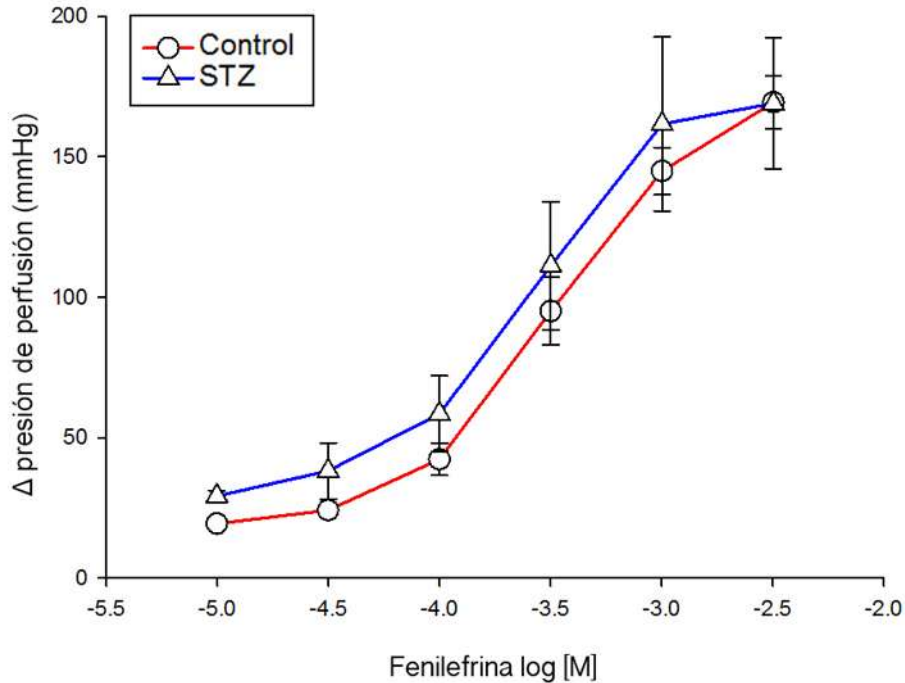


Figura 30. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo STZ. El efecto del bolo de 10 μ l de fenilefrina se muestra como delta de la presión de perfusión en mmHg. Los resultados son el promedio \pm EE n=3.

7.13. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón aislado de rata con diabetes mellitus después de la inhibición de la ECA

Se realizaron curvas concentración respuesta a fenilefrina en riñón de rata con diabetes mellitus más tratamiento con captopril durante 4 semanas (Figura 31). Con un efecto máximo delta de 181.47 ± 5.85 mmHg, presión de perfusión basal 84.22 ± 3.42 mmHg y CE_{50} de $[1.17 \times 10^{-4}M]$, sensibilidad representada como pD_2 de 3.96 ± 0.14 . La inhibición de la ECA durante la diabetes mellitus tuvo un efecto en los receptores adrenérgicos α_1 a nivel renal. En el grupo STZ + C aumentó la sensibilidad de la población de receptores α_1 por el antagonista al presentar un pD_2 mayor que el grupo control (Tabla 14).

Tabla 14. Relación farmacológica en riñón de grupo control comparado con grupo STZ más captopril. Valores de sensibilidad pD_2 , efecto máximo E_{max} y presión de perfusión basal PPB en riñón de rata con diabetes mellitus más captopril comparado contra rata control. Los resultados son el promedio \pm EE. * $p < 0.05$ respecto al grupo control (prueba t-Student).

	CONTROL	STZ	STZ + C
E_{max}	169.73 \pm 9.41	169.40 \pm 23.30	181.47 \pm 5.85
PPB	69.33 \pm 2.03	88.35 \pm 2.25	84.22 \pm 3.42*
pD_2	3.59 \pm 0.07	3.65 \pm 0.07	3.96 \pm 0.14*

El efecto de la fenilefrina en la concentración de $[3.16 \times 10^{-4} M]$ aumentó significativamente respecto a la presión de perfusión del grupo control. Lo que indica que la respuesta de los receptores adrenérgicos α_1 en el riñón está modificada durante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en la diabetes mellitus.

