



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA



“ESTUDIOS DE MODELADO MOLECULAR Y *EX VIVO* SOBRE EL
EFECTO VASODILATADOR DE LA BIOTINA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A

p. Q.F.B. JUAN MANUEL TINOCO ESPINOZA

Directores de tesis:

Doctor en Ciencias: Asdrúbal Aguilera Méndez

Doctor en Ciencias: Zurisaddai Hernández Gallegos

Morelia, Michoacán, Mayo 2017

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.

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme llegar a cumplir este gran sueño siempre estando a mi lado.

A mi familia.

Mis padres.

Mis hermanos en especial a mis hermanos Brenda Tinoco y Antonio Tinoco.

Mis tíos en especial a mis tíos Raymundo Tinoco, Cornelio Rojo y Antonio Cerda.

Mis tías en especial mi tía Laura Tinoco y mi tía Rosa Ma. Cerda.

A mis abuelitas Elva Herrera y Socorro Alfaro.

A mis primos en especial a Juan Banda.

A mis sobrinos Aglae Tinoco, Víctor Tinoco y Joselyn Tinoco.

A mis mejores amigos de la facultad: Fanny Gaviña, Yarely Barbosa, Nyx Gomez, Lupita Salgado, Perla Guillen, Rocío Huanosto, Valeria Ramirez.

A los mejores amigos de mi vida personal, es decir a TFC. Rogelio Alcantar, Karen Hernandez, Danayanti Tovar, Ana Díaz, Dafne Arellano, Ana Corrales, Andrea Arredondo, Isabel, Diala Villa, Fanny Gaona, Lizeth Bedolla, Angélica Juarez, Gaby Liera, Francisco Medina, Iván Celedón, Mirian Sánchez, y todos los que me falten.

A la señora Angélica Paz.

A mis profesores de la Facultad de Químico Farmacobiología.

A la Q.F.B. Janet Glafira Gómez Trujillo.

A la D.C. Sandra Guadalupe Sánchez Ceja.

A la Q.F.B. Lillian Bribiesca Rodríguez.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a Dios por darme la fuerza para no rendirme y seguir adelante culminando así una etapa importante en mi vida, pudiendo sobrellevar todas las adversidades y desafíos que se presentaron durante todo el camino, mostrándome que siempre hay una luz al final de la adversidad.

A mi familia, por el apoyo moral que me brindaron y me siguen brindando, apoyándome siempre para que salga adelante y no dejándome caer en ningún momento.

A mi padre Silvestre Tinoco Herrera por su apoyo, sus consejos y en su debido momento sus regaños justificados, los cuales me hicieron ser una persona de valores, respetuosa, humilde y de principios. Gracias por todo papá te quiero mucho.

A mis hermanos: María Brenda Tinoco Espinoza siempre agradeceré a Dios por tenerte como hermana, qué más puedo decir más que gracias por ser mi hermana, la persona que me quiere y me acepta como soy a pesar de todos mis defectos y errores, por estar para mí siempre que te necesito apoyarme en buenas y malas y por ser unos de los pilares fuertes en mi vida que nunca me deja caer. A Rafael Antonio Tinoco Espinoza, por ser mi compañero y amigo, porque a pesar de las peleas diarias siempre me has demostrado tu cariño siendo mi cómplice en buenos y malos momentos pero sobre todo por tu paciencia. Simplemente, los quiero muchísimo.

A mi tía Laura, mi tío Raymundo y mi abuelita Elva por todos sus consejos y por el apoyo que me brindan y por creer en mí siempre y en que puedo lograr lo que me proponga con fe en Dios y echándole muchas ganas; también por siempre guiarme por el camino del bien. Muchas gracias por todo, se les quiere y se les aprecia mucho.

A mi tía Rosa, mi tío Cornelio y mi primo Juanito que a pesar de la distancia siempre puedo contar con ellos, por todo su apoyo y sobre todo por el amor y cariño que me brindan día a día. Los quiero demasiado, de verdad no saben lo importante que son para mí ya que ustedes siempre me han enseñado que siempre ahí una luz al final del túnel y que no importa que tan fuerte este la tormenta pues el sol siempre volverá a salir y brillar aun con mas intensidad que antes.

A todos mis amigos: sobre todo a los mejores amigos de mi vida personal TFC en general sin excluir a nadie incluyendo a los que se me pase anotar. Gracias chicos, en verdad, pues sin ustedes no hubiese sido lo mismo, sobre todo por todo el amor y cariño que me dan, por siempre apoyarme y estar a mi lado en buenas y malas, por ser esos amigos que se convirtieron en mi familia, por sus consejos y porque nunca me dejan caer por formar parte de ese pilar que me mantiene de pie, siempre agradeceré a Dios y al cielo por tenerlos a mi lado y ser parte de mi familia, aunque yo sé que muchos son nuevos no importa pues ahora forman parte importante en mi vida, chicos simplemente los amo a todos gracias por las aventuras y locuras que vivimos día a día y que me hacen tan feliz, yo sé que aún nos quedan muchas historias por vivir juntos.

Mis chicos Roger, Dafy, Dana, Ana y Karen gracias por todo su apoyo, cariño amor y comprensión que me han brindado, por levantarme el ánimo en los momentos tristes, por escucharme cuando más lo necesito, por siempre estar ahí para mí y por seguirme en todas mis locuras.

Porque sé que siempre puedo contar con ustedes creo que las palabras sobran para decirles lo importante que son para mí y lo mucho que los quiero mi vida no sería igual sin ustedes ya que son una parte muy importante en ella.

A mis mejores amigos de la facultad: Fanny, Yareli, Nyx, Lupita, Perlita, Rocío, Valeria, Mirian niñas ustedes forman parte importante en mi vida y también son parte de mi familia las quiero y las adoro demasiado gracias por brindarme su amistad, cariño y apoyo. Las quiero mucho siempre estarán presentes en mi corazón donde sea que me encuentre.

A la Sra. Angélica por todo su apoyo y cariño que me ha brindado siempre guiándome por el sendero del bien, y por lo cual se le quiere y se le aprecia mucho, de verdad muchas gracias por todo.

A mis asesores de tesis: el D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez y al D.C. Zurisaddai Hernández Gallegos, por permitirme realizar este proyecto a su lado, por compartirme de su conocimiento, por su paciencia, comprensión, enseñanza y apoyo, sobre todo gracias por permitirme culminar mi preparación en esta gran etapa en mi vida como Quimicofarmacobiólogo, impulsándome siempre a seguir adelante. A los cuales siempre he admirado y son mi ejemplo a seguir, siempre los tendré presentes en mi vida con mucho cariño y aprecio.

A mis sinodales y revisores: D.C. Sandra Guadalupe Sánchez Ceja, D.C. Rafael Herrera Bucio, D.C. Daniel Godínez Hernández, Q.F.B. Lillian Bribiesca Rodríguez, Q.F.B. Dafne Vanessa García Chávez por todos sus consejos, recomendaciones para poder culminar con este proyecto, pero sobre todo gracias por su apoyo incondicional, disposición, comprensión y paciencia.

A mis compañeros y amigos de laboratorio: Dulce, Lupita, Peniel, Cristian, Ricardo, A la M.F.B Blanca Nateras Marín y el M.C. Héctor Urquiza Marín, gracias por los buenos momentos, por las enseñanzas, risas, entusiasmo y apoyo, a los cuales estimo y siempre tendré presentes a donde sea que vaya.

A todos mis profesores de la Facultad de Químico Farmacobiología quienes forman parte importan en mi vida y mi formación, muchas gracias por todas sus enseñanzas siempre los llevare con mucho a precio y cariño en mi corazón ya que son unas excelentes personas, profesores y amigos.

Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas y los laboratorios de Farmacología y Bioquímica de la Nutrición, pero sobre todo a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, sintiéndome orgulloso de ser NICOLAITA.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|----------|
| LISTA DE FIGURAS | i |
| LISTA DE TABLAS | ii |
| LISTA DE ABREVIATURAS | iii |
| RESUMEN | v |
| ABSTRACT | iv |
| | |
| 1 INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Modulación de la presión arterial sanguínea..... | 3 |
| 1.1.1 Regulación nerviosa: control rápido de la presión arterial..... | 3 |
| 1.1.2 Factores sistémicos que regulan el tono vascular..... | 4 |
| 1.1.3 Control humoral..... | 6 |
| 1.2 Sustancias vasoconstrictoras..... | 7 |
| 1.2.1 Angiotensina II..... | 7 |
| 1.2.1.1 Vasopresina..... | 7 |
| 1.2.2 Noradrenalina y adrenalina..... | 7 |
| 1.3 Receptores adrenérgicos..... | 8 |
| 1.4 Sustancias vasodilatadoras..... | 10 |
| 1.4.1 Óxido nítrico..... | 10 |
| 1.4.2 Prostaglandinas..... | 11 |
| 1.4.3 Bradicinina..... | 11 |
| 1.4.4 Histamina..... | 12 |
| 1.5 Hipertensión arterial..... | 13 |
| 1.5.1 Definición..... | 13 |
| 1.5.2 Clasificación..... | 13 |
| 1.5.3 Según la presión sanguínea..... | 13 |
| 1.5.4 Según la etiología..... | 14 |
| 1.5.4.1 Hipertensión primaria o esencial..... | 14 |

| | | |
|---------|---|----|
| 1.5.4.2 | Hipertensión secundaria..... | 16 |
| 1.5.5 | El endotelio vascular en el desarrollo de la hipertensión arterial..... | 17 |
| 1.5.6 | Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial..... | 18 |
| 1.6 | Modelado molecular..... | 19 |
| 1.6.1 | Métodos computacionales de modelado molecular..... | 19 |
| 1.6.2 | Relaciones entre estructura química y actividad biológica..... | 20 |
| 1.6.3 | Visualización de superficies moleculares..... | 21 |
| 1.7 | Uso de vitaminas en el tratamiento de diversos padecimientos..... | 22 |
| 1.8 | La biotina..... | 23 |
| 1.8.1 | Función de la biotina..... | 24 |
| 1.8.3 | Ingesta adecuada de biotina y absorción..... | 26 |
| 1.8.4 | Funcion de la biotina a concentracion farmacológica y su efecto en la expresión de genes..... | 27 |
| 1.8.5 | Mecanismos moleculares de acción de la biotina..... | 29 |
| 1.8.5.1 | Activación y vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/ proteína cinasa G (GC/PKG)..... | 29 |
| 1.8.5.2 | Biotinilación de histonas..... | 30 |
| 1.8.6 | Efecto sobre el metabolismo de carbohidratos..... | 31 |
| 1.8.7 | Efecto en el metabolismo de los lípidos..... | 31 |
| 2 | ANTECEDENTES..... | 31 |
| 2.1 | Modelado molecular de la biotina..... | 31 |
| 2.2 | Uso de vitaminas como fármacos..... | 33 |
| 2.3 | Efecto antihipertensivo de la biotina..... | 33 |
| 3 | JUSTIFICACIÓN..... | 35 |
| 4 | HIPÓTESIS..... | 36 |
| 5 | OBJETIVO GENERAL..... | 36 |
| 6 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 36 |
| 7 | Materiales y métodos..... | 36 |
| 7.1 | Modelado molecular..... | 36 |
| 7.2 | Modelo experimental..... | 37 |
| 7.3 | Contracción en aorta aislada de rata..... | 38 |
| 7.4 | Uso <i>in vitro</i> del captopril en la contracción de aorta aislada de rata..... | 39 |
| 7.5 | Análisis estadístico..... | 39 |
| 8 | RESULTADOS..... | 40 |

| | |
|--|----|
| 8.1 Estudio y modelado de los compuestos relacionados con la biotina y sus posibles blancos biológicos..... | 43 |
| 8.2 Registro del consumo de agua y alimento de los animales..... | 44 |
| 8.3 Efecto de la biotina a diferentes concentraciones sobre la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta..... | 44 |
| 8.4 Efecto de la biotina sobre la respuesta contráctil a la fenilefrina en aorta en presencia y ausencia de captopril..... | 45 |
| 9 DISCUSIÓN..... | 46 |
| 10 CONCLUSIÓN..... | 48 |
| 11 REFERENCIAS..... | 49 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|--|---------------|
| Figura 1.- Potencial electrostático y superficies moleculares..... | 22 |
| Figura 2.- Estructura química de la biotina..... | 24 |
| Figura 3.- Ciclo de la biotina..... | 28 |
| Figura 4.- Mecanismos de acción de la biotina a través del GMPc..... | 30 |
| Figura 5.- Visualización de homo en fármacos selectos..... | 41 |
| Figura 6.- Visualización de lumo en fármacos selectos..... | 41 |
| Figura 7.- Potencial electrostático de compuestos antihipertensivos..... | 42 |
| Figura 8.- Comparación biotina-captopril con potencial electrostático..... | 43 |
| Figura 9.- Curva concentración-respuesta a fenilefrina en presencia de diferentes concentraciones de biotina | 44 |
| Figura 10.- Efecto de la biotina y captopril sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de ratas..... | 45 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Página |
|---|---------------|
| Tabla 1. Clasificación de la presión sanguínea..... | 14 |
| Tabla 2. Tipos de carboxilasas y su función..... | 24 |
| Tabla 3. Ingesta adecuada de biotina | 27 |
| Tabla 4. Cálculos realizados con el programa Spartan 14..... | 41 |
| Tabla 5. Consumo de agua y alimento..... | 43 |

ABREVIATURAS

| | |
|--|--|
| ACC: Acetil coenzima A carboxilasa. | NA: Noradrenalina. |
| AMP: Adenosina monofosfato. | NO: Óxido nítrico. |
| AMPc: Adenosina monofosfato cíclico. | nNOS: Sintasa de óxido nítrico neuronal. |
| Ang I: Angiotensina I. | PA: Presión arterial. |
| Ang II: Angiotensina II. | PAM: Presión arterial media. |
| AVP: Arginina vasopresina. | PAD: Presión arterial diastólica. |
| α-AR: Alfa adrenorreceptores. | PAS: Presión arterial sistólica. |
| B-AMP: Biotinil adenosina monofosfato. | PC: Piruvato carboxilasa. |
| BR: Barorreceptor. | PCC: Propionil coenzima A carboxilasa. |
| β-AR: Beta adrenorreceptores. | PDE: Fosfodiesterasa. |
| CA: Catecolaminas. | PKC: Proteína cinasa C. |
| CE: Con endotelio. | PKG: Proteína cinasa G. |
| DAG: Diacilglicerol. | PP: Presión de pulso. |
| ECA: Enzima convertidora de angiotensina. | ROS: Especies reactivas de oxígeno. |
| eNOS: Sintasa de óxido nítrico endotelial. | RP: Resistencia arterial periférica. |
| ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. | SE: Sin endotelio. |
| GCs: Guanilato ciclasa soluble. | SMVT: Transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio. |
| GCp: Guanilato ciclasa particulada. | SN: Sistema nervioso. |
| GMPc: Guanosín monofosfato cíclico. | SNC: Sistema nervioso central. |
| HCS: Holocarboxilasa sintetasa. | SNS: Sistema nervioso simpático. |
| HTA: Hipertensión arterial. | SNA: Sistema nervioso autónomo. |
| IP3: Inositol trifosfato. | SNP: Sistema nervioso parasimpático. |
| L-NAME: N-nitro-L-arginina metil éster hidrocloreuro. | SRA: Sistema renina angiotensina. |
| | SRAA: Sistema renina angiotensina aldosterona. |

RESUMEN

En México, la hipertensión arterial afecta al 31.5% de los adultos, contribuyendo al desarrollo de cardiopatías y accidentes cardiovasculares. El tratamiento farmacológico es necesario, por lo que es sumamente importante el uso de nuevos fármacos y de terapia combinada con nutracéuticos. En la actualidad, la industria farmacéutica y muchos grupos de investigación, utilizan el modelado molecular para el descubrimiento y desarrollo de fármacos. El conocimiento de la función y los mecanismos acción de sustancias o moléculas permiten el desarrollo de fármacos a través de métodos computacionales de modelado molecular. Ejemplos de ellos son el estudio de las vitaminas liposolubles A, D y vitaminas hidrosolubles del complejo B, como es el caso de la biotina, la cual es una vitamina que participa como cofactor de las carboxilasas y se ha reportado que a concentraciones farmacológicas modifica la expresión genética y tiene efecto en varios procesos biológicos. Se ha reportado que la biotina tiene un efecto antihipertensivo en ratas espontáneamente hipertensas, siendo éste, el único estudio realizado en animales hasta el momento. En el presente trabajo se aportan conocimientos del mecanismo de acción del efecto hipotensor de la biotina. Para ello se le comparó por medio del modelado molecular con diferentes fármacos antihipertensivos, para encontrar con cual se asemeja más estructuralmente y posteriormente se hicieron estudios *ex vivo* para ver el efecto de la biotina sobre la respuesta contráctil de la fenilefrina en aorta, en presencia y ausencia de captopril (fármaco antihipertensivo al que más se asemejó estructuralmente). Los resultados mostraron que la biotina por si misma tuvo un efecto vasorrelajante y que cuando se administra junto con el captopril produjeron un efecto mayor que el obtenido por cada uno de los compuestos por separado, sugiriéndose la posibilidad de desarrollar un tratamiento antihipertensivo usando ambos fármacos.

