



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“ESTUDIO DEL EFECTO HIPOTENSOR DE LA BIOTINA EN EL RIÑÓN”

TESIS:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

PRESENTA:

p. Q.F.B. JESÚS MANUEL ROMÁN MANZANARES

ASESOR:

DOCTOR EN CIENCIAS: ASDRÚBAL AGUILERA MÉNDEZ

CO-ASESOR:

MAESTRA EN CIENCIAS: BLANCA NATERAS MARÍN

Morelia, Michoacán, Octubre de 2015.

El presente trabajo se realizó en el:
Laboratorio de Bioquímica y Genética de la Nutrición del Instituto
de Investigaciones
Químico-Biológicas, Edificio B-3, Ciudad Universitaria.
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

El trabajo se realizó gracias al apoyo de:
Proyectos CIC-UMSNH 2.44 y PROMEP UMSNH-208.

DEDICATORIA

*A mí madre María Inés Manzanares Bahena y a
mí padre Manuel Román Cerón.*

A mí hermana María Isabel Román Manzanares

A mí abuelita Lucrecia †.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme salud, fuerza y sabiduría necesaria para llegar y culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres por haberme apoyado en cualquier momento y estar cuando más lo necesité.

A mi asesor de tesis el DC. Asdrúbal Aguilera Méndez por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto, la confianza, el apoyo, la paciencia y todas las enseñanzas que me ha brindado. Gracias.

A mi Co-Asesora de tesis la MC. Blanca Nateras Marín por el apoyo, la confianza, el tiempo dedicado a este proyecto y sus conocimientos que me ha transmitido, Muchas Gracias Maestra Blanquita.

A mis compañeros de Laboratorio Zaira, Xóchitl y Lalo por brindarme su amistad, compartir conocimientos y pasar buenos momentos.

A mis hermanos Carlos, Julio Cesar, Miguel, Gustavo, David, Diego por las experiencias vividas a lo largo de este camino y que fueron convirtiéndose en una valiosa amistad.

A mi comité tutorial Mtra. Alma Rosa García Ríos, D.C. Marcia Yvette Gauthereau Torres, M.C. Héctor Urquiza Marín, D.C. Daniel Godínez Hernández, Dr. Renato Nieto Aguilar.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS.....	III
RESUMEN	V
ABSTRACT.....	VI
I. INTRODUCCIÓN.	1
1.1 La biotina.	1
1.2 Función de la biotina.	2
1.2.1 Ciclo de la biotina.....	3
1.3 Función de la biotina en la expresión de genes y en otros procesos biológicos.	5
1.3.1 Vía de señalización de la guanilato ciclase soluble/proteína cinasa G (GC/PKG).	6
1.3.2 Biotinilación de histonas	7
1.3.3 Efecto sobre la regulación de la expresión de genes.....	7
1.3.4 Efecto sobre el metabolismo de carbohidratos	8
1.3.5 Efecto sobre el metabolismo de lípidos	8
1.4 Presión arterial.....	9
1.4.1 Mecanismos de regulación de la presión arterial.....	11

1.4.1.1 Regulación nerviosa de la presión arterial.....	11
1.4.1.1.1 Reflejo barorreceptor.....	11
1.4.1.1.2 Reflejo quimiorreceptor.....	12
1.4.1.1.3 Respuesta isquémica del sistema nervioso central.....	13
1.4.1.2 Regulación hormonal de la presión arterial.....	13
1.4.1.2.1 Sistema renina-angiotensina.....	13
1.4.1.2.2 Sistema noradrenalina-adrenalina.....	14
1.4.1.2.3 Hormona antidiurética (HDA) o vasopresina.....	14
1.4.1.2.4 Péptido natriurético auricular (PNA).....	15
1.4.1.3 Regulación renal de la presión arterial.....	15
1.4.1.3.1 Autorregulación renal.....	18
1.4.1.3.2 Sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	18
1.4.2 Moléculas vasodilatadoras.....	18
1.4.2.1 Óxido nítrico.....	19
1.4.2.2 Bradicinina.....	20
1.4.2.3 Histamina.....	21
1.4.2.4 Prostaglandinas.....	22
1.5 Hipertensión arterial (HTA)	22
1.5.1 Clasificación.....	23
1.5.1.1 En función de los valores de presión arterial.....	23

1.5.1.2 En función de la etiología.....	24
1.5.2 Alteraciones renales como consecuencia de la hipertensión arterial.....	24
1.6 Modelos experimentales de hipertensión arterial	25
1.6.1 Ratas espontáneamente hipertensas (SHR)	26
1.6.2 Hipertensión por deficiencia de óxido nítrico	26
1.6.3 Hipertensión inducida por angiotensina II	27
1.6.4 Hipertensión renovascular	27
II. ANTECEDENTES	27
III. JUSTIFICACIÓN	29
IV. HIPÓTESIS	30
V. OBJETIVOS	30
5.1 Objetivo general.....	30
5.2 Objetivos particulares.....	31
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	31
6.1 Modelo experimental.....	31
6.2 Protocolo experimental	31
6.3 Extracción y perfusión del riñón	32
6.4 Uso <i>in vitro</i> del inhibidor indometacina sobre el efecto de la biotina en la respuesta a fenilefrina de riñón aislado de rata.	33
6.5 Análisis estadístico.....	34
VII. RESULTADOS	34

7.1 Consumo de agua y alimento de los animales.....	34
7.2 Efecto de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón aislado de ratas control y tratadas con L-NAME.	35
7.3 Efecto <i>in vivo</i> de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón aislado de ratas tratadas con L-NAME.....	37
7.4 Efecto de la biotina y el inhibidor indometacina sobre la respuesta presora a fenilefrina en riñón de rata normotenso.....	38
VIII. DISCUSIÓN	40
IX. CONCLUSIONES	44
X. REFERENCIAS	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula química de la biotina.	1
Figura 2. Reacciones metabólicas mediadas por carboxilasas dependientes de biotina como cofactor.	2
Figura 3. Ciclo de la biotina.....	4
Figura 4. Mecanismo de acción de la biotina.	7
Figura 5. Estructura del riñón..	16
Figura 6. Estructura de la nefrona.	17
Figura 7. Síntesis de ON en la célula endotelial y su función en el músculo liso vascular.....	20
Figura 8. Efecto de la biotina a diferentes concentraciones en riñón aislado y perfundido de ratas normotensas.....	36
Figura 9. Efecto de la biotina a diferentes concentraciones en riñón aislado y perfundido de ratas tratadas con L-NAME <i>in vivo</i>	37
Figura 10. Efecto <i>in vivo</i> de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón aislado de ratas tratadas con L-NAME.....	38
Figura 11. Efecto de la biotina e indometacina en la presión de perfusión renal de ratas normotensas.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la HTA según los niveles de PA.	23
Tabla 2. Consumo de agua y alimento	34

LISTA DE ABREVIATURAS

A: Adrenalina.

AC: Adenilato ciclasa.

ACC: Acetil coenzima A carboxilasa.

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico.

Ang-I: Angiotensina uno.

Ang-II: Angiotensina dos.

ANOVA: Análisis de varianza.

Células YG: Células yuxtaglomerulares.

COX: Ciclooxygenasa.

CV: Centro cardiovascular.

ECA: Enzima convertidora de angiotensina.

eNOS: Óxido nítrico sintasa endotelial.

ENSANUT: Encuesta nacional de salud y nutrición.

e.e.: Error estándar.

GC: Gasto cardíaco.

GCs: Guanilato ciclasa soluble.

GMPc: Guanosín monofosfato cíclico.

GTP: Guanosín trifosfato cíclico.

HAD: Hormona antidiurética.

HSC: Holocarboxilasa sintetasa.

HTA: Hipertensión arterial.

iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible.

kg: Kilogramo.

L-NAME: N^G-nitro-L-arginina metil éster

MCC: Metilcrotonil coenzima A carboxilasa.

mg: Miligramo.

mm Hg: Milímetros de mercurio.

NA: Noradrenalina.

nNOS: Óxido nítrico sintasa neuronal.

NOS: Óxido nítrico sintasa.

OMS: Organización mundial de la salud.

ON: Óxido nítrico.

PA: Presión arterial.

PC: Piruvato carboxilasa.

PCC: Propionil coenzima A carboxilasa.

PGE₂: Prostaglandina E₂.

PGI₂: Prostaciclina.

PKA: Proteína cinasa A.

PKG: Proteína cinasa G.

PNA: Péptido natriurético auricular.

RVPT: Resistencia vascular periférica total.

SHR: Ratas espontáneamente hipertensas.

SHRSP: Ratas espontáneamente hipertensas propensas a accidente cerebrovascular.

SMVT: Transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio.

SNC: Sistema nervioso central.

SRA: Sistema renina-angiotensina.

μM: Micro molar.

RESUMEN

La hipertensión arterial es un trastorno multifactorial caracterizado por un incremento de la presión sistólica y diastólica, asociado a la generación de complicaciones como la insuficiencia renal. En México, la ENSANUT 2012 reportó que afecta a 1 de cada 3 adultos, por lo que es sumamente importante el uso de nuevos fármacos o el uso de terapia combinada. 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, como el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Además, se ha reportado que la biotina tiene un efecto antihipertensivo en ratas espontáneamente hipertensas, pero sólo existe un estudio hasta el momento. A pesar de que existen múltiples estudios del efecto de la biotina sobre diversas funciones biológicas, los mecanismos por los cuales se producen estas acciones permanecen poco estudiados. Por lo tanto, en este trabajo se pretende aportar nuevos conocimientos del efecto hipotensor de la biotina en el riñón. Con este propósito hicimos estudios *in vivo* utilizando un modelo de ratas hipertensas por administración de L-NAME y estudios *ex vivo* en riñón aislado. Se cuantificó la presión de perfusión utilizando fenilefrina y además el inhibidor indometacina para los estudios *ex vivo*. Los resultados sugieren que la biotina no ejerce un efecto hipotensor a través de la síntesis de óxido nítrico y tampoco por el mecanismo de síntesis de las prostaglandinas. Además de no existir una relación entre el nivel de concentración de la biotina y su posible efecto antihipertensivo. Por lo que podemos sugerir que el efecto hipotensor no es a través de regular los mecanismos renales del control de la presión arterial. En conclusión, la biotina no ejerce un efecto antihipertensivo a nivel renal.

Palabras clave: hipertensión, vitamina, biotina, antihipertensivo, riñón.

ABSTRACT

Hypertension is a multifactorial disorder characterized by an increase in systolic and diastolic pressures associated with the generation of complications such as kidney failure. In Mexico, the 2012 ENSANUT reported that it affects 1 in every 3 adults. So, it is extremely important the use of new drugs or the use of combination therapy. Biotin is a vitamin that is involved as a cofactor of the carboxylases and it has been reported that modifies gene expression at pharmacological concentrations and affects various biological processes, such as metabolism of carbohydrates and lipids. In addition, it was reported that biotin induced an antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats, but there is only one study so far. In spite of there are multiple studies of the effect of biotin on different biological functions, the mechanisms by which these actions occur remain little studied. Therefore, in this work, we aim to provide new knowledge of the biotin hypotensive effect in the kidney. So we did studies *in vivo* using a rat model of hypertension by L-NAME and *ex vivo* studies in isolated kidney. We quantified the perfusion pressure using phenylephrine and in addition the inhibitor indomethacin for *ex vivo* studies. The results suggest that biotin does not exert a hypotensive effect through nitric oxide synthesis and not by the mechanism of prostaglandins synthesis. In addition, it does not exist a relationship between concentration levels of biotin and its possible antihypertensive effect. We can suggest that its hypotensive effect is not through regular renal mechanisms of blood pressure control. In conclusion, biotin does not exert an antihypertensive effect at kidney level.

Keywords: hypertension, vitamin, biotin, antihypertensive, kidney.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 LA BIOTINA.

La biotina (vitamina B7 o H) fue descubierta por Boas y caracterizada por Kolg y Tonnies (1932) como un factor indispensable para el crecimiento de levaduras, tiene una estructura química de un compuesto heterocíclico, formado por un anillo de ureido (imidazolidona) unido a un anillo tetrahidrotiofeno, que posee una cadena lateral de ácido valérico (**Figura 1**). La molécula tiene tres carbonos quirales o asimétricos, obteniendo ocho estereoisómeros, de los cuales sólo uno se encuentra en la naturaleza y es enzimáticamente activo. Este único estereoisómero es denominado biotina o D-biotina (Ekhard y Filer, 1997).