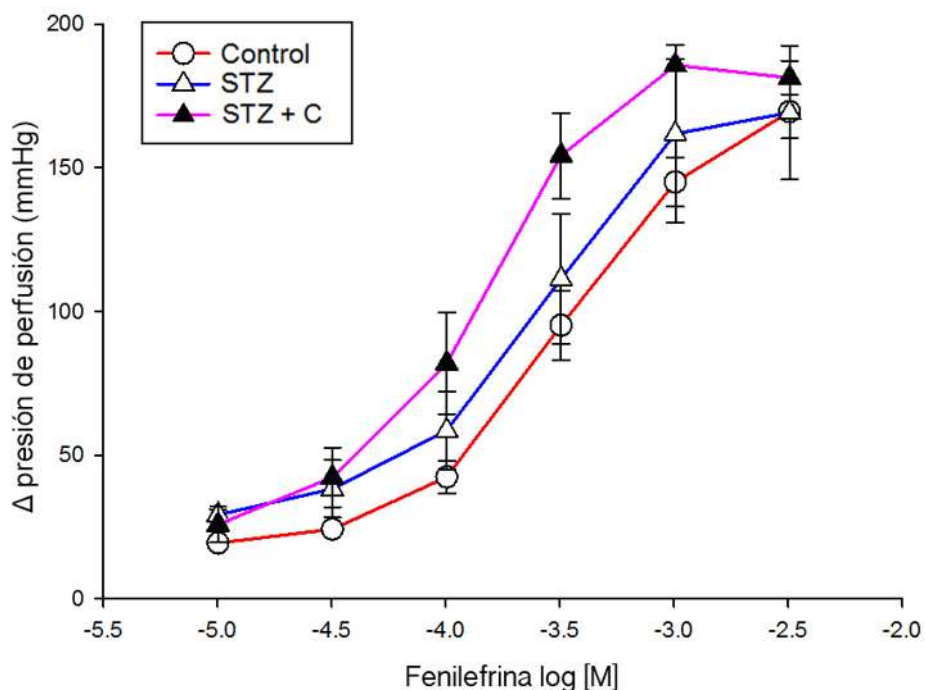


Figura 31. Presión de perfusión inducida por fenilefrina en riñón de rata grupo control comparada con grupo STZ + C. El efecto del bolo de 10 μ l de fenilefrina se muestra como delta de la presión de perfusión en mmHg. Los resultados son el promedio \pm EE n=3.

7.14. Análisis de Western Blot del receptor a angiotensina II AT₁ en riñón de rata

Para observar cómo se relacionan los cambios en la presión de perfusión durante la diabetes mellitus con la regulación de la Ang II, se evaluaron los niveles de proteína del receptor AT₁ en homogenizado de riñón de rata con diabetes mellitus contra el riñón de rata con inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (Figura 32). Las bandas son representativas del receptor AT₁ y de β -actina, la cual se utilizó para normalizar la proteína del receptor. La inmunotransferencia muestra que los niveles basales de proteína del receptor AT₁ son significativamente mayores en el grupo con diabetes mellitus más la administración crónica de captopril. Mientras que el grupo con diabetes mellitus comparado con el control permanecieron sin cambios significativos.

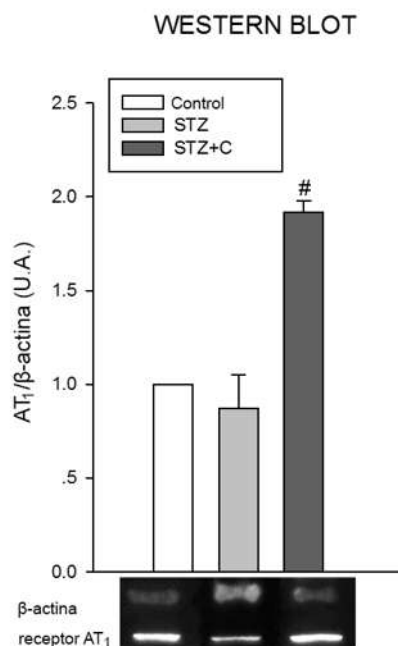


Figura 32. Análisis de la inhibición de la angiotensina II en los niveles de proteína del receptor AT₁ de riñón en ratas con diabetes mellitus. Los resultados son el promedio \pm EE n=3.

$P < 0.05$ relativo al grupo STZ (prueba t-Student), la intensidad de las señales se analizaron por ImageJ.

8. DISCUSIÓN

El sistema renina angiotensina es un componente central de las respuestas fisiológicas y patológicas del sistema cardiovascular. Su estimulación prolongada desempeña un rol importante en la génesis de la disfunción vascular (Gallardo-Ortiz, 2016). Se dispuso de este modelo experimental para evaluar las condiciones en las que se encuentra la vasculatura durante dos patologías degenerativas: la diabetes y la hipertensión, ya que este modelo mamífero murino tiene similitudes fisiológicas con el ser humano.

