



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“ESTUDIO DEL EFECTO HIPOTENSOR DE LA BIOTINA EN LA
CONTRACCIÓN ARTERIAL”**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

P R E S E N T A

ZAIRA JATZIRI TOLEDO LÓPEZ

Directores de tesis:

Doctor en Ciencias: Asdrúbal Aguilera Méndez

Doctor en Ciencias: Daniel Godínez Hernández

Morelia, Michoacán, Agosto 2014

La presente investigación se realizó en el:

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas
Laboratorio de Bioquímica de la Nutrición y Laboratorio de
Farmacología, Edificio B3, Ciudad Universitaria
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

El trabajo se realizó gracias al apoyo de:

Proyecto PROMEP UMSNH-EXB-208 y CIC.3.36

DEDICATORIA

Primeramente agradezco a Dios por darme la fuerza, el valor necesario para sobrellevar todas las adversidades presentadas y la oportunidad de cumplir este sueño que comenzó algunos años atrás. Sinceramente no creí que fuera a llegar tan lejos por todas las circunstancias que pasaron, el camino fue un poco complicado, pero él fue mi luz en la oscuridad, mi fuerza en la debilidad, mi calma en la tempestad y mi alegría en la tristeza.

A mi familia quienes nunca dejaron de creer en mí, quienes me dieron todo lo que estuvo en sus manos para que yo lograra salir adelante, aunque ellos tuvieran que librarse de algunas cosas gracias, son el motor de mi vida.

A mi madre, una mujer con una fuerza increíble, quien me ha enseñado todo lo relacionado a la vida y a nunca dejarme caer por nada, no tengo palabras ni forma de agradecerle su cariño, amor y apoyo.

A mis hermanos: Alicia, quien ha estado conmigo siempre, quien me ha dado su cariño incondicional y su paciencia. A Abraham, hermanito, no tengo palabras para agradecerte todo el apoyo que me has brindado para que yo pueda seguir adelante, gracias por estar siempre para mí, sin duda a equivocarme eres el mejor hermano del mundo. A tí papá aunque ahora estas en un lugar mejor, sé que siempre estarás conmigo y te alegras al ver hasta donde he llegado, más bien dicho hemos llegado porque esto es un trabajo de todos, siempre estarás en mi corazón y donde quiera que estés sé que estarás orgulloso de mí. Gracias familia me han dado la mejor herencia que pudiera recibir en el mundo.

A todos mis amigos sin excluir a nadie pero principalmente, a mis mejores amigas Paty, gracias por aguantarme cuando ni yo misma me aguanto, Lily y Flor, esta aventura universitaria no hubiera sido la misma sin ustedes. No solo se convirtieron en mis amigas si no en hermanas, hermanas para toda la vida, mil gracias por todos los momentos que hemos pasado juntas y por que han estado conmigo siempre.

De corazón muchas gracias a todos por ser parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis: el DC. Asdrúbal Aguilera Méndez, quien con su dedicación, ejemplo de trabajo y sobre todo con su paciencia, me impulso siempre a seguir adelante, preocupándose no solo por lo académico sino también por la parte humana y al DC. Daniel Godínez Hernández, quien me enseñó muchas cosas en el ámbito científico y en todo momento se preocupó que no faltara nada para la realización de este proyecto. Sin ellos este trabajo no hubiera sido posible.

A mis sinodales: M.F.B Blanca Nateras Marín, quien es un ejemplo de una mujer luchadora, emprendedora y que en todo momento me ha entusiasmado para seguir adelante, más que como una maestra yo la veo como una amiga a la cual admiro, respeto mucho y quiero mucho.

A:

DC. Zurisaddai Hernández Gallegos.

MC. Héctor Urquiza Marín.

DC. Renato Nieto Aguilar.

Q.F.B. Angélica García Ruíz de Chávez.

A Xóchitl por todas sus enseñanzas y por su amistad, a mis compañeros del laboratorio que hicieron más amenas todas las tardes, Lalo y Chucho.

Sin duda alguna este trabajo no habría podido realizarse sin la colaboración de muchas personas quienes me brindaron su ayuda. Sin embargo, resultará difícil agradecer a todos y cada uno de ellos, que de manera directa o indirectamente me acompañaron en el desarrollo de esta investigación, porque no alcanzará el tiempo o la memoria para mencionar a cada uno de ellos. Pero de manera general quiero agradecerles a todos y cada uno de ellos.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras	i
Índice de tablas	ii
Lista de abreviaturas	iii
Resumen	v
Abstract	vi
1. Introducción	1
1.1. La biotina	1
1.1.1. Tipos de carboxilasas y su función	1
1.1.2. Ingesta adecuada de biotina y absorción	4
1.1.3. Efectos de la suplementación con biotina sobre la expresión de genes	5
1.1.4. Mecanismos moleculares de acción de la biotina	5
1.1.4.1. Activación de la guanilato ciclasa soluble	6
1.1.4.2. Biotinilación de histonas	7
1.2. Presión arterial	9
1.2.1. Regulación nerviosa de la presión arterial	11
1.2.2. Tipos de receptores	12
1.2.3. Factores sistémicos que regulan el tono vascular	12
1.3. Hipertensión arterial	15
1.3.1. El endotelio vascular en el desarrollo de la hipertensión arterial	17
1.3.2. Óxido nítrico e hipertensión	19
1.3.3. Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial	20
1.3.4. Uso de vitaminas en el tratamiento de diversos padecimientos	21
2. Antecedentes	22

3. Justificación.....	23
4. Hipótesis.....	25
5. Objetivos	25
5.1 Objetivo general.....	25
5.2. Objetivos particulares.....	25
6. Materiales y métodos	26
6.1. Modelo experimental.....	26
6.2. Protocolo experimental	26
6.3. Contracción en aorta aislada de rata	26
6.4. Uso <i>in vitro</i> del inhibidor L-NAME en la contracción de aorta aislada de rata..	28
6.5. Análisis estadístico.....	28
7. Resultados	29
7.1 Registro de consumo de agua y alimento de los animales	29
7.2. Efecto de la biotina sobre la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta torácica de ratas control con y sin endotelio.	30
7.3. Efecto de la biotina sobre la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta de ratas tratadas con L-NAME	31
7.4. Efecto de la biotina y L-NAME sobre la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta.....	36
8. Discusión.....	37
9. Conclusiones.....	40
10. Perspectivas del trabajo	41
11. Referencias	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la biotina	1
Figura 2. Ciclo de la biotina	3
Figura 3. Mecanismo de acción de la biotina a través del GMPc.....	7
Figura 4. Esquema de vena, arteria y capilar.....	18
Figura 5. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas control.....	30
Figura 6. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de ratas control.....	31
Figura 7. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas deficientes de óxido nítrico	32
Figura 8. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de ratas deficientes de óxido nítrico	33
Figura 9. Comparación del efecto de la biotina sobre la respuesta en aorta con endotelio de ratas control y ratas deficientes de óxido nítrico.	34
Figura 10. Comparación del efecto de la biotina sobre la respuesta en aorta sin endotelio de ratas control y ratas deficientes de óxido nítrico.	35
Figura 11. Efecto de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en aorta con endotelio de ratas normotensas.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Tipos de carboxilasas y su función.....	2
Tabla 2.- Ingesta diaria de biotina.	4
Tabla 3.- Valores de presión arterial.	16
Tabla 4.- Consumo de agua y alimento.....	29

ABREVIATURAS

ACC: Acetil coenzima A carboxilasa.

AMP: Adenosina monofosfato

AMPc: Adenosina monofosfato cíclico.

Ang I: Angiotensina I.

Ang II: Angiotensina II.

AVP: Arginina vasopresina.

α -AR: Alfa adrenorreceptores.

B-AMP: Biotinil adenosina monofosfato.

BRs: Barorreceptores.

BR: Barorreceptor.

β -AR: Beta adrenorreceptores.

CA: Catecolaminas.

CE: Con endotelio.

CMLV: Células musculares lisas vasculares.

DAG: Diacilglicerol.

ECA: Enzima convertidora de angiotensina.

eNOS: Sintasa de óxido nítrico endotelial.

ESANUT: Encuesta nacional de salud y nutrición.

GCs: Guanilato ciclasa soluble.

GCp: Guanilato ciclasa particulada.

GMPc: Guanosil monofosfato cíclico.

HCS: Holocarboxilasa sintetasa.

HTA: Hipertensión arterial.

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.

INSP: Instituto Nacional de Salud Pública.

IP3: Inositol trifosfato.

L-NAME: N-nitro-L-arginina metil éster hidrocioruro.

MAPK: Proteína cinasa activada por mitógenos

NA: Noradrenalina

NADP: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (oxidada).

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (reducida).

nNOS: Sintasa de óxido nítrico neuronal.

NO: Óxido nítrico.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PA: Presión arterial.

PAM: Presión arterial media.

PAD: Presión arterial diastólica.

PAS: Presión arterial sistólica.

PC: Piruvato carboxilasa.

PCC: Propionil coenzima A carboxilasa.

PDE: Fosfodiesterasa.

PKC: Proteína cinasa C.

PKG: Proteína cinasa G.

PP: Presión de pulso.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

RP: Resistencia arterial periférica.

SE: Sin endotelio.

SMVT: Transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio.

SN: Sistema nervioso.

SNC: Sistema nervioso central.

SNS: Sistema nervioso simpático.

SNA: Sistema nervioso autónomo.

SNP: Sistema nervioso parasimpático.

SRAA: Sistema renina angiotensina aldosterona.

VCM: Volumen minuto cardíaco.

VM: Volumen por minuto.

VP: Vasopresina.

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. El principal factor de riesgo que contribuye a su incremento es la hipertensión, la cual consiste en una elevación de la presión arterial debido a múltiples factores. La hipertensión es un problema de salud pública con un importante costo social y económico en nuestro país. De acuerdo a la ENSANUT 2012, en seis años, la incidencia ha incrementado un 19.7%, afectando, a 1 de cada 3 adultos mexicanos. El objetivo principal del tratamiento de la hipertensión no es sólo el control de la presión arterial, sino también la reducción de riesgo cardiovascular. Por lo que es sumamente importante el uso de nuevos fármacos o el uso de terapia combinada. Entre otros la biotina es una vitamina que participa como cofactor de las carboxilasas y se ha reportado que a concentraciones farmacológicas modifica la expresión génica y tiene efectos en diversos procesos biológicos. Se ha reportado que la biotina tiene un efecto antihipertensivo en ratas espontáneamente hipertensas, pero es el único estudio realizado hasta el momento, por lo tanto, en el presente trabajo aportamos nuevos conocimientos en el mecanismo de acción de su efecto hipotensor y los resultados sugieren que la biotina ejerce el efecto a través de un mecanismo independiente de la producción de óxido nítrico.

Palabras clave: hipertensión, vitamina, biotina, cofactor de carboxilasas.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading cause of morbidity and mortality in worldwide. The main risk factor that contributes the development of these diseases is hypertension, which is high blood pressure due to multifarious factors. Hypertension is a public health problem with significant social and economic costs in our country. According to ENSANUT 2012, in six years, the incidence has increased by 19.7 %, affecting, 1 of 3 mexicans adults. The main goal in the treatment of hypertension is not only controlling blood pressure, but also reducing cardiovascular risk. So, it is extremely important the use of new drugs or a combination therapy. Among them, biotin is a vitamin that acts as a covalently bound coenzyme of carboxylases and pharmacologic concentrations of biotin affect gene expression and have wide repertoire effects on systemic processes. Pharmacological concentrations of biotin have been found to reduce hypertension in rats, but it is the only studies which exist up to the moment. Therefore, our results offer new insights into the mechanisms of biotin when mediated hypotensive effects and these results suggest that the mechanism underlying the effect of biotin is based on a nitric oxide-independent production.

Keywords: hypertension, vitamin, biotin, carboxylase cofactor.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 LA BIOTINA

La biotina (vitamina B 7, 8 o vitamina H) químicamente es un derivado bicíclico de la urea, formando con el azufre un ciclo de tetrahidrotiofeno y un anillo imidazol unidos (Figura1). Su molécula contiene tres centros quirales, lo que determina la aparición de ocho formas estereoisoméricas. La biotina se encuentra unida de modo covalente a las enzimas con las que interactúa, mediante un enlace amídico entre el carboxilo de la cadena lateral y un grupo de épsilon-amino de un residuo de lisina ^(21,55).