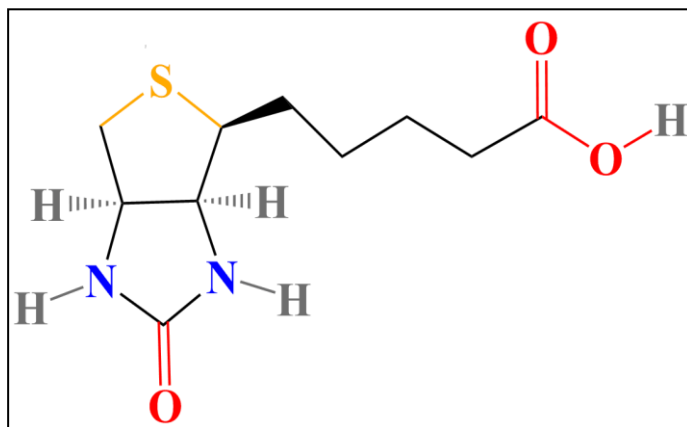


Figura 1. Fórmula química de la biotina. Formada por un anillo de ureido, el cual está unido a un anillo tetrahidrotiofeno que posee una cadena lateral de ácido valérico.

1.2 FUNCIÓN DE LA BIOTINA

La función de la biotina es participar como coenzima de las enzimas carboxilasas: acetil-CoA carboxilasa (ACC-1 y ACC-2), piruvato carboxilasa (PC), propionil-CoA carboxilasa (PCC) y metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC). Estas enzimas regulan cuatro reacciones metabólicas: la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos, la oxidación lipídica y el catabolismo de aminoácidos ramificados (Campistol *et al.*, 1996) (**Figura 2**).

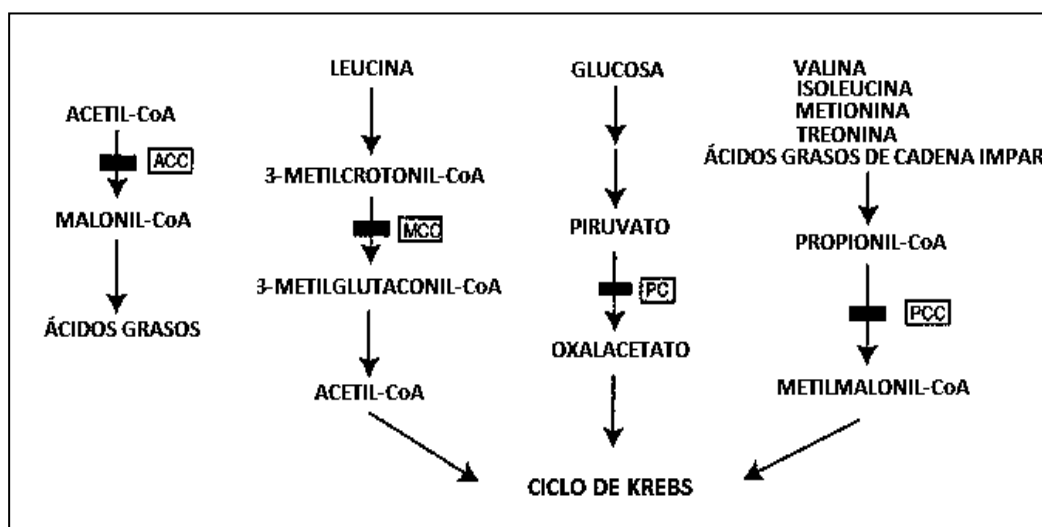


Figura 2. Reacciones metabólicas mediadas por carboxilasas dependientes de biotina como cofactor.

La enzima piruvato carboxilasa (PC) catalizan la transformación de piruvato a oxalacetato en la gluconeogénesis, la acetil-CoA carboxilasa (ACC) transforma la acetil-CoA en malonil-CoA en la biosíntesis de ácidos grasos, la propionil-CoA carboxilasa (PCC) transforma al propionil-CoA en metilmalonil-CoA en la oxidación de ácidos grasos de cadena impar y en el catabolismo de aminoácidos ramificados y la metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC) interviene en el catabolismo del aminoácido leucina (Modificado de Pacheco *et al.*, 2002).

Debido a que la biotina no puede ser sintetizada por los animales es necesario consumirla en la dieta diaria. Esta vitamina es hidrosoluble y se encuentra unida al grupo ϵ -amino de la lisina formando el dímero biocitina, péptidos biotinilados o en forma libre. También se puede obtener del aporte de las bacterias de la flora intestinal. La biotina libre se absorbe por los enterocitos de la porción distal del duodeno y proximal del yeyuno y posteriormente pasa al torrente sanguíneo. Entra a las células mediante un transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) que reconoce principalmente la porción del ácido valérico de la biotina (Aguilera *et al.*, 2013).

1.2.1 CICLO DE LA BIOTINA

Las carboxilasas son sintetizadas como apocarboxilasas, sin actividad enzimática en el citoplasma (Vilches y Fernández, 2005). Para que se lleve a cabo la biotinilación de las apocarboxilasas, la biotina debe reaccionar con una molécula de ATP, formando el compuesto intermediario biotinil-5'-adenilato, en donde el grupo biotinilo es transferido a la apoenzima formando un enlace semipeptídico para activar la carboxilasa, tales reacciones son catalizadas por la holocarboxilasa sintetasa (Rodríguez, 2000), permitiendo así su activación y posterior acción catalítica, en donde la biotina ya como grupo prostético participa en el mecanismo de transferencia de un grupo carboxilo activado al sustrato correspondiente (Vilches y Fernández, 2005).

Posteriormente, se lleva a cabo la proteólisis en el intestino delgado, allí, las

holocarboxilasas son catabolizadas a proteínas y péptidos para después ser absorbidos a través del epitelio intestinal. Las proteínas enlazadas con biotina son degradadas hasta péptidos pequeños y aminoácidos, entre los cuales se encuentra la biotinil-lisina (biocitina) (Rodríguez, 2000), en la cual por acción de la enzima biotinidasa se rompe el enlace covalente entre la biotina y el grupo ϵ -amino del residuo de lisina, quedando libre la biotina para así poder ser reutilizada en la activación de nuevas apocarboxilasas o formando productos derivados (**Figura 3**).

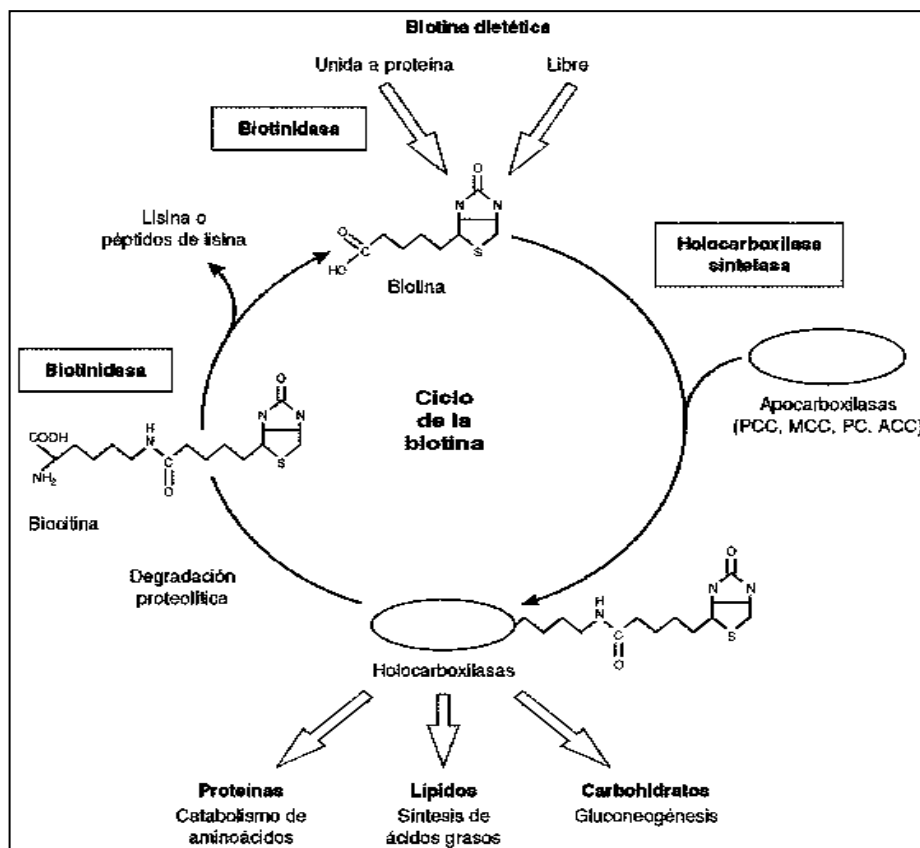


Figura 3. Ciclo de la biotina. La biotina se une a las apocarboxilasas mediante la holocarboxilasa sintetasa. La biocitina se obtiene de la proteólisis y la biotinidasa la escinde en biotina y lisina para ser reutilizada o formar productos (Rodríguez, 2000).

1.3 FUNCIÓN DE LA BIOTINA EN LA EXPRESIÓN DE GENES Y EN OTROS PROCESOS BIOLÓGICOS.

A concentraciones farmacológicas, la biotina 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 (Vilches y Fernández, 2005). Su efecto en la expresión de genes no se debe sólo a la biotina, sino también a sus metabolitos como la desoxibiotina y sulfonabiotina y algunos derivados sintéticos y no parece estar mediado como resultado de un incremento en la actividad de las carboxilasas. En análogos sintéticos como la diaminobiotina y la destiobiotina, que no participan como grupo prostético de las carboxilasas, se observó que modifica la expresión de genes como lo hace la biotina (Rodríguez *et al.*, 2003).

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. 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. Estos mecanismos no son necesariamente excluyentes, por lo que podrían coexistir (Rodríguez y Zemleni, 2009).

1.3.1 VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA GUANILATO CICLASA SOLUBLE/PROTEÍNA CINASA G (GC/PKG).

Los estudios reportados por Vesely en 1982, demostraron que la adición de biotina a líneas celulares incrementaba la actividad de la guanilato ciclasa soluble (GCs) (Vesely, 1982). Spence y Koudelka descubrieron un aumento en las concentraciones intracelulares de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) en cultivos de hepatocitos después de la adición de la biotina, sugiriendo que el efecto génico de esta vitamina es a través de este segundo mensajero (Spence y Koudelka, 1984).

Por su parte, Rodríguez y Zemleni, en 2009, descubrieron un aumento en la concentración de GMPc y el posterior incremento en la actividad de la PKG en células linfoides humanas (Rodríguez y Zemleni, 2009). De tal manera que estos estudios coinciden en que la biotina participa de algún modo en la activación de la vía GC/PKG.

Solórzano (Solórzano *et al.*, 2002) propuso que el compuesto biotinil-5'-AMP participa como intermediario en la activación de las cinasas. Con base en sus resultados proponen un mecanismo aún no conocido por el cual el biotinil-5'-AMP activa la GCs, dando un incremento en la concentración de GMPc y la posterior activación de la PKG, para finalmente desencadenar una serie de fosforilaciones proteicas que actúan sobre la regulación de la expresión de genes (Vilches y Fernández, 2005) **(Figura 4)**.

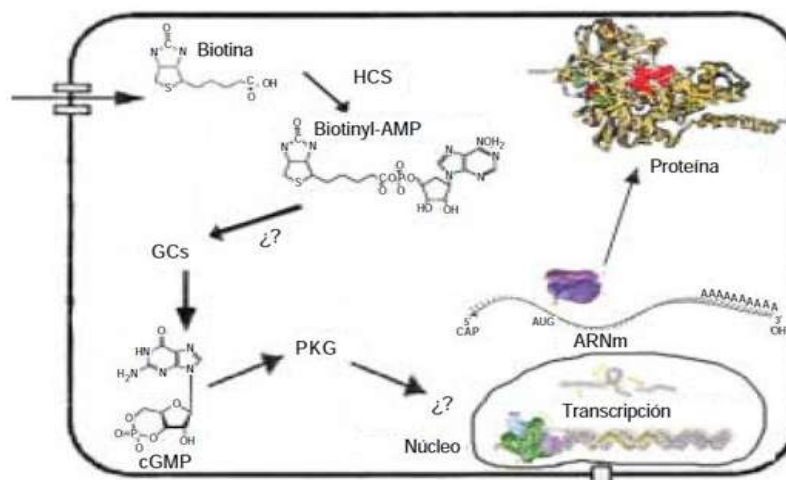


Figura 4. Mecanismo de acción de la biotina. El biotinil-5'-AMP por un mecanismo desconocido aumenta la actividad de la GCs, incrementando los niveles de GMPC, el cual activa a la PKG que participa en la fosforilación de proteínas involucradas en la expresión genética (Vilches y Fernández, 2005).