Al evaluar el efecto de la participación de la angiotensina II sobre la contracción adrenérgica en arteria aorta sin endotelio de ratas control y control con captopril, se muestra que no hay diferencia significativa entre estos grupos (Figura 16), las acciones farmacológicas del captopril son evidentes en estados patológicos, no produce efectos adversos específicos (Oropesa, 1995). Se sabe que el receptor adrenérgico α_{1D} es el protagonista que media la contracción en el músculo liso vascular de la arteria aorta. El tratamiento con captopril en el grupo control no tuvo diferencia estadística en las curvas realizadas con el agente antagonista BMY 7378 referentes al grupo control sin captopril, lo que indica que el receptor α_{1D} sigue siendo el principal mediador de la contracción vascular en la arteria aorta de rata tratada con captopril.

En la vasculatura renal la afinidad aparente del receptor α_{1D} por el antagonista es menor que en la aorta ($pA_2 = 6.37$ vs. $pA_2 = 8.9 \pm 0.25$), mostrando que el receptor α_{1D} no es el principal mediador de la contracción vascular en el riñón de rata. Estos resultados concuerdan con estudios en los que se ha demostrado que los receptores α_1 predominan en el control de la contracción del músculo liso vascular y la angiotensina II ha sido reconocida como más importante en el sistema de control de la función renal (Gallardo-Ortiz, 2016).

Al evaluar la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con hipertensión arterial inducida, se observa que la fuerza de contracción está disminuida ($E_{max}=4.51 \pm 0.12$ del grupo control vs $E_{max}= 2.85 \pm 0.18$ del grupo L-NAME). El efecto máximo disminuye en un 37% en los animales correspondientes al modelo de hipertensión arterial crónica, en los que el tratamiento con L-NAME provoca cambios en la reactividad vascular debido al decremento en la biodisponibilidad de óxido nítrico; resultando en cambios inflamatorios que reducen la luz del vaso y subsecuente arteriosclerosis (Kopinová *et al.*, 2012). Durante el desarrollo de la hipertensión arterial se ha reportado que la concentración de angiotensina II aumenta y este péptido vasoconstrictor promueve la asociación de proteínas de andamiaje que conducen a la adhesión concentrada de matriz extracelular, provocando que la arteria pierda su capacitancia para adaptarse a los cambios de presión, ocasionando una contracción sostenida que va a desencadenar hipertrofia del vaso sanguíneo, fibrosis y esclerosis (Mehta *et al.*, 2007).

En los estudios de la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con hipertensión arterial tratadas con captopril, se observa que la fuerza de contracción sigue siendo igual de vigorosa que en el grupo control ($E_{max}= 4.51 \pm 0.12$ del grupo control vs. $E_{max}= 4.83 \pm 0.47$ del grupo L-NAME + C), incluso hay mayor sensibilidad a fenilefrina ($pD_2=8.25 \pm 0.1$ del grupo control vs $pD_2=8.51 \pm 0.09$ del grupo L-NAME + C) con la afinidad al BMY 7378 relativamente sin cambios ($pA_2=8.9 \pm 0.25$ vs $pA_2=8.89 \pm 0.68$). Lo cual indica que al disminuir durante 4 semanas la participación de la angiotensina II durante la hipertensión arterial, el captopril previene los cambios estructurales que sufre la arteria aorta durante el desarrollo de la patología (Benter *et al.*, 2006).

En la vasculatura renal, la sensibilidad a la fenilefrina del grupo de ratas hipertensas con respecto al grupo control no fue diferente ($pD_2=3.59 \pm 0.07$ del grupo control vs. $pD_2=3.74 \pm 0.08$ del grupo L-NAME), ni tampoco el efecto máximo ($E_{max}= 169.73 \pm 9.41$ del grupo control vs. $E_{max}= 178.84 \pm 8.73$ del grupo L-NAME), no obstante se muestra mayor presión de perfusión basal (PPB= 69.33

± 2.03 vs PPB= 109.02 ± 6.14 respectivamente). Esto puede deberse a que la Ang II produce varios efectos hemodinámicos renales durante la hipertensión arterial, como el aumento de la resistencia arteriolar eferente y cambios de permeabilidad de la barrera de filtración glomerular, adicionalmente, la Ang II se ha involucrado directamente en la génesis del daño intersticial, en la glomeruloesclerosis y en la fibrosis, comportándose como una genuina citocina profibrótica y proinflamatoria. El daño en la vasculatura renal sigue una similitud con el daño de grandes vasos (Castro-Moreno *et al.*, 2012, Mezzano *et al.*, 2005).