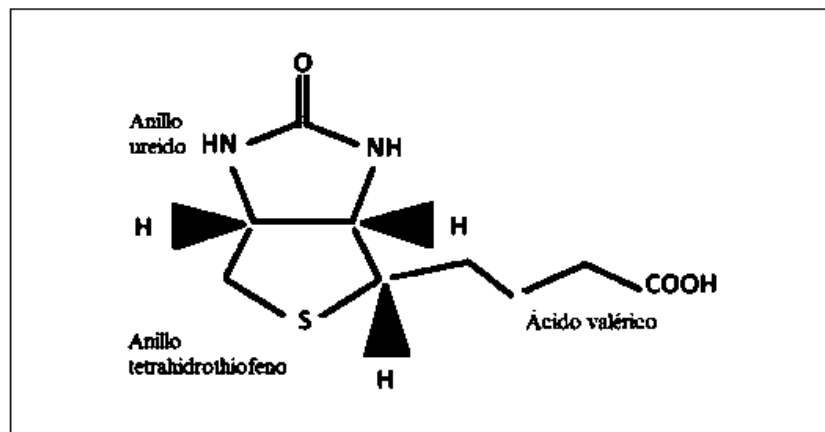


Figura 1. Estructura química de la biotina. Es un compuesto heterocíclico, con un anillo ureido, unido a un anillo de tetrahidrotiofeno y el ácido valérico, contiene tres centros quirales ⁽²¹⁾.

1.1.1. TIPOS DE CARBOXILASAS Y SU FUNCIÓN

Esta vitamina es un nutriente esencial para la vida de los organismos, debido a que es un cofactor importante involucrado en reacciones de carboxilación y descarboxilación en células humanas. Existen 5 carboxilasas que son sintetizadas como apocarboxilasas en el citoplasma y participan en diversos procesos

metabólicos como la gluconeogénesis, la lipogénesis, la oxidación lipídica y el catabolismo de aminoácidos (Tabla 1) ^(12,57).

CARBOXILASA	FUNCIÓN
Piruvato carboxilasa (PC)	Cataliza la reacción de piruvato a oxalacetato y es clave en la gluconeogénesis.
Propionil-CoA carboxilasa (PCC)	Cataliza la conversión de propionil-CoA a metilmalonil-CoA en la vía catabólica de los ácidos grasos de cadena impar; así como de los aminoácidos isoleucina, treonina, metionina y valina.
Metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC)	Implicada en el catabolismo del aminoácido leucina, convirtiendo el 3-metilcrotonil CoA a 3-metilglutaconil CoA.
Acetil-CoA carboxilasa (ACC-1) y (ACC-2)	Cataliza la carboxilación de acetil-CoA formando malonil-CoA, precursor en la síntesis, de ácidos grasos. La isoforma 2 cataliza la misma reacción regulando la beta oxidación.

Tabla 1. Tipos de carboxilasas y su función. Las enzimas acetil-CoA Carboxilasa (ACC) tanto en su forma citosólica (ACC1) como mitocondrial (ACC2) y las enzimas mitocondriales piruvato carboxilasa (PC), propionil-CoA carboxilasa (PCC) y metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC) participan en diversos procesos metabólicos tales como la gluconeogénesis, lipogénesis y catabolismo de aminoácidos ^(12,57).

Las enfermedades debido a deficiencias genéticas de éstas enzimas en la especie humana demuestran la importancia de la biotina, pues la alteración en la actividad de las carboxilasas generan alteraciones clínicas variables de gran importancia como desórdenes neurológicos, retardo del crecimiento y anomalías dermatológicas ⁽²¹⁾.

La biotilación de las apocarboxilasas requiere la activación de la biotina por la hidrólisis de ATP, formándose un intermediario biotinil-5'-AMP (B-AMP) y es catalizada por la holocarboxilasa sintetasa (HCS) en eucariontes (Figura 2). El intermediario biotinil-AMP (B-AMP) es utilizado para transferir a la biotina a un residuo de lisina específico, en una región altamente conservada en las carboxilasas (metionina-lisina-metionina). El grupo biotinilo es transferido a la apoenzima con liberación de monofosfato de adenosina (AMP) para formar la carboxilasa activa ^(17,60).

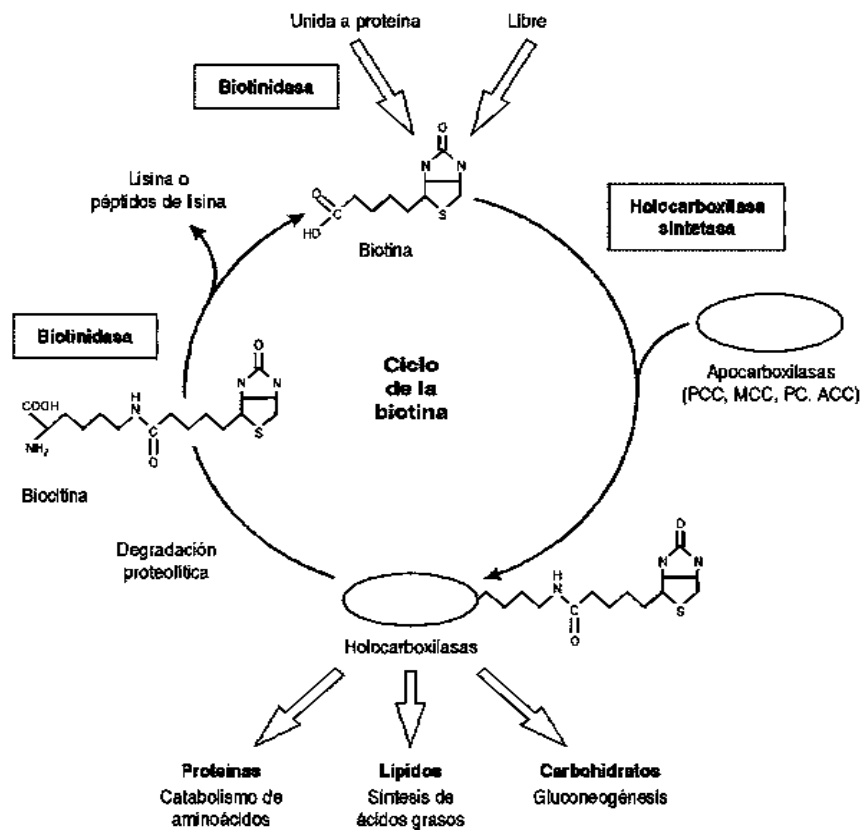


Figura 2. Ciclo de la biotina. Las dos principales enzimas en este ciclo son la holocarboxilasa sintetasa, la cual une covalentemente a la biotina a las apocarboxilasas para formar holocarboxilasas y la biotidasa, enzima que libera a la biotina de la biocitina y de los péptidos biotinilados⁽⁴³⁾.

1.1.2. INGESTA ADECUADA DE BIOTINA Y ABSORCIÓN

La ingesta óptima de biotina varía de acuerdo a las necesidades específicas, como edad, sexo, etc. De acuerdo con ciertos cálculos se realizó la siguiente tabla tomando en consideración la etapa de la vida (Tabla 2) ^(26,38). Las fuentes más importantes en la obtención de biotina son: la leche, los productos lácteos, los huevos, los cereales, las legumbres, la coliflor, los cacahuates, los tomates, los plátanos, las alubias, la harina de trigo, la avena, el arroz integral, las carnes rojas, las manzanas y las almendras. La disponibilidad de esta vitamina depende mucho si se encuentra libre o unida a proteínas. La biotina libre se absorbe por los enterocitos de la porción distal del duodeno y proximal del yeyuno ^(55,38).

Etapas de la vida	Edad	Biotina (µg/d)
Lactantes	0-6 meses	5
	7-12 meses	6
Niños	1-3 años	8
	4-8 años	12
Pre adolescentes y adolescentes	9-13 años	20
	14-18 años	25
Hombres y mujeres	➤ 19 años	30
Embarazadas	14-50 años	30
Mujeres durante lactancia	14-50 años	35

Tabla 2. **Ingesta adecuada de biotina.** Valores de ingesta diaria adecuada de biotina de acuerdo con la etapa de vida y sexo de cada individuo ^(26,38).

La absorción intestinal está regulada por la proteína cinasa C (PKC) y de Ca^{2+} /vía calmodulina. El efecto de la PKC es mediada por alteraciones en la actividad o la abundancia de los transportadores de biotina ^(60,61). La biotina unida a las holocarboxilasas puede ser liberada en forma de biocitina por degradación proteolítica de las holocarboxilasas. Esta biocitina puede ser reutilizada por otras carboxilasas (ciclo de la biotina) (Figura 2), o ser catalizada hacia biotin sulfóxido o a bisnorbiotina y es excretada en orina ⁽³⁹⁾. Posteriormente pasa al torrente sanguíneo y entra a las células mediante el transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) que reconoce principalmente la porción del ácido valerico de la biotina ⁽⁵⁵⁾.

1.1.3. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON BIOTINA SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES

Se descubrió que además de participar en procesos metabólicos como grupo prostético de las carboxilasas, a concentraciones farmacológicas modifica funciones biológicas a través de un efecto sobre la expresión genética. Los procesos biológicos que modifica incluyen la proliferación celular, el desarrollo embrionario, funciones inmunológicas y el metabolismo de carbohidratos y lípidos ^(56,66). Su efecto en la expresión de genes no se debe sólo a la biotina, sino también a sus metabolitos y no parece estar mediado como resultado de un incremento en la actividad de las carboxilasas ^(46,60).

1.1.4. MECANISMOS MOLECULARES DE ACCIÓN DE LA BIOTINA

A pesar de que existen múltiples estudios documentando el efecto de la biotina en la regulación de la expresión génica y procesos sistémicos, los mecanismos moleculares por los cuales se producen estos efectos permanecen

poco estudiados. Hasta el momento se han propuesto dos mecanismos para explicar el efecto de la biotina sobre la expresión génica en mamíferos. El primero es a través de la vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/proteína cinasa G (GCs/PKG). Y el segundo es la biotinilación de histonas ^(46,60). Estos mecanismos no son necesariamente excluyentes, por lo que podrían coexistir.

1.1.4.1. Activación de la guanilato ciclasa soluble

Los estudios pioneros de Vesely, en 1982, descubrieron que la adición de biotina a extractos celulares aumentaba la actividad de la GCs. A partir de entonces, diversos estudios han identificado que un denominador común en el efecto de la biotina sobre la expresión genética involucra el incremento en la actividad de la GCs, la elevación de las concentraciones de guanosil monofosfato cíclico (GMPc) intracelular y la participación de la PKG, (Figura 3) ^(15,55,61).

Solórzano y colaboradores (2002), propusieron que el compuesto biotinil-AMP es el vínculo en la cascada de fosforilaciones involucradas en la regulación de la expresión genética por la biotina ⁽⁵¹⁾. Este compuesto es formado por la holocarboxilasa sintetasa y encontraron que la regulación de la expresión de la acetil-CoA carboxilasa, la propionil-CoA carboxilasa y de la propia holocarboxilasa sintetasa, requiere de la actividad enzimática de la holocarboxilasa sintetasa. Con base en sus resultados, los autores proponen que el biotinil-AMP, por un mecanismo aún no conocido activa a la guanilato ciclasa soluble y que de esta manera, se incrementa el contenido de GMPc, que a su vez activa a la PKG (Figura 3), favoreciendo así una serie de fosforilaciones que pueden modificar la expresión de genes ^(1,21,54).