1.3.2 BIOTINILACIÓN DE HISTONAS

Varios estudios han demostrado que la biotina se une a aminoácidos de histonas de manera específica en varios tipos de células y sugieren que podría modificar la expresión génica a este nivel molecular (Hassan y Zemleni, 2006). Se encontró que en las funciones relacionadas con este mecanismo existe un decremento de linfocitos polimorfonucleares durante la proliferación celular (Zemleni *et al.*, 2001), cambios durante el ciclo celular de células de sangre periférica humana, un incremento en la biotinilación de histonas por luz ultravioleta en células Jurkat, un control epigenético y la prevención en daños al ADN (Zemleni, *et al.*, 2012).

1.3.3 EFECTO SOBRE LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES

Wiedmann y colaboradores (2004) reportaron en un estudio de microarreglos, donde en personas sanas la administración de 2.15 mg/día de biotina durante 21

días se modificó positivamente la expresión de 139 genes y se disminuyó la de 131 en células mononucleadas de sangre periférica (Wiedmann *et al.*, 2004). En otros estudios se identificó que la biotina regula a nivel transcripcional la abundancia del ARNm de proteínas que la requieren como grupo prostético y sustrato, como la holocarboxilasa sintetasa (HSC) (Rodríguez *et al.*, 2001), las carboxilasas (PC y PCC) (Solozarno *et al.*, 2002) y el transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) (Pacheco *et al.*, 2004).

1.3.4 EFECTO DE LA BIOTINA EN EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

Se encontró en estudios que la biotina (16 mg/día) administrada durante una semana disminuyó las concentraciones de glucosa en ayuno en pacientes con diabetes tipo 1 sin recibir insulina exógena, (Coggeshall *et al.*, 1985). En otro estudio con pacientes diabéticos tipo 2, la administración oral de 9 mg de biotina diarios durante un mes, disminuyó las concentraciones de glucosa en ayuno (Maebashi *et al.*, 1993). El efecto hipoglucemiante está precedido por el hecho de que la biotina reduce la expresión de genes de enzimas, cuya actividad favorece la disminución de los niveles de glucosa sanguíneas y reduce la expresión del ARNm de proteínas de acción hiperglucemiante (Aguilera *et al.*, 2013).

1.3.5 EFECTO SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS

Anteriormente se explicó que la biotina participa como cofactor de las carboxilasas ACC 1 y 2 que participan en la síntesis y oxidación de lípidos, por lo

que esta vitamina está relacionada con el metabolismo de lípidos. Basados en lo anterior, se han llevado a cabo múltiples estudios donde se demuestra que esta vitamina actúa sobre dicha vía metabólica, como lo reportó Dokusova y Krivoruchenko en 1972, donde la administración de 5 mg/día de biotina durante 4 semanas en pacientes con aterosclerosis e hipercolesterolemia, produjo un decremento en las concentraciones de colesterol total (Dokusova y Krivoruchenko, 1972).

En otro estudio realizado en voluntarios sanos, la administración de 0.9 mg/día de biotina produjo modificaciones en los niveles de lípidos plasmáticos, los cuales variaron dependiendo del tiempo de administración y hubo una disminución de los niveles en los individuos que presentaban hiperlipemia. La disminución fue más pronunciada en pacientes cuyas concentraciones de triglicéridos se encontraban por arriba de los límites normales sanguíneos (Marshall *et al.*, 1980).

Recientemente, en estudios con animales de experimentación, se reportó por primera vez en ratones sanos, que la biotina a concentraciones farmacológicas disminuyó la síntesis de triglicéridos, modificando la fosforilación de las carboxilasas ACC 1 y 2, por medio de la activación de la cinasa AMPK (Aguilera y Fernández, 2012), la cual es clave en el control energético y está relacionada de manera importante con diabetes y cáncer (Hardie 2011; Hardie *et al.*, 2012).

1.4 PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial (PA) es la fuerza por unidad de superficie ejercida por la

sangre contra las paredes vasculares. Esta fuerza de empuje es el único impulso con que la sangre ha de recorrer todo el circuito vascular para poder retornar al corazón. La presión está determinada por el volumen de sangre que contiene el sistema arterial y por las propiedades de las paredes, si varía cualquiera de los dos parámetros, la presión se verá modificada (Tortora y Derrickson, 2006).

La presión arterial se expresa a través de diferentes parámetros, tales como la presión arterial sistólica, que es la fuerza ejercida por la sangre sobre la pared arterial cuando el corazón se encuentra contraído; y la presión arterial diastólica definida como la fuerza ejercida por la sangre sobre la pared arterial cuando el corazón se encuentra relajado (Velázquez *et al.*, 2002). Los valores óptimos para la presión arterial sistólica son de 120 milímetros de mercurio (mm Hg) y para la presión arterial diastólica es de 80 mm Hg (Silbernagl y Lag, 2009).

La PA está controlada por el gasto cardíaco (GC), el cual está determinado por la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción, que dependen del retorno venoso, el cual a su vez está en función de factores como la actividad constrictora o dilatadora de las venas, la actividad del sistema renal, etc. (Ira, 2011). También la PA es controlada por la resistencia vascular periférica total (RVPT), que depende de la actividad constrictora y dilatadora de las arteriolas, del eje renina angiotensina y de la propia magnitud del gasto cardíaco (Dvorkin y Cardinali, 2003).

En consecuencia, tanto el gasto cardíaco como las resistencias vasculares periféricas están determinados por sistemas de mecanismos de regulación más

complejos que están relacionados entre sí y tienen funciones específicas y por lo tanto directas (Pocock y Richards, 2005).

La presión arterial también es regulada por los riñones, que controlan el volumen de sangre y por lo tanto el volumen sistólico y por el sistema simpático-suprarrenal. El incremento de la actividad del sistema simpático-suprarrenal puede aumentar la presión arterial al estimular la vasoconstricción de arteriolas (lo que aumenta la resistencia periférica total) y al promover un gasto cardíaco aumentado (Ira, 2011).

1.4.1 MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Para mantenerse dentro de los valores óptimos, la PA debe tener su propia regulación interna, por lo que necesitan ciertos mecanismos para llevar a cabo dicha función. Existen mecanismos nerviosos, hormonales y renales, los cuales se describirán a continuación:

1.4.1.1 REGULACIÓN NERVIOSA DE LA PRESIÓN ARTERIAL

El sistema nervioso periférico regula la presión arterial a través de circuitos de retroalimentación negativa producidos como dos tipos de reflejos: el reflejo barorreceptor y quimiorreceptor, que corresponden al mayor control nervioso de la PA. Y como tercer mecanismo está la respuesta isquémica del Sistema Nervioso Central (SNC) (Tortora y Derrickson, 2006).

1.4.1.1.1 REFLEJO BARORRECEPTOR

Los barorreceptores son mecanorreceptores de estiramiento en las paredes

del corazón y los vasos sanguíneos, los cuales envían impulsos nerviosos al centro cardiovascular (CV) para ayudar a regular la PA (Barrett *et al.*, 2010). Al disminuir la PA, los barorreceptores están menos estirados y envían impulsos nerviosos con menor frecuencia hacia el centro CV, el cual disminuye la estimulación parasimpática e incrementa la estimulación simpática al corazón, lo que da como respuesta que este órgano lata más rápido y con mayor frecuencia, aumentando la RVPT y el GC, incrementando la PA hasta su nivel normal (Ira, 2011).

Por lo contrario, cuando se detecta una elevación de la PA, los barorreceptores envían impulsos a una mayor frecuencia y el centro CV responde incrementando la estimulación parasimpática y disminuyendo la simpática, obteniendo un decremento en la RVPT y el GC, con la consiguiente disminución de la PA hasta sus valores normales (Tortora y Derrickson, 2006).

1.4.1.1.2 REFLEJO QUIMIORRECEPTOR

Los quimiorreceptores, formados por células quimiosensibles a los cambios en el nivel sanguíneo de O_2 , CO_2 y H^+ , son estimulados en reacciones de hipoxia, hipercapnia o acidosis (Tortora y Derrickson, 2006). Al decaer la PA por debajo de un nivel crítico, los quimiorreceptores se estimulan, ya que el descenso del flujo sanguíneo provoca la disminución de O_2 , acumulación excesiva de CO_2 y H^+ , los cuales no pueden eliminarse por la sangre que fluye lento (Guyton y Hall, 2002). Una vez estimulados, los quimiorreceptores envían impulsos nerviosos al centro CV, donde se incrementa la estimulación simpática de arteriolas y venas, produciéndose

vasoconstricción y aumento de la PA (Tortora y Derrikson, 2006).

1.4.1.1.3 RESPUESTA ISQUÉMICA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Este mecanismo se lleva a cabo en el centro vasomotor, en la parte inferior del tronco encefálico, cuando el flujo sanguíneo disminuye lo suficiente para provocar un defecto nutricional, es decir, la isquemia cerebral. Las neuronas vasoconstrictoras y cardioaceleradoras se excitan debido a un incremento en la concentración de CO₂ (Tortora y Derrrikson, 2006). Esta respuesta se activa cuando la PA cae por debajo de lo normal, hasta los 60 mm de Hg, alcanzando su máximo de estimulación de 15 a 20 mm de Hg. Por lo tanto, no es uno de los principales mecanismos normales de regulación de la PA, sino un mecanismo de control de urgencia de forma rápida y potente que evita la caída letal de la PA a nivel cerebral (Guyton y Hall, 2002).

1.4.1.2 REGULACIÓN HORMONAL DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Existen hormonas que ayudan a la regulación de la PA y el flujo sanguíneo alterando el gasto cardiaco, modificando las resistencias vasculares sistémicas o ajustando el volumen sanguíneo total.

1.4.1.2.1 SISTEMA RENINA – ANGIOTENSINA (SRA)

Es un sistema endocrino y paracrino/autocrino tisular que regula el volumen sanguíneo y la resistencia vascular sistémica (Lorenzo *et al.*, 2008). Un descenso de la PA activa la producción de prorrenina, que está ubicada en las células

yuxtaglomerulares (células YG) de los riñones y se transforma a renina, una enzima proteica, que actúa sobre una proteína plasmática denominada angiotensinógeno, generando angiotensina – I (Ang – I). La angiotensina I es un decapeptido inactivo, que por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), una endopeptidasa ubicada en el endotelio vascular pulmonar y en menor cuantía en el riñón, escinde el dipéptido histidil – leucina del extremo carboxílico de la Ang – I produciendo, angiotensina – II (Ang – II). La angiotensina II es el principal responsable de las acciones del sistema renina-angiotensina. Esta hormona es una sustancia vasoconstrictora y produce dos efectos para elevar la PA, el primero es la constricción de las arteriolas, aumentando la RVPT y el segundo es regulando el intercambio de Na^+/H^+ en los túbulos proximales del riñón, estimulando la reabsorción de Na^+ y la excreción de H^+ , aumentando el volumen de líquido extracelular y el sanguíneo, lo cual eleva la PA (Guyton y Hall, 2002).

1.4.1.2.2 SISTEMA NORADRENALINA – ADRENALINA

Debido a la estimulación simpática, ya sea durante el ejercicio o el estrés, la médula suprarrenal libera adrenalina y noradrenalina hacia el torrente sanguíneo (Tortora y Derrickson, 2006), la adrenalina interactúa con receptores específicos, creando como efecto una mayor resistencia periférica debido a la vasoconstricción que induce en casi todos los lechos vasculares, incluido el renal (Lorenzo *et al.*, 2008). La adrenalina causa vasodilatación de las arteriolas en el músculo esquelético y cardíaco (Tortora y Derrickson, 2006).