En el caso del riñón de rata con hipertensión arterial después de la inhibición de la ECA, no se tiene diferencia significativa en el efecto máximo con respecto al grupo control ($E_{max}= 169.73 \pm 9.41$ del grupo control vs. $E_{max}= 194.66 \pm 10.30$ del grupo L-NAME + C), más se muestra que la sensibilidad a la fenilefrina aumentó ($pD_2=3.59 \pm 0.07$ del grupo control vs. $pD_2=3.97 \pm 0.10$ del grupo L-NAME + C) y hubo una normalización en la presión de perfusión basal (PPB= 109.02 ± 6.14 del grupo L-NAME vs. PPB= 78.12 ± 1.27 grupo L-NAME + C). Por lo tanto la inhibición de la ECA durante la hipertensión arterial provoca cambios hidrodinámicos renales que se relacionan con una disminución en la resistencia glomerular y aumento del flujo sanguíneo renal (Castro-Moreno *et al.*, 2012).

En el modelo de rata con diabetes mellitus al valorar la respuesta contráctil a la fenilefrina en arteria aorta, se observa que la fuerza de contracción está disminuida; el efecto máximo disminuye 44% aproximadamente ($E_{max}=4.51 \pm 0.12$ del grupo control vs. $E_{max}=2.54 \pm 0.40$ del grupo STZ) y la sensibilidad a la fenilefrina también se reduce ($pD_2=8.25 \pm 0.10$ del grupo control vs. $pD_2=7.43 \pm 0.20$ del grupo STZ). De acuerdo al análisis de relación de Schild no hay diferencia significativa en la afinidad aparente ($pA_2=8.9 \pm 0.25$ vs. $pA_2=9.41 \pm 0.33$ respectivamente).

La hiperglucemia y la resistencia a la insulina provocan anomalías en el flujo sanguíneo, esto manifiesta disminución de la actividad de agentes vasodilatadores y aumento de la actividad de los vasoconstrictores. No obstante la deficiencia de vasodilatadores más que el exceso de un vasoconstrictor puede

causar que se desarrolle la hipertensión arterial y con ella todas sus complicaciones vasculares, incluso la diabetes mellitus por sí misma causa daños en los vasos sanguíneos de gran calibre. Concentraciones superiores a 7 mM de glucosa en sangre en las arterias provocan disfunción endotelial lo que inhibe la producción de óxido nítrico, uno de los principales agentes vasorrelajantes. Además de que en la diabetes la activación del receptor a angiotensina AT₁ puede inhibir la liberación de insulina de las células β-pancreáticas en respuesta al aumento de glucosa. Esta inhibición sucede a través de modificaciones en la síntesis de la proinsulina, incrementando la hiperglicemia. La angiotensina II estimula la secreción de catecolaminas y una aguda estimulación de los receptores adrenérgicos induce hiperglicemia, debido en parte a la estimulación de la liberación de las reservas de glucosa hepática. La hiperglucemia permanente estimula cambios en la expresión génica al activar el factor de transcripción Sp1 (promotor de PAI-1 inhibidor del activador del plasminógeno-1 con la consiguiente inhibición de la fibrinólisis en las células del músculo liso vascular), lo que aumenta la concentración de las proteínas colágeno y fibronectina provocando oclusión y fibrosis (Mark, 2007; Chu, 2006; Brownlee, 2001).

En el análisis de la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de rata con diabetes mellitus después de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, se muestra que a las 12 semanas de edad con 4 semanas del padecimiento inducido, la fuerza de contracción arterial disminuye 37% aproximadamente ($E_{max}=4.51 \pm 0.12$ del grupo control vs. $E_{max}=2.87 \pm 0.30$ del grupo STZ + C) y la sensibilidad a la fenilefrina también se muestra reducida ($pD_2=8.25 \pm 0.10$ del grupo control vs. $pD_2=7.71 \pm 0.03$ del grupo STZ + C). De acuerdo al análisis de relación de Schild no hay diferencia significativa en la afinidad aparente ($pA_2=8.9 \pm 0.25$ vs. $pA_2=7.93 \pm 0.05$ respectivamente). Lo que nos podría indicar que los cambios estructurales y funcionales en la vasculatura en un estado hiperglucémico, no dependen únicamente de la Ang II; ya que al inhibir el SRA no previene el daño vascular.