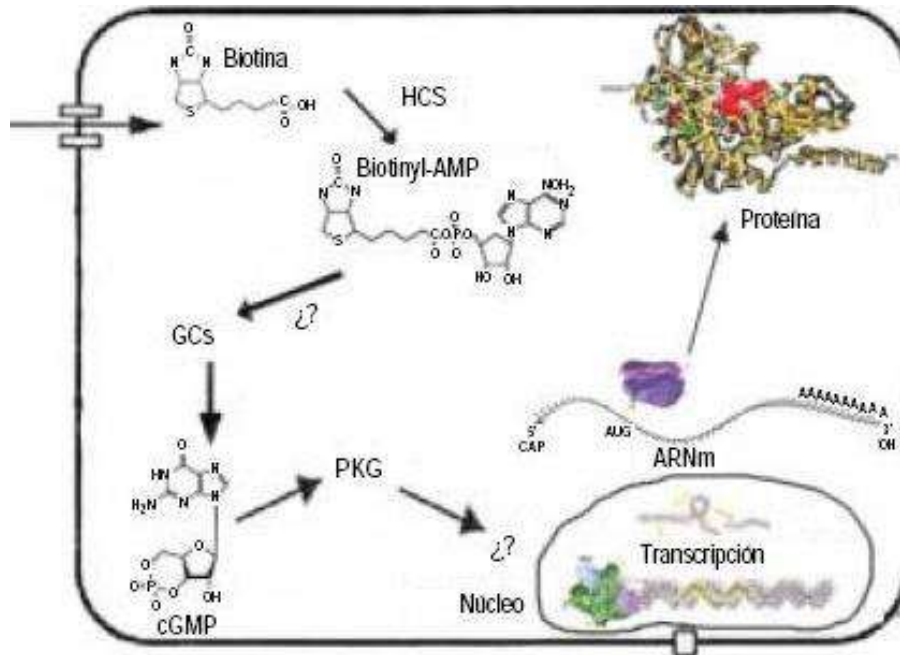


Figura 3. Mecanismo de acción de la biotina a través del GMPc. La holocarboxilasa sintetasa (HCS) participa en la síntesis de biotilil-AMP, el cual aumenta la actividad de la guanilato ciclasa soluble (GCs) por un mecanismo desconocido. Este incremento de la GCs aumenta las concentraciones de GMPc intracelular, el cual activa a la proteína cinasa G (PKG), la cual puede fosforilar diferentes proteínas que participan en la expresión genética ⁽⁵⁴⁾.

La vía de señalización mediada por GMPc puede ser iniciada por dos tipos de moléculas: el óxido nítrico (NO), que tiene como diana la guanilato ciclasa soluble (GCs) y los péptidos natriuréticos, cuya diana es la guanilato ciclasa de membrana ó particulada (GCp), que a su vez activa a cinasas específicas las cuales pueden fosforilar diferentes proteínas que participan en la expresión genética.

1.1.4.2. Biotinilación de histonas

Otro mecanismo molecular que podría estar involucrado en el efecto de la vitamina sobre la expresión genética es la biotinilación de histonas. Varios estudios han demostrado que la biotina se une a las proteínas histonas de manera

específica en varios tipos celulares, lo que sugiere que la biotina podría modificar la expresión génica a este nivel molecular ⁽¹⁾. Entre las funciones relacionadas con la biotinilación de histonas está un decremento de linfocitos polimorfonucleares durante la proliferación celular, cambios durante el ciclo celular en células sanguíneas humanas, e incremento en la biotinilación de histonas por exposición a luz ultravioleta en células Jukarts ^(1,46).

Por medio de estudios “*in vitro*” se demostró que las histonas son susceptibles a ser biotiniladas, lo que otorga una explicación a la presencia de biotina en el núcleo y a la relación entre biotina e histonas. Además, se ha reportado que las histonas en las células se encuentran biotiniladas y se ha propuesto que esta modificación covalente, similar a la metilación y/o acetilación de las histonas, podrían ser parte de los mecanismos a través de los cuales la biotina modifica la expresión genética ^(15,46).

Estudios realizados por Narang y colaboradores (2004), encontraron que la holocarboxilasa sintetasa está asociada con la cromatina y la lámina nuclear y que durante la mitosis, se encuentra distribuida en estructuras en forma de anillo ⁽³⁹⁾.

Además, los fibroblastos derivados de pacientes con la enfermedad de deficiencia múltiple de carboxilasas, los cuales tienen alterada a la enzima holocarboxilasa sintetasa, presentan menos histonas biotiniladas que los fibroblastos derivados de individuos sanos ⁽¹⁷⁾.

Debido a la importancia de la biotina como cofactor de las carboxilasas (tabla 1) en los procesos sistémicos como la gluconeogénesis, lipogénesis y

catabolismo de aminoácidos, cabe mencionar que tiene una estrecha relación con la presión arterial así como la hipertensión, entre otras alteraciones fisiológicas.

1.2. PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial (PA) es la fuerza hidrostática que ejerce la sangre contra los vasos que la contienen el valor de la PA depende de:

- 1) El volumen de sangre bombeada por el ventrículo izquierdo por unidad de tiempo (gasto cardíaco) ⁽⁶⁾.
- 2) La resistencia al flujo de sangre debido a los vasos en las periferias del campo vascular ^(6,8).

Estos factores afectan la salida de sangre del corazón y están regulados por el sistema nervioso autónomo (SNA), que activa los receptores adrenérgicos en el nodo sinoauricular, el miocardio y el músculo liso de la pared arterial, de venas y de vénulas ^(4,35).

La PA es mayor en la raíz de la aorta y las arterias, disminuyendo a lo largo del tracto vascular, siendo la PA mínima en la aurícula derecha. La sangre fluye a través de los vasos conforme a un gradiente de presión y es el resultado de entre el volumen cardíaco por minuto (VMC) y la resistencia arteriolar periférica (RP), la cual está determinada por el tono y el estado de las arterias ⁽³⁵⁾.

La PA se genera con la contracción de los ventrículos, durante la sístole ventricular la presión arterial adquiere su valor máximo (presión sistólica) y sus valores son aproximadamente de 120 mmHg. La presión sistólica refleja la

contractilidad ventricular izquierda. La presión mínima coincide con la diástole ventricular (presión diastólica) y sus valores son entre 60-80 mmHg y está en relación con la elasticidad de las arterias que transmiten la energía desde sus paredes a la sangre durante la diástole. La presión diastólica indica un estado de resistencia vascular periférica. Por otro lado, la presión sanguínea promedio de un individuo durante un ciclo cardiaco se denomina presión arterial media (PAM), esta proporciona el valor de presión con que la sangre llega a los tejidos, es por tanto la fuerza efectiva que conduce la sangre a lo largo del sistema vascular ^(8,15).

El SNA regula las funciones viscerales o funciones que se producen sin control como son la frecuencia cardiaca, la presión arterial y la digestión. Tiene dos divisiones: simpático (conocido también como sistema adrenérgico y noradrenérgico) y parasimpático ⁽⁵⁸⁾. La actividad simpática del SNA participa directamente en la regulación de la presión arterial, a través de cambios en la liberación de sustancias adrenérgicas como las catecolaminas (CA) por las terminales nerviosas simpáticas y la médula adrenal. Esta liberación es coordinada, aunque sus acciones no son siempre simultaneas y congruentes ^(49, 58).

El tono muscular de las arteriolas está regulado en el corto plazo por mecanismos extrínsecos e intrínsecos. Extrínsecos: 1) la regulación nerviosa (simpática y parasimpática); 2) la humoral; y 3) la hormonal. Factores intrínsecos: a) autocrinos, b) paracrinos; c) intracrinos, los derivados del endotelio y del metabolismo celular; los cuales participan en la autorregulación (“reflejo miogénico”) ^(18,48).

1.2.1. REGULACIÓN NERVIOSA DE LA PRESIÓN ARTERIAL

En la regulación nerviosa de la presión arterial, ante un aumento agudo de la PA se distienden los barorreceptores arteriales (BRs) aórtico y carotídeo, ubicados en el arco aórtico y en el seno carotídeo, también llamados BRs aortocarotídeos “de presión alta”. Que envían las señales sensadas al SNC por vía del nervio aórtico combinado con el neumogástrico, el grupo celular del arco aórtico y del nervio glosofaríngeo (nervio de Hering) al seno carotídeo. Estas señales o reflejos inhiben en el centro vasomotor del bulbo raquídeo al SNS, luego de hacer sinapsis con el núcleo del tracto solitario (NTS) y al mismo tiempo aumenta el tono parasimpático ⁽⁷⁾.

A medida que un BR es estirado en forma creciente va aumentando el número de impulsos o potenciales de acción que viajan por el nervio correspondiente hacia el centro vasomotor, si la presión baja, el descenso de PA puede llegar a un valor por debajo del cual no hay más descargas (umbral del BR).

Los BR responden a alteraciones del volumen de llenado cardiaco y cuando son estimulados por un aumento responden por medio de fibras aferentes al cerebro para inhibir el SNS y disminuir la secreción de catecolaminas (CA) y de renina evitando el aumento de la presión arterial PA ^(24,25,32).

Existen neurotransmisores del tipo CA (ej. noardrenalina), los cuales poseen acciones sistémicas que son mediadas por la unión a receptores de membrana plasmática acoplados a proteínas G ⁽⁷⁾, los cuales están ampliamente distribuidos en el organismo y se conocen como receptores adrenérgicos. Estos receptores ocasionan diferentes efectos dependiendo de las proteínas efectoras a quienes se

encuentran asociados. Los efectos fisiológicos producidos por las CA son variados y dependen del receptor específico al cual se unen y del tejido ^(24,25).

1.2.2. TIPOS DE RECEPTORES

1) La familia de los receptores alfa (α) con sus subtipos 1 y 2. Los α_1 se localizan en las células efectoras postsinápticas, en músculo liso vascular, uréter, útero, esfínteres vesicales, gastrointestinales, glándulas salivales y sudoríparas. Su acción en el músculo liso es la constricción, excepto a nivel gastrointestinal, donde produce relajación. En caso de los α_2 se encuentran en SNC, plaquetas y en las células β del páncreas, su estimulación a nivel músculo liso vascular y corazón provoca bradicardia, vasodilatación, hipotensión y efecto inotrópico negativo ^(7,19).

2) La familia de los receptores beta (β) (β -adrenérgicos) con sus tres subtipos β_1 , β_2 y el β_3 . Intervienen en la contractilidad y la frecuencia cardíacas (corazón y musculo liso; vascular y bronquial), la estimulación β aumenta la frecuencia cardíaca mientras que la colinérgica la disminuye. Los agonistas β_1 tienen efectos estimulantes cardíacos mientras que los β_2 intervienen en la vasodilatación y broncodilatación ^(7,19).

1.2.3. FACTORES SISTÉMICOS QUE REGULAN EL TONO VASCULAR

a) Sistema simpático-adrenal: Regula la función del sistema cardiovascular a través de receptores adrenérgicos. Los agentes vasoconstrictores del sistema simpático también estimulan el sistema cromafín de las glándulas suprarrenales, para la producción de adrenalina y disminuye las concentraciones de noradrenalina. Las catecolaminas disminuyen el flujo de sangre vascular a través

de los riñones produciendo un decremento en la excreción de sodio y agua. También producen una activación del sistema renina-angiotensina ^(24,32).

b) Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA): Es regulador de la PA en el mediano y largo plazo. Ejerce un papel central en la fisiopatología de la hipertensión arterial, balance hidroelectrolítico y de la insuficiencia cardiaca. interactua con el sistema simpático y el óxido nítrico sintetizado por el endotelio. Sus acciones principales incluyen la de regular la PA y el tono vascular, así como facilitar la transmisión simpática. El producto final del SRA es la angiotensina II ^(7,13).

Los participantes del SRAA son: la renina, el angiotensinógeno, angiotensina I (Ang I), angiotensina II (Ang II), enzima convertidora de angiotensina (ECA) y aldosterona ⁽¹³⁾. La renina que actúa sobre el angiotensinógeno, sintetizado en el hígado, lo transforma en angiotensina I (Ang I), el cual es un decapeptido sin acción biológica, luego por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), transforma a la Ang I en el octapeptido angiotensina II (Ang II), hormona efectora final del sistema ^(13,29).

La ECA es el vínculo más importante entre el sistema SRAA y el sistema de cininas, ya que las degrada. Además, los inhibidores de la ECA potencian las acciones de la bradicinina al reducir su degradación, lo que aumenta el acoplamiento de la bradicinina a sus receptores B1 y B2 en las células endoteliales que además tienen los componentes necesarios para la síntesis de angiotensina II.