Palabras clave: hipertensión, biotina, modelado molecular.

ABSTRACT

In Mexico, hypertension affects 31.5% of adults, contributing to the development of cardiopathies and cardiovascular accidents. Pharmacological treatment is necessary, but the use of new drugs and combined therapy with nutraceuticals is extremely important. Currently the pharmaceutical industry and many researchers are working on molecular modeling for the discovery and development of drugs. Knowledge of the function and mechanisms of action of substances or molecules allows the development of new drugs through computational methods of molecular modeling. For example, there are the study with liposoluble vitamins A, D and water-soluble vitamins of the B complex, as is the case of biotin, which is a vitamin that participates as a cofactor of the carboxylases and it has been reported that at pharmacological concentrations modifies gene expression and has an effect on several biological processes. It has been reported that biotin has an antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats, but is the only animal study to date. In the present work, it has been presented knowledge about the hypotensive mechanism of action of biotin. For this purpose, it was compared with different antihypertensive drugs, to find which it is more structurally similar and *ex vivo* studies were done to see the effect of biotin on phenylephrine contractile response in rat aorta, in the presence and absence of captopril (Antihypertensive drug that most resembles structurally). The results showed that biotin itself had a vasorelaxant effect and when was administered together with captopril produced a greater effect than the compounds separately, suggesting the possibility of developing an antihypertensive treatment using both drugs.

Key words: hypertension, biotin, molecular modeling

1 INTRODUCCIÓN

A la fuerza hidrostática ejercida por la sangre contra la pared de los vasos de las arterias se le conoce comúnmente como presión arterial (PA). Cada vez que el corazón late, bombea sangre hacia las arterias, la presión sistólica es cuando la presión es más alta. Cuando el corazón está en reposo entre un latido y otro, la presión sanguínea disminuye y se le llama la presión diastólica. La regulación de la PA es un proceso complejo, que está determinado por la acción del sistema nervioso autónomo (SNA) y los centros de regulación cardiovascular del sistema nervioso central (SNC), los factores vasodilatadores y vasoconstrictores, así como el riñón. Los valores que puede presentar la presión arterial dependerán de los siguientes factores (Barrett *et al.*, 2010):

1) Gasto cardiaco: volumen de sangre que es bombeada por unidad de tiempo en el ventrículo izquierdo del corazón.

2) Los vasos en las periferias del campo vascular los cuales provocan una resistencia al flujo de sangre.

El sistema nervioso autónomo se encarga de regular los factores anteriormente mencionados los cuales afectan el flujo de salida de sangre y activan los receptores adrenérgicos en la estructura del sistema de conducción del corazón (nodo sinoauricular), el miocardio y el músculo liso de la pared arterial de venas y de vénulas (Arias, 2003). La sangre fluye a través de los vasos conforme a un gradiente de presión, siendo este el volumen de sangre que fluye a través de las cámaras o cavidades cardíacas expulsado por un ventrículo en un minuto (VMC) y la resistencia arteriolar periférica o resistencia que ofrece el sistema vascular (excluida en este caso la circulación pulmonar) al flujo de sangre (RP), la cual se encuentra determinada por el tono y el estado que presentan las arterias (Longo *et al.*, 2012).

A través de la contracción que se realiza en los ventrículos se genera la PA. La presión arterial sistólica (PAS) se genera durante la sístole ventricular que es la presión arterial que adquiere su valor máximo y los valores que se pueden presentar son de aproximadamente 120 mmHg. La PAS es el reflejo de la contractilidad ventricular izquierda y consta del movimiento de contracción del corazón y de las arterias para empujar la sangre que contienen. La diástole coincide con la presión mínima ventricular, presión arterial diastólica (PAD), y los valores que puede presentar son entre 60-80 mmHg. La PAD está en relación con la elasticidad que presentan las arterias que transmiten la energía desde sus paredes a la sangre durante la diástole. Por otro lado, la presión arterial mediana (PAM) es denominada presión sanguínea promedio de un individuo durante un ciclo cardíaco. PAM proporciona el valor de presión con que la sangre llega a los tejidos y es por tanto la fuerza efectiva que conduce la sangre a lo largo del sistema vascular (Calero *et al.*, 2012).

La frecuencia cardíaca y la presión arterial (así como la digestión) son funciones viscerales (funciones que se producen sin control voluntario) que se encuentran reguladas por el SNA. Este tiene dos divisiones: simpático (conocido también como sistema adrenérgico y noradrenérgico) y parasimpático (Westfall *et al.*, 2010). La actividad simpática del SNA participa directamente en la regulación de la presión arterial, funcionando a través de cambios que se presentan durante la liberación de sustancias adrenérgicas como son las catecolaminas (CA) por las terminales nerviosas simpáticas y la médula adrenal (Salomonsson, 2000).

Los mecanismos extrínsecos e intrínsecos son los encargados de regular durante periodos cortos el tono vascular de las arteriolas. En el caso de los extrínsecos los mecanismos son:

1) la regulación nerviosa que es una red interna electroquímica de comunicación. Sus partes principales son el cerebro, la médula espinal y los nervios periféricos (simpáticos y parasimpáticos).

2) la humoral.

3) la hormonal.

En el caso de los mecanismos intrínsecos se presentan:

1) Autocrinos.

2) Paracrinos.

3) Intracrinos.

Los mecanismos extrínsecos e intrínsecos son derivados del endotelio y del metabolismo celular que participan en la autorregulación (“reflejo miogénico”) (Ferrario *et al.*, 1998).

1.1 MODULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SANGUÍNEA

En el control de la presión arterial sanguínea son múltiples los mecanismos conocidos que intervienen y que mantienen una estrecha interrelación garantizando la realización de la homeostasis del organismo (Guyton *et al.*, 2007). Entre estos tenemos los siguientes:

1.1.1 REGULACIÓN NERVIOSA: CONTROL RÁPIDO DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Como se mencionó anteriormente el sistema nervioso controla la circulación casi en su totalidad a través del sistema nervioso autónomo, siendo la parte más importante de regulación de éste el sistema nervioso simpático, aunque sin olvidar que también el sistema nervioso parasimpático contribuye a dicho control por presentar regulación en la función cardíaca (Guyton *et al.*, 2007). Una de las funciones más importantes del control nervioso que se realiza sobre la circulación es el provocar incrementos rápidos en la presión arterial. Para esto tienen que ocurrir tres cambios importantes en forma simultánea los cuales conllevan al aumento de la presión arterial:

Lo primero es la contracción de las arteriolas, lo que produce un incremento de la presión arterial debido al aumento de la resistencia periférica total. Después

las venas se contraen con fuerza, lo que provoca un desplazamiento de la sangre de los grandes vasos periféricos al corazón, aumentando de esta forma el volumen de sangre que se encuentra en las cámaras de este órgano, induciendo un latido más potente y provocando un bombeo de mayores cantidades de sangre con el subsecuente aumento de la presión arterial. Por último, el sistema nervioso autónomo estimula directamente al corazón lo que potencia la bomba cardiaca (Guyton *et al.*, 2007)

La rapidez de respuesta es una de las características más importantes del control nervioso de la presión arterial, que comienza en segundos y aumenta en 5-10 segundos el doble de la presión arterial con respecto a lo normal. Por el contrario, la inhibición brusca del control nervioso provoca que los valores de la presión arterial disminuya en 10-40s a la mitad del valor normal (Guyton *et al.*, 2007).

1.1.2 FACTORES SISTÉMICOS QUE REGULAN EL TONO VASCULAR

Existen varios mecanismos especiales e inconscientes que actúan constantemente para mantener los valores normales de la presión arterial, la mayoría de ellos se basan en mecanismos reflejos de retroalimentación negativa, dentro de los cuales se encuentran los siguientes:

a) Sistema simpático-adrenal: a través de receptores adrenérgicos regula la función del sistema cardiovascular. El sistema cromafín de las glándulas suprarrenales también se estimulan por medio de los agentes vasoconstrictores del sistema simpático, 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. Esto también produce una activación del sistema renina-angiotensina (Guyton *et al.*, 2002; Kasko *et al.*, 2012).

b) Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA): Es regulador de la PA en el mediano y largo plazo. El cual ejerce un papel central en la fisiopatología de la hipertensión arterial, balance hidroelectrolítico y de la insuficiencia cardiaca. Interactúa con el sistema simpático y el óxido nítrico sintetizado por el endotelio.

Sus principales acciones incluyen la de regular el tono vascular y la PA, así como facilitar la transmisión simpática. El producto final del SRA es la angiotensina II, la cual es la encargada de realizar la contracción de las arterias (Bertram 2010; De Barros, 2012).

Los participantes del SRAA son: la renina, el angiotensinógeno, angiotensina I (Ang I), angiotensina II (Ang II), enzima convertidora de angiotensina (ECA) y aldosterona (De Barros, 2012). 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 la enzima convertidora de angiotensina (ECA), transforma a la Ang I en el octapeptido angiotensina II (Ang II), hormona efectora final del sistema (De Barros, 2012; Hoffman, 2007).

La ECA es el vínculo más importante entre el sistema SRAA y el sistema de cininas, ya que la ECA las degrada. Por ello, 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 (Guyton *et al.*, 2002; Wharton *et al.*, 1998).

La Angiotensina II es un péptido que controla la presión arterial mediante la estimulación de la proteína Gq en las células del músculo liso vascular (que a su vez activa un mecanismo dependiente de IP3 que conduce a un aumento en los niveles de calcio intracelular y finalmente, causando la contracción). Por otra parte, la angiotensina II actúa en el intercambiador Na/H en los túbulos proximales del riñón para estimular la reabsorción de Na⁺, la excreción de H que está acoplado a la reabsorción de bicarbonato y la regulación del agua en el riñón. Esto da como resultado un aumento del volumen sanguíneo, de la presión y del pH. También a través de sus acciones sobre el sistema nervioso central aumenta el tono del músculo liso vascular y la liberación de aldosterona. Los efectos generados por la Ang II se ven 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 (Guyton *et al.*, 2002; Wharton *et al.*, 1998).

La aldosterona es una hormona esteroidea secretada por la zona glomerular de la corteza suprarrenal. Ésta se encarga de regular 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 (Ferrario *et al.*, 1998; Guyton *et al.*, 2002; Guyton *et al.*, 2006).

c) Sistema vasopresina (VP): la VP también llamada hormona antidiurética (ADH) es almacenada y secretada por la glándula hipófisis (hipotálamo-hipofisaria) (Carrillo *et al.*, 2003). La VP es un nonapéptido que se sintetiza en las neuronas magnocelulares localizadas en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo como preprohormona y está constituida por el nonapéptido arginina vasopresina (AVP). La liberación de la AVP es secundaria a estímulos osmóticos, hipovolémicos, hormonales y no osmóticos (Florez *et al.*, 2008). La AVP es esencial para mantener el equilibrio hídrico (suma de la ingesta de agua más la producción endógena de agua, menos la suma de las pérdidas) y la estabilidad cardiovascular. Modula la excreción renal de Na⁺, la contracción, relajación miocárdica y el tono vascular. Además, la AVP participa en la homeostasis cardiovascular a través de la vasoconstricción, el mantenimiento de las resistencias vasculares sistémicas y de la presión arterial (Rodríguez *et al.*, 2003; Sklar *et al.*, 1983). El desequilibrio de los factores sistémicos que antes se mencionaron y que regulan el tono vascular, aumentan el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular y renal como puede ser la hipertensión arterial (HTA) (Hoffman, 2007; Sosa *et al.*, 2005).

1.1.3 CONTROL HUMORAL

El incremento y disminución de la presión sanguínea puede ser mediada por el control humoral, mediante sustancias vasoconstrictoras, vasodilatadoras y de la regulación del volumen sanguíneo (Goodman y Gilman, 2007). El endotelio vascular sintetiza y libera un espectro de sustancias vasoactivas que modulan el tono vascular, la homeostasis, la respuesta inflamatoria y la angiogénesis. Los

factores vasoactivos incluyen sustancias relajantes como son (óxido nítrico, prostanoïdes, bradicinina e histamina). C) y factores de contracción (angiotensina II, endotelina y radicales libres). En animales normotensos se producen los factores vasodilatadores en grandes cantidades que permiten al músculo liso vascular oponerse al tono vasoconstrictor generado por la actividad del sistema nervioso simpático (Török, 2008).

1.2 SUSTANCIAS VASOCONSTRICTORAS

1.2.1 ANGIOTENSINA II

La ang II es una hormona fundamental en la regulación de la PA, componente del sistema renina angiotensina procedente de la angiotensina I la cual se convierte en angiotensina II (ang II), a través de la eliminación de dos residuos C-terminales por la enzima convertidora de angiotensina (ECA), principalmente dentro del pulmón (pero también en las células endoteliales y las células epiteliales de riñón). Como se describió anteriormente, la ang II es una sustancia vasoconstrictora potente (contrae las pequeñas arteriolas). Una millonésima de gramo tiene la capacidad de aumentar la presión arterial en 50 mm Hg o más en el ser humano (Goodman y Gilman, 2007).

1.2.1.1 VASOPRESINA

También conocida como hormona antidiurética es un polipéptido cíclico que consta de 9 residuos de aminoácidos y que se encuentra en el cerebro de los mamíferos y del hombre, es un vasoconstrictor más potente en comparación a la angiotensina II. Una de sus funciones muy importante es el provocar el aumento de la reabsorción de agua de los túbulos renales hacia la sangre, es decir, ayuda a controlar el volumen de líquido corporal (Goodman y Gilman, 2007).

1.2.2 NORADRENALINA Y ADRENALINA

La noradrenalina es una hormona del sistema nervioso central y periférico (neurotransmisor) que aumenta la presión arterial y el ritmo cardíaco, actuando con mayor capacidad vasoconstrictora que la adrenalina. Cuando el sistema simpático

se estimula, por ejemplo durante el ejercicio o el estrés, las terminaciones nerviosas simpáticas de cada tejido liberan noradrenalina teniendo un efecto vasoconstrictor en venas y arteriolas así como la excitación del corazón (Goodman y Gilman, 2007). La adrenalina es un agonista adrenérgico que a través de la unión con los receptores adrenérgicos β -1 mejora la función cardiaca al incrementar la frecuencia cardiaca (efecto cronotrópico) y la contractilidad (efecto inotrópico), por efecto beta-2 produce broncodilatación y vasodilatación; y por efecto alfa-adrenérgico produce vasoconstricción esplácnica y mucocutánea con aumento de la presión arterial sistólica y diastólica. Los efectos farmacológicos son dependientes de la dosis administrada (Taketomo *et al.*, 2010).