En la vasculatura renal de rata con diabetes mellitus, el efecto máximo no tiene diferencia significativa con respecto al control ($E_{max}= 169.73 \pm 9.41$ del grupo control vs. $E_{max}= 169.40 \pm 23.30$ del grupo STZ), la sensibilidad a la fenilefrina no se observó modificada ($pD_2=3.59 \pm 0.07$ del grupo control vs. $pD_2=3.65 \pm 0.07$ del grupo STZ) y hay un incremento en la presión de perfusión basal (PPB= 69.33 ± 2.03 grupo control vs. PPB= 88.35 ± 2.25 grupo STZ), pudiendo estar aumentada la resistencia glomerular. Además de que la pérdida funcional podría manifestarse con la hiperfiltración como cambio adaptativo por daño progresivo de la enfermedad renal crónica (Mezzano *et al.*, 2005).

En el caso del riñón de rata con diabetes mellitus después de la inhibición de la ECA, el efecto máximo no tiene diferencia significativa con respecto al grupo control ($E_{max}= 169.73 \pm 9.41$ del grupo control vs. $E_{max}= 181.47 \pm 5.85$ del grupo STZ + C) se muestra que la sensibilidad a la fenilefrina aumentó ($pD_2=3.59 \pm 0.07$ del grupo control vs. $pD_2=3.96 \pm 0.14$ del grupo STZ + C) y hay un incremento en la presión de perfusión basal (PPB= 69.33 ± 2.03 grupo control vs. PPB= 84.22 ± 3.42 grupo STZ + C), así que la inhibición de la ECA durante la diabetes mellitus, podría provocar cambios hemodinámicos renales que se relacionan con una disminución en la resistencia glomerular y aumento del flujo sanguíneo efectivo.

Para observar cómo se relacionan los cambios hemodinámicos con la regulación de la Ang II, se midieron los niveles de proteína del receptor AT_1 en homogenizado de riñón. Contrario a lo que se esperaba, se muestra en el análisis densitométrico que no se presentó cambio en la abundancia de la proteína del receptor AT_1 renal durante el desarrollo de la diabetes por cuatro semanas (1 vs. 0.87 ± 0.18 del grupo STZ relativo al control). Según algunas investigaciones, puede relacionarse que la sobreestimulación del agonista provoque una desensibilización de los receptores con una consecuente internalización al núcleo provocando la disminución de su síntesis (Gallardo-Ortiz *et al.*, 2016). Mientras que la inhibición de la ECA en la diabetes indujo niveles del receptor AT_1 significativamente mayores (1 vs. 1.91 ± 0.06 del grupo STZ+C relativo al control) con un aumento aproximado de un 90% respecto al control. Por el contrario, la

inhibición del SRA podrían aumentar los niveles de proteína del receptor como respuesta compensatoria a menores concentraciones de angiotensina circulante. De acuerdo a los datos obtenidos, el tratamiento con captopril durante la diabetes mellitus incrementa la presión de perfusión inducida por fenilefrina; lo que podría mejorar el flujo glomerular.

9. CONCLUSIÓN

La inhibición de la angiotensina II previene el daño en la respuesta adrenérgica en la aorta de rata durante la hipertensión arterial y disminuye la resistencia glomerular. La inhibición de la angiotensina II no alcanza a prevenir el daño en la respuesta adrenérgica en la aorta de rata durante la diabetes mellitus ya que se muestra reducida la distensibilidad del vaso sanguíneo; no obstante, sí modifica la respuesta de los receptores α_1 en el riñón disminuyendo la resistencia glomerular.

10. PERSPECTIVAS

Con los resultados obtenidos en la presente investigación, se pretende incluir un grupo experimental que manifieste al mismo tiempo las dos patologías estudiadas y su control; un grupo con hipertensión arterial y diabetes mellitus. Además de otro grupo con hipertensión arterial, diabetes mellitus e inhibición de la ECA. Estos modelos no se manejaron en esta investigación por su elevada tasa de mortalidad.

Examinar otros elementos del daño renal durante la hipertensión arterial y/o la diabetes mellitus para relacionarlo con los datos obtenidos. Determinar los factores ya estudiados a diferentes tiempos del desarrollo de las patologías.

A diferentes tiempos del desarrollo de la hipertensión arterial y la diabetes mellitus con inhibición de la ECA, determinar la densidad de proteína de los receptores adrenérgicos α_{1D} .

Probar la reactividad del péptido angiotensina II en el riñón de rata diabética con y sin inhibición de la ECA. Así como evaluar la participación de los receptores a angiotensina II tipo AT₁ de todos los grupos experimentales.