La Angiotensina II es un péptido que controla la presión arterial por la regulación del metabolismo del sodio Na⁺ y el agua en el riñón, ya que a través de

sus acciones sobre el sistema nervioso central aumenta el tono del músculo liso vascular y la liberación de aldosterona. Los efectos de la Ang II son mediados por receptores, de los que se han identificado y clonado varios tipos: un (AT1), dos (AT2) y cuatro (AT4). La mayoría de los efectos de la Ang II están mediados por el receptor AT1 y se expresan en las células del músculo liso vascular, células endoteliales, fibroblastos, macrófagos, cardiomiocitos, células renales, cerebrales y suprarrenales ^(24,59).

La aldosterona es una hormona esteroidea secretada por la zona glomerular de la corteza suprarrenal. Regula la presión arterial ejerciendo sus efectos en la zona distal tubular de la nefrona, aumentando la reabsorción agua y Na⁺, conduciendo a la expansión del volumen de fluido extracelular ^(18,24,25).

c) Sistema vasopresina (VP): También llamada hormona antidiurética (ADH) es almacenada y secretada por la glándula hipófisis (hipotálamo-hipofisaria) ⁽⁹⁾. La VP es un nonapéptido que se sintetiza en las neuronas magnocelulares localizadas en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo como pre-hormona y está constituida por el nonapéptido arginina vasopresina (AVP), pero la liberación de la AVP es secundaria a estímulos osmóticos, hipovolémicos, hormonales y no osmóticos ⁽¹⁹⁾. Es esencial para mantener el equilibrio hídrico y la estabilidad cardiovascular. Modula la excreción renal de Na⁺, la contracción, relajación miocárdica y el tono vascular. Participa en la homeostasis cardiovascular a través de la vasoconstricción, el mantenimiento de las resistencias vasculares sistémicas y de la presión arterial ^(45,50).

El desequilibrio de los factores sistémicos antes mencionados y que regulan el tono vascular, aumenta el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular y renal como la hipertensión arterial (HTA) ^(29,52).

1.3. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

A nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la HTA causa la muerte de 7.5 millones de personas y representan 12.8% del total de las defunciones. Además, señala que uno de cada tres adultos tiene hipertensión arterial ^(15,29), lo que preocupa por las complicaciones que genera: insuficiencia cardíaca, enfermedad vascular periférica, insuficiencia renal, retinopatía y discapacidad visual ⁽⁴⁰⁾.

La HTA es un problema de salud pública con un importante costo social y económico en nuestro país, es uno de los principales factores de riesgo para padecer enfermedades cardiovasculares y renales, los cuales son importantes causas de mortalidad en México. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT) ⁽⁴⁷⁾, en seis años, la prevalencia ha incrementado en un 19.7%, afectando, a 1 de cada 3 mexicanos adultos, es decir, el 31.6% de la población mexicana. En el caso de los hombres la prevalencia más baja se registró en el grupo de 20 a 29 años de edad y la más alta en el grupo de 80 o más años, siendo este 7.8 veces mayor. En cuanto a la prevalencia en las mujeres la más alta se registró en el grupo de 80 años o más, siendo de 3.5 veces mayor que en la grupo de 20 a 29 años ⁽⁴⁷⁾.

Durante el año 2011, las entidades que presentan las tasas de mortalidad más bajas debidas a la hipertensión arterial en el país fueron Quintana Roo (9.04 por cada 100 mil personas de 15 años y más), Yucatán (13.98) y Chiapas (14.63); mientras que Oaxaca, Veracruz y Michoacán concentraron las tasas más altas (39.40, 29.76 y 28.65, respectivamente) ⁽⁴⁷⁾.

La HTA se define como un padecimiento crónico, en el cual la característica principal es un aumento sostenido de la presión arterial de acuerdo a la NOM-030-SSA2-2009, $\geq 140/90$ mmHg (PA sistólica/PA diastólica, respectivamente) (Tabla 3).⁽³³⁾ El riesgo de una enfermedad cardiovascular es menor con PA sistólica (PAS) menores a 120 mmHg y PA diastólica (PAD) menor a 80 mmHg^(27,29,40).

CATEGORÍA	SISTÓLICA (mmHg)	DIASTÓLICA (mmHg)
Normal	<130	<85
Normal alta	130-139	85-89
Hipertensión etapa 1 (ligera)	140-159	90-99
Hipertensión etapa 2 (moderada)	160-179	100-109
Hipertensión etapa 3 (severa)	180-209	110-119
Hipertensión etapa 4 (muy severa)	>210	>120

Tabla 3. Valores de presión arterial. Presión sistólica y diastólica considerada para la clasificación de presión arterial⁽⁴⁰⁾.

La hipertensión arterial (HTA), constituye en la actualidad uno de los capítulos más interesantes en la patología cardiovascular por dos importantes aspectos: la morbilidad y la mortalidad a que conducen sus consecuencias y complicaciones. Sus antecedentes tienen bases desde que W. Harvey estableciera sus investigaciones primarias sobre los estudios de la hipertensión, pasando por Hale, Poiselle, Ludwig, Bash, e innumerables investigaciones más hasta nuestros días^(27,31,32).

La HTA ha incrementado sobre todo en estos últimos años, de una manera tan alarmante que se puede considerar como una pandemia que afecta a millones de seres humanos, convirtiéndolas en un problema universal^(30,31).

La industrialización, la urbanización, y la globalización que se está operando en los países en vías de desarrollo como el nuestro se relaciona a un incremento del consumo de grasas saturadas, disminución de la ingesta de vegetales y a un incremento de las cifras de presión arterial (PA) ⁽⁴¹⁾.

De acuerdo a su etiología, la hipertensión se puede clasificar en dos grupos:

1.- *Esencial o primaria*: Es multifactorial, no hay causa médica específica y está fuertemente relacionada con los hábitos de estilo de vida, representan el 90-95% de los casos diagnosticados ^(24,40).

2.- *Secundaria*: Resultado de condiciones preexistentes, como insuficiencia cardíaca congestiva, arteriosclerosis o inducida por fármacos y drogas ^(19,40).

1.3.1. EL ENDOTELIO VASCULAR EN EL DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

El rol del endotelio vascular en el desarrollo de la HTA está ampliamente relacionado con el daño vascular. La hipertensión se acompaña de alteraciones morfológicas y funcionales del endotelio. Las primeras incluyen acumulación subendotelial de fibrina e infiltración de las células endoteliales, en tanto que las segundas abarcan regulación del tono vascular dependiente del endotelio, que comprenden modificaciones en procesos mediados por óxido nítrico (NO), endotelina y productos de las ciclooxigenasas ^(16,53).

A consecuencia de una alteración en el balance entre sustancias vasoconstrictoras tales como tromboxano e isoprostanos y vasodilatadoras como el NO, las especies reactivas de oxígeno contribuyen a las contracciones dependientes del endotelio y al incremento de la resistencia vascular periférica ⁽¹⁶⁾.

Las células endoteliales secretan endotelina, una sustancia que produce contracción del músculo liso vascular, lo que ocasiona que el diámetro del vaso disminuya y así mismo aumente la tensión en la pared del vaso (Figura 4) ^(18,24,36).

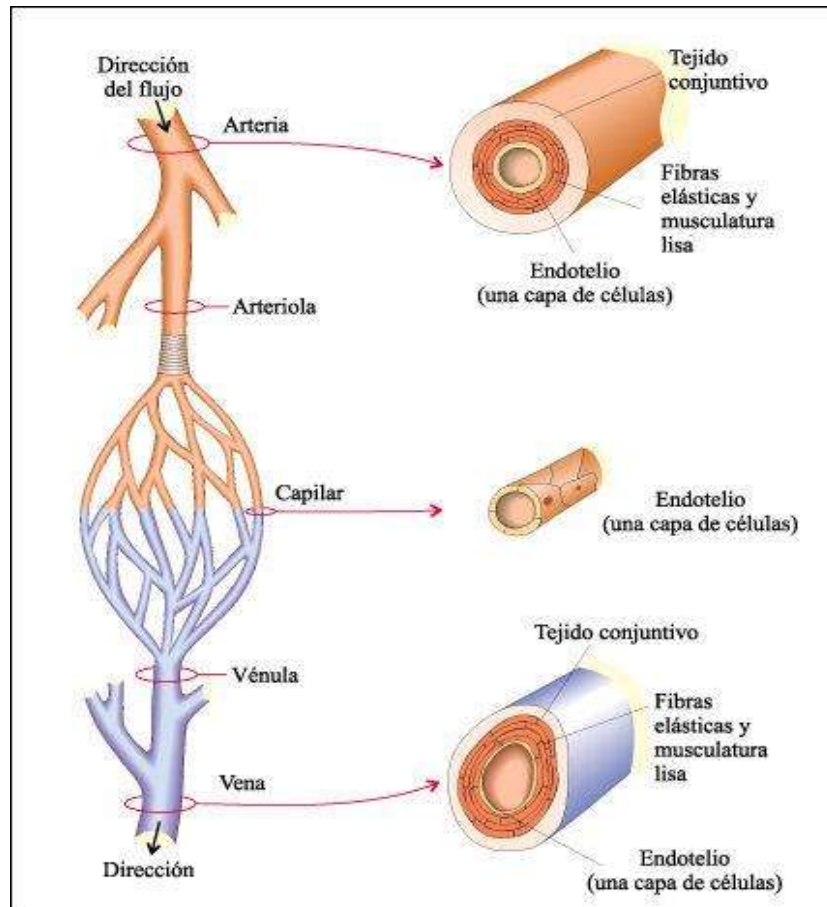


Figura 4. Esquema de vena, arteria y capilar. Las arterias tienen paredes gruesas, duras y elásticas, que soportan la alta presión de la sangre. Los capilares tienen paredes formadas sólo por una capa de células. El intercambio de gases, nutrientes y residuos del metabolismo entre la sangre y las células del cuerpo se produce a través de estas delgadas membranas capilares. La sangre de los capilares entra a las vénulas, que se juntan formando las venas. Las venas tienen una luz mayor que las arterias, tienen las paredes más delgadas, más fácilmente dilatables, con lo que se minimiza la resistencia al flujo de sangre en su retorno al corazón ⁽⁴⁸⁾.

La regulación de los procesos vasodilatadores y vasoconstrictores es sumamente compleja y depende no sólo de las concentraciones de NO, sino también del compartimento celular, de la vía de señalización activada, la condición fisiopatológica presente, el estado redox celular y la presencia de otros mediadores celulares (acetilcolina, noradrenalina, bradicinina y angiotensina). Asimismo,

cuando la síntesis y/o liberación del NO es deficiente la capacidad homeostática del endotelio vascular empeora, produciéndose la disfunción endotelial ^(19,24,25).

1.3.2. ÓXIDO NÍTRICO E HIPERTENSIÓN

El NO participa en una gran variedad de acciones fisiológicas, bioquímicas y patológicas en las que actúa de manera directa o indirecta ⁽³⁰⁾. Es sintetizado por una familia de tres isoenzimas que representan productos de genes distintos: la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS, por sus siglas en inglés), endotelial (eNOS) e inducible (iNOS) ⁽²⁰⁾. El NO regula el tono vascular, la perfusión coronaria, la permeabilidad capilar y la agregación plaquetaria. También desempeña un rol importante en el control de la angiogénesis, la inflamación y la proliferación celular vascular. En el miocardio regula el acoplamiento excitación-contracción, la frecuencia cardíaca, el tono vegetativo, la respiración mitocondrial (metabolismo energético), los procesos de hipertrofia, apoptosis y la fase tardía del preacondicionamiento isquémico ⁽²⁹⁾. La liberación de NO se produce por la acción de varias sustancias como: Ang II, acetilcolina, bradicinina, ADP, histamina, 5 hidroxitriptamina, serotonina, nitroglicerina, nitratos, prostaciclina, noradrenalina y ácidos grasos insaturados. El NO actúa como un vasodilatador, como antiagregante plaquetario, como neurotransmisor, en la inmunomodulación, la proliferación celular y la interacción de células endoteliales y leucocitos ⁽⁵⁴⁾.

El NO realiza sus funciones a través de dos diferentes vías de señalización: GMPc dependiente y GMPc independiente ⁽⁵⁾. La vía del GMPc dependiente de NO conlleva a la activación de la enzima guanilato ciclasa, lo que aumenta los niveles de GMPc y a su vez modula la actividad de la proteína cinasa G (PKG). La vía independiente del GMPc se produce principalmente a través de S-nitrosilación, una modificación de proteínas importantes relacionadas con la señalización celular ⁽⁷⁾.