1.3 RECEPTORES ADRENÉRGICOS

Los receptores adrenérgicos son parte de la superfamilia de receptores que se acoplan a proteínas G y que se dividen en tres tipos: α 1, α 2 y β con base en su farmacología, estructura y mecanismos de señalización (Calero *et al.*, 2012; Longo *et al.*, 2012).

1) La familia de los receptores alfa (α) con sus respectivos subtipos 1 y 2. Los α 1 se localizan en las células efectoras postsinápticas, en músculo liso vascular, uréter, útero, esfínteres vesicales y gastrointestinales, glándulas salivales y sudoríparas. La acción que presenta en el músculo liso es la contracción, excepto a nivel gastrointestinal, donde se produce relajación. En caso de los α 2, estos se encuentran en SNC, plaquetas y en las células β del páncreas, su estimulación a nivel de músculo liso vascular y corazón provoca bradicardia, vasodilatación, hipotensión y efecto inotrópico negativo (Bertram, 2010; Florez *et al.*, 2008).

Los receptores adrenérgicos α 1 actúan por la estimulación de una fosfolipasa C (enzimas que hidrolizan los enlaces éster presentes en los fosfolípidos), vía proteína Gq, generando inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). Estos segundos mensajeros producen la movilización intracelular de Ca^{2+} (por activación de canales dependientes e independientes de voltaje) y activación de la proteína cinasa C (PKC), respectivamente; además, se lleva a cabo la

activación de la fosfolipasa A2 y D, la activación de la fosfolipasa A2 conlleva a la liberación de ácido araquidónico libre que se convierte por medio de la ciclooxigenasa en endoperóxidos de prostaglandinas, para formar por último el potente agregante plaquetario tromboxano A2 y a través de la prostaciclina PGI2, el cual es un producto del ácido araquidónico de las células endoteliales, inhibe la activación de las plaquetas mediante la elevación de los niveles intraplaquetarios de AMPc (Veglio *et al.*, 2001). El principal mecanismo efector de los receptores α_2 es una disminución de los niveles intracelulares del AMPc el cual es el resultado de un acoplamiento negativo con la adenilato ciclasa, vía proteína Gi (Veglio *et al.*, 2001). Periféricamente se produce la relajación del músculo liso vascular, la inhibición de la lipólisis e hiperpolarización de los ganglios simpáticos (Veglio *et al.*, 2001).

2) La familia de los receptores beta (β) (β -adrenérgicos) con sus tres subtipos β_1 , β_2 y el β_3 . Estos intervienen en la contractilidad y la frecuencia cardíacas (corazón y músculo liso; vascular y bronquial), la estimulación β provoca el aumento de la frecuencia cardíaca (Bertram, 2010; Florez *et al.*, 2008).

Todos los receptores β estimulan la adenilato ciclasa, a través de la vía proteína Gs, en la cual se ve incrementado los niveles de AMPc (nucleótido que funciona como segundo mensajero en varios procesos biológicos), lo que a su vez puede activar a la cinasa dependiente de AMPc (Taussing *et al.*, 1995). Los receptores β_1 se encuentran predominando en el corazón y el tejido adiposo, principalmente producen un incremento en el ritmo y en la fuerza de contracción del corazón. La activación de los receptores β_2 en músculo liso genitourinario, vascular y bronquial produce vasodilatación y broncodilatación. Los receptores β_3 participan en la regulación de los cambios en el metabolismo energético y la termogénesis inducidos por noradrenalina (Veglio *et al.*, 2001).

1.4 SUSTANCIAS VASODILATADORAS

1.4.1 ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico también conocido como monóxido de nitrógeno es un gas incoloro y poco soluble en agua, presente en pequeñas cantidades en los mamíferos y sintetizado a partir de la L-arginina, a través de un grupo de enzimas conocidas como sintasas de óxido nítrico (NOS). Este grupo está integrado por tres isoformas; la endotelial (eNOS o NOS III), la inducible (iNOS o NOS II) y la neuronal (nNOS o NOS I). Estas enzimas catalizan la oxidación sucesiva de alguno de los dos residuos amino guanidino de la L-arginina para formar dos intermediarios inestables, la NG-hidroxi-L-arginina y posteriormente la NG-oxo-L-arginina de mayor estado de oxidación. De esta reacción se libera óxido nítrico y citrulina, por un reacomodo intramolecular (Moncada *et al.*, 1989).

Existen cambios conformacionales de la proteína tras la unión de NO al grupo hemo que provocan la activación de la GCs (Guanilato ciclasa soluble: se encuentran inmersas en el citoplasma y son activadas por el NO) y la consecuente elevación de las concentraciones intracelulares de GMPc (Guanosín monofosfato cíclico: participa como segundo mensajero en las rutas de transducción de la señal celulares) y de esta forma se desencadena la activación de un número de vías de transducción de señales que son responsables de la regulación de diversos procesos fisiológicos: relajación del músculo liso, la neurotransmisión, la regulación de la presión sanguínea, la inhibición de la agregación plaquetaria y la inmunomodulación (Madhusoodanan *et al.*, 2007). 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 de la enfermedad hipertensiva (Hoffman, 2007).

La liberación de NO se produce por la acción de varias sustancias como: Ang II, acetilcolina, bradicinina, ADP, histamina, 5 hidroxitriptamina, nitroglicerina, nitratos, prostaciclina, noradrenalina y ácidos grasos insaturados. (Török, 2008).

1.4.2 PROSTAGLANDINAS

Son un conjunto de sustancias de carácter lipofílico derivadas de los ácidos grasos de 20 carbonos (eicosanoides), que contienen un anillo ciclopentano y constituyen una familia de mediadores celulares, con efectos diversos, a menudo contrapuestos. Las prostaglandinas PGE2 y PGI2 provocan vasodilatación, en el riñón aumentan el flujo sanguíneo renal y el filtrado glomerular (FG) amortiguando los efectos vasoconstrictores de los nervios simpáticos o de la angiotensina II. La administración de antiinflamatorios no esteroideos que inhiben la síntesis de prostaglandinas pueden reducir significativamente el FG (Guyton *et al.*, 2007).

1.4.3 BRADICININA

Algunos factores como la lesión tisular, las reacciones alérgicas, las infecciones por virus y otros trastornos inflamatorios activan una serie de reacciones catalíticas que generan bradicinina y calidina en tejidos. Dichos péptidos son autacoides que actúan localmente y producen dolor, vasodilatación, mayor permeabilidad vascular y síntesis de prostaglandinas. De este modo, también contribuyen a la respuesta inflamatoria (Goodman y Gilman, 2007).

La bradicinina es un polipéptido compuesto por nueve aminoácidos que se forma en las plaquetas y que se libera por acción de ciertos venenos o de la tripsina; sus efectos son similares a los de las cininas (contracción de los músculos lisos, aumento de la permeabilidad capilar, dilatación arterial, etc.) (Goodman y Gilman, 2007).

Se han encontrado mínimo dos receptores a cininas que fueron llamados B1 y B2, el receptor B2 liga selectivamente a bradicinina y calidina y es constitutivo de casi todos los tejidos normales. Los receptores B1 son inducibles en pocas horas en condiciones de inflamación y lesión tisular: las citoquinas como IL-1 son las

principales responsables de esta inducción. Los receptores B1, están ausentes en la mayoría de los tejidos normales y responden al metabolito de bradicinina y se bloquean de forma selectiva por diversos péptidos antagonistas. Los receptores B1 desempeñen una función importante en la inflamación y la hiperalgesia. Los receptores B2 median la mayoría de los efectos de la bradicinina y calidina en ausencia de la inflamación (Goodman y Gilman, 2007). En el aparato cardiovascular las cininas plasmáticas son vasodilatadoras cuya potencia es unas diez veces mayor que la de la histamina, dilatando lechos viscerales, corazón y riñón. Algunos efectos directos de las cininas pueden ser complementados por la capacidad de estas sustancias para estimular la liberación de histamina y otros metabolitos de las células cebadas. La vasodilatación sistémica inducida por las cininas hace que disminuya netamente las presiones sistólica y diastólica, fenómeno mediado por el óxido nítrico originado por las células endoteliales (Goodman y Gilman, 2007). En el riñón las cininas regulan el volumen y composición de la orina. Intensifican la corriente sanguínea por los riñones y el transporte electrógeno de cloruro en el conducto colector, al estimular receptores en la superficie basolateral del túbulo renal. En estados hipertensivos las cininas generan efectos más notables (Goodman y Gilman, 2007).

1.4.4 HISTAMINA

La histamina es una molécula derivada de la histidina funcionando como mediador químico preformado en las células cebadas, es una amina con múltiples funciones biológicas. Está sintetizada principalmente por mastocitos y basófilos en tejido conectivo y mucosas, células similares a las enterocromafines en la región del píloro y neuronas en el hipotálamo posterior, cuya liberación depende de la interacción del antígeno con los anticuerpos IgE en la superficie de dichas células. Interviene en las respuestas de hipersensibilidad inmediata y alergias. Los efectos de la histamina sobre el músculo liso de bronquios y de vasos sanguíneos explican en parte los síntomas de la reacción alérgica (Goodman y Gilman, 1996).

En el sistema cardiovascular la histamina dilata los vasos sanguíneos más delgados, provocando hiperemia y por lo cual se genera una disminución de la

resistencia periférica total e hipotensión arterial, además de un efecto intensificado de la permeabilidad capilar. El efecto vascular más importante en los seres humanos es la dilatación capilar, cuyos efectos los ejerce a través de la unión a los receptores H1 y H2 que se encuentran distribuidos en los vasos de resistencia y en general en todos los lechos vasculares (Goodman y Gilman, 1996). Otro de sus efectos es la hiperpermeabilidad capilar, generando la salida de proteínas plasmáticas y líquido hacia los espacios extracelulares, incremento del flujo de la linfa y su contenido proteínico y de la formación de edema, donde los receptores H1 tienen gran participación (Goodman y Gilman, 1996).

1.5 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

1.5.1 DEFINICIÓN

La presión arterial es una medición de la fuerza ejercida contra las paredes de las arterias a medida que el corazón bombea sangre al cuerpo. Hipertensión es el término que se utiliza para describir un padecimiento multifactorial caracterizado por el aumento sostenido de la presión arterial sistólica, diastólica o ambas, en ausencia de enfermedad cardiovascular renal o diabetes de $> 140/90$ mm Hg, en caso de presentar enfermedad cardiovascular o diabetes de $> 130/80$ mm Hg y en caso de tener proteinuria mayor de 1.0 g e insuficiencia renal de $> 125/75$ mm Hg. La hipertensión la podemos clasificar según los niveles de presión sanguínea o su etiología (NOM-030-SSA22009).

1.5.2 CLASIFICACIÓN

1.5.3 SEGÚN LA PRESIÓN SANGUÍNEA

Se clasifica por cifras según ciertos criterios (tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de la presión sanguínea. Clasificación de la presión sanguínea según los niveles de presión (NOM-030-SSA22009).

| Categoría | Presión Sistólica (mm Hg) | Presión Diastólica (mm Hg) |
|--------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Optima | <120 | <80 |
| Presión arterial normal | 120 a 129 | 80 a 84 |
| Presión arterial 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 |

1.5.4 SEGÚN LA ETIOLOGÍA

1.5.4.1 HIPERTENSIÓN PRIMARIA O ESENCIAL

De acuerdo a los trabajos que comparan los valores en gemelos monocigotos y dicigotos, al igual que en otros estudios genealógicos o como la comparación entre miembros emparentados genéticamente y los adoptados determinan el papel que desempeñan los factores genéticos en los niveles de presión arterial. Por lo tanto varios de los trastornos monogénicos son los causantes de formas relativamente infrecuentes de hipertensión (e hipotensión) al modificar la reabsorción neta de sodio en el riñón. En una alimentación típica que aporta 100 mEq de sodio, los riñones son capaces de filtrar 170 de plasma diarios, que contienen 23 moles de sal, esto significa que el 99.5 % de la sal filtrada debe reabsorberse por medio de los diversos canales iónicos, intercambiadores y transportadores que están activos de manera constitutiva y no se encuentran sometidos a ningún mecanismo regulador (Vinay *et al.*, 2010).

El sistema de renina-angiotensina en el túbulo colector cortical controla la absorción del 2% restante el cual tiene lugar a través del canal epitelial del Na⁺ (CENa) condicionando de esta manera el balance neto del sodio. Dentro de los trastornos monogénicos se poseen diversos mecanismos de hipertensión los cuales son:

- Defectos genéticos: estas atañene a las enzimas que participan en el metabolismo de aldosterona, lo que provoca una mayor reabsorción de sal y agua debido a un aumento, en la secreción de aldosterona provocando una expansión del volumen plasmático y en consecuencia una hipertensión.
- Mutaciones que afectan las proteínas que influyen sobre la reabsorción de sodio, ocasionando mutaciones en una proteína del canal epitelial de Na⁺ las cuales causan un aumento de la reabsorción en el túbulo distal inducida por aldosterona.

Los polimorfismos contienen diversos genes que influyen sobre sus valores los cuales son dependientes de las variaciones hereditarias de la presión arterial. Por ejemplo la predisposición a padecer hipertensión esencial, la cual tiene relación con la modificación en los genes que codifican componentes del sistema renina-angiotensina (Vinay *et al.*, 2010).

Entre la hipertensión y ciertos polimorfismos existe una asociación del locus correspondiente al angiotensinógeno y al receptor de angiotensina. Dentro de la regulación de la presión sanguínea se pueden encontrar las famosas diferencias raciales en las cuales las variantes genéticas del sistema renina-angiotensina pueden realizar contribución (Vinay *et al.*, 2010).

En la hipertensión esencial un fenómeno desencadenante clave puede ser representado por la reducción de la excreción renal de sodio en presencia de una presión arterial normal. Debido a esta disminución en la excreción de sodio se puede dar lugar sucesivamente a un aumento del volumen del líquido, del gasto cardíaco y una vasoconstricción periférica, que acabe elevando la presión sanguínea. Para evitar una mayor retención de líquidos en su punto de ajuste más alto, los riñones excretan la cantidad suficiente de sodio extra para igualar su consumo. Por lo que la excreción de sodio sería estable a pesar de la alteración del sodio (reajuste de la natriuresis por presión) (Vinay *et al.*, 2010).

Hipertensión primaria dentro de esta se encuentran influencias vasoconstrictoras como estímulos que provocan cambios estructurales en la pared vascular o los factores que producen vasoconstricción los cuales ocasionan un aumento de la resistencia periférica. El engrosamiento y rigidez de los vasos afectados podrían estar originados por las acciones vasoconstrictoras prolongadas o repetidas (Vinay *et al.*, 2010).

Determinantes genéticos pueden presentar modificaciones en la percepción debido a los factores ambientales como el estrés, la obesidad, el tabaquismo, la inactividad física y el consumo excesivo de sal son parte de los tantos aspectos implicados como factores exógenos de la hipertensión. En ciertos casos poco frecuentes un trastorno monogénico puede ser el responsable de la hipertensión la cual es un trastorno complejo y multifactorial. Es más fácil que su aparición se deba a interacciones entre mutaciones o los polimorfismos de diversos loci que influyen sobre la presión sanguínea y toda una serie de factores ambientales. Actualmente no se conocen los genes que predisponen a padecer una hipertensión esencial en poblaciones a gran escala, pero perfectamente pueden intervenir aquellos que rigen las respuestas al aumento de la cantidad de sodio en el riñón (Vinay *et al.*, 2010)..