11. REFERENCIAS

1. Akhigbe, R. E., Olatunji, L. A., Soladoye, A. O., y Oyeyipo, I. P. (2011). Effect of angiotensin 1-converting enzyme inhibitor, captopril, on body weight, and food and water consumption in oral contraceptive-treated rats. *Am J Biochem Mol Biol*, 1, 95-100.
2. Antranik (2012). Antranik.org. EU. Recuperado de <http://antranik.org/the-renin-angiotensin-aldosterone-reflex/>
3. Arango, G. B., Castaño Castrillón, J. J., Giraldo, J. F., Morales Chagualá, J., Paredes, C. V., Rivillas, J. C., Valencia, M. L. (2014). Relación entre Hipertensión Arterial y Diabetes Mellitus en Población de Hipertensos de una Entidad de Salud del Primer Nivel en Manizales, Caldas, Colombia, 2007.
4. Arunlakshana, O., y Schild, H. (1997). Some quantitative uses of drug antagonists. *British journal of pharmacology*, 120(S1), 151-161.
5. Barret K., Barman S., Boitano S., Brooks H. (2013). *Ganong Fisiología Médica*, 24 ed. Editorial Mc Graw Hill Interamericana, México.
6. Benter, I. F., Yousif, M. H., Anim, J. T., Cojocel, C., and Diz, D. I. (2006). Angiotensin-(1-7) prevents development of severe hypertension and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats treated with L-NAME. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 290(2), H684-H691.
7. Black H., Elliot W. (2014). Hipertensión. Complemento de Braunwald. *Tratado de cardiología*. 2ª ed. Editorial Elsevier España, S.L.
8. Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813-820.
9. Brunton, L. L. (2012). *Goodman y Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica* 12a McGraw Hill México.

10. Castro-Moreno (2006). Función vascular α_1 -Adrenérgica durante la diabetes mellitus experimental (Tesis de maestría). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán, México.
11. Castro-Moreno, P., Pardo, J., Hernández-Muñoz, R., López-Guerrero, J., Valle-Mondragón, D., Pastelín.Hernández, G., Villalobos-Molina, R. (2012). Captopril avoids hypertension, the increase in plasma angiotensin II but increases angiotensin 1–7 and angiotensin II-induced perfusion pressure in isolated kidney in SHR. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 32(3-4), 61-69.
12. Chu, K. Y., Lau, T., Carlsson, P.-O., & Leung, P. S. (2006). Angiotensin II type 1 receptor blockade improves β -cell function and glucose tolerance in a mouse model of type 2 diabetes. *Diabetes*, 55(2), 367-374.
13. Coughlan, K. A., Valentine, R. J., Sudit, B. S., Allen, K., Dagon, Y., Kahn, B. B., Saha, A. K. (2016). PKD1 inhibits AMPK α 2 through phosphorylation of serine 491 and impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. *Journal of Biological Chemistry*, 291(11), 5664-5675.
14. De Aluja, A. S. (2002). Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gac Med Mex*, 138(3), 295-298.
15. Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., y Kudva, Y. C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory animals*, 45(3), 131-140.
16. Dianne P., Terry H., Susanna C., Van A., Robert M., David B., Katrin A., Dominic., Sarah ., Eugénie ., Shahriar K., Gayane M., Martin C., Rory S., Roger S., Peter Z., Poornima B., Richard A., Douglas C., J. Paul H., Kenneth P., Sergio P., Rebecca H. Adrenoceptors. IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY. <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=4>.

17. Dhar, I., Dhar, A., Wu, L., & Desai, K. M. (2013). Increased methylglyoxal formation with upregulation of renin angiotensin system in fructose fed Sprague Dawley rats. *PLoS One*, 8(9), e74212.
18. Díaz, I. P., Hiriart, M., Reyes, J. A. O., y Díaz, G. R. (2006). Receptores para la angiotensina II diferentes a los clásicos receptores membranales AT1 y AT2: Características y su papel en el funcionamiento celular. *Revista de Educación Bioquímica*, 25(2), 55-60.
19. Du, X.-L., Edelstein, D., Rossetti, L., Fantus, I. G., Goldberg, H., Ziyadeh, F., Brownlee, M. (2000). Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(22), 12222-12226.
20. Enriquez, Y. R. (2002). Interpretaciones recientes sobre el metabolismo lipídico en la resistencia a la insulina. *Revista Cubana Aliment Nutr*, 16(1), 54-62.
21. Esterlin, Y. H., Vázquez, M. d. C. V., y Anderson, J. R. (2015). Caracterización clínica-epidemiológica de la diabetes mellitus en el adulto mayor. *Geroinfo*, 10(1).
22. Ettner, R., Ettner, F., y White, T. (2012). Secrecy and the Pathogenesis of Hypertension. *International journal of family medicine*, 2012.
23. Friberg, J., Tonnesen, M. F., Heller, S., Pociot, F., Bödvarsdóttir, T. B., y Karlsen, A. E. (2010). Inhibition of the nuclear factor- κ B pathway prevents beta cell failure and diet induced diabetes in *Psammomys obesus*. *PLoS one*, 5(10), e13341.
24. Gallardo-Ortíz, I., Rodríguez-Hernández, S., López-Guerrero, J., Valle-Mondragón, D., López-Sánchez, P., Touyz, R., y Villalobos-Molina, R. (2016). Role of α 1D-adrenoceptors in vascular wall hypertrophy during angiotensin II-induced hypertension. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*.
25. Gal Iglesias, Beatriz. (2007). *Bases de la Fisiología*. 2.^a edición. Tébar.