Es ampliamente aceptado que la liberación de NO y la cascada de GMPc desempeñan una participación crucial en la regulación de la presión arterial. Varios estudios sugieren que el deterioro en la liberación de NO desde las células endoteliales está relacionado con la hipertensión. Además, parece que la disfunción endotelial es en parte hereditaria, pero el endotelio se deteriora aún más durante la evolución de la hipertensión, sugiriendo que la disfunción endotelial en la hipertensión ya establecida podría ser la causa o la consecuencia de la enfermedad hipertensiva ⁽²⁹⁾.

1.3.3. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

El objetivo del tratamiento de la hipertensión arterial es prevenir la enfermedad cardiovascular y la muerte, esto se logra al mantener cifras de presión arterial menores o iguales a 130/90 en pacientes con enfermedades cardiovasculares ^(8,40). Con esta medida se reduce en un 40 % el riesgo de enfermedad cerebrovascular y el riesgo de muerte por cualquier causa cardiovascular en un 20%, la monoterapia es efectiva en la mitad de los pacientes, y aquellos pacientes que se encuentran en un grado 2 o 3 de HTA requieren más de un fármaco para su control efectivo ^(5,41). Considerándose adecuado el uso de combinaciones de fármacos que permitan un mejor control de la HTA, con dosis más bajas y menos efectos secundarios (el uso combinado de antagonistas beta adrenérgicos, de inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECAs), antagonistas del receptor de la Ang II (ARAII), con diuréticos, respectivamente) ^(29,41).

Los diuréticos y antagonistas beta adrenérgicos siguen siendo los agentes de primera elección por la amplia experiencia en su uso y el margen de seguridad

que ofrecen, que se traduce en términos de capacidad de disminuir la morbimortalidad provocada por la HTA ^(5,22).

1.3.4. USO DE VITAMINAS EN EL TRATAMIENTO DE DIVERSOS PADECIMIENTOS

El conocimiento de la función y los mecanismos moleculares de las vitaminas ha permitido el desarrollo de medicamentos que actualmente son usados en el tratamiento de diversas afecciones. Ejemplos de ellos son el extenso y profundo estudio de las acciones biológicas y mecanismos moleculares de las vitaminas liposolubles A y D ^(10,11,28).

Otra vitamina, la niacina (vitamina hidrosoluble del complejo B), es usada desde 1955 en el tratamiento de dislipidemias, existiendo en la actualidad amplios conocimientos sobre sus mecanismos de acción, lo que ha generado la producción de diversos fármacos que son comercializados por compañías farmacéuticas ⁽³⁵⁾. Existen comercialmente medicamentos disponibles que contienen cantidades farmacológicas de biotina (2mg) en combinación con el picolinato de cromo (600 µg), los cuales se usan en pacientes diabéticos, mejorando los niveles de glucosa y triglicéridos en suero ^(2,3).

2. ANTECEDENTES

En el año 2008 Watanabe y colaboradores reportaron que concentraciones farmacológicas de biotina reducen la hipertensión en ratas de la cepa espontáneamente hipertensas propensas a infarto (SHRSP). La administración de biotina durante 8 semanas (1.2 mg/kg de peso) redujo la presión arterial sistólica, el engrosamiento de la arteria coronaria y la incidencia de ataque cardíaco ⁽⁵⁷⁾. El efecto antihipertensivo de la biotina fue también observado de 6 a 10 horas después de la administración intraperitoneal de dosis únicas de 0.5 y 5 mg ⁽⁵⁷⁾.

Por otro lado, uno de los mecanismos propuestos sobre la acción de la biotina en funciones biológicas, es a través de la vía de la GCs/GMPc. En los estudios de Watanabe en 2008, el pretratamiento con un inhibidor de la GCs abolió el efecto hipotensor de la biotina, mientras que el pretratamiento con un inhibidor de la óxido nítrico sintasa no tuvo ningún efecto sobre la actividad de la vitamina. Los resultados sugirieron que el mecanismo de la acción hipotensora de la biotina se basa en una activación de la GCs independiente de la formación de NO ⁽⁵⁷⁾. Sin embargo, en un estudio realizado en el 2009 por Rodríguez y colaboradores, demostraron que dosis farmacológicas de biotina (10 nmol) participan en la producción de NO en células linfoides y que la generación de NO dependiente de la vitamina está mediada por un aumento en la expresión de las sintasas de óxido nítrico endotelial (eNOS) y neuronal (nNOS) ⁽⁴⁶⁾. También la generación de NO dependiente de la vitamina aumentó la abundancia de GMPc, consistente con estudios previos que revelaron que el NO es un activador de la GCs ⁽²⁰⁾.

3. JUSTIFICACIÓN

Los datos epidemiológicos indican que la hipertensión es un importante factor de riesgo para enfermedades cardiovascular en varios países del mundo ⁽³²⁾. En la actualidad, la mayoría de las personas hipertensas viven en países en vías de desarrollo, ⁽³³⁾ donde se presume que su número aumentará en las próximas décadas, lo que inevitablemente conducirá a una mayor incidencia de enfermedades cardiovasculares ⁽³³⁾. La hipertensión es un importante factor de riesgo para infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca, así como renal y muerte prematura ⁽²⁶⁾. La detección temprana y gravedad del daño a los órganos diana y las enfermedades secundarias asociadas, son claves determinantes del pronóstico cardiovascular en pacientes que sufren de hipertensión arterial ⁽²⁰⁾. El rápido incremento de estas enfermedades en México ^(15,47) y a nivel mundial ⁽⁴¹⁾ hace apremiante el desarrollo de nuevos fármacos y estrategias para su prevención y tratamiento. La biotina es una vitamina hidrosoluble del complejo B que podría ser usada con estos fines, ya que existen varios estudios donde se ha demostrado que concentraciones farmacológicas de biotina reducen la hipertrigliceridemia ⁽⁴²⁾ y la hiperglucemia en personas ⁽³⁶⁾, así como en modelos experimentales animales ⁽⁵⁵⁾. Estas alteraciones están asociadas a enfermedades que empeoran el pronóstico de la hipertensión y de otras enfermedades cardiovasculares, quienes a su vez son manifestaciones clínicas del síndrome metabólico.

Hasta el momento se conoce poco sobre los mecanismos moleculares mediante los cuales la biotina produce sus efectos a concentraciones farmacológicas sobre el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Además, en un estudio previo se encontró que dosis farmacológicas de la vitamina reducen la presión arterial en ratas espontáneamente hipertensas y que su efecto es independiente de la producción de óxido nítrico ⁽⁵⁷⁾. Sin embargo, es el único estudio reportado hasta el momento por ello es importante estudiar el mecanismo

por el cual la biotina ejerce su efecto hipotensor y teniendo en cuenta que la monoterapia por sí sola no es capaz de bajar la presión arterial a niveles óptimos en la mayoría de los pacientes, es adecuado el uso de polifarmacia o coadyuvantes para el tratamiento de la hipertensión. El uso de la biotina o medicamentos desarrollados a partir de ella, podrían usarse en el tratamiento de ésta anomalía en terapia combinada o monoterapias.

4.- HIPÓTESIS

La biotina tiene un efecto vasorrelajante en la contracción arterial.

5.- OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar mecanismos de acción mediante los cuales la biotina disminuye la contracción arterial.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el efecto de la biotina en anillos de aorta de ratas normotensas.
2. Evaluar la influencia del endotelio sobre el efecto de la biotina en aorta de rata.
3. Determinar el efecto de la biotina en la contracción de anillos de aorta aislados de rata en un modelo de hipertensión arterial por L-NAME.
4. Evaluar el efecto de la biotina *in vitro* administrando el inhibidor L-NAME.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. MODELO EXPERIMENTAL

Para determinar el efecto de la biotina, se utilizaron 18 ratas macho de la cepa Wistar por experimento (8 semanas de edad, 300 ± 50 g). Los animales se alojaron en jaulas a una temperatura ambiental de 25 ± 2 °C, con un ciclo de luz oscuridad de 12 horas, alimentadas con alimento *ad libitum* durante todo el estudio, de acuerdo a los lineamientos establecidos en las regulaciones federales para el uso y cuidado de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación de México.

6.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Para los estudios *ex vivo*, las ratas se dividieron en 2 grupos experimentales: (1) Grupo control (No deficiente de óxido nítrico). (2) Grupo deficiente de óxido nítrico. El cual fue tratado durante 15 días con *N*-nitro-L-arginina metil éster hidrocloreuro (L-NAME) a una concentración de 75 mg/Kg y el cual se administró vía oral en el agua de beber. El L-NAME es un inhibidor competitivo de las óxido nítrico sintasas, por lo que produce una disminución en la síntesis de óxido nítrico.

6.3. CONTRACCIÓN EN AORTA AISLADA DE RATA

Se indujo sueño profundo a las ratas mediante la aplicación de pentobarbital sódico vía intraperitoneal (55 mg/Kg de peso). El tiempo de latencia del hipnótico fue entre animal 10 y 15 minutos para caer en sedación profunda. Una vez en sueño profundo (hipnosis), se realizó una laparotomía amplia incluyendo al tórax disectando la arteria aorta torácica, limpiándola del tejido graso. La arteria se cortó en anillos de 3-4 mm de longitud, a la mitad de los anillos de aorta les fue removido

el endotelio frotando suavemente la superficie interna de los vasos con un estilete metálico de superficie rugosa.

Los anillos aórticos se colocaron en ganchos de nicrom y se introdujeron en cámaras para tejido aislado con 10 ml de solución Krebs-Henseleit con la siguiente composición: 118mM NaCl; 4.7mM KCl; 1.2mM KH_2PO_4 ; 1.2 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 2.5 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 20 mM NaHCO_3 ; 11.7 mM glucosa y 0.026 mM EDTA. El tejido se mantuvo a una temperatura de 37°C, pH de 7.4 y con burbujeo constante de carbógeno (O_2 al 95% con 5% de CO_2). Cada anillo arterial se fijó del fondo de la cámara y a un transductor de tensión Grass FT03 (Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, EE.UU.), que a su vez estaba conectado a un sistema de adquisición de datos MP100 (Biopac Systems Inc., Santa Barbara, California, EE.UU).

Una vez montados los anillos se mantuvo una tensión inicial de 3 g (previamente determinada para optimizar la respuesta del tejido), y se permitió un periodo de estabilización de 30 minutos. Enseguida los anillos fueron sometidos a un proceso de sensibilización a intervalos de 30 minutos con fenilefrina a una concentración de 1×10^{-7} M, con la finalidad de sensibilizar el tejido a responder a un estímulo externo. Posteriormente se realizaron tres lavados al final de cada sensibilización con solución Krebs. Para verificar la presencia y funcionalidad del endotelio, se realizó una prueba con un agonista colinérgico, el carbacol (1×10^{-6} M), el cual produce vasorrelajación en aquellos anillos con endotelio presente y fue adicionado cuando se alcanzó el efecto máximo posterior a la tercera sensibilización con fenilefrina.

Después de la sensibilización del tejido, se esperó un tiempo de 30 minutos para su estabilización. Una vez que la tensión del tejido regreso a una cifra basal estable, se realizaron curvas concentración respuesta a la fenilefrina (1×10^{-9} – 1×10^{-5} M). Terminada la curva se realizaron 3 lavados con solución Krebs a

intervalos de 10 minutos, se dejó un periodo de estabilización de 30 minutos para posteriormente incubar durante 30 minutos con biotina disuelta en agua (vehículo) a una concentración de 1×10^{-6} M, para posteriormente realizar una segunda curva concentración respuesta a la fenilefrina a las concentraciones anteriormente mencionadas. Los cambios en la tensión de los anillos de aorta se registraron en gramos fuerza como unidad de medida.