1.4.1.2.3 HORMONA ANTIDIURÉTICA (HDA) O VASOPRESINA

La hormona antidiurética o vasopresina se forma en las células nerviosas del hipotálamo, es transportada distalmente por proteínas denominadas neurofisinas a través de los axones nerviosos hacia la neurohipófisis, donde finalmente es segregada a la sangre (Guyton y Hall, 2002). La vasopresina es una sustancia vasoconstrictora y se activa en respuesta a la deshidratación y a la disminución del volumen sanguíneo. La función más importante de la vasopresina es la de aumentar la reabsorción de agua de los túbulos renales hacia la sangre, controlando el volumen de líquido corporal (Tortora y Derrickson, 2006).

1.4.1.2.4 PÉPTIDO NATRIURÉTICO AURICULAR (PNA)

El péptido natriurético, conformado por 28 aminoácidos, es liberado por células de la aurícula del corazón, entra al torrente sanguíneo y actúa sobre los riñones, incrementando la excreción de Na^+ y agua, compensando el excesivo volumen sanguíneo (Guyton y Hall, 2002). También provoca una relajación directa del músculo liso vascular, principalmente en las arterias aorta, renal e iliaca, debido al incremento de los niveles de GMPc, disminuyendo así la PA por vasodilatación (Cruz *et al.*, 2004).

1.4.1.3 REGULACIÓN RENAL DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Los riñones desempeñan un papel importante en la regulación de la PA a corto plazo, por medio de la secreción de sustancias vasoactivas, como ya se ha descrito anteriormente y a largo plazo al excretar cantidades variables de iones y

agua. Las principales funciones del riñón consisten en la excreción de productos de desecho (urea, ácido úrico y creatinina) y la homeostasis, regulando el contenido de Na^+ , de electrolitos y del volumen del líquido extracelular (Rang y Dale, 2008).

Anatómicamente los riñones se sitúan en la parte alta del abdomen, sobre su pared posterior, a ambos lados de la columna vertebral. Su estructura comienza con la corteza externa de aspecto marrón oscuro y granular debido a los capilares, una región más profunda o médula y la pelvis renal (Ira, 2011). La médula se divide en masas cónicas llamadas pirámides renales y la pelvis renal es el sitio donde penetra la arteria renal y salen la vena renal y el uréter (Pocock y Richards, 2005) **(Figura 5)**.

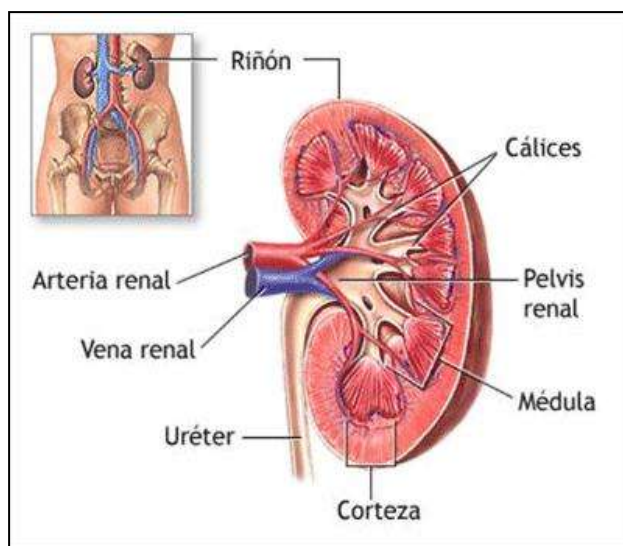


Figura 5. Estructura del riñón. Corteza externa, región medular y pelvis renal (Talens, 2009).

La nefrona es la unidad fundamental del riñón y se divide en: glomérulo, túbulo contorneado proximal y distal, asa de Henle y conducto colector. La mayor parte de las nefronas están ubicadas en la corteza. El aparato yuxtaglomerular es

una estructura que regula el funcionamiento de cada nefrona y consta de arteriola aferente y eferente y el túbulo contorneado distal, cerca del glomérulo (**Figura 6**). En esta región existen células especializadas en la arteriola aferente y en el túbulo, estas últimas llamadas células de la mácula densa, controlan la liberación de renina por las células granulares especializadas de la arteriola (Rang y Dale, 2008).

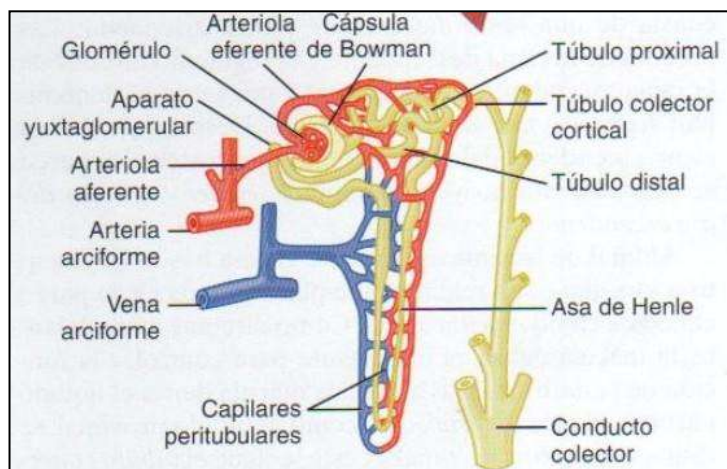


Figura 6. Estructura de la nefrona. Glomérulo y aparato yuxtaglomerular (Guyton y Hall, 2002).

La circulación renal se lleva a cabo por el ingreso de la sangre al riñón a través de la arteria renal, la cual se divide en arterias interlobulares que se subdividen en arteriolas aferentes, transportando la sangre hacia los glomérulos. Después pasa a la arteriola eferente, distribuyéndose en una red de capilares peritubulares, donde la sangre es drenada por venas que siguen un recorrido paralelo al de las arterias ya mencionadas, que convergen y dejan el riñón como una sola vena renal (Pocock y Richards, 2005).

1.4.1.3.1 AUTORREGULACION RENAL

En este mecanismo, cuando la PA cae por debajo de 70 mmHg la arteriola aferente se dilata y se constriñe cuando aumenta la PA (Ira, 2011), esto es debido a un proceso en la arteriola aferente, donde el músculo liso percibe el incremento de la PA por la inervación de fibras nerviosas simpáticas, distendiendo la pared de la arteriola, generando tracción sobre las fibras musculares lisas y provocando una respuesta contráctil, aumentando la RVPT y el flujo sanguíneo (Pocock y Richards, 2005).

1.4.1.3.2 SISTEMA RENINA – ANGIOTENSINA – ALDOSTERONA

Anteriormente se explicó este mecanismo de manera general, ahora se mencionarán los efectos renales y el mecanismo de la aldosterona.

Una vez que es liberada la Ang – II, contrae las arteriolas renales disminuyendo el flujo sanguíneo a través de los riñones, filtrando menos líquido extracelular a través de los glomérulos hacia los túbulos, disminuyendo la PA. La Ang – II es un factor estimulante potente de la secreción de aldosterona por las glándulas suprarrenales (Guyton y Hall, 2002). La aldosterona aumenta la reabsorción de sodio en los túbulos renales, incrementando el volumen de líquido extracelular y provocando elevación de la PA a largo plazo (Rang y Dale, 2008).

1.4.2 MOLÉCULAS VASODILATADORAS

Existen moléculas químicas que tienen efecto vasodilatador y que por lo tanto también desempeñan un papel importante en la regulación de la presión arterial,

dicha función se lleva a cabo por mecanismos que se relacionan y que son esenciales.

1.4.2.1 ÓXIDO NÍTRICO

Las células endoteliales de las arterias y las venas sintetizan una sustancia que es capaz de provocar la dilatación del vaso (Pocock y Richards, 2005), esta sustancia es el óxido nítrico un gas, que se sintetiza a partir del grupo guanidino terminal del aminoácido L-arginina, en un proceso catalizado por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) (Meyer y Herman, 2000), cuya activación es producida al aumentar la concentración de Ca^{2+} en las células endoteliales, obteniendo como producto óxido nítrico (ON) y citrulina. De dicha enzima se han identificado tres isoformas, que se denominan NOS neuronal, NOS endotelial y NOS inducible (nNOS, eNOS e iNOS, respectivamente), las dos primeras son constitutivas y se activan al aumentar la concentración de calcio libre en el interior de las células endoteliales, gracias a la acción de diversos ligandos o a la apertura de canales iónicos activados por la dilatación de la membrana plasmática, mientras que la última es inducible por diversos factores (**Figura 7**) (Pocock y Richards, 2005).

El ON, una vez sintetizado, es muy reactivo y se une rápidamente a metales, como el hierro del grupo hemo de la enzima guanilato ciclasa soluble (sGC), la cual convierte el guanosín trifosfato (GTP) en guanosín monofosfato cíclico (GMPc), elevando su concentración intracelular y activando varias vías de transducción de señales responsables de la regulación de diversos procesos fisiológicos, como la

relajación del músculo liso y la regulación de la PA (Madhusoodanan y Murad, 2007).

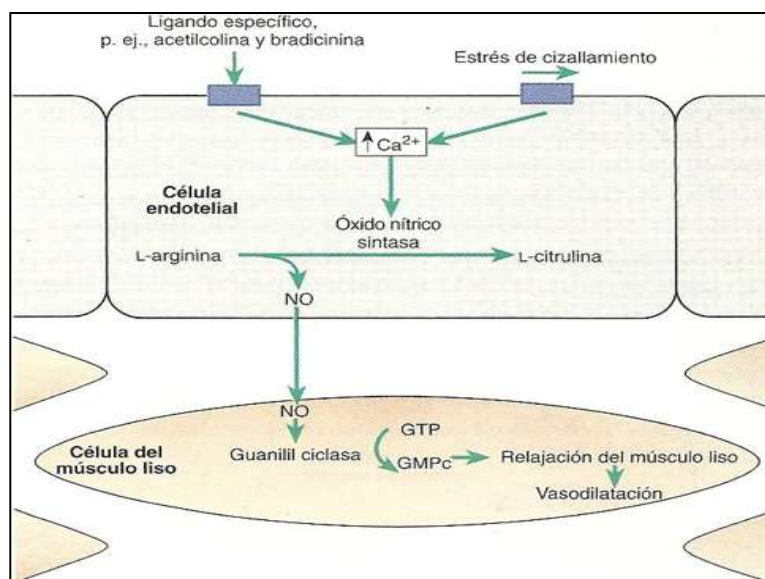


Figura 7. Síntesis de ON en la célula endotelial y su función en el músculo liso vascular. Al aumentar el Ca^{2+} en la célula endotelial debido a señales químicas o estiramiento de la membrana plasmática, el ON es sintetizado por la enzima NOS, viajando hacia la célula del músculo liso vascular, produciendo la relajación del mismo y la posterior vasodilatación (Pocock y Richards, 2005).

1.4.2.2 BRADICININA

La bradicinina pertenece al grupo de cininas, que son mediadores peptídicos de origen plasmático con una importante acción vasodilatadora (Regoli *et al.*, 1998) y se forma por el sistema calicreína-cinina (Remme, 1997). La acción de la bradicinina está regulada por la enzima cininasa II, la cual separa los 2 residuos de aminoácidos carboxilo terminales de la bradicinina, dejándola inactiva (Rang y Dale, 2008).

La cininasa I separa a la arginina carboxilo terminal de la bradicinina, formando el metabolito [des-Arg⁹]-bradicinina el cual es agonista del receptor B₁ de

bradicinina. La otra clase de receptor es el B₂, responsable de la mayoría de los efectos de la bradicinina (Schanstra *et al.*, 1999).

Debido a que los receptores de bradicinina están acoplados a proteínas G, pueden iniciar simultánea o consecutivamente diferentes vías transduccionales, entre ellas la activación de la fosfolipasa A₂ y la subsiguiente formación de prostaciclina (PGI₂), e inducir la liberación de ON (Remme, 1997).

1.4.2.3 HISTAMINA

La histamina tiene un efecto vasodilatador potente sobre las arteriolas, se sintetiza por descarboxilación de la cadena lateral del aminoácido L-histidina, mediante la L-histidín-descarboxilasa y es liberada por los mastocitos (DuBuske, 1999). La liberación de histamina comienza al aumentar la concentración de Ca²⁺ citosólico (Rang y Dale, 2008).