26. García - Sáinz, J. A., Vázquez-Prado, J., y Villalobos-Molina, R. (1999). α 1-Adrenoceptors: subtypes, signaling, and roles in health and disease. *Archives of medical research*, 30(6), 449-458.
27. Godínez-Hernández, D., Gallardo-Ortíz, I., López-Sánchez, P., y Villalobos-Molina, R. (2006). Captopril therapy decreases both expression and function of α 1D-adrenoceptors in pre-hypertensive rat aorta. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 26(1), 21-29.
28. Goetz, A. S., King, H. K., Ward, S. D., True, T. A., Rimele, T. J., y Saussy, D. L. (1995). BMY 7378 is a selective antagonist of the D subtype of α 1-adrenoceptors. *European journal of pharmacology*, 272(2), R5-R6.
29. González, N. G., García, A. M. T., y González, L. E. B. (2016). Salud mental y emociones en pacientes con enfermedades crónico-degenerativas. Un acercamiento a la diabetes mellitus tipo 2.
30. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX).
31. Gutiérrez-Pérez, A., Rodríguez-Bonaparte, J. R., Manzo-Avalos, S., y Godínez-Hernández, D. (2013). Respuestas vasculares y cambios tisulares en riñón de ratas con hipertensión inducida con L-NAME: participación del sistema renina angiotensina. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(3), 24-33.
32. Hall, J. E. (2006). Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica: Elsevier Health Sciences.
33. Hall, J. E. (2011). Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica: Elsevier Health Sciences.
34. Henriksen, E. J., Jacob, S., Kinnick, T. R., Teachey, M. K., y Krekler, M. (2001). Selective angiotensin II receptor antagonism reduces insulin resistance in obese Zucker rats. *Hypertension*, 38(4), 884-890.

35. Hernández-Gallegos, Z. Y Noyola, M., (2003). Síntesis y actividad relajante en músculo liso vascular de una serie de 1, 4-dihidropiridinas análogas de nicardipina. *Revista de la Sociedad Química de México*, 47(1), 34-37.
36. Huang, P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease models and mechanisms*, 2(5-6), 231-237.
37. Khan, M. A., Sattar, M. A., Abdullah, N. A., Abdulla, M. H., Salman, I. M., Kazi, R. N., Hussain, N. M. (2009). Functional Subtypes of Renal α 1-Adrenoceptor in Spontaneously Hypertensive Rats with Streptozotocin-Induced Experimental Diabetic Nephropathy. *Kidney and Blood Pressure Research*, 32(5), 349-359.
38. Kopincová, J., Púzserová, A., y Bernátová, I. (2012). L-NAME in the cardiovascular system—nitric oxide synthase activator?. *Pharmacological Reports*, 64(3), 511-520.
39. Kumar, E. A., y Bai, P. J. (2016). The role of ACE inhibitors in retarding the progression of non diabetic chronic kidney disease by controlling blood pressure and proteinuria. *IAIM*, 3(4): 37-52.
40. Leung, P. S. (2007). The physiology of a local renin–angiotensin system in the pancreas. *The Journal of physiology*, 580(1), 31-37.
41. Lodish, H. (2008). *Molecular cell biology*: Macmillan.
42. Lynch, G. S., y Ryall, J. G. (2008). Role of β -adrenoceptor signaling in skeletal muscle: implications for muscle wasting and disease. *Physiological reviews*, 88(2), 729-767.
43. Mark HB, Robert B. (2007). *El Manual Merck Diagnostico y terapéutica*. 11ª edición. Madrid: Editorial Elsevier. España,.
44. Mehta, P. K., y Griendling, K. K. (2007). Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 292(1), C82-C97.