6.4. USO *IN VITRO* DEL INHIBIDOR L-NAME EN LA CONTRACCIÓN DE AORTA AISLADA DE RATA

Se realizaron curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina (1×10^{-9} – 1×10^{-5} M), en aorta torácicas con endotelio de ratas normotensas, la cual se tomó como la primera curva control. Enseguida se utilizó el inhibidor de las óxido nítrico sintasas (L-NAME), incubándolo durante 30 minutos y se realizó una segunda curva a fenilefrina. Posteriormente en un periodo de 30 minutos se incubó con L-NAME (1×10^{-4} M) y biotina (1×10^{-6} M) al mismo tiempo. Se realizó nuevamente la curva concentración-respuesta a la fenilefrina en las mismas condiciones. Para finalizar se realizó una última curva concentración-respuesta a fenilefrina donde previamente se incubó con biotina durante media hora.

6.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el programa SigmaPlot® 11.0. Los datos se presentan como el promedio \pm error estándar (ES). La significancia estadística se determinó por la prueba de ANOVA de una vía, seguida de la prueba de Tukey de múltiple rango. Se consideró como estadísticamente significativa una $P < 0.05$.

7. RESULTADOS

7.1. REGISTRO DEL CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO DE LOS ANIMALES

Se midió el consumo de agua y alimento de los animales cada tercer día y durante los 15 días que duró el tratamiento con L-NAME (75 mg/Kg), para comprobar que la dosis del inhibidor L-NAME no tuviera efectos adversos en la condición de los animales en cuanto a estos factores. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con el inhibidor y el grupo control en el consumo de agua y alimento (Tabla 4).

CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO				
	CONTROL		TRATAMIENTO L-NAME	
Día	Consumo de agua (ml)	Consumo de alimento (g)	Consumo de agua (ml)	Consumo de alimento (g)
1	705	337	565	279.5
3	548	357.2	588	359.6
5	678	355.6	580	368
7	600	336	605	329.5
9	590	346.8	632	362
11	582	337.4	596	340.5
13	633	368.6	570	307.4
15	532	332.3	664	322
Promedio	608.5	346.3	600	333.5
Error típico	19.9	4.2	11.0	10.0

Tabla 4.- Consumo de agua y alimento. Se midió el consumo de agua y alimento cada tercer día durante los 15 días que duró el tratamiento con L-NAME, no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

7.2. EFECTO DE LA BIOTINA SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A LA FENILEFRINA EN AORTA TORÁCICA DE RATAS CONTROL CON Y SIN ENDOTELIO

Con la finalidad de determinar la participación del óxido nítrico en el efecto hipotensor de la biotina, se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (1×10^{-9} – 1×10^{-5} M) en aorta con y sin endotelio de ratas deficientes de óxido nítrico y normotensas (control sin tratamiento de L-NAME). La biotina se incubó durante 30 minutos a una concentración de 1×10^{-6} M y posteriormente se realizó la curva de concentración-respuesta a la fenilefrina.

Se observó que en la aorta de las ratas control la biotina disminuyó ligeramente la contracción en respuesta a fenilefrina sin alcanzar una diferencia estadísticamente significativa (Figura 5).

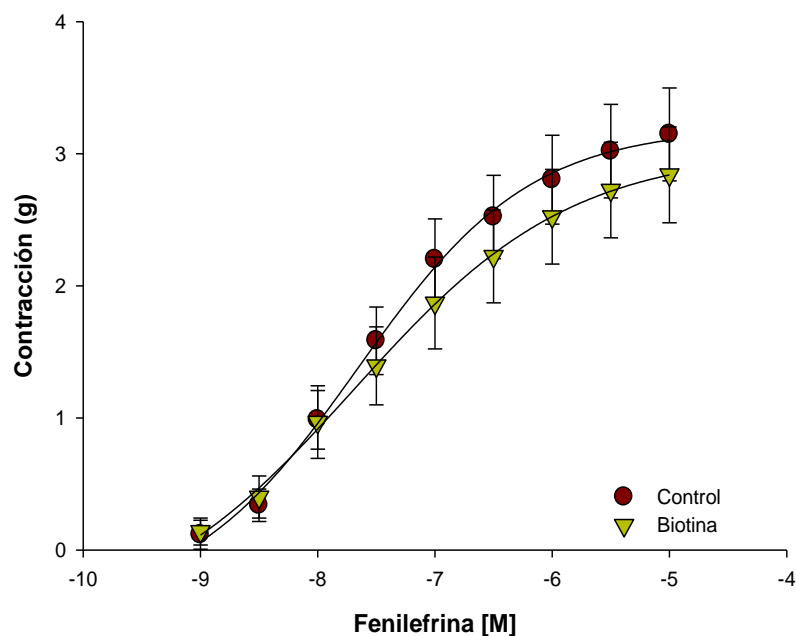


Figura 5. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas normotensas. Curva de concentración-respuesta a fenilefrina en aorta con endotelio incubada previamente con biotina o vehículo. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 18 animales.

Posteriormente se realizó el mismo procedimiento antes mencionado en ratas normotensas (control), a las cuales les fue removido el endotelio. En éstas se observó una disminución estadísticamente significativa en la contracción de aproximadamente el 29%, en las que fueron incubadas con biotina, en comparación con el control (vehículo) (Figura 6).

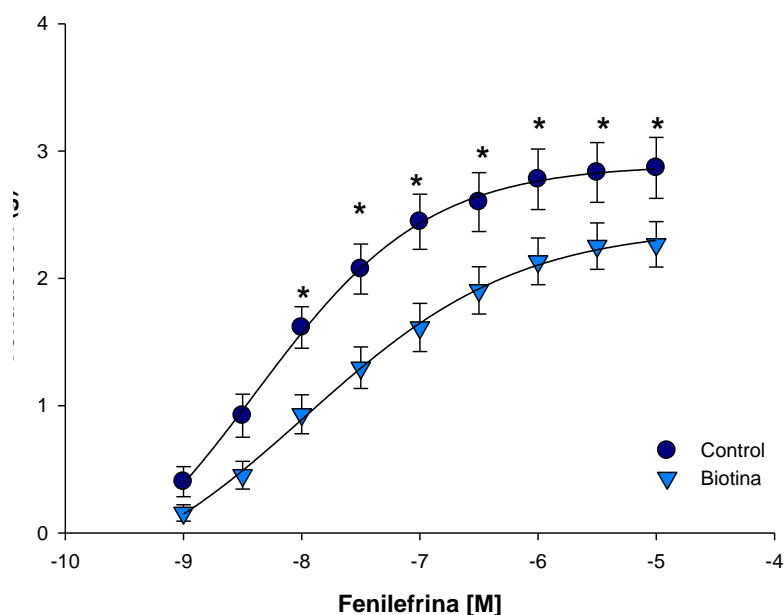


Figura 6. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de ratas normotensas. Curva de concentración-respuesta a fenilefrina en aorta sin endotelio incubada previamente con biotina o vehículo. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 18 anillos. * $p < 0.05$.

7.3. EFECTO DE LA BIOTINA SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A LA FENILEFRINA EN AORTA CON Y SIN ENDOTELIO DE RATAS TRATADAS CON L-NAME

En aorta con endotelio de animales tratados con L-NAME (deficientes de óxido nítrico), la biotina produjo una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$) de aproximadamente un 57% con respecto al grupo control (Figura 7).

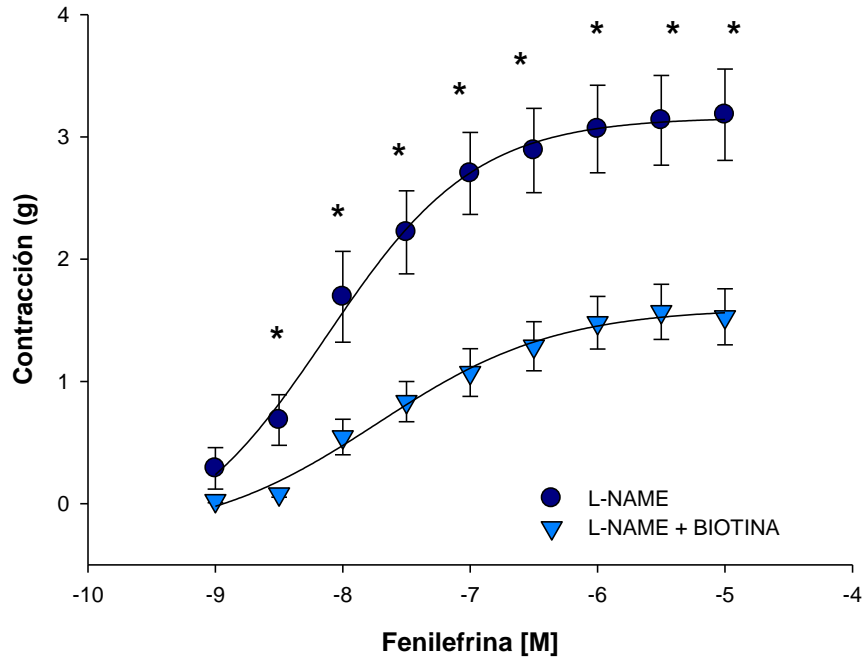


Figura 7. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas deficientes de óxido nítrico. Curvas de concentración-respuesta a fenilefrina en aorta con endotelio de animales tratados con L-NAME durante 15 días e incubada previamente con biotina o vehículo. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 18 animales. * $p < 0.05$.

En la respuesta de contracción a la fenilefrina en aorta sin endotelio de ratas deficientes de óxido nítrico, se observó que la biotina produjo una disminución estadísticamente significativa de aproximadamente un 36 % en comparación con el grupo control (Figura 8).

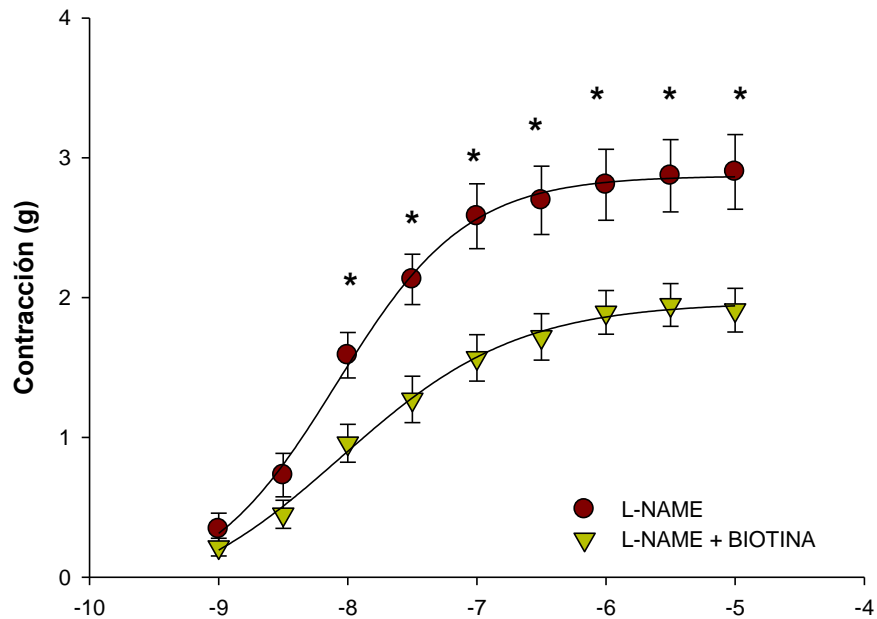


Figura 8. . Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de ratas deficientes de óxido nítrico. Curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de animales tratados con L-NAME durante 15 días. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 18 animales. * $p < 0.05$.

Al comparar el efecto de la biotina en la contracción de aorta con endotelio de ratas control y en deficientes óxido nítrico, se observó que la biotina no modificó la respuesta en la aorta de ratas control en tanto si la modificó con respecto al grupo control tratado con L-NAME no mostró diferencias con respecto al control normotenso (Figura 9) ($p < 0.05$).