1.5.4.2 HIPERTENSIÓN SECUNDARIA

La hipertensión secundaria (HS) se define como el aumento de la presión arterial sanguínea sistémica por una causa identificable. Solo el 5-10% de los pacientes hipertensos sufren HS, la gran mayoría padece hipertensión esencial (idiopática o primaria) y es debida a los siguientes factores (NOM-030-SSA22009):

1. Renal: glomerulopatías, tubulopatías y enfermedades intersticiales.
2. Vascular: coartación de la aorta, hipoplasia de la aorta, renovascular, trombosis de la vena renal y arteritis.
3. Endocrina: enfermedades de la tiroides o de la paratiroides, aldosteronismo primario, síndrome de Cushing y feocromocitoma.
4. Del sistema nervioso central: tumores, encefalitis y apnea del sueño.

5. Físicas: quemaduras.
6. Inducidas por medicamentos: esteroides suprarrenales, antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la ciclooxigenasa 2, anfetaminas, simpaticomiméticos, anticonceptivos orales, ciclosporina, eritropoyetina y complementos dietéticos.
7. Inducidas por tóxicos: cocaína, orozuz (Regaliz) y plomo.
8. Inducidas por el embarazo: incluye preclamsia y eclampsia.

1.5.5 EL ENDOTELIO VASCULAR EN EL DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La HTA está ampliamente relacionada con el daño vascular respecto al papel que juega el endotelio vascular en el desarrollo del padecimiento. Las alteraciones morfológicas y funcionales del endotelio son parte de la hipertensión. Incluyéndose en las primeras la 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 (Feldstein *et al.*, 2007; Tesfamariam *et al.*, 1988).

La alteración en el balance entre las sustancias vasoconstrictoras tales como tromboxano e isoprostanos y vasodilatadoras como el NO, promueve que las especies reactivas de oxígeno participen en las contracciones dependientes del endotelio vascular y a su vez al incremento de la resistencia vascular periférica (Feldstein *et al.*, 2007). Las células endoteliales son las encargadas de secretar la endotelina, la cual es una sustancia que en el liso vascular produce contracción, por lo que ocasiona que el diámetro del vaso se vea disminuido y de esta misma manera se realice un aumento en la tensión de la pared del vaso (Ferrario *et al.*, 1998; Guyton *et al.*, 2002).

La regulación de los procesos de vasodilatación y vasoconstricción depende no sólo de las concentraciones de NO, sino también del compartimiento celular y 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). Cuando la síntesis es deficiente la capacidad homeostática del endotelio vascular empeora, produciéndose la disfunción endotelial (Florez *et al.*, 2008; Guyton *et al.*, 2002; Guyton *et al.*, 2006).

1.5.6 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Para prevenir la enfermedad cardiovascular de hipertensión arterial y la muerte, dependen actualmente de los tratamientos de la hipertensión arterial que se tengan, esto es posible gracias a la obtención de cifras frecuentes de presión arterial menores o iguales a 130/90 en pacientes con enfermedades cardiovasculares (Calero *et al.*, 2012; Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-2009). Debido a estas medidas es posible la reducción de un 40% de riesgo de sufrir una enfermedad cerebrovascular y el riesgo de muerte por cualquier causa cardiovascular en un 20%, la mitad de los pacientes son tratables con monoterapia ya resulta más efectiva, pero para aquellos pacientes que se encuentran cursando un grado 2 o 3 de HTA se requieren el uso de más de un fármaco para lograr su control efectivo (August, 2003; Randi *et al.*, 2012). Por lo que se puede considerar aceptable el uso de combinaciones de fármacos que permitan un mejor control de la HTA, con dosis más bajas y menos efectos secundarios, como 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 (ARAI) y con diuréticos, (Hoffman, 2007; Randi *et al.*, 2012). 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 (August, 2003; Giuseppe *et al.*, 2009).

Hoy en día, la industria farmacéutica y muchos grupos de investigación alrededor del mundo, incorporan herramientas computacionales al descubrimiento y desarrollo de fármacos e investigación de moléculas nuevas y ya existentes (Balbes, 1994; Jorgensen, 2004). Es de esperarse, en un futuro no muy lejano, la creación de fármacos más específicos, menos tóxicos y más económicos para la

prevención de enfermedades, para curar y conservar la salud de los humanos y animales. En gran medida, esto será posible gracias al diseño de nuevos fármacos empujando como base moléculas ya existentes o completamente nuevo todo asistido por una computadora. La mayor parte de los fármacos existentes se deben al empleo de nuevas tecnologías, como es el caso del modelado molecular, las herramientas computacionales han contribuido significativamente al desarrollo de moléculas que se han aprobado para su uso clínico o de investigación. Uno de los primeros casos de éxito lo constituyó el antibacteriano norfloxacina. Estudios QSAR ayudaron al desarrollo de esta molécula que se comercializó por primera vez en 1983 con el nombre de Noroxin® (Boyd, 1999). Además de las moléculas que han llegado al mercado con la asistencia de computadoras, se reportan constantemente casos en donde el acoplamiento molecular, estudios QSAR o algún otro método de modelado molecular, han tenido impacto en proyectos de investigación sugiriendo nuevas moléculas activas que se encuentran actualmente en desarrollo (Jorgensen, 2004).

1.6 MODELADO MOLECULAR

1.6.1 MÉTODOS COMPUTACIONALES DE MODELADO MOLECULAR

La química teórica y el modelado molecular son disciplinas producto de la aplicación de la computación a otras ciencias, como son: la química, física y la biología, que permiten la investigación de átomos, moléculas y macromoléculas *in silico* (mediante sistemas de cómputo), sobre todo cuando su investigación convencional de laboratorio es inapropiada, impracticable o imposible (Leach 1996).

La química teórica o computacional se encargaba hasta hace poco tiempo de explicar solo fenómenos químicos mediante la física clásica. Sin embargo, al paso del tiempo tanto su campo de investigación como su desarrollo fue ampliándose e innovándose hasta incluir en ella la llamada física cuántica, la cual tiene como base las ecuaciones de Erwin Schrödinger; éstas incluyen cálculos y matemáticas avanzadas que requieren un alto poder de cómputo para su resolución (Cuevas *et al.* 2003). La química teórica se ha convertido en una disciplina

netamente computacional gracias al aumento y desarrollo de tecnología en el área informática, siendo su principal función el tratar de resolver los problemas clásicos de la química teórica, así como los problemas que surgen con los avances de la misma, mediante el uso de una computadora y un software (Borondo 2007).

La Química Farmacéutica (también llamada Química Médica) tiene como objetivo el diseño y la síntesis de nuevos compuestos con capacidad para interaccionar con receptores específicos. El diseño en general era realizado al azar o, en el mejor de los casos, estaba guiado por el estudio más o menos cuantitativo del efecto que diversas modificaciones introducidas en la estructura de distintos fármacos o ligandos endógenos conocidos que ejercen una determinada acción farmacológica. Esto era en gran medida consecuencia lógica del desconocimiento existente sobre la estructura de los receptores (Sheridan, 1987). Actualmente el diseño de fármacos emplea métodos matemáticos y computacionales, como son la química teórica y el modelaje molecular, haciendo uso de la información proveniente de modelos tridimensionales de receptores y ligandos, para así estudiar sus preferencias conformacionales, dilucidar la naturaleza y magnitud de las fuerzas interatómicas que gobiernan su interacción, y analizar el comportamiento dinámico de cada molécula por separado y de sus respectivos complejos (Hopfinger, 1985).

1.6.2 RELACIONES ENTRE ESTRUCTURA QUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Inicialmente las relaciones estructura-actividad en grupos de fármacos fue analizada solo a nivel cualitativo, es decir solo se veía que propiedad molecular era importante para lograr la actividad biológica. Actualmente este tipo de relaciones se hacen a nivel cuantitativo, obteniéndose modelos matemáticos (regresión simple, regresión múltiple, etc.) que correlacionan la actividad biológica de una serie de fármacos con una o varios parámetros moleculares o rasgos estructurales. De ahí nace el QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships) que se aplica actualmente al diseño de fármacos. Los métodos QSAR han tenido un desarrollo importante en los últimos 30 años y en la actualidad se hace uso de este tipo de tecnologías en casi todas las compañías farmacéuticas y centros de investigación

importantes para optimizar la rentabilidad del desarrollo de nuevos fármacos y mejorar sus expectativas de dar con una nueva sustancia que pueda ser explotada comercialmente.

Existen dos grandes categorías de los métodos que relacionan la estructura química con la actividad biológica los cuales son (Sheridan, 1987):

1) métodos topológicos/estadísticos: consisten en técnicas estadísticas o de reconocimiento de patrones ya que en la aproximación topológica sólo se cuenta con la estructura química "planar" de la molécula.

2) métodos de modelado molecular: el modelado molecular considera las propiedades de las moléculas en tres dimensiones (3D). Por ello, en esta clase de métodos son importantes varios aspectos, como son: el análisis conformacional, la mecánica cuántica, los campos de fuerzas, la termodinámica estadística y los gráficos moleculares interactivos. Siendo estos últimos los que posibilitan la representación y manipulación de las moléculas en tres dimensiones, permitiendo la comparación de moléculas y el estudio *in silico* de la interacción entre ligandos y receptores macromoleculares (Langridge, 1981).

Cuando se tiene un ligando con alta afinidad por una macromolécula biológica de interés, esto es apenas el inicio para que el ligando pueda ser usado en el arsenal terapéutico como fármaco potencial en el tratamiento de alguna enfermedad. Ya que si presenta efectos secundarios o características farmacocinéticas inadecuadas y/o la biotransformación a un metabolito tóxico, el compuesto debe regresar a los laboratorios investigación con la finalidad de optimizarlo (Hopfinger, 1985; Langridge, 1981).

1.6.3 VISUALIZACIÓN DE SUPERFICIES MOLECULARES

La interface gráfica de los programas de modelado molecular hace posible la visualización de átomos que son representados como esferas (puntuales o bien con un radio proporcional al radio de Van der Waals) unidas entre sí por varillas para representar los enlaces químicos. Por su parte, la forma molecular se puede

representar como una envoltura continua que se está en contacto con los átomos que se encuentran accesibles al disolvente (superficie accesible al disolvente). Además (con ayuda del cálculo de las superficies moleculares), también es posible mostrar información química de distintas clases (superficie molecular de carácter hidrofóbica o hidrofílica, potencial electrostático, etc.) (Figura 1).

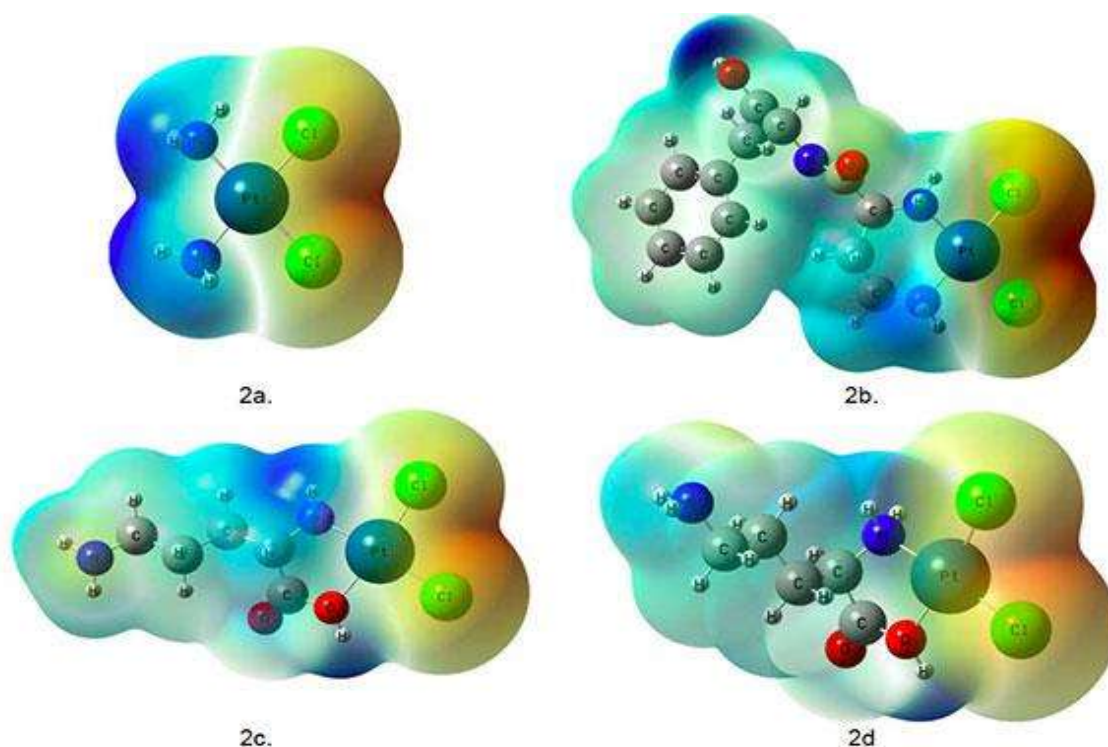


Figura 1. Potencial electrostático y superficies moleculares: en el centro de cada posición es donde se evalúa el potencial electrostático de la sonda esférica que genera un punto de la superficie. (Jesús *et al.*, 2013).

1.7 USO DE VITAMINAS EN EL TRATAMIENTO DE DIVERSOS PADECIMIENTOS

Actualmente, los medicamentos que son usados en el tratamiento de diferentes afecciones deben su desarrollo al conocimiento y estudio de la función y mecanismos moleculares que presentan algunos compuestos, como es el caso de las vitaminas de las cuales se ha logrado el desarrollo de medicamentos que están siendo usados en enfermedades específicas. Los ejemplos notorios de ellos son el extenso y profundo estudio que se realiza de las acciones biológicas y mecanismos

moleculares de las vitaminas como son las liposolubles A y D y las hidrosolubles del complejo B (Cheung *et al*, 2012., Christakos *et al*, 2003). Como también es el caso de la niacina (vitamina hidrosoluble del complejo B), la cual es usada en el tratamiento de dislipidemias desde el año 1955, en la actualidad se cuenta con un amplio conocimiento sobre sus mecanismos de acción, por lo cual se ha logrado la producción de diversos fármacos que son comercializados por compañías farmacéuticas (Longo *et al*, 2012). También existe una presentación farmacológica que cuentan con una cantidad de biotina (2mg) en combinación con el picolinato de cromo (600 µg), los cuales se usan en el tratamiento de pacientes que presentan diabetes tipo 2, mejorando sus niveles de glucosa y triglicéridos en suero (Albarracin *et al*, 2007; Albarracin *et al*, 2008).

1.8 LA BIOTINA

La biotina también conocida como (vitamina B7, B8 o vitamina H) es una vitamina hidrosoluble, la cual cuenta con tres centros quirales y se encuentra reportado es necesaria para la vida de todos los organismos, la biotina como tal puede ser sintetizada por las plantas, también es sintetizada por la mayoría de las bacterias y algunos hongos. La biotina fue descubierta por Boas en 1927 pero no es hasta el año de 1932 que es caracterizada por Kogl y Tonnis, ya que se presentaba como un factor indispensable para que se llevara a cabo el desarrollo y crecimiento de levaduras (Kasko *et al*, 2012). Químicamente hablando se trata de un compuesto heterocíclico, el cual está conformado por un anillo de imidazolidona que se encuentra enlazado con un anillo de tetrahidrotiofeno y que está unido a una cadena lateral de ácido valérico (figura 2). En todos los organismos, la biotina presenta la función como un cofactor de enzimas involucradas en la transferencia de CO₂ durante las reacciones de carboxilación, descarboxilación y transcarboxilación (Aguilera *et al*, 2013).