Una vez liberada la histamina interactúa sobre cuatro subtipos de receptores (H₁, H₂, H₃ y H₄) acoplados a proteínas G, que al ser activados desencadenan múltiples respuestas celulares. La activación de los receptores H₁, por ejemplo, induce la hidrólisis de bifosfato de fosfatidil-inositol (PIP₂) por acción de la fosfolipasa C, generando inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG) como segundos mensajeros. El IP₃ promueve la liberación de Ca²⁺ y la consecuente activación de la síntesis de ON, obteniendo un efecto vasodilatador (Ramos *et al.*, 2009). Los receptores H₂ tienen efecto sobre la estimulación cardíaca al aumentar la frecuencia y el gasto cardíaco (Rang y Dale, 2008).

1.4.2.4 PROSTAGLANDINAS

Las prostaglandinas desempeñan un papel importante en la regulación de la PA y función renal. Son una familia de autacoides sintetizados por vía de las ciclooxigenasas (COX 1 y COX 2) a partir del ácido araquidónico, tienen como intermediarios a la prostaglandina G (PGG) y prostaglandina H₂ (PGH₂), que generan diversos autacoides como: PGE₂, PGF_{2α}, PGD₂, PGI₂, y TXA₂ (Rang y Dale, 2008). Las prostaglandinas PGE₂ y PGI₂ tienen un efecto vasodilatador mayor que el de los otros autacoides al incrementar la concentración de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y disminuir el Ca²⁺ intracelular en el músculo liso (Katzung *et al.*, 2010). Dicho efecto es debido a la unión en receptores específicos (IP y EP₄) acoplados a proteínas G (Morgado *et al.*, 2012). Además, tanto la PGE₂ como la PGI₂ potencian el efecto vasodilatador de la bradicinina (Khanapure *et al.*, 2007). A nivel renal, la PGE₂ y la PGI₂ regulan la filtración glomerular por efectos vasodilatadores locales y estimulan la liberación de renina (Katzung *et al.*, 2010).

1.5 HIPERTENSION ARTERIAL (HTA)

El desequilibrio de los mecanismos fisiológicos que regulan la presión arterial conlleva al desarrollo de una de las enfermedades cardiovasculares con mayor morbilidad y mortalidad a nivel mundial, la HTA (Parra, 2008), ya que estrictamente la hipertensión es una de las 7 enfermedades que componen la entidad conocida como "enfermedades cardiovasculares (ECV)" (Mackay y Mensah, 2004). Esta enfermedad consiste en un aumento de la resistencia vascular periférica debido a vasoconstricción arteriolar e hipertrofia de la pared vascular, que conduce a un

incremento de la presión arterial sistémica igual o mayor a 140/90 mm Hg y que se ha relacionado principalmente al deterioro en la liberación de ON desde las células endoteliales y los riñones (Guyton y Hall, 2002).

En México, la HTA es uno de los problemas de salud más frecuentes y se asocia principalmente con la obesidad; según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012. La prevalencia de la HTA es de 31.5% y es más alta en adultos con obesidad, mientras que la incidencia en los últimos 6 años no ha registrado ningún cambio significativo en hombres ni en mujeres. En lo que respecta a los adultos con HTA diagnosticada por un médico, solo 73.6% reciben tratamiento farmacológico y menos de la mitad de éstos tienen la enfermedad controlada (Gutiérrez *et al.*, 2012).

1.5.1 CLASIFICACIÓN

1.5.1.1 EN FUNCIÓN DE LOS VALORES DE PRESIÓN ARTERIAL.

La HTA se puede clasificar de acuerdo a los niveles de PA, los cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 1. Clasificación de la HTA según los niveles de PA (NOM-030-SSA2-2009, 2009).

Categoría	PA sistólica mm Hg	PA diastólica mm Hg
Óptima	< 120	< 80
PA normal	120 a 129	80 a 84
PA fronteriza	130 a 139	85 a 89

Hipertensión 1	140 a 159	90 a 99
Hipertensión 2	160 a 179	100 a 109
Hipertensión 3	≥ 180	≥ 110
Hipertensión sistólica aislada	≥ 140	< 90

1.5.1.2 EN FUNCIÓN DE LA ETIOLOGÍA

La clasificación de la HTA según su etiología se basa en dos tipos:

1. Hipertensión arterial esencial o primaria: Representada por el 90 - 95% de casos diagnosticados y cuya causa específica se desconoce, aunque está fuertemente relacionada con los hábitos de estilo de vida.
2. Hipertensión arterial secundaria: Contrario a la HTA primaria, en la HTA secundaria sí se conocen las condiciones que la causan, como pueden ser: insuficiencia cardíaca congestiva, arteriosclerosis, trastornos renales, de glándula tiroidea y suprarrenales (NOM-030-SSA2-2009, 2009).

1.5.2 ALTERACIONES RENALES COMO CONSECUENCIA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Los riñones desempeñan un papel decisivo en el desarrollo y transcurso de la HTA. Dicha enfermedad es causa de alteraciones en la macro y microvasculatura sistémica renal, que conducen a la pérdida de autorregulación renal con elevación

de la presión capilar intraglomerular y el consiguiente daño mediado por hiperfiltración, además de la disfunción endotelial y la pérdida de vasodilatadores endógenos, que actúan como factores precipitantes de lesión hipóxico–isquémica (Morgado y Leañó, 2012). También existe una alteración en la excreción de volumen extracelular y sodio, ya que se debe mantener una elevada presión de perfusión renal y es consecuencia de un aumento de la resistencia vascular renal a nivel preglomerular, lo que resulta en una vasoconstricción, reduciendo el flujo sanguíneo aferente, activando la síntesis de Ang – II, disminuyendo aún más el flujo sanguíneo e incrementando el flujo glomerular. Estos cambios dan como resultado que la sangre de los capilares peritubulares contengan menos sodio y agua favoreciendo la reabsorción tubular, el aumento del volumen extracelular y la inminente elevación de la PA (Hernando, 2003).

Se ha comprobado que la Ang – II estimula el crecimiento de la pared de los vasos en el organismo y en especial en el riñón (Sun, 2002), provocando una disminución en el diámetro de la vasculatura renal; esta hipertrofia se lleva a cabo por la activación de la vía del fosfatidilinositol trifosfato (Ortega *et al.*, 2003).

1.6 MODELOS EXPERIMENTALES DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Se han estudiado diferentes modelos experimentales de hipertensión, empleando distintas especies de animales, de las cuales la más común es la rata debido al bajo costo de mantenimiento, facilidad de manejo y a que frecuentemente el cuadro patológico que desarrolla es muy similar al que se observa en seres

humanos. Debido a que la etiología de la HTA es multifactorial, los modelos animales experimentales proporcionan información valiosa sobre muchos aspectos de la enfermedad, como la etiología, fisiopatología, complicaciones y tratamiento (Dornas y Silva, 2011).

1.6.1 RATAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS (SHR)

Las ratas SHR desarrollan hipertensión alrededor de las 4 a 6 semanas de edad sin intervención fisiológica, farmacológica o quirúrgica y su importancia radica en la similitud de su fisiopatología con la hipertensión arterial esencial en los seres humanos. A partir de este modelo se puede generar otro modelo, llamado ratas espontáneamente hipertensas propensas a accidente cerebrovascular (SHRSP) (Dornas y Silva, 2011).

1.6.2 HIPERTENSIÓN POR DEFICIENCIA DE ÓXIDO NÍTRICO

Consiste en la administración *in vivo* del inhibidor de la enzima NOS, N^G-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), bloqueando la síntesis de ON, el cual regula de manera importante la resistencia vascular sistémica mediante un efecto vasodilatador (Török, 2008). La inhibición crónica de la NOS en ratas adultas produce disfunción endotelial, incremento de la respuesta vascular a los estímulos adrenérgicos y la inflamación perivascular (Hsieh *et al.*, 2004). El desarrollo de hipertensión en este modelo esta asociado con lesión renal, entre otros cambios tanto funcionales como estructurales (Dornas y Silva, 2011). Este tipo de hipertensión puede ser revertido deteniendo la administración de L-NAME o por el

uso de fármacos antihipertensivos (Pecháňová *et al.*, 1999).

1.6.3 HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR ANGIOTENSINA II

Ya se ha explicado anteriormente que la Ang – II interviene en la regulación de la presión arterial y en el desarrollo de la hipertensión arterial, ya que es un potente vasoconstrictor de la vasculatura periférica e induce el crecimiento de las células musculares lisas de los vasos sanguíneos y del corazón. La infusión con Ang – II conduce a un lento desarrollo de hipertensión durante un periodo de 6-10 días. Este modelo puede ser muy utilizado para el estudio de nefropatías (Dornas y Silva, 2011).

1.6.4 HIPERTENSIÓN RENOVASCULAR

Se basa en una constricción de una o ambas arterias renales de cada riñón mediante el uso de una pequeña grapa de plata ajustable. Este modelo se considera que es dependiente del volumen sólido-líquido, ideal para estudiar el papel de la expansión de volumen en el desarrollo de la hipertensión, debido a la ausencia de un riñón normal o ambos, sin que ocurra un aumento compensatorio en sodio y de excreción de agua y, por tanto, el volumen de líquido es retenido (Dornas y Silva, 2011).

II. ANTECEDENTES

El empleo de vitaminas en el tratamiento de diversas afecciones ha sido muy efectivo, aumentando el interés en su investigación y el aporte de nuevos

conocimientos respecto a su función y mecanismos moleculares. Un ejemplo de esto es la forma bioactiva de la vitamina D (1-alfa, 25-dihidroxicolecalciferol: 1-25[OH]₂D₃), que posee efectos antiproliferativos, antidiferenciales y antiangiogénicos, proponiendo su uso en diversos tipos de cáncer (Cheung *et al.*, 2012). Otro ejemplo es la niacina, una vitamina hidrosoluble del complejo B, que se ha empleado en el tratamiento de dislipidemias gracias a las investigaciones sobre su mecanismo de acción (Lee *et al.*, 2009). Recientemente se está estudiando a la vitamina biotina, que como ya se ha mencionado anteriormente a, concentraciones farmacológicas, es capaz de modificar la expresión de genes (Fernández, 2005), tener efecto en el metabolismo de carbohidratos y lípidos (Aguilera *et al.*, 2013; Aguilera y Fernández, 2012), entre otros estudios.

Sin embargo, en 2008 se reportó un efecto antihipertensivo de la biotina, en este estudio realizado por Watanabe y colaboradores se observó que la administración de concentraciones farmacológicas de biotina en ratas de la cepa espontáneamente hipertensas propensas a accidente cerebrovascular (SHRSP), produce una disminución de la PA sistólica, del engrosamiento de la arteria coronaria y de la incidencia de ataque cardíaco (Watanabe *et al.*, 2008). Para dicho estudio se administró biotina durante 8 semanas en dosis de 1.2 mg por kg de peso; sin embargo, el efecto antihipertensivo de la biotina se pudo observar a las 2 semanas de haber comenzado el tratamiento, debido a la disminución de la PA sistólica, efecto que fue también observado de 6 a 10 horas después de la administración intraperitoneal de dosis únicas de 0,5 y 5 mg de biotina (Watanabe *et al.*, 2008). El

pretratamiento con ODQ, un inhibidor selectivo de la sGC, abolió el efecto hipotensor de la biotina, mientras que el pretratamiento con el inhibidor de la NOS, L-NAME, no tuvo efecto sobre la acción de la biotina, sugiriendo que el mecanismo por el cual la biotina ejerce su acción hipotensora es a través de la activación directa de sGC e independiente de la vía de ON (Watanabe *et al.*, 2008). En contraste, dicho mecanismo no es sugerido por Rodríguez y colaboradores, quienes en 2009 reportaron en un estudio realizado en células linfoides humanas, que la generación de ON depende de la biotina y que dicha generación está mediada por un aumento en la expresión de eNOS y nNOS. Además, la generación de ON dependiente de biotina aumentó la concentración de GMPc, incrementando la actividad de la cinasa PKG, llegando a la conclusión de que la biotina induce la síntesis de ON (Rodríguez y Zemleni, 2009).