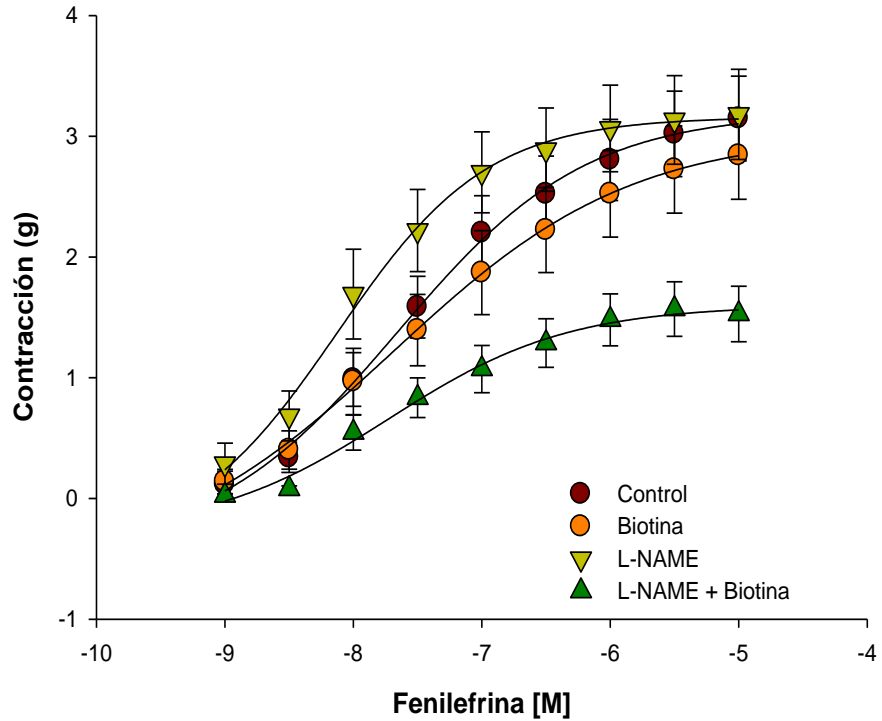


Figura 9. Comparación del efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas normotensas y deficientes de óxido nítrico. Curvas de concentración-respuesta a fenilefrina en aorta con endotelio de animales control y tratados con L-NAME durante 15 días. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 18 animales. * $p < 0.05$.

Al comparar el efecto de la biotina en aorta sin endotelio de ratas normotensas y en deficientes óxido nítrico, se observó un efecto vasorrelajante mayor en aorta torácica de ratas tratadas con L-NAME después de la incubación con biotina ($p < 0.05$; ANOVA seguida de una prueba de Tukey). Aunque también logró una vasorrelajación solo que un poco menor en ratas normotensas sin endotelio después de la incubación con biotina (Figura 10).

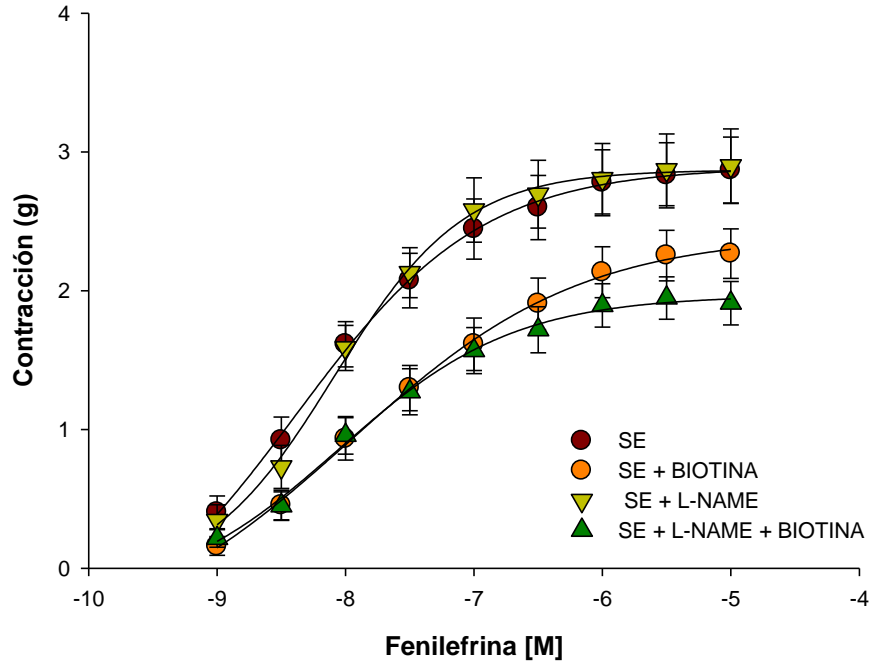


Figura 10. Comparación del efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de ratas normotensas y deficientes de óxido nítrico. Se realizaron curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta sin endotelio de animales control y tratados con L-NAME durante 15 días. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 18 anillos. * $p < 0.05$.

7.4. EFECTO DE LA BIOTINA Y EL L-NAME SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A LA FENILEFRINA EN AORTA

Con la finalidad de confirmar la participación del óxido nítrico en el efecto vasorrelajante de la biotina, se realizaron curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina (1×10^{-9} - 1×10^{-5} M), previa incubación con el inhibidor L-NAME, biotina y L-NAME y biotina juntos, en aorta torácica con endotelio de ratas normotensas. En la figura 11 se observó un incremento en la contracción de la aorta torácica incubadas con L-NAME, al igual que las que fueron incubadas con L-NAME y biotina; aquellas que solo fueron incubadas con biotina. Además, se observa un efecto vasorrelajante mayor en aorta torácica de ratas comparada con la curva control y las curvas con L-NAME después de la incubación ($p < 0.005$; ANOVA seguida de una prueba de Tukey).

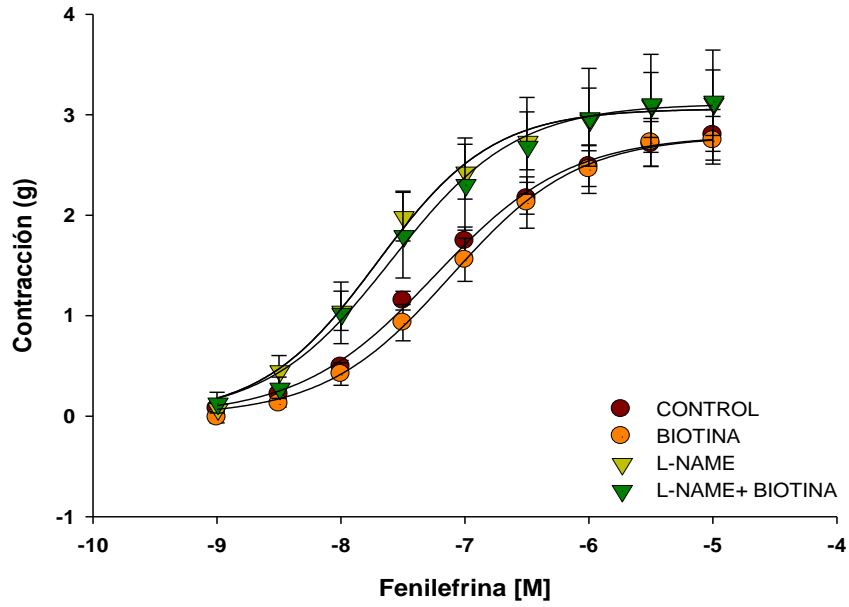


Figura 11. Efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas normotensas. Curvas de concentración-respuesta a fenilefrina en aorta con endotelio de animales control en ausencia y en presencia de biotina y L-NAME. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 12 animales. * $p < 0.05$.

8. DISCUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial ⁽¹⁵⁾. La hipertensión arterial es una de las enfermedades cardiovasculares más importantes en México ⁽⁴⁷⁾, por lo que se requiere estudiar los mecanismos de acción de posibles fármacos o micronutrientes que sirvan para su tratamiento. La biotina es una vitamina que podría ser utilizada con este fin, al igual que se ha hecho con otras vitaminas para el tratamiento de una diversidad de enfermedades ^(10,28,56).

Debido a que la regulación del tono vascular es sumamente compleja e involucra la homeostasis de un amplio espectro de sustancias vasoactivas (vasoconstrictoras y vasorrelajantes) ⁽³²⁾, es muy difícil poder determinar con precisión a todos los participantes. Sin embargo, el óxido nítrico es el principal vasorrelajante dependiente del endotelio ⁽³²⁾ y su producción se ha relacionado de manera directa al efecto farmacológico de la biotina ⁽⁴⁶⁾. Por lo tanto, en esta tesis evaluamos el efecto vasorrelajante de la biotina en la contracción arterial y no encontramos un posible mecanismo de acción, pero al parecer no participa el óxido nítrico, pero no se puede excluir la participación de otros factores vasorrelajantes del endotelio y del calcio extra y/o intracelular.

Al evaluar el efecto de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en aorta aislada con endotelio, observamos que no tiene ningún efecto con respecto al control. Lo que nos indica que la biotina no modifica la contracción cuando la función endotelial y su complejo sistema de regulación (óxido nítrico, prostaciclina, factor hiperpolarizante, adenosina, etc.) ésta normal. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Watanabe en el 2008, donde la administración de biotina a ratas Wistar Kioto no modificó la presión arterial del animal ⁽⁵⁷⁾.

En los estudios en aorta libre del endotelio, observamos un decremento en la contracción en respuesta a fenilefrina. Lo que sugiere que el efecto vasorrelajante de la biotina no es debido a un aumento en la producción de óxido nítrico, ya que no está presente el endotelio. También podemos pensar que al no estar el endotelio tampoco estarán presentes los factores vasoconstrictores como la endotelina, tromboxano A2, prostanglandina H2, etc. ⁽¹⁴⁾ y el efecto hipotensor de la biotina también podría ser en parte, debido a este hecho. Estos resultados pueden parecer contradictorios a los reportados por Rodríguez y colaboradores en el 2009, quienes describieron que la biotina a condiciones farmacológicas, incrementan la producción de óxido nítrico en la línea celular Jukart ⁽⁴⁶⁾. Pero es importante señalar que ellos estudiaron el efecto farmacológico de la biotina en una línea celular linfocítica no relacionada con la regulación de la presión arterial.

En el modelo de hipertensión arterial en ratas Wistar con tratamiento de L-NAME, no observamos diferencias entre los grupos con respecto al consumo de alimento y agua. Lo cual valida el uso del modelo animal en nuestra manos para los posteriores estudios, ya que no observamos cambios metabólicos visibles que pudieran influir en la presión arterial *per se*. En este modelo de hipertensión con L-NAME, observamos un pronunciado decremento en la contracción de la aorta en respuesta a fenilefrina, tanto con y sin endotelio después de la incubación con biotina. Estos resultados son similares a los descritos por Watanabe y colaboradores, donde observaron que la biotina sólo tenía efecto en la presión arterial de la cepa SHRSP (stroke-prone spontaneously hypertensive rat), en la cual se sabe que presentan un daño endotelial ⁽⁵⁴⁾. Lo cual indica que es necesario que exista una alteración endotelial para que la biotina tenga un efecto hipotensor y que no está relacionado con la producción de óxido nítrico. Cuando las arterias fueron incubadas *in vitro* con L-NAME observamos un aumento en la contracción arterial de las arterias en respuesta fenilefrina, lo que es de esperarse por una abolición en la producción del óxido nítrico. Cuando se incubaron con la biotina y el L-NAME juntos, hubo un ligero incremento en la contracción con respecto al L-NAME sólo.

Esto sería diferente a su acción hipotensora observada en anillos de aorta sin endotelio y en los obtenidos de ratas tratadas con L-NAME. Lo cual puede ser debido a las condiciones de las arterias, ya que el tratamiento crónico de L-NAME provoca una disfunción endotelial con inflamación perivascular, remodelamiento arterial y aumento en los factores vasoconstrictores ⁽⁵⁴⁾. En cambio en las arterias tratadas *in vitro* con L-NAME sólo se inhibe la actividad de la óxido nítrico sintasa y más que un efector hipotensor de la biotina, puede ser sólo el reflejo de la falta de óxido nítrico.

Es importante hacer notar que en todos los experimentos se utilizó como control positivo la contracción la fenilefrina, el cual es un agonista selectivo de receptores α -1A. Estos receptores son miembros de la superfamilia de receptores asociados a proteínas Gq que activan a la fosfolipasa C, lo cual provoca un aumento en el inositol trifosfato (IP3) y el calcio, lo que conlleva a la contracción muscular ⁽⁴⁹⁾. Por lo que el efecto hipotensor de la biotina observado en la respuesta a fenilefrina, pudiera estar relacionado con una disminución en el calcio. Además, los receptores α -1A están relacionados con el influjo del calcio extracelular a través de los canales iónico de calcio dependientes de voltaje, así como a la movilización de calcio intracelular de las vesículas sensibles a IP3 o a receptores de rianodina ⁽⁴⁹⁾. Por lo tanto, la disminución del calcio provocada por la biotina, puede ser debida a alteraciones en la entrada del calcio extracelular o a la liberación y/o secuestro del calcio intracelular por el retículo sarcoplásmico dependiente de receptores de rianodina o IP3.