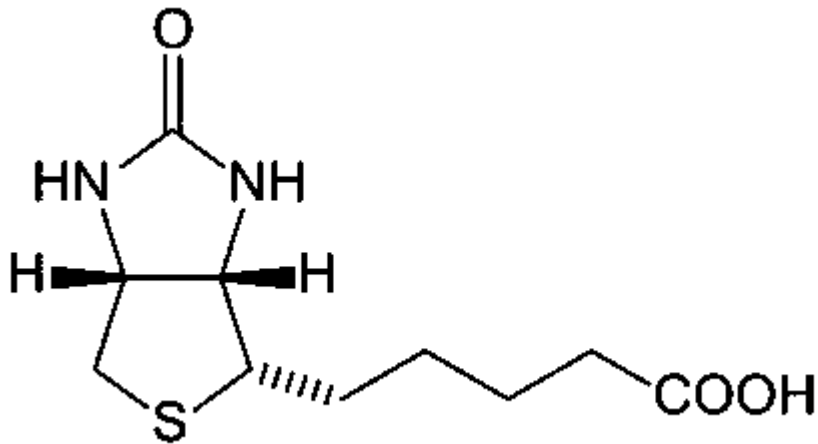


Figura 2. Estructura química de la biotina. Es un compuesto heterocíclico, con un anillo ureido, unido a un anillo de tetrahidrotiofeno y el ácido valérico, contiene tres centros quirales (García *et al.*, 2011).

1.8.1 FUNCIÓN DE LA BIOTINA

La biotina tiene la función de 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).

Dentro de la gluconeogénesis, síntesis de ácidos grasos y catabolismo de aminoácidos, estas enzimas son las encargadas de catalizar las reacciones clave (Tabla 2). La biotinilación de carboxilasas es catalizada por la proteína BirA (2,3, en procariontes y por la holocarboxilasa sintetasa (HCS) (Wood *et al.* 1997) en eucariontes.

Tabla 2. Tipos de carboxilasas y su función. Durante la gluconeogénesis, lipogénesis y catabolismo de aminoácidos participan las enzimas ACC, ACC1, ACC2 y las enzimas mitocondriales PC, PCC y MCC participan en los diversos procesos metabólicos (Del Río, 2005; Watanabe *et al.*, 2008).

| CARBOXILASA | ABREVIACIÓN | FUNCIÓN |
|-------------------------------|-------------|--|
| Piruvato carboxilasa | (PC) | En gluconeogénesis cataliza la reacción de piruvato al oxalacetato. |
| Propionil-CoA carboxilasa | (PCC) | Cataliza la conversión de propionil-CoA a metilmalonil-CoA en la isoleucina, treonina, metionina y valina. |
| Metilcrotonil-CoA carboxilasa | (MCC) | Se encarga de convertir el 3-metilcrotonil CoA a 3-metilglutaconil CoA, la cual se encuentra implicada en el catabolismo del aminoácido leucina. |
| Acetil-CoA carboxilasa | (ACC-1) | Participa en la beta oxidación. |
| | (ACC-2) | Participa en la síntesis, de ácidos grasos. |

Los animales no son capaces de sintetizar la biotina por tal motivo es necesario consumirla en la dieta diaria. Dicha 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 es absorbida por los enterocitos de la porción distal del duodeno y proximal del yeyuno y posteriormente pasando al torrente sanguíneo. Mediante un transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) que reconoce principalmente la porción del ácido valérico de la biotina logra entrar a las células (Aguilera *et al.*, 2013).

La activación de la biotina es a través de la hidrólisis de ATP, formándose el intermediario biotinil-5'-AMP (B-AMP) y es catalizada por la holocarboxilasa sintetasa (HCS) en eucariontes. 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 (Lazo *et al.*, 2010; Zemleni, 2005).

De la enfermedad de deficiencia múltiple de carboxilasas es de donde proviene la mayor parte del conocimiento sobre el papel de HCS y biotina en el metabolismo humano (DMC). La deficiencia en la actividad de la HCS es la causa de esta enfermedad que resulta en la incapacidad para sintetizar el intermediario de biotinilación B-AMP y en la disminución en la actividad de todas las carboxilasas (Suzuki *et al.* 1994). Los primeros síntomas que se presentan son dermatitis periorificial severa, letargia, hipotonía, alopecia, cetoacidosis hiperamonemia y acidemia orgánica esto en las primeras horas de vida (Wolf *et al.* 2001). Esta enfermedad se ve caracterizada principalmente por el desequilibrio bioquímico que conduce a un estado de coma o incluso la muerte si la enfermedad no es diagnosticada a tiempo.

La importancia de la biotina se ve reflejada en las enfermedades debido a deficiencias genéticas de éstas enzimas en la especie humana, pues las carboxilasas al estar alteradas en su actividad generan alteraciones clínicas variables de gran importancia como desórdenes neurológicos, retardo del crecimiento y anormalidades dermatológicas (García *et al.*, 2011).

1.8.2 INGESTA ADECUADA DE BIOTINA Y ABSORCIÓN

De acuerdo a las necesidades específicas de cada individuo como son la edad, sexo, peso, etc. Se debe de realizar una determinada ingesta óptima de biotina. Considerando la etapa de vida de la persona se realizaron los cálculos necesarios para la elaboración de la siguiente tabla (Tabla 3) (Hans *et al.*, 2007; Mock, 2006). En productos de consumo diario se encuentran las fuentes más importantes de la biotina, como son la leche y sus derivados, 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 manzanas, las almendras y las carnes rojas, estando en mayor proporción en éstas últimas. Dependerá de si la biotina se encuentra libre o unida a proteínas para su disponibilidad (Vilchis *et al.*, 2005; Mock, 2006).

Tabla 3. Ingesta adecuada de biotina. Valores de ingesta diaria adecuada de biotina de acuerdo con la etapa de vida y sexo de cada individuo (Hans *et al.*, 2007; Mock, 2006).

| Etapas de la vida | Edad | Biotina ($\mu\text{g}/\text{d}$) |
|---------------------------------|------------|------------------------------------|
| 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 |

La biotina unida a las carboxilasas puede ser liberada en forma de biocitina por degradación proteolítica mediada por la enzima biotinidasa. Esta biocitina puede ser reutilizada por otras carboxilasas (ciclo de la biotina) (Figura 3), o ser catabolizada hacia biotin sulfóxido o a bisnorbiotina y es excretada en orina (Narang *et al.*, 2004). 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 valérico de la biotina (Vilchis *et al.*, 2005). La absorción de la biotina libre se lleva a cabo por la porción distal del duodeno por los enterocitos y por la parte proximal del yeyuno (Vilchis *et al.*, 2005; Mock, 2006).

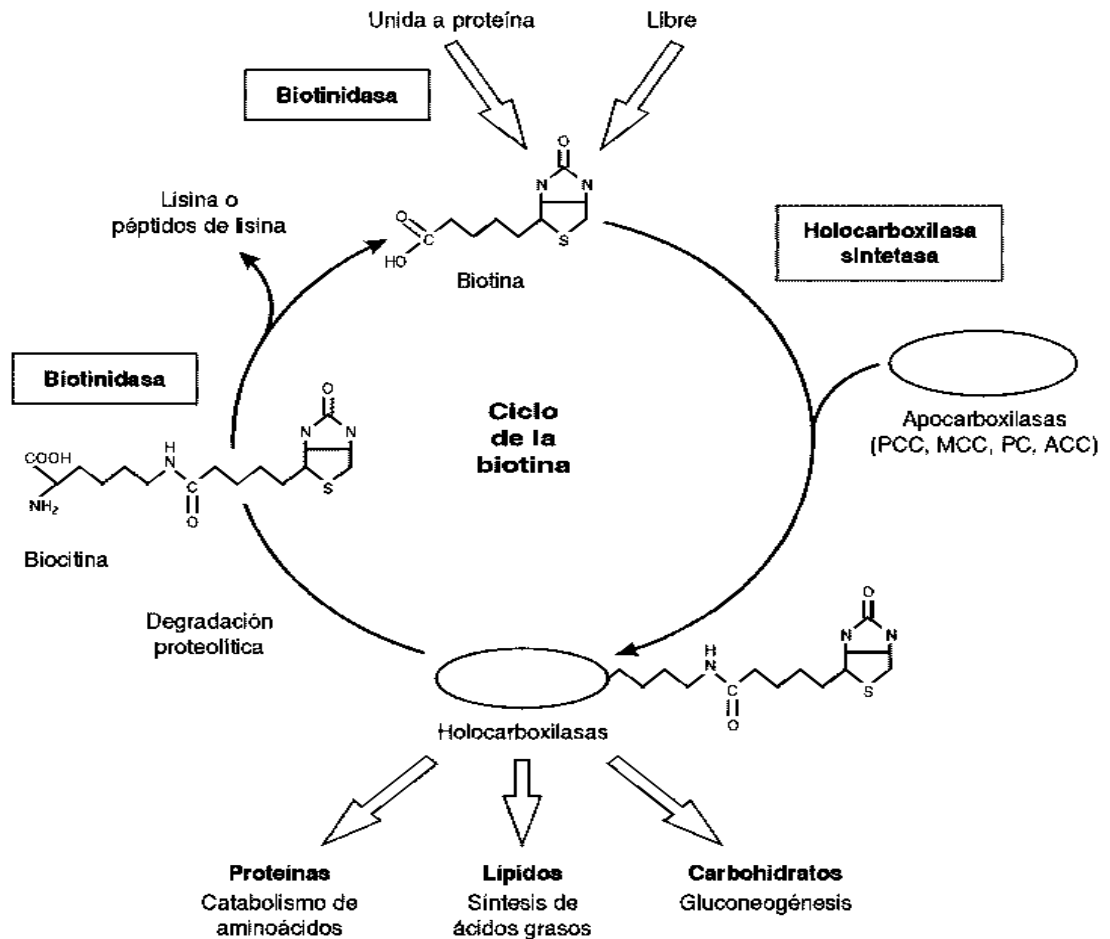


Figura 3. Ciclo de la biotina. Las dos principales enzimas en este ciclo son la holocarboxilasa sintetasa, la cual une covalentemente a la biotina a las apocarboxilasas para formar holocarboxilasas y la biotinidasa, enzima que libera a la biotina de la biocitina y de los péptidos biotinilados (Rodríguez, 2000).

1.8.3 FUNCION DE LA BIOTINA A CONCENTRACION FARMACOLÓGICA Y SU EFECTO EN LA EXPRESIÓN DE GENES

Se descubrió que la biotina 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 (Vosper, 2009). Su efecto en la expresión de genes no se debe sólo a la biotina, sino también a sus metabolitos y por lo tanto no parece estar mediado como

resultado de un incremento en la actividad de las carboxilasas (Zempleni, 2005; Rodríguez *et al.*, 2009).

En estudios con microarreglos realizados por Wiedmann (2004) en personas adultas sanas, se encontró que la administración de 2.15 mg/día de biotina durante 21 días modificó positivamente la expresión de 139 genes, mientras que disminuyó la de 131 en células mono nucleadas de sangre periférica. Otros estudios también señalan 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), las carboxilasas (PC y PCC) y el transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) (Pacheco, *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2001; Solorzano *et al.*, 2002).

1.8.4 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 (Rodríguez, 2009; Zempleni, 2005). Estos mecanismos no son necesariamente excluyentes, por lo que podrían coexistir.

1.8.4.1 ACTIVACIÓN Y VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA GUANILATO CICLASA SOLUBLE/ PROTEÍNA CINASA G (GC/PKG)

Los estudios pioneros de Vesely, en 1982, descubrieron que la adición de biotina a extractos celulares aumentaba la actividad de la guanilato ciclasa soluble (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 activación de la PKG, (Vilchis *et al.*, 2005). 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 (Solórzano *et al.* 2002). 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 que activa a la GCs y que de esta manera, se incrementa el contenido de GMPc, que a su vez activa a la PKG (Figura 4), favoreciendo así una serie de fosforilaciones que pueden modificar la expresión de genes (Vilches, 2005).

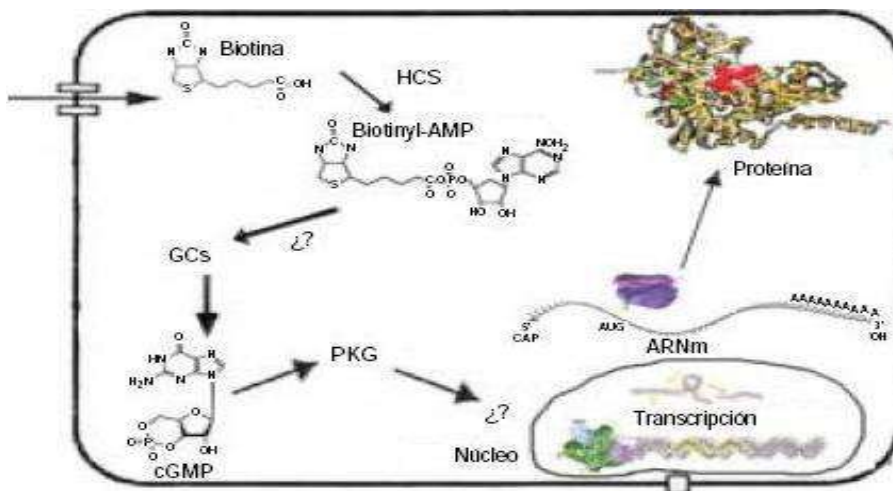


Figura 4. Mecanismo de acción de la biotina a través del GMPc. La holocarboxilasa sintetasa (HCS) participa en la síntesis de biotinil-AMP, el cual aumenta la actividad de la guanilato ciclasa soluble (GCs) por un mecanismo desconocido. Este incremento de la GCs aumenta las concentraciones de GMPc intracelular, el cual activa a la proteína cinasa G (PKG), la cual puede fosforilar diferentes proteínas que participan en la expresión genética (Vilches, 2005).

1.8.4.2 BIOTINILACIÓN DE HISTONAS

Existen estudios en diversos tipos celulares que demuestran que la biotina se une a proteínas histonas de manera específica y se sugiere que podría modificar la expresión génica a este nivel molecular (Hassan *et al.*, 2006.). Entre las funciones relacionadas con la biotinilación de histonas están un decremento de linfocitos

polimorfo nucleares durante la proliferación celular, cambios durante el ciclo celular de células de sangre periférica humana, control epigenético y prevención en daños al ADN (Aguilera *et al.*, 2013).

1.8.5 EFECTO SOBRE EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

En pacientes con diabetes tipo 1 a los cuales se les trató durante una semana con biotina y sin recibir insulina exógena, se observó que la concentración de glucosa en ayuno disminuía (Coggeshall, 1985). El efecto hipoglucemiante de la biotina, se encuentra acorde con observaciones que indican que reduce la expresión de genes de enzimas, cuya actividad favorece la disminución de las concentraciones de glucosa sanguíneas y reduce la expresión del ARNm de proteínas de acción hiperglucemiante (Aguilera *et al.*, 2013).

1.8.6 EFECTO EN EL METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

En la síntesis y oxidación de ácidos grasos la biotina interviene como cofactor de las carboxilasas ACC 1 y 2, enzimas que son cruciales, por lo que existe una relación directa entre la biotina y el metabolismo de lípidos (Dakshinamurti *et al.*, 1968; Suchy *et al.*, 1986.) En pacientes con aterosclerosis e hipercolesterolemia durante 4 semanas se les administró biotina (5 mg/día), lo que produjo un decremento en las concentraciones de colesterol total (Dukusova *et al.*, 1972). Por otra parte, se encontró que la biotina disminuye las concentraciones de lípidos séricos en voluntarios sanos en el estudio realizado por Marshall y colaboradores (Marshall *et al.*, 1980).