III. JUSTIFICACIÓN

La hipertensión es uno de los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y, sumada a otros factores es una de las causas principales de muertes al año. En 2012 se calculó que murieron por esta causa 17,5 millones de personas, lo cual representa el 31% de todas las muertes registradas en el mundo (Gutiérrez *et al.*, 2012). Al desarrollar hipertensión existe un aumento del riesgo de sufrir ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia cardíaca, daño renal y otras complicaciones. México no está exento y como se ha explicado anteriormente, pese a que la prevalencia se mantiene estable, no todos los

pacientes diagnosticados con HTA reciben tratamiento farmacológico, consecuentemente son pocos los que en realidad tiene la enfermedad controlada (Gutiérrez *et al.*, 2012), esto ha llevado a la necesidad de intensificar las estrategias para la detección, control, tratamiento y prevención de dicha enfermedad en México.

El presente trabajo permitirá aportar avances en el conocimiento de los efectos y mecanismos moleculares del efecto hipotensor de la biotina, estableciendo si su efecto antihipertensivo es por un mecanismo dependiente de la síntesis de ON o si lo hace de manera independiente como lo reportó Watanabe en el 2008, siendo éste el único reporte del efecto antihipertensivo de la biotina en un modelo experimental. Estos resultados aportarían nuevos conocimientos para en un futuro utilizar a la biotina en monoterapia o como coadyuvante junto con otros agentes antihipertensivos para el tratamiento de la hipertensión arterial, posibilitando el desarrollo de nuevos medicamentos.

IV. HIPÓTESIS

La biotina disminuye la presión de perfusión en el riñón.

V. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar los mecanismos de acción por los cuales la biotina, a concentraciones farmacológicas, produce un efecto hipotensor en el riñón.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Determinar el efecto de la biotina a diferentes concentraciones sobre la respuesta a fenilefrina en riñón de ratas normotensas e hipertensas.
2. En un modelo experimental de hipertensión arterial en rata, evaluar el efecto *in vivo* de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón aislado y perfundido.
3. Determinar la participación de las prostaglandinas sobre el efecto hipotensor de la biotina en riñón de rata.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 MODELO EXPERIMENTAL

Para evaluar el efecto de la biotina, se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (16 semanas de edad, 300 ± 50 gramos de peso). Se colocaron en jaulas a una temperatura de 25 ± 2 °C, en un ciclo de luz oscuridad de 12 horas, con acceso *ad libitum* a alimento y agua durante todo el estudio, cumpliendo con los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, referente a Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, 1999).

6.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

En los estudios *ex vivo*, las ratas se dividieron en dos grupos experimentales:

(1) Grupo control (sin inhibidor L-NAME) y (2) Grupo tratado con L-NAME, el cual fue tratado durante 15 días con L-NAME a una dosis de 75 mg/kg, administrado por vía oral en el agua de beber. Este fármaco es un inhibidor competitivo de la NOS, por lo que produce una disminución en la síntesis de óxido nítrico (Török, 2008).

Con respecto a los experimentos *in vivo*, las ratas se dividieron en dos grupos experimentales: (A) Grupo L-NAME, Buffer fosfato salino (PBS) (no tratado con biotina) y (B) Grupo L-NAME, BIOTINA + PBS (tratado con biotina) y fueron tratados con L-NAME por un periodo de 15 días a una dosis de 75 mg/kg, administrado por vía oral en el agua de beber.

6.3 EXTRACCIÓN Y PERFUSIÓN DEL RIÑÓN

Las ratas se administraron vía intraperitoneal de pentobarbital sódico (55 mg/kg de peso) con lo cual se indujo sueño profundo, con un tiempo de latencia entre 10 y 15 minutos para caer en hipnosis. Una vez en fase de hipnosis se realizó una laparotomía, incidiendo plano por plano hasta exponer el riñón derecho, éste se canuló a través de la arteria mesentérica para llegar a la arteria renal. El riñón se disecó y fue colocado en la cámara del sistema para órgano aislado y perfundido tipo Langendorff. El órgano se perfundió con solución Krebs-Henseleit para simular condiciones fisiológicas. Dicha solución está compuesta de: 18 mM 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, a un pH de 7.4, con burbujeo constante de una mezcla de gas carbógeno (95% de O_2 y 5% de CO_2), a una temperatura de 37 °C. El

flujo del perfusado se ajustó a 10 ml/min para obtener una presión basal de perfusión de 100 ± 20 mmHg. El incremento en la presión de perfusión se midió utilizando un transductor de presión Grass FT03 (Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, EE.UU.), adaptado a un sistema de adquisición de datos MP100 (Biopac Systems Inc., Santa Barbara, California, EE.UU.). El aumento en la presión de perfusión se interpretó como un índice de cambio en la resistencia arterial renal.

Para realizar la curva concentración-respuesta se utilizaron concentraciones crecientes de fenilefrina, administrando en biotina en bolo (1×10^{-6} M) en los riñones derechos de las ratas tanto normotensas como hipertensas. Para los experimentos *ex vivo* como *in vivo* se utilizó la fenilefrina como control positivo.

6.4 USO *IN VITRO* DEL INHIBIDOR INDOMETACINA SOBRE EL EFECTO DE LA BIOTINA EN LA RESPUESTA A FENILEFRINA DE RIÑÓN AISLADO DE RATA.

Con el fin de evaluar la participación de las prostaglandinas en el efecto de la biotina en respuesta a fenilefrina, se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (1×10^{-6} M – 1×10^{-3} M), empleando un inhibidor no selectivo de la enzima ciclooxigenasa (COX), el cual fue la indometacina, a una concentración de 10 μ M, incorporado junto con los componentes de la solución Krebs-Henseleit. Tomando la primera curva a fenilefrina como control, seguidamente se administró biotina en bolo (1×10^{-6} M), para finalmente realizar de nueva cuenta la curva concentración-respuesta a la fenilefrina en presencia de indometacina.

6.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para analizar los datos se utilizó el programa SigmaPlot® versión 11.0. Los resultados representan el promedio $\pm$ el error estándar (e.e.). Para determinar la significancia estadística se realizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de la prueba de Tukey de rango múltiple y considerando como estadísticamente significativo una $p < 0.05$.

VII. RESULTADOS

7.1 CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO DE LOS ANIMALES.

Para verificar y comprobar que el tratamiento con L-NAME (75 mg/kg) no tuviese efectos adversos en las ratas utilizadas en este experimento, se llevó a cabo la medición del consumo de agua y alimento cada tercer día, durante 15 días, tiempo que duró dicho tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo tratado con L-NAME en el consumo de agua y alimento (**Tabla 2**).

Tabla 2. Consumo de agua y alimento. Medición de agua y alimento cada tercer día por 15 días de tratamiento con L-NAME. No hay diferencia estadísticamente significativa. $p < 0.05$, Prueba T-student.

INGESTA DE AGUA Y ALIMENTO				
	GRUPO CONTROL		GRUPO TRATADO 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 estándar	19.9	4.2	11.0	10.0

7.2 EFECTO DE LA BIOTINA SOBRE LA RESPUESTA A FENILEFRINA EN RIÑÓN AISLADO DE RATAS CONTROL Y TRATADAS CON L-NAME.

Para determinar un efecto dependiente de la concentración de biotina tanto en riñón de ratas normotensas (grupo control) como tratadas con L-NAME (grupo tratado), se utilizó una concentración menor y otra mayor (1×10^{-5} y 1×10^{-7} M, respectivamente) a las cual la biotina ejerce sus efectos biológicos. En el riñón aislado del grupo control, se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (1×10^{-6} M – 1×10^{-3} M), midiendo primeramente los cambios en la presión de perfusión, la cual fue utilizada como curva control. A continuación se administró biotina 1×10^{-5} M en bolo y posteriormente se repitió la curva concentración-respuesta a fenilefrina. Se siguió el mismo protocolo para realizar la curva concentración–

respuesta a la fenilefrina para biotina 1×10^{-6} y 1×10^{-7} M.

Se observó que en el riñón de ratas del grupo control los cambios en la presión de perfusión para biotina 1×10^{-5} , 1×10^{-6} y 1×10^{-7} M en comparación con la curva control, no obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (**Figura 8**).

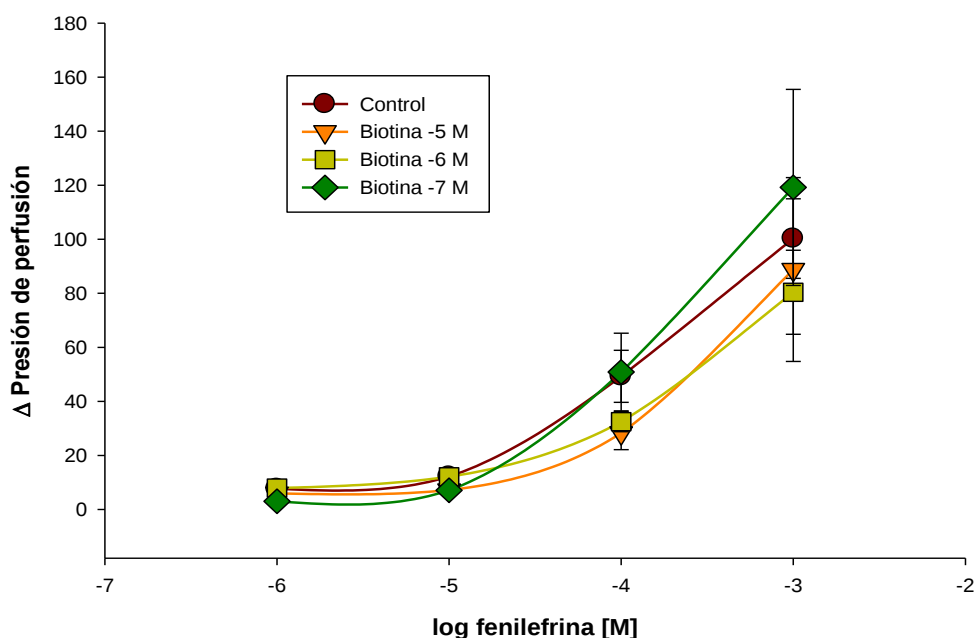


Figura 8. Efecto de la biotina a diferentes concentraciones en riñón aislado y perfundido de ratas normotensas. Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina sobre la presión de perfusión renal, administrando biotina en bolo a diferentes concentraciones molares. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 riñones.

En el riñón aislado de rata del grupo tratado se realizó el mismo procedimiento para la curva concentración- respuesta a la fenilefrina. Se observó que los cambios en la presión de perfusión a las diferentes concentraciones de biotina en comparación con la curva control, no obtuvieron una diferencia estadísticamente

significativa (**Figura 9**).

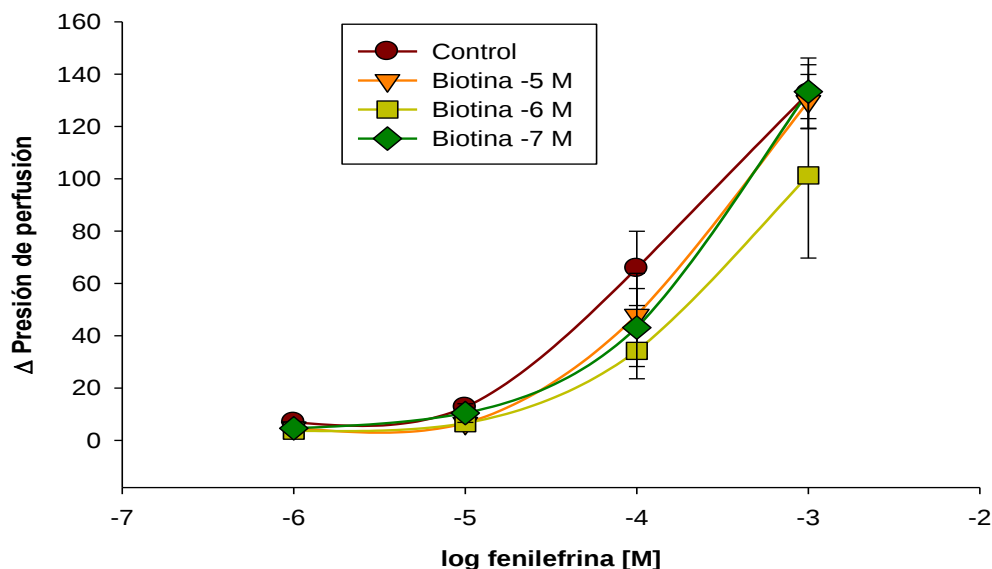


Figura 9. Efecto de la biotina a diferentes concentraciones en riñón aislado y perfundido de ratas tratadas con L-NAME. Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en riñón de ratas hipertensas administrando biotina a diferentes concentraciones. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 riñones.