Los resultados de esta tesis brindan nuevos conocimientos sobre el mecanismo de acción de la biotina sobre la contracción arterial

9. CONCLUSIONES

1.- La biotina no ejerce un efecto vasorrelajante en anillos de aorta de ratas control con endotelio. Sin embargo, en ratas sin endotelio se observó una ligera disminución en la contracción.

2.- La biotina disminuye la contracción arterial *ex vivo*.

3.- El efecto relajante de la biotina en la contracción arterial parece ser independiente del óxido nítrico.

10. PERSPECTIVAS DEL TRABAJO

Realizar estudios farmacológicos para determinar el mecanismo de acción que ejerce el efecto vasorrelajante de la biotina ya que es de llamar la atención que el efecto hipotensor sea mayor en las arterias que tienen endotelio, lo cual indica que pudiera estar participando algún otro factor vasorrelajante dependiente del endotelio, como las prostaciclinas, quienes incrementan la producción de AMPc y disminuyen el calcio intracelular provocando relajación del músculo.

11. REFERENCIAS

1. Aguilera-Méndez A., Serrato-Ochoa D., Nieto-Aguilar R. 2013. La biotina: una vitamina vieja con funciones nuevas. *Biológicas* 15(1):24-30.
2. Albarracin C., Fuqua B., Geohas J., Juturu V., Finch M., Komorowski J. 2007. Combination of chromium and biotin improves coronary risk factors in hypercholesterolemic type 2 diabetes mellitus: a placebo-controlled, double-blind randomized clinical trial. *J Cardiometab Syndr.* 2:91-97.
3. Albarracin C. Fuqua B., Evans J., Goldfine I. 2008. Chromium picolinate and biotin combination improves glucose metabolism in treated, uncontrolled overweight to obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 24(1):41-51.
4. Arias P. 2003. Bases fisiológicas de la práctica médica. 13 edición. Médica Panamericana. ed. pp. 652-657.
5. August P. 2003. Initial treatment of hypertension. *The New England Journal of Medicine.* 348:610-617.
6. Barrett K., Barman S., Boitano S., Brooks H., 2010 Ganong Fisiología Medica (Fisiología cardiovascular VI. Mecanismos reguladores cardiovasculares). 23ª edición. McGraw-Hill ed. pp. 537-543.
7. Bertram G. 2010. Farmacología Básica y clínica (Fármacos cardiovasculares y renales). 11ª edición. McGraw-Hill ed. pp. 167-189.
8. Calero R., Pio O., Arantes F., Batista C., Friolani S., Assef J., Barbosa J. 2012. Influence of Carotid Injury in Post-Myocardial revascularization surgery and its late evolution. *Arq Bras Cardiol.* 101(4):297-303.
9. Carrillo E., González S. 2003. Vasopresina para el manejo del choque refractario con vasodilatación. *Revista de la asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva.* 17(1):5-10.
10. Cheung F., Lovicu F., Reichardt J. 2012. Current progress in using vitamin D and its analogs for cancer prevention and treatment. *Expert Rev Anticancer Ther.* 12:811-37.

11. Christakos S., Dhawan P., Liu Y., Peng X., Porta A. 2003. New insights into the mechanisms of vitamin D action. *J Cell Biochem.* 88: 695-705.
12. Del Río L. 2005. Biotin dependent regulation of gene expression in human cells. *Journal of nutritional biochemistry* 16:432–434.
13. De Barros S., R. 2012. Hypertension and renin-angiotensin system antihypertensive drugs, Edited by Hossein Babaei. Published by InTech, Croatia. pp.86.
14. Dorris S., Pleebs R. 2012 PGI2 As a regulator of inflammatory diseases *Mediators Inflamm.* 2012:926-968.
15. Favela E., Barbosa J., Medina G., Rolon M. 2008. Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y tratamiento de la hipertensión Arterial en el primer nivel de atención. México: secretaria de salud.
16. Feldstein C., Romero J. 2007. El sistema renina angiotensina en la hipertensión esencial. *Revista Latinoamericana de Hipertensión.* 2 (2): 49-58.
17. Fernandez M., Lazo V., Monroy M. 2010. Effects of Pharmacological Concentrations of biotin. *JECAM.* 16:40-48.
18. Ferrario C, Bellini C, Desideri G. 1998. Clustering of endothelial markers of vascular damage in human salt. Sensitive hypertension: Influence of dietary sodium load and depletion. *Hypertension.* 862-868.
19. Florez J., Armijo J., Mediavilla A. 2008. *Farmacología Humana (Farmacología de la hipertensión arterial, la insuficiencia vascular la angiogénesis).* 4ª edición. Elsevier ed. pp 771-790.
20. Förstermann U., Kleinert H. 1995. Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 352(4):351-64.
21. García A., García G. 2011. Biotina y regulación transcripcional (génica) y epigenética en la especie humana. *Repert. Med. Cir.* 20(3):158-168.
22. Giuseppe M., Stephane L., Enrico A.R., Ettore A. 2009. Reappraisal of European guidelines on hypertension. *Blood Pressure.* 18(6):308-347.

23. Gourine A. 2004. On the peripheral and central chemoreception and control of breathing: an emerging role of ATP. *J Physiol* 568:715-724.
24. Guyton A., Hall J. 2002. *Tratado de fisiología médica*. 11ª edición. McGraw-Hill ed pp.112-118.
25. Guyton A., Hall J. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. W.B. Saunders Company. pp 110.
26. Hans K., Peter G. 2007. *Nutrition Text y Atlas*, 3ª edición. Panamericana ed pp 186-187.
27. Herguta, G. 2002. *Guía de la Hipertensión arterial*. 2º ed. Madrid: Norma-Capitel. pp 1-5
28. Hinds T., West W. Knight E. 1997. Carotenoids and retinoids: a review of research, clinical and public health applications. *J Clin Pharmacol.* 37(7):551-558.
29. Hoffman Brian B. 2007. *Terapéutica de la hipertensión: Goodman and Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª edición. McGraw-Hill Interamericana ed. pp. 845-68.
30. Ignarro L., Buga G., Wood K., Byrns R., Chaudhuri G. 1987. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 84:9265–9.
31. Jeffrey D., James S., Ben B., David R., George A., Haslyn E. 2007. Understanding social disparities in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control: The role of neighborhood context *social Science & Medicine.* 65(9):1853-1866.
32. Kasko M., Budaj M, Hulin I. 2012. Harmful or Helpful Hypertension–Pathophysiological Basis. genetics and pathophysiology of essential hypertension, Edited by Madhu Khullar. Published by InTech, Croatia. 5-30 pp.
33. Kearney P., Whelton M., Reynolds K., Muntner P., Whelton P., He J. 2005. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *The Lancet.* 365:217-23.

34. Lee J., Robson M., Yu L., Shirodaria C., Cunnington C., Kylintireas I., Digby J., Bannister T., Handa A., Wiesmann F., Durrington P., Channon K., Neubauer S., Choudhury R. 2009. Effects of high-dose modified-release nicotinic acid on atherosclerosis and vascular function: a randomized, placebo-controlled, magnetic resonance imaging study. *J Am Coll Cardiol.* 54:1787-94.
35. Longo D.F., Kasper L, Hauser S, Jameson I, Loscalzo J Harrison. 2012. Principios de medicina interna (Transtornos del aparato cardiovascular Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares) 18ª edición. Mc Graw Hill ed volumen 2 pp. 1798-1816.
36. Maebashi M, Makino Y.,1993. Therapeutic evaluation of the effect of biotin in hyperglycemia in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr.* 14:211–218.
37. Melo V., Cuamatzi O. 2006. Bioquímica de los procesos metabólicos, Reverté ed pp. 336-337.
38. Mock, D. 2006. Biotin in Modern Nutrition in Health and Disease. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore ed pp. 498-506.
39. Narang M., Dumas R., Ayer L., Gravel R. 2004. Reduced histone biotinylation in multiple carboxylase deficiency patients: a nuclear role for holocarboxylase synthetase. *Hum Mol Genet.* 13(1):15-23.
40. Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica.
41. Randi E., Frederic E., Tonya W. 2012. Secrecy and the Pathogenesis of hypertension international Journal of Family Medicine. 2012:1-3.
42. Revilla M., Zendejas R., Islas A., Báez S., Palomino G., M.A, Fernández M. 2006. Biotin supplementation reduces plasma triacylglycerol and VLDL in type 2 diabetic patients and in nondiabetic subjects with hypertriglyceridemia. *Biomed Pharmacother.* 60(4):182-5.
43. Rodríguez M. 2000. Importancia del metabolismo de la biotina. *Investigación clínica.* 52:194-199.

44. Robertson G. 1977. The regulation of vasopressin function in health and disease. *Prog Horm Res.* 33:333-385.
45. Rodríguez M., Zemleni J. 2003. Regulation of gene expression by biotin (review). *J Nutr Biochem.* 14 (12):680-690.
46. Rodríguez M. R., Zemleni J. 2009. Nitric oxide signaling depends on biotin in Jurkat human lymphoma cells. *J Nutr.* 139 (3):429-33.
47. Romero M., Shamah L., Franco N., Villalpando S, Cuevas N., Rivera D., Gutiérrez J. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición: diseño y cobertura. *Salud Pública Mex.* 2012:10-23.
48. Rosler J., Best T. 2003. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica “Bloques constitutivos del sistema nervioso: neurona y glía”. 13ª edición. Médica Panamericana ed pp. 801-816.
49. Salomonsson M., Brännström K., Arendshorst W. 2000. α 1-Adrenoceptor subtypes in rat renal resistance vessels: in vivo and in vitro studies. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 278:F138–F147.
50. Sklar A., Schrier R. 1983. Central nervous system mediators of vasopressin release. *Physiol Rev.* 63:1243-1280.
51. Solorzano V., Pacheco A., León-Del-Río A., 2002. Holocarboxylase synthetase is an obligate participant in biotin mediated regulation of its own expression and of biotin-depend carboxylases mRNA levels in human cells. *Proc Natl Acad Sci.* 99(8):5325-30.
52. Sosa-L., Astudillo V. 2005. Óxido nítrico y prostaglandinas en la regulación endotelial del tono contráctil en la vasculatura renal de ratas hipertensas. *Rev. Sanid Milit México* 59(1):32-50.
53. Tesfamariam B., Halpern W. 1988. Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in resistance arteries from hypertensive rats. *Hypertension.* 11:440–444.
54. Török J. 2008. Participation of Nitric Oxide in Different Models of Experimental Hypertension. *Physiol. Res.* 57:813-825.
55. Vilchis F., Fernandez M. 2005. Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Rev. Invest. Clin.* 57:716-724.

56. Vosper H. 2009. Niacin: a re-emerging pharmaceutical for the treatment of dyslipidaemia. *Br J Pharmacol.* 158 (2):429-441.
57. Watanabe K., Kamiyama S. 2008. Antihypertensive effect of biotin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr.* 99 (4):756-763.
58. Westfall T., Westfall P., 2010. Neurotransmisión, sistema nervioso autónomo y motor somático. Goodman & Gilman, Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11ª edición. pp. 137-178.
59. Wharton J., Morgan K., Rutherford R.A., Catravas J., Chester A., Whitehead B., De Leval M., Yacoub M., Polak J. 1998. Differential distribution of angiotensin AT2 receptors in the normal and failing human heart. *J Pharmacol Exp Ther.* 284(1):323-36.
60. Zempleni J. 2005. Uptake, localization and noncarboxylase roles of biotin. *Department of Nutrition and Health Sciences* 25:175-96.
61. Zempleni J., Helm R.M., Mock D.M. 2001. In vivo biotin supplementation at a pharmacologic dose decreases proliferation rates of human peripheral blood mononuclear cells and cytokine release. *J Nutr.* 131(5):1479-84.