45. Mezzano, S., y Aros, C. (2005). Enfermedad renal crónica: clasificación, mecanismos de progresión y estrategias de renoprotección. *Revista médica de Chile*, 133(3), 338-348.
46. NOM, N. O. M. (2009). 030-SSA2-2009, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. México: Diario Oficial de la Federación.
47. Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th. New York, NY, USA: W.H. Freeman and Company.
48. Organization, W. H. (2009). *Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks*: World Health Organization.
49. Organization, W. H. (2015). *Burden: mortality, morbidity and risk factors*: World Health Organization.
50. Oropesa, C. F., y Fernandez, C. G. (1995). Utilidad terapéutica de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. *Farm Hosp*, 19(1), 3-9.
51. Pocock, G., y Richards Christopher, D. (2005). *Filosofía humana: La base de la Medicina*. Barcelona: Ed: Elsevier.
52. Quiroz G. Fernando. (2010). *Tratado de Anatomía Humana*. 42. Edición. Editorial Porrua.
53. Reyes, J. A. O., y Plancarte, A. A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9-18.
54. Rivera-Jardón, F. F., Castro-Moreno, P., Figueroa-Guillén, E. S., Gallardo-Ortíz, I. A., Godínez-Hernández, D., y Ibarra-Barajas, M. (2009). Angiotensin II augments renal vasoconstriction via AT1 receptors in L-NAME-induced hypertensive rats. Paper presented at the Proc. West Pharmacol. Soc.
55. Silverthorn, D. U. (2008). *Fisiología humana*: Ed. Médica Panamericana.
56. Sosa-Luna, C., Astudillo-de la Vega, H., Sánchez-González, D., Martínez-Salas, S., Valdés-Espinosa, R., Villalobos-Molina, R., y Ibarra-Barajas, M. (2005). Óxido nítrico y prostaglandinas en la regulación endotelial del tono

- contráctil en la vasculatura renal de ratas hipertensas. *Rev Sanid Milit Mex*, 59(1), 32-50.
57. Velasco, M., Hernández, R. (2001). *Manual de Hipertensión Arterial al día*. Colombia. McGraw-Hill interamericana.
58. Vidal, J., y Jiménez, A. (2016). *Definition, History, and Management of the Metabolic Syndrome and Management Gaps Metabolic Syndrome and Diabetes* (pp. 1-17): Springer.
59. Villalobos-Molina, R., López-Guerrero, J. J., e Ibarra, M. (1999). Functional evidence of α 1D-adrenoceptors in the vasculature of young and adult spontaneously hypertensive rats. *British journal of pharmacology*, 126(7), 1534-1536.
60. Wang-Fischer, Y. (2008). *Manual of stroke models in rats*: CRC press.
61. Wayne N. Becker, Lewis J. Kleinsmith y Jeff Hardin. (2006). *El Mundo de la Célula 6ª Edición*. Pearson. Educación, Madrid.
62. Wehbi, G. J., Zimpelmann, J., Carey, R. M., Levine, D. Z., & Burns, K. D. (2001). Early streptozotocin-diabetes mellitus downregulates rat kidney AT2 receptors. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 280(2), F254-F265.
63. Wong, WT., Tian, XY., Xu, A., Ng, CF., Lee, HK., Chen, ZY., Au, CL., Yao, X., Huang, Y. (2010). Angiotensin II type 1 receptor-dependent oxidative stress mediates endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice. *Antioxidants And Redox Signaling*, 2010, v. 13 n. 6, p. 757-768.
64. Xu, Z. G., Miao, L. N., Cui, Y. C., Jia, Y., Yuan, H., y Wu, M. (2009). Angiotensin II type 1 receptor expression is increased via 12-lipoxygenase in high glucose-stimulated glomerular cells and type 2 diabetic glomeruli. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(6), 1744-1752.
65. Zanchetti, A. (2016). From risk factors to treatment of hypertension. *Journal of hypertension*, 34(1), 1-2.

66. Zhao, X., Zhang, Y., Leander, M., Li, L., Wang, G., y Emmett, N. (2014).
Altered Expression Profile of Renal-Adrenergic Receptor in Diabetes and Its
Modulation by PPAR Agonists. *Journal of diabetes research*.
67. (2012). *Diabetes Care*, 35(Supplement 1), S1-S2. doi: 10.2337/dc12-s001.