7.3 EFECTO *IN VIVO* DE LA BIOTINA SOBRE LA RESPUESTA A FENILEFRINA EN RIÑÓN AISLADO DE RATAS TRATADAS CON L-NAME.

Con la finalidad de analizar y determinar la participación del ON en el efecto hipotensor de la biotina, se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina en riñón aislado de ratas tratadas con L-NAME e inyectándolas con PBS (vehículo) vía intraperitoneal (grupo control), y ratas tratadas con L-NAME inyectándolas con biotina (2 mg/kg) disuelta en PBS vía intraperitoneal (grupo tratado), ambos grupos

tratados durante 15 días. Únicamente se realizó una curva concentración-respuesta a la fenilefrina.

Se observó una ligera disminución en los cambios de la presión de perfusión renal del grupo tratado comparado con el grupo control, sin obtener una diferencia estadísticamente significativa (**Figura 10**).

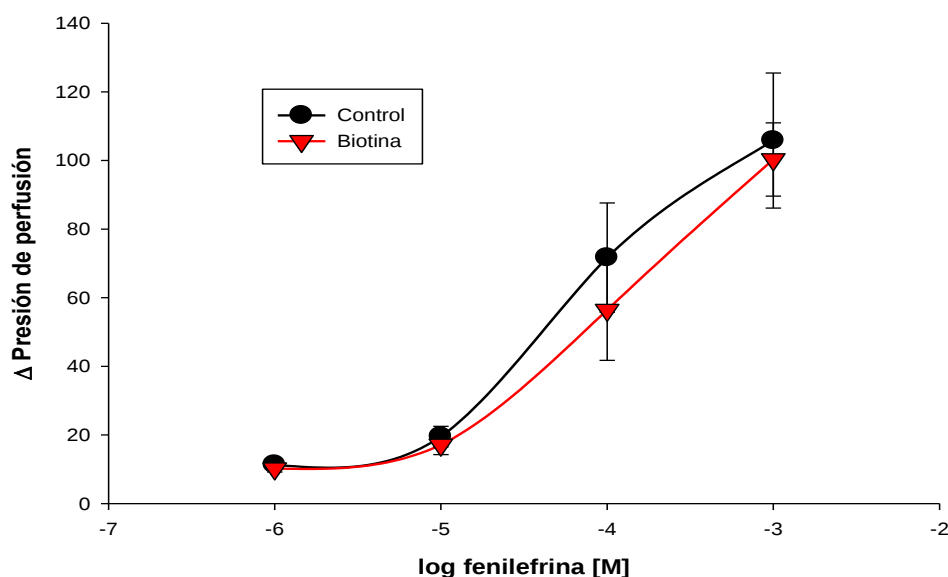


Figura 10. Efecto *in vivo* de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón aislado de ratas tratadas con L-NAME. Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en riñón aislado de ratas del grupo control vs grupo tratado. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 5 riñones.

7.4 EFECTO DE LA BIOTINA Y EL INHIBIDOR INDOMETACINA SOBRE LA RESPUESTA PRESORA A FENILEFRINA EN RIÑÓN DE RATA NORMOTENSA.

Para analizar y determinar la participación de las prostaglandinas en el efecto hipotensor de la biotina se utilizó el inhibidor de la COX, la indometacina. Se

realizaron curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en riñón aislado de ratas normotensas, tomando la primera curva como control. Posteriormente se incorporó el inhibidor indometacina a la solución Krebs-Henseleit a una concentración de 10 μM , para después administrar biotina 1×10^{-6} M en bolo y finalmente repetir la curva concentración-respuesta a la fenilefrina.

Se observó una ligera disminución en los cambios de la presión de perfusión de la curva con biotina más indometacina con respecto a la curva control, sin embargo no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa (**Figura 11**).

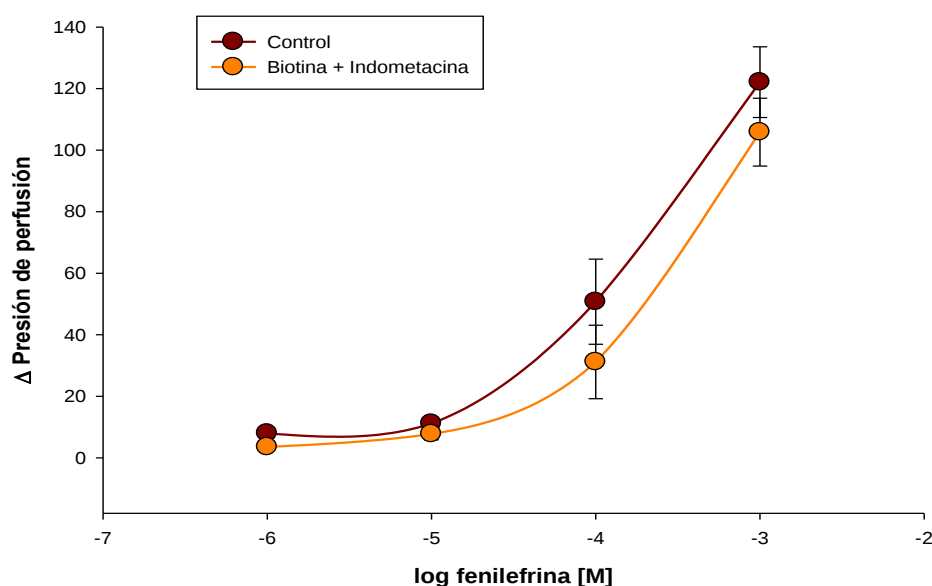


Figura 11. Efecto de la biotina y de la indometacina en la presión de perfusión renal de ratas normotensas. Curva concentración-respuesta a fenilefrina en riñón aislado, la segunda curva se realizó en presencia de biotina más indometacina. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 riñones.

VIII. DISCUSIÓN

La participación de un órgano como el riñón en la regulación de la PA, principalmente a largo plazo, desempeña una participación muy importante, debido a que existen diversos mecanismos y sustancias vasoactivas que están involucrados en dicho proceso. En la hipertensión arterial, el riñón es uno de los órganos más afectados y de no llevar un tratamiento farmacológico puede haber complicaciones mayores como la insuficiencia renal. De tal manera se ha requerido investigar y estudiar mecanismos de acción de posibles fármacos y micronutrientes que contribuyan en el tratamiento de la HTA; es el caso de la biotina, una vitamina que podría ser utilizada con este fin, como se ha hecho con otras vitaminas para el tratamiento de diversas enfermedades (Cheung, 2012; Vosper, 2009).

Al emplear el modelo de HTA inducida por el inhibidor L-NAME en ratas Wistar, no observamos diferencias entre los grupos (ratas tratadas con L-NAME y ratas normotensas) con respecto al consumo de alimento y agua, lo cual valida el uso del modelo animal para estudios posteriores, ya que no se observan cambios metabólicos visibles que pudieran influir en la presión arterial *per se*.

En el efecto de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón aislado de ratas Wistar normotensas, se observa una ligera disminución de la presión de perfusión, lo que sería contradictorio a lo reportado por Watanabe y colaboradores en 2008, en donde la biotina no modificó la presión arterial en la cepa Wistar Kyoto

(Watanabe *et al.*, 2008). Sin embargo, no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, lo que nos indica que la biotina podría no modificar la presión arterial en ratas Wistar normotensas.

Utilizando el mismo modelo de hipertensión, se observa en el grupo control (normotenso) una ligera disminución en la presión de perfusión renal en las diferentes concentraciones de biotina (1×10^{-5} , 1×10^{-6} y 1×10^{-7} M) con respecto a la curva control, no así para el grupo tratado (deficiente de ON), aunque sin llegar a obtener una diferencia estadísticamente significativa. Los resultados anteriores indican que el efecto hipotensor aparentemente observado en el grupo control es dependiente de la síntesis de ON. Dicho efecto es similar a lo reportado por Rodríguez y Zemleni en 2009, donde la síntesis de óxido nítrico es dependiente de las concentraciones de biotina (Rodríguez y Zemleni, 2009); sin embargo, el experimento fue realizado en una línea celular Jurkat, la cual es una línea celular linfocítica que no está relacionada con la regulación de la PA. Al no haber una diferencia estadística significativa en el grupo control y tratado, podemos decir que la biotina a diferentes concentraciones no ejerce un efecto hipotensor renal y que no depende de la concentración.

En el estudio realizado *in vivo*, donde al grupo control se le administró PBS y L-NAME y al grupo tratado biotina más PBS y L-NAME, se observa una disminución de la presión de perfusión renal del grupo tratado con respecto al control, esto en comparación en el estudio de Watanabe y colaboradores en 2008, se reporta una disminución de la presión arterial producida por la administración a largo plazo de la

biotina, en ratas de la cepa SHRSP con hipertensión espontánea (Watanabe *et al.*, 2008); esto indica que la biotina tiene un efecto hipotensor en ratas hipertensas y que además dicho efecto es producido por un mecanismo independiente de la formación de ON, ya que tanto en nuestro estudio como en el de Watanabe se utilizó el inhibidor de la óxido nítrico sintasa (L-NAME), el cual no modificó el efecto de la biotina. Sin embargo, para nuestro estudio no se alcanzó a obtener una diferencia estadística significativa. Por lo tanto, podemos decir que la biotina no ejerce un efecto antihipertensivo *in vivo*.

En el estudio para analizar y determinar la participación de las prostaglandinas en el efecto hipotensor de la biotina en riñón de ratas normotensas, se administró biotina en conjunto con indometacina, observando una disminución de la presión de perfusión en respuesta a la fenilefrina con respecto a la curva control, en ausencia de biotina e indometacina. Se sabe que las prostaglandinas son sintetizadas a partir del ácido araquidónico por la enzima COX (Rang y Dale, 2008), y sus efectos se deben a la unión con receptores específicos acoplados a proteínas G. Entre las prostaglandinas destacan la PGE₂ y PGI₂ por sus efectos vasodilatadores y que se encuentran a nivel renal, una vez que interactúan con su receptor acoplado a la proteína G del subtipo G_s, producen un efecto de estimulación de la enzima AC con la consecuente producción del segundo mensajero AMPc, el cual activa a la PKA disminuyendo las concentraciones de Ca²⁺ (Brunton *et al.*, 2006; Morgado *et al.*, 2012). De tal manera, al utilizar un inhibidor de la ciclooxigenasa, como la indometacina, se bloquea la síntesis de prostaglandinas y con ello toda la cascada

de señalización. Por lo tanto, de acuerdo a los resultados, el efecto observado presenta una ligera disminución en los cambios de la presión de perfusión que quizá se deba a otros mecanismos hipotensores o de autorregulación renales (excepto el mecanismo de las prostaglandinas), sin dejar de lado a la biotina que también pudiera estar involucrada. Además, si la biotina ejerciera un efecto hipotensor a través del mecanismo de las prostaglandinas, éstas al ser bloqueadas por la indometacina, producirían un aumento en la presión de perfusión renal.

Cabe mencionar que en estudios recientes llevados a cabo por Toledo-López en nuestro laboratorio (2014), en el mismo modelo de hipertensión por L-NAME se obtuvo un decremento en la contracción de la aorta con y sin endotelio sobre la respuesta a la fenilefrina después de la incubación con biotina, indicando que el efecto hipotensor de la biotina no está relacionado con la síntesis de ON; sin embargo, estos hallazgos son opuestos a nuestros resultados y a los Montero-Hernández (2014), son opuestos, ya que no se observa una disminución de la presión de perfusión renal en el mismo modelo de hipertensión con L-NAME. Aunque cabe señalar que en la aorta *in vitro* su regulación únicamente depende de la función endotelial y que el riñón es un órgano en el que existen diversos mecanismos de autorregulación que tratan de conservar la homeostasia.

En los estudios de Montero-Hernández (2014) se descarta la participación de la síntesis de angiotensina II y la producción de ON en el efecto hipotensor de la biotina a nivel renal.