2 ANTECEDENTES

2.1 MODELADO MOLECULAR DE BIOTINA

Las vitaminas, con el paso del tiempo han sido estudiadas para conocer más sobre su uso y mecanismos de acción, tal es el caso de la biotina la cual en el año 2006 en el estudio realizado por Lei Zhang y colaboradores, demostraron que en el caso de la estructura de la biotina en su conformación tanto extendida como en el caso de la conformación plegada presentaban una estabilidad semejante o

igual. (Lei *et al.* 2006). En un segundo estudio, estos autores realizaron estudios de dinámica molecular y cálculos químicos cuánticos de la biotina en un ambiente acuoso, encontrando que la biotina además de las conformaciones extendida y plegada, también podía presentar una conformación semi-plegada igualmente estable (Lei *et al.* 2008).

En 2015 Caterina Fraschetti y colaboradores realizaron un estudio en el cual a través de métodos computacionales demostraron que la biotina protonada en su fase gaseosa, adquiere una estructura plegada con formación de puente de hidrógeno entre el ureido y el valeril carbonilo, y que sólo el conformero plegado de dicha estructura predomina ya que es más estable (Fraschetti *et al.* 2015).

En el estudio realizado por Yi Lei y colaboradores (2004). Se usó las simulaciones de dinámica molecular para estudiar las propiedades conformacionales y de dinámica de la biotina en agua explícita por primera vez. Se realizaron tres simulaciones estructurales de la biotina, las cuales generaron resultados similares, en términos de distancia intramolecular a partir de diferentes conformaciones iniciales. Las simulaciones indicaron que la biotina en solución acuosa es altamente flexible y salta entre estados extendidos, semi doblados y plegados. En este caso también la conformación plegada era estabilizada por enlaces de hidrógeno intramoleculares (Yi *et al.* 2004).

En el estudio realizado por Younes en el 2014. Se realizó la estabilidad de diferentes tautómeros e isómeros de tres vitaminas (B3, B5 y B7) tanto en fase gaseosa como acuosa, utilizando el método B3LYP. Teniendo como finalidad el optimizar la geometría de los diferentes isómeros y tautómeros al par de sus estados de transición de las tres vitaminas B3, B5 y B7. En conclusión, en la rotación interna se predijo que las isomerizaciones tenían la menor energía de activación, menos de 30 kJ/mol para C-C y menos de 90 k/mol para las rotaciones de O-H. Las energías de activación para el tautomerismo de ceto-enol. Se determinaron 100-130 kJ/mol tanto en fase gaseosa como en fase acuosa. (Younes *et al.*, 2014)

2.2 USO DE VITAMINAS COMO FÁRMACOS

Las vitaminas son compuestos orgánicos que las células no pueden sintetizar a excepción de muy pocas vitaminas por lo que es necesario obtenerlas de la alimentación. La ingesta de ciertas cantidades de vitaminas son requeridas por los seres humanos diariamente para un buen funcionamiento y rendimiento del mismo, las cuales pueden variar dependiendo de factores como la superficie corporal, la velocidad de crecimiento, la cantidad de ejercicio y el embarazo (Guyton *et al.*, 1972).

Actualmente, las vitaminas han podido ser usadas para el desarrollo de medicamentos que son usados en el tratamiento de diversas afecciones esto gracias al conocimiento de la función y los mecanismos moleculares de las vitaminas. Un ejemplo de ellos son el extenso y profundo estudio de las acciones biológicas y mecanismos moleculares de las vitaminas liposolubles A y D. 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 (Capuzzi *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2009).

2.3 EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE LA BIOTINA

Se reportó que concentraciones farmacológicas de biotina reducen la hipertensión en ratas de la cepa SHRSP (ratas espontáneamente hipertensas propensas a infarto) en el año 2008 por Watanabe y colaboradores. En dicho estudio se realizó la administración de biotina durante 8 semanas a una dosis de 1.2 mg/Kg de peso, observándose desde la segunda semana la reducción de la presión arterial sistólica, así como reducción del engrosamiento de la arteria coronaria y la incidencia de ataque cardiaco. Para evaluar el efecto antihipertensivo que presenta la biotina fue administrada vía intraperitoneal en dosis únicas de 0.5 y 5 mg con observación de 6 a 10 horas después de la administración pudiéndose observar el efecto antihipertensivo. También se realizó el pretratamiento con ODQ (inhibidor de

la GCs) el cual abolió el efecto hipotensor de la biotina, mientras que el pretratamiento con L-NAME (inhibidor del óxido nítrico sintasa) no presentó efecto sobre la actividad hipotensora de la biotina. Los resultados sugieren que la dosis farmacológica de biotina disminuyó la presión arterial de las ratas de la cepa SHRSP a través de una activación directa de la guanilato ciclasa soluble, es decir, de manera independiente a la formación de óxido nítrico (Watanabe *et al.*, 2008).

3 JUSTIFICACIÓN

La hipertensión arterial es una enfermedad con una alta prevalencia alrededor del mundo y nuestro país no escapa a esta realidad, ya que aproximadamente el 30% de la población adulta mexicana padece hipertensión arterial (más de 15 millones de mexicanos son hipertensos). La biotina fue reportada por su capacidad de reducir el engrosamiento de las arterias y disminuir la presión arterial en animales de laboratorio hipertensos, a través de una activación directa de la guanilato ciclasa soluble, siendo este el único estudio del efecto antihipertensivo de la biotina en un modelo experimental animal hasta el momento. Por lo que es necesario conocer mejor su función y su mecanismo de acción antihipertensivo, utilizando metodología de modelado molecular y experimentos *ex vivo*. Los resultados obtenidos aportarán conocimiento que ayuden a determinar el uso de la biotina como posible coadyuvante para disminuir la presión arterial, abriendo la posibilidad del desarrollo de nuevos fármacos.

4 HIPÓTESIS

La biotina ejerce un efecto vasodilatador al presentar similitud estructural con un fármaco antihipertensivo.

5 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto vasodilatador de la biotina mediante métodos computacionales de modelaje molecular y pruebas *in vitro*.

6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.-Estudiar la relación estructura actividad de compuestos similares a la biotina, aplicando técnicas relacionadas con el manejo de programas de relación estructura-actividad y modelaje molecular.

2.-Hacer modelaje molecular de las propiedades (estéricas, electrónicas e hidrofóbicas) de la biotina y fármacos antihipertensivos representativos y evaluar la similitud molecular de la biotina con ellos.

3.-Evaluar el efecto concentración-respuesta de la biotina en aorta de rata.

4.-Determinar el efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en presencia y ausencia de captopril en aorta de rata.

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MODELADO MOLECULAR

El modelado molecular se realizó con los programas ArgusLab (Mark A. Thompson, Planaria Software LLC) versión 4.0.1 (Molecular Modeling) y el programa Spartan 14 v1.1.4 (Wavefunction). Programas que pueden ser utilizados para el diseño de fármacos, descubrir moléculas activas y optimizar a los fármacos ya existentes, también para la predicción de la absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad de moléculas bioactivas.

Con el programa Arguslab se generaron las estructuras químicas con las propiedades adecuadas de fármacos vasoactivos, como son la noradrenalina, fenilalquilaminas (verapamilo), benzodiazepina (diltiazem), dihidropiridinas (amlodipina, nifedipina, nicardipina) y flunarizina. Por medio de su interfaz fueron acomodando los átomos de acuerdo a la geometría de distancias reportada para cada molécula. Posteriormente, se realizó la minimización de la energía, la cual se llevó a cabo por cálculos interactivos sucesivos en los que se sometió a la conformación inicial del sistema a un proceso de optimización geométrica parcial o completa. Todos los parámetros que definen la geometría del sistema o en su caso sólo algunos, se modifican en pequeños incrementos hasta que la estructura alcanza un mínimo energético local.

Con el programa Spartan 14 se realizó el modelado de la biotina, labetalol, lercanidipina, losártan, nimodipina, nisoldipino, prazosina, prenilamina, propranolol, verapamil, captopril, omesártan, enalapril, irbesárta, telmisártan. A los cuales también se les realizó la minimización de la energía. Después de obtener las estructuras de mínima energía de todos los fármacos se llevaron a cabo los cálculos de densidad electrónica del orbital ocupado de más alta energía (homo), densidad de orbital molecular desocupado de más baja energía (lumo), momento dipolar y potencial electrostático.

Los modelos se presentaron como las posibles estructuras a las cuales la biotina se encontraba más relacionada y los posibles blanco biológicos. A continuación se realizó la selección de la familia del fármaco al cual la biotina tuvo una mayor semejanza.

7.2 MODELO EXPERIMENTAL

Para determinar el efecto hipotensor de la biotina, se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (300 ± 50 g de peso). Los animales se alojaron en jaulas a una temperatura ambiental de 25 ± 2 °C, con un ciclo de luz oscuridad de 12 horas, con acceso *ad libitum* a agua y alimento durante todo el estudio, de acuerdo a los lineamientos establecidos en las regulaciones federales de la Secretaría de

Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación de México, para la producción cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

7.3 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 de 10 a 15 minutos para que los animales cayeran en sedación. Una vez en sueño profundo (hipnosis), se realizó una laparotomía amplia incluyendo al tórax, cortando la arteria aorta torácica y limpiándola del tejido graso. La arteria se cortó en anillos de 3-4 mm de longitud.

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: NaCl 118mM; KCl 4.7mM; KH₂PO₄ 1.2mM; MgSO₄ 7H₂O 1.2 mM; CaCl₂-2H₂O 2.5 mM; NaHCO₃ 20 mM; glucosa 11.7 mM y 0.026 mM EDTA 0.026. El tejido se mantuvo a una temperatura de 37°C, pH de 7.4 y con burbujeo constante de carbógeno (O₂ al 95% con 5% de CO₂). 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 $1 \times 10^{-7.5}$ 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} – $1 \times 10^{-5.5}$ 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 (1×10^{-6} y 1×10^{-7} M) disuelta en agua (vehículo), 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.

7.4 USO *IN VITRO* DEL CAPTOPRIL EN LA CONTRACCIÓN DE AORTA AISLADA DE RATA

Se realizaron curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina (1×10^{-9} – $1 \times 10^{-5.5}$ M), en aorta torácicas con endotelio de ratas normotensas, la cual se tomó como la primera curva control. Enseguida se colocó captopril (1×10^{-7} M), incubándolo durante 30 minutos y se realizó una segunda curva a fenilefrina. Posteriormente, durante un periodo de 30 minutos se incubó biotina (1×10^{-7} M). 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 se incubó con biotina (1×10^{-7} M) y captopril (1×10^{-7} M) durante media hora al mismo tiempo.

7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el programa SigmaPlot® 11.0. Los datos se presentaron 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 considero como estadísticamente significativa una $P < 0.05$.

8 RESULTADOS

8.1 ESTUDIO Y MODELADO DE LOS COMPUESTOS RELACIONADOS CON LA BIOTINA Y SUS POSIBLES BLANCOS BIOLÓGICOS

Se realizó el modelado de compuestos de interés farmacológico a los cuales la biotina pudiese parecerse más estructuralmente. Los cálculos correspondientes a energía, energía en agua, solvatación, homo, lumo, momento dipolar, número de tautómeros, peso y potencial electrostático respectivamente se pueden visualizar en la (Tabla 4), todos bajo las mismas condiciones de geometría de equilibrio en estado fundamental semi-empírica PM3. Se observó que los compuestos respecto a los cálculos realizados en la tabla no guardaban una relación.

Tabla 4.- Cálculos realizados con el programa Spartan¹⁴ (Wavefunction).

| Fármaco | Energía (Kj/mol) | Energía en agua (Kj/mol) | Solvatación (Kj/mol) | peso (amu) | Homo (eV) | Lumo (eV) | Momento Dipolar (debye) | Tautómero |
|---------------|------------------|--------------------------|----------------------|------------|-----------|-----------|-------------------------|-----------|
| Amlodipina | -698 | -753.8 | -55.8 | 408.8 | -8.8 | -0.5 | 1.4 | 2 |
| Biotina | -573.8 | -651.6 | -77.8 | 244.3 | -9.4 | -0.2 | 4.5 | 3 |
| Captopril | -591.3 | -635.4 | -44.1 | 217.2 | -9.3 | 0.2 | 3.8 | 1 |
| Diltiazem | -393.4 | -441.2 | -47.8 | 414.5 | -8.9 | -0.0 | 2.9 | 0 |
| Enalapril | -873.9 | -924 | -50.1 | 376.4 | -9.5 | 0.0 | 3.9 | 1 |
| Flunarizina | 27.02 | 19.3 | -7.6 | 404.5 | -9.0 | -0.5 | 1.7 | 0 |
| Irbesartan | 0.1 | | | 428.5 | | 0.3 | | 3 |
| Labetalol | -386.7 | -447.0 | -60.3 | 328.4 | -9.1 | -0.2 | 5.9 | 2 |
| Lercandipina | -396.9 | | | 611.7 | -8.9 | -0.1 | 8.3 | 2 |
| Lisinopril | -927.2 | -998.4 | -71.1 | 405.5 | -9.3 | -0.8 | 5.2 | 3 |
| Losartan | 109 | | | 452.9 | | 0.3 | 7.9 | 3 |
| Nimodipina | -759.8 | -808.8 | -49.0 | 418.4 | -8.9 | | 4.7 | 2 |
| Nisoldipino | -591.6 | -640.2 | -48.6 | 388.4 | -8.9 | -0.8 | 6.8 | 2 |
| Noradrenalina | -462.1 | -527.9 | -65.8 | 169.1 | -8.8 | -0.9 | 3.3 | 0 |

| | | | | | | | | |
|-------------|--------|--------|-------|-------|------|------|-----|---|
| Olmesártan | 34.9 | -18.4 | -53.3 | 446.5 | -9.6 | -0.5 | 3.2 | 1 |
| Prazosina | -230.4 | -308.5 | -78.1 | 383.4 | -8.5 | 0.2 | 4.0 | 2 |
| Prenilamina | 233.2 | 224.3 | -8.9 | 329.4 | -9.1 | -0.7 | 1.5 | 0 |
| propranolol | -225.7 | -253.4 | -27.7 | 259.3 | -8.8 | 0.3 | 1.5 | 0 |
| Telmisártan | 126.3 | 62.4 | -63.8 | 514.6 | -8.6 | -0.4 | 5.6 | 1 |
| Verapamil | -398.6 | -428.1 | -29.5 | 454.6 | -8.7 | -0.5 | 2.8 | 0 |

La visualización de las regiones correspondientes al homo de varias de las moléculas modeladas es presentada en la Figura 5. También se visualizaron las regiones donde se presenta el lomo en el caso de la biotina en el azufre del anillo de tetrahidrotiofeno y en el caso del captopril en el azufre de su cadena lateral, esto es presentado en la (Figura 6).

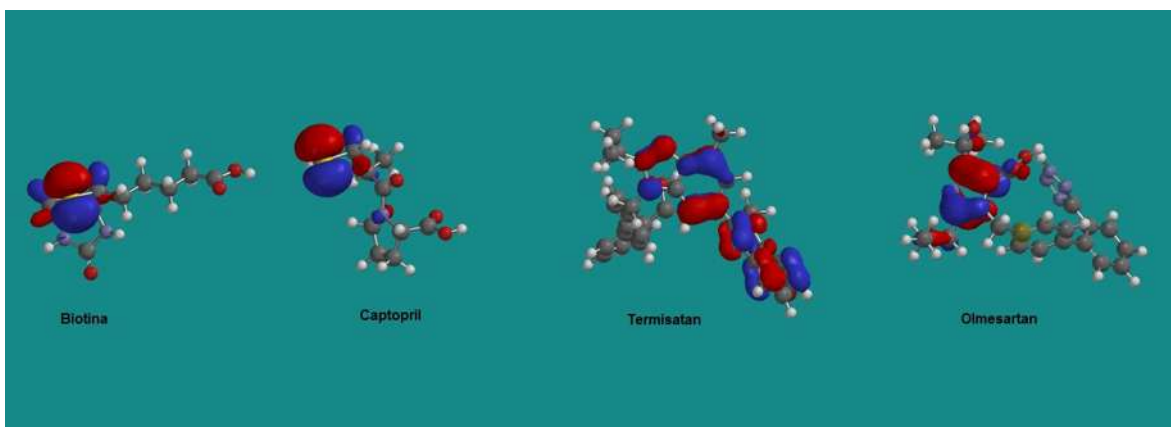


Figura.5 Visualización de homo en fármacos selectos. Visualización de las regiones donde se presenta el homo de una serie de moléculas utilizadas para el tratamiento de la hipertensión arterial.