IX. CONCLUSIONES

1. La biotina no ejerce un efecto hipotensor en riñón de rata *ex vivo*.
2. La biotina no tiene un efecto hipotensor ni muestra una dependencia de la concentración en riñón de rata.
3. La biotina no produce un efecto hipotensor en riñón de rata *in vivo*.
4. La biotina no ejerce un efecto hipotensor por la vía de la síntesis de prostaglandinas.

X. REFERENCIAS

Aguilera M.A., Fernández M.C. 2012. The hypotriglyceridemic effect of biotin supplementation involves increased levels of cGMP and AMPK activation. *Bio Factors*; 38:387-394.

Aguilera M.A., Serrato O.D., Nieto A.R. 2013. La biotina: una vitamina vieja con funciones nuevas. *Biológicas*; 15(1):24-30.

Báez S.A., Zendejas R.I., Revilla M.C., Islas A.S., Cardenas A., Rojas O.A., Vilches A., Fernández M.C. 2004. Effects of biotin on pyruvate carboxylase, acetyl-CoA carboxylase, propionyl-CoA carboxylase, and markers for glucose and lipid homeostasis in type 2 diabetic patients and nondiabetic subjects. *Am J Clin Nutr*; 79(2): 238-243.

Barrett E.K., Barman M.S., Boitano S. 2010. Fisiología Médica. 23ª edición.

McGraw-Hill ed pp. 558-567.

Brunton L.L., Lazo S.J., Parker L.K. 2006. Goodman y Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ª edición. McGraw-Hill ed. pp. 655-663.

Campistol J., Vilaseca M.A., Ribes A., & Riudor E. (1996). Déficit de biotinidasa. Forma de presentación y respuesta al tratamiento. *Anales Españoles de Pediatría*; 44(4): 389-392.

Coggeshall J.C., Heggors J.P., Robson M.C., Baker H. 1985. Biotin Status and Plasma Glucose in Diabetics. *Ann N Y Acad Sci*; 447: 389-392.

Cruz M.A, León H.J.F., Hernández H. 2004. Regulación normal de la presión arterial sistémica. *Revista Mexicana de Cardiología*; 15(1): 30-41.

Cheung F.S., Lovicu F.J., Reichardt J.K. 2012. Current progress in using vitamin D and its analogs for cancer prevention and treatment. *Expert Rev Anticancer Ther*; 12: 811-37.

Dornas C.W., Silva E.M. 2011. Animal models for the study of arterial hypertension. *J. Biosci*; 36(4):731-737.

DuBuske L.M. Second generation antihistamines: the risk of ventricular arrhythmias. 1999. *Clin Ther*; 21(2):281-295.

Dukusova O.D., Krivoruchenko I.V. 1972. The effect of biotin on the blood cholesterol levels of atherosclerotic patients in idiopathic hyperlipidemia. *Kardiologija*;

12:113.

Dvorkin A.M., Cardinali P.D. 2003. Best & Taylor Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. 13ª edición. Médica Panamericana ed pp. 244-259.

Gutiérrez J.P., 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 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. 2012. 113-116.

Guyton A., Hall J. 2002. Tratado de fisiología médica. 11ª edición. McGraw-Hill ed pp.112-118.

Hardie D.G., Ross F., Hawley S. 2012. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nature reviews*; 13: 251-262.

Hardie D.G. 2011. AMP-activated protein kinase an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes Develop*; 25 (18): 1895–1908.

Hassan Y.I., Zempleni J. 2006. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin. *Journal of Nutrition*; 136(7):1763-5.

Hernando A.L. 2003. Nefrología Clínica. 2ª edición. Médica Panamericana ed pp. 226-231.

Hill S.J., Ganellin C.R., Timmerman H. 1997. Clasificación de histamine receptors. *Pharmacological Reviews*; 49(3): 253-257.

Hsieh Nk., Wang Jy., Liu Jc., Wang Sd., Chen Hi. 2004. Nitric oxide inhibition accelerates hypertension and induces perivascular inflammation in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*; 31: 212-218.

Ira F.S. 2011. Fisiología Humana. 12ª edición. McGraw-Hill ed pp. 451-461, 579-583.

Katzung G.B., Masters B.S., Trevor J.A. 2010. Farmacología Básica y Clínica. 11ª edición. McGraw-Hill ed pp. 317-320.

Khanapure S.P., Garvey D.S., Janero D.R., Letts L.G. 2007. Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. *Curr Top Med Chem*; 7:311-340.

Kroetz D.L., Xu F. 2005. Regulation and inhibition of arachidonic acid w-hydroxylase and 20-HETE formation. *Annu Rev. Pharmacol Toxicol*; 45:413-438.

Lee J.M., Robson M.D., Yu L.M., Shirodaria C.C., Cunningham C., Kylintireas I., Digby J.E., Bannister T., Handa A., Wiesmann F., Durrington P.N., Channon K.M., Neubauer S., Choudhury R.P. 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.

Lorenzo P., Moreno A., Lizasoain I., C. Leza J., A. Moro M., Portolés A. 2008. Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición. Médica Panamericana ed pp. 389-392.

Madhusoodanan K.S., Murad F. 2007. NO-cGMP signaling and regenerative

medicine involving stem cells. *Neurochemical Research*; 32(4-5): 681-94.

Maebashi M., Makino Y., Furukawa Y., Ohinata K., Kimura S., Takao S. 1993. Therapeutic evaluation of the effect of biotin on hyperglycemia in patients with Non-Insulin Diabetes Mellitus. *J Clin Biochem Nutr*; 14:211-18.

Mackay J., Mensah G. 2004. The Atlas of Heart Disease and Stroke. World Health Organization 2004; 1-112. Geneva, WHO.

Marshall M.W., Kliman P.G., Washington V.A., Mackin J.F., Weinland B.T. 1980. Effects of biotin on lipids and other constituents of plasma of healthy men and women. *Artery*; 7(4): 330-351.

Meyer G.R.Y., Herman A.G. 2000. Nitric oxide and vascular endothelial dysfunction. *Nitric Oxide*: 547-567.

Morgado M., Cairrao E., Santos-Silva A.J., Verde I. 2012. Cyclic nucleotide-dependent relaxation pathways in vascular smooth muscle. *Cell Mol Life Sc*; 69(2):247-266.

Morgado E., Leão N.P. 2012. Hypertension and Chronic Kidney Disease: Cause and Consequence – Therapeutic Considerations. ANTIHYPERTENSIVE DRUGS, Edited by Hossein Babaei. *Published by InTech, Croatia*; 45-66 pp.

Ortega A., Ferrer P., Carretero J., Obrador E., Asensi M., Pellicer J.A., Estrela J.M. 2003. Down-regulation of glutathione and Bcl-2 synthesis in mouse B16 melanoma cells avoids their survival during interaction with the vascular endothelium.

J Biol. Chem; 278(41): 39591-39599.

Parra C.J.Z. 2008. Hipertensión Arterial. 1ª edición. Intersistemas ed pp. 247.

Pacheco A.D., Solórzano V.R., Gravel R.A., Cervantes R.R., Velázquez A., León Del Río A. 2004. Paradoxical regulation of biotin utilization in brain and liver and implications for inherited multiple carboxylase deficiency. *J Biol Chem*; 279(50): 52312-52318.

Pacheco A.D., Solórzano V.R., León Del Río A. 2002. Biotin in Metabolism and Its Relationship to Human Disease. *Archives of Medical Research*; 33(2002) 439–447.

Pecháňová O., Bernátová I., Pelouch V., Babál P. 1999. L-NAME-induced protein remodeling and fibrosis in the rat heart. *Physiol Res*; 48: 353-362.

Pocock G., Richards D.C. 2005. Fisiología Humana La base de la medicina. 2ª edición. Masson ed pp. 306-312, 368-375.

Ramos J.J., Garduño B.T., Arias M.A.J. 2009. Histamina y comunicación intercelular: 99 años de historia. *Revista Biomédica*; 20(2):100-126.

Rang P.H., Dale M.M., Ritter M.J., Flower J.R. 2008. Farmacología. 6ª edición. Elsevier ed pp. 305-311.

Regoli D., Allogho S., Rizzi A., Gobeil F.J. 1998. Bradykinin receptors and their antagonist. *Eur. J. Pharmacol*; 348: 1-10.

Remme W.J. 1997. Bradykinin-mediated cardiovascular protective actions of ACE

inhibitors. A new dimension in anti-ischaemic therapy?. *Drugs*; 54(5): 59-70.

Roberts O.L., Kamishima T., Barrett-Jolley R., Quayle J.M., Dart C. 2013. Exchange protein activated by cAMP (Epac) induces vascular relaxation by activating Ca^{2+} -sensitive K^{+} channels in rat mesenteric artery. *J Physiol*; 15;591(Pt 20):5107-5123.

Rodríguez M.R., Zempleni J. 2009. Nitric oxide signaling depends on biotin in Jurkat human lymphoma cells. *J Nutr*; 139 (3): 429-33.

Rodríguez M.R. 2000. Importancia del metabolismo de la biotina. *Revista de Investigación Clínica*; 52(2): 194-199.

Rodriguez M.R., Zempleni J. 2003. Regulation of gene expression by biotin. *J Nutr Biochem.*; 14(12): 680-690.

Rodriguez M.R., Cano S., Mendez S.T., Velazquez A. 2001. Biotin regulates the genetic expression of holocarboxylase synthetase and mitochondrial carboxylases in rats. *J Nutr*; 131(7): 1909-1913.

Schanstra J.P., Alric C., Marin M.E., Girolami J.P., Bascands J.L. Renal bradykinin receptors: localization, transduction pathways, and molecular basis for a possible pathological role. *Int. J. Mol. Med*; 3: 185-191.

Silbernagl S., Lang F. 2009. Fisiopatología Texto y Atlas. 3ª edición. Médica Panamericana ed pp. 222-226.

Solórzano V.S., Pacheco A.D., León Del Río A. 2002. Holocarboxylase synthetase is an obligate participant in biotin mediated regulation of its own expression and of biotin-depend carboxylases ARNm levels in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*; 99(8): 5325-5330.

Spence J.T., Koudelka A.P. 1984. Effects of biotin upon the intracellular level of cGMP and the activity of glucokinase in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem*; 259 (10):6393-6.

SSA. 1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. NOM-062-ZOO-1999.

SSA. 2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. NOM-030-SSA2-2009.

Talens D. 2009. La nefrona. [Figura]. Recuperado de <http://e-ciencia.com/blog/divulgacion/una-autentica-depuradora-en-nuestro-interior/>.

Toledo L.Z.J. 2014. Estudio del efecto hipotensor de la biotina en la contracción arterial (tesis de licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.

Török J. 2008. Participation of Nitric Oxide in Different Models of Experimental Hypertension. *Physiological Research*; 57: 813-825.

Tortora J.G., Derrickson B. 2006. Principios de Anatomía y Fisiología. 11ª edición.

Médica Panamericana ed pp. 754-758.

Velázquez M.O., Lara E.A., Tapia O.F., Romo L.L., Carrillo T.J., Colín C.M., Montes R.G. 2002. Manual de Procedimientos, Toma de medidas Clínicas y Antropométricas en el adulto y adulto mayor. DF, México: Secretaría de Salud. 2002.

Vesely D. 1982. Biotin enhances guanylate cyclase activity. *Science*; 216(4552): 1329-1330.

Vilches F.A., Fernández M.C. 2005. Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Revista de Investigación Clínica*; 57(5): 716-724.

Vosper H. 2009. Niacin: a re-emerging pharmaceutical for the treatment of dyslipidaemia. *Br J Pharmacol.* 158 (2):429-441.

Watanabe K., Kamiyama S. 2008. Antihypertensive effect of biotin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr*; 99 (4): 756-763.

Wiedmann S., Rodriguez M.R, Ortega C.D., Zempleni J. 2004. Clusters of biotin-responsive genes in human peripheral blood mononuclear cells. *J Nutr Biochem.* 15 (7): 433-439.

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): 1479-1484.

Zempleni J., Teixeira D.C., Kuroishi T., Cordoniera E.L., Baier S. 2012. Biotin

requirements for DNA damage prevention. *Mutat Res*; 733(1-2): 58–60.

Ziegler E.E., Lloyd J., Filer J. 1997. Conocimientos actuales sobre nutrición. *Organización Panamericana de la salud*. (7).