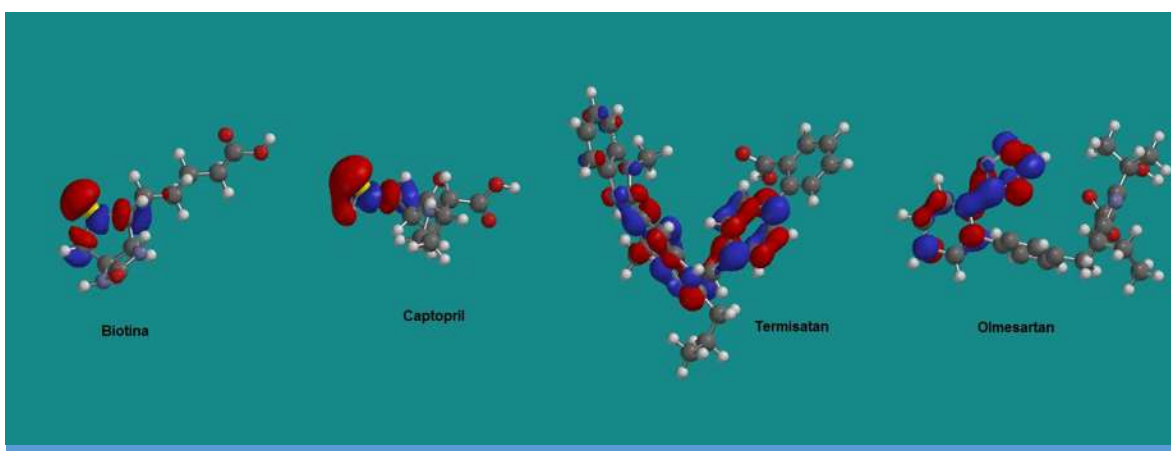


Figura.6 Visualización de lomo en fármacos selectos. Visualización de las regiones donde se presenta el lomo de una serie de moléculas utilizadas para el tratamiento de la hipertensión arterial.

La visualización correspondiente a potencial electrostático el cual permite la visualización de la distribución de los electrones en una molécula utilizando los colores del arcoíris los cuales indican las regiones donde la densidad electrostática es mayor con rojo y la menor con azul, esto se realizó para cada uno de los fármacos selectos y modelados en el estudio *in silico* previo se muestran en la (fig.7).

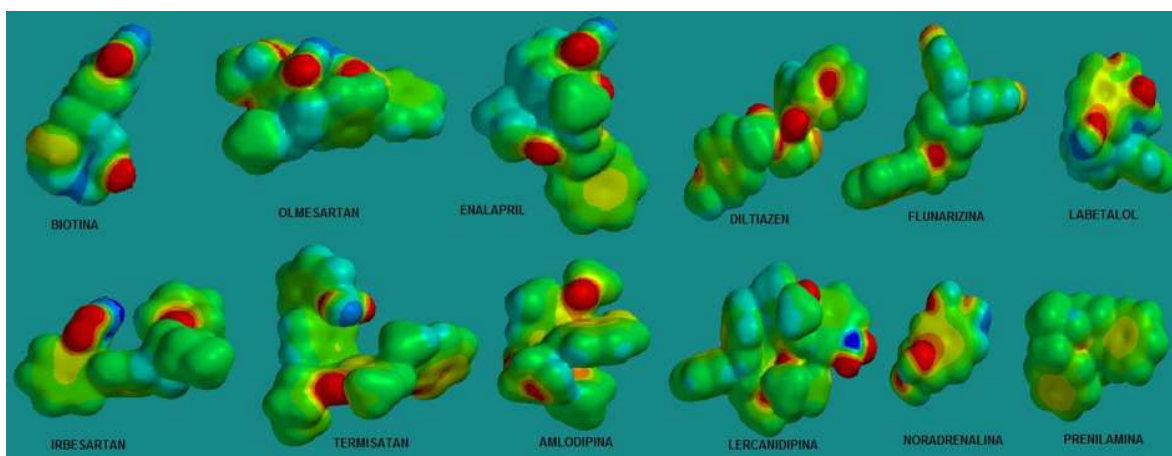


Figura.7 Potencial electrostático de compuestos antihipertensivos. El modelaje fue realizado a través del programa Spartan'14 (Wavefunction).

La comparación de los fármacos antihipertensivos dada por una sobre posición de cada fármaco con respecto a la biotina en estado de visualización del potencial electrostático obtuvo como resultado una mayor similitud estructural con la familia del captopril, representada por el captopril y enalapril, se muestra en la (fig.8).

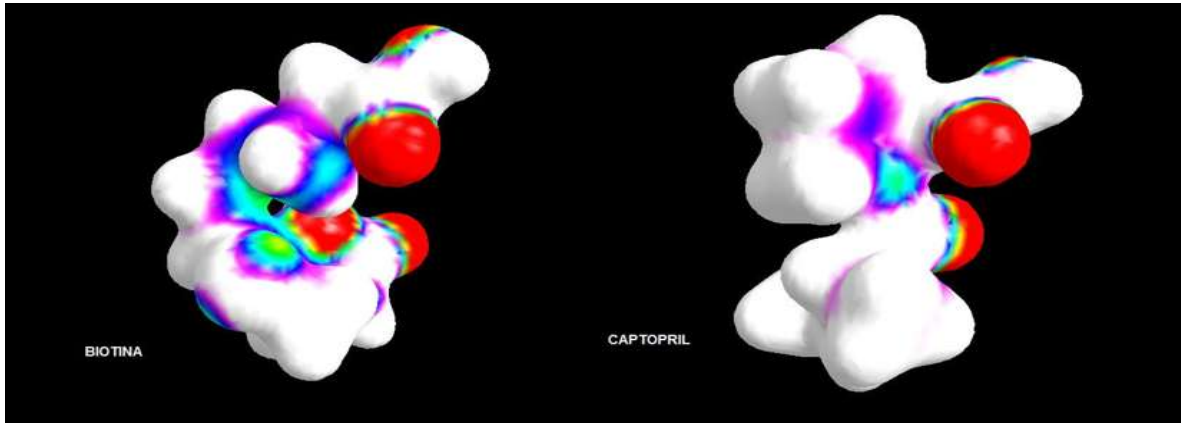


Figura.8 Comparación biotina-captopril con potencial electrostático. El resultado del estudio *in silico* demostró mayor similitud de la biotina con la familia del captoprilo.

8.2 REGISTRO DEL CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO DE LOS ANIMALES

Para los estudios *in vivo* se midió el consumo de agua y alimento de los animales cada tercer día y durante 15 días para comprobar que las ratas no presentaran enfermedades (condiciones adversas para su salud). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los animales con respecto al consumo de alimento y peso , lo cual nos indicó que eran aptos para los estudios *ex vivo* (Tabla 5).

Tabla 5.- Consumo de agua y alimento.

| Día | Consumo de agua (ml) | Consumo de alimento (g) |
|----------------|----------------------|-------------------------|
| 1 | 705 | 337 |
| 3 | 548 | 357.2 |
| 5 | 678 | 355.6 |
| 7 | 600 | 336 |
| 9 | 590 | 346.8 |
| 11 | 582 | 337.4 |
| 13 | 633 | 368.6 |
| 15 | 532 | 332.3 |
| Promedio | 608.5 | 346.3 |
| Error estándar | 19.9 | 4.2 |

8.3 EFECTO DE LA BIOTINA A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A LA FENILEFRINA EN AORTA

Para determinar el efecto de la biotina a diferentes concentraciones sobre la respuesta a la fenilefrina en la contracción de arteria de aorta, se utilizaron dos concentraciones de biotina (1×10^{-7} y 1×10^{-8} M). Se pudo observar que el efecto se presentó en biotina 1×10^{-7} ya que presenta una mayor vasorrelajación (fig 9).

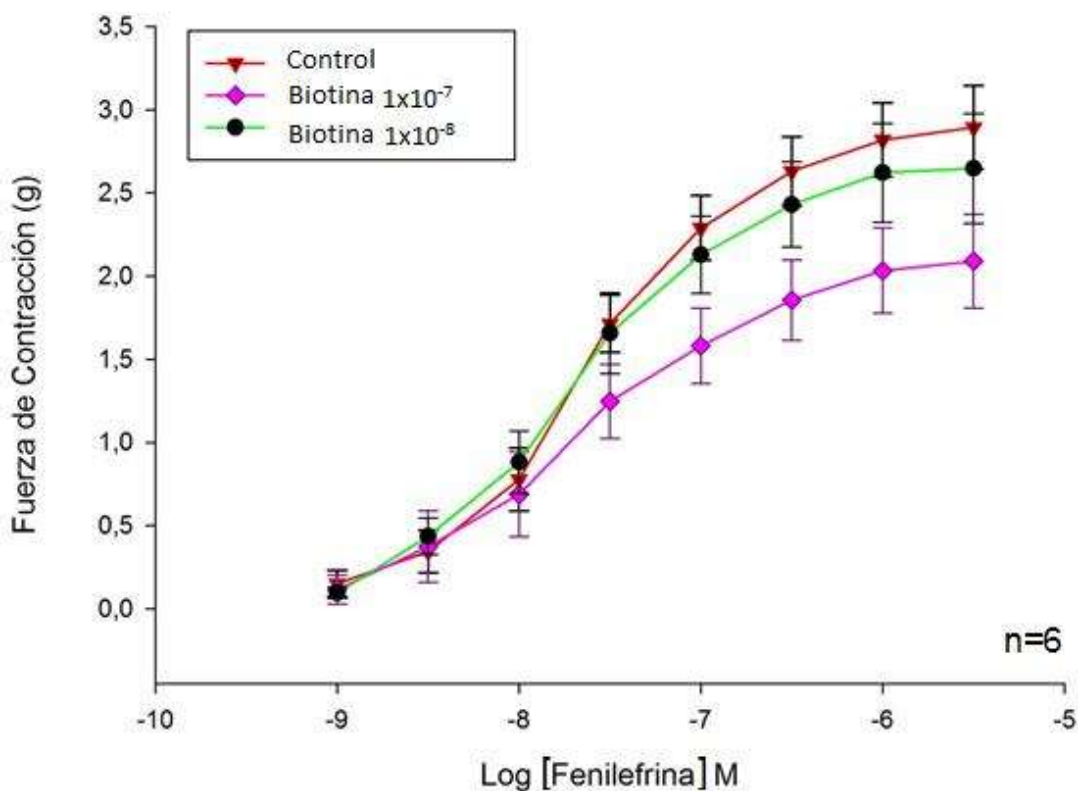


Figura 9. Efecto de diferentes concentraciones de biotina en la respuesta contráctil a la fenilefrina. Los ensayos se hicieron en aorta con endotelio de ratas Wistar. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 6 ratas.

8.4 EFECTO DE LA BIOTINA SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A LA FENILEFRINA EN AORTA EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE CAPTOPRIL

Se realizaron curvas de fenilefrina en presencia y ausencia de biotina y captopril para determinar si la biotina pudiese tener algún efecto similar al del captopril. En el cual se pudo observar que la aorta incubada con biotina y la aorta con captopril presentaban un efecto vasorrelajante similar al disminuir la contracción en respuesta a la fenilefrina. También se observó una disminución más pronunciada de la contracción en la aorta cuando contenía ambos compuestos (biotina y captopril) (fig 10).

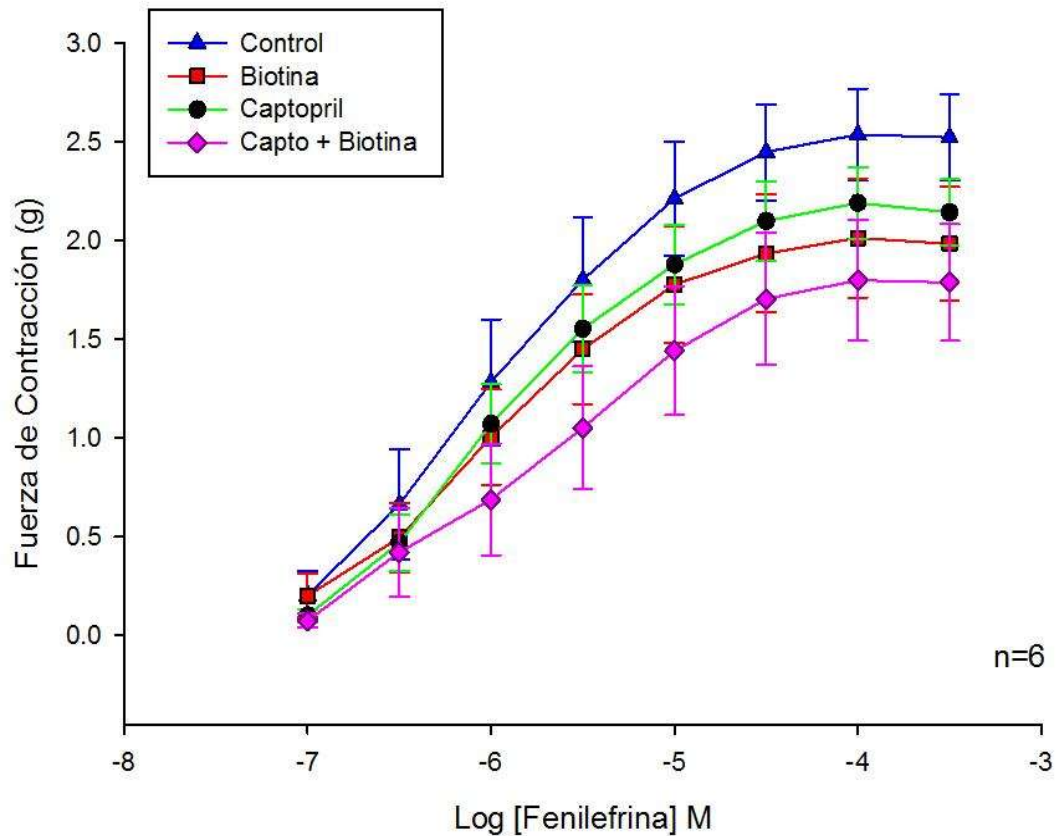


Figura 10. Efecto de la biotina y captopril sobre la respuesta a la fenilefrina en aorta con endotelio de rata. Curva concentración-respuesta a fenilefrina en aorta de rata con endotelio de animales control en ausencia y en presencia de biotina y captopril. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 6 ratas.

9 DISCUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial son una de las principales causas de mortalidad en el mundo, siendo la hipertensión arterial una de las enfermedades que provoca un mayor número de defunciones en México, estando presente en uno de cada tres mexicanos adultos, por lo que sigue siendo necesaria la búsqueda de nuevos fármacos o terapias combinadas con nutracéuticos para poder tratar este padecimiento. En la actualidad el diseño de fármacos hace uso del modelaje molecular que es una forma más económica, sustentable y completa para el desarrollo de nuevos fármacos. Gracias a este tipo de procedimientos encaminados a relacionar la actividad con la estructura molecular y así poder utilizar estas relaciones para proponer compuestos con un determinado perfil de actividad, mejorando la probabilidad de dar con una nueva sustancia que pueda ser utilizada en el tratamiento de algún padecimiento.

Debido a este avance de la tecnología y la ciencia ha sido posible conocer el funcionamiento y los mecanismos de acción que presentan varias vitaminas siendo posible el desarrollar medicamentos para el tratamiento de diversas enfermedades, un ejemplo de ello es el caso de la niacina (vitamina hidrosoluble del complejo B), la cual es usada desde 1955 para el tratamiento de dislipidemias (Longo *et al.* 2012), o el uso de la biotina (2mg) en combinación con el picolinato de cromo (600 µg), los cuales son usados en tratamientos de pacientes que presentan un cuadro de diabetes, mejorando así sus niveles de glucosa y triglicéridos en suero (Albarracin *et al.*, 2007, Albarracin *et al.*, 2008). La biotina es una de las muchas vitaminas que están siendo estudiadas con la finalidad de ser utilizadas para varios padecimientos, en este caso para el tratamiento de la hipertensión arterial.

Por lo tanto, en esta tesis se realizó el modelado molecular de diferentes compuestos representativos de las diversas clases de fármacos antihipertensivos a los cuales la biotina pudiese asemejarse más estructuralmente y a través de estudios *ex vivo*, evaluamos el efecto vasodilatador de la biotina en la contracción arterial. En estudios realizados por Lei Zhang, Faschetti (2015), Yi Lei (2004) y Younes (2014) ya se estudiaba la estructura de la biotina tanto plegada, semi-

plegada y extendida a través del modelado molecular con el propósito de determinar las diferentes actividades, así como realizar su modelado molecular usando dinámica molecular y cálculos de química cuántica los cuales también estudiaban la estructura y conformación realizando dinámica molecular con el fin de estudiar las propiedades conformacionales y dinámicas presentadas, dando como resultado que la biotina en su estructura plegada es igual de estable que en su estructura extendida. (Lei *et al.*, 2006 y 2008; Frascetti *et al.*, 2015; Yi *et al.* 2004; Younes *et al.*, 2014). Obteniendo nosotros conformaciones similares del modelado molecular realizado, ya que la biotina en su conformación plegada fue la que, al modelarla en cuanto a su potencial electrostático tuvo una semejanza mayor con los fármacos de la familia de los priles en especial al captopril y enalapril. Por lo que consideramos que el posible mecanismo vasodilatador de la biotina pudiera ser por su parecido estructural con los priles y ser similar a uno de los extremos de la cadena de péptidos.

Después de seleccionar el fármaco al cual la biotina se asemejaba más (captopril) evaluamos el efecto de la biotina a dos concentraciones (1×10^{-7} y 1×10^{-8}) para determinar a qué concentración el efecto relajante que se presentó era mayor sobre la respuesta a fenilefrina. Se observó que el efecto presentado era dependiente de la concentración, ya que con la concentración de 1×10^{-7} M ya se tenía un efecto vasorrelajante apreciable presentado por dicha concentración y este era mayor que el observado a la concentración más baja. Por lo que se decidió utilizar la concentración 1×10^{-7} para todos los demás experimentos posteriores.

En los estudios en aorta con biotina y con captopril, se observó que el decremento en la contracción en la curva a fenilefrina que se presentó era semejante entre ambos compuestos. Lo que sugiere que el efecto vasorrelajante de la biotina es debido a la posible unión en el mismo sitio de acción que el captopril, porque probablemente actúan en un mismo sitio, lo que explicaría la vasorrelajación similar.

En la curva a fenilefrina en aorta de rata en presencia de biotina y captopril al mismo tiempo, el efecto vasorrelajante presentado por ambos compuestos es mayor que el obtenido en aorta con biotina o captopril por separado. Pudiendo ser por un efecto sumatorio por la posible unión de ambos compuestos en el mismo sitio de acción, sin descartar la posibilidad también de que se esté facilitando el anclaje y/o entrada de uno de estos compuestos a través de la unión del otro en el sitio de acción.

El hecho de tener un efecto sumatorio al administrarse la biotina y captopril, abre el posible uso de la biotina como coadyuvante para el tratamiento de la hipertensión arterial al usar una cantidad menor de captopril que pueda ser sustituida por la biotina y teniendo la misma acción terapéutica o pudiendo ser mayor dicho efecto. De igual manera, sin descartar la posibilidad de poder realizar un derivado de la biotina con los grupos funcionales del captopril, para formar un nuevo fármaco antihipertensivo, con menores efectos secundarios y mayor efecto terapéutico, ya que hasta el momento no se han reportado efectos adversos a concentraciones farmacológicas de la biotina.

Los resultados de esta tesis brindan nuevos conocimientos sobre el mecanismo de acción de la biotina y su posible uso como adyuvante de fármacos antihipertensivos. Por lo que es necesario el seguir estudiando e investigando con respecto al mecanismo de acción antihipertensivo de la biotina.

10 CONCLUSIÓN

1.- La biotina presenta una mayor similitud estructural (potencial electrostático) con la familia del captoprilo en especial al captopril.

2.- La biotina presenta un efecto vasorrelajante similar al producido por captopril.

3.- La administración conjunta de biotina y captopril resulta en la suma de sus efectos relajantes.

11 REFERENCIAS

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

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.

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.

Arias P., 2003. Bases fisiológicas de la práctica médica. 13 edición. Médica Panamericana. ed. pp. 652-657.

August P. 2003. Initial treatment of hypertension. *The New England Journal of Medicine.* 348: 610-617.

Balbes L. M., Mascarella S. W. y Boyd D. B. A. 1994. Perspective of modern methods in computer-aided drug design. En *Reviews in Computational Chemistry*, Lipkowitz, K. y Boyd, D., Eds., VCH Publishers, Nueva York. vol. 5, p. 337-379.

Barrett K., Barman S., Boitano S., Brooks H. 2010. *Ganong Fisiología Médica: Fisiología cardiovascular VI. Mecanismos reguladores cardiovasculares.* 23^a edición. McGraw-Hill ed. pp. 537-543.

Besler B. H., Merz K. M., Kollman P. A. 1990. Atomic charges derived from semiempirical methods *J. Comput. Chem.* 11: 431-439.

Boyd D. B., 1999. Is rational design good for anything? Rational Drug Design: Novel Methodology and Practical Applications. Parril A. L. y Reddy M. R., Eds., ACS Symposium Series 719. American Chemical Society, Washington DC, p. 347- 356.

Bertram G. 2010. Farmacología Básica y clínica: Fármacos cardiovasculares y renales. 11ª edición. McGraw-Hill ed. pp. 167-189.

Borondo F. 2007. Las Matemáticas en la Comunidad de Madrid Computación e interacción En: Química teórica y computacional. IMDEA. Madrid, España. pp. 19-35.

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.

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.

Capuzzi D.M., Guyton J.R., Morgan J.M., Goldberg A.C., Kreisberg R.A., Brusco O.A., Brody J. 1998. Efficacy and safety of an extended-release niacin (Niaspan): a long-term study. Am J Cardiol. 82: 74U-81U.

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.

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.

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.

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

Cuevas G., Cortés F. 2003. Introducción a la química computacional. Editorial FCE. México. En: Introducción. pp.11-26.

Dakshinamurti K., Cheah-Tan C. 1968. Biotin-mediated synthesis of hepatic glucokinase in the rat. *Arch Biochem Biophys.* 127: 17-21.

De Barros S. R. 2012. Hypertension and renin-angiotensin system antihypertensive drugs, Edited by Hossein Babaei. Published by InTech, Croatia. pp. 86.

Del Río L. 2005. Biotin dependent regulation of gene expression in human cells. *Journal of nutritional biochemistry.* 16: 432–434.

Dukusova OD, Krivoruchenko IV. 1972. The effect of biotin on the blood cholesterol levels of atherosclerotic patients in idiopathic hyperlipidemia. *Kardiologija.* 12: 113.

Feldstein C., Romero J. 2007. El sistema renina angiotensina en la hipertensión esencial. *Revista Latinoamericana de Hipertensión.* 2 (2): 49-58.

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.

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.

Fraschetti Caterina, Filippi Antonello, Guarcini Laura, Steinmetz Vincent, and Speranza Maurizio. 2015. Estructura y conformación de la d - (+) - biotina protonada en la estado sin solvatar. Dipartimento di Chimica e Technologie del Farmaco, Università “La Sapienza”, Roma, Italy. Laboratoire Chimie Physique. UMR8000 CNRS. Université Paris Sud 11. Orsay. France.

García A., García G. 2011. Biotina y regulación transcripcional (génica) y epigenética en la especie humana. *Repert. Med. Cir.* 20(3): 158-168.

Goodman&Gilman. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9º ed. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana. Pp. 621-641.

Giuseppe M., Stephane L., Enrico A.R., Ettore A. 2009. Reappraisal of European guidelines on hypertension. *Blood Pressure.* 18(6): 308-347.

Guyton A.C., Coleman T.G., Cowley A.W. Jr. et al. 1972. Arterial pressure regulation: overriding dominance of the kidney in long term regulation and in hypertension. *Am J Med.* 52: 584-94.

Guyton A.C., Hall J.E., 2007. Tratado de Fisiología Médica. 11º ed. México: Ed. Elsevier. Pp. 204-226, 307-326, 402-415.

Guyton A., Hall J. 2006. Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Company. Pp 110.

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

Hans K., Peter G. 2007. Nutrition Text y Atlas. 3ª edición. Panamericana ed. Pp 186-187.

Hassan YI., Zempleni J. 2006. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin. *J Nutr.* 136 (7): 1763-1765.

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.

Hopfinger A. J. 1985. Computer-assisted drug design. *J. Med. Chem.* 28: 1133-1139.

Jesús M. López., Adolfo E., Ensuncho y Juana Robles, 2013. Theoretical Study of Chemistry Reactivity and Biological of Cisplatin and some Derivatives with Anticancer Activity, Universidad de Córdoba, Departamento de Química, Grupo de Química Computacional, Cra. 6 N° 74-103, Córdoba-Colombia. Vol. 24 (3): 3-14.

Jorgensen W. L. 2004. The many roles of computation in drug discovery. *Science*. 303: 1813-1818.

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. Pp. 530.

Langridge R., Ferrin T.E., Kuntz I.D., Connolly M.L. 1981. Computer-assisted model building *Science* 211: 661-666.

Lazo de la Vega M., Fernandez M., Monroy M. 2010. Effects of Pharmacological Concentrations of biotin. *JECAM*. 16: 40-48.

Leach Longmans A. 1996. *Molecular Modelling. Principles and Applications*. Londres.

Lee J.M., Robson M.D., Yu L.M., Shirodaria C.C., Cunnington 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.

Lei Zhang, Haoran Li, Xingbang Hu, Shijun Han. 2006. 1-NH proton of biotin is not always more active than 3-NH proton. Department of Chemistry, Zhejiang University. 38. Zheda Road. Hangzhou 310027. Zhejiang province. PR China.

Lei Zhang, Xingbang Hu, and Haoran Li. 2008. Why 1-nh and 3-nh protons of d-biotin exhibit different activities in aqueous solution. Department of Chemistry. Zhejiang University. Hangzhou 310027. China.

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.

Madhusoodanan K. S., Murad F. 2007. NO-cGMP Signaling and Regenerative Medicine Involving Stem Cells. *Neurochem Res* 32: 681–694.

Marshall MW, Kliman PG, 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.

Mock D. 2006. Biotin in Modern Nutrition in Health and Disease. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore ed. Pp. 498-506.

Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E. 1989. The biological significance of nitric oxide formation from L-arginine. *Biochemical society transactions*. 17: 542-543.

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.

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

Orozco M., Luque F. J. 1990. A practical procedure for the determination of electrostatic charges of large molecules. *J. Comput.-Aided Mol. Design* 4: 411-426.

Pacheco AD., Solórzano VR., Gravel RA., Cervantes RR., 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.

Randi E., Frederic E., Tonya W. 2012. Secrecy and the Pathogenesis of hypertension international Journal of Family Medicine. 2012: 1-3.

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

Rodríguez M. 2000. Importancia del metabolismo de la biotina. Investigación clínica. 52: 194-199.

Rodríguez M., Zempleni J. 2003. Regulation of gene expression by biotin (review). J Nutr Biochem. 14 (12): 680-690.

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

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.

Sheridan R. P., Venkataraghavan R. 1987. Similarity searching in the organic reaction domain. Acc. Chem. Res. 20: 322-329.

Sklar A., Schrier R. 1983. Central nervous system mediators of vasopressin release. Physiol Rev. 63: 1243-1280.

Solorzano VS., Pacheco Alvarez 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.

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.

SSA. 2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. NOM-030-SSA22009.

Suchy SF., Wolf B.1986. Effect of biotin deficiency and supplementation on lipid metabolism in rats: cholesterol and lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 43: 831-838.

Suzuki Y, Aoki Y, Chiba Y, Iwamatsu A, Kishino T, Niikawa N, Matsubara Y, Narisawa K. 1994. *Nat Genet* 8: 122-128.

Stanley JS., Griffin JB., Zempleni J. 2001. Biotinylation of histones in human cells: effects of cell proliferation. *Eur J Biochem.* 268 (20): 5424-5429.

Taketomo CK., Hodding JH., Kraus DM. 2010. *Pediatric and Neonatal Dosage Handbook.* 18th ed. American Pharmacists Association, editor. Hudson (OH): Lexi Comp.

Takemoto M., Egashira K., Usui M., Numaguchi K., Tomita H., Tsutsui H., Shimokawa H., Sueishik Takeshita A. 1997. Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *J Clin Invest* 99: 278-287.

Taussing R., Gilman A. G. 1995. Mammalian membrane-bound adenylyl cyclase. *The journal biological chemistry.* 270: 1-4.

Tesfamariam B., Halpern W. 1988. Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in resistance arteries from hypertensive rats. *Hypertension.* 11: 440-444.

Török J., Gerová M. 1996. Vascular responses after long-term inhibition of nitric oxide synthesis in newborn dogs. *Physiol Res* 45: 323-328.

Török J. 2008. Participation of Nitric Oxide in Different Models of Experimental Hypertension. *Physiol. Res.* 57: 813-825.

Veglio F., Morra di Cella S., Schiavone D., Paglieri C., Rabbia F., Mulatero P., Chiandussi L. 2001. Peripheral adrenergic system and hypertension. *Clinical and experimental hypertension*. 23(1&2): 3-14.

Vilches FA., Fernández MC. 2005. Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Rev. Invest. Clin.* 57: 716-724.

Vinay Kumar, Abul Abbas, Nelson Fausto, Jon Aster, 2010. *Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional*. 8ª edición. Editorial Elsevier. Pp.493-495.

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 strokeprone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr*. 99 (4): 756-763.

Westfall T., Westfall. P. 2010. Neurotransmisión, sistema nervioso autónomo y motor somático. *Goodman & Gilman, Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 11ª edición. pp. 137-178.

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.

Wolf B. 2001. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, McGraw-Hill Professional, 3935-3962.

Wood HG., Barden RE. 1977. Mechanism of Biotin Action. *Annu Rev Biochem* 46: 385-413.

Yi Lei, Haoran Li, Rong Zhang, and Shijun Han. 2004. Molecular dynamics simulations of biotin in aqueous solution. Department of Chemistry. Zhejiang University. Hangzhou. 310027. People's Republic of China.

Younes Valadbeigi, Hossein Farrokhpour, Mahmoud Tabrizchi. 2014. DFT study on the isomerization and tautomerism in vitamins B3 (niacin), B5 (pantothenic acid) and B7 (biotin). Department of Chemistry, Isfahan University of Technology, Isfahan. Iran. 84156-83111.

Zempleni. 2005. Uptake, localization, and noncarboxylase roles of biotin. *Annu Rev Nutr.* 25: 175-196.